

María Teresa Martín Carpi

Inflamación y ateroesclerosis subclínica en apnea obstructiva del sueño

Departamento
Medicina, Psiquiatría y Dermatología

Director/es
Marín Trigo, José María

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

Autor

María Teresa Martín Carpi

Director/es

Marín Trigo, José María

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Medicina, Psiquiatría y Dermatología

2016

INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

TESIS DOCTORAL

**INFLAMACIÓN Y
ATEROESCLEROSIS
SUBCLÍNICA EN APNEA
OBSTRUCTIVA DEL
SUEÑO**

M^a TERESA MARTÍN CARPI

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA, DERMATOLOGÍA Y PSIQUIATRÍA



Universidad
Zaragoza

OCTUBRE DE 2015

TESIS DOCTORAL
INFLAMACIÓN Y
ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA
EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL
SUEÑO

Presentada por M^a TERESA MARTÍN CARPI,
licenciada en Medicina y Cirugía.

Para optar al grado de:

DOCTOR POR LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA.

DIRECTOR: DR. JM^a MARÍN TRIGO

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA, DERMATOLOGÍA Y PSIQUIATRÍA



Universidad
Zaragoza

OCTUBRE DE 2015

Con cariño a
Fernando, Javier y Eduardo

Es un homenaje a mi padre, Javier, Dr. Martín Moradillo, él me enseñó la importancia del estudio, del trabajo y del saber escuchar a los pacientes.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José M^a Marín Trigo, por incluirme en su proyecto de investigación, guiarme con paciencia y dedicación así como transmitirme su sabiduría.

A todos los pacientes que han aceptado la inclusión en este estudio.

Al equipo de Investigación Traslacional, especialmente a los ATS Victoria Gil, Pablo Cubero y Marta Forner y a la Facultativa Ana Lilian Simón.

A todos mis compañeros de trabajo con los que he compartido mi profesión a lo largo de estos años. Una mención especial a los Dres. Hernández Caballero, Bello Drona y Chacón Vallés, por su confianza e interés.

A los Dres. Martín Carpi, Agut Quijano, Mincholé Lapuente, Marrón Tundidor y Díaz de Tuesta por su ayuda en la elaboración de este manuscrito.

A mi marido, Fernando, y a mis hijos, Javier y Eduardo, por su cariño, paciencia, colaboración y sentido del humor.

A mi madre, África, por su generosidad sin límites. Sin ella, no habría podido llegar hasta aquí.

A mi hermano, Javier, por su ejemplaridad y ser una referencia intelectual constante.

A mi suegra, Maribel, por su colaboración y ayuda en la organización familiar.

Al resto de familia y amigos, por sus ánimos.

Don José M^a Marín Trigo, Doctor en Medicina, Médico Adjunto del Servicio de Neumología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza y Profesor Asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza,

CERTIFICA

Que la Tesis Doctoral titulada "Inflamación y Aterosclerosis Subclínica en Apnea Obstructiva del Sueño", recogida en la presente memoria y de la que es autora Dña. M^a Teresa Martín Carpi, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Zaragoza, ha sido realizada bajo mi dirección en el Departamento de Medicina, Dermatología y Psiquiatría.

Que la presente memoria se corresponde con el Proyecto de Tesis Doctoral presentado y aprobado previamente por el correspondiente órgano responsable y cumple las condiciones exigidas para la presentación de Tesis Doctoral.

Que una vez revisado el contenido, éste se considera adecuado para su presentación para optar al Título de Doctor por la Universidad de Zaragoza.



Prof. Dr. José M^a Marín Trigo

En Zaragoza, 4 de noviembre de 2015

ÍNDICE

ABREVIATURAS	19
I. INTRODUCCIÓN	25
1. APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO	27
1.1. DEFINICIÓN	27
1.2. EPIDEMIOLOGÍA	27
1.3. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	28
1.4. MORBIMORTALIDAD	29
1.5. MORBILIDAD CARDIOVASCULAR	31
2. ATEROESCLEROSIS	33
2.1. ATEROESCLEROSIS, MECANISMO INTERMEDIO DE RIESGO CARDIOVASCULAR	33
2.2. ATEROESCLEROSIS E INFLAMACIÓN	33
3. INFLAMACIÓN SISTÉMICA Y ATEROESCLEROSIS EN AOS	37
3.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN EN AOS	38
4. PROTEÍNA CREATIVA (PCR), INFLAMACIÓN, ATEROESCLEROSIS Y AOS	41
4.1. FACTOR PREDICTIVO DE EVENTOS CARDIOVASCULARES	41
4.2. PRODUCCIÓN	42
4.3. INTERACCIÓN AOS CON OBESIDAD	44
4.4. PCR EN AOS	45
4.5. EFECTOS DE CPAP EN NIVELES DE PCR	48
4.6. TABLA 2: PRINCIPALES ESTUDIOS AOS Y PCR	51
5. ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA Y GROSOR DE LA ÍNTIMA-MEDIA CAROTÍDEA (GIM).	53
5.1. ANATOMÍA DE ARTERIAS CARÓTIDAS	53
5.2. MEDICIÓN DE GIM CAROTÍDEO	53
5.3. GIM COMO FACTOR PREDICTIVO DE EVENTOS CARDIOVASCULARES	55
6. ATEROESCLEROSIS Y GROSOR DE LA ÍNTIMA MEDIA EN PACIENTES CON AOS	59
6.1. ESTUDIOS DE ATEROESCLEROSIS EN PACIENTES CON AOS	60
6.2. TABLA 3: PRINCIPALES ESTUDIOS AOS Y GIM	66

6.3.	ATEROESCLEROSIS EN PACIENTES CON AOS Y TRATAMIENTO CON CPAP	69
II.	JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	71
1.	JUSTIFICACIÓN	73
2.	HIPÓTESIS	73
3.	OBJETIVOS	74
III.	MATERIAL Y MÉTODOS	75
1.	DISEÑO	77
2.	POBLACIÓN A ESTUDIO	77
2.1.	PROCEDIMIENTOS DIAGNÓSTICOS DE AOS EN UTRS	77
2.2.	DEFINICIÓN DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO	79
2.3.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	79
2.4.	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	79
3.	DESARROLLO DEL ESTUDIO POR PARTE DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL. RECOGIDA DE DATOS	80
4.	INSTRUMENTOS DE MEDIDA. VARIABLES. PRIMERA CONSULTA	85
5.	INSTRUMENTOS DE MEDIDA. VARIABLES. SEGUNDA CONSULTA	88
6.	CAMBIOS EVOLUTIVOS DE LAS VARIABLES	88
7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	88
8.	CONSIDERACIONES ÉTICAS	89
9.	TABLAS: CRITERIOS SELECCIÓN, VARIABLES, UNIDADES DE MEDIDA, DETERMINACIONES	90
IV.	RESULTADOS	95
1.	POBLACIÓN Y GRUPOS DE ESTUDIO	97
2.	CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO	98
2.1	COMPARATIVAS	98
2.2.	HISTOGRAMAS DE DISTRIBUCIÓN DE EDAD, IMC, IAH Y CT90 EN AMBOS GRUPOS	101
2.3.	CLASIFICACIÓN POR GRUPOS ATENDIENDO A LA SEVERIDAD DE AOS	103
2.4.	DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN	108

3.	EVOLUCIÓN DE LAS VARIABLES RELEVANTES A ESTUDIO	111
3.1.	COMPARATIVA DE LAS VARIABLES EN VISITA ANUAL	111
4.	PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)	114
4.1.	ESTUDIO BASAL	114
4.1.1.	COMPARATIVA	114
4.1.2.	CORRELACIÓN	116
4.1.3.	ANÁLISIS MULTIVARIANTE	118
4.2.	ESTUDIO ANUAL	120
4.2.1.	EFECTOS DE CPAP EN NIVELES DE PCR	122
4.2.2.	PORCENTAJE DE CAMBIO	123
5.	GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (GIM)	126
5.1.	ESTUDIO BASAL	126
5.1.1.	COMPARATIVA	126
5.1.2.	PLACAS DE ATEROMA	130
5.1.3.	CORRELACIÓN	131
5.1.4.	ANÁLISIS MULTIVARIANTE	132
5.2.	ESTUDIO ANUAL	134
5.2.1.	EVOLUCIÓN SEGÚN TRATAMIENTO CON CPAP	137
5.2.2.	PORCENTAJE DE CAMBIO	139
6.	ASOCIACIÓN PCR Y GIM	142
V.	DISCUSIÓN	145
1.	POBLACIÓN Y VARIABLES A ESTUDIO	147
2.	CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO	149
2.1.	DISTRIBUCIÓN POR SEXO	149
2.2.	SOBREPESO/OBESIDAD	149

2.3.	EDAD	150
2.4.	CLASIFICACIÓN DE LA POBLACIÓN EN GRUPOS	151
2.5.	TEST DE SOMNOLENCIA EPWORTH	152
3.	EVOLUCIÓN DE LAS VARIABLES RELEVANTES A ESTUDIO	152
4.	PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)	153
4.1.	ESTUDIO BASAL	153
4.1.1.	COMPARATIVA	153
4.1.2.	RELACIÓN CON OTRAS VARIABLES	156
4.1.3.	ANÁLISIS MULTIVARIANTE	156
4.2.	ESTUDIO ANUAL	157
4.2.1.	EFFECTOS DE CPAP EN NIVELES DE PCR	157
5.	GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (GIM)	160
5.1.	MEDICIÓN DE GIM	160
5.2.	ESTUDIO BASAL	161
5.2.1.	PREDICTOR DE EVENTOS CARDIOVASCULARES	161
5.2.2.	PLACAS DE ATEROMA	163
5.2.3.	RELACIÓN CON OTRAS VARIABLES	165
5.2.4.	ANÁLISIS MULTIVARIANTE	165
5.3.	ESTUDIO ANUAL	166
5.3.1.	EVOLUCIÓN DE GIM SEGÚN TRATAMIENTO CON CPAP	167
6.	ASOCIACIÓN PCR Y GIM	169
7.	FORTALEZAS Y DEBILIDADES	170
VI.	CONCLUSIONES	173
VII.	BIBLIOGRAFÍA	179
VIII.	ANEXOS	197

NOTA: Los datos de las variables estudiadas por los diferentes estudios, se muestran pormenorizadamente en las Tablas del Capítulo de Discusión porque se realiza una comparativa con nuestros hallazgos.

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS, VALORES DE NORMALIDAD Y UNIDADES DE MEDIDA.

- ACC dcha: Arteria carótida común derecha
- ACC izda: Arteria carótida común izquierda
- AOS: Apnea Obstructiva del Sueño
- Apo A: Apolipoproteína A.
- Apo B: Apolipoproteína B.
- CDC: Centros para el control y prevención de enfermedades.
- CO: monóxido de carbono (ppm).
- CPAP: Continuous Positive Airway Pressure= Presión Positiva Continua en la Vía Aérea (dispositivo).
- CVS: Cardiovascular.
- ECG: Electrocardiograma.
- ESD: Excesiva Somnolencia Diurna.
- FA: Fibrilación Auricular.
- Fc: frecuencia cardiaca (latidos/minuto).
- FEV1: Volumen Espirado en el primer segundo.
- FEV1/FVC: FEV1/FVC.
- FVC: Capacidad Vital Forzada.
- GIM: Grosor de la íntima-media = IMT= Intima-media thickness (mm).
- HDL colesterol: high density lipoprotein cholesterol.
- HIF-1: Factor-1 inducido por hipoxia (HIF-1).
- HTA: Hipertensión Arterial.

- IAH: índice apnea-hipopnea
- IC: Insuficiencia Cardíaca.
- ICAM-1: moléculas de adhesión intercelular.
- IDO: Índice de desaturación de O₂.
- IFN- γ : Interferón γ .
- IL-1; interleukina-1.
- IL-1 β : Interleukina 1 β .
- IL-6: Interleukina 6.
- IL-8: Interleukina – 8.
- IL-10 : Interleukina-10.
- IMC: índice de masa corporal (Kg/m²).
- LDL cholesterol: low density lipoprotein cholesterol.
- MCP-1: proteína-1 quimiotáctica de monocitos.
- NF- κ B: Factor nuclear κ B.
- PBD: post broncodilatadora.
- PCR: Proteína C reactiva de fase aguda.
- RCT: Estudios ramdomizados.
- RDI (índice de eventos respiratorios).
- RM: resonancia magnética.
- SAHS: Síndrome de Apnea e Hipopnea del Sueño
- SaO₂: Saturación arterial de O₂.
- TA: Tensión arterial (mmHg).
- TAs: Tensión arterial sistólica (mmHg).
- TAd: Tensión arterial diastólica (mmHg).
- TG: Triglicéridos.

- TGF- β : Factor Transformador del Crecimiento (Transforming Growth factor) β .
- TNF- α : Factor de Necrosis Tumoral α .
- Treg: Linfocitos T reguladores.
- UTRS: Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño.
- VCAM-1: moléculas de adhesión vascular.
- VEGF: Factor de crecimiento endotelial.

I. INTRODUCCIÓN

1. APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

1.1. DEFINICIÓN

La Apnea Obstructiva del Sueño (AOS) se caracteriza por episodios recurrentes, de más de 10 segundos de duración, de obstrucción parcial (hipopnea) o completa (apnea) de la vía aérea superior durante el sueño¹. Los episodios de AOS se acompañan, generalmente, de ronquido y descensos de la SaO₂ y, habitualmente, finalizan con breves despertares que alteran la arquitectura del sueño. El Documento Nacional de Consenso de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) definió en 2005 el Síndrome de Apnea-Hipopnea del Sueño (SAHS) como un cuadro de somnolencia excesiva (ESD), trastornos cognitivo-conductuales, respiratorios, cardíacos, metabólicos o inflamatorios secundarios a estos episodios². La densidad de eventos obstructivos se miden con el índice apnea-hipopneas (IAH). Un IAH ≥ 5 asociado a síntomas relacionados con la enfermedad y no explicados por otras causas confirma el diagnóstico^{2,3}. Sin embargo, el SAHS tiene una expresión plurifenotípica, con diferentes asociaciones entre el IAH y la sintomatología³.

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

En 1993 Young y col.⁴, a partir de los datos del Wisconsin Sleep Cohort Study, estudio longitudinal sobre la historia natural de las enfermedades respiratorias durante el sueño, detectó que el 9% y 24% de las mujeres y hombres, respectivamente, de edad media presentaban un IAH ≥ 5 así como una prevalencia de SAHS (IAH ≥ 5 y somnolencia diurna) de 2% en mujeres y 4% en hombres. Para Durán y col.⁵ la prevalencia del síndrome (SAHS) fue de 3,4% en hombres y de 3% en mujeres. Estos datos epidemiológicos aumentan de forma paralela a la prevalencia de la obesidad, 17% de adultos en Estados Unidos y 6% en grado moderado-severo. Se considera que el 75% de casos graves continúan sin diagnóstico⁶.

Podemos afirmar que en España entre el 3 y el 6% de la población padece un AOS sintomático y entre el 24 y el 26% un IAH ≥ 5 .

1.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La clínica surge como consecuencia de los eventos obstructivos nocturnos: apnea; hipopnea; e hipoxemia intermitente, y, por otro lado, debido a la desestructuración del sueño³.

Ningún parámetro aislado ha demostrado suficiente valor diagnóstico. La triada clínica principal del SAHS la componen 3 síntomas:

- a) Roncopatía crónica: de mayor sensibilidad
- b) Apneas presenciadas: de mayor especificidad
- c) Hipersomnias diurnas o tendencia a dormirse involuntariamente ante situaciones inapropiadas. Poco sensible y específico, pero marca la intensidad clínica.

TABLA 1. SIGNOS Y SÍNTOMAS MÁS FRECUENTES³

Síntomas y signos frecuentes
Ronquido estruendoso
Apneas presenciadas
Excesiva Somnolencia Diurna
Sueño no reparador
Cuello ancho y corto
Obesidad
Episodios asfícticos nocturnos
Despertares frecuentes
Nicturia
Cefalea matutina
Hipertensión arterial

Adaptado de Lloberes P. y col. Normativa SEPAR. Diagnóstico y tratamiento del síndrome de apneas-hipopneas del sueño. Arch Bronconeumol. 2011; 47(3):143-156.³

Además de los síntomas, reflejados en la TABLA 1, pueden existir otros tales como diaforesis, pesadillas, sueño agitado, insomnio, reflujo gastroesofágico, enuresis, disminución de la libido, cambios de

personalidad, pérdida de memoria, dificultad de concentración, disminución del rendimiento profesional, apatía, irritabilidad, náuseas matutinas, síntomas depresivos, cansancio crónico, movimientos anormales, caídas frecuentes, eventos cardiovasculares, poliglobulia y crisis epilépticas.

Mención especial requieren el SAHS:

- a) En el anciano, la sintomatología se centra en la esfera neurocognitiva.
- b) En la mujer: la prevalencia de esta enfermedad se iguala a la del hombre en la etapa postmenopáusica. La presentación también puede diferir: síntomas depresivos, ansiedad, cansancio, falta de energía y cefalea.

1.4. MORBIMORTALIDAD

AOS se asocia con alta morbilidad y mortalidad. Sus consecuencias para la salud pueden agruparse en dos tipos de complicaciones:

1.4.1. Deterioro neuro-cognitivo. La excesiva somnolencia diurna provoca alteraciones en la calidad de vida y alteraciones cognitivas, laborales y sociales. En este aspecto se conoce que la AOS se asocia entre 3 y 7 veces más con accidentes de tráfico^{7,8}.

1.4.2. Exceso de comorbilidad cardiovascular (CVS)³: Nuestro grupo, Marín y col.⁹, al igual que otros autores^{10, 11} reveló que padecer AOS de grado severo (IAH >30) se asociaba a un exceso de riesgo de muerte por patología cardiovascular y a un exceso de eventos cardiovasculares no fatales. Estas evidencias asocian, por tanto, esta patología, en su grado severo y en décadas centrales de la vida, con un aumento de morbilidad y mortalidad cardiovasculares, fundamentalmente debido a cardiopatía isquémica y accidentes cerebrovasculares⁹⁻¹¹. Por otro lado, en el estudio de Martínez-García y col.¹², en una cohorte de mayores de 65 años con AOS severo, el aumento de mortalidad cardiovascular se debió insuficiencia cardíaca y accidentes cerebrovasculares. Es de destacar que esto no se cumple para la cardiopatía isquémica y la explicación ante estos hallazgos es la teoría del precondicionamiento isquémico al que han sido sometidos estos pacientes de forma crónica y que favorece la neovascularización¹³.

También demostramos⁹ (FIGURA 1) en consonancia con otros autores^{14,15} que los pacientes tratados de forma eficiente con Presión Positiva en la Vía Aérea (CPAP), el tratamiento estándar para AOS severa, se asociaba con un descenso de los episodios fatales y no fatales cardiovasculares.

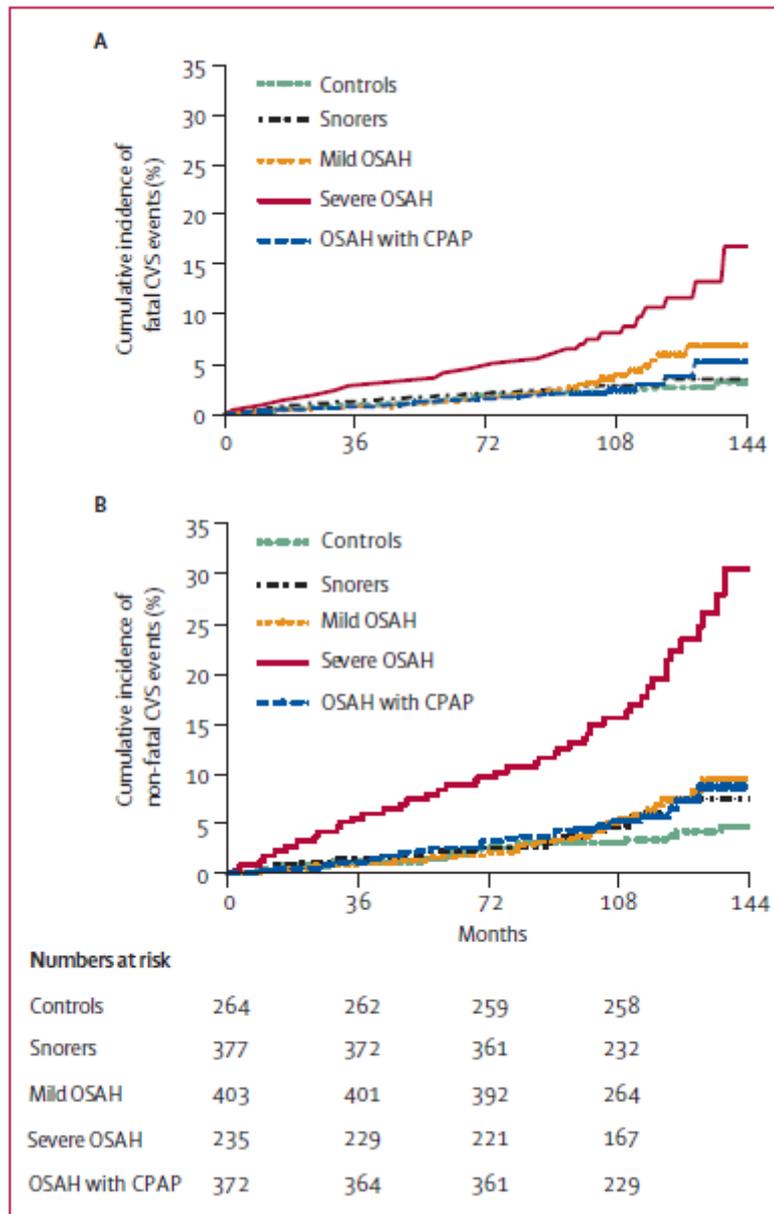


FIGURA 1. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agusti AG. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet* 2005; 365:1046-1053.⁹

En algunos de los diseños de los estudios citados, se han considerado factores múltiples de confusión para riesgo CVS tales como como obesidad, hipertensión, tabaquismo, ingesta de alcohol, edad y nivel de ejercicio. No obstante, la evidencia de este tipo de estudios proporciona una relación de "asociación" y no "causalidad" entre AOS y morbilidad CVS. La evidencia de causalidad (evidencia A) se establece mediante estudios randomizados controlados con placebo o con diseño de "no inferioridad" entre terapias (RCT). Desgraciadamente, este tipo de estudios probablemente nunca se desarrollarán en pacientes con AOS sintomático, es decir con SAHS. El tratamiento disponible actualmente (CPAP) es tan eficaz para aliviar la sintomatología que no puede postponerse por razones éticas durante suficiente tiempo (p.ej. años). El razonamiento científico para manejar la AOS debe, por tanto, basarse en estudios no RCT, bien diseñados, y en estudios tipo RCT en pacientes no sintomáticos. Revisamos a continuación, brevemente, la principal evidencia disponible que justifica la asociación entre AOS y exceso de morbilidad CVS.

1.5. MORBILIDAD CARDIOVASCULAR

1.5.1. HTA: Nieto y col.¹⁶ con 6.000 sujetos estudiados en *Sleep Heart Health Study*, y Peppard y col.¹⁷ en *Wisconsin Sleep Study*, con 1.069 sujetos, han evidenciado una asociación independiente, a pesar de los factores de confusión como edad, sexo y obesidad. Entre 45-68% de los pacientes con AOS son hipertensos¹⁸. La relación con hipertensión resistente a fármacos es alta, se encontró hasta 83% AOS en hipertensión mal controlada a pesar de 3 fármacos¹⁹. Marín y col.²⁰, tras excluir a personas remitidas a la Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño con comorbilidades asociadas, estudiamos y seguimos la evolución de 1.889 pacientes durante 12 años. Demostramos que la presencia de AOS no tratado aumentaba el riesgo de desarrollo de hipertensión independientemente del aumento de peso a lo largo del tiempo. Este riesgo disminuía con la correcta utilización de CPAP. En un estudio randomizado con pacientes no sintomáticos, Barbé y col.²¹ también hallaron una disminución en la incidencia de HTA en pacientes AOS severo tratados con CPAP pero con un tiempo de uso mayor de 5,6 horas por noche. Durán y col.²² demostraron la reducción de las cifras de TA en población hipertensa con AOS, en cifras similares a las obtenidas por un antihipertensivo.

1.5.2. Insuficiencia cardíaca (IC): La prevalencia de IC en pacientes con AOS es superior al 10%. Los estudios disponibles indican una mejoría significativa en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, reducción en el número de hospitalizaciones y aumento de la supervivencia en pacientes con IC-AOS que toleran y usan la CPAP ²³.

1.5.3. Arritmias: su prevalencia, especialmente la fibrilación auricular (FA) está aumentada en pacientes con AOS. La probabilidad de recurrencia de FA, una vez revertida por cardioversión, es menor en pacientes AOS que utilizan CPAP²⁴.

1.5.4. Cardiopatía isquémica: como ya se ha comentado, estudios poblacionales han demostrado una asociación independiente entre el grado de AOS y la probabilidad de padecer cardiopatía isquémica así como mayor mortalidad en pacientes con cardiopatía isquémica conocida que presentaban AOS respecto a controles^{9,10,25}. Recientemente, Kwon y col.²⁶ siguieron a 2.603 participantes de la cohorte del *Estudio de Aterosclerosis Multiétnico (MESA)* durante 8 años. Demostraron que los pacientes con OSA presentaban niveles más elevados de calcio en las arterias coronarias y que el incremento del mismo era mayor en ellos respecto a roncadores y controles.

1.5.5. Ictus: estudios epidemiológicos indican que la probabilidad de padecerlo en pacientes con AOS es 1,6 a 4,3 veces respecto a sujetos sanos²⁷⁻²⁹. En este sentido, Redline y col.³⁰ demostraron que en hombres con AOS moderado y severo existía un riesgo tres veces mayor de padecer un accidente cerebrovascular. Se esgrimen diversas teorías para ello: cambios en el flujo, velocidad y la autorregulación vascular cerebral; inducción de aterosclerosis a través de los factores de transcripción: Factor-1 inducido por hipoxia (HIF-1) y el Factor nuclear κ B (NF- κ B) activados por los ciclos de hipoxemia-reoxigenación y que tendría su reflejo en el aumento demostrado en estos pacientes del grosor íntima-media (GIM) de la arteria carótida interna; y finalmente, a través de la mayor frecuencia de fibrilación auricular.

2. ATEROESCLEROSIS

2.1. ATEROESCLEROSIS: MECANISMO INTERMEDIO DE RIESGO CARDIOVASCULAR

La aterosclerosis es la lesión subyacente en las patologías cardiovasculares.

Es el resultado final de una cascada de procesos inflamatorios que finaliza con la formación de lesiones focales en la capa íntima de las arterias, caracterizadas por el depósito de colesterol y fibrosis.

2.2. ATEROESCLEROSIS E INFLAMACIÓN

En la formación, progresión y ruptura de las placas de ateroma están implicados fenómenos inflamatorios.

La lesión aterosclerótica es un engrosamiento focal asimétrico de la capa íntima de la arteria. En la formación de la misma participan las células inflamatorias e inmunes así como las endoteliales y musculares lisas³¹. Comienza por un depósito de células cargadas de lípidos bajo el endotelio, fundamentalmente macrófagos. Es asintomática y progresa a ateromatosis generalizada. En el centro forman el corazón de la lesión, en el que también se encuentran células inflamatorias del sistema de inmunidad adaptativa, los linfocitos T (Th1, Th2). Este "core" se rodea por una capa de músculo liso y matriz de colágeno.

Por lo tanto, se destacan dos tipos de reacción inmunitaria participantes en la formación de la aterosclerosis: **respuesta inmune innata y respuesta inmune adaptativa** (FIGURA 2).

La primera, **innata**, se caracteriza por activación de las células endoteliales en respuesta a la infiltración, retención y oxidación de LDL en la íntima, especialmente en lugares sometidos a tensión hemodinámica y en situaciones de hipercolesterolemia. Esta respuesta potencia la expresión de genes inflamatorios y la producción de moléculas de adhesión y factor estimulante de macrófagos que reclutan monocitos y linfocitos T. A su vez, estos

monocitos, internalizan lipoproteínas y se transforman en células espumosas. La cascada inflamatoria se mantiene porque los monocitos, a su vez, liberan mediadores inflamatorios: factor de necrosis tumoral α (TNF α), interleukina IL-1; IL-8, proteína-1 quimiotáctica de monocitos MCP-1 y moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) y vascular (VCAM-1), selectinas y radicales de oxígeno o nitrógeno ³².

La segunda reacción inmunitaria, **adaptativa**, se inicia tras el reconocimiento de antígenos (ej LDL oxidada o complejos Mayores de Histocompatibilidad) por parte de los linfocitos T *naïve*. Esto provoca la diferenciación en diferentes subtipos de linfocitos T: T helper, CD4+, y, en menor medida, citotóxicos CD8+. De entre los diferentes subtipos de CD4+: Th1, Th2, Th17 y T reguladores (Treg), los Th1 son los fundamentalmente implicados, aunque los Th17 también tienen su papel³¹. Olson y col.³³ en un estudio epidemiológico, *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)* sobre 912 personas sanas demostraron una activación inmune adaptativa crónica, reflejada por mayor número de CD4+ con memoria y menos *naïve*, asociada al grado de aterosclerosis subclínica. Estos linfocitos, liberan interferón, que, a la vez, favorece la presentación de antígenos y aumenta la síntesis de TNF α e IL-1. A su vez, éstos liberan IL-6, que es principal estímulo hepático para el reactante de fase aguda, **Proteína C Reactiva (PCR)**, que induce a las moléculas de adhesión y MCP1. En el tejido adiposo también se produce IL-6. Por otro lado, también existen factores protectores, especialmente dos citoquinas antiinflamatorias, IL-10 y Factor Transformador del Crecimiento (*Transforming Growth factor β*) TGF- β .

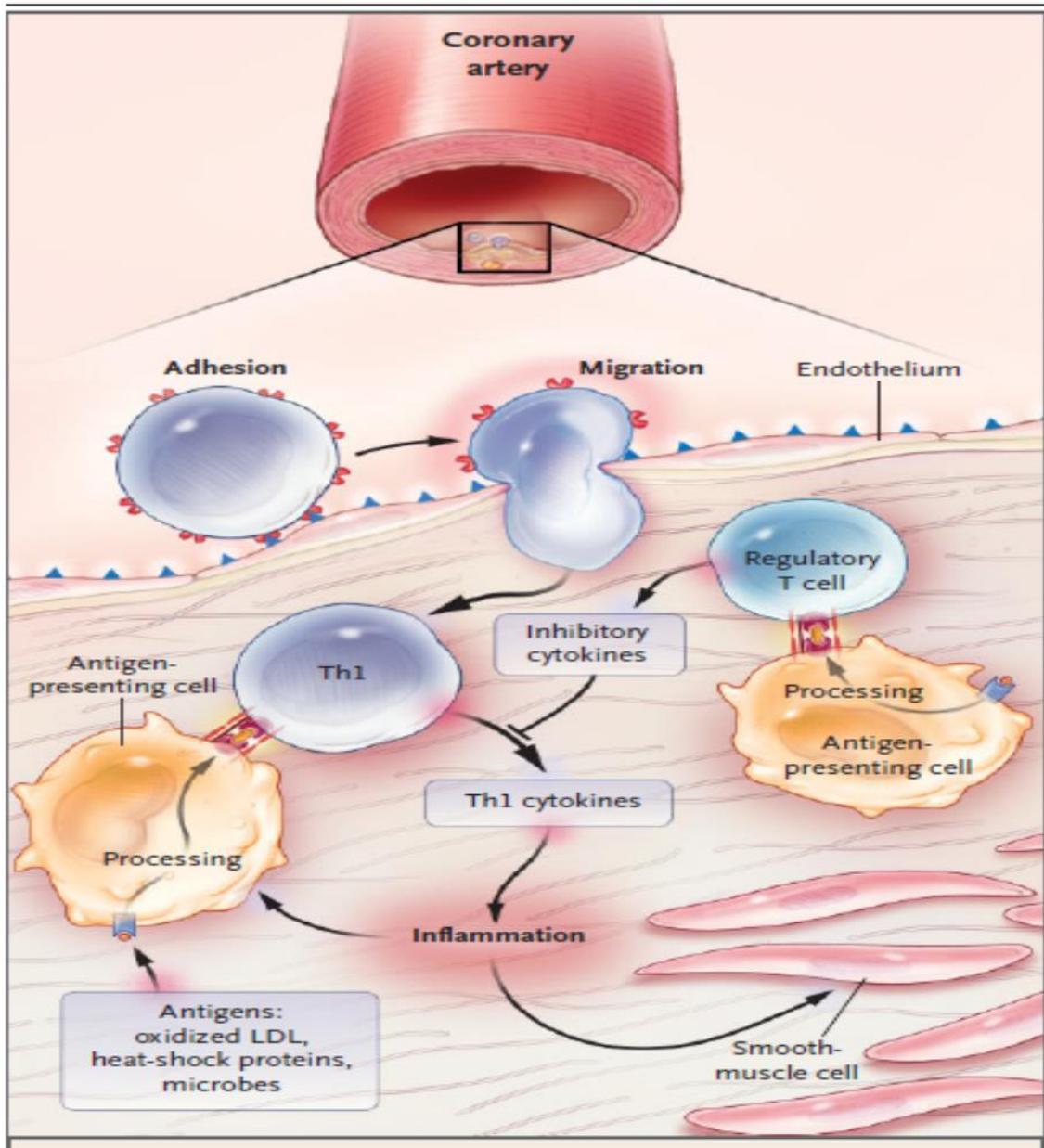


FIGURA 2. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1685

3. INFLAMACIÓN SISTÉMICA Y ATEROESCLEROSIS EN AOS

Los diferentes mecanismos fisiopatológicos relacionados con AOS, favorecerían la aterosclerosis y, subsecuentemente, fenómenos cardiovasculares^{3,32}.

Los mecanismos propuestos son:

1. Aumento de la actividad simpática.
2. Disfunción endotelial.
3. Alteraciones metabólicas.
4. Estrés oxidativo.
5. **Inflamación en relación con la hipoxia intermitente y cíclica.**



FIGURA 3. Modificado de Garvey JF, Taylor CT, McNicholas WT. Cardiovascular disease in obstructive sleep apnoea syndrome: the role of intermittent hypoxia and inflammation. *Eur Respir J* 2009; 33: 1195-1205³⁴

3.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN EN AOS

En AOS, uno de los principales mecanismos implicados en la génesis del proceso inflamatorio son los **ciclos de hipoxia intermitente**, seguida de una **rápida reoxigenación**^{33,34}. (FIGURA 3).

Arnaud y col.³⁵, en consonancia con trabajos preliminares^{36,37} en modelos animales, al someterlos a hipoxia intermitente provocaron interacciones celulares con el endotelio.

La idea patogénica, prevalente en la actualidad, relaciona esta hipoxia intermitente con la activación del factor de transcripción nuclear kappa B (*NF-κB*) y, en menor medida, del factor inducido por hipoxia (*HIF-1*). (FIGURA 4).

NF-κB existe en la mayoría de las células en el citoplasma en una forma inactiva, unido al inhibidor *Iκ*. Ante un estímulo, se libera y trasloca al núcleo donde estimula la expresión de genes pro-inflamatorios, que codifican la respuesta de citoquinas (TNFα, IL-8, IL-6), moléculas de adhesión intercelular y enzimas (ciclooxigenasa-2) implicados en aterosclerosis. Ryan y col.^{38,39} estudiaron este fenómeno en 19 pacientes con AOS moderado y severo, sin otras comorbilidades asociadas, y en 17 controles. Demostraron activación de *NF-κB* así como aumento de TNFα en pacientes con AOS. Los niveles de este último descendieron tras 6 semanas con CPAP⁴⁰.

Existe otro mecanismo, una **respuesta adaptativa**, a través de la activación del factor inducido por hipoxia, *HIF-1*, que predomina en situaciones de hipoxia mantenida^{32,34}, aunque también se ha descrito en episodios muy numerosos y repetitivos de hipoxia intermitente y severa⁴¹ que acompaña al AOS. Una de sus consecuencias es una elevación de Eritropoyetina³⁴ y del factor de crecimiento endotelial (*VEGF*)⁴², potente citoquina de angiogénesis.

Este proceso no es tan simple, ambos factores interaccionan, además, la activación de cada uno también depende de las diferentes células tisulares.

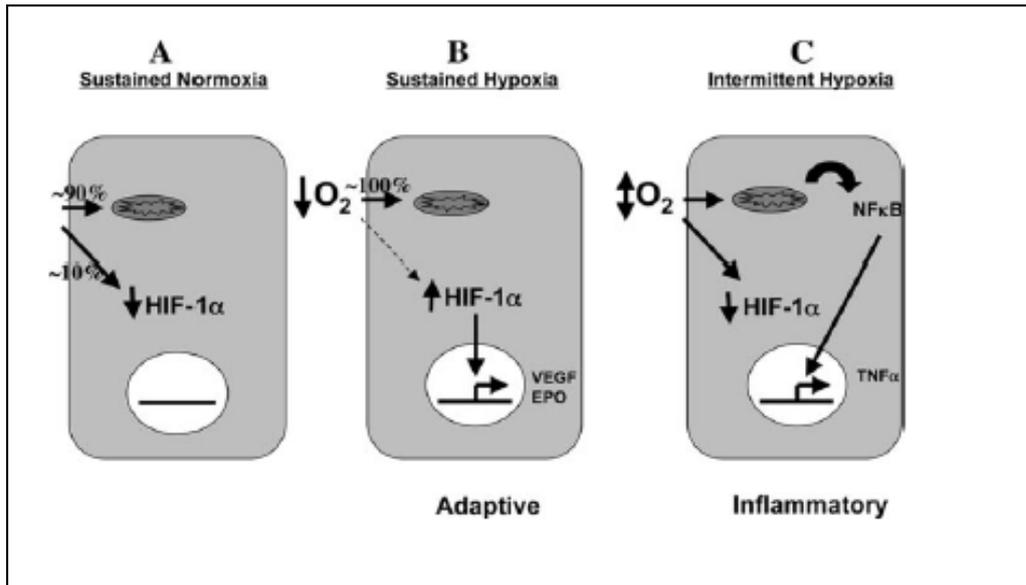


FIGURA 4. Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Selective activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Circulation* 2005; 112:2660-7.³⁸

Como vemos, existen numerosos estudios que relacionan AOS con inflamación sistémica y que han sido propuestos como responsables del aumento de enfermedades cardiovasculares: los principales hallazgos consistentes son los elevados niveles de citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión en comparación con controles así como un descenso de las mismas tras tratamiento con CPAP. Resumimos estos hallazgos:

- **TNFα.** Es una citoquina proinflamatoria, que orquesta la proliferación, diferenciación y muerte celular^{32,34}. Estas propiedades, junto su capacidad trombogénica, se han implicado en la formación de aterosclerosis. Producida por numerosas células inmunitarias, entre ellas, linfocitos T y monocitos. Induce la producción de molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM-1), molécula-1 de adhesión vascular (VCAM-1) y proteína-1 quimiotáctica de monocitos (MCP-1); proliferación y migración de células musculares lisas e induce la expresión de receptor-1 de LDL oxidada *lectin-like*⁴³. Se ha demostrado elevada en relación con la severidad de AOS, especialmente con el índice de hipoxemia, independientemente de IMC, edad y grado de somnolencia y descender tras tratamiento con CPAP^{44,45,46}. Pero también en otras patologías con excesiva somnolencia diurna como narcolepsia e hipersomnia idiopática que se han tratado con su antagonista, Etanercept⁴⁷.

- **IL-6.** Producida por múltiples células inflamatorias y adipocitos, induce la producción de PCR, mecanismo a partir del cual favorecería la aterosclerosis. En algunos estudios se ha relacionado con riesgo de mortalidad en pacientes con enfermedad coronaria inestable y con riesgo de infartos de miocardio en sujetos sanos^{48,49}. En AOS su papel es contradictorio. Minoguchi y col⁵⁰ y Yokoe y col.⁵¹, al igual que con PCR, detectaron niveles mayores en AOS y que también se correlacionaba con GIM y el tiempo de hipoxia. Ésta estimula la producción de IL-6 a través de la activación del factor NF- κ B^{52,53}, y, a su vez, estimula la producción de PCR por el hígado. Por lo tanto, la hipoxia promueve aterosclerosis en AOS.
- **IL-8.** Producida principalmente por monocitos activados. Favorece la adhesión de neutrófilos y monocitos al endotelio^{43,54}.
- **Moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1), y de adhesión vascular (VCAM-1),** producidas por una gran variedad de células, incluidas leucocitos y endoteliales e indicadores de la existencia de actividad de las mismas, se han demostrado elevadas en pacientes con AOS⁵⁵. Como en los estudios de Dyugovskaya y col.⁵⁶, normalizaron sus niveles tras tratamiento con CPAP en ocho pacientes.
- **Proteína C reactiva de fase aguda (PCR).** Factor inflamatorio implicado en la patogénesis de aterosclerosis al activar las células endoteliales y la proliferación de células musculares lisas en arterias coronarias. Induce la producción de la proteína quimiotáctica de los monocitos 1 (MCP-1) y la expresión de las moléculas de adhesión ICAM-1 y VCAM-1³¹⁻³⁴. Al ser uno de los parámetros a cuantificar en nuestro estudio, merece un capítulo aparte.

4. PROTEÍNA C REACTIVA, INFLAMACIÓN, ATEROESCLEROSIS Y AOS

4.1. FACTOR PREDICTIVO DE EVENTOS CARDIOVASCULARES

La Proteína C reactiva de fase aguda (PCR). Es un reactante de fase aguda que se produce en respuesta a procesos inflamatorios y lesiones tisulares, no solamente agudas, sino también en procesos crónicos inflamatorios: infecciones, traumatismos, cardiopatía isquémica, artritis y neoplasias.

Los niveles de PCR, medida por ensayos de alta sensibilidad, varían en relación con la edad, sexo y raza. El 70-90% de la población presenta concentraciones menores de 0,3 mg/dL (3mg/L)^{57,58}. Se considera niveles 0,3-1 mg/dL (3-10 mg/L) como elevaciones leves de PCR y aquellos con mayor de 1 mg/dL (10 mg/L) revelan la existencia de inflamación con significación clínica, generalmente, infecciones. Se detectaron procesos bacterianos es el 80% de pacientes con niveles mayores de 10 mg/dL. Es, por lo tanto, una prueba muy sensible pero poco específica.

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado una asociación entre los niveles elevados de PCR y la prevalencia de aterosclerosis, recurrencia de eventos cardiovasculares así como de los primeros episodios en sujetos con factores de riesgo cardiovascular⁵⁸. Es un factor predictivo independiente de dichos eventos tanto en sanos como en enfermos de dicha patología⁵⁹⁻⁶⁴, con un incremento de los mismos en personas con niveles > 0,3 mg/dL (3 mg/L) en comparación con niveles < 0,1 mg/dL (1 mg/L). La Asociación Americana de Cardiología y los CDC (Centers for Disease Control and Prevention) alcanzaron las siguientes conclusiones sobre la medición de PCR como factor predictivo de riesgo cardiovascular en pacientes asintomáticos (Clase IIa, nivel de evidencia B)⁵⁸:

- a) Bajo riesgo: PCR <0,1 mg/dL (1mg/L)
- b) Medio: PCR 0,1-0,3 mg/dL (1-3 mg/L)
- c) Alto: PCR >0,3 mg/dL (>3mg/L).

En pacientes con Síndrome Coronario Agudo, los niveles más elevados implican un peor pronóstico⁵⁸.

El desarrollo de la cascada inflamatoria en la patogénesis de la aterosclerosis favorece la producción de PCR que, a su vez, mantiene dicho proceso al activar las células endoteliales y la proliferación de células musculares lisas en arterias coronarias. Induce la producción de la proteína quimiotáctica de los monocitos 1 (MCP-1) y la expresión de las moléculas de adhesión ICAM-1 y VCAM1. Además, se une a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) permitiendo su captación por macrófagos³¹⁻³⁴. Por dicho motivo, existen discrepancias en considerar su elevación como un factor de riesgo de patología cardiovascular o, simplemente, como un marcador de la inflamación subyacente en dicha entidad.

En algunos estudios, los niveles de este marcador inflamatorio se han correlacionado con la extensión de la enfermedad aterosclerótica medida por Eco-Doppler de las arterias carótidas (Grosor de la Íntima-Media, GIM). Thakore y col.⁶⁵ demostraron que, en 2.885 participantes de la cohorte de Framingham, los niveles de PCR se correlacionaban significativamente con el GIM de la arteria carótida interna y de la estenosis de forma significativa, aunque no con esta medición en la arteria carótida común. Para Folson y col.⁶⁶ tampoco existió correlación entre ambos en grado significativo. Existen discrepancias, por lo tanto, en los diferentes estudios y controversia en si los niveles elevados de PCR serían un marcador de aterosclerosis avanzada en vez de aterosclerosis precoz que se detecta previamente por ultrasonografía carotídea.

4.2. PRODUCCIÓN

Se produce, fundamentalmente, en el hígado en respuesta a IL-6 (FIGURA 5). El tejido adiposo es una fuente de producción de IL-6, lo que lleva a un aumento de PCR en obesos. La obesidad es, por tanto, un estado inflamatorio de bajo grado. Los adipocitos producen IL-6 pero también PCR. En los grados severos de obesidad, el contenido y la producción de la misma es muy alta. También ocurre en síndromes metabólicos. Existen estudios en los que la pérdida de peso se asocia a disminución de los niveles de la misma.⁶²

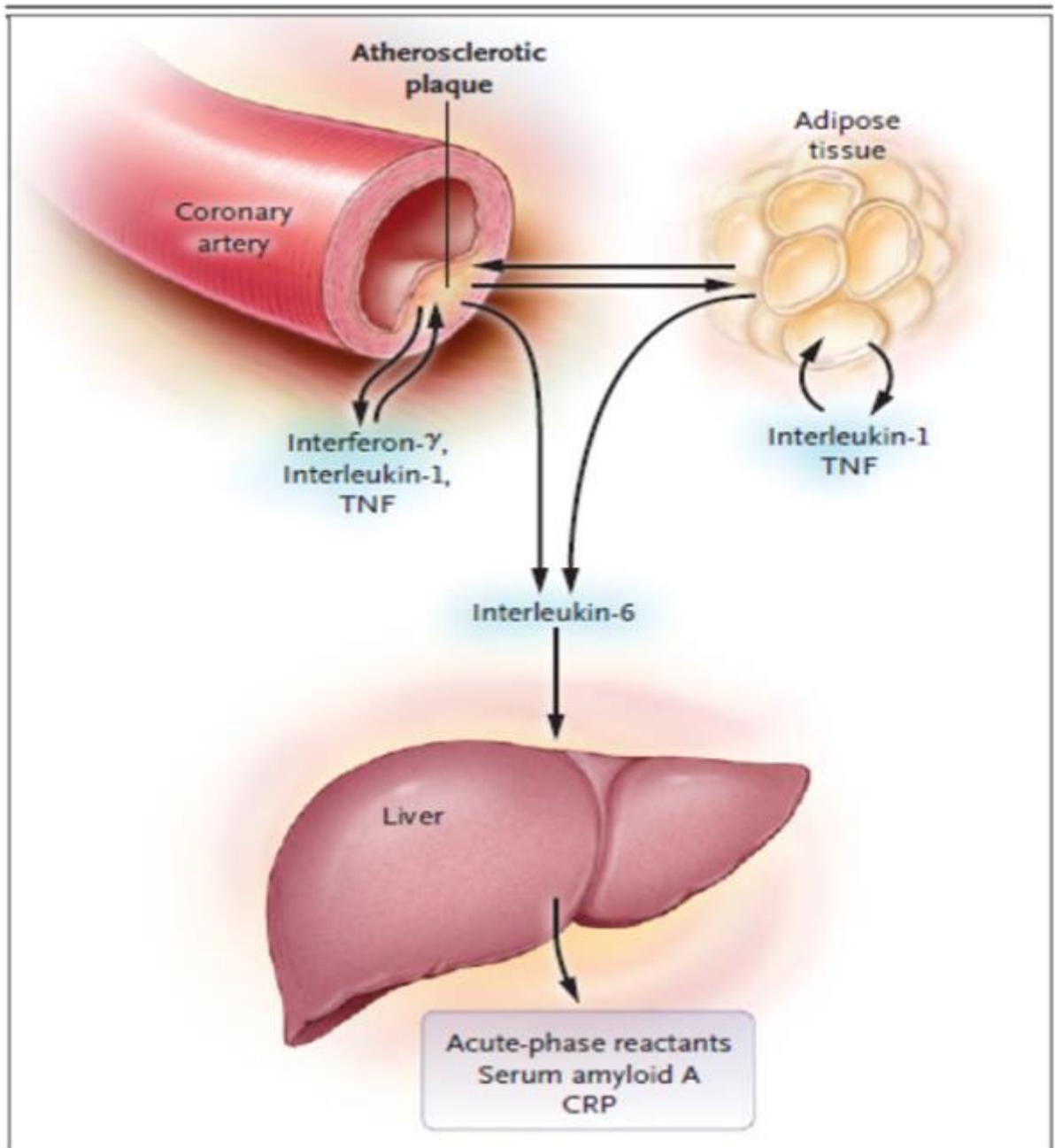


FIGURA 5. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. N Engl J Med 2005; 352: 1685-95.³¹

4.3. INTERACCIÓN AOS CON OBESIDAD

Como ya hemos apuntado, establecer una relación entre AOS y la patogénesis de enfermedades cardiovasculares ha sido difícil debido a los factores predisponentes coexistentes en esta población. La obesidad es un factor de riesgo cardiovascular, de diabetes y de mortalidad. Asimismo, es un factor patogénico para el desarrollo de AOS. Existe el doble de riesgo de desarrollarlo por cada 10 Kg de aumento de peso así como cuatro veces por cada 6 Kg/m² de aumento de IMC⁶⁷.

La obesidad, especialmente la visceral, es una situación crónica asociada con inflamación sistémica de bajo grado, como se demuestra por los niveles elevados de PCR e IL-6, IL-1, IL-8, TNF α , MCP-1⁶⁸ y leptina. Por el contrario, la adiponectina, otro péptido derivado de los adipocitos, tiene efectos antiinflamatorios. Su expresión es mayor en el tejido adiposo subcutáneo. Niveles reducidos de la misma se ha implicado en la diabetes y enfermedades cardiovasculares⁶⁸. Asimismo, se ha demostrado disminución de sus niveles en pacientes con AOS en comparación con controles, en proporción a la severidad de la hipoxemia nocturna⁶⁸. Kritikou y col.⁶⁹ compararon pacientes con AOS, hombres y mujeres con sobrepeso, con controles. Determinaron que, en el sexo masculino, la grasa visceral es la relacionada con AOS, mientras que en las mujeres es la totalidad del tejido adiposo, visceral y subcutáneo. El tratamiento con CPAP no modificó la composición de la misma⁶⁹⁻⁷². Por lo tanto, obesidad y AOS son estados proinflamatorios cuya coexistencia potencia sus efectos deletéreos.

4.4. PCR EN AOS

Los resultados respecto al AOS, por lo tanto, son discrepantes^{32,73-76}. La coexistencia de obesidad con AOS hace difícil discernir su papel. Varios estudios relacionan su elevación con ésta, como ya hemos visto, factor de riesgo *per se*⁷³⁻⁷⁷. Barceló y col.⁷⁵ compararon AOS severos obesos con AOS severos no obesos y con controles no obesos. Los niveles de PCR se encontraban elevados en AOS obesos frente a los otros dos grupos. En el análisis con regresión múltivariante, la obesidad fue el único factor relacionado con ellos. De la misma manera, también con sujetos controles, AOS leve-moderado y AOS severo emparejados por IMC, Ryan y col.⁷⁷, no detectaron diferencias significativas entre ellos, pero sí con otro grupo de AOS severos obesos (FIGURA 6). Además, identifican una relación independiente con la obesidad pero no con la severidad de AOS.

Tampoco Taheri y col.⁷⁸ en el *Wisconsin Sleep Cohort Study* con 907 adultos halló asociación entre PCR y AOS tras ajustar por edad, sexo e IMC.

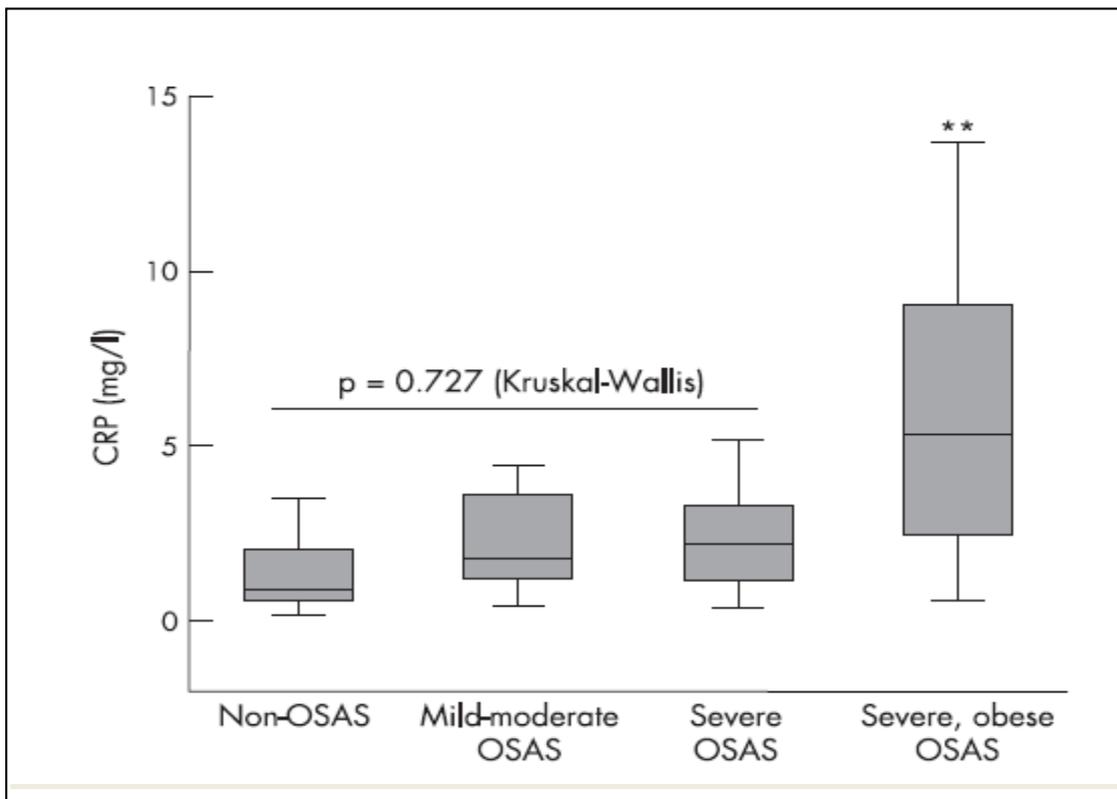


FIGURA 6. Ryan S, Nolan GM, Hannigan E. Cardiovascular risk markers in obstructive sleep apnoea syndrome and correlation with obesity. *Thorax* 2007; 62:509-14⁷⁷.

Sin embargo, Shamsuzzaman y col.⁷⁹ compararon un grupo control con otro con AOS sin otras comorbilidades encontrando diferencias significativas entre uno y otro. Los niveles de PCR estaban relacionados de forma independiente con la severidad de AOS (FIGURA 7).

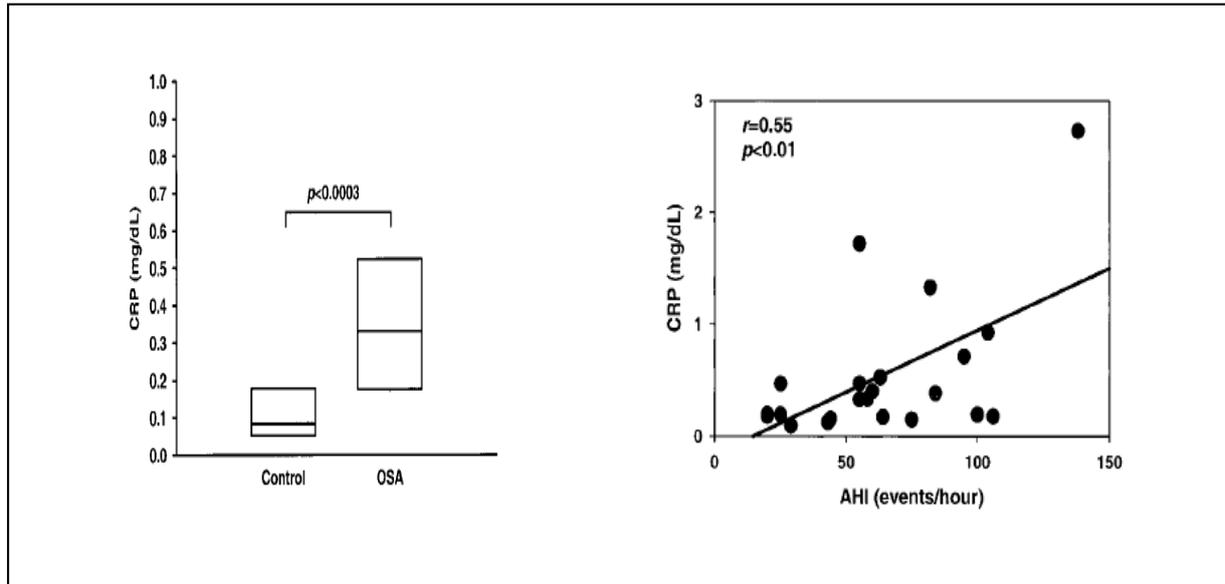


FIGURA 7. Shamsuzzaman ASM, Winnicki M, Lanfranchi P, Wolk R, Kara T, Accurso V, Somers V K. Elevated C-Reactive Protein in Patients with Obstructive Sleep Apnea. *Circulation* 2002; 105: 2462-4⁷⁹

Drager y col.⁸⁰ al comparar controles con AOS, todos ellos con síndrome metabólico, demostraron niveles elevados de PCR en AOS, independientemente del IMC.

Previamente, Minoguchi y col.⁵⁰ al comparar pacientes con AOS y obesos controles (similar IMC), habían demostrado que los niveles plasmáticos de PCR eran mayores en AOS y se correlacionaban significativamente con aterosclerosis subclínica medida por el Grosor de la íntima-media (GIM).

Ciccione y col.⁷³ compararon los niveles de marcadores inflamatorios, entre ellos PCR, así como el engrosamiento de la íntima-media carotídea, entre controles y pacientes con AOS sin otras comorbilidades. Existieron diferencias entre los grupos así como correlación con GIM.

En la población pediátrica, se objetivaron diferencias en la metilación del DNA, a nivel de genes inflamatorios, en los casos de AOS con niveles elevados de PCR (31) respecto a controles no AOS (31).⁸²

En un reciente Meta-análisis, Nadeem y col.⁸³, revisaron 512 estudios, 51 se incluyeron en el mismo, con un total de 5.736 participantes (2.784 controles y 2.952 con AOS). Concluyen que existen niveles elevados de PCR en AOS. Cuando aplican análisis de regresión confirman el valor, leve, pero significativo, de la edad, IMC y AOS como predictores de elevación de PCR. (FIGURA 8).

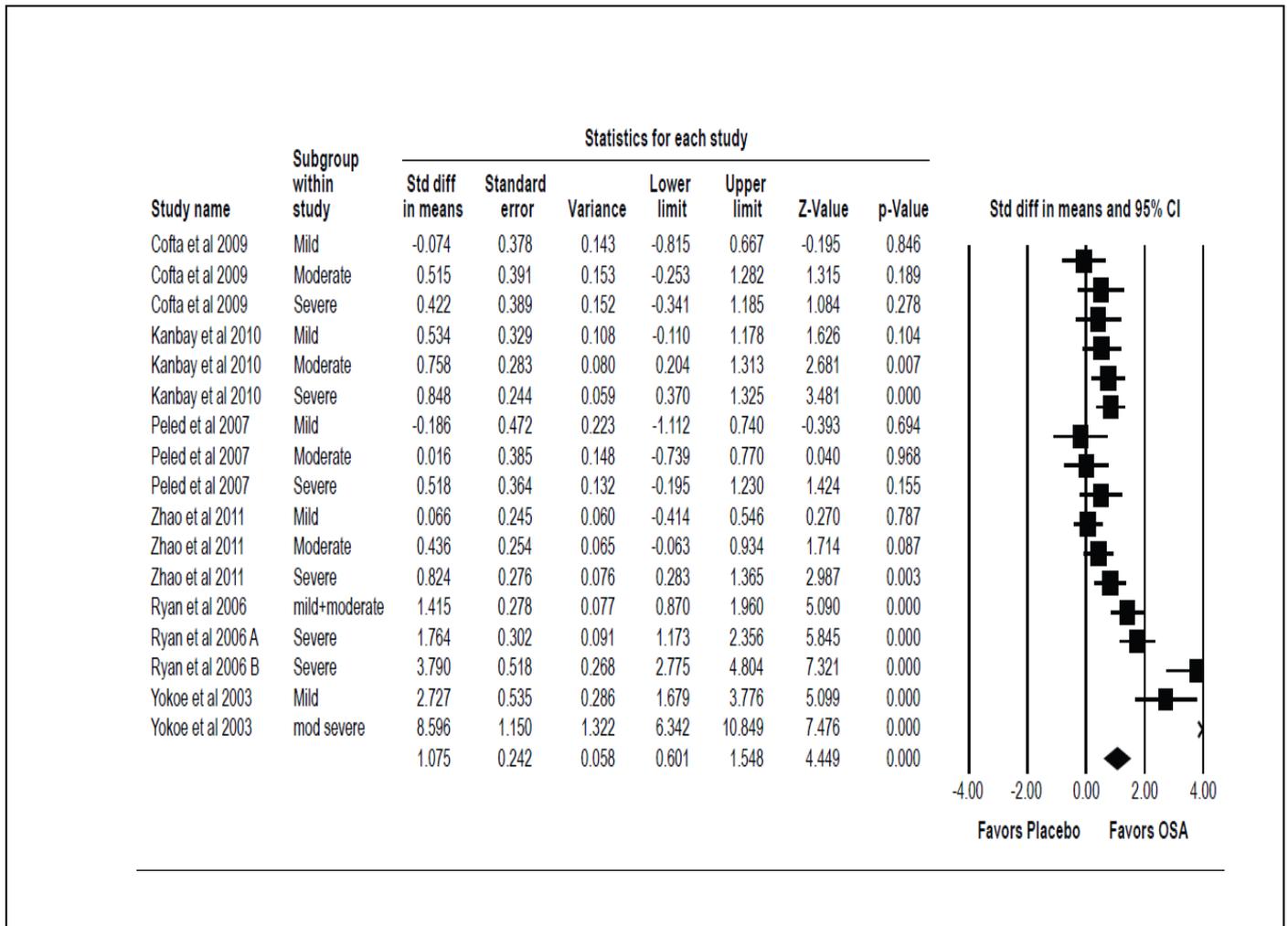


FIGURA 8. Nadeem R, Molnar J, Madbouly EM, Nida M, Aggarwal S, Sajid H, Naseem J, Loomba R. Serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea: a meta-analysis. J Clin Sleep Med 2013; 9 (10): 1003-12⁸³.

4.5. EFECTOS DE CPAP EN NIVELES DE PCR

Varios grupos han investigado los efectos de CPAP sobre estos marcadores inflamatorios. Los referidos Barceló y col.⁷⁵ y Ryan y col.⁷⁷, tras 3 meses y 6 semanas de tratamiento respectivamente, sin cambios en los niveles de PCR. Kohler y col.⁸⁴ en un estudio controlado randomizado sobre los efectos de este tratamiento en PCR, IL-6, IFN γ y adiponectina, en pacientes con AOS moderado y severo no encontraron cambios tras 4 semanas de tratamiento con CPAP a pesar de la mejoría de síntomas. Tampoco existieron diferencias entre el grupo con CPAP a presión terapéutica frente a la subterapéutica. (FIGURA 9). Por otro lado, en estudios posteriores sí que objetivaron mejoría de la disfunción endotelial⁸⁵.

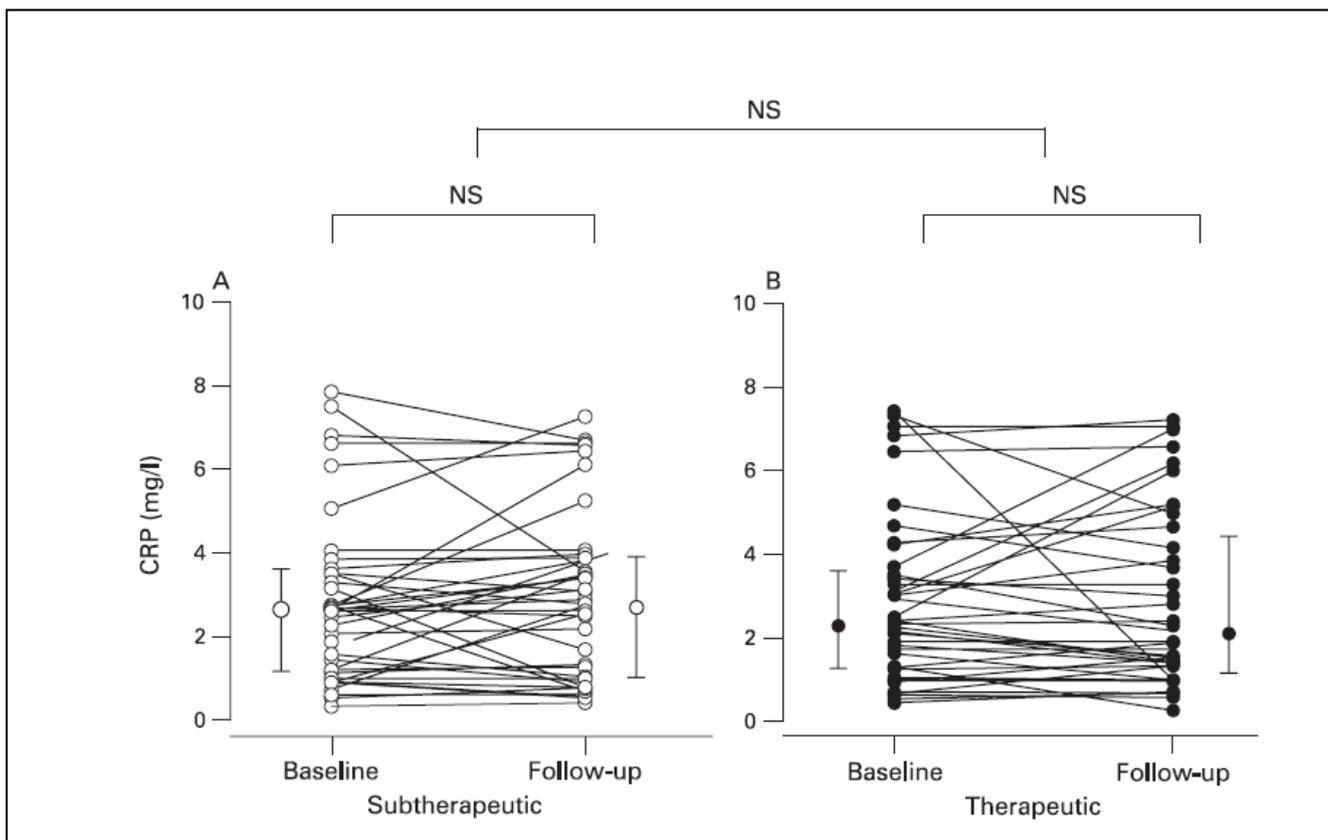


FIGURA 9. Kohler M, Ayers L, Pepperell JCT, Packwood KL, Ferry B, Crosthwaite N, Craig S, Siccoli MM, Davies RJO, Stradling JR. Effects of continuous positive airway pressure on systemic inflammation in patients with moderate to severe obstructive sleep apnoea: a randomised controlled trial. *Thorax* 2009; 64:67-7.⁸⁴

Los autores ya referidos, Kritikou y col.⁶⁹, demostraron elevación de marcadores inflamatorios, PCR, IL-6, leptina y resistencia a la insulina en AOS respecto a controles. También demostraron diferencias entre hombres y mujeres. Sin embargo, tras dos meses de tratamiento con CPAP mejoró la somnolencia pero no los niveles de dichos marcadores.

Colish y col.⁸⁶ en un estudio con 47 pacientes AOS severo y factores de riesgo cardiovascular, tras 12 meses de tratamiento con CPAP encontraron mejoría en la función cardiovascular, medida por Ecocardiografía y Resonancia Magnética, pero ausencia de cambios significativos en los marcadores sistémicos, entre ellos la PCR.

Tampoco encontraron cambios Akashiba y col.⁸⁷ tras 9 meses de tratamiento con CPAP

Chirinos y col.⁸⁸ randomizaron 146 pacientes con AOS moderado-severo, IMC >30 Kg/m² y PCR > 0,1 mg/dl. Durante 24 semanas, los grupos creados recibieron tratamiento dietético o CPAP o ambos. Al final del periodo de estudio se objetivo disminución de los niveles de PCR en el grupo con tratamiento dietético, y pérdida consiguiente de peso, y en el grupo con tratamiento dietético y CPAP. No existieron cambios en el caso de CPAP como único tratamiento. En el editorial de ese número Besner ⁸⁹ resume esos hallazgos.

Por el contrario, Drager y col.⁹⁰, que asignaron de forma randomizada tratamiento con CPAP o conservador a un total de 24 pacientes AOS severos, encontraron un descenso significativo de PCR tras CPAP durante 4 meses a diferencia del grupo control:

a) Con CPAP: $0,37 \pm 0,18$ mg/dl vs $0,20 \pm 0,12$ p=0,001

b) Tratamiento conservador: $0,31 \pm 0,28$ vs $0,33 \pm 0,27$ NS.

En este trabajo, y puede ser la causa de las discrepancias con el estudio de Kohler⁷⁴, no existían otras comorbilidades asociada

TABLA 2. Características de los principales estudios: AOS y PCR.

Autores/Año	N	Factores de riesgo CV	Valores PCR mg/dl	Resultados	Conclusiones
Shamsuzzaman y col. ⁷⁹ /2002	Control 20 AOS moderado-Severo 22	NO	0,09±0,12 0,33±0,15	PCR mayor en AOS. Correlación con IAH.	Asociación independiente con AOS.
Barceló col. ⁷⁵ /2004	Control 18 AOS obesos 23 AOS no obesos 24	SI	0,86±0,45 1,51±0,48 1,06±0,49 Log PCR	PCR mayor en AOS obesos que en AOS no obesos y normales.	PCR se correlaciona con obesidad, no con severidad AOS.
Minoguchi y col. ⁵⁰ /2005	Control 16 AOS leve 13 AOS moderado-Severo 23	NO	0,09 ± 0,02 0,15 ± 0,03 0,28 ± 0,04	Elevación de PCR en AOS.	Correlación PCR con IAH y con GIM.
Can y col. ⁷⁴ /2006	Control IAH<1: 30 Grupo 1: IAH >5: 30 Grupo 2: IAH<5: 32	SI	0,18±0,06 0,50±0,32 0,27±0,06	Diferencias entre grupos.	PCR se asocia con AOS.
Ryan y col. ⁷⁷ /2007	Control 30 AOS Leve-moderado 35 AOS Severo 31 AOS Severo/Obesidad mórbida 14	NO	0,11 (0,07-0,21) 0,18 (0,12-0,37) 0,22 (0,16-0,35) 0,5 (0,24-0,91)	No diferencia entre control/leve-moderado/severo. Sí en AOS severo obesos.	PCR se asocia significativamente con obesidad. No con AOS.
Taheri y col. ⁷⁸ /2007	907 Control AOS leve AOS moderado-severo	SI	Estudiar relación de PCR con duración del sueño y con AOS.	PCR mayor en mujeres. Correlación con edad e IMC.	No asociación entre PCR e IAH al ajustar por edad, sexo e IMC.
Sharma col. ⁷³ /2008	No AOS no obesos 23 No AOS obesos 45 AOS obesos/no obesos 29	NO	0,25±0,23 0,58±0,55 0,51±0,37	PCR mayor en obesos no AOS que en AOS.	PCR se asocia con obesidad. No con AOS
Drager y col. ⁸⁰ /2010	Control 33 AOS leve 34 AOS moderado 34 AOS severo 58	SI. Síndrome Metabólico	2,6 (1,3-3,2) AOS 3,9 (2,7-4,4)	Aumento de marcadores inflamatorios en AOS.	PCR se asocia con AOS. Independientemente de IMC.
Nadeem y col. ⁸³ /2013	51 estudios 5.736 sujetos (2.784 controles y 2.952 AOS).	Metaanálisis/ Metaregresión	Revisión de estudios en AOS respecto a marcadores inflamatorios.	Elevación de PCR en AOS.	Efecto modesto pero significativo de la edad, IMC y AOS.
Ciccone y col. ⁸¹ /2014	Control 40 AOS leve 26 AOS Moderado-Severo 54	NO	0,108±0,053 0,132±0,048 0,184±0,067	Elevación de PCR en AOS	Correlación PCR con GIM.

5. ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA Y GROSOR DE LA ÍNTIMA-MEDIA (GIM) CAROTÍDEA

5.1. ANATOMÍA DE ARTERIAS CARÓTIDAS

(ANEXO I) Y FIGURA 10: ANATOMÍA DE LAS ARTERIAS CARÓTIDAS.

5.2. MEDICIÓN DEL GROSOR DE LA ÍNTIMA-MEDIA CAROTÍDEA

El engrosamiento de la pared arterial se considera la fase temprana de la aterosclerosis, antes de que se produzca el compromiso de la luz vascular. A través de ecografía se puede detectar el grosor de la capa íntima-media de la pared carotídea (GIM; IMT). La GIM es la distancia entre la interfase luz-capla íntima y la interfase capa media-adventicia a ese nivel. Con la ecografía se determina, además, la existencia de placas de ateroma, su grosor y distribución. Se correlaciona bien con los hallazgos anatómicos. El GIM de la carótida común es la medida más reproducible y más utilizada en los diferentes estudios. (FIGURA 11).

A la edad de 10 años, el grosor de la íntima-media de la carótida común es de 0,4-0,5 mm aproximadamente. A partir de esta primera década esta estructura progresa a 0,7-1,5 mm.⁹¹ Existe una estrecha relación entre GIMc y edad. Se incrementa 0,01-0,02 mm cada año de vida⁹². La hipertrofia de la pared carotídea, o engrosamiento de la íntima-media (GIM) se define por un valor $>0,8$ mm⁹³.

La existencia de placas se define por GIM $>1,5$ mm o una estructura ecogénica que protruye hacia la luz con un GIM $>50\%$ que las áreas vecinas⁹³.

Otras mediciones se pueden realizar por medio de la Resonancia Nuclear Magnética, procedimiento mucho más costoso y complejo.

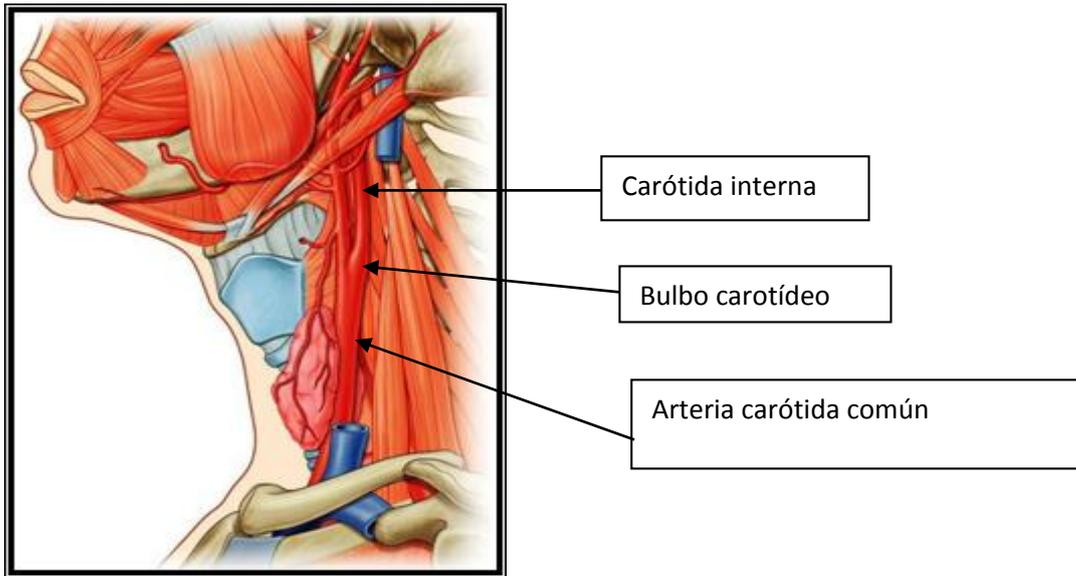


FIGURA 10. Anatomía de arterias carótidas. Estudio del Grosor de la Íntima-Media. Dr. Tomás Pérez Concha. Hospital de Cruces. Neurología. Unidad de Ictus. Powerpoint. Google Images.

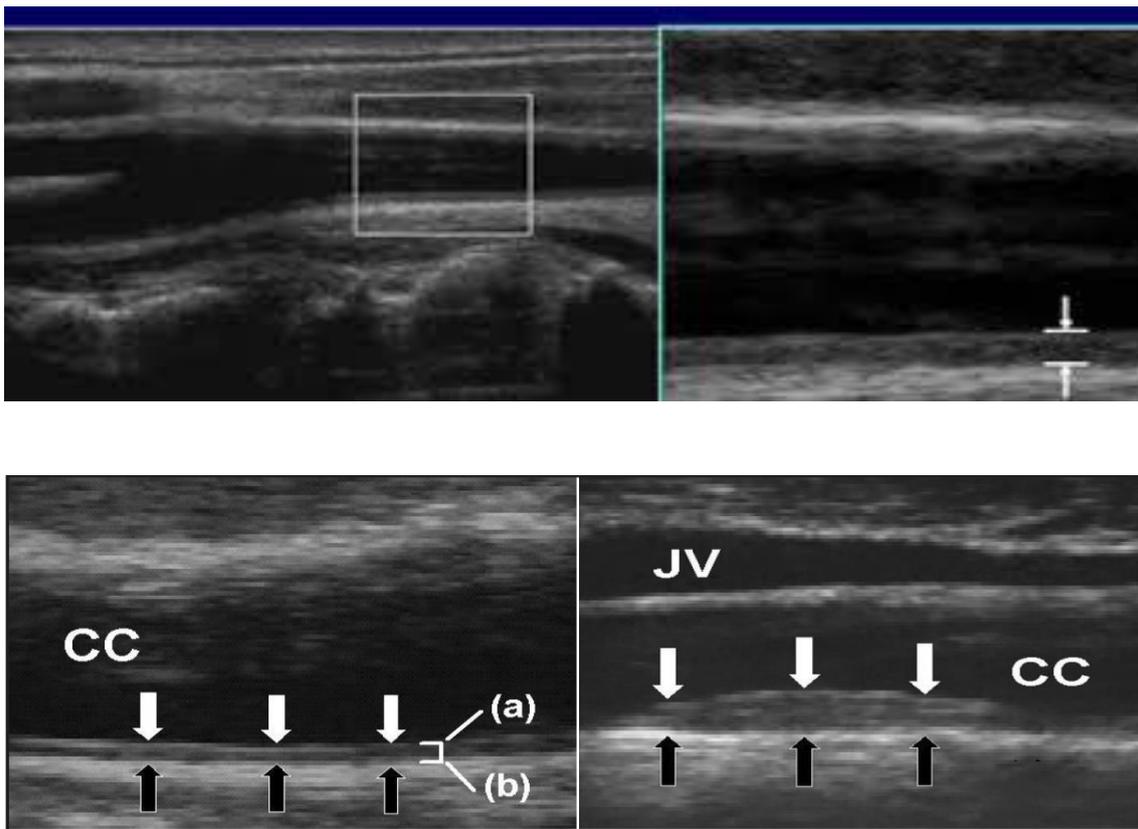


FIGURA 11. IMÁGENES ECOGRÁFICAS DE LA ARTERIA CARÓTIDA. Suzuki T, Nakano H, Maekawa J, Okamoto Y, Ohnishi Y, Yamauchi M, Kimura H. Obstructive Sleep Apnea and Carotid-Artery Intima-Media Thickness. Sleep 2004; 27 (1): 129-33.¹⁰⁶

5.3. GIM COMO FACTOR PREDICTIVO DE EVENTOS CARDIOVASCULARES

Un aumento del GIM se considera un marcador de lesión de órgano diana y un predictor del infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, incluso tras ajustar con otros factores de riesgo. La reducción en el grosor de la GIM se ha utilizado como objetivo primario en ensayos clínicos para evaluar la eficacia del tratamiento anti-ateroesclerótico.

La presencia de placas y el grosor de GIM se han utilizado para determinar categorías pronósticas en relación con riesgo CVS. Sin embargo, existen discrepancias en este aspecto.

Polak y col.⁹⁴ estudiaron con ecografía carotídea a 2.965 personas sin enfermedad, pero con factores de riesgo cardiovascular, y pertenecientes a la cohorte del estudio *Framingham Offspring Study*. Confirmaron que el engrosamiento de la pared carotídea (carótida común e interna) es un factor predictivo de evento cardiovascular. Sólo su existencia a nivel de la carótida interna o la presencia de placas modifica la clasificación de los modelos predictivos de riesgo cardiovascular existentes. (FIGURA 12).

Lorenz y col.⁹⁵, tras un seguimiento de 10 años de 4.904 sujetos del *Estudio de Progresión de Aterosclerosis Carotídea (CAPS)*, aun siendo predictora de eventos cardiovasculares, no modificaba la clasificación de riesgo de los individuos.

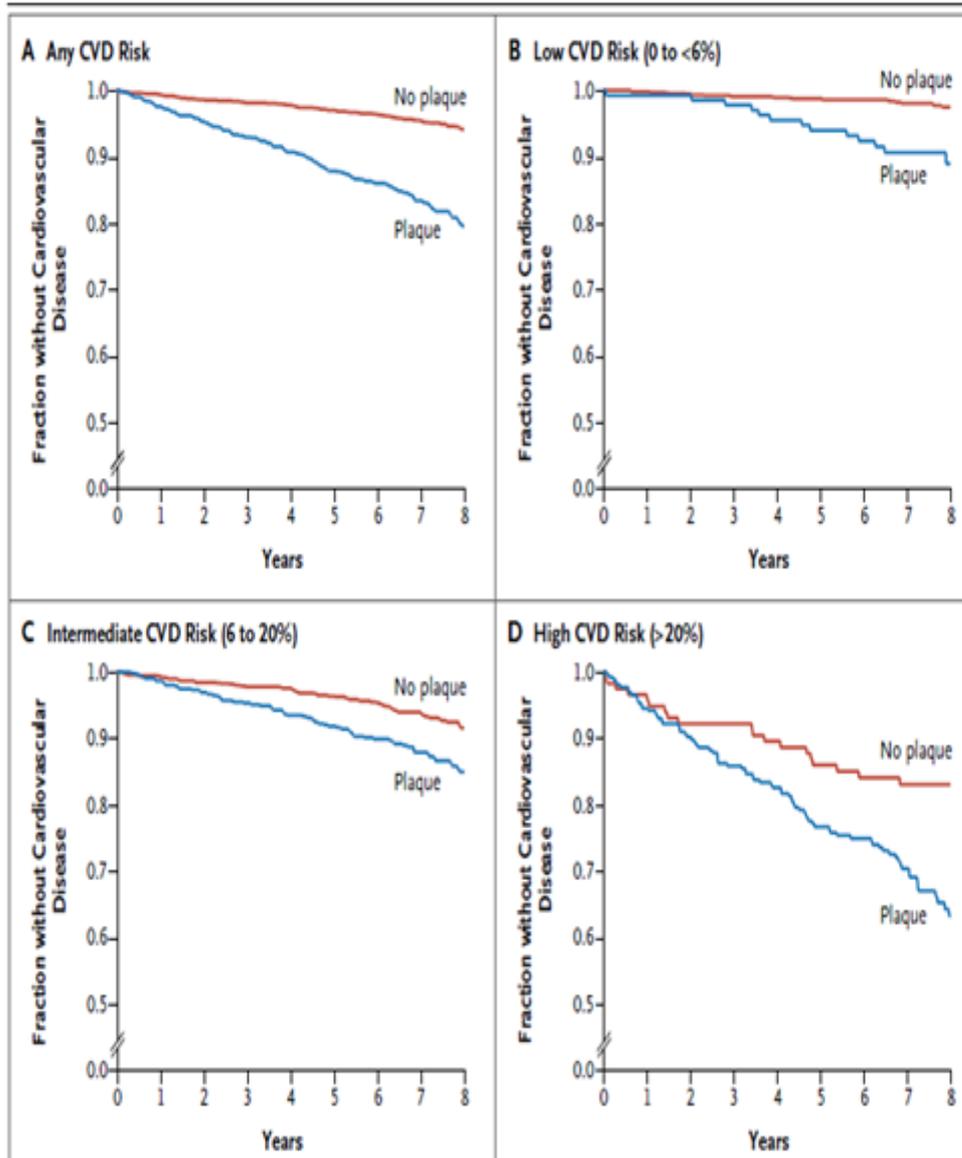


FIGURA 12. Polak J, Pencina MJ, Pencina KM, O'Donnell CJ, Wolf PA, D'Agostino RB. Carotid-Wall Intima-Media Thickness and Cardiovascular Events. *N Engl J Med* 2011; 365:213-21.⁹⁴

De forma similar, Berry y col.⁹⁶, estudiaron a 2.988 individuos pertenecientes al estudio *Desarrollo de Riesgo Coronario en pacientes jóvenes (CARDIA)* y 1.076 del estudio sobre *Aterosclerosis Multiétnico (MESA)*. Todos menores de 50 años. Evaluaron el riesgo a corto y largo plazo durante un seguimiento de 10 años. El grosor de la pared carotídea (GIM), tanto de la carótida común como de la interna, era mayor, $\approx 0,05$ mm, en el estudio inicial, en aquellos con riesgo bajo a corto plazo y alto a largo plazo respecto a los que tenían riesgo bajo a corto y largo plazo. En los primeros, a través del control del Calcio en Arterias Coronarias medido por TAC multidetector se detectó mayor progresión de la enfermedad subclínica.

Asimismo⁹⁷, en el estudio de *Salud Cardiovascular*, entre individuos >65 años, una diferencia de **0,20** mm en la carótida común, se asoció con un 40% mayor de riesgo de infarto de miocardio y accidentes cerebrovasculares.

Las guías del Colegio Americano de Cardiología consideran el engrosamiento de la pared carotídea un nivel IIa de recomendación para evaluación del riesgo cardiovascular⁹⁸.

Varios de estos grupos, en un proyecto colaborativo publicado en 2012,⁹⁹ realizaron un meta-análisis de estudios poblacionales que determinaban la progresión del engrosamiento íntima-media (GIM) como factor predictivo de eventos cardio-vasculares. Incluyeron 16 estudios con un total de 36.984 participantes con varias determinaciones separadas en el tiempo, máximo 7 años. El rango de progresión media en la carótida común fue de 0,001 a 0,30 mm/año. No encontraron evidencia de asociación entre progresión individual de cGIM y el riesgo de eventos cardiovasculares. El Hazard Ratio (HR) para riesgo cardiovascular fue 0,98 (95% CI, 0,95-1,01). Sin embargo, sí la encontraron con la media de cGIM. HR, para una diferencia de 0,10 mm, para riesgo cardiovascular fue 1,16 (95% CI, 1,10-1,22).

Es de destacar que contradice el estudio *Multiétnico de Aterosclerosis (MESA)*⁹⁶, que sí que detecta una asociación positiva entre la progresión anual de estas alteraciones y el riesgo de accidente cerebrovascular.

La explicación biológica o metodológica para estos resultados la encuentran en la dificultad para determinar la progresión, que es lenta, en jóvenes sanos y se acelera a medida que se añaden factores de riesgo. Esta medición podría estar, en etapas más avanzadas, enmascarada por la aparición de placas. Otras explicaciones serían las diferentes metodologías, protocolos de ECO-Doppler, diferentes poblaciones, distribución de edades y tiempos de seguimiento.

En un medio similar al nuestro, Jarauta y col.¹⁰⁰ describieron los valores medios y máximos de GIMc en los tres segmentos mejor estudiados: carótida común (CC), bulbo carotídeo (BC) y carótida interna (CI), en una población sin factores de riesgo cardiovascular. Estudiaron 138 sujetos entre 18 y 80 años y analizaron los datos por edades y por sexo. Los varones presentaron mayores GIMc medio y máximo respecto a las mujeres, La edad resultó ser el principal factor determinante en el engrosamiento carotídeo en todos los segmentos. Más acusado a partir de la quinta década de la vida en hombres y de la sexta en mujeres. Las diferencias entre sexos tendieron a desaparecer hacia la sexta década de la vida. También encontraron una asociación positiva entre él y las cifras de TAS y concentración de LDL.

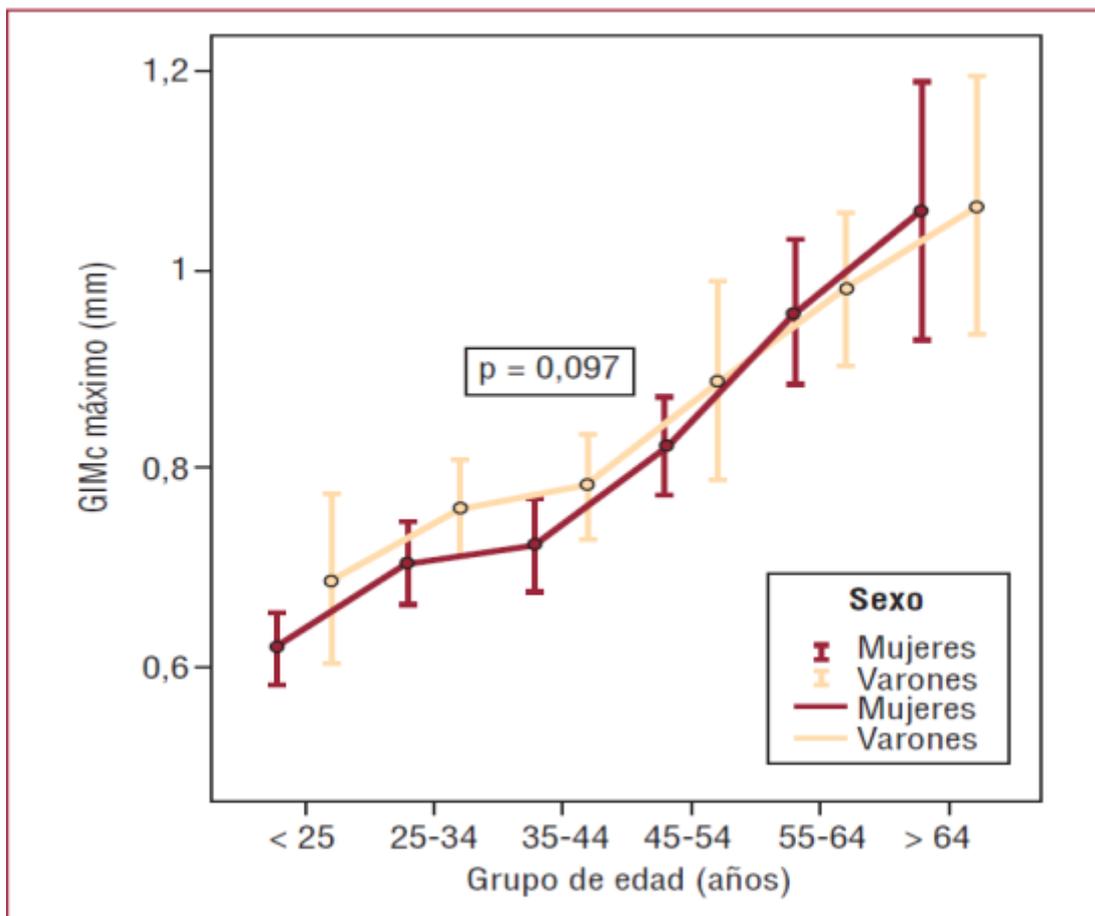


FIGURA 13. Jarauta E, Mateo-Gallego R, Bea A, Burillo E, Calmarza P, Civeira F. Grosor íntima-media carotídeo en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular. Rev Esp Cardiol 2010; 63 (1): 97-102.¹⁰⁰

6. ATEROESCLEROSIS Y GROSOR DE LA ÍNTIMA-MEDIA CAROTÍDEA (GIM) EN PACIENTES CON AOS

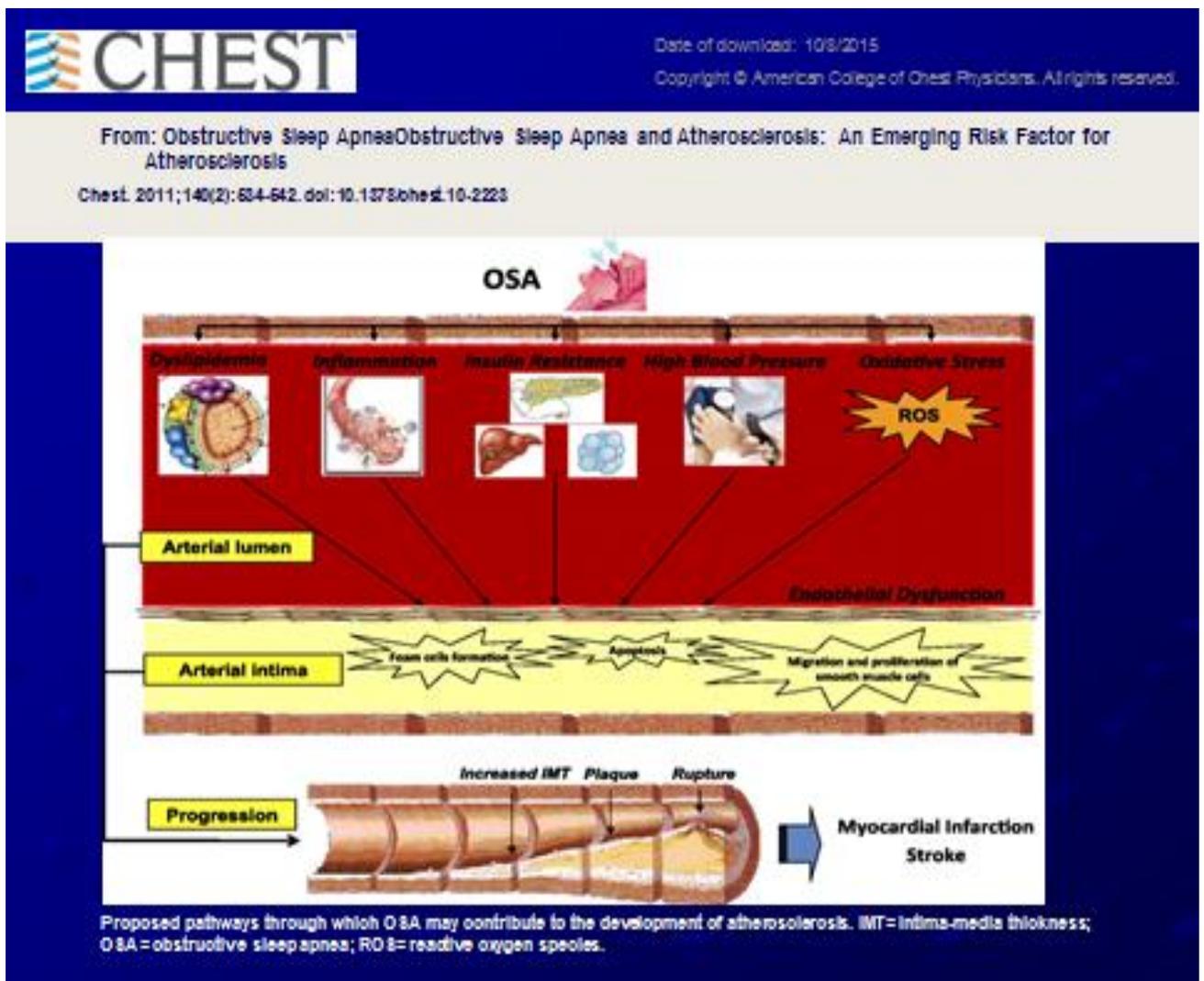


FIGURA 14. Drager LF, Polotsky VY, Lorenzi-Filho G. Obstructive sleep apnea. An emerging risk factor for atherosclerosis. Chest 2011; 140(2):534-42¹³¹.

6.1. ESTUDIOS DE ATEROESCLEROSIS EN PACIENTES CON AOS

Existen numerosos estudios que relacionan la existencia de AOS y la aterosclerosis subclínica independientemente de otros factores de riesgo cardiovascular. (FIGURA 14). Para ello, o bien excluyen previamente a pacientes con coexistencia de ellos, o bien ajustan los resultados atendiendo a ellos. La mayoría comparan grupos control con grupos con diferentes grados de severidad del AOS. Los hallazgos de algunas investigaciones centran la clave en la hipoxemia secundaria a la enfermedad frente a los índices de obstrucción (IAH). En otros, la existencia adicional de HTA estratifica subgrupos para comparaciones secundarias. Finalmente, algunos se centran en el tiempo de evolución del AOS e incluso en la existencia de roncopatía no acompañada de AOS severo.

En 2014, Gunnarson y col.¹⁰¹ publicaron un estudio prospectivo sobre 790 participantes provenientes del *Wisconsin Sleep Cohort Study*. Inicialmente se les había realizado una polisomnografía y al cabo de los años, media 13,5 (3,6), se les practicó una ecografía carotídea. Los autores concluyen que la existencia de AOS es un factor predictivo de GIM, si bien no es independiente, depende de otros factores de confusión como edad, IMC y existencia de otros factores de riesgo cardiovascular. Respecto a lo que sí el AOS es independiente es a la existencia de placas carotídeas.

En un metaanálisis publicado en 2013 Nadeem y col.¹⁰² concluyen que los pacientes con AOS presentan un aumento de GIM carotídea, y defienden la existencia de un proceso aterosclerótico subyacente. Sin embargo, en el análisis de regresión, también la elevación de GIM depende de otros factores tales como la edad, sexo, IAH y niveles de colesterol-HDL.

Expondremos detalladamente algunas investigaciones.

Como ya se ha descrito previamente, los trabajos de Arnaud y col³⁵ en animales han sido muy importantes. Sometieron a hipoxia intermitente a ratones con déficit de apolipoproteína E (ApoE-/-), unos sometidos a dieta rica en colesterol y otros a dieta estándar. Demostraron que la hipoxia intermitente, sin relación con la dieta, tenía efectos proaterogénicos.

Ya en 1985 y 1991 Partinen y Palomaki,^{28,27} describieron un riesgo relativo aumentado para ictus en pacientes con roncopatía.

Existen trabajos, como los de Lee y col.¹⁰³, con roncadores, a lo sumo, con AOS e IDO leve. Con la hipótesis de que las ondas oscilatorias de presión durante el ronquido se podían transmitir a los tejidos circundantes, la bifurcación carotídea. Esto produce daño a las células endoteliales lo que estimula la cascada inflamatoria y provoca cambios ateroscleróticos. Hay que conocer que el ronquido afecta al 15-54% de los adultos de edad media. Aplicaron ECO-Doppler de carótidas internas y comunes así como de arterias femorales a 110 participantes, roncadores y no roncadores. Como valor añadido, graduaron la severidad de la roncopatía, por tiempo respecto al sueño total.

En el estudio multivariante, la presencia de aterosclerosis carotídea se relacionó con edad, sexo, tabaquismo, hipertensión y tiempo de ronquido. En caso de roncopatía severa la OR ajustada fue muy elevada. IAH e hipoxemia no se correlacionaron. Respecto a la aterosclerosis femoral, el ronquido, al igual que el resto de parámetros de sueño, no se relacionó.

Estos autores consideran que se ha relacionado AOS con aterosclerosis pero que la historia de ronquidos puede ser anterior y representar un factor de riesgo independiente. De todas maneras, el grupo con hipoxemia nocturna es muy pequeño y puede infraestimar su efecto.

Silvestrini y col.¹⁰⁴ estudiaron 23 pacientes con AOS severo y los emparejaron con controles atendiendo a edad y factores de riesgo cardiovascular. Encontraron que GIM era mayor en pacientes con AOS que en controles.

Kaynak y col.¹⁰⁵, sin excluir factores de riesgo, compararon tres grupos: roncadores (N=37), AOS leve-moderado (N=41) y AOS severo (N=36). Los pacientes con AOS presentaban valores de GIM más altos que los roncadores aunque no existían diferencias entre AOS leve-moderado y severo. La edad y el IMC se relacionaron estadísticamente con GIM, no así con el RDI (índice de eventos respiratorios). Éste sí lo hizo con las placas de ateroma a nivel carotídeo.

Los trabajos de Suzuki y col.¹⁰⁶ en 167 pacientes, habiendo excluido a aquellos con EPOC o enfermedades cardio o cerebrovasculares, pero no los factores de riesgos cardiovascular, demostraron que la GIM se correlacionaba con la severidad de AOS y, especialmente, la hipoxemia secundaria al mismo (T90 y SaO2 min) de forma independiente al IAH.

Drager y col.¹⁰⁷ compararon un grupo control (N=12) con pacientes con AOS leve-moderado (N=15) y AOS severo (N=15). Todos libres de comorbilidades. Los datos de GIM en cada grupo fueron: $0,60 \pm 0,02$ mm; $0,58 \pm 0,03$ mm; $0,72 \pm 0,03$ mm, $p = 0,004$. También compararon la velocidad de onda de pulso y el diámetro carotídeo. Demostraron que los pacientes con AOS presentaban signos precoces de aterosclerosis y que éstos se correlacionaban con la severidad del AOS, medido por IAH, sugiriendo un papel independiente de esta enfermedad en la progresión de la aterosclerosis. (FIGURA 15).

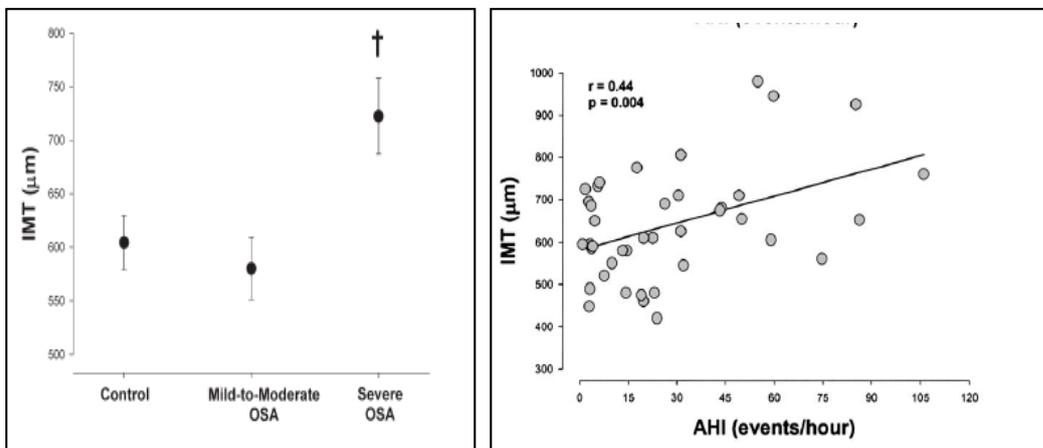


FIGURA 15. Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Figueiredo AC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Early Signs of Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea. Am J Respir Crit Care Med 2005; 172: 613-8.

Baguet y col.^{108,109} presentan varias publicaciones con pacientes recientemente diagnosticados de AOS sin antecedentes de eventos cardiovasculares ni HTA conocida. Compararon hipertensos, descubiertos durante el estudio, con normotensos. Al igual que otros estudios, concluyen que la hipoxemia ($\text{SaO}_2 < 92\%$) es uno de los factores predictivos del engrosamiento de la pared carotídea (OR 3,9 CI 1,1-12,7), mayor al ajustar por TA (OR 10,6 CI 1,6-50,9) y de la existencia de placas (OR 3,1 CI 1,0-9,4). Esta última, independiente de TA. Se agravan cuando coexisten ambas situaciones. (FIGURA 16).

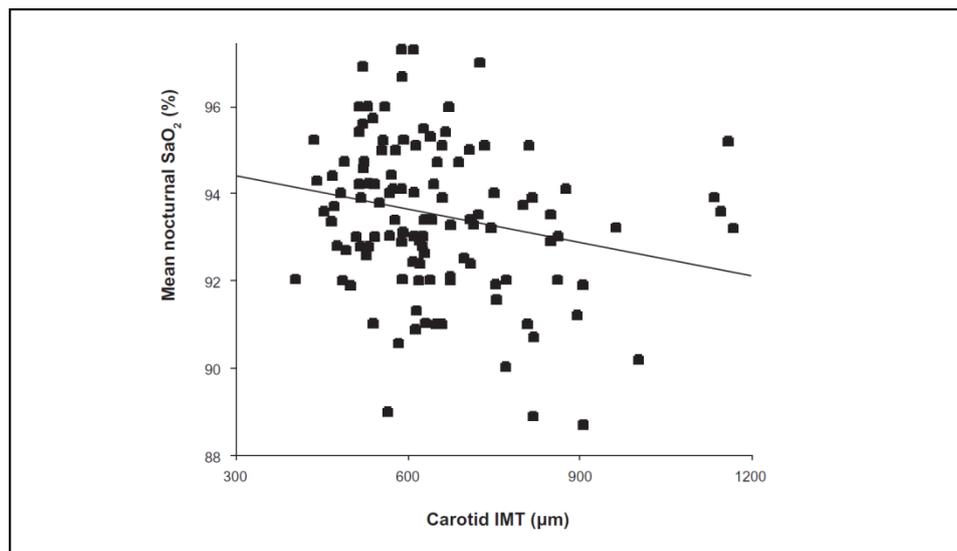


FIGURA 16. Baguet JP, Nadra M, Barone-Rochette G, Ormezzano O, Pierre H, Pépin JL. Early cardiovascular abnormalities in newly diagnosed obstructive sleep apnea. *Vascular Health and Risk Management* 2009;5 1063–1073.¹⁰⁹

Kylintireas y col.¹¹⁰ por medio de RNM estudiaron las arterias carótidas y la aorta. Comparan 58 pacientes AOS con 39 controles. Los emparejaron atendiendo a factores de riesgo cardiovascular y edad. Demostraron que en AOS existe mayor engrosamiento de la pared carotídea, así como mayor severidad de las placas, con mayor grado de vulnerabilidad.

El Índice de Desaturación de O₂ (IDO), fue el predictor independiente del engrosamiento de la pared carotídea y de la pared aórtica.

Como ya hemos visto previamente, Ciccone y col.⁸¹, tras exclusión de factores de riesgo, enfermedades cardiovasculares o inflamatorias, tabaquismo u obesidad mórbida, estudiaron a 80 pacientes con AOS y 40 controles. Demostraron diferencias estadísticamente significativas en relación a GIM entre AOS y controles (AOS $0,89 \pm 0,13\text{mm}$ vs $0,65 \pm 0,1 \text{ mm}$ en controles, $p < 0,01$). También había diferencias entre AOS moderado-severo ($0,95 \pm 0,09\text{mm}$) vs AOS leve ($0,76 \pm$

0,1 mm, $p < 0,01$). En pacientes AOS existió correlación entre GIM y los marcadores inflamatorios, IL-6, PCR, TNF α y Pentraxin (PTX-3). Estos autores, Ciccone y col.¹¹¹ estudiaron a 156 pacientes, sin excluir factores de riesgo, encontrando en el análisis multivariable que los factores predictores de GIM eran la edad, tiempo de evolución de AOS y la severidad de AOS.

Minoguchi y col.⁵⁰ estudiaron 36 pacientes con AOS y 16 controles, edad 25-66 años, excluyeron factores de riesgo cardiovascular. Encontraron aumento de GIM en pacientes con AOS comparados con obesos controles ($1,07 \pm 0,05$ vs $0,71 \pm 0,03$ mm, $p < 0,001$). Incluso existieron diferencias entre AOS moderados-severos con leves ($1,16 \pm 0,05$ mm vs $0,92 \pm 0,07$ mm, $p < 0,003$). También encontraron diferencias respecto a niveles de PCR, IL-6 e IL-18 entre ambos grupos. Encontraron correlación entre GIM carotídeo y los niveles de estos tres marcadores en plasma así como con la edad, severidad de AOS (IAH) y duración del tiempo en hipoxia, siendo éste último el mayor predictor independiente de GIM.

Estos autores también encuentran que 11,1% de los pacientes estudiados, en ausencia de factores de riesgo, presentaban placas calcificadas. (FIGURA 17).

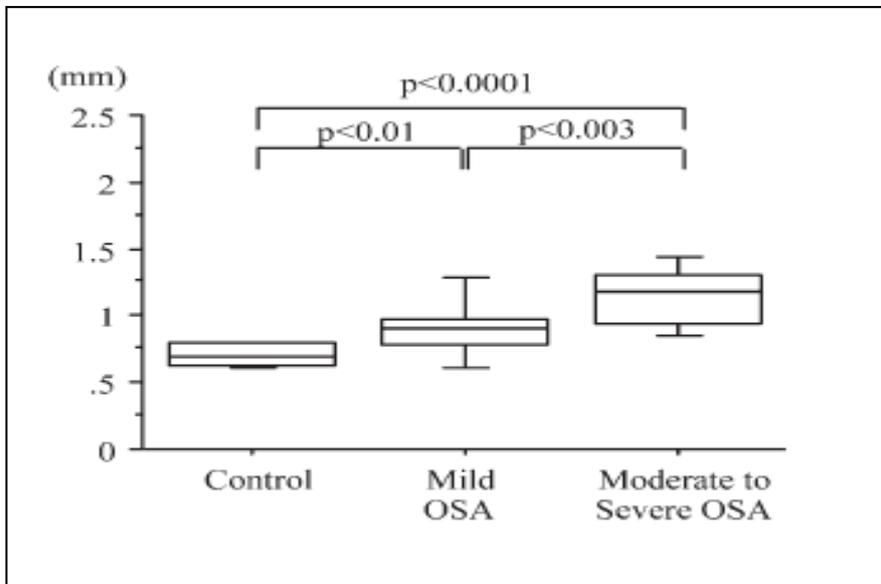


FIGURA 17. Minoguchi K, Yokoe T, Tazaki T, Minoguchi H, Tanaka A, Oda N, Okada S, Ohta S, Naito H, Adachi M. Increased carotid intima-media thickness and serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172 (5): 625-30⁵⁰.

De todos los estudios revisados, parece que, existiendo relación entre AOS y GIM, es más importante como factor predictivo la hipoxemia a que el propio IAH.

Por otro lado, parece ser más significativa la relación de AOS e hipoxemia con la existencia de placas. Es importante, por tanto, realizar estudios diseñados cuidadosamente en el que se incluyan sujetos sanos sin AOS y sujetos sanos con AOS. Todos ellos con un rango de edad fuera de los 55-60 años y sin factores de riesgo CVS conocidos (tabaco, HTA, diabetes, dislipemia y obesidad).

Drager y col.¹¹²⁻¹¹⁴, en un estudio multivariante demostraron que GIM se encontraba relacionado con HTA y AOS. Ambas tenían efecto aditivo en los marcadores de aterosclerosis. Estudiaron cuatro grupos, 22 controles, 25 AOS, 20 AOS+HTA y 27 HTA. Encontraron diferencias significativas respecto a GIM: $597 \pm 82 \mu\text{m}$ los controles, $713 \pm 117 \mu\text{m}$ en el grupo con AOS, $713 \pm 182 \mu\text{m}$ en el grupo con HTA y $837 \pm 181 \mu\text{m}$ en el grupo con AOS e HTA. ($p < 0,0001$). También se potencian los efectos en casos de Síndrome metabólico y AOS. (FIGURA 18).

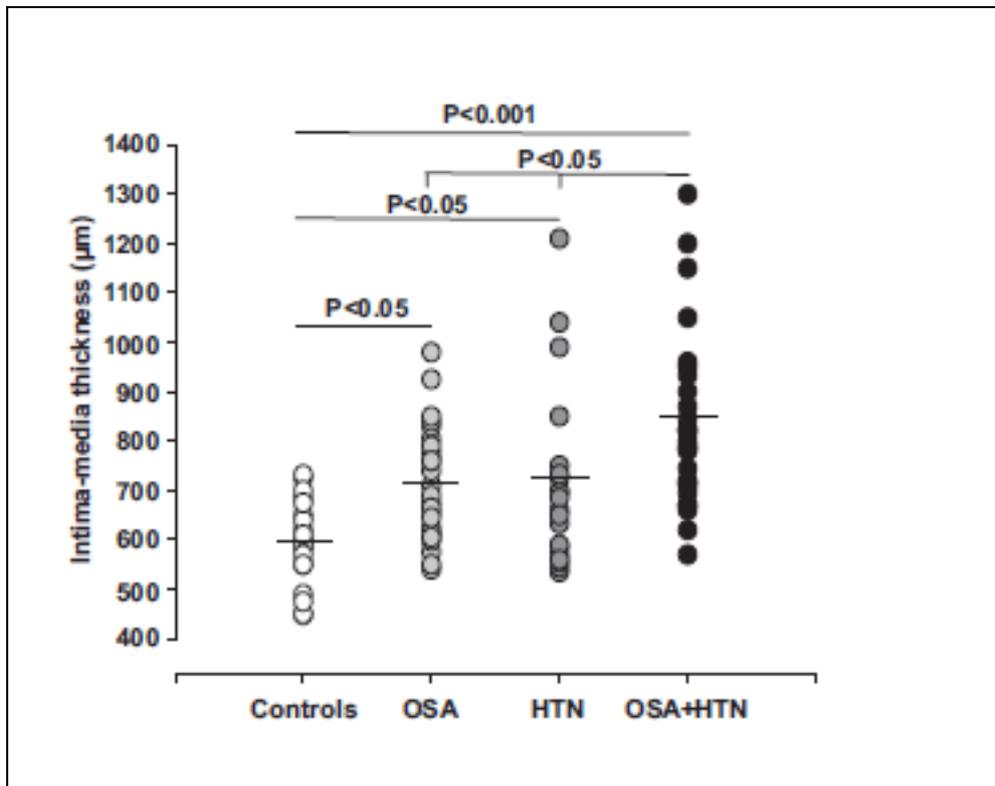


FIGURA 18. Drager LF, Bortolotto LA, Krieger EM and Lorenzi-Filho G. Additive Effects of Obstructive Sleep Apnea and Hypertension on Early Markers of Carotid Atherosclerosis. Hypertension. 2009;53:64-69.¹¹³

6.2. PRINCIPALES ESTUDIO AOS Y GIM

En la **Tabla 3** se exponen, de forma esquemática, los principales trabajos sobre este tema.

A pesar de que las metodologías y poblaciones son diferentes, y no siendo la comparación entre ellos el motivo de nuestro estudio, se observan valores mayores de GIM en las poblaciones con factores de riesgo.

TABLA 3. Características de los principales estudios. APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO Y GROSOR DE LA ÍNTIMA-MEDIA CAROTÍDEA

Autores /Año	N	Factor es de riesgo CV	GIM mm / Placas	Resultados	Conclusiones
Silvestrini y col. ^{104/2002}	Control 23 AOS severo 23	SI	1,42±0,34 0,97±0,17	Mayor en AOS No diferencia respecto a placas	GIM aumentada en AOS severo.
Kaynak y col. ^{105/2003}	Roncadores 37 AOS leve-moderado 41 AOS severo 36	SI	1,37±46 1,78±0,57 1,91±0,39	AOS > roncadores. No diferencias leve-moderado y severo	GIM relación con edad e IMC, no con RDI. Placas y RDI sí.
Suzuki y col. ^{106/2004}	AOS y controles 167	SI	Total 0,84±0,22	Hipoxemia relacionada con GIM.	Correlación severidad AOS: hipoxemia, independiente de IAH
Drager y col. ^{107/2005}	Control 12 AOS leve-moderado 15 AOS severo 15	NO	0,60±0,02 0,58±0,02 0,72±0,03	En controles y AOS leve-moderado niveles similares. Diferencias entre severos con el resto. No placas.	Correlación con severidad OSA
Baguet y col. ^{108/2005}	83 AOS -HTA -sin HTA	SI	0,70±0,13 0,65±0,13 Más placas en HTA	Hipoxemia relacionada con GIM y placas. Mayor OR al coexistir con HTA.	Hipoxemia es un factor predictivo independiente. Se agrava cuando coexiste HTA.
Minoguchi y col. ^{50/2005}	Control 16 AOS leve 13 AOS moderado-Severo 23	NO	0,71±0,03 0,92±0,07 1,16±0,05	Diferencias AOS- controles obesos. Correlación con IAH, tiempo de hipoxia, éste predictivo independiente. Placas en AOS.	Hipoxia el mayor factor predictivo. Correlación con marcadores inflamatorios.
Lee y col. ^{103/2008}	110 Roncadores -Leves -Moderados -Severos	SI	Ateroesclo sis 20% 32% 64%	Multivariable: edad, sexo, tabaquismo, HTA y ronquido.	Roncopatía severa es un factor de riesgo independiente de aterosclerosis.
					67

INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

CONTINUACIÓN TABLA 3					
Autores/ Año	N	Fact. riesgo	Objetivos	Resultados	Conclusiones
Drager y col. ¹¹³ /2009	Control 22 AOS 25 AOS+HTA 20 HTA 27	SI	0,59±0,08 0,71±0,11 0,83±0,18 0,71±0,18	Relación GIM com HTA y AOS.	AOS e HTA tienen efecto aditivo en GIM.
Ciccone y col. ¹¹¹ /2012	AOS y controles 156	SI 71% con CPAP. Categorizan GIM 0,9	Demostrar relación entre tiempo de evolución de AOS y severidad con GIM.	GIM Correlación IAH y tiempo evolución AOS	Factores predictivos: edad, tiempo AOS y severidad
Kylintireas y col. ¹¹⁰ /2012	Control 39 AOS 58 Estudio RM	SI	1,26±0,05 1,47±0,03	Mayor en AOS. Correlación con IDO.	Factor predictivo: IDO
Nadeem y col. ¹⁰² /2013	95 estudios incluidos.	SI	Meta-análisis. Regresión.	Mayor GIM en AOS. Regresión; edad, sexo, IAH y HDL.	Elevación GIM en AOS, pero factores de riesgo coexistentes.
Ciccone y col. ⁸¹ /2014	Control 40 AOS leve 26 AOS moderado-severo 54	NO	Comparación GIM entre grupos, correlación con marcadores inflamatorios.	AOS > control. AOS mod-severo > AOS leve. Correlación con marcadores inflamatorios.	GIM elevado en AOS.

6.3. ATEROESCLEROSIS EN PACIENTES CON AOS Y TRATAMIENTO CON CPAP

Existen varios trabajos comparativos entre grupos de pacientes con AOS y la evolución de la aterosclerosis tras un tiempo de tratamiento con CPAP.

Continuando con su línea de investigación, estudio de los signos precoces de aterosclerosis: engrosamiento del espesor de la íntima-media de la carótida (GIM); endurecimiento arterial (stiffness) y diámetro carotídeo, Drager y col.⁹⁰ publicaron sus estudios en pacientes con AOS severo y libres de comorbilidades. De forma randomizada aplicaron tratamiento con CPAP (N=12) o conservador (N=12) durante 4 meses. Mientras que no hubo modificaciones en los parámetros objeto de estudio en pacientes que siguieron tratamiento conservador, sí que los hubo en aquellos con tratamiento con CPAP: descensos significativos respecto a GIM: Grupo Control: 732 ± 164 a $740 \pm 150 \mu\text{m}$ (95% CI -20,69 a 36,86). Y grupo con CPAP: 707 ± 105 a $645 \pm 95 \mu\text{m}$ (95% CI -110,2 a -14,07, $p=0,04$), las diferencias entre grupos también permanecieron significativas, $p=0,02$. Además, también hallaron diferencias significativas en la velocidad de onda de pulso, PCR y catecolaminas. Hubo correlación entre el descenso del GIM y de las catecolaminas circulantes y en el aumento de la velocidad de onda de pulso con la reducción de catecolaminas y PCR. Estos autores concluyen que la CPAP mejora los marcadores de aterosclerosis y reafirman el papel de AOS como factor de riesgo cardiovascular. (FIGURA 19)

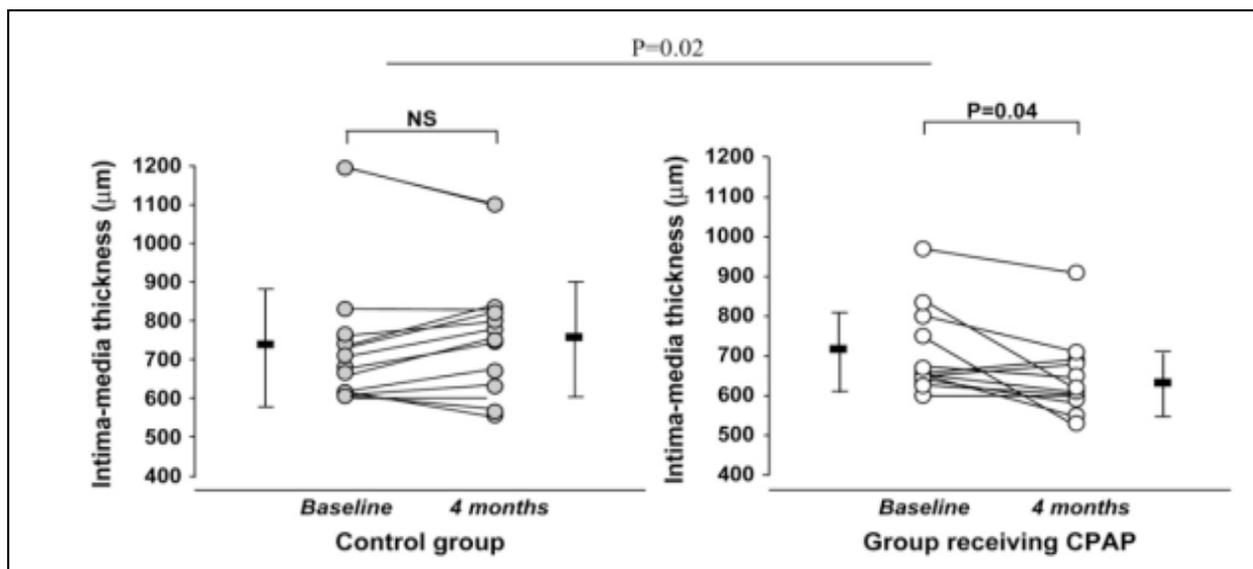


FIGURA 19. Drager LF, Bortolotto LA, Figueiredo AC, Krieger EM, and Lorenzi-Filho G. Effects of Continuous Positive Airway Pressure on Early Signs of Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 706–12.⁹⁰

Hui y col.115 en un estudio prospectivo observacional, compararon dos grupos con AOS severo, 28 pacientes utilizaron CPAP y 22 tratamiento conservador.

Inicialmente, no existían diferencias respecto a GIM ($0,757 \pm 0,03$ mm vs $0,760 \pm 0,03$ mm, $p= 0,952$). A los 6 y 12 meses de reevaluación, se objetivaron cambios en GIM sólo en el grupo con CPAP: ($-0,036 \pm 0,010$ vs $+0,009 \pm 0,010$ a los 6 meses, y $-0,053 \pm 0,020$ vs $+0,017 \pm 0,010$, $p=0,002$). Estos mismos hallazgos se obtuvieron tras excluir a pacientes con factores de riesgo cardiovascular.

Grupo con CPAP 12 (IAH $36,3 \pm 6,5$) y 12 (IAH $35,5 \pm 6,6$) sólo tratamiento conservador. Inicialmente, no existían diferencias respecto a GIM ($0,721 \pm 0,040$ mm vs $0,660 \pm 0,020$ mm, $p= 0,153$). A los 6 y 12 meses de reevaluación, GIM en el grupo con CPAP fue: $0,690 \pm 0,040$ mm y $0,659 \pm 0,030$ mm y en Grupo Conservador: $0,684 \pm 0,010$ mm y $0,690 \pm 0,020$, $p=0,006$.

Estos autores concluyen que la utilización y buena adherencia a CPAP obtiene una reducción de GIM, principalmente a los 6 meses y que es mantenida a los 12 meses. (FIGURA 20).

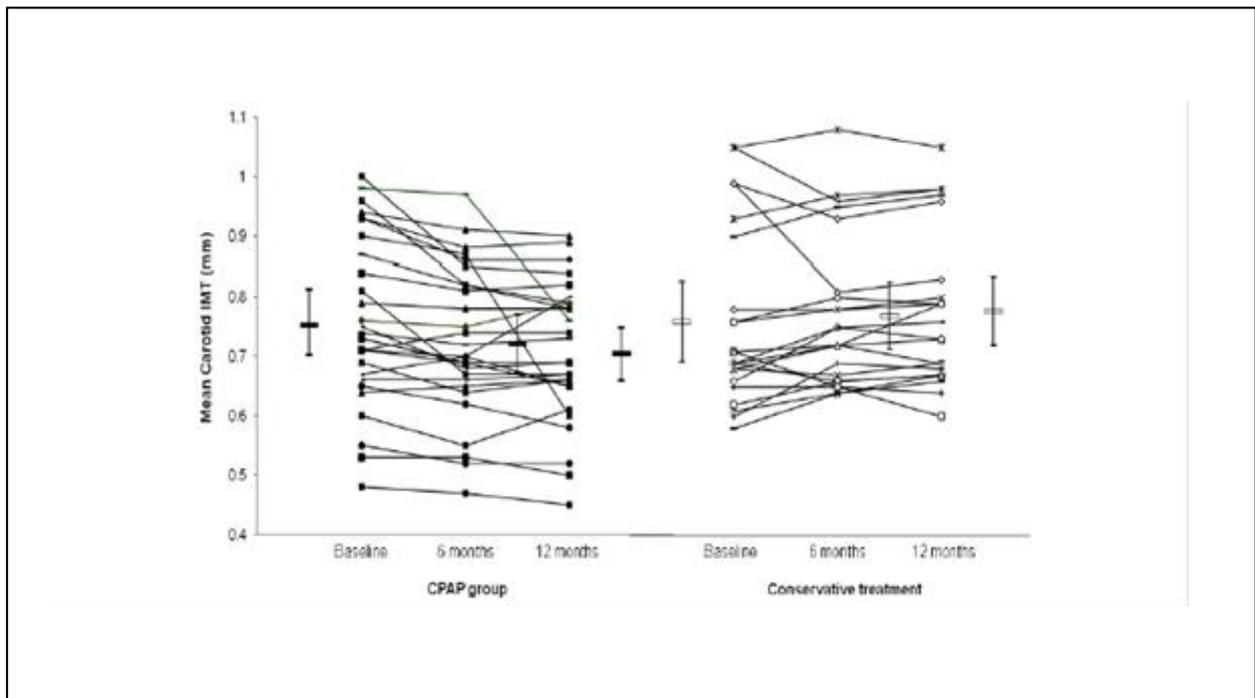


FIGURA 20. Hui DS, Shang Q, Ko FW, NG SS, Szeto CC, Ngai J, Tung AH, To KW, Chan TO, Yu CM. A prospective cohort study of the long-term effects of CPAP on carotid artery intima-media thickness in obstructive sleep apnea syndrome. Respiratory research 2012: 22-32115

II. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. JUSTIFICACIÓN

De la revisión de la literatura sobre la evidencia científica que establece la relación entre Apnea Obstructiva del Sueño (AOS), aterosclerosis subclínica, con su potencial mecanismo, la inflamación sistémica, podemos concluir:

1. Existen pocos estudios sobre Apnea Obstructiva del Sueño en pacientes sin otras comorbilidades.
2. El tamaño muestral de los existentes es pequeño.
3. El tiempo de seguimiento, para comparar los diferentes efectos del tratamiento con la actitud conservadora, es corto.
4. Los resultados no son concluyentes

2. HIPÓTESIS

1. La existencia de Apnea Obstructiva del Sueño es un factor de riesgo cardiovascular *per se*, independiente de otros con los que a menudo aparece asociado.
2. La Apnea Obstructiva del Sueño se asocia con un estado inflamatorio.
3. Los marcadores de aterosclerosis subclínica, medidos por el Grosor de la Íntima-Media (GIM) de la arteria carótida, se encuentran elevados en pacientes con AOS.
4. El tratamiento y corrección de AOS, por medio del dispositivo llamado CPAP (acrónimo de Continuous Positive Airway Pressure), mejora los parámetros de inflamación y aterosclerosis.

3. OBJETIVOS

Para demostrar la hipótesis de nuestro trabajo, nos proponemos los siguientes objetivos:

1. Establecer una cohorte de pacientes remitidos a la Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño con sospecha diagnóstica de Apnea Obstructiva del Sueño y sin otros factores de riesgo cardiovascular
2. Establecer una cohorte de sujetos sanos sin Apnea Obstructiva del Sueño de similares características (grupo control).
3. Determinar en qué grado contribuye AOS a la elevación de PCR, marcador inflamatorio, y comparar su efecto con el grupo control.
4. Determinar el grado de Aterosclerosis Subclínica, definida por parámetros de Engrosamiento de la capa íntima-media de las arterias carótidas (GIM), en pacientes con AOS y en el grupo control.
5. Determinar la evolución en el tiempo de estos marcadores en los subgrupos con diferente grado de severidad de AOS.
6. Determinar los factores clínicos y biológicos relacionados con el grado de aterosclerosis subclínica.
7. Evaluar el efecto de CPAP sobre los mecanismos inflamatorios y sobre la progresión de aterosclerosis subclínica.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO

Estudio descriptivo prospectivo sin intervención, con seguimiento a un año. Se desarrolla durante el periodo comprendido entre enero de 2013 y junio de 2015, por las Unidades de Trastornos Respiratorios del Sueño del Servicio de Neumología y de Investigación Traslacional del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza.

Forma parte de otro de mayor envergadura, *Modificaciones Epigenéticas y Ateroesclerosis Subclínica en pacientes con Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño, E.P.I.O.S.A.* ClinicalTrials.gov: NCT02131610. El protocolo de estudio ha sido publicado por Marín y col.¹¹⁶

2. POBLACIÓN A ESTUDIO

Se estudian sujetos remitidos a la Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño (UTRS) con sospecha de Enfermedades Respiratorias del Sueño, concretamente Apnea Obstructiva del Sueño (AOS), durante el periodo comprendido entre enero de 2013 y junio de 2015. Una vez diagnosticados, son reclutados aquéllos que cumplen los criterios de inclusión. El desarrollo del proyecto se realiza por parte de la Unidad de Investigación Traslacional.

La continuidad asistencial se mantiene por parte del Sistema Público de Salud y el tratamiento será pautado a criterio del facultativo especialista de Neumología que los remitió, atendiendo a las Guías Españolas de las Sociedades Científicas^{2,3}.

Al año de la primera visita, la Unidad de Investigación Traslacional los reevalúa de nuevo siguiendo el mismo protocolo de estudio.

➤ 2.1. PROCEDIMIENTOS DIAGNÓSTICOS DE AOS EN UTRS:

- Poligrafía nocturna domiciliaria.
- Titulación con ACPAP.
- Poligrafía nocturna vigilada y titulación.

Los pacientes con estudios polisomnográficos no son incluidos puesto que se llevan a cabo ante sospecha de otras enfermedades diferentes a AOS.

Por lo tanto, según indicaciones de las Guías de las Sociedades Científicas,^{2,3,117,132,133} ante la clínica de esta enfermedad y alta probabilidad *pretest*, se realizan Poligrafías Nocturnas con un dispositivo de tipo 3, Apnea Link Plus™, ResMed (ResMed Germany Inc.).

Las variables registradas son:

1. Flujo aéreo a través de un transductor de presión.
2. Bandas toraco-abdominales.
3. Posición.
4. Saturación arterial de O₂, mediante sensor transcutáneo, pulsioxímetro.
5. Frecuencia cardiaca.
6. Ronquido.

Los resultados de todos los estudios se analizan utilizando los criterios estándar:

- **Apnea** se define por la ausencia o reducción del flujo aéreo durante un tiempo igual o mayor a 10 segundos;
- **Hipopnea** como la reducción del flujo aéreo (>30% - <90%), de más de 10 segundos de duración, acompañado de descenso de la SaO₂ de 3%.

Las apneas e hipopneas obstructivas son aquellas con cese o reducción del flujo aéreo y presencia de esfuerzos respiratorios detectados por movimientos toraco-abdominales.

El índice apnea-hipopnea (IAH) se calcula por el número de estos episodios por hora del tiempo de registro.

Una vez realizado el diagnóstico, la titulación de presión necesaria suministrada por CPAP se obtiene a través de la utilización durante varias noches de auto-CPAP (Autoset-T; Resmed, Germany Inc.) de acuerdo con el procedimiento validado por el Grupo de Trastornos Respiratorios del Sueño de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).¹¹⁸

En caso de prescribirse una CPAP, la adherencia a la misma, se valora por el tiempo de uso de ella a través de su contador interno.

Todos los participantes son controlados con un nuevo estudio al año de su inclusión. La metodología es igual para los sujetos a los que no se ha prescrito CPAP. Para aquéllos que tienen indicado el tratamiento con este dispositivo, la poligrafía nocturna se realiza durante la aplicación del mismo.

2.2. DEFINICIÓN DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

2.2.1 AOS: Pacientes con diagnóstico de AOS, IAH ≥ 5 , y síntomas relacionados con ello, atendiendo a los Criterios de diagnóstico SEPAR y su clasificación^{1,2,3}:

- a) AOS LEVE: IAH: 5-14,9.
- b) AOS MODERADO: IAH: 15-29,9.
- c) AOS SEVERO: IAH: ≥ 30 .

Con edades comprendidas entre 20 y 65 años. En ausencia de otras comorbilidades o factores de riesgo (ver criterios de exclusión, apartado 2.3).

2.2.2 NO AOS: IAH < 5 .

Personas derivadas a nuestras consultas para descartar AOS. Con Poligrafías Nocturnas negativas. Sin otra patología del sueño ni comorbilidad concomitante.

2.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con edades entre 20-65 años.
- IAH ≥ 5 (grupo AOS) e IAH < 5 (grupo NO AOS).
- Aceptan participar en el estudio y firman el Consentimiento Informado.
- Disponibilidad para realizar controles pasado el tiempo de un año.

2.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Antecedentes de tabaquismo.
- Enolismo.
- Hipertensión arterial (HTA): tensión arterial sistólica ≥ 140 mmHg y/o tensión arterial diastólica ≥ 90 mmHg o tratamiento con antihipertensivos.
- Colesterol HDL < 40 mg/dL o colesterol LDL ≥ 130 mg/dL o tratamiento con antilipemiantes.
- Glucemia > 126 mg/dL o tratamiento antidiabético.
- Otras enfermedades metabólicas.

- Antecedentes de enfermedades vasculares: cardiopatía isquémica, ictus o aneurisma.
- Enfermedades autoinmunes.
- Historia de Neoplasias.
- Enfermedades inflamatorias crónicas (ej. E. Crohn).
- Enfermedades crónicas infecciosas.
- Enfermedades crónicas respiratorias.
- Tratamientos crónicos.
- Otras patologías del sueño.
- Cirugía previa de la vía aérea superior.
- Tratamiento previo con CPAP.

3. DESARROLLO DEL ESTUDIO POR PARTE DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL. RECOGIDA DE DATOS.

Una vez reclutados los pacientes por parte de los facultativos Neumólogos de la Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño (UTRS), el desarrollo del Proyecto de Investigación se lleva a cabo por los Componentes del Equipo de la Unidad de Investigación Traslacional (Grupo Consolidado GB97 DGA.)

➤ 3.1. PRIMERA CONSULTA A LA POBLACIÓN RECLUTADA. PROCEDIMIENTOS.

Por medio de una exhaustiva entrevista, anamnesis y exploración, se cumplimenta un cuestionario, diseñado para este estudio, con datos socio-demográficos y antropométricos. Se reevalúa la existencia de otras comorbilidades, antecedentes personales y familiares así como en la prescripción y consumo de fármacos. Asimismo, se indaga sobre la realización habitual de ejercicio, hábito tabáquico, consumo de alcohol o de otras sustancias tóxicas.

A pesar de formar parte del procedimiento diagnóstico de la consulta de UTRS, se revisa de nuevo la clínica de somnolencia diurna, que se puntúa a través de la Escala de Somnolencia Diurna de Epworth. (ANEXO II)

También la medición de la Tensión Arterial¹¹⁹ y la Espirometría son llevadas a cabo por el personal investigador, atendiendo a las guías internacionales y siguiendo los criterios estándar.^{120,121}

3.2. ESCALA DE SOMNOLENCIA DIURNA DE EPWORTH

Escala de Somnolencia Diurna de Epworth¹²²⁻¹²⁵:

Es el cuestionario más utilizado, sencillo y práctico. Determina la probabilidad de quedarse dormido en una variedad de situaciones diarias.

Se valoran ocho, el paciente puntúa de 0 a 3 (de menos a más) la probabilidad de dormirse. Una puntuación global ≥ 10 es indicativa de Excesiva Somnolencia Diurna. Sin embargo, se debe ser cauto a la hora de interpretar los resultados, no siempre se correlaciona con la severidad de AOS ni con la somnolencia medida objetivamente por otros métodos de evaluación³. (ANEXO II)

3.3. Hoja informativa y Consentimiento informado (ANEXO III).

3.4. Electrocardiograma (ECG): valiosa herramienta de información sobre situación cardiológica.

3.5. ESPIROMETRÍA: Análisis, bajo circunstancias controladas, de la magnitud absoluta de los volúmenes pulmonares y la rapidez con que éstos pueden ser movilizados (flujos aéreos). La información obtenida es importante, en este caso, para confirmar una correcta capacidad funcional respiratoria.

- Capacidad Vital Forzada (FVC): Indicador de capacidad pulmonar, es el volumen de aire expulsado durante la maniobra de espiración forzada. Se expresa en Litros (L) y porcentaje % respecto a los valores de referencia.
- Volumen máximo espirado en el primer segundo (FEV1): Se expresa en Litros (L) y porcentaje (%), respecto al valor de referencia.
- Cociente FEV1/FVC: volumen de aire expulsado durante el primer segundo (FEV1) respecto al máximo volumen que puede ser expulsado durante la maniobra de espirometría forzada (FVC).
- Prueba broncodilatadora (PBD). Consiste en la repetición de la espirometría forzada tras 15 minutos de haber administrado un agente beta-2-adrenérgico de acción rápida, o 30 min de bromuro de ipratropio, en aerosol a dosis terapéuticas. Se considera clínicamente significativa cuando FEV1post-broncodilatador es $\geq 12\%$ y $\geq 0,2$ L del valor basal.

- 3.6. Cooximetría: Determinación de la cantidad de Monóxido de carbono (CO) exhalado¹²⁶: partes por millón (ppm). El punto de corte entre fumadores y no fumadores se establece en 10 ppm situándose los fumadores por encima de esta cifra. En fumadores esporádicos los niveles de CO encontrados se sitúan entre 5 y 10 ppm, mientras que en no fumadores los niveles son inferiores a 5 ppm. Lo utilizamos, en este caso, para la confirmación de ausencia de tabaquismo activo.
- 3.7. Bioimpedancia eléctrica¹²⁷⁻¹²⁹: medición de la composición corporal. A través de una corriente eléctrica débil, de 50kHz y menos de 500µA. Se basa en el principio de que el tejido adiposo presenta poca conductividad eléctrica, a diferencia de los vasos sanguíneos, huesos y músculos. Detecta el porcentaje de tejido adiposo, de tejido adiposo visceral y de tejido muscular. (Omron, BF511, Body Composition Monitor, Omron Healthcare Co. LTD, Japan).

3.8. **Imágenes de Aterosclerosis Subclínica**

Grosor de la íntima-media de la carótida (GIM, IMT= Intima-media thickness)

Al inicio y al año siguiente se valora el GIM en todos los sujetos a través de ultrasonografía (IU22 Philips, © 2012 Koninklijke Philips Electronics N.V. Royal Philips Electronics, The Netherlands).

Se obtienen imágenes a través de sondas lineales ecográficas bidimensionales de alta frecuencia siguiendo el protocolo del Estudio de Bioimagen¹³⁰.

Se visualiza a través de ecógrafos modo B (*brightness*) por medio de transductores para estructuras vasculares y superficiales (rangos de frecuencia 5-15 MHz). La resolución obtenida es de 0,044 mm axial y 0,25 mm lateral. Las imágenes se obtienen al final de la diástole (onda R del Electrocardiograma). Se define por dos líneas hiperecogénicas separadas por zona hipoecógena, y la medición pertenece a la pared distal de ambas carótidas comunes y del bulbo carotídeo. Se obtiene la media de varias mediciones en diferentes segmentos y ángulos. La media de 3 medidas es el valor de GIM a ese nivel.

3.9. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS:

Análisis de laboratorio

- Al comienzo del estudio, y al año, se incluyen muestras de sangre en tubos serum gel, EDTA, sodium fluoride y Paxgene W (PreAnalytix GmbH, Switzerland).
- Por medio de espectrofotometría se analizan la glucosa sérica, triglicéridos, colesterol total y HDL (Chemical Analyzer ILAB 650, Instrumentation Laboratory) así como apolipoproteínas A y B por nefelometría quinética (Immunochemistry Analyzer IMMAGE 800, BeckmanCoulter).
- En las primeras dos horas de la recogida de la muestra a través de la técnica de inmunturbidimetría se mide la Proteína C Reactiva (PCR) de alta sensibilidad. Se basa en la metodología NIPIA (highly sensitive Near Infrared Particle Immunoassay) (IMMAGE 800 High Sensitivity Cardiac C-Reactive proteína; BeckmanCoulter; San Diego, USA). Una partícula cubierta de anticuerpos anti-CRP se une a las moléculas de CRP presentes en la muestra del paciente, lo que genera la formación de agregados no solubles que provocan turbidez. La velocidad de formación de estos agregados no solubles es directamente proporcional a la concentración de PCR en la muestra. Este ensayo tiene un límite de detección analítico de 0,006 mg/dL y una sensibilidad funcional de 0,011mg/dL.

➤ 3.10. SEGUNDA CONSULTA A LA POBLACIÓN RECLUTADA

En el periodo comprendido entre la primera y segunda visita, un año, cada sujeto ha seguido las recomendaciones y tratamientos indicados por su Especialista de Neumología correspondiente, según las recomendaciones de las Sociedades Científicas (Guía SEPAR)^{2,3}.

Se realizan los mismos procedimientos que en la primera consulta, anamnesis, exploración, nueva poligrafía respiratoria, analítica y ecografía carotídea. Se recogen los datos de estas nuevas variables y se comparan con los de la primera consulta. Asimismo, se determina si al paciente se le ha prescrito CPAP, caso de que así sea, el tiempo de utilización de la misma. Establecemos un límite entre adherencia óptima y no óptima en cuatro horas de uso cada noche, tras la medición del contador interno del dispositivo, según normativas SEPAR^{2,3}.

Asignación del sujeto en grupos según la utilización de CPAP:

- a) No prescripción de CPAP, ausencia de indicación por ser pacientes sin AOS o AOS de carácter leve o moderado.
- b) Prescripción de CPAP y utilización de la misma un tiempo mayor o igual a 4 horas por noche, de media. Indicación de CPAP por AOS severo o AOS moderado, sintomático.
- c) Ausencia de prescripción de CPAP, por diferentes circunstancias, o utilización de la misma menos de 4 horas por noche, de media. Indicación por AOS severo o AOS moderado sintomático.

DIAGRAMA DE FLUJO DEL ESTUDIO

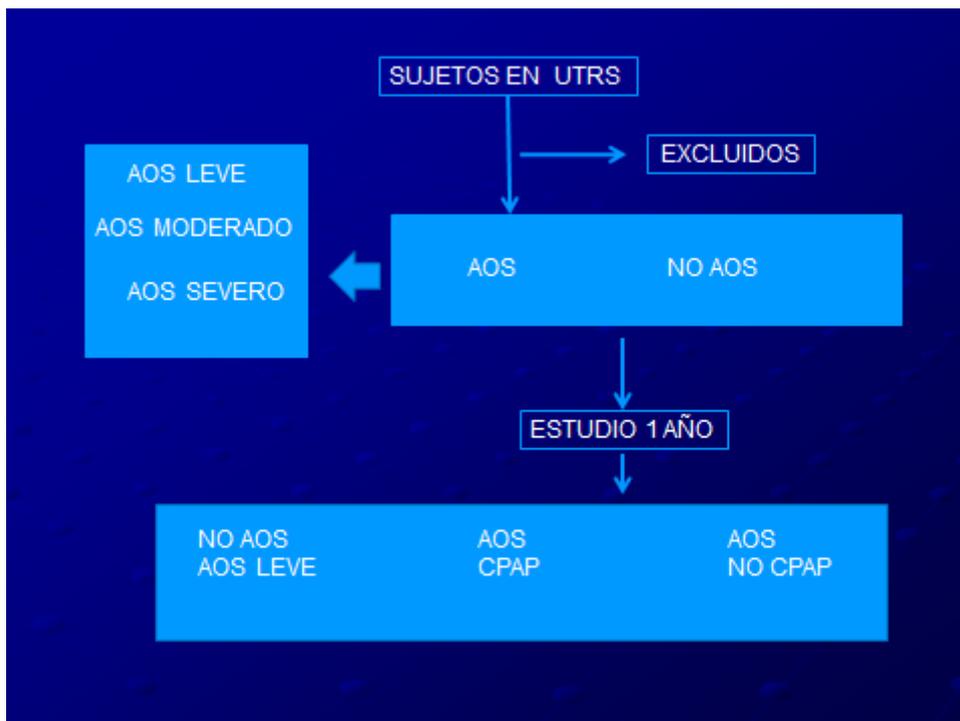


FIGURA 21.

4. INSTRUMENTOS DE MEDIDA. VARIABLES. PRIMERA CONSULTA.

4.1. Datos sociodemográficos

- Sexo: Sexo del paciente, variable cualitativa dicotómica con categorías hombre/mujer.
- Edad: Edad del paciente en el momento del diagnóstico, calculada como la diferencia entre la fecha de éste y la de nacimiento. Expresada en años. Variable cuantitativa continua. Para determinados análisis se categorizará por décadas convirtiéndose en variable cualitativa ordinal.

4.2. Signos vitales del paciente: Variables cuantitativas continuas.

- TAs: Tensión arterial sistólica. Expresada en mm Hg.
- TAd: Tensión arterial diastólica. Expresada en mm Hg.
- Fc: Frecuencia cardiaca. Expresada en latidos/min.
- Altura del paciente, expresada en centímetros (cm).
- Peso: Kilogramos (Kg).
- IMC: Índice de Masa Corporal del paciente. Calculada como el peso/talla en metros². Expresada en Kg/m². Para determinados análisis se categorizará como NO OBESO (IMC<30) y OBESO (IMC ≥30), considerándose entonces como variable cualitativa dicotómica.
- Cintura: Circunferencia de la cintura. Expresada en cm.
- Cadera: Circunferencia de cadera. Expresada en cm.
- Cuello: Circunferencia de cuello. Expresada en cm.
- Grasa Corporal: expresado en porcentaje (%), medido por bioimpedancia.
- Tejido adiposo visceral: expresado en niveles. Medido por bioimpedancia.
- Tejido muscular: expresado en %. Medido por bioimpedancia.

4.3. Datos de Poligrafía nocturna:

- IAH: Índice de Apnea-Hipopnea. Obtenido del registro nocturno. Calculado como la suma de apneas e hipopneas dividida por las horas del registro. Variable cuantitativa continua.
- SaO₂ max: Saturación arterial de O₂ máxima. Obtenida del registro nocturno. Expresado en porcentaje (%). Variable cuantitativa continua.

- SaO₂ med: Saturación arterial de O₂ media. Obtenida del registro nocturno. Expresada en porcentaje (%). Variable cuantitativa continua.
- SaO₂ mín: Saturación arterial de O₂ mínima. Obtenida del registro nocturno. Expresada en porcentaje (%). Variable cuantitativa continua.
- Ct90: Tiempo del registro con SaO₂ menor o igual a 90%. Obtenida del registro nocturno. Expresada en porcentaje (%). Variable cuantitativa continua.
- AOS: EXISTENCIA DE AOS: Variable cualitativa dicotómica. Expresada como SÍ (AOS: IAH \geq 5); NO (NO AOS: IAH $<$ 5).
- SEVERIDAD DE AOS: Variable cualitativa ordinal. Expresada como NO AOS (IAH $<$ 5); AOS LEVE (IAH: 5-14,9); AOS MODERADO (IAH: 15-29,9); AOS SEVERO (IAH \geq 30).

Procedimiento diagnóstico de AOS y categorización de la gravedad. Además refleja las repercusiones oximétricas nocturnas.

4.4. Bioquímica estándar y marcadores lipídicos: Variables cuantitativas continuas.

- Hemoglobina (Hb), g/dl.
- Hematocrito (Hto), %.
- Glucosa, mg/dl.
- Ácido úrico, mg/dl.
- Creatinina (Cr), mg/dl.
- Urea, mg/dl.
- Colesterol total, mg/dl.
- Colesterol HDL, mg/dl.
- Colesterol LDL, mg/dl.
- Triglicéridos (TG), mg/dl.
- Apoproteína A1, mg/dl.
- Apoproteína B, mg/dl.

4.5. Muestra de orina: Microalbuminuria, mg/dl. Variable cuantitativa continua.

4.6. Marcador inflamatorio:

- PCR: Proteína C Reactiva. Obtenida de la analítica sanguínea. Expresada en mg/dl. Variable cuantitativa continua. Para ciertos análisis se categoriza en NORMAL ($<$ 0,3 mg/dl) y ELEVADA (\geq 0,3 mg/dl), considerándose entonces como variable cualitativa dicotómica.

4.7. Eco-Doppler carotídeo:

- GIM ACC derecha: Media del Grosor Íntima-Media (GIM) de la arteria carótida común derecha. Expresada en mm. Obtenida de la media calculada de tres determinaciones a ese nivel (GIM1, GIM2, GIM3). Variable cuantitativa continua.
- Placas ACC dcha: Existencia de placas de aterosclerosis a nivel de la arteria carótida común dcha. Variable cualitativa dicotómica expresada con las categorías sí/no.
- Placas calcificadas ACC dcha: Existencia de placas calcificadas a nivel de la arteria carótida común derecha. Variable cualitativa dicotómica expresada con las categorías sí/no.
- GIM bulbo dcho: Media GIM bulbo carotídeo derecho. Expresada en mm. Obtenida de la media calculada de tres determinaciones a ese nivel (GIM1, GIM2, GIM3). Variable cuantitativa continua.
- Placas carotídeas bulbo derecho: Existencia de placas de aterosclerosis a nivel del bulbo derecho. Variable cualitativa dicotómica expresada con las categorías sí/no.
- Placas calcificadas bulbo derecho: Existencia de placas calcificadas a nivel del bulbo derecho. Variable cualitativa dicotómica expresada con las categorías sí/no.
- GIM ACC izda: Media GIM arteria carótida común izquierda. Expresada en mm. Obtenida de la media calculada de tres determinaciones a ese nivel (GIM1, GIM2, GIM3). Variable cuantitativa continua
- Placas carotídeas ACC izda: Existencia de placas de aterosclerosis a nivel de la arteria carótida común izquierda. Variable cualitativa dicotómica expresada con las categorías sí/no.
- Placas calcificadas ACC izda: Existencia de placas calcificadas a nivel de la arteria carótida común izquierda. Variable cualitativa dicotómica expresada con las categorías sí/no.
- GIM bulbo izdo: Media GIM bulbo carotídeo izquierdo. Expresada en mm. Obtenida de la media calculada de tres determinaciones a ese nivel (GIM1, GIM2, GIM3). Variable cuantitativa continua.
- Placas carotídeas bulbo izdo: Existencia de placas de aterosclerosis a nivel del bulbo izquierdo. Variable cualitativa dicotómica expresada con las categorías sí/no.
- Placas calcificadas bulbo izdo: Existencia de placas calcificadas a nivel del bulbo izquierdo. Variable cualitativa dicotómica expresada con las categorías sí/no.

5. INSTRUMENTOS DE MEDIDA. VARIABLES. SEGUNDA CONSULTA.

En la segunda consulta, al año, se recogen las mismas variables que en la primera. Además, se crean grupos atendiendo a la utilización de CPAP. Los datos, objetivos primarios del estudio: inflamación, medida por niveles de PCR; y aterosclerosis subclínica, medida por GIM; se comparan entre la segunda y primera consulta y entre cada grupo.

5.1. VARIABLES NUEVAS PROPIAS DE SEGUNDA CONSULTA

- 5.1.1. UTILIZACIÓN DE CPAP: Categorías: CPAP no prescrita; CPAP utilizada >4h/noche; CPAP utilizada <4h/noche. Variable cualitativa ordinal.

6. RELACIÓN Y CAMBIOS EVOLUTIVOS DE LAS VARIABLES:

- 6.1. DIFERENCIA DE NIVELES DE PCR, entre la 1ª y 2ª visita. Variable cuantitativa continua.
- 6.2. DIFERENCIA DE GIM: GIM ACC dcha, entre la 1ª y 2ª visita; GIM Bulbo dcho, entre la 1ª y 2ª visita; GIM ACC izda, entre la 1ª y 2ª visita; GIM Bulbo izdo, entre la 1ª y 2ª visita. Variables cuantitativas continuas.
- 6.3. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES.
- 6.4. MODELOS DE REGRESIÓN MÚLTIPLE.
- 6.5. CORRELACIÓN ENTRE PCR Y GIM

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis estadístico

Se realizó en primer lugar un análisis descriptivo de las variables a estudio. Para variables cualitativas se aportan frecuencias relativas y absolutas. Para variables cuantitativas, media y desviación estándar (DE) o mediana y rango intercuartílico (RIQ) en caso de distribución no paramétrica.

Para analizar la relación entre las variables a estudio, se realizó un análisis bivalente, correlación de Pearson o Spearman para evaluar la relación lineal entre dos variables cuantitativas continuas. El coeficiente de correlación puede tomar valores entre -1 y 1, indicando el 0 nula correlación entre las variables.

Se aplicó el test de Chi-Cuadrado para mostrar la relación entre variables cualitativas, y fue sustituido por el test exacto de Fisher cuando no se cumplieron los criterios de aplicación.

Para comparar medias entre grupos independientes se utilizó el test U Mann-Whitney para dos grupos y el test de Kruskal Wallis cuando la variable tenía más categorías.

Para analizar la normalidad de las variables, se utilizó el Test de Kolmogorov-Smirnov.

También se llevaron a cabo una serie de modelos predictivos basados en análisis de regresión para estimar la asociación entre las variables estudiadas, ajustando por todas las variables estadísticamente significativas en el análisis bivalente.

Finalmente, para el estudio evolutivo de las variables se utilizó la Prueba de suma de rangos de Wilcoxon, para variables relacionadas, y el porcentaje de cambio de las variables.

Para toda la investigación se ha utilizado el programa estadístico SPSS v22.0 (licencia Universidad de Zaragoza).

8. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio se lleva a cabo de acuerdo con las Declaración de Helsinki y las Guías de Buena Práctica Clínica y ha sido aprobado por el Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (ANEXO IV)

Tabla 4. Criterios de Selección

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
Pacientes con edades entre 20-65 años	Antecedentes de tabaquismo
IAH \geq 5 (grupo AOS) e IAH $<$ 5 (grupo control)	Enolismo
Aceptan participar en el estudio y firman el Consentimiento Informado	Hipertensión arterial (HTA): tensión arterial sistólica \geq 140 mmHg y/o tensión arterial diastólica \geq 90 mmHg o tratamiento con antihipertensivos
Disponibilidad para realizar controles durante 5 años	Colesterol HDL $<$ 40 mg/dL o LDL colesterol \geq 130 mg/dL o tratamiento con antilipemiantes
	Glucemia $>$ 126 mg/dL o tratamiento antidiabético
	Otras enfermedades metabólicas
	Antecedentes de enfermedades vasculares: cardiopatía isquémica, ictus o aneurisma.
	Enfermedades autoinmunes
	Historia de Neoplasias
	Enfermedades inflamatorias crónicas (ej. E. Crohn)
	Enfermedades crónicas infecciosas
	Enfermedades crónicas respiratorias
	Obesidad mórbida (IMC\geq40 Kg/m²)
	Tratamiento crónico
	Otras patologías del Sueño
	Cirugía previa de la vía aérea superior
	Tratamiento previo con CPAP

TABLA 5. VARIABLES A ESTUDIO Y UNIDADES DE MEDIDA

VARIABLES A ESTUDIO	UNIDADES DE MEDIDA (VALORES NORMALES)
EDAD	años
HTA: Hipertensión Arterial	mmHg ; >140/90
GIM: Grosor de la íntima-media = IMT= Intima-media thickness (mm)	mm; >0,8-0,9 patológica
Proteína C reactiva de alta sensibilidad, de fase aguda (PCR).	mg/dL (<0,3)
IAH: Índice apnea-hipopnea	>5: AOS
Epworth	>10: Excesiva Somnolencia Diurna
Perímetro de Cuello	Centímetros (cm)
Perímetro de Cintura	Centímetros (cm)
Perímetro de Cadera	Centímetros (cm)
Talla	Centímetros (cm)
Peso	Kilogramos (Kg)
IMC: índice de masa corporal	Kg/m ² ; >25 sobrepeso; >30 obesidad;
Grasa (%))	Mujeres (18-59 años: 21-33,9%) Hombres (18-59 años: 8-21,9%)
Tejido Adiposo Visceral (Nivel)	Normal: 1-9. Alta 10-14. Muy alta 15-30.

VARIABLES A ESTUDIO	UNIDADES DE MEDIDA (VALORES NORMALES)
Tejido muscular (%)	Mujeres (18-59 años: 24,3-30,1%) Hombres (18-59 años: 33,3-39,3%)
Glucosa	mg/dL (70-110)
Ácido úrico	mg/dL (2,2-7)
Creatinina	mg/dL (0,3-1,1)
Urea	mg/dL (<40)
Microalbuminuria	mg/dL (0-2)
Colesterol total	mg/dL (150-200)
Colesterol HDL: high density lipoprotein cholesterol	mg/dL (mujeres 45-65; hombres 35-55)
Colesterol LDL: low density lipoprotein cholesterol	mg/dL (100-130)
TG: Triglicéridos	mg/dL (50-170)
Apo A: Apolipoproteína A1	mg/dL (90-170)
Apo B: Apolipoproteína B	mg/dL (56-162)
Hemoglobina (Hgba)	gr/dL (mujeres 12-16, hombres 14-18)
Hematocrito (Hto)	% (mujeres 37-47; hombres 42-52)
TA: Tensión arterial	mmHg

VARIABLES A ESTUDIO	UNIDADES DE MEDIDA (VALORES NORMALES)
TAs: Tensión arterial sistólica	mmHg (<140)
TAd: Tensión arterial diastólica	mmHg (<90)
Fc: frecuencia cardiaca	(latidos/minuto)
CO: monóxido de carbono (ppm)	No fumadores <5, fumadores esporádicos 5-10; fumadores activos >10
FVC: Capacidad Vital Forzada %	% normal >80%
VARIABLES A ESTUDIO	UNIDADES DE MEDIDA (VALORES NORMALES)
FEV1: Volumen Espirado en el primer segundo %	%, normal >80%
FEV1/FVC	<0,70 patrón obstructivo, >0,85 restrictivo
PBD: post broncodilatadora	Incremento >12% positivo
SaO2 max (Saturación arterial de O2 máxima)	%
SaO2 media (Saturación arterial de O2 media)	%
SaO2 min (Saturación arterial de O2 mínima)	%
CT90 (tiempo con SaO2<90%)	%

Tabla 6. Determinaciones

Medición	Descripción	Frecuencia de determinaciones
Signos vitales	TA, Fc, IMC, circunferencia cuello, cintura, cadera, % grasa corporal, tejido adiposo visceral, % tejido muscular	Basal y al año
CO exhalado por cooximetría	Confirmación de estado de hábito tabáquico	Basal y al año
Espirometría	FVC, FEV1, FEV1/FVC PBD	Basal
ECG	ECG 12 electrodos	Basal
Estudio de sueño	Monitor de tipo 3 domiciliario y titulación con AutoCPAP si preciso	Basal y al año
Bioquímica estándar y marcadores lipídicos	Colesterol total, HDL, LDL, TG, Apo A, Apo B	Basal y al año
Marcadores inflamatorios	Proteína C Reactiva (PCR)	Basal y al año
Eco-Doppler carotídeo	GIM y placas carotídeas	Basal y al año

IV. RESULTADOS

1. Población y grupos de estudio

En la UNIDAD DE TRASTORNOS RESPIRATORIOS DEL SUEÑO (UTRS) del SERVICIO DE NEUMOLOGÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET DE ZARAGOZA, durante el periodo comprendido entre Enero de 2013 y Junio de 2015, se han atendido a 3.400 pacientes remitidos a dicha Unidad, con sospecha clínica de padecer algún tipo de trastorno respiratorio del sueño.

DIAGRAMA DE FLUJO DE INCLUSIÓN Y PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

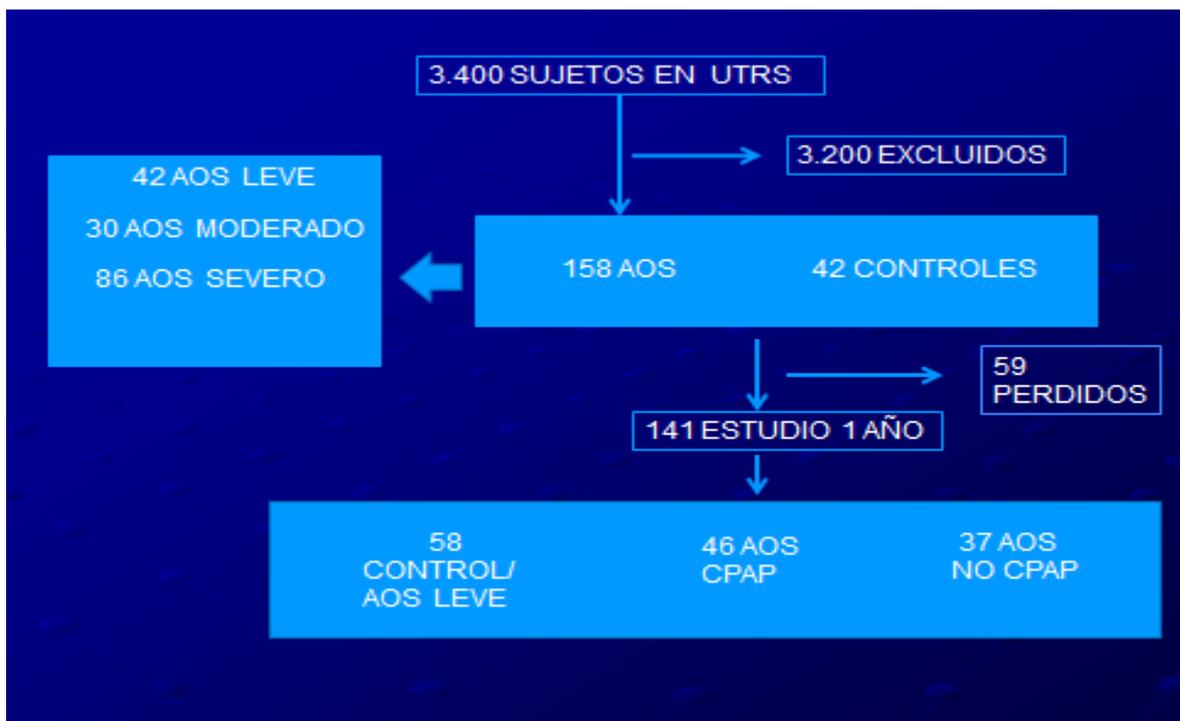


FIGURA 22.

2. Características basales de la población a estudio

2.1. COMPARATIVAS

En la figura 22 se muestra el diagrama de flujo que siguieron los participantes de las cohortes seleccionadas. De los 3.400 sujetos remitidos a la UTRS, y que cumplían los criterios de inclusión (TABLA 4) durante el periodo comprendido entre Enero de 2013 y Junio de 2015, 3.200 fueron excluidos por una o más razones. De estos participantes, 158 fueron diagnosticados de AOS (ver criterios diagnósticos en Métodos) y 42 sujetos no presentaban AOS y configuraron el grupo control.

En la Tabla 7 se muestran las características sociodemográficas

Tabla 7. Comparativa caso-control de las variables sociodemográficas del estudio.

Variable	Controles (n=42)	AOS (n=158)	p valor*
Sexo (hombre)	23 (54,76)	127 (80,38)	0,001
Estado civil			
Casado	14 (33,33)	64 (40,51)	0,742
Soltero	10 (23,81)	33 (20,89)	
Otro	3 (7,14)	15 (9,49)	
Desconocido	15 (35,71)	46 (29,11)	
Situación laboral			
Activo	24 (57,14)	98 (62,03)	0,698
Otros	3 (7,14)	14 (8,86)	
Desconocido	15 (35,71)	46 (29,11)	
Estudios			
Básicos	5 (11,90)	39 (24,68)	0,007
Medios	8 (19,05)	56 (35,44)	
Universitarios	17 (40,48)	32 (20,25)	
Desconocido	12 (28,57)	31 (19,62)	

*Test de Chi-cuadrado para variables cualitativas. Test de T de Student para variables cuantitativas.

En todas las tablas expuestas en el presente trabajo, se describen los datos como n (%) para variables cualitativas y como media (DE) (color de letra negro), y mediana (RIQ) (color de letra gris), para variables cuantitativas según sea su distribución homogénea o no normal. Se remarcan las comparaciones significativas.

En la Tabla 8 se realiza una comparativa caso-control de las variables clínicas del estudio.

Tabla 8. Comparativa caso-control de las variables clínicas del estudio.

Variable	Controles (n=42)	AOS (n=158)	p valor*
Sexo (hombre)	23 (54,76)	127 (80,38)	0,001
Edad media (DE)	39,93 (9,55)	45,45 (9,19)	0,001
	40,00 (10,00)	45,00 (14,00)	
Talla media (DE)	170,24 (9,82)	170,33 (9,64)	0,758
	170,00 (18,00)	171,00 (12,00)	
Peso medio (DE)	75,49 (13,35)	90,08 (18,23)	<0,001
	74,80 (17,38)	86,75 (21,78)	
IMC medio (DE)	25,86 (3,10)	30,96 (5,17)	<0,001
	26,30 (4,83)	30,35 (7,22)	
Cintura	92,12 (9,83)	104,40 (12,99)	<0,001
	92,50 (14,00)	103,00 (15,00)	
Cuello	36,62 (3,29)	40,15 (4,04)	<0,001
	36,50 (5,00)	40,00 (6,00)	
Cadera	102,24 (6,84)	108,87 (10,28)	<0,001
	102,50 (11,00)	107,50 (12,00)	
TAS	118,71 (14,64)	128,90 (14,69)	<0,001
	115,50 (21,00)	129,00 (18,00)	
TAD	73,50 (11,13)	80,57 (11,80)	0,001
	72,50 (10,00)	80,00 (17,00)	
FAT	30,69 (8,99)	32,94 (9,45)	0,266
	30,60 (15,40)	32,00 (11,20)	
Visceral	8,70 (4,02)	13,84 (5,25)	<0,001
	8,00 (5,00)	14,00 (7,00)	
Muscle	31,10 (6,59)	29,96 (5,77)	0,374
	31,20 (12,75)	30,90 (7,18)	
FVC%	100,32 (10,11)	97,21 (14,23)	0,032
	101,21 (12,14)	96,24 (15,31)	
FEV1%	99,12 (12,22)	97,96 (12,15)	0,150
	98,31 (13,21)	96,12 (14,21)	
FEV1/FVC%	0,80 (0,51)	0,80 (0,51)	1,00
	0,80 (0,61)	0,80 (0,60)	
EPWORTH	8,67 (4,63)	9,18 (4,87)	0,273
	8,00 (5,00)	9,03 (7,00)	
IAH	2,00 (1,55)	37,75 (26,66)	<0,001
	2,00 (3,00)	33,00 (44,00)	
SAT O2 Máx	97,59 (0,91)	96,73 (1,19)	<0,001
	98,00 (1,00)	97,00 (1,00)	
SAT O2 Media	95,03 (1,31)	92,48 (2,58)	<0,001
	95,00 (2,00)	93,00 (3,00)	
SAT O2 Mín	89,58 (3,05)	78,61 (8,16)	<0,001
	90,00 (4,00)	81,00 (14,00)	
CT90	0,51 (1,1)	19,29 (22,56)	<0,001

INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

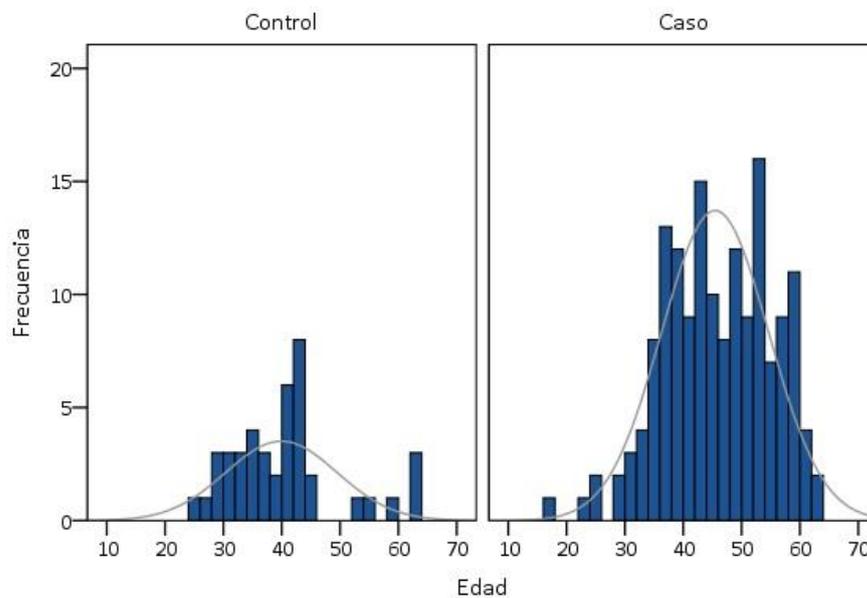
	0,00 (1,00)	10,00 (28,00)	
HB	14,34 (1,15)	14,85 (1,23)	0,008
	14,30 (1,65)	14,90 (1,30)	
HTO	43,05 (3,39)	45,14 (4,61)	0,003
	43,30 (5,30)	44,90 (4,45)	
Glucosa	88,98 (11,32)	94,71 (22,51)	0,029
	87,50 (12,00)	92,00 (18,00)	
Colesterol total	177,62 (25,09)	195,36 (29,39)	0,010
	177,50 (31,00)	194,50 (33,00)	
HDL	53,88 (8,91)	49,54 (11,61)	0,004
	53,50 (14,00)	48,00 (15,00)	
LDL	113,12 (21,34)	126,65 (23,48)	0,014
	112,50 (28,00)	125,00 (32,00)	
Ácido Úrico	5,05 (0,94)	6,00 (1,32)	<0,001
	4,90 (1,23)	5,90 (1,80)	
TG	103,45 (42,74)	144,47 (71,50)	<0,001
	93,50 (52,00)	122,00 (93,00)	
Creatinina	0,83 (0,14)	0,86 (0,15)	0,175
	0,84 (0,20)	0,86 (0,20)	
Urea	33,55 (6,59)	33,58 (7,72)	0,757
	34,00 (8,00)	33,00 (10,00)	
ApoA	154,33 (26,64)	147,30 (25,21)	0,090
	155,00 (32,00)	146,00 (33,00)	
ApoB	95,37 (24,75)	113,35 (27,06)	<0,001
	92,30 (27,73)	113,00 (35,25)	
Microalbúmina	0,53 (0,36)	0,82 (1,04)	0,529
	0,35 (0,55)	0,49 (0,51)	

*Test de U de Mann-Whitney

Respecto a los sujetos del grupo control, los pacientes con AOS eran mayoritariamente hombres (80%), con mayor edad, IMC y correspondientes índices nutricionales. La TAs y TAd también fueron significativamente mayores. Los parámetros del metabolismo estudiados tales como colesterol total, HDL, LDL, Apo B, Triglicéridos, glucosa y ácido úrico estaban significativamente elevados en pacientes con AOS. La función respiratoria, reflejada en la espirometría y la función renal, reflejada en el nivel de creatinina en plasma y microalbuminuria, no mostraron diferencias entre grupos. Por definición, las variables registradas en la poligrafía eran normales en el grupo sano y estaban elevadas en los pacientes con AOS. De interés es la ausencia de diferencia en el Test de Epworth.

2.2. HISTOGRAMAS DE DISTRIBUCIÓN DE EDAD, IMC, IAH Y CT90 EN AMBOS GRUPOS.

Para facilitar mejor la comprensión de la composición de los participantes en este estudio, construimos histogramas de distribución por grupos control vs casos.



En la **FIGURA 23** se demuestra la diferente distribución de edad existente entre los participantes remitidos.

Ambos grupos muestran una distribución relativamente homogénea de la edad, pero los pacientes con AOS presentan una mediana claramente desplazada a la derecha dada su mayor edad (40 vs 45 años respectivamente).

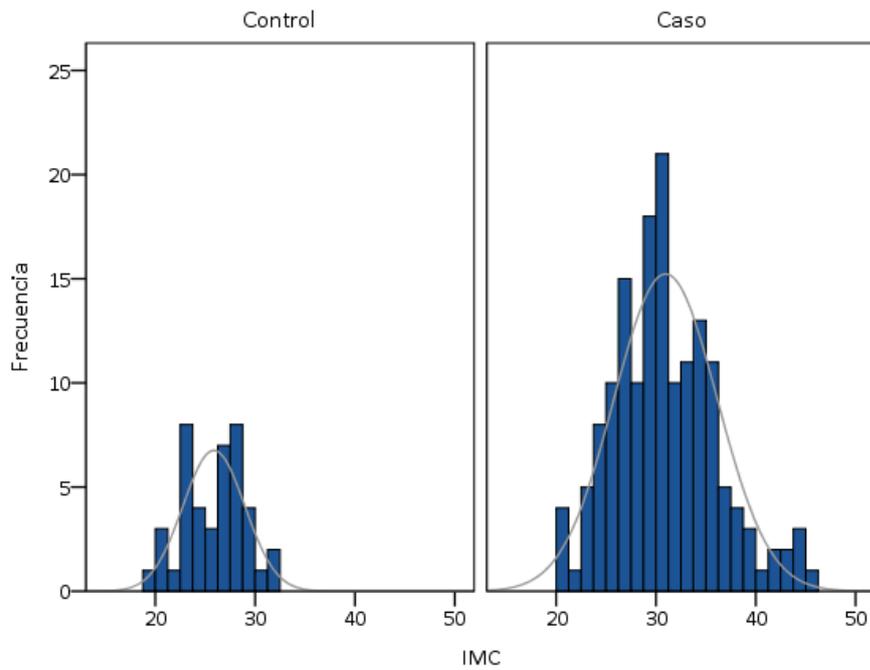


FIGURA 24. El histograma nos demuestra, de nuevo, la diferente distribución de IMC entre ambos grupos (26,30 vs 30,35).

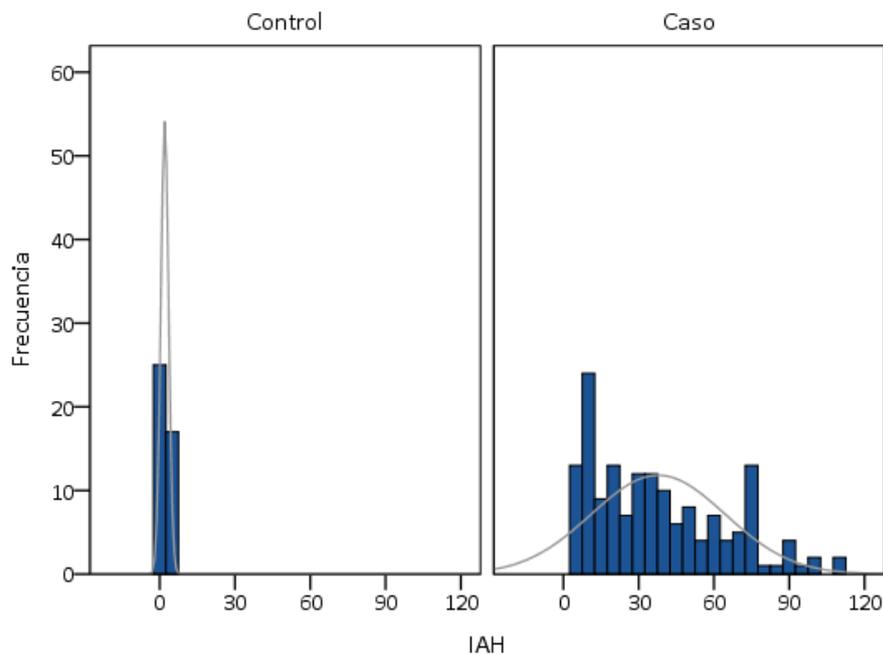


FIGURA 25. Por definición, los valores son diferentes respecto a IAH. En el grupo con AOS existe una amplia distribución del IAH, lo que nos permitió evaluar el impacto de la severidad del AOS sobre las variables dependientes de interés.

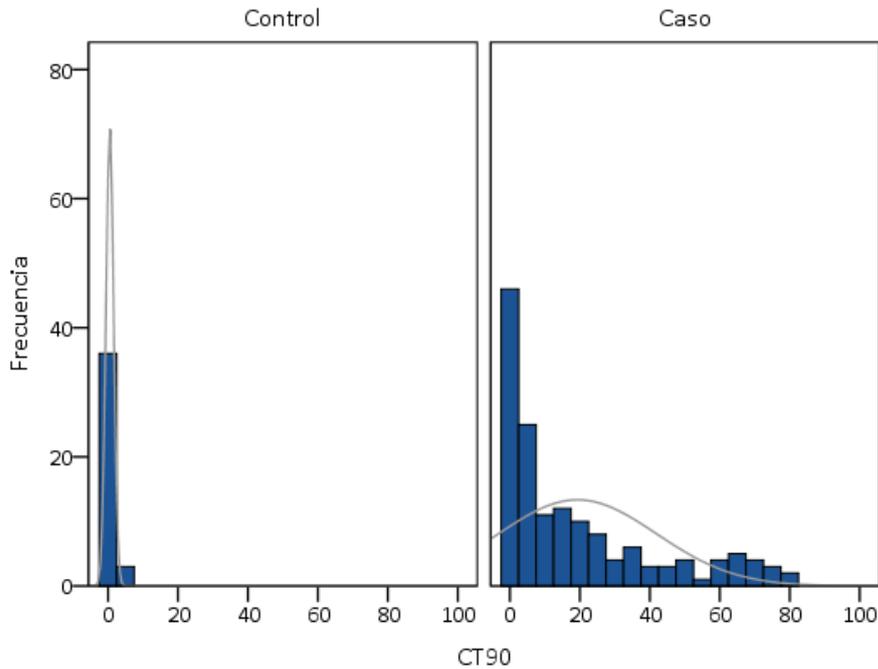


FIGURA 26. La distribución de CT90 (tiempo del estudio con $SaO_2 \leq 90\%$) también es muy amplia en el grupo con AOS.

Esta amplia distribución nos permitió ulteriores evaluaciones del papel de la hipoxemia nocturna sobre las variables dependientes de interés.

2.3. CLASIFICACIÓN POR GRUPOS ATENDIENDO A SEVERIDAD DE AOS.

Los 158 pacientes son clasificados en grupos según severidad de la enfermedad, 42 (26,58%) pacientes como AOS leve, 30 (18,99%) como AOS moderado y 86 (54,43%) como AOS severo, quedando la clasificación del total de la muestra tal y como se observa en la siguiente figura (**Figura 27**).

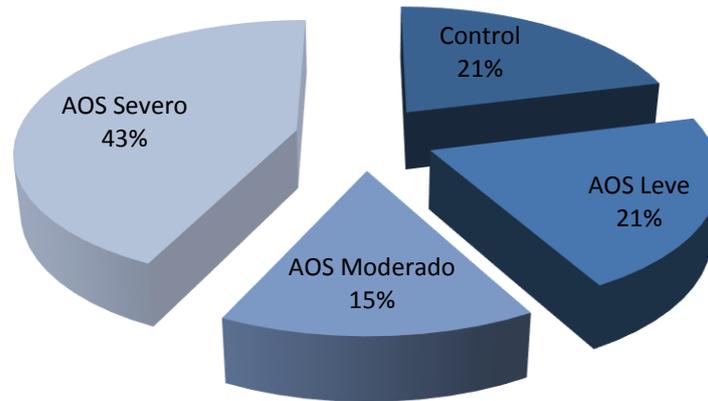


Figura 27. Distribución de los sujetos a estudio según severidad de AOS

En la siguiente tabla (**Tabla 9**) se muestran los valores descriptivos de las principales variables a estudio según grupo de severidad de AOS, añadiendo el p valor de la comparación que estudia si existen o no diferencias entre los cuatro grupos. Una vez evaluada la diferencia entre todos los grupos, se evalúan las diferencias dos a dos, los p valores de estas comparaciones se muestran en la **Tabla 10**.

Tabla 9. Comparativa según severidad de AOS de las variables relevantes del estudio.

Variable	Controles (n=42)	AOS Leve (n=42)	AOS Moderado (n=30)	AOS Severo (n=86)	p valor*
Sexo (hombre)	23 (54,76)	29 (69,05)	24 (80,00)	74 (86,05)	0,001
Edad	39,93 (9,55)	43,55 (9,60)	44,67 (8,69)	46,65 (9,08)	0,001
Talla	40,00 (10,00)	43,00 (16,00)	45,00 (14,00)	47,50 (13,00)	0,898
	170,24 (9,82)	169,98 (10,37)	171,87 (9,60)	169,97 (9,34)	
	170,00 (18,00)	170,00 (16,00)	170,50 (16,00)	171,00 (10,00)	
Peso	75,49 (13,35)	82,89 (14,63)	89,46 (16,09)	93,80 (19,56)	<0,001
	74,80 (17,38)	83,65 (17,85)	91,20 (23,02)	89,10 (23,58)	
IMC	25,86 (3,10)	28,67 (4,05)	30,28 (4,24)	32,32 (5,54)	<0,001
	26,30 (4,83)	28,65 (5,20)	31,50 (7,53)	31,10 (7,15)	
Cintura	92,12 (9,83)	96,93 (9,35)	102,93 (10,1293)	108,47 (13,68)	<0,001
	92,50 (14,00)	96,00 (11,00)	103,00 (14,00)	106,00 (17,00)	
Cuello	36,62 (3,29)	37,71 (2,86)	39,93 (3,81)	41,40 (4,08)	<0,001
	36,50 (5,00)	38,00 (5,00)	40,00 (6,00)	41,00 (5,00)	
Cadera	102,24 (6,84)	105,80 (9,20)	109,07 (9,32)	110,27 (10,86)	<0,001
	102,50 (11,00)	106,00 (9,00)	109,00 (13,00)	108,00 (11,00)	
TAS	118,71 (14,64)	121,36 (12,36)	126,43 (10,77)	133,55 (15,24)	<0,001
	115,50 (21,00)	121,50 (20,00)	125,50 (16,00)	132,00 (21,00)	
TAD	73,50 (11,13)	73,93 (9,87)	80,86 (9,84)	83,83 (12,01)	<0,001
	72,50 (10,00)	72,00 (17,00)	80,00 (15,00)	84,00 (17,00)	
FAT	30,69 (8,99)	31,17 (10,00)	30,99 (7,79)	34,48 (9,51)	0,079
	30,60 (15,40)	28,65 (17,90)	31,70 (9,20)	33,90 (9,35)	
Visceral	8,70 (4,02)	10,45 (3,40)	13,07 (4,16)	15,80 (5,45)	<0,001
	8,00 (5,00)	11,00 (4,00)	13,00 (7,00)	15,00 (7,00)	
Muscle	31,10 (6,59)	31,65 (5,70)	31,09 (5,52)	28,74 (5,66)	0,020
	31,20 (12,75)	33,60 (12,05)	32,30 (4,65)	29,70 (5,75)	
FVC%	100,32 (10,11)	99,06 (12,04)	96,23 (11,51)	95,27 (10,05)	0,056
	101,21 (12,14)	100,02 (14,05)	97,21 (13,54)	95,02 (12,42)	
FEV1%	99,12 (12,22)	98,25 (11,26)	97,54 (12,47)	96,58 (11,26)	0,158
	98,31 (13,21)	98,10 (13,56)	97,86 (14,53)	96,39 (13,62)	
FEV1/FVC	0,80 (0,51)	0,80 (0,53)	0,80 (0,41)	0,81 (0,61)	0,871
	0,80 (0,61)	0,80 (0,68)	0,80 (0,51)	0,81 (0,72)	
EPWORTH	8,67 (4,63)	7,88 (4,63)	10,00 (4,37)	10,34 (5,14)	0,224
	8,00 (5,00)	7,50 (8,00)	9,50 (6,00)	10,00 (6,12)	
IAH	2,00 (1,55)	8,90 (2,58)	22,13 (4,45)	57,29 (20,48)	<0,001
	2,00 (3,00)	8,50 (3,00)	21,00 (8,00)	53,50 (34,00)	
SAT O2 Máx	97,59 (0,91)	96,96 (0,79)	97,17 (0,99)	96,46 (1,35)	0,001
	98,00 (1,00)	97,00 (0,00)	97,00 (1,00)	97,00 (1,00)	
SAT O2 Media	95,03 (1,31)	94,15 (1,35)	93,67 (1,83)	91,18 (2,61)	<0,001
	95,00 (2,00)	94,00 (2,00)	94,00 (2,00)	91,00 (3,00)	
SAT O2 Mín	89,58 (3,05)	86,07 (3,25)	81,50 (5,88)	73,61 (7,14)	<0,001
	90,00 (4,00)	86,50 (5,00)	82,50 (4,00)	72,00 (9,00)	
CT90	0,51 (1,1)	3,00 (5,42)	8,43 (12,62)	32,08 (23,47)	<0,001
	0,00 (1,00)	1,00 (1,00)	4,00 (10,00)	27,00 (39,00)	
HB	14,34 (1,15)	14,77 (1,17)	14,80 (1,39)	14,90 (1,21)	0,064
	Controles	AOS leve	AOS moderado	AOS severo	p
	14,30 (1,65)	14,90 (1,63)	15,00 (1,20)	14,90 (1,35)	

INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

HTO	43,05 (3,39)	45,45 (6,84)	44,85 (4,03)	45,07 (3,31)	0,026
	43,30 (5,30)	44,70 (5,63)	44,90 (3,80)	44,95 (4,52)	
Glucosa	88,98 (11,32)	91,38 (12,17)	89,41 (11,25)	98,13 (28,11)	0,017
	87,50 (12,00)	90,00 (18,00)	88,00 (14,00)	95,50 (19,00)	
Colesterol total	177,62 (25,09)	183,60 (27,95)	191,83 (28,03)	198,72 (30,23)	0,006
	177,50 (31,00)	187,00 (32,00)	193,00 (27,00)	197,00 (32,00)	
HDL	53,88 (8,91)	51,45 (11,70)	54,24 (13,24)	46,99 (10,37)	<0,001
	53,50 (14,00)	49,50 (13,00)	52,00 (21,00)	45,00 (14,00)	
LDL	113,12 (21,34)	118,93 (22,09)	121,29 (22,50)	123,54 (23,37)	0,006
	112,50 (18,00)	116,50 (27,00)	127,50 (28,00)	129,00 (29,42)	
Ácido Úrico	5,05 (0,94)	5,49 (0,91)	5,80 (1,10)	6,32 (1,48)	<0,001
	4,90 (1,23)	5,45 (1,45)	6,10 (1,25)	6,50 (1,90)	
TG	103,45 (42,74)	115,67 (42,82)	131,45 (76,44)	153,15 (45,91)	<0,001
	93,50 (52,00)	110,0 (57,00)	106,00 (100,00)	147,00 (47,00)	
Creatinina	0,83 (0,14)	0,87 (0,16)	0,88 (0,14)	0,85 (0,15)	0,487
	0,84 (0,20)	0,88 (0,19)	0,89 (0,23)	0,86 (0,18)	
Urea	33,55 (6,59)	34,26 (6,30)	31,38 (6,68)	33,99 (8,56)	0,204
	34,00 (8,00)	33,00 (9,00)	30,00 (8,00)	33,00 (12,00)	
ApoA	154,33 (26,64)	147,14 (23,36)	154,59 (26,77)	144,87 (25,36)	0,080
	155,00 (32,00)	145,00 (26,00)	156,00 (36,00)	142,00 (32,00)	
ApoB	95,37 (24,75)	102,45 (22,12)	105,66 (24,86)	121,35 (27,60)	<0,001
	92,30 (27,73)	104,00 (35,30)	100,00 (32,30)	123,00 (36,10)	
Microalbúmina	0,53 (0,36)	0,48 (0,25)	1,22 (1,77)	0,91 (0,98)	0,608
	0,35 (0,55)	0,49 (0,36)	0,48 (0,84)	0,50 (0,87)	

*Test de Kruskal-Wallis.

Tabla 10. Comparaciones dos a dos de las variables relevantes del estudio.

Variable	p valor* control- leve	p valor* control- moderado	p valor* control- severo	p valor* leve- moderado	p valor* leve- severo	p valor* moderado- severo
Sexo (hombre)	0,178	0,027	<0,001	0,299	0,023	0,431
Edad	0,054	0,014	<0,001	0,587	0,086	0,235
Talla	1,000	0,451	0,853	0,388	0,913	0,654
Peso	0,024	<0,001	<0,001	0,049	0,003	0,541
IMC	0,001	<0,001	<0,001	0,079	<0,001	0,198
Cintura	0,032	<0,001	<0,001	0,007	<0,001	0,106
Cuello	0,119	<0,001	<0,001	0,004	<0,001	0,168
Cadera	0,058	0,001	<0,001	0,144	0,076	0,995
TAS	0,531	0,011	<0,001	0,053	<0,001	0,050
TAD	0,932	0,004	<0,001	0,005	<0,001	0,226
FAT	0,978	0,943	0,067	0,704	0,041	0,068
Visceral	0,011	<0,001	<0,001	0,014	<0,001	0,023
Muscle	0,799	0,919	0,090	0,423	0,005	0,028
FVC%	0,140	0,153	0,050	0,106	0,117	0,108
FEV1%	0,412	0,525	0,156	0,142	0,112	0,102
FEV1/FVC	0,983	0,902	0,856	0,986	0,876	0,915
IAH	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
EPWORTH	0,459	0,101	0,064	0,475	0,295	0,719
SAT O2 Máx	0,007	0,208	<0,001	0,226	0,169	0,032
SAT O2 Media	0,002	<0,001	<0,001	0,389	<0,001	<0,001
SAT O2 Mín	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
CT90	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001
HB	0,052	0,061	0,010	0,967	0,716	0,842
HTO	0,023	0,031	0,004	0,898	0,740	0,974
Glucosa	0,248	0,717	0,004	0,516	0,114	0,036
Colesterol total	0,416	0,184	0,001	0,547	0,023	0,154
HDL	0,073	0,944	<0,001	0,266	0,031	0,010
LDL	0,269	0,565	0,001	0,900	0,042	0,040
Ácido Úrico	0,023	0,005	<0,001	0,137	0,001	0,073
TG	0,148	0,182	<0,001	0,833	<0,001	0,013
Creatinina	0,256	0,107	0,348	0,717	0,657	0,524
Urea	0,557	0,081	0,924	0,026	0,489	0,136
ApoA	0,105	0,770	0,039	0,105	0,722	0,072
ApoB	0,154	0,073	<0,001	0,611	<0,001	0,005
Microalbúmina	0,886	0,511	0,310	0,363	0,304	0,831

*Test de U de Mann-Whitney.

2.4. DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN

La población a estudio ha estado formada, finalmente, por 50 mujeres (25%) y 150 hombres (75%), con una edad media de 44,3 años (DE=9,5)

Las siguientes figuras muestran la distribución de los pacientes por sexo (**FIGURA 28**), IMC (**FIGURA 29**) y edad (**FIGURA 30**) según grupo de severidad AOS, hemos observado en la **Tabla 9** que a medida que aumenta la severidad del AOS hay más hombres, más obesos y de mayor edad, lo que se comprueba de forma gráfica en estos diagramas de barras.

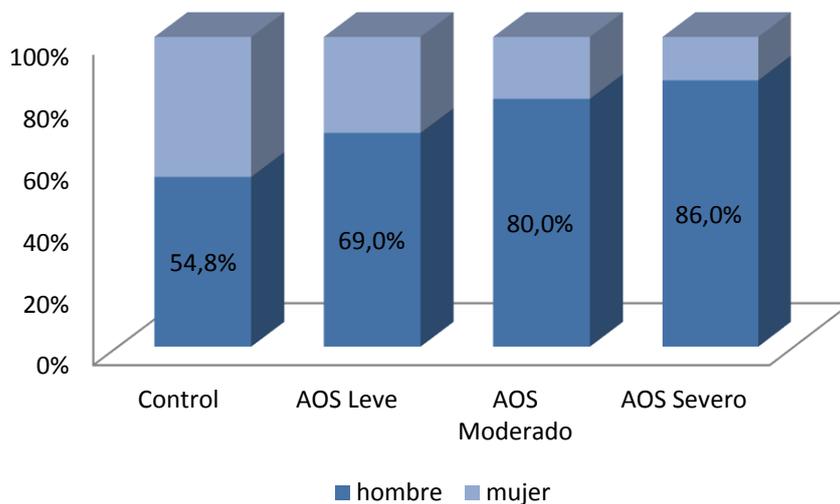


Figura 28. Distribución de los sujetos a estudio por sexo según severidad de AOS

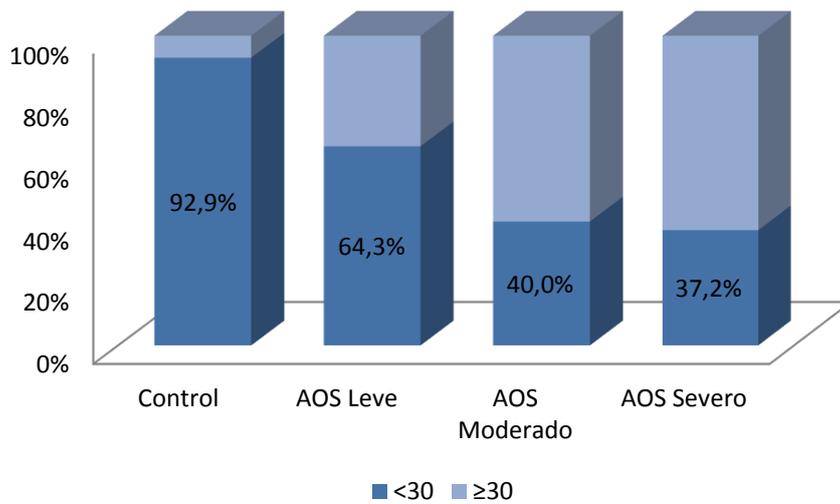


Figura 29. Distribución de los sujetos a estudio por IMC (<30 Kg/m² vs ≥30 Kg/m²) según severidad de AOS

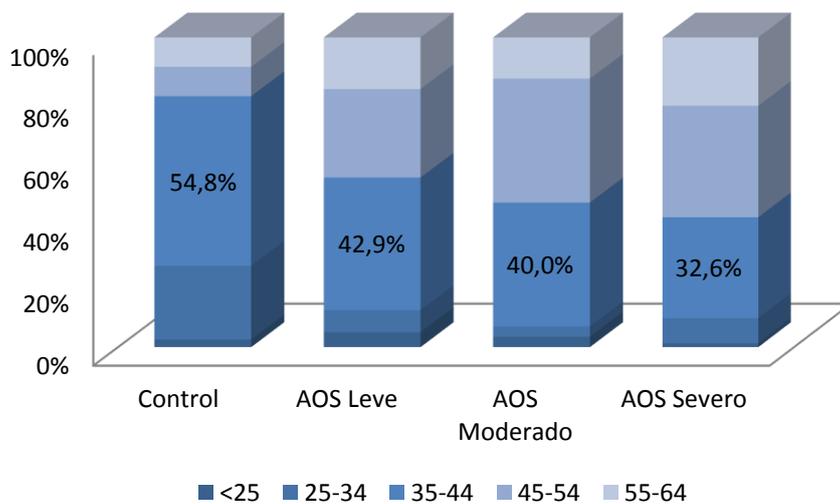


Figura 30. Distribución de los sujetos a estudio por grupo de edad según severidad de AOS.

Los criterios de inclusión han sido muy estrictos, la población objeto del estudio no sufre factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo, existen diferencias entre los diferentes grupos de severidad:

- Antropométricas: IMC, perímetro de cintura, cuello y cadera, y composición corporal medidos por tejido adiposo visceral y porcentaje de tejido muscular.
- Hemodinámicas: Tensión arterial sistólica y Tensión arterial diastólica, aun estando dentro de los límites de la normalidad.
- Analíticas: en lo que se refiere al metabolismo lipídico, glucémico y hemograma. Es de destacar que estos valores se encuentran en todos los grupos dentro del rango de la normalidad.
- Por definición, existen diferencias respecto a variables relacionadas con la patología del sueño, índice apnea-hipopnea (IAH) e hipoxemia, medida por SaO₂ máxima, SaO₂ media, SaO₂ mínima y CT90.
- Sin embargo, no existen diferencias respecto a la Escala de Somnolencia de Epworth entre controles y AOS ni entre los diferentes grados de severidad aun existiendo diferencias muy amplias de eventos respiratorios. Es más, a mayor severidad de esta patología no objetivamos aumento de la percepción de hipersomnolia diurna. El grado de somnolencia, por tanto, no discrimina la severidad de AOS en nuestra población.
- Es de destacar la ausencia de diferencias respecto a la Función Pulmonar, medida por medio de Espirometría: FVC%, FEV1% y FEV1/FVC.

Respecto al estudio comparativo dos a dos, se demuestra que el grupo control y AOS leve ya presentan diferencias respecto al grado de obesidad, medida por el IMC, perímetro de cintura y contenido de tejido adiposo visceral, pero no respecto a variables hemodinámicas o analíticas.

En el sentido contrario, objetivamos que el grupo AOS moderado y AOS severo presentan similitudes, en relación al porcentaje de hombres, edad, a variables antropométricas, medidas por IMC, perímetro de cuello, cintura y cadera, contenido alto de tejido adiposo visceral, y datos analíticos.

Las mayores diferencias, se encuentran entre el grupo Control y AOS severo: porcentaje de hombres, edad, datos antropométricos, hemodinámicos y metabolismo lipídico. Por supuesto, eventos nocturnos medidos por Poligrafía Respiratoria.

Entre el resto de grupos, las diferencias son variables.

3. Evolución de las variables relevantes a estudio

De los 200 participantes que comenzaron el estudio, se han revisado 141, el resto, 59, por diferentes circunstancias, declinaron continuar el mismo con revisión anual (**FIGURA 22**). De esta manera, para el segundo estudio contamos con 27 Controles y 114 AOS (31 AOS leve, 20 AOS moderado y 63 AOS severo).

Para establecer comparaciones evolutivas dependiendo de la severidad y el tratamiento, creamos tres grupos (**FIGURA 22**):

1. Control y AOS leve, sin tratamiento con CPAP (58).
2. AOS moderado y severo, con buena cumplimentación de CPAP (46).
3. AOS moderado y severo, con mala cumplimentación de CPAP (37).

Las comparaciones de las variables relevantes en nuestra investigación, PCR y GIM, se realizaron entre los hallazgos basales y anuales de estos grupos, y serán objeto de estudio en los siguientes apartados. (**APARTADOS 4 Y 5**)

3.1 COMPARATIVA ENTRE VARIABLES EN VISITA ANUAL

Respecto a las características clínicas de nuestra cohorte, las variables que en el tiempo basal no mostraban diferencias entre pacientes y controles siguen sin mostrarlas en la visita anual, tal y como se muestra en la **Tabla 11**. Se observa también que en ambos grupos ha habido modificación de ciertas variables entre la visita basal y al año.

Tabla 11. Variables en la evaluación anual.

Variable	Controles (n=27)	p valor** anual vs basal Controles	AOS (n=114)	p valor** anual vs basal AOS	p valor* visita anual control vs AOS
Sexo (hombre)	23 (54,76)	-	127 (80,38)	-	-
Edad	40,44 (10,32)	<0,001	47,21 (8,94)	<0,001	<0,001
	37,00 (11,00)		47,50 (14,00)		
Talla	169,93 (10,28)	0,180	170,43 (10,05)	0,015	0,581
	169,00 (19,00)		171,00 (12,00)		
Peso	74,14 (15,51)	0,559	90,32 (18,38)	0,533	<0,001
	71,40 (29,90)		87,20 (20,88)		
IMC	25,41 (3,22)	0,611	31,03 (5,16)	0,458	<0,001
	25,60 (6,50)		30,85 (6,80)		
Cintura	87,63 (11,75)	0,005	103,08 (17,03)	0,045	<0,001
	90,00 (20,00)		103,00 (16,00)		
Cuello	36,37 (3,98)	0,450	40,67 (3,68)	0,242	<0,001
	36,00 (8,00)		41,00 (5,00)		
Cadera	100,74 (9,33)	0,963	108,88 (10,20)	0,926	0,001
	101,00 (16,00)		107,00 (12,00)		
TAS	111,81 (14,28)	0,150	127,75 (13,65)	0,399	<0,001
	110,00 (15,00)		127,00 (17,00)		
TAD	67,85 (8,98)	0,011	76,70 (9,62)	0,020	<0,001
	67,50 (13,00)		79,00 (13,00)		
FAT	29,57 (9,56)	0,829	33,34 (8,52)	0,502	0,044
	30,70 (11,20)		33,00 (10,55)		
Visceral	8,15 (3,68)	0,745	14,28 (5,29)	0,910	<0,001
	7,00 (6,00)		14,00 (7,00)		
Muscle	31,46 (6,25)	0,265	29,30 (5,29)	0,843	0,135
	31,30 (11,60)		30,20 (7,55)		
IAH	3,38 (5,81)	0,174	8,51 (15,91)	<0,001	0,860
	2,00 (2,00)		1,00 (8,00)		
SAT O2 Máx	97,67 (0,58)	0,317	96,78 (1,92)	0,684	0,420
	98,00 (-)		97,00 (2,00)		
SAT O2 Media	94,43 (1,86)	0,178	93,96 (3,27)	<0,001	0,504
	94,00 (2,00)		95,00 (2,00)		
SAT O2 Mín	85,23 (7,27)	0,009	83,24 (8,29)	0,003	0,201
	88,00 (13,00)		84,00 (9,00)		
CT90	4,43 (10,14)	0,145	5,87 (11,94)	<0,001	0,056
	0,00 (1,00)		1,00 (6,00)		
HB	14,22 (0,97)	0,437	14,76 (1,18)	0,032	0,016
	14,20 (1,63)		14,90 (1,50)		
HTO	42,22 (3,05)	0,206	44,24 (3,33)	<0,001	0,004
	42,10 (5,63)		44,30 (4,00)		
Glucosa	84,08 (9,80)	0,084	96,69 (20,87)	0,077	<0,001
	84,00 (18,00)		94,00 (12,00)		
Colesterol total	178,73 (25,24)	0,939	191,00 (26,17)	0,415	0,105
	177,50 (29,00)		197,00 (28,10)		
HDL	53,54 (10,72)	0,501	48,48 (10,72)	0,944	0,016
	52,00 (12,00)		47,00 (15,00)		

INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

LDL	115,46 (27,82)	0,919	127,55 (23,30)	0,230	0,219
	114,00 (31,00)		128,00 (26,00)		
Ácido Úrico	5,23 (0,81)	0,106	6,15 (1,37)	0,240	0,001
	5,20 (1,35)		6,10 (1,70)		
TG	99,04 (43,66)	0,959	147,40 (73,73)	0,780	0,001
	89,50 (50,00)		129,00 (102,00)		
Creatinina	0,84 (0,14)	0,696	0,84 (0,14)	0,493	0,954
	0,84 (0,22)		0,82 (0,17)		
Urea	35,73 (7,24)	0,069	34,41 (7,57)	0,141	0,335
	34,50 (10,00)		34,00 (8,00)		
ApoA	141,12 (23,20)	0,001	137,76 (26,27)	<0,001	0,437
	138,00 (33,00)		136,00 (35,00)		
ApoB	96,42 (23,49)	0,726	112,13 (27,46)	0,991	0,002
	89,90 (32,00)		108,00 (33,50)		
Microalbúmina	-	-	-	-	-
	-		-		

*Test de U de Mann-Whitney. **Test de Wilcoxon

Es de destacar que las variables que se modifican entre la primera visita, basal, y la segunda, anual, se encuentran en rango de normalidad en ambos estudios.

SIN EMBARGO, SÍ lo tienen los parámetros definitorios de Apnea Obstructiva del Sueño (AOS): IAH, SaO2 media, SaO2 mínima y Ct90. La Poligrafía Cardio-Respiratoria de Sueño Domiciliaria (PCRD) de control se realiza a los Controles y Pacientes sin prescripción de CPAP de la misma manera que en la primera visita. Para los pacientes a los que se ha prescrito CPAP, debido al grado de severidad de AOS, la PCRD anual se realiza durante la utilización de este tratamiento. Por este motivo, en la segunda visita, no existen diferencias entre el grupo control y grupo AOS respecto a estas variables. Por el contrario, sí que existen cambios en este último grupo entre los valores obtenidos en las visitas basal y anual.

4. PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)

En este apartado estudiamos la variable principal objeto de nuestro estudio, PCR, marcador inflamatorio. En primer lugar, con los resultados de la primera visita, establecemos comparación entre los diferentes grupos de nuestra cohorte (Test de Kruskal Wallis y U Mann-Whitney).

Con estos datos, realizamos estudios de correlación y de análisis multivariante.

En la segunda visita, anual, medimos de nuevo los niveles de PCR y los comparamos entre los grupos. Llegados a este punto, las comparaciones interesantes para nuestros objetivos son entre las nuevas agrupaciones surgidas en relación con la severidad y el tratamiento que han llevado durante este periodo de tiempo.

4.1. ESTUDIO BASAL

4.1.1. COMPARATIVA

Tabla 12. Comparativa caso-control de la variable PCR.

Variable	Controles (n=42)	AOS (n=158)	p valor*
PCR	0,16 (0,15)	0,33 (0,31)	<0,001
	0,11 (0,18)	0,22 (0,31)	

*Test de U de Mann-Whitney

El biomarcador de inflamación estudiado en esta serie, la proteína C-reactiva es significativamente más alto en el grupo AOS.

Tabla 13. Comparativa según severidad de AOS de la variable PCR.

Variable	Controles (n=42)	AOS Leve (n=42)	AOS Moderado (n=30)	AOS Severo (n=86)	p valor*
PCR	0,16 (0,15)	0,23 (0,20)	0,28 (0,28)	0,40 (0,34)	<0,001
	0,11 (0,18)	0,16 (0,18)	0,16 (0,31)	0,29 (0,36)	

*Test de Kruskal-Wallis.

Tabla 14. Comparaciones dos a dos de la variable PCR.

Variable	p valor* control- leve	p valor* control- moderado	p valor* control- severo	p valor* leve- moderado	p valor* leve- severo	p valor* moderado- severo
PCR	0,022	0,050	<0,001	0,801	0,001	0,022

*Test de U de Mann-Whitney

Es de destacar las diferencias entre niveles de Proteína C Reactiva, que se observa entre todos los grupos. A mayor severidad de AOS, mayores niveles de PCR.

En la **FIGURA 31.**, se observan, además de las diferencias, la amplia distribución que toma esta variable en todos los grupos.

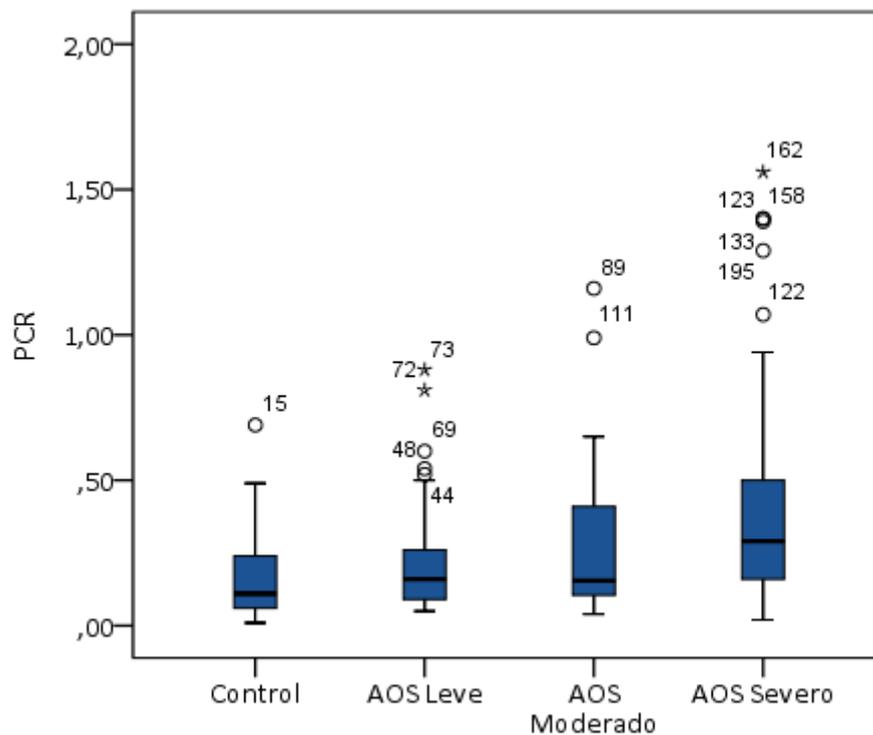


FIGURA 31.

4.1.2. RELACIÓN DE PCR CON OTRAS VARIABLES CLÍNICAS.

Se muestra en la siguiente tabla el estudio de correlación entre los valores basales PCR y los parámetros clínicos evaluados en cada paciente también en el valor basal. Se aporta coeficiente de correlación de Spearman y p valor.

Todas las estadísticamente significativas se pueden incluir en un modelo de regresión siempre y cuando no estén correlacionadas.

TABLA 15. Correlación de Spearman

Variable	PCR
Edad	0,174
	p 0,015
Talla	-0,066
	0,356
Peso	0,331
	0,000
IMC	0,490
	0,000
Cintura	0,483
	0,000
Cuello	0,294
	0,000
Cadera	0,467
	0,000
TAS	0,229

INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

	0,001
TAD	0,159
	0,028
FAT	0,452
	0,000
Visceral	0,366
	0,000
Muscle	-0,372
	0,000
IAH	0,401
	0,000
EPWORTH	-0,059
	0,495
SAT O2 Máx	-0,084
	0,359
SAT O2 Media	-0,371
	0,000
SAT O2 Mín	-0,391
	0,000
CT90	0,373
	0,000
HB	-0,003
	0,967
HTO	-0,007
	0,922
Glucosa	0,143
	0,046

Colesterol total	0,165
	0,020
HDL	-0,211
	0,003
LDL	0,158
	0,029
Ácido Úrico	0,205
	0,004
TG	0,265
	0,000
Creatinina	-0,083
	0,248
Urea	0,039
	0,584
ApoA	-0,146
	0,040
ApoB	0,261
	0,000
Microalbúmina	0,030
	0,790

4.1.3. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Teniendo en cuenta las múltiples variables clínicas que se muestran relacionadas con la variable resultado PCR se plantean modelos de regresión lineal múltiple. El objetivo es valorar la influencia de las variables a estudio sobre el nivel de PCR. Se controla la colinealidad a través del Factor de Inflación de la Varianza (FIV), y se eliminan aquellas variables con FIV superior a 10.

La severidad de AOS (medida mediante la variable IAH, y la hipoxemia, SaO2 min, SaO2 media y CT90), tras ajustar por el resto de variables, no presentan significación estadística, solo se mantiene para SATO2 mínima, de menor valor clínico (**TABLA 16, FIGURA 32**).

Tabla 16. Modelo de regresión lineal múltiple.
Variable dependiente: PCR en la visita basal.

	B	EE (B)	p valor	IC95% Inf	IC95% Sup
(Constante)	3,206	1,714	0,067	-0,227	6,640
SEXO	0,109	0,150	0,469	-0,191	0,409
EDAD	0,001	0,003	0,846	-0,006	0,008
IMC	0,020	0,005	0,000	0,009	0,030
TAS	-0,004	0,003	0,126	-0,009	0,001
TAD	0,001	0,003	0,635	-0,005	0,007
FAT	0,013	0,008	0,115	-0,003	0,029
MUSCLE	-0,010	0,007	0,183	-0,024	0,005
SATO2_MEDIA	-0,014	0,016	0,397	-0,046	0,019
SATO2_MIN	-0,016	0,007	0,016	-0,030	-0,003
IAH	-0,004	0,002	0,080	-0,008	0,000
CT90	0,000	0,001	0,874	-0,002	0,002
GLUCOSA	0,000	0,002	0,905	-0,005	0,004
HDL	-0,004	0,007	0,583	-0,017	0,010
LDL	0,000	0,003	0,974	-0,005	0,005
AURICO	0,007	0,036	0,837	-0,065	0,079
TG	0,000	0,001	0,762	-0,001	0,002
APOA	0,001	0,003	0,661	-0,004	0,006
APOB	0,000	0,003	0,963	-0,006	0,006
MICROALBUMINA	0,027	0,041	0,510	-0,055	0,110

*Modelo ajustado por parámetros clínicos y demográficos estadísticamente significativos en el análisis bivalente.

IMC resulta estadísticamente significativa

Como conclusión decir que el nivel de PCR se ve influenciado por muchas variables del paciente, así como por la severidad de AOS, pero que considerando todas al mismo tiempo, **las únicas que mantienen la relación de independencia son el IMC y el nivel SATO2 min.**

La **figura 32** muestra la relación existente entre ambas variables, IAH - PCR.

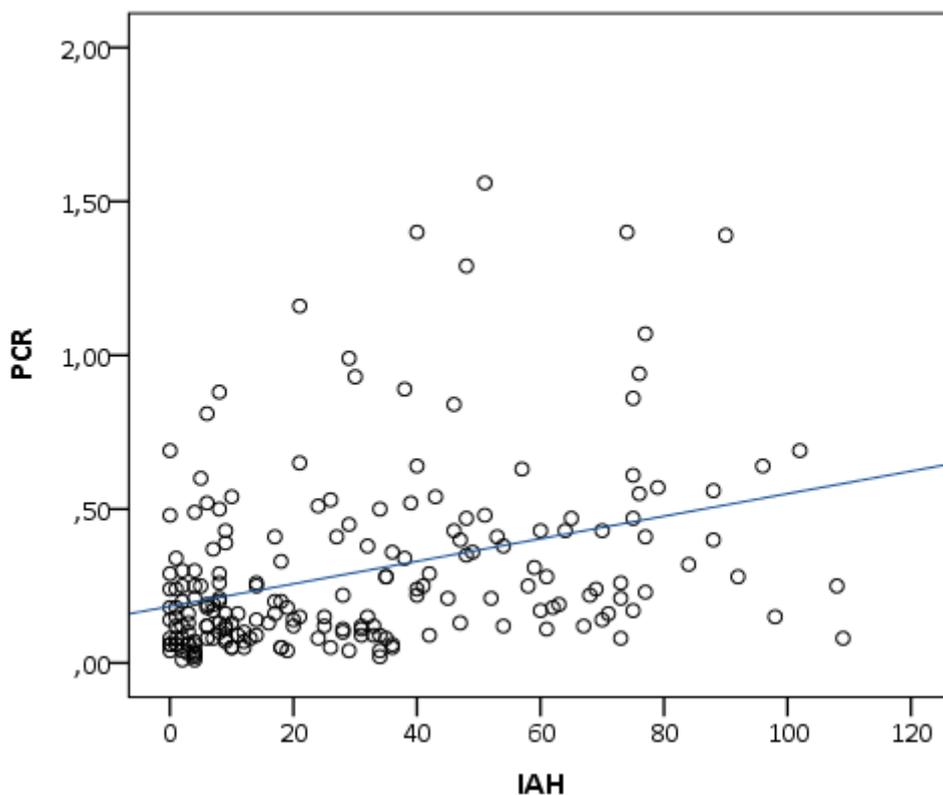


FIGURA 32.

4.2. ESTUDIO ANUAL

Niveles de PCR en la visita anual por severidad de AOS, tal y como se muestra en la **TABLA 17**, el p valor en esta tabla hace referencia a la diferencia en esta visita entre los cuatro grupos. Las diferencias dos a dos en la visita anual se muestran en la **TABLA 18**. La diferencias entre la visita anual y basal por grupos se observan en la **TABLA 19**.

TABLA 17. VISITA ANUAL

Variable	Controles (n=27)	AOS Leve (n= 31)	AOS Moderado (n= 20)	AOS Severo (n= 63)	p valor* visita anual
PCR	0,15 (0,17)	0,25 (0,26)	0,45 (0,73)	0,42 (0,37)	<0,001
	0,08 (0,17)	0,19 (0,17)	0,22 (0,46)	0,36 (0,43)	

*Test de Kruskal-Wallis.

En la visita anual se mantienen las diferencias entre los diferentes grupos de AOS. En esta tabla se percibe la diferencia de valores entre los controles/AOS leve y los AOS moderado/AOS severo.

Tabla18. Comparaciones dos a dos de las variables relevantes del estudio **en la visita anual.** En la tabla se aportan los p valores del test de U de Mann-Whitney (dos muestras independientes).

Variable	p valor* control- leve	p valor* control- moderado	p valor* control- severo	p valor* leve- moderado	p valor* leve- severo	p valor* moderado- severo
PCR	0,015	0,018	<0,001	0,679	0,019	0,311

*Test de U de Mann-Whitney.

Tabla 19. Comparaciones de las variables relevantes del estudio **entre la visita anual y la visita basal.** En la tabla se aportan los p valores del test de Wilcoxon (dos muestras relacionadas).

Variable	p valor** anual vs basal Controles	p valor** anual vs basal AOS Leve	p valor** anual vs basal AOS Moderado	p valor** anual vs basal AOS Severo
PCR	0,974	0,161	0,078	0,429

**Test de Wilcoxon.

No hay cambios significativos intragrupo entre los valores basales y anuales.

4.2.1. EVOLUCIÓN DE PCR SEGÚN TRATAMIENTO CON CPAP

En la visita anual, hemos creado tres grupos para comparar la evolución de los niveles de PCR según el tipo de tratamiento. El primero está formado por sujetos controles y AOS leve, que no han recibido tratamiento con CPAP, en el segundo grupo se agrupan los pacientes con AOS, moderado y severo, a los que se ha prescrito CPAP y se ha confirmado una correcta adherencia, más de cuatro horas de media de uso por noche. Por último, en el tercer grupo se encuentran pacientes AOS moderado y severo a los que no se ha prescrito CPAP o, en caso contrario, no han cumplimentado bien dicho tratamiento.

La **TABLA 20** muestra los valores de PCR tanto para visita basal como para visita anual, se observa que en ambas visitas hay diferencias significativas entre los grupos establecidos según tratamiento, en la tabla siguiente (**TABLA 21**) puede comprobarse que las diferencias son debidas al grupo control con los grupos de tratamiento, pero que no hay diferencias, ni basales ni anuales, entre los dos grupos tratados (no CPAP vs sí CPAP).

Estudiando la evolución por grupo, se observa **aumento significativo en el grupo de tratamiento de no CPAP ($p=0,041$)**. La representación gráfica se observa en la **Figura 33**.

Tabla 20. Evolución PCR medio según utilización de CPAP.

	Visita	Control/Leve (n=58)	CPAP (n=46)	No CPAP (n=37)	p valor*
PCR	Basal	0,20 (0,20)	0,39 (0,31)	0,37 (0,42)	0,001
		0,13 (0,23)	0,28 (0,41)	0,22 (0,36)	
	Anual	0,21 (0,21)	0,39 (0,34)	0,45 (0,61)	0,002
		0,15 (0,17)	0,33 (0,35)	0,24 (0,55)	
	p valor**	0,152	0,565	0,041	

*Test de Kruskal-Wallis. **Test de Wilcoxon.

Tabla 21. Comparaciones dos a dos de GIM medio según utilización de CPAP.

	Visita	p valor*	p valor*	p valor*
		control-CPAP	control- No CPAP	CPAP- No CPAP
PCR	Basal	<0,001	0,049	0,183
	Anual	0,001	0,031	0,540

*Test de U de Mann-Whitney.

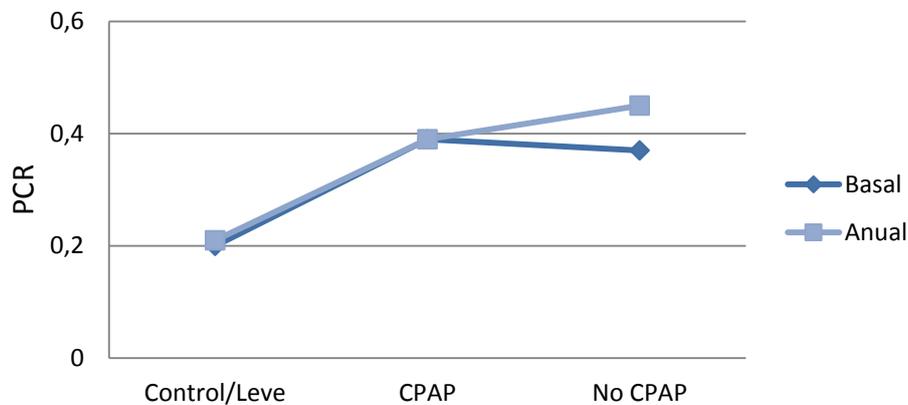


Figura 33. Evolución de los niveles medios de PCR según tratamiento con CPAP (los valores representados son medias)

4.2.2. PORCENTAJE DE CAMBIO DE PCR

Para valorar el cambio real que se produce en el nivel de PCR, y poder comparar por grupos la "evolución" de este parámetro, se generan nuevas variables de "**porcentaje de cambio**" entre la visita anual y la visita basal. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos en cuanto al cambio de PCR. Tampoco entre casos y controles.

La variable porcentaje de cambio se define como:

$$[(\text{valor anual} - \text{valor basal})/\text{valor basal}] * 100$$

Se interpreta como incremento (o disminución) porcentual que se produce en el parámetro a estudio respecto al valor basal. Hay que destacar la **gran dispersión en esta variable**.

Tabla 22. Porcentaje de cambio entre Control/AOS y p entre los cuatro grupos de severidad.

	Control (n=27)	AOS (n=114)	p valor** 4 grupos AOS	p valor* Control- AOS
PCR	103,70 (254,46)	34,62 (104,55)	0,549	0,584
	0,00 (111,90)	9,31 (68,89)		

*Test de U de Mann-Whitney. **Test de Kruskal-Wallis

Tabla 23. Porcentaje de cambio entre los tres grupos según el tratamiento.

	Control/Leve (n=58)	CPAP (n=46)	No CPAP (n=37)	p valor**
PCR	71,37 (193,00)	11,61 (71,55)	64,84 (148,27)	0,105
	6,27 (64,66)	-11,11 (52,95)	18,75 (81,82)	

**Test de Kruskal-Wallis

No se objetivan diferencias significativas respecto a los porcentajes de cambio entre los tres grupos de tratamiento.

El siguiente diagrama de cajas muestra la transformación logarítmica de la variable porcentaje de cambio de PCR en función del tratamiento con CPAP.

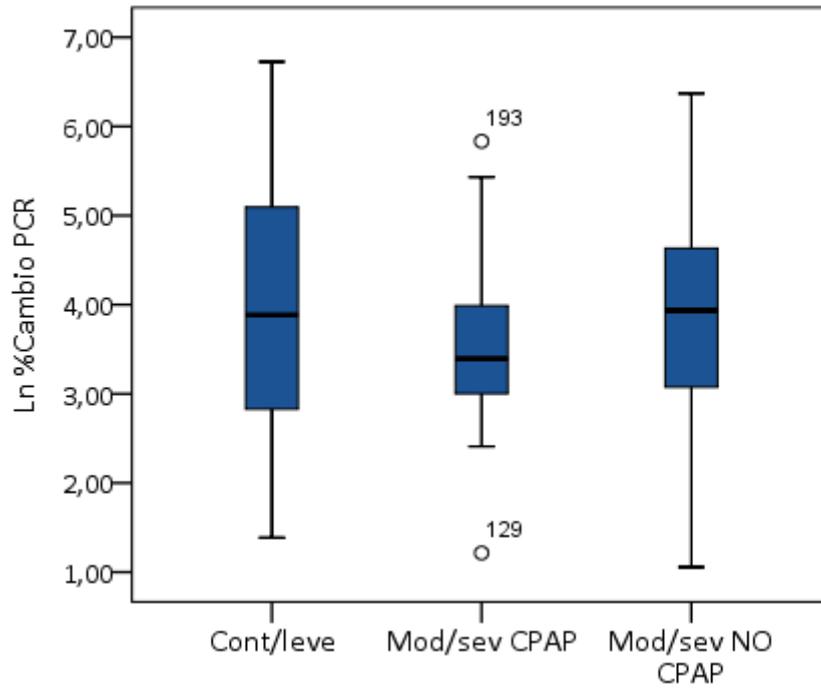


FIGURA 34.

Teniendo esta variable normalizada se plantea un modelo ANOVA unifactorial entre grupos en el que la variable dependiente es el cambio en PCR y el factor fijo el grupo de tratamiento, sin obtener diferencias significativas entre ellos ($p=0,559$).

5. GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (GIM)

En este apartado estudiamos la variable principal objeto de nuestro estudio. En primer lugar, con los resultados de la primera visita, establecemos comparación entre los diferentes grupos de nuestra cohorte (Test de Kruskal Wallis y U Mann-Whitney).

Con estos datos, realizamos estudios de correlación y de análisis multivariante.

Asimismo, en esta visita basal, también estudiamos la existencia de placas en los diferentes grupos (Control y AOS).

Los datos recogidos en la segunda visita, anual, se comparan de nuevo intergrupos. Estos se confeccionan según el tratamiento que han recibido durante el año de seguimiento. Además, para cada sector de la arteria carótida, se compara la evolución intragrupo.

5.1. ESTUDIO BASAL

5.1.1. COMPARATIVA

Tabla 24. Comparativa caso-control de GIM

Variable	Controles (n=42)	AOS (n=158)	p valor*
GIM ACC Derecha	0,54 (0,10)	0,62 (0,14)	0,001
	0,52 (0,15)	0,60 (0,16)	
GIM BULBO Derecho	0,58 (0,11)	0,68 (0,19)	0,002
	0,55 (0,14)	0,62 (0,19)	
GIM ACC Izquierda	0,57 (0,11)	0,64 (0,15)	0,003
	0,54 (0,15)	0,61 (0,18)	
GIM BULBO Izquierdo	0,62 (0,17)	0,67 (0,19)	0,068
	0,59 (0,17)	0,62 (0,20)	

*Test de U de Mann-Whitney

La medición del grosor de la capa íntima-media de los diferentes segmentos de la arteria carótida mostraron mayores espesores en pacientes con AOS a excepción de la medición a nivel del bulbo izquierdo.

Tabla 25. Mediciones por grupos de GIM

Variable	Controles (n=42)	AOS Leve (n=42)	AOS Moderado (n=30)	AOS Severo (n=86)	p valor*
GIM ACC Derecha	0,54 (0,10)	0,57 (0,10)	0,60 (0,15)	0,65 (0,15)	<0,001
	0,52 (0,15)	0,57 (0,15)	0,56 (0,16)	0,62 (0,17)	
GIM BULBO Derecho	0,58 (0,11)	0,65 (0,20)	0,66 (0,17)	0,69 (0,20)	0,008
	0,55 (0,14)	0,60 (0,18)	0,62 (0,24)	0,63 (0,19)	
GIM ACC Izquierda	0,57 (0,11)	0,58 (0,10)	0,65 (0,12)	0,66 (0,17)	<0,001
	0,54 (0,15)	0,57 (0,12)	0,63 (0,18)	0,64 (0,17)	
GIM BULBO Izquierdo	0,62 (0,17)	0,59 (0,15)	0,68 (0,14)	0,72 (0,21)	<0,001
	0,59 (0,17)	0,56 (0,14)	0,65 (0,18)	0,67 (0,25)	

*Test de Kruskal-Wallis.

Tabla 26. Comparaciones dos a dos de la variable GIM

Variable	p valor* control- leve	p valor* control- moderado	p valor* control- severo	p valor* leve- moderado	p valor* leve- severo	p valor* moderado- severo
GIM ACC Derecha	0,116	0,058	<0,001	0,695	0,009	0,069
GIM BULBO Derecho	0,147	0,043	0,001	0,581	0,122	0,466
GIM ACC Izquierda	0,489	0,005	0,001	0,010	0,002	0,804
GIM BULBO Izquierdo	0,396	0,060	0,005	0,004	<0,001	0,619

*Test de U de Mann-Whitney.

Los datos y las gráficas muestran un comportamiento similar entre control/AOS leve y AOS moderado/AOS severo

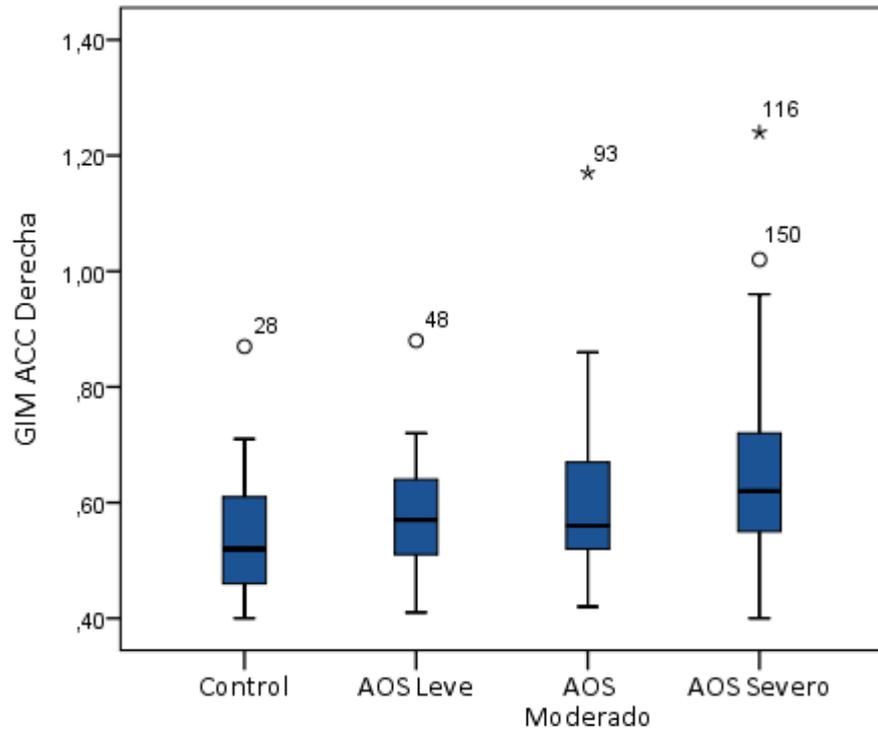


FIGURA 35.

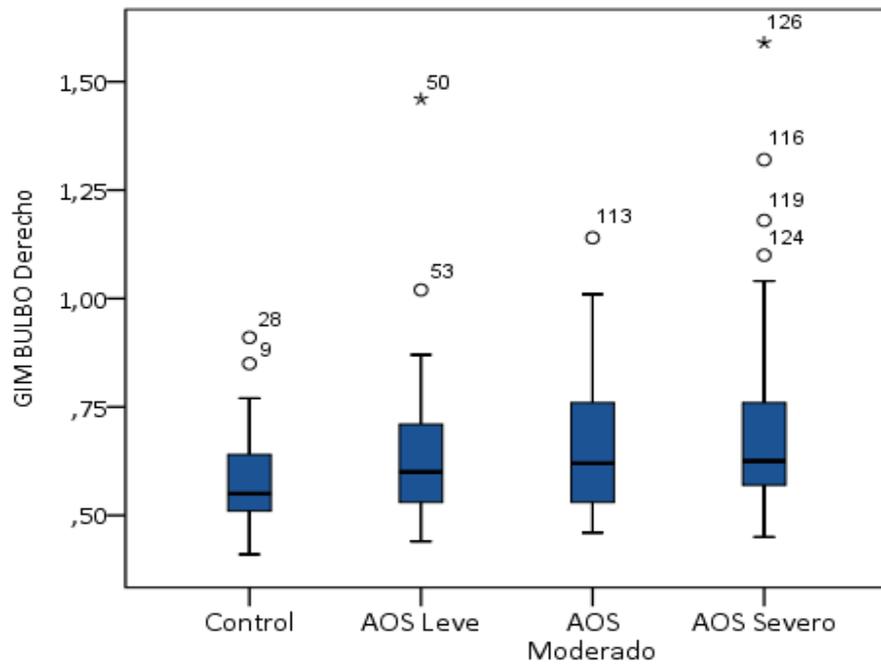


FIGURA 36.

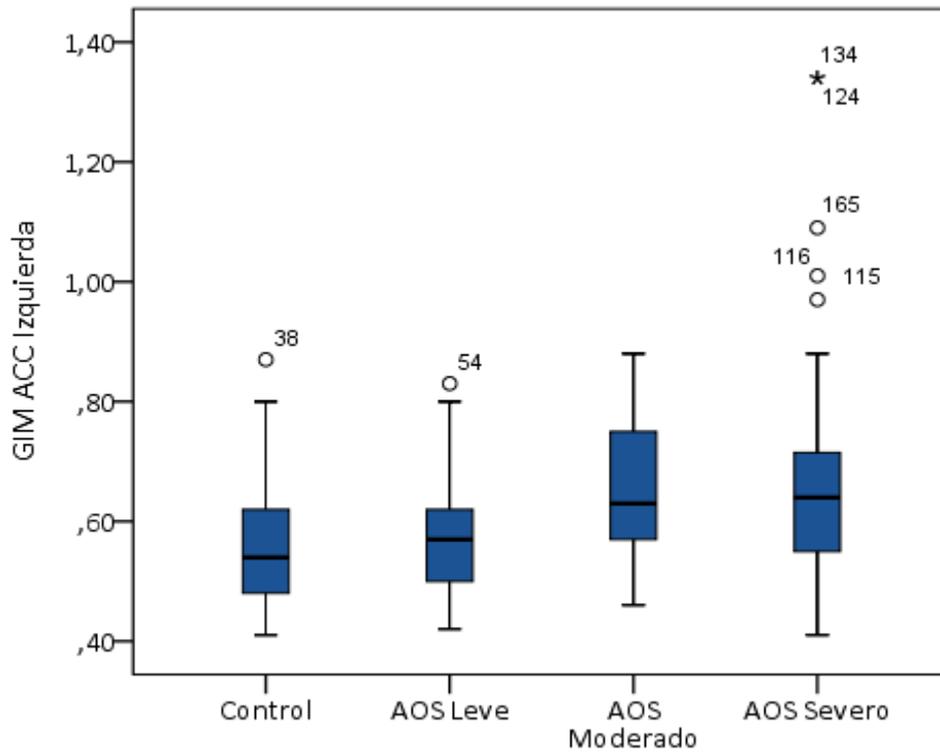


FIGURA 37

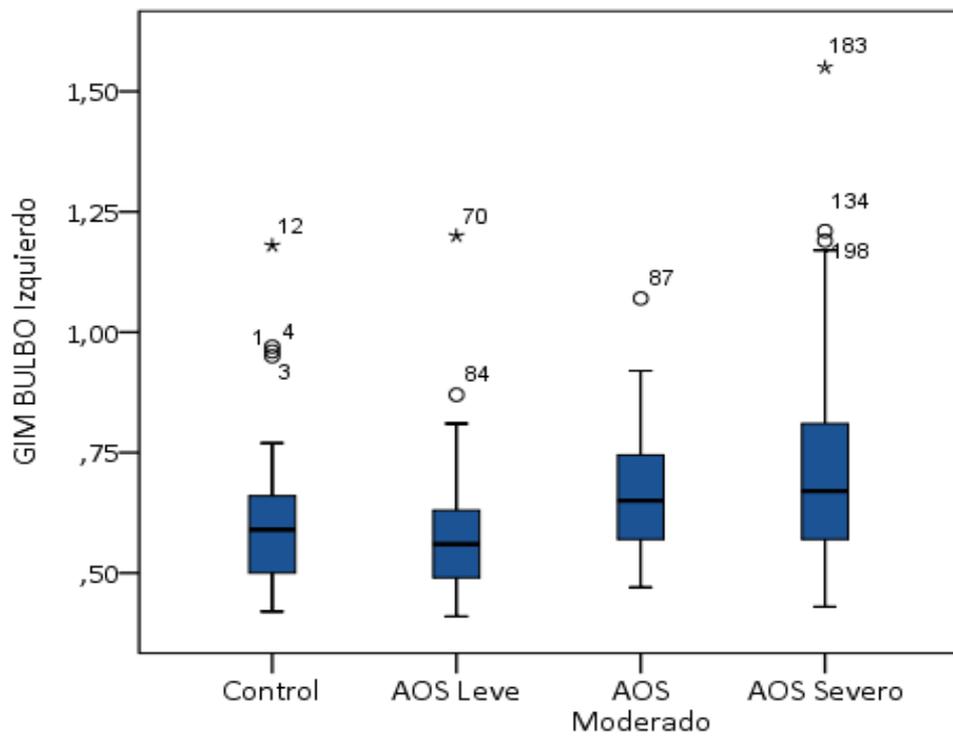


FIGURA 38.

5.1.2. PLACAS DE ATEROMA

Tabla 27. Existencia de placas de ateroma

Localización		Control (n=42)	AOS (n=158)	Total (n=200)	p valor*
ACC Derecha	No	42 (100,00)	153 (96,84)	195 (97,50)	0,586
	Sí	0 (0,00)	5 (3,16)	5 (2,50)	
	Total	42 (100,00)	158 (100,00)	200 (100,00)	
BULBO Derecho	No	38 (95,00)	140 (92,11)	178 (92,71)	0,738
	Sí	2 (5,00)	12 (7,89)	14 (7,29)	
	Total	40 (100,00)	152 (100,00)	192 (100,00)	
ACC Izquierda	No	41 (100,00)	147 (95,45)	188 (96,41)	0,349
	Sí	0 (0,00)	7 (4,55)	7 (3,59)	
	Total	41 (100,00)	154 (100,00)	195 (100,00)	
BULBO Izquierdo	No	38 (92,68)	131 (84,52)	169 (86,22)	0,212
	Sí	3 (7,32)	24 (15,48)	27 (13,78)	
	Total	41 (100,00)	155 (100,00)	196 (100,00)	

*Test exacto de Fisher

No se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la presencia de placas de ateroma entre los grupos a estudio en la primera visita ($p > 0,05$ en todas las localizaciones).

5.1.3. RELACIÓN DE GIM CON OTRAS VARIABLES CLÍNICAS

Se muestra en la siguiente tabla (**TABLA 28**) el estudio de correlación entre los valores basales de GIM en las cuatro localizaciones y los parámetros clínicos evaluados en cada paciente también en el valor basal. Se aporta coeficiente de correlación de Spearman y p valor.

Todas las estadísticamente significativas se pueden incluir en un modelo de regresión siempre y cuando no estén correlacionadas.

TABLA 28. CORRELACIÓN ENTRE GIM Y VARIABLES.

Variable	ACC Derecha	BULBO Derecho	ACC Izquierda	BULBO Izquierdo
Edad	0,496	0,485	0,403	0,400
p	0,000	0,000	0,000	0,000
Talla	-0,028	-0,028	0,071	-0,030
	0,700	0,718	0,333	0,694
Peso	0,242	0,071	0,230	0,044
	0,001	0,359	0,001	0,567
IMC	0,276	0,132	0,207	0,082
	0,000	0,086	0,004	0,287
Cintura	0,328	0,231	0,290	0,139
	0,000	0,003	0,000	0,070
Cuello	0,313	0,263	0,305	0,177
	0,000	0,001	0,000	0,021
Cadera	0,179	0,023	0,124	-0,024
	0,013	0,770	0,089	0,759
TAS	0,261	0,214	0,232	0,295
	0,000	0,006	0,001	0,000
TAD	0,153	0,057	0,147	0,220
	0,035	0,463	0,046	0,004
FAT	0,115	-0,027	0,037	0,004
	0,110	0,733	0,617	0,957
Visceral	0,348	0,251	0,327	0,214
	0,000	0,001	0,000	0,005
Muscle	-0,161	-0,010	-0,065	-0,082
	0,025	0,903	0,377	0,288
IAH	0,327	0,260	0,312	0,297
	0,000	0,001	0,000	0,000
EPWORTH	-0,009	-0,026	0,019	-0,132
	0,919	0,782	0,829	0,152
SAT O2 Máx	-0,206	-0,228	-0,154	-0,070

	0,024	0,016	0,094	0,469
SAT O2 Media	-0,341	-0,282	-0,232	-0,203
	0,000	0,000	0,002	0,009
SAT O2 Mín	-0,327	-0,316	-0,275	-0,204
	0,000	0,000	0,000	0,009
CT90	0,326	0,268	0,264	0,200
	0,000	0,001	0,000	0,010
HB	0,082	0,129	0,142	0,121
	0,256	0,096	0,051	0,113
HTO	0,111	0,144	0,162	0,121
	0,122	0,062	0,026	0,113
Glucosa	0,243	0,184	0,184	0,096
	0,001	0,016	0,011	0,212
Colesterol total	0,202	0,148	0,170	0,137
	0,005	0,056	0,019	0,074
HDL	-0,162	-0,066	-0,072	-0,049
	0,024	0,397	0,324	0,525
LDL	0,203	0,187	0,141	0,119
	0,005	0,017	0,055	0,128
Ácido Úrico	0,206	0,108	0,162	0,097
	0,004	0,165	0,026	0,209
TG	0,211	0,035	0,179	0,150
	0,003	0,652	0,014	0,050
Creatinina	-0,095	-0,023	0,008	-0,033
	0,186	0,767	0,911	0,663
Urea	0,019	-0,048	-0,013	-0,123
	0,788	0,538	0,863	0,109
ApoA	-0,048	-0,013	-0,002	-0,021
	0,504	0,871	0,976	0,783
ApoB	0,250	0,180	0,179	0,153
	0,000	0,020	0,014	0,046
Microalbúmina	0,295	0,229	0,212	0,098
	0,008	0,058	0,063	0,407

5.1.4. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Teniendo en cuenta las múltiples variables clínicas que se muestran relacionadas con la variable resultado GIM se realizan modelos de regresión lineal múltiple. El objetivo es valorar la influencia sobre ésta, concretamente GIM media de ACC derecha, de las variables clínicamente relevantes asociadas con Aterosclerosis (edad, sexo, IMC, TAs, TAd, metabólicas) y variables que reflejan la enfermedad, Apnea Obstructiva del Sueño, (IAH, SaO2 media, SaO2 min, Ct90). Se controla la colinealidad a través del Factor de Inflación de la Varianza (FIV), y se eliminan aquellas variables con FIV superior a 10.

Tabla 29. Modelo de regresión lineal múltiple.

Variable dependiente: GIM ACC Derecha en la visita basal.

	B	EE (B)	p valor	IC95% Inf	IC95% Sup
(Constante)	1,783	1,079	0,102	-0,359	3,926
SEXO	-0,052	0,045	0,255	-0,141	0,038
EDAD	0,006	0,001	0,000	0,004	0,007
IMC	0,004	0,002	0,028	0,000	0,001
TAS	0,002	0,001	0,013	0,000	0,003
TAD	-0,002	0,001	0,034	-0,003	0,000
SAT02_MEDIA	-0,012	0,004	0,001	-0,019	-0,005
CT90	0,001	0,001	0,002	0,000	0,008
IAH	0,001	0,000	0,036	0,000	0,002
GLUCOSA	0,001	0,001	0,224	-0,001	0,003
HDL	0,001	0,001	0,627	-0,002	0,003
LDL	0,000	0,001	0,748	-0,002	0,001
TG	0,000	0,000	0,642	-0,001	0,000
VISCERAL	0,001	0,005	0,905	-0,009	0,011
APOB	0,001	0,001	0,583	-0,001	0,002

De forma significativa, la severidad de AOS (medida mediante las variables IAH, CT90 y SaO2 media) se relaciona con el nivel de GIM en la visita basal (TABLA 29).

Se realiza un segundo análisis, con población entre 30-63 años, habiendo excluido también obesidad tipo 2 (IMC >35 kg/m²), el nivel de hipoxemia (SaO2 media, p=0,006 y CT90, p= 0,018) determinan mejor que el IAH (p=0,059) el valor de GIM.

La conclusión ante estos hallazgos es que la medición de GIM se ve influenciado por muchas variables del paciente, de forma independiente por la severidad de AOS. Considerando todas en conjunto, las que se mantienen en el modelo predictivo son además de la edad, el IMC, la TAs y TAd, el IAH y, especialmente, la hipoxemia medida por CT90 y SaO2 media.

5.2. ESTUDIO ANUAL

En la siguiente **TABLA 30** se muestran los valores descriptivos (media (DE)) de GIM media para las cuatro localizaciones, tanto en el basal como en la visita al año.

Se observa que en la visita 1 entre casos y controles se muestran diferencias estadísticamente significativas excepto en Bulbo izquierdo, para la visita 2 la diferencia solo se mantiene en ACC izquierda. El grupo control apenas varía en el tiempo, solo de forma significativa para ACCA izquierda, el grupo de pacientes muestra diferencias en las otras tres localizaciones entre visita 1 y visita 2 ($p < 0,05$).

Tabla 30. Evolución GIM medio según caso –control

Localización	Visita	Controles (n=27)	AOS (n=114)	p valor*
ACC Derecha	Basal	0,54 (0,10)	0,62 (0,14)	0,001
		0,52 (0,15)	0,60 (0,16)	
	Anual	0,50 (0,18)	0,53 (0,27)	0,117
		0,52 (0,18)	0,57 (0,20)	
	p valor**	0,613	0,002	
BULBO Derecho	Basal	0,58 (0,11)	0,68 (0,19)	0,002
		0,55 (0,14)	0,62 (0,19)	
	Anual	0,46 (0,24)	0,52 (0,36)	0,053
		0,52 (0,12)	0,59 (0,70)	
	p valor**	0,147	0,036	
ACC Izquierda	Basal	0,57 (0,11)	0,64 (0,15)	0,003
		0,54 (0,15)	0,61 (0,18)	
	Anual	0,56 (0,10)	0,66 (0,15)	0,001
		0,55 (0,15)	0,53 (0,16)	
	p valor**	0,012	0,427	
BULBO Izquierdo	Basal	0,62 (0,17)	0,67 (0,19)	0,068
		0,59 (0,17)	0,62 (0,20)	
	Anual	0,58 (0,35)	0,49 (0,37)	0,836
		0,53 (0,16)	0,59 (0,73)	
	p valor**	0,353	0,003	

*Test de U de Mann-Whitney. **Test de Wilcoxon

En la tabla siguiente se muestran los valores descriptivos según grupo de severidad de AOS, además del estudio de la diferencia en cada una de las visitas entre los cuatro grupos, la tabla posterior refleja las comparaciones dos a dos. La gráfica para cada una de las localizaciones muestra de forma visual la tendencia.

Tabla 31. Evolución GIM medio según severidad de AOS

Localización	Visita	Controles (n=42/ n= 27)	AOS Leve (n=42/ n=31)	AOS Moderado (n=30/ n=20)	AOS Severo (n=86/ n=63)	p valor*
ACC Derecha	Basal	0,54 (0,10)	0,57 (0,10)	0,60 (0,15)	0,65 (0,15)	<0,001
	Anual	0,50 (0,18)	0,47 (0,25)	0,51 (0,25)	0,56 (0,28)	0,043
	p valor**	0,613	0,040	0,132	0,055	
BULBO Derecho	Basal	0,58 (0,11)	0,65 (0,20)	0,66 (0,17)	0,69 (0,20)	0,008
	Anual	0,46 (0,24)	0,56 (0,33)	0,43 (0,36)	0,53 (0,38)	0,146
	p valor**	0,147	0,031	0,191	0,514	
ACC Izquierda	Basal	0,57 (0,11)	0,58 (0,10)	0,65 (0,12)	0,66 (0,17)	<0,001
	Anual	0,56 (0,10)	0,58 (0,08)	0,65 (0,12)	0,69 (0,17)	<0,001
	p valor**	0,012	0,740	0,505	0,210	
BULBO Izquierdo	Basal	0,62 (0,17)	0,59 (0,15)	0,68 (0,14)	0,72 (0,21)	<0,001
	Anual	0,58 (0,35)	0,41 (0,30)	0,54 (0,37)	0,51 (0,40)	0,212
	p valor**	0,353	0,079	0,569	0,023	

*Test de Kruskal-Wallis. **Test de Wilcoxon

Tabla 32. Comparaciones dos a dos de GIM medio según severidad de AOS

Localización	Visita	p valor* control- leve	p valor* control- moderado	p valor* control- severo	p valor* leve- moderado	p valor* leve- severo	p valor* moderado- severo
ACC Derecha	Basal	0,116	0,058	0,001	0,695	0,009	0,069
	Anual	0,726	0,636	0,026	0,853	0,026	0,119
BULBO Derecho	Basal	0,147	0,043	0,001	0,581	0,122	0,466
	Anual	0,061	0,707	0,039	0,433	0,592	0,235
ACC Izquierda	Basal	0,489	0,005	0,001	0,010	0,002	0,804
	Anual	0,433	0,017	<0,001	0,029	<0,001	0,671
BULBO Izquierdo	Basal	0,396	0,060	0,005	0,004	<0,001	0,619
	Anual	0,505	0,343	0,754	0,023	0,092	0,461

*Test de U de Mann-Whitney.

No se observan diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las localizaciones entre los grupos control - leve y moderado - severo, es decir, los grupos extremos se comportan de forma similar. Vemos que existen diferencias entre control - moderado, entre control - severo, así como entre leve- moderado y leve-severo, pero no para todas las localizaciones.

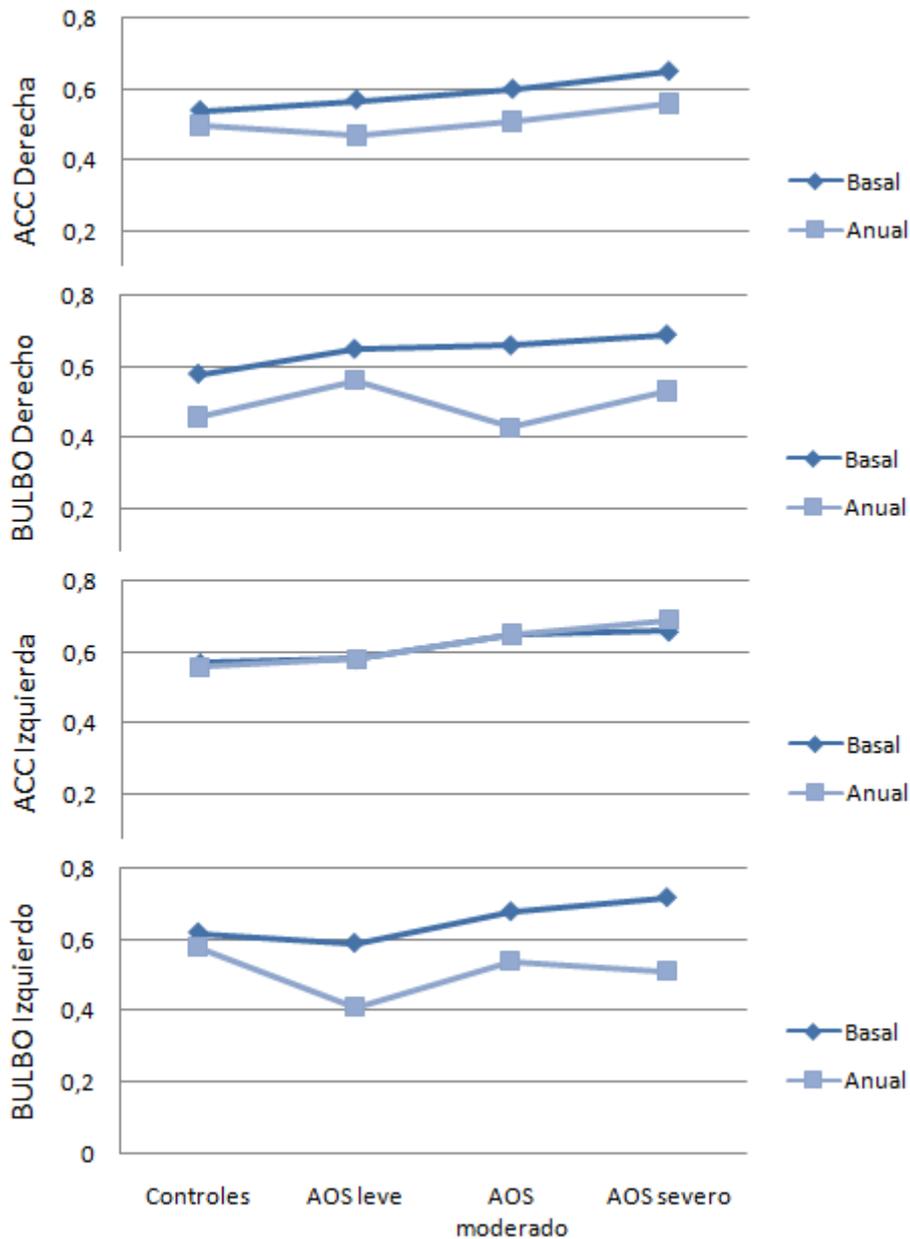


Figura 39. Evolución de los niveles medios de GIM según severidad de AOS (los valores representados son medias)

5.2.1. EVOLUCIÓN DE GIM SEGÚN TRATAMIENTO CON CPAP

Como ya hemos explicado (apartado 4.2.1.), en la visita anual hemos creado tres grupos para comparar la evolución de GIM según el tipo de tratamiento. El primero está formado por sujetos controles y AOS leve, que no han recibido tratamiento con CPAP, en el segundo grupo se agrupan los pacientes con AOS moderados y severos, a los que se ha prescrito CPAP y se ha confirmado una correcta adherencia, más de cuatro horas de media de uso por noche. Por último, en el tercer grupo se encuentran pacientes AOS moderado y severos a los que no se ha prescrito CPAP o, en caso contrario, no han cumplimentado bien dicho tratamiento.

Respecto a la utilización de CPAP, la mediana de consumo en pacientes con AOS es de 5,7 horas/noche (RIQ 1,9)

Estudiando la evolución por grupo, para ACC Derecha sólo se observa disminución significativa en el grupo de tratamiento de sí CPAP ($p=0,029$) durante un año. La representación gráfica se observa en la Figura 40. Se ve que los pacientes del grupo CPAP en 3 de las 4 localizaciones tienen un descenso del valor medio de GIM al año, cosa que no ocurre de forma tan destacada en el grupo de "no CPAP".

Tabla 33. Evolución GIM medio según utilización de CPAP.

Localización	Visita	Control/Leve (n=58)	CPAP (n=46)	No CPAP (n=37)	p valor*
ACC Derecha	Basal	0,57 (0,13)	0,64 (0,13)	0,64 (0,16)	0,003
		0,55 (0,17)	0,63 (0,13)	0,62 (0,19)	
	Anual	0,50 (0,23)	0,59 (0,19)	0,65 (0,17)	0,001
		0,53 (0,17)	0,61 (0,15)	0,66 (0,20)	
	p valor**	0,105	0,029	0,100	
BULBO Derecho	Basal	0,62 (0,17)	0,67 (0,16)	0,71 (0,21)	0,020
		0,56 (0,16)	0,63 (0,19)	0,63 (0,20)	
	Anual	0,50 (0,25)	0,52 (0,34)	0,66 (0,38)	0,020
		0,55 (0,16)	0,59 (0,73)	0,64 (0,26)	
	p valor**	0,025	0,269	0,220	
ACC Izquierda	Basal	0,56 (0,09)	0,66 (0,16)	0,69 (0,17)	<0,001
		0,54 (0,13)	0,62 (0,13)	0,66 (0,20)	
	Anual	0,57 (0,09)	0,67 (0,14)	0,70 (0,18)	<0,001
		0,56 (0,13)	0,64 (0,11)	0,64 (0,22)	
	p valor**	0,035	0,286	1,000	
BULBO Izquierdo	Basal	0,60 (0,15)	0,72 (0,16)	0,70 (0,18)	<0,001
		0,57 (0,14)	0,70 (0,23)	0,69 (0,24)	
	Anual	0,52 (0,32)	0,54 (0,37)	0,62 (0,36)	0,046
		0,55 (0,17)	0,65 (0,78)	0,69 (0,29)	
	p valor**	0,917	0,271	0,992	

*Test de Kruskal-Wallis. **Test de Wilcoxon.

Tabla 34. Comparaciones dos a dos de GIM medio según utilización de CPAP.

Localización	Visita	p valor* control- CPAP	p valor* control- No CPAP	p valor* CPAP- No CPAP
ACC Derecha	Basal	0,002	0,009	0,922
	Anual	0,010	0,001	0,250
BULBO Derecho	Basal	0,029	0,014	0,724
	Anual	0,153	0,004	0,252
ACC Izquierda	Basal	<0,001	<0,001	0,290
	Anual	<0,001	<0,001	0,585
BULBO Izquierdo	Basal	<0,001	0,003	0,525
	Anual	0,094	0,020	0,408

*Test de U de Mann-Whitney.

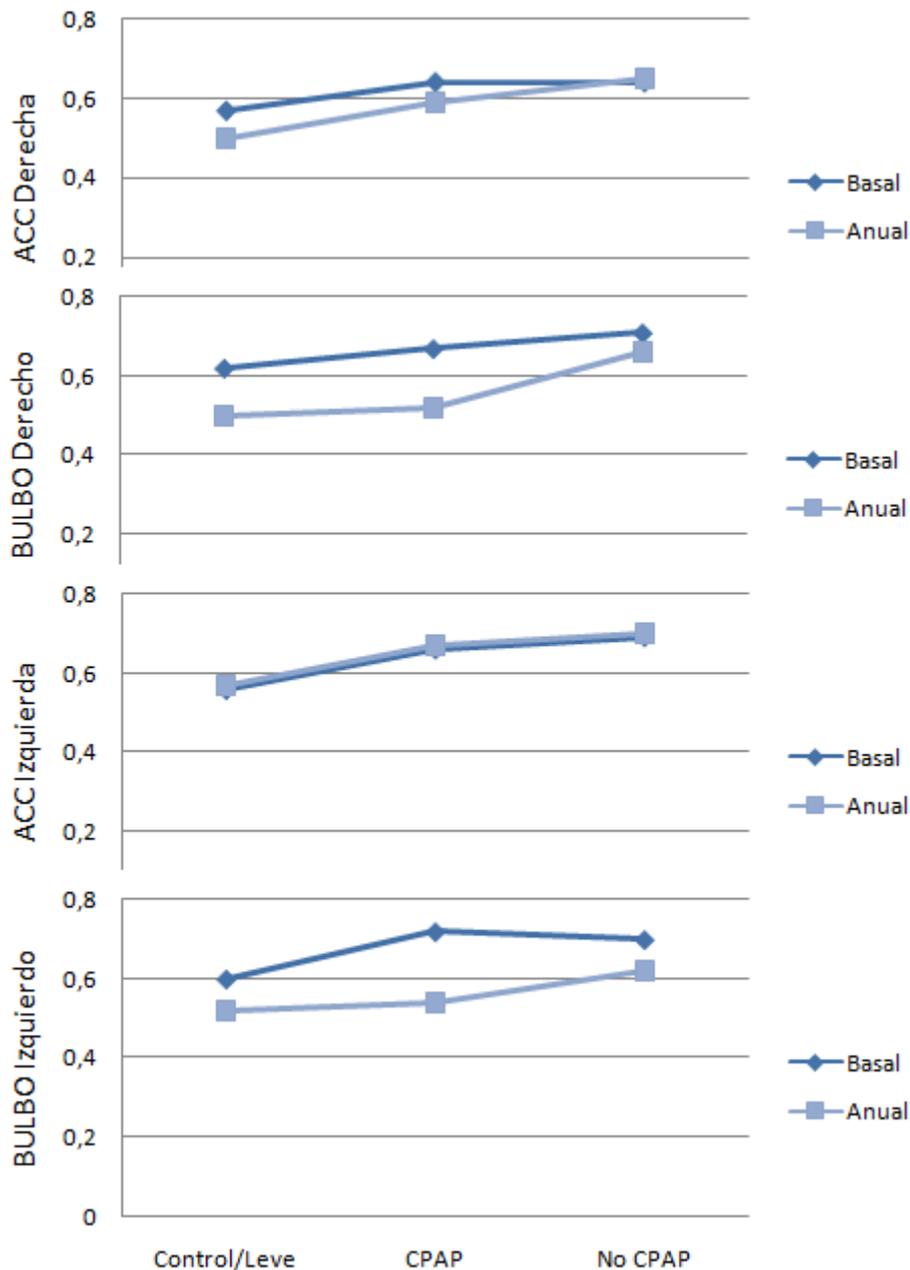


Figura 40. Evolución de los niveles medios de GIM según tratamiento con CPAP (los valores representados son medias)

5.2.2. PORCENTAJE DE CAMBIO DE GIM

Para valorar el cambio real que se produce en el nivel de GIM, y poder comparar por grupos la "evolución" de este parámetro, se generan nuevas variables de "**porcentaje de cambio**" entre la visita anual y la visita basal. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos en cuanto al cambio de GIM para ninguna de las localizaciones. Tampoco entre casos y controles.

La variable porcentaje de cambio se define como:

$$[(\text{valor anual} - \text{valor basal})/\text{valor basal}] * 100$$

Se interpreta como incremento (o disminución) porcentual que se produce en el parámetro a estudio respecto al valor basal. Por ejemplo: diremos que de media el GIM de la ACC Derecha disminuye un 15,81% en la visita anual respecto a la visita basal en los pacientes con AOS, mientras que la disminución media es de un 6,86% en el grupo control, esta diferencia no es estadísticamente significativa. La tabla presenta valores de media (DE).

Tabla 35. Porcentaje de cambio de GIM

Localización	Control (n=27)	AOS (n=114)	p valor** 4 grupos AOS	p valor* Control- AOS
ACC Derecha	-6,86 (28,54)	-15,81 (36,63)	0,733	0,409
BULBO Derecho	-15,96 (37,98)	-18,34 (46,84)	0,526	0,671
ACC Izquierda	2,98 (6,34)	-24,21 (49,78)	0,414	0,260
BULBO Izquierdo	-6,32 (36,53)	1,00 (9,26)	0,446	0,117

*Test de U de Mann-Whitney. **Test de Kruskal-Wallis

Tabla 36. Porcentaje de cambio en los diferentes grupos de tratamiento

Localización	Control/Leve (n=58)	CPAP (n=46)	No CPAP (n=37)	p valor**
ACC Derecha	2,49 (7,78)	0,76 (7,48)	0,65 (11,17)	0,062
	1,63 (4,11)	0,65 (8,10)	0,00 (11,33)	
BULBO Derecho	-16,56 (37,61)	-14,22 (49,59)	-3,37 (34,89)	0,046
	-1,94 (11,14)	0,00 (16,96)	2,28 (13,57)	
ACC Izquierda	2,49 (7,78)	0,76 (7,48)	0,65 (11,17)	0,468
	1,63 (4,11)	0,65 (8,10)	0,00 (11,33)	
BULBO Izquierdo	-12,67 (42,33)	-15,67 (44,02)	-9,61 (43,00)	0,760
	1,63 (16,65)	-0,57 (24,37)	1,55 (14,82)	

**Test de Kruskal-Wallis

Para ninguna de las localizaciones se observan diferencias significativas en el valor de GIM ni por sexo ni por grupo de edad.

El siguiente diagrama de cajas muestra la transformación logarítmica de la variable porcentaje de cambio de GIM en la localización ACC Derecha en función del tratamiento con CPAP.

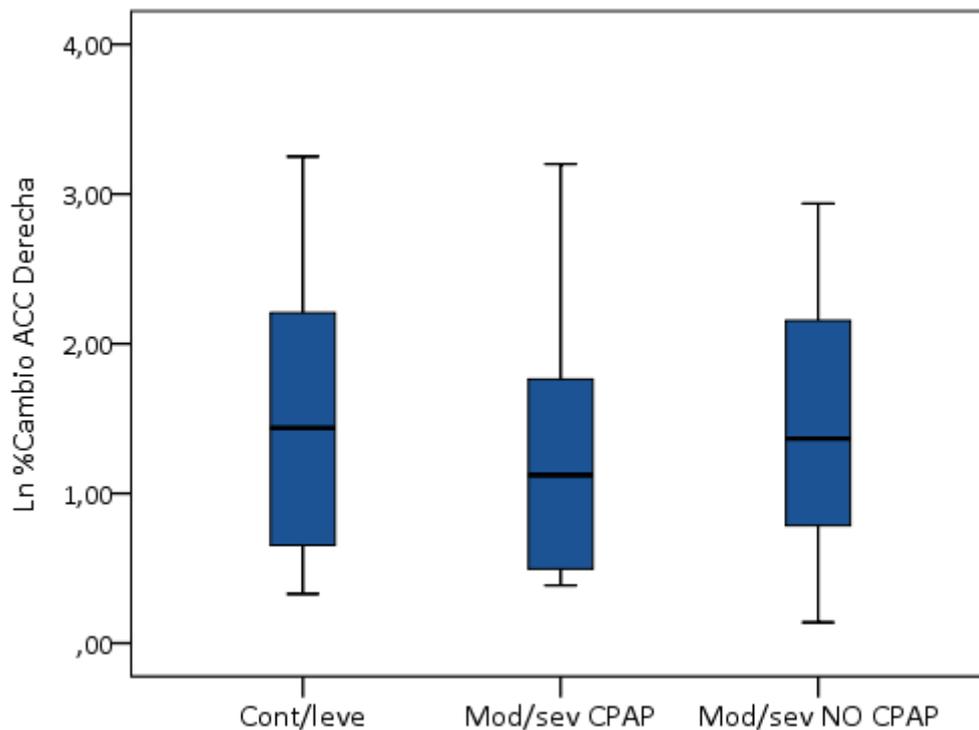


FIGURA 41.

Teniendo esta variable normalizada se plantea un modelo ANOVA unifactorial entre grupos en el que la variable dependiente es el cambio en GIM ACC Derecha y el factor fijo el grupo de tratamiento, sin obtener diferencias significativas entre ellos ($p=0,674$).

6. ASOCIACIÓN PCR Y GIM

Considerando los valores basales, se estudia en primer lugar la posible relación lineal entre las variables GIM y PCR mediante los correspondientes diagramas de dispersión, teniendo en cuenta las cuatro localizaciones posibles de GIM. En la **Figura 42** a simple vista no se observa la existencia de tal relación entre las variables cuando realizamos el estudio para el total de los pacientes (n=200). Pese a ello, se evalúa también numéricamente la relación entre ambas variables, las dos cuantitativas continuas que no siguen distribución normal, mediante el coeficiente de correlación de Spearman. La **Tabla 38** muestra los valores obtenidos, a partir de los que podemos confirmar que no existe relación lineal entre GIM y PCR, para ninguna de las localizaciones de GIM, ni para ninguno de los estratos considerados.

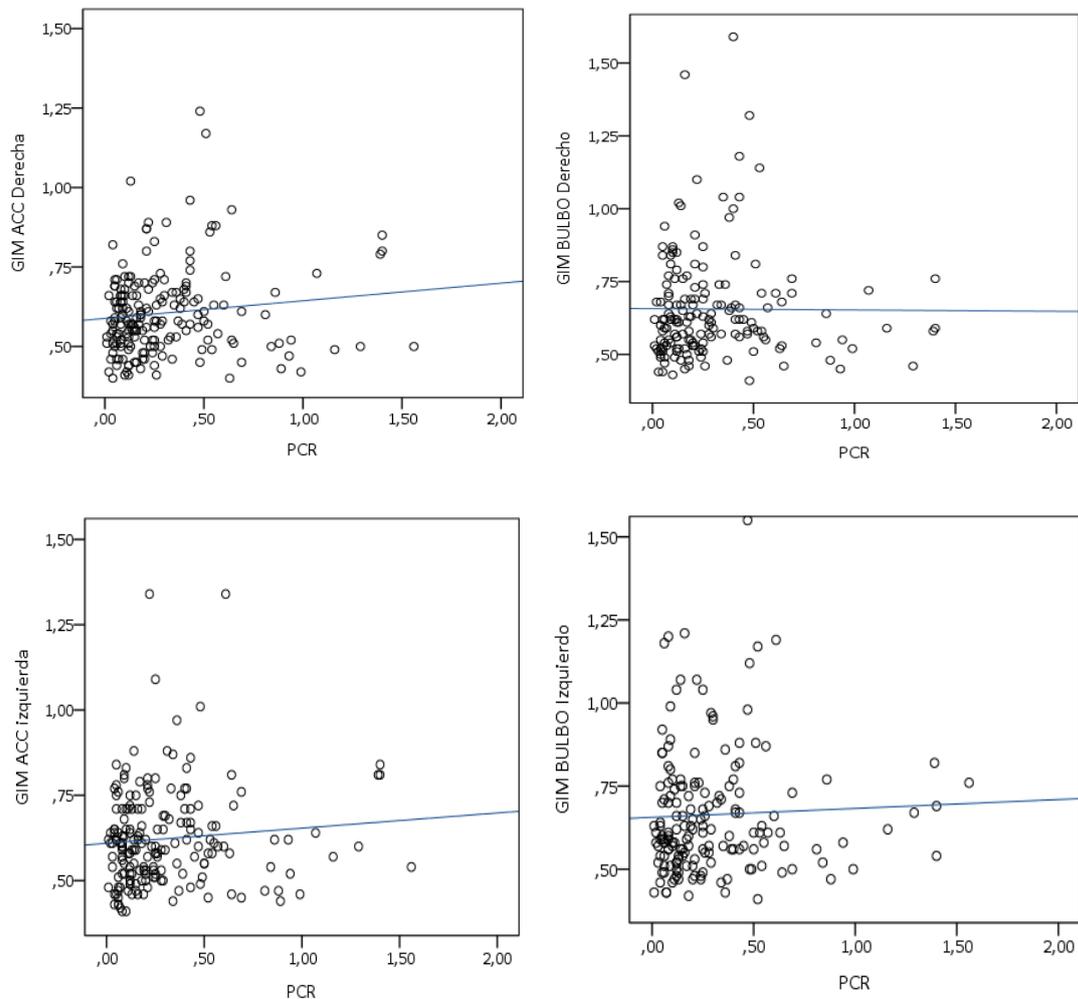


Figura 42. Diagramas de dispersión PCR vs GIM.

Tabla 37. Relación lineal entre GIM y PCR según estratos. Los valores que se muestran en la tabla son los del Coeficiente de Correlación de Spearman y el p valor asociado.

Localización		General	Controles (n=42)	AOS (n=158)	AOS Leve (n=42)	AOS Moderado (n=30)	AOS Severo (n=86)
ACC Derecha	Coeficiente	0,120	0,241	0,013	-0,083	-0,138	-0,025
	p valor	0,098	0,129	0,875	0,606	0,493	0,821
BULBO Derecho	Coeficiente	0,077	0,352	-0,085	-0,316	0,010	-0,126
	p valor	0,324	0,033	0,334	0,068	0,961	0,295
ACC Izquierda	Coeficiente	0,102	0,196	0,001	-0,390	-0,206	0,140
	p valor	0,162	0,221	0,992	0,012	0,333	0,208
BULBO Izquierdo	Coeficiente	0,074	0,224	-0,004	-0,140	-0,362	0,061
	p valor	0,335	0,184	0,961	0,402	0,090	0,613

Tabla 38. Relación lineal entre GIM y PCR según estratos. Los valores que se muestran en la tabla son los del Coeficiente de Correlación de Spearman y el p valor asociado.

Localización		General	Hombres (n=150)	Mujeres (n=50)
ACC Derecha	Coeficiente	0,120	0,152	0,067
	p valor	0,098	0,069	0,652
BULBO Derecho	Coeficiente	0,077	0,094	0,049
	p valor	0,324	0,293	0,763
ACC Izquierda	Coeficiente	0,102	0,111	0,158
	p valor	0,162	0,192	0,284
BULBO Izquierdo	Coeficiente	0,074	0,084	0,095
	p valor	0,335	0,349	0,543

V. DISCUSIÓN

1. POBLACIÓN Y GRUPOS DE ESTUDIO

La alta prevalencia de esta enfermedad, la mayor conciencia de ella por parte de la sociedad, Médicos de Atención Primaria, Neumólogos y la mayoría de Especialidades Médicas, hace que la población remitida a nuestras Consultas (UTRS) sea cada vez más numerosa.

En nuestra Unidad, disponemos de Poligrafía Respiratoria Domiciliaria (PCRD), tipo 3, equipos portátiles para pacientes con probabilidad de padecer AOS, sin otras comorbilidades acompañantes u otras enfermedades del sueño. Este dispositivo ha sido avalado por las diferentes Sociedades Científicas (AASM, SEPAR) ^{2,3,117,132,133}. Esta última, en la Normativa de 2011 considera la PCRD como un método aceptable (recomendación consistente, calidad de evidencia moderada). Tiene la ventaja de que el paciente duerme en su domicilio aunque como inconveniente es que no se evalúa la calidad del sueño y puede infradiagnosticar los trastornos respiratorios del sueño³.

Los pacientes remitidos a nuestra Unidad (UTRS) habían sido seleccionados previamente por los Facultativos de Neumología, para realizar este tipo de prueba. En caso de alta sospecha de AOS y resultados no concluyentes o probabilidad diagnóstica de padecer otras patologías se les repitió un estudio con Poligrafía respiratoria vigilada o Polisomnografía, ocurrió en 2 casos (1%).

De los 3.400 sujetos que estudiamos en la UTRS, sólo 158 pacientes con AOS (4,65%) fueron incluidos en el estudio. De la misma manera, 42 sujetos (1,23%) se consideraron controles al descartar existencia de AOS y cumplir los criterios de inclusión (**TABLA 4**). 3.200 personas fueron excluidas por presentar los criterios para ello (**TABLA 4**), (**FIGURA 22**). Estas dificultades de reclutamiento también se observan en otros estudios, tales como el publicado por Drager y col¹⁰⁷, el 6%. Todo esto refleja la coexistencia de comorbilidades o factores de riesgo que acompañan a AOS¹³⁴⁻¹³⁶. Nuestro grupo¹³⁷ describió una tasa de probabilidad de padecer comorbilidades en pacientes con AOS severo de 2,11 (CI 1,07-4,16, p=0,03).

Sin embargo, si atendemos a los tamaños muestrales de estudios similares al presente, sin factores de riesgo, nuestro grupo es el más numeroso, 200 participantes. Le siguen Ciccone y col.⁸¹, Minoguchi y col.⁵⁰ y Drager y col.¹⁰⁷. Respecto a los estudios sobre PCR, además de los ya referidos, las muestras más cercanas a la aquí expuesta son las de Ryan y col.⁷⁷ y Sharma y col.⁷³ (**TABLAS 2,3**).

La investigación llevada a cabo en nuestra cohorte en un primer tiempo (estudio basal, primera visita) se ha completado con una nueva revisión (estudio anual, segunda visita) al año. En ella, se sigue el mismo procedimiento, la misma exploración y recogida de datos, que en la primera. Las variables se estudian de la misma manera. Además, se comparan los valores anuales con los basales. Como uno de los objetivos primarios es evaluar los cambios que ocurren en las variables principales (PCR y GIM) en dependencia de los grupos de severidad y tratamiento que han seguido durante este periodo, se han creado nuevos grupos atendiendo a la prescripción y cumplimientos terapéuticos. (FIGURA 22).

De nuevo, nuestro estudio, EPIOSA, vuelve a marcar diferencias respecto al tiempo de aplicación de CPAP y de revisión, 12 meses. Los estudios de Hui y col.¹¹⁵ y Colish y col.⁸⁶ reevalúan también pasado este mismo período. Sin embargo, en los siguientes trabajos es menor: Drager y col.⁹⁰ Barceló y col.⁶⁸, Akashiba y col.⁸⁷, Ryan y col.⁷⁷, Kohler y col.⁸⁴ y Stradling y col.¹⁴⁶ (**TABLAS 40,41**)

En este caso, el grupo de participantes se ha reducido, no ha sido posible, por diferentes circunstancias, realizar el seguimiento a toda la cohorte inicial (**FIGURA 22**).

2. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA MUESTRA A ESTUDIO.

En primer lugar, realizamos un estudio descriptivo de la cohorte de EPIOSA. Realizamos comparativas entre controles y AOS y entre los diferentes grupos de severidad de AOS y los controles. Estos datos quedan plasmados en las **TABLAS 7-10** y en las **FIGURAS 23-30**. Todos ellos nos aportan una valiosa información.

2.1. DISTRIBUCIÓN POR SEXOS

La distribución por sexos de nuestro grupo es fiel reflejo de los datos epidemiológicos, la relación hombre/mujer es, en las edades medias, de 2-3/1, tendiendo a igualarse a partir de la menopausia^{3,137}. Esta evidencia sugiere una influencia hormonal no claramente definida. Puede deberse a la mayor resistencia de las mujeres al colapso de la vía aérea, las diferencias en la distribución del tejido adiposo y distintos mecanismos en el control de la ventilación^{138,139}. Baguet y col.¹⁰⁸ tienen una frecuencia de hombres entre 80-88% según los grupos. En nuestro caso, la distribución es similar entre los controles, pero a medida que el AOS es más severo, crece el porcentaje de hombres.

Por esta razón, las diferencias entre grupos se hacen significativas entre los controles (54,76%) y severos (86,05%). También entre leves (69,05%) y severos. Control y leves son similares. En los casos moderados (80%) y severos no hay diferencias en la proporción.

2.2. SOBREPESO/OBESIDAD

Un factor con el que nos enfrentamos en nuestro estudio es la obesidad. En estudios poblacionales, se demuestra que 70% de los pacientes con AOS tienen sobrepeso y el 58% de los casos de AOS moderado-severo se atribuyen a un IMC >25Kg/m² ⁶⁷.

Efectivamente, la obesidad, especialmente en los casos de distribución central del tejido adiposo, es la enfermedad que más predispone a AOS. Esto se debe, principalmente, al depósito del tejido adiposo a nivel faríngeo aunque también en relación con la

reducción de volúmenes pulmonares en estos casos. Los estudios no son concluyentes, pero sugieren que el perímetro del cuello y de la cintura predicen más que el IMC la probabilidad de desarrollar AOS.¹³⁹⁻¹⁴¹

La obesidad se caracteriza por el aumento del tejido adiposo blanco, hipertrofia, y también por un mayor número de adipocitos, hiperplasia. La grasa visceral se asocia con la hipertrofia de adipocitos. El tejido adiposo pardo, por otro lado, también existe en una modesta cantidad, aunque su función principal es la calorífica más que como reserva de energía. El exceso de tejido adiposo blanco tiene repercusiones metabólicas. El síndrome metabólico se caracteriza por aumento de la obesidad visceral, HTA y dislipemia.¹⁴²

Clínicamente, el aumento del perímetro abdominal es el mejor predictor de la obesidad visceral y de mortalidad¹⁴³.

Los pacientes han sido reclutados cuidadosamente, aun así, como factor etiopatogénico que es, se demuestra mayor grado de sobrepeso u obesidad en el caso de los pacientes con AOS severo.

En las **TABLAS 9 Y 10** se aprecia muy bien, sin ir más lejos, que entre participantes no AOS y AOS leve ya existen diferencias estadísticamente significativas respecto al IMC, el perímetro de cintura y el contenido de tejido adiposo visceral. Estas mediciones no varían significativamente entre moderados y severos.

2.3. EDAD

La prevalencia de SAHS se incrementa con la edad, llegando a triplicarse en los ancianos comparados con edades medias³.

En este trabajo ocurre lo mismo con la edad. A medida que aumenta la severidad del AOS, ésta es mayor, dentro de los límites establecidos como criterios de inclusión. Sin embargo, los participantes sin AOS y con AOS leve, son similares respecto a la edad, al igual que los AOS moderados y AOS severos.

2.4. CLASIFICACIÓN DE LA POBLACIÓN EN GRUPOS

En un primer tiempo, hemos descrito y comparado las diferentes variables objeto de estudio dependiendo de la existencia o no de AOS. Posteriormente, hemos realizado los procedimientos estadísticos atendiendo a la clasificación de AOS en relación con IAH^{3,144}.

- a) IAH <5 No AOS
- b) IAH 5-14,9 AOS leve
- c) IAH 15-29,9 AOS moderado
- d) IAH \geq 30 AOS severo

Drager y col.¹⁰⁷ realizan sus comparaciones entre controles, AOS leve-moderado y AOS severo. Kaynak y col.¹⁰⁵ también siguen esta misma clasificación. Ciccone y col.⁸¹ sin embargo, siguen otra clasificación: controles; AOS leve; y AOS moderado-severo.

Estos análisis, nos llevan a la conclusión de las características comunes existentes entre pacientes con AOS moderado y severo, así como No AOS y AOS leve.

Esta valoración es importante, en el sentido en que se demuestra que pacientes con AOS moderado, y sin otros factores de riesgo, se comportan de forma similar a AOS severo.

2.5. ESCALA DE SOMNOLENCIA EPWORTH

La Excesiva Somnolencia Diurna (ESD) es un síntoma muy prevalente en la población general y difícil de medir. El padecimiento de la misma puede ser concurrente con la presencia de un IAH elevado. Existen estudios que no encuentran correlación entre IAH y la presencia de ESD, éstos defienden la existencia de diferentes expresiones fenotípicas del AOS^{1,3,5}. Es el cuestionario más utilizado, sencillo y práctico¹²²⁻¹²⁵. Sin embargo, por lo ya referido, no siempre se correlaciona con la severidad de AOS ni con la somnolencia medida objetivamente por otros métodos de evaluación³.

En nuestro caso, los pacientes con AOS habían sido remitidos a la Consulta de Unidad de Trastornos del Sueño (UTRS) con sospecha clínica de dicha enfermedad. La ausencia de diferencias de puntuación del Test de Epworth entre los diferentes grupos e incluso con los controles puede ser debido a ello. Sin embargo, queremos remarcar que, a pesar de la existencia de una gran variabilidad respecto a IAH, no hay diferencias respecto a la Somnolencia sentida y puntuada a través de esta herramienta. Además, hay que tener en cuenta que las poblaciones presentan características sociodemográficas similares.

3. EVOLUCIÓN DE LAS VARIABLES RELEVANTES A ESTUDIO

En la segunda visita, anual, los participantes son un número menor, 141 en total, 27 controles y 114 AOS. (**FIGURA 22, TABLA 11**).

Como podemos comprobar, las variables antropométricas y analíticas persisten diferentes entre ambos grupos y, además, no se modifican significativamente al año. Los participantes mantienen sus características.

Mención especial son los parámetros relacionados con AOS:

- IAH
- SaO2 media
- SaO2 min
- CT90

El segundo estudio por medio de Poligrafía Cardiorrespiratoria Domiciliaria (PCRD) se realiza tanto a Controles como AOS, de estos últimos, aquéllos a los que se les ha prescrito CPAP la utilizan durante este nuevo control.

Observamos que este segundo estudio, no existen diferencias entre el grupo No AOS y AOS, por las razones esgrimidas. Tampoco existen

cambios entre la primera y segunda visita entre controles, pero sí lo hay entre AOS debido a este motivo.

Estos últimos datos son muy importantes, porque demuestran la eficacia del tratamiento pautado. La corrección objetivada durante una noche de estudio es una razón de peso para afirmar que una adherencia óptima al tratamiento resuelve, de forma satisfactoria y mantenida en el tiempo, los eventos respiratorios.

4. PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)

La elección de la Proteína C Reactiva (PCR) como marcador inflamatorio se debe no sólo a todo el respaldo bibliográfico, ya referido, sino también a su estabilidad en la medición de sus niveles a lo largo de 24 h en el mismo individuo.¹⁴⁵

4.1. ESTUDIO BASAL

Las **TABLAS 12, 13 y 14** demuestran la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre el grupo No AOS y el grupo con AOS. Atendiendo a los diferentes grupos de severidad, se objetiva un aumento de los niveles de este marcador a medida que aumenta la gravedad de la patología. Existen diferencias entre Controles y AOS severo; Controles y AOS leve; AOS leve y AOS severo; e incluso entre grupos AOS moderado y AOS severo. Esta última afirmación es importante, porque mientras que entre estos dos grupos no existen diferencias antropométricas, excepto el contenido de tejido adiposo visceral, y, por supuesto, entre eventos respiratorios, sí que existen niveles diferentes de PCR.

Además, es de destacar el gran rango de distribución que se demuestra en cada grupo, especialmente en AOS severo (**FIGURA 31**).

Los valores obtenidos en la primera visita respecto a este marcador, como podemos observar en la **TABLA 39**, son similares a los resultados de estudios previos. En nuestro caso (EPIOSA), hago referencia a los valores de la mediana (RIQ) por seguir esta variable una distribución no paramétrica. Aunque los diferentes trabajos varían respecto a estos datos.

TABLA 39. AOS , NO FACT. RIESGO CVS Y PCR

AUTORES/AÑO	Edad (AOS)	IMC (AOS)	Control PCR (mg/dl)	AOS leve PCR (mg/dl)	AOS moderado-/severo PCR (mg/dl)	p
Shamsuzzaman y col. ⁷⁹ /2002	48±3	36±4	0,09±0,12		0,33±0,15	p<0,008
Drager y col. ⁹⁰ /2007.	47	30			0,31±0,28	p<0,01 p<0,01
Ciccone y col. ⁸¹ /2014	52,3±10,1	28,8±3	0,108±0,053	0,132±0,048	0,184±0,067	p<0,01
Minoguchi y col. ⁵⁰ /2005	48±1,5	28,1±0,6	0,09 ± 0,02	0,15 ± 0,03	0,28 ± 0,04	p<0,05 / p< 0,01
Ryan y col. ⁷⁷ /2007.	43 (9)	32,1 (3,5)	0,11 (0,07-0,21)	0,18 (0,12-0,37)	0,22 (0,16-0,35) / 0,5 (0,24-0,91) (grupo AOS severo y obesidad mórbida)	P= 0,727 / P<0,005
EPIOSA mediana (RIQ)	46,7 (9,1)	32,3 (5,5)	0,11 (0,18)	0,16 (0,18)	0,16 (0,31) / 0,29 (0,36)	p<0,001

Si nos guiamos por las recomendaciones de los CDC y Academia Americana de Cardiología⁵⁸, los niveles encontrados en los AOS severos se encontrarían en el límite de valor predictivo de eventos cardiovasculares (Clase IIa, nivel de evidencia B).

Como se puede observar en la Tabla 2 del Capítulo de Introducción, se reflejan los valores de PCR de los principales estudios, tanto con o sin factores de riesgo. Parecen ser más elevados en aquellos estudios en que los participantes con factores de riesgo cardiovascular han sido incluidos.

De cualquier forma, para una mayor aproximación, vamos a comparar nuestro estudio con los realizados con poblaciones similares a la nuestra, sin factores de riesgo cardiovascular.

Para Shamsuzzaman y col.⁷⁹ (**FIGURA 7**) existen diferencias entre Controles y AOS moderado-severo, además los niveles de PCR están relacionados de forma independiente con la severidad de AOS en estudios de correlación y de regresión multivariante.

Ryan y col.⁷⁷ (**FIGURA 6**) estudiaron a una población masculina y emparejaron los diferentes grupos en relación con el IMC. También compararon un grupo de mayor IMC y AOS severo. Concluyen, tras estudios de correlación y regresión multivariante, que el factor determinante de elevación de PCR es la obesidad. No se modificaron los parámetros tras 6 semanas de tratamiento con CPAP.

Un estudio de mayor envergadura es el realizado por Taheri y col. en el *Wisconsin Sleep Cohort Study*⁷¹, comparan los niveles de PCR con la existencia de AOS y los diferentes grados de severidad, entre otras patologías del sueño y mediciones analíticas. A pesar de objetivar diferencias entre estos grupos, los niveles elevados de PCR no se asocian con esta patología al ajustar por edad, sexo e IMC.

Minoguchi y col.⁵⁰ sí que encuentran diferencias entre grados de severidad de AOS respecto a niveles de PCR así como correlación entre IAH y PCR.

Ciccione y col.⁸¹, también encuentran diferencias entre los niveles de PCR y GIM entre el grupo control, AOS leve-moderado y AOS severo.

4.2. RELACIÓN DE PCR CON OTRAS VARIABLES

Los estudios de Correlación de Spearman se desglosan en la **TABLA 15**. Son múltiples las variables que se relacionan con los niveles de PCR. Las de mayor significación son:

- Las inherentes a los parámetros antropométricos: IMC, perímetro de cintura y cadera y tejido adiposo visceral.
- Las definitorias de AOS y, por tanto, del grado de severidad de dicha patología: IAH, SaO₂ media, SaO₂ mínima y Ct90.

En la **TABLA 2**, se esquematizan los resultados de los estudios más importantes respecto a esta materia. Como podemos comprobar, en la mayoría de ellos, los niveles de PCR se encuentran más elevados en AOS. Los análisis de correlación están en consonancia con los nuestros, tanto el IMC u obesidad, como la severidad del AOS están relacionados con este marcador de inflamación en grado variable según unos u otros. La edad también es un factor, en algún caso, a diferencia de nuestros hallazgos.

4.3. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

La **TABLA 16**, así como la **FIGURAS 32**, hacen referencia a los análisis de regresión múltiple llevados a cabo con las variables relacionadas. Especial atención merecen los parámetros implicados en la severidad de AOS. Como hemos podido ver, numerosas características clínicas se relacionan con la inflamación sistémica. A pesar de las correlaciones significativas de IAH, al ajustar con otras variables, no se mantiene en el modelo predictivo. Sin embargo, sí lo hace la SaO₂ mínima.

Esto enlaza con la hipoxemia, como marcador importante de la severidad de esta patología. Existen trabajos para los cuales es más importante este parámetro que el IAH.

En este trabajo, IMC también es significativo y permanece en el modelo predictivo.

En la **TABLA 2** podemos comprobar la discrepancia de conclusiones publicadas. Barceló y col⁷⁵, Ryan y col⁷⁷, Taheri y col⁷⁸ y Sharma y col⁷³ relacionan la PCR con IMC/obesidad y no con AOS. Por el contrario, Shamsuzzaman y col⁷³, Minoguchi y col⁵⁰, Can y col⁷⁴ y Drager y col⁸⁰ sí con AOS, independientemente de IMC.

4.4. ESTUDIO ANUAL

Las mediciones de PCR tras un año se mantienen diferentes entre los grupos de severidad de AOS. Las discrepancias mayores se dan, al igual que en la primera visita, entre controles y AOS. Sin embargo, no hay diferencias entre los AOS moderado y severos. Estos dos grupos mantienen cifras altas de PCR (>0,3 mg/dl), aunque persiste una amplia distribución de resultados. (**TABLAS 17-19**)

Finalmente, no existen diferencias intragrupo entre los valores anuales y los basales.

4.5. EFECTOS DE CPAP EN NIVELES DE PCR

Los valores de los grupos formados según el tratamiento que reciben también son diferentes con significación estadística. En realidad se mantiene el grupo de Control/AOS leve, de características similares en la mayoría de las variables; y las dos nuevas variables, CPAP y no CPAP, provienen de los grupos AOS moderado y AOS severo. Por ello, los resultados son similares entre estos últimos. (**TABLAS 20 Y 21**).

En la **TABLA 20** y **FIGURA 33** se demuestra **un cambio, aumento con significación estadística, entre los niveles basales y medidos al año en el grupo que no ha utilizado CPAP de forma óptima**. No ocurre esto en los otros dos grupos.

Sin embargo, cuando estudiamos el porcentaje de cambio de estos niveles, y los comparamos entre los tres grupos, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas (**TABLAS 22, 23 y FIGURA 34**).

La mayoría de autores tampoco encuentra diferencias. Como podemos observar en la **TABLA 40**, los periodos de utilización del dispositivo son muy variados. Nuestro grupo se encuentra entre los más largos (12 meses). En la mayoría, la población presentaba factores de riesgo cardiovascular (cvs). Entre los grupos sin éstos, existen discrepancias: Ryan y col⁷⁷ no encuentran cambios en los niveles, en cambio Drager y col⁹⁰, muestra más pequeña pero más tiempo (4 meses), sí que los obtienen.

Kohler y col.⁸⁴, tras 4 semanas, de utilización de CPAP, tampoco encontraron cambios significativos.

Los mismos resultados obtienen este mismo grupo, Stradling y col.¹⁴⁶ en un ensayo controlado publicado recientemente, (*Multi-centre Obstructive Sleep Apnoea Interventional Cardiovascular (MOSAIC) trial*). Compararon durante 6 meses la utilización de CPAP vs no CPAP en 391 pacientes con AOS leve y paucisintomáticos. No excluyeron factores de riesgo cardiovascular. No detectaron cambios en los marcadores de inflamación sistémica (IL-6, IL-10; PCR y TNF α) en ambos grupos. La mejoría en la función endotelial podría ser debido a disminución de los niveles de catecolaminas sistémicas.

Tabla 40. Estudios de cambios de PCR tras tratamiento con CPAP

Cambios tras tratamiento con CPAP

Autores/Año	N	Tiempo	Previo mg/dl	Post mg/dl	p
Barceló y col. ⁶⁸ /2004	Control 18 AOS obesos 23 AOS no obesos 24	3 meses	Log: 1,48±0,53 Log: 1,18±0,44	Log: 1,58±0,31 Log: 1,32±0,33	0,79 Diferencia de cambio entre los grupos 0,04 (IC -0,26 a 0,34)
Akashiba y col. ⁸⁷ /2005	96 AOS	9 meses	0,1824	No existieron cambios.	NS No cambios en niveles de PCR ni IMC.
Ryan y col. ⁷⁷ /2007	49 pacientes con OSA moderado o severo.	6 semanas	0,284 (0,11-0,54)	0,22 (0,13-0,41)	0,145
Drager y col. ⁹⁰ /2007	AOS severo sin CPAP 12 AOS severo con CPAP 12	4 meses	0,31±0,28 0,37±0,18	0,33±0,27 0,20±0,12	NS 0,001
Kohler y col. ⁸⁴ /2009	49 AOS moderado-severo, CPAP subterapéutica. 51 AOS moderado-severo, CPAP terapéutica	4 semanas	0,26 (0,12-0,44) 0,30 (0,16-0,71)	0,32 (0,13-0,61) 0,28 (0,13-0,57)	Diferencias (95%CI): -0,24 (-0,88 a +0,24). p 0,30.
Colish y col. ⁸⁶ /2012	AOS severo: 47	12 meses	0,6±0,3	0,5±0,3	0,78
Stradling ¹⁴⁶ y col/2015	113 AOS leve, tto conservador 125 AOS leve, CPAP Factores de riesgo cvs	6 meses	0,15 (0,08–0,34) 0,18 (0,08–0,33)	0,16 (0,08–0,34) 0,14 (0,08–0,27)	Efecto del tratamiento -0,20 (-0,59 a +0,18) p=0.30
EPIOSA	AOS modsev Con CPAP Sin CPAP	12 meses	0,39 (0,31) 0,37 (0,42)	0,39 (0,34) 0,45 (0,61)	0,565 0,041 % cambio 0,105

5. GROSOR ÍNTIMA-MEDIA CAROTÍDEA (GIM)

5.1. MEDICIÓN DE GIM

Se recomienda que la medición del GIMc se realice en la carótida común, en el sector ubicado 1 cm proximal al bulbo. Esta región, presenta características que posibilitan un registro ecográfico adecuado y reproducible (Ej. dimensiones apropiadas, fácil visualización de manera horizontal). Se recomienda el registro en la pared posterior y no en la anterior, que habitualmente no presenta una definición adecuada para la medición precisa del GIMc. Si bien puede medirse en otros sectores, como la carótida interna y el bulbo, la medición en ellos presenta limitaciones respecto a la realizada en la carótida común. Al respecto, la reproducibilidad del GIMc es mayor en la carótida común⁹¹⁻⁹³ El estudio ARIC¹⁴⁷ (n=13.824) mostró que la medición del GIMc pudo realizarse adecuadamente en la carótida común en 91,4% de los casos, mientras que, en el bulbo y la arteria carótida interna el registro fue adecuado en el 77,3% y 48,6%, respectivamente. Asimismo, en el estudio Róterdam⁹³ (n=1.881), fue posible medir el GIMc en la carótida común en 96% de los sujetos, mientras que en el bulbo y carótida interna el registro pudo realizarse en el 64% y 31%, respectivamente. De todas maneras, se cuantifique o no el GIM a nivel de bulbo y/o carótida interna, estos segmentos siempre debe escanearse para evaluar permeabilidad, perfiles de flujo y presencia de placas de ateroma¹⁴⁸.

Mateo y col.¹⁴⁹ compararon la medición de GIM máximo y GIM medio en los diferentes segmentos, llegando a la conclusión de que el GIM medio está menos sujeto a errores y que se asocia mejor con la carga aterosclerótica.

Nuestro grupo, EPIOSA, hemos realizado mediciones en dos segmentos de cada carótida, común y bulbo. Los datos corresponden al valor medio de tres exploraciones en cada uno de ellos. Es el GIM medio. La mayoría de los estudios aportan datos sobre la Arteria Carótida Común derecha. Realizaremos comparaciones entre los nuestros a ese nivel.

5.2. ESTUDIO BASAL

Como podemos observar en las TABLAS **24-26** y **FIGURAS 35-38**, existen diferencias entre el grupo control y el grupo AOS. Cuando pormenorizamos en los distintos grupos de gravedad, también las hay entre ellos. De especial relevancia es la que existe entre Control y AOS severo y AOS leve y AOS severo. Los grupos moderado-severo se comportan de forma similar.

5.2.1. PREDICTOR DE EVENTOS CARDIOVASCULARES

De entre los estudios poblacionales sobre el GIM como predictor de riesgo cardiovascular ya hemos comentado que Polak y col.⁹⁴ siguieron a 2.965 personas, sin enfermedad cardiovascular, aunque algunos con factores de riesgo, pertenecientes a la cohorte del estudio *Framingham Offspring Study*, durante un máximo de 7,5 años. Aun presentando edades mayores, el GIM en arteria carótida común fue de $0,59 \pm 0,13$ mm en los que no desarrollaron durante ese tiempo fenómenos CV y 0,66 mm en los que sí. Estas mediciones son menores en nuestros grupos de No AOS-AOS leve (0,52 (0,15)) y AOS moderado-severo (0,62 (0,17)), los valores más extremos. Mención especial también a los estudios, ya comentados, de Berry y col.⁹⁶, con 2.988 individuos pertenecientes al estudio *Desarrollo de Riesgo Coronario en pacientes jóvenes (CARDIA)* y 1.076 del estudio sobre *Aterosclerosis Multiétnico (MESA)*. Todos menores de 50 años, similar a nuestra población, durante un seguimiento de 10 años. El grosor de la pared carotídea (GIM), tanto de la carótida común como de la interna, era mayor, $\approx 0,05$ mm, en el estudio inicial, en aquellos con riesgo bajo a corto plazo y alto a largo plazo respecto a los que tenían riesgo bajo a corto y largo plazo. Resaltar que una pequeña diferencia entre estas mediciones modificaba el riesgo.

En nuestra cohorte, la primera determinación en ACC dcha. muestra diferencias entre grupos aún mayores (**TABLA 25**). En los análisis posteriores se estudiará el papel de todas las variables en esta diferencia.

Cabe decir, que las medias de los valores de GIM de nuestra población a estudio son normales, en los diferentes sectores de la arteria carótida.

En la **TABLA 3** se exponen los principales trabajos sobre GIM en AOS, muchos de ellos se han realizado en poblaciones con factores de riesgo cardiovascular. Encuentran diferencias entre los diferentes grados de severidad de AOS.

En un metaanálisis publicado en 2013 Nadeem y col.¹⁰¹ concluyen que los pacientes con AOS presentan un aumento de GIM carotídeo, y defienden la existencia de un proceso aterosclerótico subyacente. Concluyen que existe correlación entre el mismo y la severidad del AOS. No obstante, también destacan el valor de factores concomitantes como el sexo, la edad, IMC y metabolismo lipídico.

En nuestro estudio, **EPIOSA**, los resultados se comparan con otros en la **TABLA 41** Los resultados se expresan en mediana (RIQ) por ser una variable no paramétrica, si bien, en la **TABLA 26** del Capítulo Resultados, también se expresa la media \pm DE, si se quiere comparar de forma todavía más completa con los resultados de otros autores, que así la describen.

Pocos existen en poblaciones **sin factores de riesgo** cardiovascular. Drager y col¹⁰⁷, Minoguchi y col⁵⁰ y Ciccone y col⁸¹. Son poblaciones similares, respecto a edad e IMC. Con menor tamaño muestral. Las mediciones de GIM son **menores en nuestro estudio**, no alcanzan niveles patológicos, como se observa en alguno de éstos.

Drager y col.¹⁰⁷, encontraron diferencias significativas entre AOS severo y controles y AOS severo y AOS leve-moderado. Estos signos precoces de aterosclerosis se correlacionaban con la severidad del AOS, medido por el IAH, sugiriendo un papel independiente de esta enfermedad en la progresión de la aterosclerosis. Al igual que en nuestro estudio, no detectaron placas carotídeas.

Ciccone y col.⁸¹, estudiaron a 80 pacientes con AOS y 40 controles. Demostraron diferencias estadísticamente significativas en relación a GIM entre AOS y controles y entre AOS moderado-severo vs AOS leve. En pacientes AOS existió correlación entre GIM y los marcadores inflamatorios.

También Minoguchi y col⁵⁰. encuentran diferencias entre los controles (16) y pacientes con AOS (36). Encontraron correlación entre GIM carotídeo y los niveles de marcadores inflamatorios en plasma así como con la edad, severidad de AOS (IAH) y duración del tiempo en hipoxia, siendo éste último el mayor predictor independiente de GIM.

TABLA 41. AOS, NO FACT. RIESGO CVS Y GIM ACC DCHA

AUTORES	Edad (AOS)	IMC (AOS)	GIM (mm) Control	GIM (mm) AOS leve	GIM (mm) AOS moderado -/severo	p
Drager y col. ¹⁰⁷ /2005	44±1	29,3 ±0,8	0,60 ±0,02	0,58 ±0,02	/ 0,72±0,03	p<0,01 p<0,01
Ciccione y col ⁸¹ /2014	52,3 ±10,1	28,8±3	0,65 ±0,1	0,76 ±0,1	0,95±0,09	p<0,01
Minoguchi y col. ⁵⁰ /2005	48	28	0,71 ±0,03	0,92 ±0,07	1,16±0,05	p<0,001 / p<0,003
EPIOSA Mediana (RIQ)	46,7 (9,1)	32,3 (5,5)	0,52 (0,15)	0,57 (0,15)	0,56(0,16) / 0,62(0,17)	p<0,001

5.2.2. EXISTENCIA DE PLACAS

Una placa de aterosclerosis se define como una lesión que protruye en la luz y con GIM >50% del de las áreas vecinas o con GIM >1,5 mm⁹³. La existencia de placas carotídeas es un indicador más relevante de aterosclerosis^{148,151}. No son frecuentes en la arteria carótida común pero sí a nivel del bulbo carotídeo. Sin embargo, la

relación estrecha entre la existencia de mayor GIM en la arteria carótida común y la existencia de placas sustenta la teoría de que el GIM es un marcador de aterosclerosis.

Apoyando estos hallazgos, Polak y col.⁹⁴ demostraron que la presencia de placas modifica la clasificación de los modelos predictivos de riesgo cardiovascular existentes.

Estos autores determinan la existencia de placas en la arteria carótida interna. Los pacientes sin eventos cardiovasculares durante el seguimiento, en la primera valoración las presentaban a ese nivel en un 27,4% de casos, por el contrario, en los que desarrollaron eventos cvs, fue en el 59,6%.

En nuestro trabajo, exploramos el territorio del bulbo carotídeo, lugar de la bifurcación de la carótida común entre carótidas interna y externa y el inicio de la carótida interna. Es una zona de mayor tensión y mayor velocidad de flujo por lo que se forman más frecuentemente placas de ateroma⁹³. **El mayor porcentaje lo hemos encontrado a nivel del bulbo izquierdo (15,48%), seguido por el derecho (7,89%). A nivel de carótidas comunes: 3,16% en la derecha y 4,55% en la izquierda. Estadísticamente no es significativo (TABLA 27).** También parece estar alejado de los valores descritos de riesgo cvs.

Minoguchi y col.⁵⁰ también detectan la existencia de placas (30,4% en AOS moderado-severo, 12,5% en leves y 12,5% en controles).

Sin embargo, existe un estudio, Homma y col¹⁵¹, que estudiaron a una población con rango de edad entre 21-105 años, sin factores de riesgo cardiovascular. En los sujetos menores de 50 años, no encontraron ninguna placa carotídea. Para estos autores, lo verdadero patológico es la existencia de placas. La evolución del GIM es propio de la edad, incluso muestran una fórmula predictora teniendo en cuenta este parámetro ($GIM = (0,009 \times edad) + 0,116$).

De todo lo estudiado se desprende que la existencia de placas puede revelar enfermedad aterosclerótica más avanzada. Nuestros pacientes son relativamente jóvenes y sin otros factores de riesgo que sumar a nuestra patología.

5.2.3. RELACIÓN DE GIM CON OTRAS VARIABLES

En la **TABLA 28** se demuestra, por medio de los análisis de correlación de Spearman, la relación entre GIM, en los diferentes segmentos explorados, con el resto de variables de los participantes.

A modo de resumen, podemos encontrar factores relacionados con las mediciones de GIM:

- Edad, perímetro de cintura y cuello y el contenido de tejido adiposo visceral;
- Marcadores de severidad de AOS: IAH, SaO2 media, SaO2 min y Ct90.

En la **TABLA 3** se recogen los hallazgos más importantes respecto a este tema.

5.2.4. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

En el análisis multivariante encontramos que el AOS, expresado por el IAH, y la hipoxemia acompañante, expresada por Ct90 y SaO2 media permanecen en el modelo predictivo. Por tanto, en pacientes sin otros factores de riesgo cardiovascular, el AOS es un factor predictivo independiente del Grosor de la Íntima-Media. A esto hay que añadir el factor de la edad, IMC, TAs y TAd.

En la **TABLA 3**, como ya hemos dicho, quedan esquematizados los hallazgos más importantes en este sentido.

La EDAD, es uno de los determinantes más importantes de GIM y de la existencia de placas de aterosclerosis, y puede llevar a confusión si no se ajusta a ella en los diferentes modelos estadísticos¹⁴⁸. Aumenta de 0,01 a 0,02 mm por año.⁹²

Nuestro grupo de estudio, al igual que otros publicados, se basa en una población sin factores de riesgo. Jarauta y col.¹⁰⁰ estudian un grupo similar al presente, respecto a edad y sin otros factores. Demuestran que la edad es el factor que más influye en el GIM así como las diferencias entre sexos.

Baguet y col.¹⁰⁸ demuestran que la hipoxemia (SaO₂ media < 92%), junto a HTA, son factores predictivos de aumento de GIM en la arteria carótida común. Sin embargo, para la formación de placas, lo es la hipoxemia, independientemente de la Tensión Arterial.

Suzuki y col.⁹⁸ en 167 pacientes, demostraron que el GIM se correlacionaba con la severidad de AOS y, especialmente, la hipoxemia secundaria al mismo (T90 y SaO₂ min) de forma independiente al IAH.

Ciccone y col.¹⁰³, estudiaron a 156 pacientes, encontrando en el análisis multivariante que los factores predictores de GIM eran la edad, tiempo de evolución de AOS y la severidad de AOS.

Drager y col.¹¹²⁻¹¹⁴, en un estudio multivariante demostraron que GIM se encontraba relacionado con HTA y AOS. Ambas tenían efecto aditivo en los marcadores de aterosclerosis. También se potencian los efectos en casos de Síndrome metabólico y AOS.

Como resumen de ellos, podemos concluir que, el AOS, y especialmente la hipoxemia más que el IAH, son factores predictivos, junto con otros como la edad, IMC y TA, de niveles elevados de GIM.

5.3. ESTUDIO ANUAL

Entre los participantes de la segunda visita, al año, 141 en total, 27 controles y 114 AOS se comprueban que persisten las diferencias entre ellos. De la misma manera, ocurre cuando comparamos por grupos de severidad. Se mantienen las diferencias entre Control y AOS severo y AOS leve con AOS moderado.

Las diferencias evolutivas entre la visita basal y anual, se dan de forma aislada en alguno de estos grupos. (**TABLAS 30-32, FIGURA 39**)

5.3.1. EVOLUCIÓN DE GIM SEGÚN TRATAMIENTO CON CPAP

Como hemos explicado anteriormente, seguimos la evolución de GIM, con repeticiones en la medición, al cabo de un año. Los grupos se han creado atendiendo al tratamiento. En primer lugar, figuran los sujetos Control y AOS, que no recibieron tratamiento, los AOS moderado y severo que han cumplimentado el tratamiento, y los AOS moderado y severo, que no han cumplimentado bien dicha terapia. Por estas razones, existen diferencias tanto a nivel basal como en los resultados anuales entre el primer grupo y los otros dos (**TABLA 33**).

Respecto a los cambios evolutivos en las mediciones, se objetiva que los valores medios del grupo tratado correctamente con CPAP, disminuyen, de forma significativa para ACC dcha. No se evidencia este cambio de forma tan destacada en el grupo de No CPAP. (TABLAS 33,34 Y FIGURA 40).

Sin embargo, cuando aplicamos el porcentaje de cambio entre los tres grupos, para las diferentes localizaciones, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas. (**TABLAS 35,36, FIGURA 41**)

En la **TABLA 42**, realizamos una comparativa con los trabajos que han seguido nuestra metodología, con una población similar.

Drager y col⁹⁰ estudiaron un grupo pequeño de pacientes con AOS severo, tras 4 meses de tratamiento, con CPAP objetivaron descensos significativos respecto a GIM, a diferencia del Grupo Control. Las diferencias entre grupos también permanecieron significativas. Estos autores concluyen que la CPAP mejora los marcadores de aterosclerosis.

Hui y col.¹⁰⁷ compararon dos grupos con AOS severo, 28 pacientes utilizaron CPAP y 22 tratamiento conservador.

Inicialmente, no existían diferencias respecto a GIM. (**TABLA 42**). A los 6 y 12 meses de reevaluación, se objetivaron cambios en GIM sólo en el grupo con CPAP.

Estos mismos hallazgos se obtuvieron tras excluir a pacientes con factores de riesgo cardiovascular.

En la **TABLA 42** podemos objetivar, en EPIOSA, que mientras existe una disminución significativa en GIM de pacientes con CPAP, no se modifica en los que no cumplen el tratamiento.

El GIM de la Arteria Carótida Común se ha utilizado como objetivo primario para medir la eficacia de tratamiento antilipemiente. MacMahon y col.¹⁵⁰ en un grupo de 404 participantes que habían sufrido un episodio de cardiopatía isquémica, compararon el GIM basal y a los 4 años de seguimiento entre tratamiento con placebo o pravastatina. Mientras que en el primero aumentó el GIM 0,048 mm, en el segundo disminuyó en 0,014 (0,011) mm, $p < 0,0001$. Es un ejemplo de estudios realizados para confirmar la indicación de un tipo de tratamiento. En nuestros pacientes, disminución de 0,05 mm en los AOS con CPAP se deberían considerar, por lo tanto, de forma positiva.

AUTORES	GRUPOS	FACT RIESGO	GIM PREVIA ACC Dcha (mm)	GIM POSTCPAP (mm) 6M/12M	p	RESULTADOS
Drager y col. ⁹⁰ /2007	AOS severo, con CPAP sin CPAP 4 meses	NO	0,707±0,105 0,732±0,164	0,645±0,095 0,740±0,150	p=0,02 NS	Disminuye con CPAP, no en conservador.
Hui y col. ¹¹⁵ /2012	AOS severo, con CPAP:28 sin CPAP: 22 6 y 12 m	SI	0,757±0,03 0,760±0,03	0,720±0,02/0,704±0,02 0,769±0,03/0,777±0,03	p=0,002 NS	Cambios con CPAP, no en control. A 6 y 12 meses.
Hui y col. ¹¹⁵ /2012	AOS severo, con CPAP:12 sin CPAP: 12 6 y 12 m	NO	0,721±0,04 0,660±0,02	0,690±0,04/0,659±0,03 0,684±0,01/0,690±0,02	P=0,006 NS	Cambios con CPAP, no en control. A 6 y 12 meses.
EPIOSA	AOS modsev Con CPAP Sin CPAP 12 meses	NO	0,64 (0,13) 0,64 (0,16)	0,59 (0,19) 0,65 (0,17)	p=0,029 p=0,100	Pero no diferencia de cambios % entre ellos

TABLA 42. COMPARATIVA CON OTROS ESTUDIOS CON CPAP

6. ASOCIACIÓN PCR Y GIM

Como se demuestra en nuestro estudio, EPIOSA, no se detecta relación lineal entre los niveles de PCR encontrados en nuestra población con las mediciones de GIM en los diferentes sectores carotídeos. Tampoco se han encontrado relaciones al estudiar los distintos subgrupos de nuestra población (controles, AOS leve, AOS moderado, AOS severo) (**TABLAS 37,38, FIGURA 42**).

Cabe decir, que los valores de ambos, PCR como marcador inflamatorio, y GIM, signo precoz de aterosclerosis, no se encuentran elevados en ninguno de los subgrupos, aún con las diferencias ya estudiadas.

Por otro lado, estos hallazgos entran en contradicción con los publicados por Minoguchi y col.⁵⁰ y Ciccone y col.⁸¹. Ambos estudios, para poblaciones similares, encuentran correlación entre ambas variables:

- Minoguchi y col.⁵⁰: $r=0,61$ $p<0,001$.
- Ciccone y col.⁸¹: $r=0,44$ $p<0,01$.
- EPIOSA (GIM ACCdcha y PCR): $r=0,020$ $p=0,098$.

7. FORTALEZAS Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

La importancia de nuestro estudio reside en el minucioso reclutamiento de los participantes del mismo, en la ausencia de otros factores de riesgo cardiovascular, y en el número de la muestra.

Asimismo, en la recogida exhaustiva de variables antropométricas, clínicas y analíticas. En la corrección de factores de confusión que pudieran alterar los resultados. En la metodología del estudio, es prospectivo.

La obtención de los objetivos primarios, esto es, Grosor de la Íntima-Media la han llevado a cabo dos técnicos expertos en ultrasonografía de arterias carótidas y las mediciones los han emitido a ciegas del resultado del estudio de sueño. Se han realizado comparaciones entre los diferentes subgrupos creados atendiendo a la severidad del AOS. En análisis secundarios se han recodificado según el diferente comportamiento.

Además, al cabo de un año, periodo de tiempo mayor que los estudios realizados hasta ahora, se han estudiado las mismas variables que en el periodo basal. Es de destacar, la obtención de nuevas mediciones de GIM por el mismo personal técnico.

La segmentación en grupos para un nuevo estudio comparativo se ha realizado atendiendo a la utilización de CPAP y adherencia a la misma.

La realización en un único centro asegura la homogeneidad de la muestra, los criterios de inclusión, la realización de las pruebas

complementarias por el personal de enfermería y la disminución de la variabilidad en la obtención de las técnicas de ultrasonografía. También la indicación de tratamiento con CPAP se ha mantenido uniforme.

Por lo tanto, este estudio se realiza en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular conocidos, es una muestra mayor que otros estudios de similares características así como lo es la duración del tiempo de estudio para comparar modificaciones.

Las limitaciones de nuestro estudio son, las dificultades para haber obtenido una muestra todavía mayor, y el no ser un estudio Randomizado-Controlado. El tratamiento con CPAP está demostrado ser efectivo y no es ético evitar la prescripción del mismo para un estudio. Nos basamos para ello en el tiempo de uso del paciente con un punto de corte de cuatro horas. Con esto nos acercamos a las circunstancias reales de los pacientes con AOS.

Otra limitación es haber utilizado sólo un marcador inflamatorio, PCR, en vez de añadir otros como IL-6, fibrinógeno o TNF α . Como ya hemos referido, la estabilidad de este marcador y su medición bien implementada en la práctica médica, han sido factores fundamentales para poder llevar a cabo este estudio.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES PRINCIPALES

Nuestra cohorte de estudio no presenta factores de riesgo cardiovascular. Las conclusiones siguientes tienen su valor derivado de estas características.

1. PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)

- 1.1. En pacientes con Apnea Obstructiva del Sueño (AOS) existe gran distribución respecto a niveles de Proteína C Reactiva (PCR). Se encuentran elevados respecto a la población general.
- 1.2. En nuestra población a estudio existen diferencias en los niveles de PCR y, por tanto, de inflamación, entre participantes sin AOS y AOS.
- 1.3. Existen diferencias entre los diferentes grupos de severidad de AOS. Los pacientes con AOS leve tienen características inflamatorias similares a los no AOS, mientras los pacientes con AOS moderado se comportan de forma similar a AOS severo. Esto tiene implicaciones pronósticas y terapéuticas.
- 1.4. La existencia de AOS se relaciona con niveles de PCR, especialmente la hipoxemia. Sin embargo, no es totalmente independiente. Sobrepeso/obesidad, que forman parte de los factores etiopatogénicos de AOS, tienen un papel relevante como factor predictivo.
- 1.5. Tras 12 meses de seguimiento, los pacientes sin AOS/AOS leve no modifican sus niveles de PCR.
- 1.6. El tratamiento durante un año con CPAP en pacientes AOS moderado/AOS severo, no modifica los niveles de PCR.
- 1.7. La ausencia de tratamiento óptimo con CPAP en AOS moderado/severo aumenta los niveles de PCR.
- 1.8. Sin embargo, las diferencias de cambios entre los tres grupos anteriores no llegan a ser significativas.

2. GROSOR DE LA ÍNTIMA-MEDIA CAROTÍDEA (GIM)

- 2.1. En nuestra población a estudio, los valores de Grosor Íntima-Media (GIM) se encuentran dentro de la normalidad.
- 2.2. En pacientes con Apnea Obstructiva de Sueño (AOS) existe mayor GIM.
- 2.3. Existen también diferencias entre los distintos grupos de severidad. Los controles y pacientes con AOS leve tienen mediciones similares. Mientras que los pacientes con AOS moderado, presentan valores de GIM similares a pacientes con AOS severo. Esto podría tener implicaciones pronósticas y terapéuticas.
- 2.4. La existencia de AOS, especialmente la hipoxemia ligada a ella, es un factor predictivo independiente de la medición de GIM. Este valor se relaciona también con la edad, índice de masa corporal y tensión arterial.
- 2.5. No se ha encontrado existencia de placas de aterosclerosis de forma significativa. Éstas son más frecuentes a nivel de bulbo carotídeo. Puede ser debido a la ausencia de otros factores de riesgo cardiovascular y a la edad, relativamente joven, de los participantes.
- 2.6. Tras 12 meses de tratamiento con CPAP, disminuyen los niveles de GIM de ACC dcha. No ocurre en Control/AOS leve o AOS moderado/severo sin CPAP.
- 2.7. Las diferencias de cambios entre los tres grupos anteriores no llegan a ser significativas.
- 2.8. No existe, entre nuestros sujetos estudiados, relación entre PCR y GIM.

CONCLUSIONES SECUNDARIAS

1. A mayor severidad de AOS encontramos mayor porcentaje de hombres, mayor IMC y mayor edad.
2. La somnolencia diurna, medida por Escala de Epworth, no discrimina este síntoma en nuestra población.
3. La dificultad de reclutamiento de pacientes con AOS sin factores de riesgo cardiovascular revela la coexistencia de los mismos, en mayor o menor número, en la población general, especialmente, en pacientes con Apnea Obstructiva del Sueño.

Todos estos resultados tienen su importancia por pertenecer a pacientes sin otros factores de riesgo cardiovascular. Nuestro estudio tiene su razón de ser en dilucidar el papel que esta enfermedad, Apnea Obstructiva del Sueño, tiene en el desarrollo de la patología cardiovascular.

Sin embargo, a nivel de la población general, en la vida real, la coexistencia de hábitos poco saludables, mayor edad e índice de masa corporal y factores de riesgo cardiovascular, con Apnea Obstructiva del Sueño, hace previsible unos niveles de inflamación sistémica y de aterosclerosis subclínica mucho más avanzados.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- 1.** American Academy of Sleep Medicine Task Force. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep* 1999; 22:667–689.
- 2.** Durán-Cantolla J, Puertas-Cuesta FJ, Pin-Arboledas G, Santa María-Cano J, el Grupo Español de Sueño (GES). Documento de consenso nacional sobre el síndrome de apneas-hipopneas del sueño. *Arch Bronconeumol*. 2005; 41:1–110.
- 3.** Lloberes P, Durán-Cantolla J, Martínez-García MA, Marín JM, Ferrer A, Corral J, Masa JF, Parra O, Alonso-Álvarez ML, Terán-Santos J. Normativa SEPAR. Diagnóstico y tratamiento del síndrome de apneas-hipopneas del sueño. *Arch Bronconeumol*. 2011; 47(3):143–156.
- 4.** Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med* 1993; 328:1230–1235.
- 5.** Durán J, Esnaola S, Rubio R, Iztueta A. Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea and Related Clinical Features in a population-based sample of subjects aged 30 to 70 yr. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 685-689.
- 6.** Young T, Evans L, Finn L, Palta M. Estimation of the clinically diagnosed proportion of sleep apnea syndrome in middle-aged men and women. *Sleep* 1997; 20: 705-6.
- 7.** Terán-Santos J, Jiménez-Gómez A, Cordero- Guevara J, and the Cooperative Group Burgos-Santander. The Association Between Sleep Apnea and the Risk of Traffic Accidents. *N Engl J Med* 1999; 340: 847-51.
- 8.** Stooths RA, Bingham LA, Itoi A. Sleep and sleep-disordered breathing in commercial long-haul truck drivers. *Chest* 1995; 107: 1275-82.
- 9.** Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agusti AG. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet* 2005; 365:1046 1053.
- 10.** Young T, Finn L, Peppard PE, Szklo-Coxe M, Austin D, Nieto J, Stubbs R, Hla KM. Sleep- disordered-breathing and mortality; Eighteen-year follow-up of Wisconsin Sleep Cohort. *Sleep*. 2008; 31:1071–8.

- 11.** Yaggi HK, Concato J, Kernan WN, Lichtman JH, Brass LM, Mohsenin V. Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death. *N Engl J Med* 2005; 353:2034–2041.
- 12.** Martínez-García MA, Campos-Rodríguez F, Catalán-Serra P, Soler-Cataluña JJ, Almeida-González C, De la Cruz Morón I, Durán-Cantolla J, Montserrat JM. Cardiovascular mortality in Obstructive Sleep Apnea in the elderly: role of continuous positive airway pressure treatment. A prospective observational study. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 186: 909-16.
- 13.** Lavie L, Lavie P. Ischemic preconditioning as a possible explanation for the age decline relative to mortality in sleep apnea. *Med Hypotheses* 2006, 66: 1069-73.
- 14.** Martínez-García MA, Soler-Cataluña JJ, Ejarque-Martínez L, Soriano Y, Román- Sánchez P, Illa FB, et al. Continuous positive airway pressure treatment reduces mortality in patients with ischemic stroke and obstructive sleep apnea: A 5-year follow-up study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009; 180:36–41.
- 15.** Campos-Rodríguez F, Martínez-García MA, de la Cruz –Morón I, Almeida-González C, Catalán-Serra P, Montserrat JM. Cardiovascular mortality in women with obstructive sleep apnea with and without continuous positive airway pressure treatment. *Ann Intern Med* 2012; 156: 115-22.
- 16.** Nieto FJ, Young TB, Lind BK, Shahar E, Samet JM, Redline S, D’Agostino RB, Newman AB, Lebowitz MD, Pickering TG. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. Sleep Heart Health Study. *JAMA* 2000; 283: 1829–36.
- 17.** Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *N Engl J Med* 2000; 342: 1378-84.
- 18.** Millman RP, Redline S, Carlisle CC, Assaf AR, Levinson PD. Daytime hypertension in obstructive sleep apnea. Prevalence and contributing risk factors. *Chest* 1991; 99: 861-6.
- 19.** Logan AG, Perlikowski SM, Mente A. High prevalence of unrecognized sleep apnea in drug resistant hypertension. *J Hypertens* 2001; 19: 2271-7.
- 20.** Marín JM, Agustí A, Villar I, Forner M, Nieto D, Carrizo SJ, Barbé F, Vicente E, Wei Y, Nieto FJ, Jelic S. Association between treated and

untreated obstructive sleep apnea and risk of hypertension. *JAMA* 2012; 307 (20): 2169-76.

21. Barbé F, Durán-Cantolla J, Capote F, de la Peña M, Chiner E, Masa JF, González M, Marín JM, García-Río F, Díaz de Atauri J, Terán J, Mayos M, Monasterio C, del Campo F, Gómez S, Sánchez de la Torre M, Martínez M, Montserrat JM. Spanish Sleep and Breathing Group. Long-term effect of continuous positive airway pressure in hypertensive patients with sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010; 181 (7): 718-26.

22. Durán-Cantolla J, Aizpuru F, Montserrat JM, Ballester E, Terán-Santos J, Aguirregomoscorta JI, Gonzalez M, Lloberes P, Masa JF, De La Peña M, Carrizo S, Mayos M, Barbé F. Continuous positive airway pressure as treatment for systemic hypertension in people with obstructive sleep apnea: randomised controlled trial. *BMJ* 2010; 341:c5991.

23. Mansfield Dr, Gollogly NC, Kaye DM, Richardson M, Bergin P, Naughton MT. Controlled trial of continuous positive airway pressure in obstructive sleep apnea and heart failure. *Am J Respir Crit Care Med*: 2004; 169: 361-6.

24. Kanagala, R, Murali MS, Friedman PA, Ammash NM, Gersh BJ, Ballman KV. Obstructive sleep apnea and the recurrence of atrial fibrillation. *Circulation*. 2003; 107: 2589-94.

25. Shahar E, Whitney CW, Redline S, Lee ET, Newman AB, Nieto FJ. Sleep disordered breathing and cardiovascular disease: cross-sectional results of the Sleep Heart Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 19-25.

26. Kwon Y, Duprez DA, Jacobs DR, Nagayoshi M, McClelland RL, Shahar E, Budoff M, Redline S, Shea S, Carr J, Lutsey PL. Obstructive Sleep Apnea and Progression of Coronary Artery Calcium: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis Study. *J Am Heart Assoc* 2014; 3:1-9.

27. Palomaki H. Snoring and risk of ischemic brain infarction. *Stroke* 1991; 22: 1021-5.

28. Partinen M, Palomaki H. Snoring and cerebral infarction. *Lancet* 1985; 2: 1325-6.

29. Cupini LM, Pasqualetti P, Diomedi M, Vernieri F, Silvestrini M, Rizzato B, Ferrante F, Bernardi G. Carotid Artery Intima-Media Thickness and lacunar versus nonlacunar infarcts. *Stroke* 2002; 33: 689-94.

- 30.** Redline S, Yenokyan G, Gottlieb DJ, Shahar E, O'Connor GT, Resnick HE, Diener-West M, Sanders MH, Wolf PA, Geraghty EM, Ali T, Lebowitz M, Punjabi NM. Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea and Incident Stroke. The Sleep Heart Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 269-77.
- 31.** Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1685-95.
- 32.** S Ryan, Taylor CT, McNicholas WT. Systemic inflammation: a key factor in the pathogenesis of cardiovascular complications in obstructive sleep apnoea syndrome? *Thorax* 2009; 64: 631-6.
- 33.** Olson NC, Doyle MF, Jenny NS, Huber SA, Psaty BM, Kronmal RA, Tracy RP. Decreased Naïve and Increased Memory CD4⁺T Cells Are Associated with Subclinical Atherosclerosis: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *PlosOne* 2013; 8: e71498.
- 34.** Garvey JF, Taylor CT, McNicholas WT. Cardiovascular disease in obstructive sleep apnoea syndrome: the role of intermittent hypoxia and inflammation. *Eur Respir J* 2009; 33: 1195-1205.
- 35.** Arnaud C, Poulain L, Lévy P, Dematteis M. Inflammation contributes to the atherogenic role of intermittent hypoxia in apolipoprotein-E knock-out mice. *Atherosclerosis* 2011; 219: 425-31.
- 36.** Savransky V, Nanayakkara A, Li J. Chronic intermittent hypoxia induces atherosclerosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175:1290-7.
- 37.** Dematteis M, Julien C, Guillermet C. Intermittent hypoxia induces early functional cardiovascular remodeling in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 227-35.
- 38.** Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Selective activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Circulation* 2005; 112:2660-7.
- 39.** Ryan S, McNicholas WT, Taylor CT. A critical role for p38 map kinase in NF-kappaB signaling during intermittent hypoxia/reoxygenation. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 355: 728-33.
- 40.** Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Predictors of elevated nuclear factor-kappa B dependent genes in obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:824-30.
- 41.** Yuan G, Nanduri J, Bhasker CR, et al. Ca²⁺/calmodulin kinase-dependent activation of hypoxia inducible factor 1 transcriptional

activity in cells subjected to intermittent hypoxia. *J Biol Chem* 2005; 280: 4321–8.

42. Lavie L, Kraiczi H, Hefetz A, Ghandour H, Perelman A, Hedner J, Lavie P. Plasma vascular endothelial growth factor in sleep apnea syndrome. Effects of nasal continuous positive air pressure treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1624-8.

43. Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature* 1999; 398:718–23.

44. Minoguchi K, Tazaki T, Yokoe T. Elevated production of tumor necrosis factor alpha by monocytes in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Chest* 2004; 126: 1473–9.

45. Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, Kales A, Tyson K, Chrousos GP. Elevation of plasma cytokines in disorders of excessive daytime sleepiness: role of sleep disturbance and obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82: 1313–6.

46. Vgontzas AN, Bixler EO, Papanicolaou DA, Kales A, Chrousos GP. Plasma concentration of tumor necrosis factor alpha (TNF α), interleukin-6 (IL-6) and leptin are elevated in sleep apnea independent of obesity. *Sleep* 1999; 22: S331.

47. Vgontzas AN, Zoumakis E, Lin HM, Bixler EO, Trakada G, Chrousos GP. Marked decrease in sleepiness in patients with sleep apnea by etanercept, a tumor necrosis factor- α antagonist. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4409-13.

48. Ueda K, Takahashi M, Ozawa K. Decreased soluble interleukin-6 receptor in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1999; 138: 908–15.

49. Aukrust P, Yndestad A, Smith C. Chemokines in cardiovascular risk prediction. *Thromb Haemost* 2007; 97:748–54.

50. Minoguchi K, Yokoe T, Tazaki T, Minoguchi H, Tanaka A, Oda N, Okada S, Ohta S, Naito H, Adachi M. Increased carotid intima-media thickness and serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172 (5): 625-30.

51. Yokoe T, Minoguchi K, Matsuo H. Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure. *Circulation* 2003; 107:1129–34.

- 52.** Jelic S, Padeletti M, Kawut SM, Higgins C, Canfield S, Onat D, Colombo PC, Basner RC, Factor P, Le Jemtel TH. Inflammation, oxidative stress, and repair capacity of the vascular endothelium in obstructive sleep apnea. *Circulation* 2008; 117: 2270-8.
- 53.** Jelic S, Lederer DJ, Adams T, Padeletti M, Colombo PC, Factor P, Kawut SM, Le Jemtel TH. Vascular Inflammation in Obesity and Sleep Apnea. *Circulation*; 2010; 121:1014-1021.
- 54.** Mehra R, Storfer-Isser A, Kirchner HL, et al. Soluble interleukin 6 receptor: a novel marker of moderate to severe sleep-related breathing disorder. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1725-31.
- 55.** Chin K, Nakamura T, Shimizu K, Mishima M, Nakamura T, Miyasaka M, Ohi M. Effects of nasal continuous positive airway pressure on soluble cell adhesion molecules in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Med* 2000; 109:562-7.
- 56.** Dyugovskaya L, Lavie P, Lavie L. Increased adhesion molecules expression and production of reactive oxygen species in leukocytes of sleep apnea patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:934-9.
- 57.** Woloshin S, Schwartz LM. Distribution of C-reactive protein values in the United States. *N Engl J Med* 2005; 352: 1611.
- 58.** Pearson TA, Mensah GA, Alexander WA, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: a Statement for Healthcare Professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107: 499-511.
- 59.** Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107:499.
- 60.** Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336:973-9.
- 61.** Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 1995; 332:635.

- 62.** Seshadri P, Iqbal N, Stern L. A randomized study comparing the effects of a low-carbohydrate diet and conventional diet on lipoprotein subfraction and C-reactive protein levels in patients with severe obesity. *Am J Med* 2004; 117:398-405. (Errata *Am J Med* 2006:119:191).
- 63.** Koenig W, Sund M, Frohlich M. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middleaged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99: 237-42.
- 64.** Miller M, Zhan M, Havas S. High attributable risk of elevated C-reactive protein level to conventional coronary heart disease risk factors: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2005; 165: 2063-8.
- 65.** Thakore AH, Guo CY, Larson MG, Corey D, Wang TJ, Vasan RS, D'Agostino RB, Lipinska I, Keaney JF, Benjamin EJ, O'Donnell CJ. Association of Multiple Inflammatory Markers with Carotid Intimal Media Thickness and Stenosis (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 2007; 99: 1598-1602.
- 66.** Folsom AR, Pankow JS, Tracy RP, Arnett DK, Peacock JM, Hong Y, Djoussé L, Eckfeldt JH. Association of C-Reactive Protein With Markers of Prevalent Atherosclerotic Disease. *Am J Cardiol* 2001; 88: 112-7.
- 67.** Young T, Peppard PE, Taheri S. Excess weight and sleep disorder breathing. *J Appl Physiol* 2005; 99: 1592-9.
- 68.** Bonsignore MR, Esquinas C, Barceló A, Sánchez de la Torre M, Paternó A, Durán Cantolla J, Marín JM, Barbé F. Metabolic syndrome, insulin resistance and sleepiness in real-life obstructive sleep apnea. *Eur Respir J* 2012; 39: 1136-43.
- 69.** Kritikou I, Basta M, Tapouni R, Pejovic S, Fernández Mendoza J, Nazir R, Shaffer ML, Liao D, Bixler EO, Chorusos GP, Vgontzas AN. Sleep apnea and visceral adiposity in middle-aged male and female subjects. *Eur Respir J* 2013; 41: 601-9.
- 70.** Kritikou I, Basta M, Vgontzas AN, Pejovic S, Liao D, Tsaussoglou M, Bixler EO, Stefanakis Z, Chorusos GP. Sleep apnea, sleepiness, inflammation and insulin resistance in middle-aged males and females. *Eur Respir J* 2014; 43: 145-55.
- 71.** Sharma SK, Agrawal S, Damodaran D, Srrenivas V, Kadhiraavan Tm Lakshmy R, Jagia P, Kumar A. CPAP for metabolic syndrome in

patients with obstructive sleep apnea. *N Engl J Med* 2011; 365: 2277-86.

72. Sivam S, Phillips CL, Trenell MI, Yee BJ, Liu PY, Wong KK, Grunstein RR. Effects of a 8 weeks of continuous positive airway pressure on abdominal adiposity in obstructive sleep apnea. *Eur Respir J* 2012; 40: 913-8.

73. Sharma SK, Mishra HK, Sharma H, Goel A, Sreenivas V, Gulati V, Tahir V. Obesity, and no obstructive sleep apnea, is responsible for increased serum hs-CRP levels in patients with sleep disorder breathing in Delhi. *Sleep Med* 2008; 9(2): 149-56.

74. Can M, Acikgoz S, Mungan G, Bayraktaroglu T, Koçak E, Güven B, Demirtas S. Serum cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnea. *Chest* 2006; 129: 233-7.

75. Barceló A, Barbé F, Llompарт E, Mayorlas LR, Lадaria A. Bosch M. Effects of obesity on C-reactive protein level and metabolic disturbances in male patients with obstructive sleep apnea. *Am J Med* 2004; 117:118-21.

76. Guilleminault C, Kirisoglu C, Ohayon MM. C-reactive protein and sleep-disordered breathing. *Sleep* 2004; 27:1507-11.

77. Ryan S, Nolan GM, Hannigan E. Cardiovascular risk markers in obstructive sleep apnoea syndrome and correlation with obesity. *Thorax* 2007; 62:509-14.

78. Taheri S, Austin D, Lin L, Nieto FJ, Young T, Mignot E. Correlates of serum C-reactive protein (CRP): no association with sleep duration or sleep disordered breathing. *Sleep* 2007; 30:991-6.

79. Shamsuzzaman ASM, Winnicki M, Lanfranchi P, Wolk R, Kara T, Accurso V, Somers V K. Elevated C-Reactive Protein in Patients with Obstructive Sleep Apnea. *Circulation* 2002; 105: 2462-4.

80. Drager LF, Lopes HF, Maki-Nunes C, Trombetta IC, Toschi-Dias E, Alves MJ, Fraga RF, Jun JC, Negrao CE, Krieger E, Polotsky V, Lorenzi-Filho G. The Impact of Obstructive Sleep Apnea on Metabolic and Inflammatory Markers in Consecutive Patients with Metabolic Syndrome. *PLoS One* 2010; 5: e12065.

81. Ciccone MM, Scicchitano P, Zito A, Cortese F, Boninfante B, Falcone VA, Quaranta VN, Ventura VA, Zucano A, Di Serio F, Damiani MF, Resta O. Correlation between inflammatory markers of atherosclerosis and carotid intima-media thickness in obstructive sleep apnea. *Molecules* 2014; 19: 1651-62.

- 82.** Kim J, Bhattacharjee R, Khalyfa A, Kheirandish-Gozal L, Capdevila OS, Wang Y, Gozal D: DNA methylation in inflammatory genes among children with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2012, 185: 330–338.
- 83.** Nadeem R, Molnar J, Madbouly EM, Nida M, Aggarwal S, Sajid H, Naseem J, Loomba R. Serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *J Clin Sleep Med* 2013; 9 (10): 1003–12.
- 84.** Kohler M, Ayers L, Pepperell JCT, Packwood KL, Ferry B, Crosthwaite N, Craig S, Siccoli MM, Davies RJO, Stradling JR. Effects of continuous positive airway pressure on systemic inflammation in patients with moderate to severe obstructive sleep apnoea: a randomised controlled trial. *Thorax* 2009; 64:67–73.
- 85.** Kohler M, Craig S, Pepperell JCT, Nicoll D, Bratton DJ, Nunn AJ, Leeson P, Stradling JR. CPAP improves endothelial function in patients with minimally symptomatic OSA. Results from a subset study of the MOSAIC trial. *Chest* 2013; 144: 896–902.
- 86.** Colish J, Walker JR, Elmayergi N, Almutairi S, Alharbi F, Lytwyn M, Francis M, Bohonis S, Zeglinski M, Kirkpatrick I, Sharma S, Jassal D. Effects of Continuous Positive Airway Pressure on Cardiac Remodeling as Assessed by Cardiac Biomarkers, Echocardiography, and Cardiac MRI. *Chest* 2012; 141(3):674–681.
- 87.** Akashiba T, Akahoshi T, Kawahara S, Majima T, Horie T. Effects of long term nasal Continuous positive airway pressure on C-Reactive Protein on Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Intern Med* 2005; 44: 899–900.
- 88.** Chirinos JA, Gurubhagavatula A, Teff K, Rader DJ, Wadden TA, Broderick P, Chittams J, Hanlon AL, Pack AI. CPAP, weight loss, or both for Obstructive Sleep Apnea. *N Engl J Med* 2014; 370; 2265–75.
- 89.** Basner RC. Cardiovascular morbidity and obstructive sleep apnea. *N Engl J Med* 2014; 370: 2339–41.
- 90.** Drager LF, Bortolotto LA, Figueiredo AC, Krieger EM, and Lorenzi-Filho G. Effects of Continuous Positive Airway Pressure on Early Signs of Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 706–12.
- 91.** Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74: 1399–406.

- 92.** Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerosis progression. *Circulation* 1993; 87 (Suppl II): 56-65.
- 93.** Bots M, Hofman A, Grobbee D. Common carotid intima-media thickness and lower extremity arterial atherosclerosis. The Rotterdam study. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1885-91.
- 94.** Polak J, Pencina MJ, Pencina KM, O'Donnell CJ, Wolf PA, D'Agostino RB. Carotid-Wall Intima-Media Thickness and Cardiovascular Events. *N Engl J Med* 2011; 365:213-21.
- 95.** Lorenz MW, Schaefer C, Steinmetz H, Sitzer M. Is carotid intima media thickness useful for individual prediction of cardiovascular risk? Ten-year results from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *European Heart Journal* (2010) 31, 2041–2048.
- 96.** Berry JD, Liu K, Folsom AR, Lewis CE, Carr JJ, Polak JF, Shea S, Sidney S, O'Leary DH, Chan C, Lloyd-Jones DM. Prevalence and progression of subclinical atherosclerosis in younger adults with low short-term but high lifetime estimated risk factor for cardiovascular disease. The coronary artery risk development in young adults study and multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009; 119:382-389.
- 97.** O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *N Engl J Med* 1999; 340:14-22.
- 98.** Greenland P, Alpert JS, Beller GA et al. ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: executive summary, a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2010; 122: 2748-64.
- 99.** Lorenz MW, Polak JF, Kavousi M, Mathiesen EB, Völzke H, Tuomainen TP, Sander D, Plichart M, Catapano AL, Robertson CM, Kiechl S, Rundek T, Desvarieux M, Lind L, Schmid C, Das Mahapatra P, Gao L, Ziegelbauer K, Bots ML, Thompson SG, on behalf of the PROG-IMT Study Group. Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular events in the general population (the PROG-IMT collaborative project): a meta-analysis of individual participant data. *Lancet* 2012; 379: 2053–62.
- 100.** Jarauta E, Mateo-Gallego R, Bea A, Burillo E, Calmarza P, Civeira F. Grosor íntima-media carotídeo en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular. *Rev Esp Cardiol* 2010; 63 (1): 97-102.

- 101.** Gunnarsson SI, Peppard PE, Korcarz CE, Barnet JH, Aeschlimann SE, Hagen EW, Young T, Hla KM, Stein JH. Obstructive sleep apnea is associated with future subclinical carotid artery disease. Thirteen-year follow-up from the Wisconsin Sleep Cohort. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34: 2338-42.
- 102.** Nadeem R, Harvey M, Singh M, Khan AA, Albustani M, Baessler A, Madbouly EM, Sajid H, Khan M, Navid. Patients with obstructive sleep apnea display increased carotid intima media: a meta-analysis. *International Journal of Vascular Medicine.* 2013: id 839582, 8.
- 103.** Lee SA, Amis TC, Byth K, Larcos G, Kairaitis K, Robinson TD, Wheatley JR. Heavy snoring as a cause of carotid artery atherosclerosis. *Sleep* 2008; 31: 1027-13.
- 104.** Silvestrini M, Rizzato B, Placidi F, Baruffaldi F, Bianconi A, Diomedi M. Carotid Artery Wall Thickness in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Stroke* 2002; 33: 1782-5.
- 105.** Kaynak D, Göksan B, Kaynak H, Degirmenci N, Daglıoglu S. Is there a link between the severity of sleep-disordered breathing and atherosclerotic disease of the carotid arteries? *European Journal of Neurology* 2003, 10: 487-493.
- 106.** Suzuki T, Nakano H, Maekawa J, Okamoto Y, Ohnishi Y, Yamauchi M, Kimura H. Obstructive Sleep Apnea and Carotid-Artery Intima-Media Thickness. *Sleep* 2004; 27 (1): 129-33.
- 107.** Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Figueiredo AC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Early Signs of Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 613-8.
- 108.** Baguet JP, Hammer L, Lévy, P; Pierre H; Launois, S; Mallion, JM; Pepin, JL. The Severity of Oxygen Desaturation Is Predictive of Carotid Wall Thickening and Plaque Occurrence. *CHEST* 2005; 128:3407-341).
- 109.** Baguet JP, Nadra M, Barone-Rochette G, Ormezzano O, Pierre H, Pépin JL. Early cardiovascular abnormalities in newly diagnosed obstructive sleep apnea. *Vascular Health and Risk Management* 2009;5 1063-1073.
- 110.** Kylintireas I, Craig S, Nethonoda R, Kohler M, Francis J, Choudhury R, Stradling J, Neubauer S. Atherosclerosis and arterial stiffness in obstructive sleep apnea. A cardiovascular magnetic resonance study. *Atherosclerosis* 2012; 222: 483-9.

111. Ciccone MM, Scicchitano P, Mitacchione G, Zito A, Gesualdo M, Caputo P, Damiani MF, Sassari M, Favale Resta O. Is there a correlation between OSAS duration/severity and carotid intima-media thickness? *Respir Med* 2012; 106: 740-6.

112. Drager LF, Bortolotto LA, Figuereido AC, Silva BC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Obstructive Sleep Apnea, Hypertension and their interaction on Arterial Stiffness and heart remodelling. *Chest* 2007; 131: 1379-86.

113. Drager LF, Bortolotto LA, Krieger EM and Lorenzi-Filho G. Additive Effects of Obstructive Sleep Apnea and Hypertension on Early Markers of Carotid Atherosclerosis. *Hypertension*. 2009;53:64-69.

114. Drager LF, Bortolotto LA, Maki-Nunes C, Trombetta IC, Alves MJ, Fraga RF, Negrao CE, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Obstructive Sleep Apnea, The incremental role of obstructive sleep apnea on markers of atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2010; 208: 490-5.

115. 107. Hui DS, Shang Q, Ko FW, NG SS, Szeto CC, Ngai J, Tung AH, To KW, Chan TO, Yu CM. A prospective cohort study of the long-term effects of CPAP on carotid artery intima-media thickness in obstructive sleep apnea syndrome. *Respiratory research* 2012: 22-32.

116. Marín JM, Artal J, Martín T, Carrizo SJ, Andrés M, Martín-Burriel I, Bolea R, Sanz A, Varona L, Godino J, Gallego B, García-Erce JA, Villar I, Gil V, Forner M, Cubero JP, Ros L. Epigenetics modifications and Subclinical Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea: The EPIOSA study. *BMC Pulmonary Medicine* 2014 14:114.

117. Collop NA, Anderson WM, Boehlecke B, Claman D, Goldberg R, Gottlieb DJ, Hudgel D, Sateia M, Schwab R. Clinical guidelines for the use of unattended portable monitors in the diagnosis of obstructive sleep apnea in adult patients. Portable Monitoring Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med* 2007; 3: 737-47.

118. Masa JF, Jiménez A, Durán J, Capote F, Monasterio C, Mayos M, Terán J, Hernández L, Barbé F, Maimó A, Rubio M, Montserrat JM. Alternative methods of titrating continuous positive airway pressure: a large multicenter study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170(11):1218-1224.

119. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr. The

Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003; 289(19):2560-2572.

120. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P. ATS/ERS Task Force. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26:319-38.

121. García-Río F, Calle M, Burgos F, Casan P, del Campo F, Gáldiz JB, Giner J, González-Mangado N, Ortega F, Puente Maestu L. Normativa sobre Espirometría. *Arch Bronconeumol* 2013; 49 (9): 338-401.

122. Johns MW: A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991, 14:540-545.

123. Johns MW. Daytime sleepiness, snoring and obstructive sleep apnea. The Epworth Sleepiness Scale. *Chest* 1993; 103: 30-6.

124. Chiner E, Arriero JM, Signes-Costa J, Marco J, Fuentes I, Validation of the Spanish version of the Epworth Sleepiness Scale in patients with sleep apnea syndrome. *Arch Bronconeumol*. 1999; 35:422-7.

125. Izquierdo-Vicario Y, Ramos-Platon MJ, Conesa-Peraleja D, Lozano-Parra AB, Espinar-Sierra J. Epworth Sleepiness Scale in a sample of Spanish population. *Sleep*. 1997; 20: 676-7.

126. Jiménez Ruiz CA, Barrueco Ferrero M, Solano Reina S, Torrecilla García M, Domínguez Grandal F, Díaz-Maroto Muñoz JL, Alonso Moreno J, de la Cruz Amorós E, Abengozar Muela R. Recomendaciones en el abordaje diagnóstico y terapéutico del tabaquismo. Documento de Consenso. *Arch Bronconeumol* 2003; 39: 35-41.

127. Chumlea WC, Guo SS, Kuczmarski RJ, Flegal KM, Johnson CL, Heymsfield SB, Lukaski HC, Friedl K, Hubbard VS. Body composition estimates from NHANES III bioelectrical impedance data. *Int J Obesity* 2002; 26: 1596-1611.

128. Kyle VG, Bosaeus I, de Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez M, Heitmann V, Kent-Smith L, Melchior JC, Pirlich M, Scharfetter H, Schols A, Pichard C. Bioelectrical impedance analysis-part II: utilization in clinical practice. *Clin Nutr* 2004; 23 (6): 1430-53.

129. Gallagher D, Song MY. Evaluation of body composition: practical guidelines. *Prim Care* 2003; 30 (2): 249-65.

130. Muntendam P, McCall C, Sanz J, Falk E, Fuster V: The BioImage Study: novel approaches to risk assessment in the primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease: study design and objectives. *Am Heart J* 2010; 160(1):49–57.

131. Drager LF, Polotsky VY, Lorenzi-Filho G. Obstructive sleep apnea. An emerging risk factor for atherosclerosis. *Chest* 2011; 140(2):534-42.

132. Ferber R, Millman R, Coppola M, Fleetham J, Murray CF, Iber C, McCall V, Nino-Murcia G, Pressman M, Sanders M. Portable recording in the assessment of obstructive sleep apnea. *Sleep*. 1994;17:378–92.

133. Flemons WW, Littner MR, Rowley JA, Gay P, Anderson WM, Hudgel DW, McEvoy RD, Loube DI. Home diagnosis of sleep apnea: a systematic review of the literature. An evidence review cosponsored by the American Academy of Sleep Medicine, the American College of Chest Physicians, and the American Thoracic Society. *Chest*. 2003;124:1543–79.

134. Bonsignore MR. Comorbidity assessment in OSA. *Eur Respir Monogr* 2010; 50:115-9.

135. Bonsignore MR, Borel AL, Machan E, Grunstein R. Sleep apnea and metabolic dysfunction. *Eur Respir Rev* 2013; 22 (129): 353-64.

136. Grotte L. Early atherosclerosis and cardiovascular events. *Eur Respir Monogr* 2010: 50:174-88.

137. Polanco Alonso D, Martín Carpi T, Figueredo Cacacho AL, García Sáez S, Simón Robles AL, Panadero Paz C, Viñado Mañes C, Gómara de la Cal S, León Subías E, Marín Trigo JM. Comorbidoma en Apnea Obstructiva del Sueño. *Arch Bronconeumol*. 2014; 50: 259-60.

138. Lin CM et al. Gender differences in obstructive sleep apnea and treatment implications. *Sleep Med Rev* 2008; 12: 481-96.

139. Kirkeness JP et al. Contribution of male sex, age and obesity to mechanical instability of the upper airway during sleep. *J Appl Physiol* 2008; 104: 1618-24.

140. Gaudette E, Kimoff RJ. Pathophysiology of OSA. *Eur Respir Monogr* 2010: 50: 31-50.

141. Grunstein RR, Wilcox I, Yang TS, Hedner JA, Doyle J, Collins FL, Fletcher PJ, Kelly DT, Sullivan CE. Snoring and sleep apnoea in men: association with central obesity and hypertension. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1993; 17:553-42.

142. Bonsignore MR, McNicholas WT, Montserrat JM, Eckel J. Adipose tissue in obesity and obstructive sleep apnea. *Eur Respir J.* 2012; 39: 746-67.

143. Pischon T, Boeing H, Hoffmann K, Bergmann M, Schulze MB, Overvad K, van der Schouw YT, Spencer E, Moons KG, Tjønneland A, Halkjaer J, Jensen MK, Stegger J, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Chajes V, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Bamia C, Sieri S, Palli D, Tumino R, Vineis P, Panico S, Peeters PH, May AM, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Hallmans G, Weinehall L, Manjer J, Hedblad B, Lund E, Agudo A, Arriola L, Barricarte A, Navarro C, Martinez C, Quirós JR, Key T, Bingham S, Khaw KT, Boffetta P, Jenab M, Ferrari P, Riboli E. General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. *N Engl J Med* 2008; 359: 2105-20.

144. McNicholas WT. Diagnosis of obstructive sleep apnea in adults. *Proc Am Thorac Soc.* 2008; 5:154–60. 13.

145. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Price N, Dinges DF, Mullington JM. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin Chem* 2001; 103: 1813-8.

146. Stradling JR, Craig SE, Kohler M, et al. Markers of inflammation: data from the MOSAIC randomised trial of CPAP for minimally symptomatic OSA. *Thorax* 2015; 70: 181-2.

147. Nambi V, Chambless L, He M, Folsom AR, Mosley T, Boerwinkle E, Ballantyne CM. Common carotid artery intima-media thickness is as good as carotid intima-media thickness of all carotid artery segments in improving prediction of coronary heart disease risk in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Eur Heart J* 2012; 33 (183-90).

148. Ebrahim S, Papacosta O; Whincup P, Vannamethee G, Walker M, Nicoalides AN, Dhanjil S, Griffin M, Belcaro G, Rumley A, Lowe G. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women: the british regional heart study. *Stroke* 199; 30: 841-50.

149. Mateo I, Morillas P, Quiles J, Castillo J, Andrade H, Roldán J, Agudo P, Bartomeu-Martínez V. ¿Qué medida del grosor íntima-media

carotídeo caracteriza mejor la carga aterosclerótica del paciente hipertenso: valor máximo o valor medio? *Rev Esp Cardiol* 2011; 64 (5): 417-20.

150. MacMahon S, Sharpe N, Gamble G, Hart H, Scott J, Simes J, White H. Effects of lowering average or below-average cholesterol levels on the progression of carotid atherosclerosis: results of the LIPID atherosclerosis study. *Circulation* 1998; 97: 1784-90.

151. Homma S, Hirose N, Ishida H, Ishii T, Araki G. Carotid plaque and intima-media thickness assessed by B-Mode Ultrasonography in subjects ranging from young adults to centenarians. *Stroke* 2001; 32:830-5.

152. Anatomía de arterias carótidas. Estudio del Grosor de la Íntima-Media. Dr. Tomás Pérez Concha. Hospital de Cruces. Neurología. Unidad de Ictus. Power-point. Google Images.

153. de Groot E, Kastelein J, Duivenvoorden R. Carotid intima-media thickness. UpToDate.©2014UpToDate®.

VIII. ANEXOS

ANEXO I

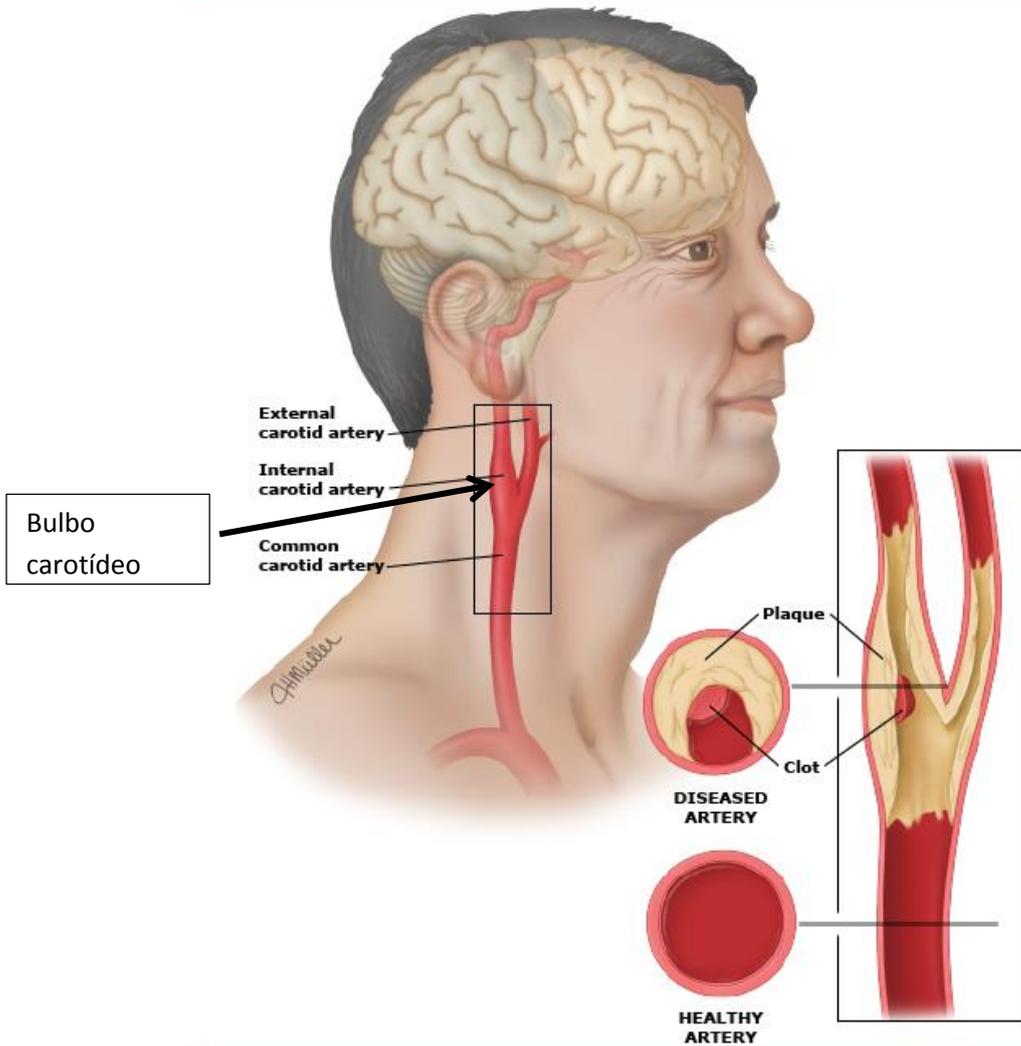
ANATOMÍA DE LA ARTERIA CARÓTIDA

El cerebro está irrigado por cuatro arterias: carótidas y vertebrales.

ANATOMÍA DE LA ARTERIA CARÓTIDA¹⁵³:

- La arteria carótida común derecha nace en la base del cuello de la bifurcación del tronco braquiocefálico. La arteria carótida común izquierda se origina en la aorta y asciende por el cuello. Ambas se dividen, en la parte media de éste, en dos arterias, la carótida interna y la carótida externa.
- La carótida interna irriga el cerebro.
- La carótida externa irriga el cuello y el rostro.
- El segmento de la carótida que incluye la terminación de la carótida común y el inicio de la carótida interna y de la carótida externa se llama bifurcación carotídea.
- La parte inicial de la carótida interna es una intumescencia llamada bulbo carotídeo o seno carotídeo. Este bulbo carotídeo mide unos 2 cm de largo. Contiene receptores que detectan cambios en la presión arterial. Es a este nivel donde se forman las placas ateromatosas responsables de la estenosis carotídea.

Carotid artery anatomy



The top illustration shows the common carotid artery branching into the internal and external carotid arteries. The illustration at the bottom right of the graphic shows cross sectional (left) and longitudinal (right) views inside the carotid artery, with examples of both diseased (top) and healthy (bottom) arterial segments.

UpToDate®

TEST DE EPWORTH

¿En qué situaciones le entra sueño?				
SITUACIÓN	0 NUNCA	1 A VECES	2 MUCHAS	3 SIEMPRE
Sentado y leyendo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Viendo la TV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sentado en lugar público	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Como pasajero en coche/bus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Por la tarde, en casa, descansando	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sentado y hablando con alguien	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sentado, después de comer sin alcohol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Conduciendo al pararse unos minutos en el tráfico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
TOTAL				



HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO Y LA RECOGIDA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

TÍTULO DEL ESTUDIO: CAMBIOS EPIGENÓMICOS EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dr. Jose M^a Marín Trigo, Servicio de Neumología. Correo electrónico: jmmarint@unizar.es

CENTRO: Hospital Universitario Miguel Servet

INTRODUCCION

Nos dirigimos a usted para solicitar su consentimiento para incorporarle al estudio arriba señalado y para la extracción y utilización de muestras biológicas con fines de investigación biomédica. El objetivo de este documento es informarle sobre el estudio en el cual se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud del Gobierno de Aragón, de acuerdo a la legislación vigente, y se lleva a cabo con respeto a los principios enunciados en la declaración de Helsinki y las normas de buena práctica clínica.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno. Si tiene alguna duda diríjase al Dr. Marín Trigo.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento para la utilización de la muestra en cualquier momento, así como solicitar la destrucción de la muestra sin que por ello se altere la relación con su médico. Si usted decide revocar su consentimiento, no se realizarán nuevos análisis de la muestra, pero esta revocación no afectará a las investigaciones realizadas hasta el momento.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Los objetivos del estudio son:

- 1) Determinar la existencia de cambios en el estado epigenético (capacidad de expresar la información que contienen los genes).
- 2) Determinar la relación entre estos cambios y la presencia o ausencia de inflamación sistémica (niveles altos o normales de proteínas inflamatorias en su sangre).
- 3) Determinar la relación entre los cambios epigenéticos y la presencia y severidad de aterosclerosis subclínica (obstrucción de sus arterias por placas de grasa).
- 4) Conocer los cambios en el estado inflamatorio de las anomalías epigenéticas y de la aterosclerosis subclínica en respuesta al tratamiento con CPAP.

Para ello se ha propuesto la realización de un estudio transversal, observacional y controlado de 100 pacientes con apnea obstructiva del sueño y de 50 pacientes sin apnea obstructiva del sueño procedentes de las consultas de la Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño del Hospital Universitario Miguel Servet (UTRS-HUMS) y de 50 pacientes de la población general reclutados del estudio epidemiológico sobre prevalencia del SAHS-EPOC (Zaragoza) que se lleva a cabo en la misma ciudad (FIS PI10/02577). Para la realización de este estudio a Ud. Se le administrarán las mismas pruebas que al resto de los pacientes que se atienden en la UTRS-HUMS y además las siguientes pruebas al momento de su reclutamiento y a los 4 meses:

1. Ecografía vascular. Se realizará por un especialista en la materia. Se trata de una prueba para conocer la presencia de placas de aterosclerosis y el espesor de las paredes de las arterias a nivel de las carótidas del cuello, de la aorta torácica y de la arteria femoral. Esta prueba no es invasiva ni dolorosa y no conlleva ningún riesgo para su salud.

INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

2. Sangre periférica. (30 cc, aproximadamente 8 tubos de extracción) por venopunción para la realización de:
 - I) Hemograma y bioquímica básica.
 - II) ELISA ultrasensible para determinación de citoquinas proinflamatorias IL-6, IL-8, IL-10, TNF α .
 - III) Determinación de proteína C reactiva ultrasensible por nefelometría.
 - IV) Citometría de flujo en sangre fresca: CD45+, CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-, CD16+ (NK).
 - V) Epigenómica: metilación del DNA, modificación de colas de histona y cambios en RNA no codificante.

Como posibles efectos secundarios: hematoma en el lugar de venopunción. Esta muestra formará parte de una colección de muestras para la línea de investigación propuesta y permaneciendo almacenada a -84°C en el biobanco de la Unidad de Investigación del Instituto Aragonés de Ciencias de la salud. Al término de la investigación, su muestra será destruida.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

El estudio podrá determinar si existen anomalías en la expresión de los genes implicados en el control de la inflamación sistémica de los pacientes con SAHS. Si existieran estas anomalías, el estudio permitirá conocer su relación con la presencia (o ausencia) de aterosclerosis subclínica y su respuesta al tratamiento del SAHS mediante CPAP. Dado que existen actualmente fármacos que corrigen ciertas anomalías epigenéticas, esta investigación podría ser la base de nuevas formas de tratamiento en pacientes con SAHS. También podría ocurrir que se obtenga ningún dato relevante para su seguimiento o tratamiento.

CONFIDENCIALIDAD

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de protección de datos de carácter personal y en su reglamento de desarrollo. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Sus datos serán tratados informáticamente y se incorporarán a un fichero automatizado de datos de carácter personal cuyo responsable es el Dr. Jose M^a Marín Trigo, del Servicio de Neumología del Hospital Universitario Miguel Servet, que ha sido registrado en la Agencia Española de Protección de Datos. Sus datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio y colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo en caso de urgencia médica, requerimiento de la administración sanitaria o requerimiento legal. Solo se transmitirán a terceros y a otros países previa notificación a la Agencia Española de Protección de Datos, los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente como nombre y apellidos, iniciales, dirección, n^o de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país. El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio, colaboradores autorizados, autoridades sanitarias, al Comité de Ética de la Investigación de Gobierno de Aragón y personal autorizado, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA UTILIZACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS (ANTE TESTIGO)

YO,(nombre del testigo) declaro bajo mi responsabilidad que

.....
.....(nombre del participante)

- Ha leído (o se le ha leído, en el caso en que el paciente no pueda leer) la hoja de información que se le ha entregado.
- Ha podido hacer preguntas sobre el estudio.
- Ha recibido suficiente información sobre el estudio.
- Ha hablado con el Dr. Jose M^a Marín Trigo.
- Manifiesta que comprende que su participación es voluntaria.
- Manifiesta que comprende que puede retirarse del estudio y solicitar la destrucción de la muestra cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Manifiesta que comprende que si decide retirarse del estudio, los resultados obtenidos hasta ese momento podrán seguir siendo utilizados pero que no se realizarán nuevos análisis de mi muestra.
- Manifiesta que comprende que su muestra de sangre forma parte de una colección de muestras de sangre y que no será utilizada para otro tipo de estudio distinto al actual para el cual se firma este consentimiento. Al término de este estudio, su muestra será destruida.
- Manifiesta e comprende que su muestra será tratada según la legislación vigente recogida en el BOE nº 290 de 02/12/2011. Aquí se recoge el *Real Decreto 1716/2011 de 18 de Noviembre*, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y la organización del Registro Nacional de biobancos para investigación biomédica. Este estudio se ajusta al artículo 2, apartado I, que se define como “Muestras biológicas de origen humano conservadas para su utilización en un proyecto de investigación”. Se trata de muestras biológicas de origen humano que se conservan fuera del ámbito organizativo de un biobanco exclusivamente para su utilización en un proyecto de investigación concreto, siempre que su conservación no se vaya a extender más allá de la fecha de finalización de dicho proyecto y no vayan a ser cedidas.
- Manifiesta que comprende que tienes los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición a sus datos de carácter personal de acuerdo en la Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal.
- Ha expresado libremente su conformidad para participar en el estudio y da su consentimiento para el acceso y utilización de sus datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre:

Fecha:

Nombre:

Fecha.

Dña. María González Hinos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 13/02/2013, Acta Nº 03/2013 ha evaluado la propuesta del investigador referida al estudio:

Título: Cambios epigenómicos en apnea obstructiva del sueño

Investigador Principal: José María Marín Trigo. HU Miguel Servet.

Versión Protocolo: enero 2013

Versión Hoja de Información al paciente y consentimiento informado: enero 2013

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

3º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

Lo que firmo en Zaragoza, a 13 de febrero de 2013

Fdo:



Dña. María González Hinos
Secretaría del CEIC Aragón (CEICA)



Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón

Avda. San Juan Bosco, 13

50009 Zaragoza

COMPOSICIÓN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE ARAGÓN

Dra. María González Hinojosa, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón,

CERTIFICA

1º En la reunión celebrada el día 13 de febrero de 2013, correspondiente al Acta nº 03/2013, se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente -Real Decreto 223/2004 y Decreto 26/2003 del Gobierno de Aragón, modificado por el Decreto 292/2005- para que la decisión del citado CEIC sea válida.

2º El CEIC de Aragón, tanto en su composición, como en sus PNT, cumple con las normas de BPC.

3º La composición del CEIC de Aragón en la citada fecha, era la siguiente:

- **Presidente:** Carlos Aibar Remón; Médico. Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Profesional Sanitario experto en epidemiología clínica.
- **Vicepresidente:** Cesar Loris Pablo; Médico. Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Miguel Servet. Representante de Comisión de Investigación.
- **Secretaria:** María González Hinojosa; Farmacéutica.
- **Pilar Comet Cortés;** Enfermera. Unidad Mixta de Investigación. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.
- **Ignacio Giménez López;** Médico. Investigador del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.
- **Marina Heredia Ríos;** Representante de las Organizaciones de Consumidores y Usuarios.
- **Angela Idoipe Tomás;** Farmacéutica. Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Miguel Servet. Farmacéutica de Hospital.
- **María Jesús Lallana Álvarez.** Farmacéutica de Atención Primaria de Zaragoza Sector III.
- **Jesús Magdalena Belío;** Médico. Centro de Salud de Azuara. Médico con labor asistencial y representante del Comité de Ética Asistencial del Área de Atención Primaria II y V.
- **Mariano Mateo Arizabalaga;** Médico. Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.
- **Elisa Moreu Carbonell;** Jurista. Profesora de la Facultad de Derecho, Universidad de Zaragoza.
- **Javier Perfecto Ejarque;** Médico. Centro de Salud Arrabal. Médico con labor asistencial.
- **Alexandra Prados Torres;** Médico. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Representante de Comisión de Investigación.
- **José Pujo Foncillas;** Médico. Servicio de Bioquímica. Hospital General San Jorge. Representante de Comisión de Investigación.
- **Diego Serrano Gómez;** Biólogo. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.
- **Mónica Torrijos Tejada;** Médico. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

Para que conste donde proceda, y a petición del promotor,

Zaragoza, a 13 de febrero de 2013

Firmado: María González Hinojosa

M^a TERESA MARTÍN CARPI, con DNI 29103674,

EXPONE

QUE EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN *CAMBIOS EPIGENÓMICOS EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO* Y, POR CONSIGUIENTE, LA TESIS DOCTORAL DERIVADA DEL MISMO TITULADA *INFLAMACIÓN Y ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO (AOS)* HA RECIBIDO LA SIGUIENTE FINANCIACIÓN:

- ISCIII PI 12/02175
- SEPAR 071/2012
- SADAR 02/2013

En Zaragoza, a 3 de noviembre de 2015.

Fdo. M^a Teresa Martín Carpi

STUDY PROTOCOL

Open Access

Epigenetics modifications and Subclinical Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea: The EPIOSA study

Jose M Marin^{1,2*}, Jorge Artal³, Teresa Martin¹, Santiago J Carrizo¹, Marta Andres², Inmaculada Martin-Burriel⁴, Rosa Bolea⁴, Arianne Sanz⁴, Luis Varona⁴, Javier Godino⁵, Begoña Gallego¹, Jose A Garcia-Erce⁶, Isabel Villar², Victoria Gil², Marta Forner², Jose P Cubero² and Luis Ros⁷

Abstract

Background: Obstructive sleep apnea (OSA) is associated with increased risk for cardiovascular morbidity and mortality. Epidemiological and animal models studies generate hypotheses for innovative strategies in OSA management by interfering intermediates mechanisms associated with cardiovascular complications. We have thus initiated the Epigenetics modification in Obstructive Sleep Apnea (EPIOSA) study (ClinicalTrials.gov identifier: NCT02131610).

Methods/design: EPIOSA is a prospective cohort study aiming to recruit 350 participants of caucasian ethnicity and free of other chronic or inflammatory diseases: 300 patients with prevalent OSA and 50 non-OSA subjects. All of them will be follow-up for at least 5 years. Recruitment and study visits are performed in single University-based sleep clinic using standard operating procedures. At baseline and at each one year follow-up examination, patients are subjected to a core phenotyping protocol. This includes a standardized questionnaire and physical examination to determine incident comorbidities and health resources utilization, with a primary focus on cardiovascular events. Confirmatory outcomes information is requested from patient records and the regional Department of Health Services. Every year, OSA status will be assessed by full sleep study and blood samples will be obtained for immediate standard biochemistry, hematology, inflammatory cytokines and cytometry analysis. For biobanking, aliquots of serum, plasma, urine, mRNA and DNA are also obtained. Bilateral carotid echography will be performed to assess subclinical atherosclerosis and atherosclerosis progression. OSA patients are treated according with national guidelines.

Discussion: EPIOSA will enable the prospective evaluation of inflammatory and epigenetics mechanism involved in cardiovascular complication of treated and non-treated patients with OSA compared with non OSA subjects.

Keywords: Sleep apnea, Subclinical atherosclerosis, Systemic inflammation, Epigenetics

Background

Obstructive sleep apnea (OSA) is the most common respiratory sleep disorder characterized by recurrent episodes of partial or complete pharyngeal obstruction [1]. Though obesity is the main risk to develop OSA, craniofacial morphology and ventilator drive abnormalities are

also important in OSA pathogenesis. Collapse of the upper airway during sleep leads to recurrent arousals, intermittent hypoxia, and surges in sympathetic activity. These intermediate mechanics may explain to some extent, the increased risk of mortality [2], incident hypertension [3,4], coronary artery disease [5] and stroke [6] described in OSA. In this context, circulating biomarkers of inflammation and oxidative stress have been described to be elevated in some OSA patients, and lowered with CPAP therapy regardless of weight changes [7]. A cause-effect relationship has been suggested between this systemic inflammatory

* Correspondence: jmmarint@unizar.es

¹Respiratory Service, Hospital Universitario Miguel Servet, I-3 Avda Isabel la Católica, 50006 Zaragoza, Spain

²Translational Research Unit, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain

Full list of author information is available at the end of the article

state and cardiovascular disease, based on the induction of inflammatory processes in the vessel wall [8]. Such processes are considered to be critical determinants of pathological alterations of the vasculature such as thickening of vessel wall, fatty streak formation, or promotion of atherosclerotic plaques. Furthermore, raised levels of proinflammatory cytokines involved in the atherosclerotic process, such as Interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP), have been reported in OSA. Nevertheless, these cytokines are also increased in obesity [9] and some studies do not show an independent association between OSA and IL-6 and/or CRP levels [10-12]. Other studies carried in obese patients with and without OSA, found that untreated OSA, rather than obesity, is a major determinant of vascular endothelial dysfunction, inflammation, and elevated oxidative stress in obese patients [13].

Among patients with OSA, the systemic inflammatory variability response can be explained by different pattern of epigenetic modifications induced by the apneic episodes and consequently altered expression of genes involved in the atherosclerotic process. Continuous hypoxia can induce hypermethylation of genes involved in cardiovascular diseases [14,15], but the role of intermittent hypoxia -a characteristic feature of OSA- is not so well known. However, increased methylation in the promoter region of the FOXP3 gene has been recently described in children with OSA and systemic inflammation [16]. The FOXP3 gene controls the differentiation of lymphocytes into regulatory T lymphocytes (Treg), a subset of T helper cells that inhibit atherosclerosis by modulating lipoprotein metabolism [17].

Most OSA patients attending sleep clinics have many confounding comorbidities, e.g. smoking and alcohol habits, obesity, dyslipemia, hypertension, etc...., These confounding variables are also associated with systemic low-grade inflammation that makes it difficult to determine the independent role of OSA in the pathogenesis of cardiovascular diseases. Furthermore, the onset of epigenetic changes in adults with OSA remains unknown. Our hypothesis is that changes in epigenetic regulation of systemic inflammation and metabolic dysfunction in OSA, are linked to accelerated cardiovascular morbidity. The Epigenetics Status and Subclinical Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea (EPIOSA) study is a 5-yr longitudinal study with the overall aim to identify epigenetic markers associated to prevalent and progression of subclinical atherosclerosis in individuals with OSA, as well as biomarkers that may serve as surrogate end-points. The present article describes the purpose and design of the study.

Methods/Design

Study objective

The EPIOSA study has the following specific aims: 1) Use of questionnaires, sleep studies, carotid ultrasonography

and cerebral magnetic resonance imaging (MRI) for the definition of OSA subpopulations and controls among individuals without comorbidities; 2) Identification and definition of the parameters that predict disease progression over 5 yrs of follow-up. For the purposes of the present study, disease progression is defined in terms of changes in sleep disordered breathing variables, symptoms, carotid artery intima-media thickness (IMT) and plaque and new microblebs in MRI; 3) Identification of useful biomarkers for disease progression by measuring known biomarkers that correlate with OSA severity, in blood and urine samples; 4) Identification of novel epigenetic factors and/or biomarkers correlating with poor outcomes in OSA and controls. This will be analyzed by cytometry analysis, DNA methylation in genes subserving inflammatory functions RNA transcriptomics; and 5) assessment of the effect of CPAP (Continuous positive airway pressure) on inflammatory and epigenetic mechanisms and disease progression.

Study design

EPIOSA is a 5-yr non-interventional longitudinal prospective study being conducted at the Sleep Clinic of the Hospital Universitario Miguel Servet, a large teaching hospital in Zaragoza (Spain). Following a baseline visit, subjects are to be followed-up at 3, and then every year. All subjects will continue to receive their usual care by their primary physician and sleep specialist throughout the study. CPAP treatment will be started according to the Spanish National guidelines, free of cost for the patients [18].

Subject participation

We have estimated to enroll up to 300 consecutive OSA male patients aged 20–60 yrs, with baseline apnea-hypopnea index ≥ 5 events per hour of sleep (AHI). In addition, we expect to recruit 50 control subjects (AHI < 5) aged 20–60 yrs and matched by body mass index (BMI). The inclusion and exclusion criteria for OSA patients and control subjects are shown in Table 1. All participants will be advised regarding life-style modification, exercise, diet and to avoid smoking or alcohol consumption.

Measurements

Clinical data

A questionnaire for data collection was developed. This included assessment of socio-demographic data, weight, height, waist, hip and neck circumferences, healthy behaviors, daily exercise routines, smoking history, consumption of alcohol or other toxic habits, previous medical diagnosis, presence of comorbidities, personal and family history of disease, and medication use. Daytime somnolence is assessed with the Epworth test [19]. Blood pressure is measured according to international guidelines by certified

Table 1 Selection criteria

Inclusion criteria	Exclusion criteria
<ul style="list-style-type: none"> • Males aged 20 – 60 years • AHI \geq 5 events per hour of sleep (OSA group) and AHI < 5 (control group) • Willingness to participate in the study and complying with the study by signing a written informed consent • Available for study visits over 5 years 	<ul style="list-style-type: none"> • Any history of cigarette/tobacco smoking use • Alcohol abuse • Arterial blood hypertension (arterial blood pressure: \geq140 mmHg systolic and/or \geq90 mmHg diastolic or taking antihypertensive medication) • Low high-density lipoprotein (HDL) cholesterol (<40 mg/dL) or high LDL cholesterol (\geq130 mg/dL) or taking lower lipid drugs. • Fasting plasma glucose >126 mg/dl or taking anti diabetic medications • Other metabolic diseases (e.g., hypothyroidism) • Present or past history of vascular diseases, including myocardial infarction, angina, coronary artery procedures (coronary artery bypass graft or percutaneous coronary intervention), aneurysm, transient ischemic attack or stroke. • Autoimmune diseases • Past or present history of malignancies • Chronic inflammatory diseases (e.g., Crohn disease) • Chronic infectious diseases (e.g., chronic viral hepatitis) • Chronic respiratory diseases (e.g., asthma) • Morbid obesity (body mass index \geq40 kg/m²) • Any chronic oral therapy • Sleep disorders other than OSA • Having undergone upper airway surgery • Having previously use CPAP therapy

nurses blinded to the presence or absence of OSA [20]. Spirometry is performed according to the standard criteria [21].

Sleep study

At our clinic, full polysomnography is used for patients believed to suffer from sleep disorders other than or in addition to sleep apnea, which are not to be included in the present study. For the rest of the patients with suspected OSA diagnosis, a type 3 portable sleep monitor will be used. The sleep study includes continuous recording of airflow from a nasal pressure cannula, thoracic-abdominal motion, oxygen saturation, snoring and body position. Results from all sleep studies are analyze using standard

criteria by trained personnel that are blind to the present protocol. An apnea is defined as an absence of airflow of 10 seconds or longer; a hypopnea as an airflow reduction (>50%) lasting \geq 10 seconds with a decrease in oxygen saturation over 4%. Obstructive apneas are defined as the absence of airflow in the presence of thoracic-abdominal motion. The AHI is calculated based on the average number of apnea plus hypopnea episodes per hour of recording time. Optimal titration of CPAP is obtained by using auto-CPAP (Autoset-T; ResMed, Sydney, Australia), according to previous validation procedures by the Spanish Sleep and Breathing Group [22]. Compliance with CPAP will be measured using the machines' internal timers. All patients will attend a new sleep study every year.

Laboratory analysis

At baseline and every year, whole blood samples are drawn using a 21G butterfly needle into serum gel, EDTA, sodium fluoride and PaxgeneW tubes (PreAnalytix GmbH, Switzerland). Serum glucose, triglycerides, total cholesterol and HDL cholesterol will be measured by spectrophotometry (Chemical Analyzer ILAB 650, Instrumentation Laboratory), and serum apolipoproteins A and B, will be measured by kinetic nephelometry (Immunochemistry Analyzer IMMAGE 800, BeckmanCoulter). Within two hours after collection, high sensitive C-reactive protein (CRP) will be measured based on a particle-enhanced turbidimetric immunoassay technique. For biobanking, about 15 ml of EDTA blood and 5 ml of blood without anticoagulant for serum preparation are to be fractionated into plasma, serum and whole blood and in 1 ml dot-coded metal-free cryotubes are to be stored at -80°C . Inflammatory markers to be assessed are shown in Table 2.

Flow cytometry

At baseline, whole fresh blood with EDTA will be obtained for flow cytometry. Table 3 shows the cells stained, and also the antibodies and kits used. The samples will be incubated for 15 min at room temperature, then acquired in a GALLIOS flow cytometer (Beckman Coulter) and analyzed with the KALUZA software (Beckman Coulter).

DNA methylation analysis

Part of the blood samples collected in EDTA tubes are stored at -80°C until DNA isolation, which is performed in the Department of Molecular Biology at the Faculty of Veterinary of the University of Zaragoza. Genomic DNA is obtained with the use of the illustra blood genomic Prep Midi Flow Kit (GE Healthcare, UK) following the manufacturer's instructions. Genome-wide DNA methylation profiles will be studied in approximately 1 μg of genomic DNA treated with sodium bisulfite. The converted DNA will be analyzed using Illumina's Infinium Human Methylation 450 BeadChip assay (Illumina, San Diego, CA, USA).

Table 2 Outcome measurements in the Epigenetics in Obstructive Sleep Apnea (EPIOSA) study

Measurement	Description	Frequency of assessment
Questionnaires, Dietary, Epworth Sleepiness Scale		Each visit
Vital signs	Including sitting blood pressure, heart rate, height and weight	Each visit
Exhaled carbon monoxide	Confirmation of smoking status	Each visit
Spirometry	Post-bronchodilator FVC, FEV1 and FEV1/FVC	Baseline
Electrocardiogram	12-lead resting electrocardiogram	Baseline
Sleep Study	At home type 3 monitor for diagnosis and at home autoCPAP for CPAP titration (if appropriated)	Baseline and every year
Blood sample	Standard biochemistry and lipid markers: Total cholesterol, LDL, HDL, TG, Apo A, Apo B. Inflammatory markers: TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10.	Baseline and last visit
Urine sample	Microalbuminuria, 8-isoprostane	Baseline and every year
Carotid Ultrasonography	High-resolution B-mode assessment of carotid artery intima-media thickness and plaque	Baseline and every year
Magnetic resonance imaging	Cerebral microbleeds detection	Baseline and last visit
Flow cytometry	Fresh peripheral blood T-cell phenotype	Baseline and last visit
DNA methylation	Genome-wide DNA methylation status	Baseline and last visit
miRNA microarray analysis	Levels of candidate miRNAs regulated by aberrant DNA methylation	Baseline and last visit

To minimize position effects, cases and controls will be randomly distributed. The assay allows determination of DNA methylation levels at >450,000 CpG sites covering all designable RefSeq genes, including promoter, 5', and 3' regions. It captures CpG islands and shores, non-CpG methylated sites, microRNA promoter regions and disease-associated regions identified through genome-wide association studies [24]. Illumina array data will be processed using the Methylation Module of GenomeStudio v1.9 software. To identify differentially methylated regions (DMRs), we will use a 1-kb sliding window and apply Fisher's method to combine P values for each 1-kb region on the basis of all probes within each window [25]. Significant DMRs will be selected at a 1% FDR on autosomes and 5% FDR on chrX. After statistical analyses, the methylation

patterns of the gene of interest will be confirmed by sequencing of the 24 bisulfite-treated DNA samples used for the genome wide analysis.

Gene expression analysis

Blood samples stored at -80°C in PaxGene (TM) tubes will be used for total RNA isolation using PAXgene Blood RNA Kit (Qiagen, Venlo, Netherlands). Quantitative real time polymerase chain reactions (qRT-PCR) will be performed to test whether differential methylation patterns of the selected genes affect their expression level. Complementary DNA will be synthesized from total RNA using random hexamers and the SuperScript[®] III First Strand Synthesis Kit (Life Technologies, Carlsbad, California, US). Primers and TaqMan[®] probes will be selected from

Table 3 Subset of T cell population to be analyzed

Antibody-kit	Clone	Fluorescence	Catalog number
CD4-CD8- CD3	CD4:HP2/6, CD8: 143-44, CD3: 33-2A3	CD4: FITC CD8: PE CD3: PERCP	4F18PEI3PPI-50 T. IMMUNOSTEP
CD11c	BU-15	FITC	11CF3-100 T IMMUNOSTEP
CD14	47-3D6	APC	14A-100 T IMMUNOSTEP
CD15	MCS-1	FITC	15 F-100 T IMMUNOSTEP
CD16	3G8	PE	16PE2-100 T IMMUNOSTEP
CD45	HL30	CF BLUE	45CFB2-100 T IMMUNOSTEP
CD45 RA	HI100	APC	45RAA2-100 T IMMUNOSTEP
CD 62 L	DREG 56	APC-eFluor 780	47-0629 eBioscience
Human regulatory T cell cocktail*	CD4: SK3, CD25: 2A3, CD127: HIL-7R-M21	CD4: fitc, CD 25: PE-Cy7, CD127: Alexa fluor 647	560249 (BD Pharmigen)

*T reg was defined as CD4+/CD25+/CD127 (low/-) phenotype (ref. [23]).

the Applied Biosystems Inventories Assays and qRT-PCR will be performed in a The StepOne™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Life Technologies, Carlsbad, California, US).

MicroRNA analysis

This study is based in the expression of 96 miRNAs. These miRNAs have been carefully selected based on those predicted by bioinformatic algorithms and databases to regulate genes known to be relevant to inflammation. Total RNA will be extracted from cryopreserved samples using Paxgene Blood miRNA kit (PreAnalytiX) according to the manufacturer's protocol. RNA integrity will be tested using the 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, California, US). Samples will be reverse transcribed using the Taqman®MicroRNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Life Technologies, Carlsbad, California, US) and mature miRNAs will be quantified by real-time PCR using the Taqman®MicroRNA Assays [26]. miRNA expression will be analyzed using the BioMark 96:96 Dynamic Array (Fluidigm Corporation, San Francisco, California, US). Data will be analyzed using the BioMark Real-Time PCR Analysis Software v2.0 (Fluidigm). The Ct value will be used for analysis by the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method [27].

Subclinical atherosclerosis imaging

Carotid intima-media thickness (CIMT)

At baseline and every year, CIMT are to be assessed in all subjects with an ultrasound system (IU22 Philips). Ultrasound images are acquired by linear high frequency 2-dimensional probes following the protocol of the Bioimage Study [28]. Carotid plaque is defined as a focal structure that protrudes into the lumen of the carotid artery at least 0.5 mm or $\geq 50\%$ thicker than the surrounding. Three measurements each are made on the far wall of the left and right common carotid arteries in end diastole, 1 cm below the point of bifurcation. The average of the 6 readings will be taken as the CIMT value.

Magnetic resonance imaging (MRI)

At baseline and after the 5-year follow up, all subjects are to undergo a cerebral MRI. We use a multisequence MRI protocol on a 1.5-T scanner (GE Healthcare). For cerebral microbleeds detection we will use an accelerated three-dimensional T2*-weighted gradient-recalled echo sequence. MRI scans are viewed by radiology physicians blinded to the OSA status of the subject. As previously described cerebral microbleeds are defined as focal areas of very low signal intensity on T2*-weighted imaging without signal abnormalities on other structural sequences [29]. Microbleeds are classified according to cerebral localization (lobar brain sites or infratentorial locations).

Power considerations

The calculation of EPIOSA's planned sample size of 300 patients and 50 matched controls, is based on three estimations: a) in pediatric patients, those with OSA (n = 37), showed a reduced Treg population and altered Th1:Th2 balance toward Th1 predominance compared with non-OSA controls (n = 13) [30]; b) differences among DNA methylation in inflammatory genes were observed among OSA patients with high hsCRP (n = 31), compared with normal non-OSA controls (n = 31) [16]; and c) a randomized study showed that effective treatment of OSA with continuous positive airway pressure for 4 months significantly decreases IMT as early signs of atherosclerosis in 24 patients with severe OSA [31]. We expected a loss to follow-up of an average of 2% per year. In this way at the end of the 5-year follow-up we hope to analyze outcomes in 270 patients with OSA and 45 without OSA. This sample size ensures to analyze subgroups of patients according with prescribed treatment for OSA. Specifically, the sample will have 80% power to detect average IMT differences when comparing OSA patient treated and non-treated CPAP. The power is calculated based on a 2 SD with a significance level of 0.0125.

Statistical analyses

Groupwise comparisons (n >2) will be performed using a nonparametric Kruskal-Wallis test followed by a Mann-Whitney U test as appropriate. Pairwise comparisons were performed using a nonparametric Mann-Whitney test unless otherwise indicated. Chi square tests will be performed for categorical variables. Regression models will be applied to assess the effect of OSA, biomarkers, peripheral lymphocytes and epigenetic changes on CIMT, carotid plaque and cerebral microbleeds. All models will be adjusted for age and BMI, and additionally for covariables that may change the estimated risk beyond 5%. Specific statistics procedures will be performed for the arrays as described above. STATA-12 for Windows (STATA CORP, TX, USA) are to be used for all analyses.

Discussion

The Epigenetics Status and Subclinical Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea (EPIOSA) study is a clinical based study of patients with OSA and non-OSA, both without other associated comorbid conditions. EPIOSA aims to elucidate mechanisms involved in the development of OSA complications with a focus on OSA-associated subclinical atherosclerosis. To achieve this, standardized phenotyping of OSA is being performed at baseline and at one and 5 years, with imaging techniques and biobanking of serum, plasma, DNA, mRNA and urine. EPIOSA aims to recruit ambulatory patients attending the Sleep Clinic for study of suspected obstructive sleep apnea.

Prevalence of OSA is increasing in industrialized countries. OSA prevalence parallels the “obesity pandemic”. Both disorders share metabolic and cardiovascular complications that are a major public health and financial challenge. Obesity is a well known risk factor for cardiovascular disorders but the role of OSA as an independent contributor of cardiovascular outcomes is more controversial since most patients with severe OSA are obese. To minimize this problem, in this study we will exclude patients with a BMI > 35 kg/m².

Atherosclerosis is considered the principal contributor of cardiovascular disease. Atherosclerotic lesions and atheromas are localized in the arterial intima-media layers due to accumulation of lipids and inflammatory cells. Endothelial dysfunction triggered by oxidized low-density lipoprotein (OxLDL) is the first step in atherosclerosis. Endothelial cells activation results in the expression of adhesion molecules, cytokines and chemokines that attract circulating monocytes and naïve T lymphocytes. These cells migrate across the endothelium and infiltrate the vascular wall. Monocytes then differentiate into macrophages that take OxLDL to transform in “foam cells”. The accumulation and activation of T cells recognizing OxLDL in the intima constitute the adaptive immunity component in the pathogenesis of atherosclerosis and elicit proinflammatory stimuli that further exacerbate and propagate this disease [32]. The importance of adaptive immune activation has been underlined in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). In the MESA study, which included otherwise healthy individuals, higher circulating CD4+ to CD4+ naïve cells ratio were found to be associated with subclinical atherosclerosis as estimated by carotid ultrasonography [33]. Several subsets of T cells are found within the plaque mainly of the CD4+ phenotypes including Th1, Th2, Th17 and regulatory T cells (Treg) subtypes. Th1 is the most abundant T cell in the human plaque and together with Th17 are considered pro-atherogenic T cells. Th2 cells are rarely detected in lesions and have been suggested to be anti-atherogenic. Treg control the Th1/Th2 balance and are considered to be atheroprotective [34]. Epigenetic regulation is being recognized as an important factor in the pathogenesis of atherosclerosis. The forkhead box transcription factor, FOXP3, is considered the master switch in the regulation of Treg development and function [35]. Furthermore, FOXP3+ Tregs inhibit atherosclerosis by modulating lipoprotein metabolism [17]. A dose-dependent increase in the methylation of the Treg-specific demethylated region in FOXP3 was observed in cultures of peripheral blood mononuclear cells in patients with acute coronary syndromes [36], suggesting that epigenetic suppression of FOXP3 might lead to down-regulation of Treg cells, and in turn increase the risk of atherosclerosis.

There are many potential mechanisms linking OSA, endothelial dysfunction, atherosclerosis and cardiovascular

diseases. Sleep loss and fragmentation could trigger endothelial dysfunction and immune response but its remains to be demonstrated if this occurs in patients with OSA. Chronic intermittent hypoxia (CIH) is the other hallmark of OSA. CIH can induce endothelial dysfunction independently of respiratory effort in animal models [37]. In patient with OSA, oxygen desaturation index (ODI), a surrogate of CIH severity has been associated with endothelial dysfunction [38]. On the other hand, ODI emerged as an independent predictor of carotid and aortic wall thickness in OSA patients using cardiovascular magnetic resonance study [39]. CPAP treatment of OSA significantly reduces carotid intima-media thickness, supporting the concept that OSA is an independent risk factor for atherosclerosis [31]. There is growing evidence that OSA is associated with increased activation of immune and inflammatory cells including circulating monocytes, platelets and lymphocytes and proinflammatory cytokines such as leukotrienes, interferon- γ , TNF- α and IL-6 have been reported elevated in OSA [8]. CRP levels have been particularly studied with conflicting results [7,40]. The intermediate process for an increased risk of atherosclerosis in OSA could be the presence of this systemic inflammation and immunity activation as a result of the CIH. There is no evidence of genetic alterations in patients with OSA that favor the development of systemic inflammation, changes the adaptive immunity or that specifically encourage the emergence of early atherosclerosis. However, it is likely a different response from the pro-inflammatory genes to CIH. This response depends in part on epigenetic mechanisms that promote or suppress the expression of these genes. Recently in pediatric OSA those children with elevated CRP, were more likely to have increased DNA methylation of the FOXP3 gene [16]. This result in a reduced Treg population and in a swift Th1:Th2 balance towards Th1 predominance [29]. These immune-inflammatory changes favor endothelial dysfunction and a pro-atherogenic state and ultimately an increased risk for cardiovascular diseases. If those mechanisms also play a role in accelerated atherosclerosis in adults with sleep apnea is unknown. In conclusion, the current study is novel in several ways: 1) It is the first study to evaluate the relationship between baseline OSA phenotypes and normal matched controls without comorbidities and subclinical atherosclerosis and 2) it will allow prospective analysis of inflammatory biomarkers, as well as methylation and miRNA abnormalities in non-OSA subjects and patients with treated or non-treated OSA. Our results may provide more information on the association of OSA and cardiovascular diseases and possibly identifying novel targets for therapeutic intervention. It could also provide evidence that CPAP can not only improve daytime symptoms, but also have a positive effect on progression of subclinical atherosclerosis.

Ethical aspects

The study is being conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and good clinical practice guidelines. All participants must provide written informed consent.

The study has been approved by the Regional Institutional Review Board of Aragon (IACS), Spain, project 03/2013. The study has also been registered at Clinical Trials.gov identifier: NCT01475421.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests that are relevant to the content of this article.

Authors' contributions

JMM, JA, TM, SJC, BG, study concept and design. MA, IM-B, RB, AS, JG, JAG-E, will carried out the molecular genetic studies and the immunoassays. IV will performed the statistical analysis. VG, MF, JPC will collect the data. LR will interpret the MRI data. All authors critically reviewed and approved the final manuscript.

Acknowledgements

We appreciate the nurses support of the Sleep Unit and Respiratory Department of the Hospital Universitario Miguel Servet to assist with recruitment, data collection and follow-up. We thank Marta Marin-Oto for proofreading the manuscript.

Funding

EPIOSA is financed by Grants from the Instituto de Salud Carlos III (PI12/01275; Ministry of Economy, Madrid, Spain), the Spanish Society of Pneumology (071/2012; SEPAR, Barcelona, Spain), the Aragon Society of Pneumology (02/2013; SADAR, Zaragoza, Spain).

Author details

¹Respiratory Service, Hospital Universitario Miguel Servet, I-3 Avda Isabel la Católica, 50006 Zaragoza, Spain. ²Translational Research Unit, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain. ³Neurology Unit, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain. ⁴Department of Anatomy, Embriology and Genetics, Faculty of Veterinary, Zaragoza, Spain. ⁵Cytometry Unit, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, Spain. ⁶Hematology Service, Hospital San Jorge, Huesca, Spain. ⁷Radiology Department, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain.

Received: 5 June 2014 Accepted: 3 July 2014

Published: 12 July 2014

References

1. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ: **Epidemiology of obstructive sleep apnea. A population health perspective.** *Am J Respir Crit Care Med* 2002, **165**:1217–1239.
2. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agustí AG: **Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study.** *Lancet* 2005, **365**:1046–1053.
3. Barbé F, Durán-Cantolla J, Sánchez-de-la-Torre M, Martínez-Alonso M, Carmona C, Barceló A, Chiner E, Masa JF, Gonzalez M, Marin JM, Garcia-Rio F, Diaz de Aturi J, Teran J, Mayos M, de la Peña M, Monasterio C, del Campo F, Montserrat JM, Spanish Sleep And Breathing Network: **Effect of continuous positive airway pressure on the incidence of hypertension and cardiovascular events in nonsleepy patients with obstructive sleep apnea: a randomized controlled trial.** *JAMA* 2012, **307**:2161–2168.
4. Marin JM, Agustí A, Villar I, Forner M, Nieto D, Carrizo SJ, Barbé F, Vicente E, Wei Y, Nieto FJ, Jelic S: **Association between treated and untreated obstructive sleep apnea and risk of hypertension.** *JAMA* 2012, **307**:2169–2176.
5. Gottlieb DJ, Yenokyan G, Newman AB, O'Connor GT, Punjabi NM, Quan SF, Redline S, Resnick HE, Tong EK, Diener-West M, Shahar E: **Prospective study of obstructive sleep apnea and incident coronary heart disease and heart failure: the sleep heart health study.** *Circulation* 2010, **122**:352–360.
6. Redline S, Yenokyan G, Gottlieb DJ, Shahar E, O'Connor GT, Resnick HE, Dieter-West M, Sandres MH, Wolf PA, Geraghty EM, Lebowith M, Punjabi NM: **Obstructive sleep apnea-hypopnea and incident stroke: the sleep heart health study.** *Am J Respir Crit Care Med* 2010, **182**:269–277.
7. Yokoe T, Minoguchi K, Matsuo H, Oda N, Minoguchi H, Yoshino G, Hirano T, Adachi M: **Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure.** *Circulation* 2003, **107**:1129–1134.
8. Pack AI, Gislason T: **Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease: a perspective and future directions.** *Prog Car Dis* 2009, **51**:434–451.
9. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B: **Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance.** *Eur Cytokine Netw* 2006, **17**:4–12.
10. Barcelo A, Barbe F, Llompart E, Mayoralas LR, Ladaría A, Bosch M, Agustí AG: **Effects of obesity on C-reactive protein level and metabolic disturbances in male patients with obstructive sleep apnea.** *Am J Med* 2004, **117**:118–121.
11. Taheri S, Austin D, Lin L, Nieto FJ, Young T, Mignot E: **Correlates of serum C-reactive protein (CRP)—no association with sleep duration or sleep disordered breathing.** *Sleep* 2007, **30**:991–996.
12. Arnardottir ES, Mäslin G, Schwab RJ, Staley B, Benediktsson B, Olafsson I, Juliusson S, Romer M, Gislason T, Pack AI: **The interaction of obstructive sleep apnea and obesity on the inflammatory markers c-reactive protein and interleukin-6: the Icelandic Sleep Apnea Cohort.** *Sleep* 2012, **35**(7):921–932.
13. Jelic S, Lederer DJ, Adams T, Padeletti M, Colombo PC, Factor PH, Le Jemtel TH: **Vascular inflammation in obesity and sleep apnea.** *Circulation* 2010, **121**(8):1014–1021.
14. Watson JA, Watson CJ, McCann A, Baugh J: **Epigenetics, the epicenter of the hypoxic response.** *Epigenetics* 2010, **5**:293–296.
15. Stenvinkel P, Karimi M, Johansson S, Axelsson J, Suliman M, Lindholm B, Heimbürger O, Barany P, Alvestrand A, Nordförs L, Qureshi AR, Ekström TJ, Schalling M: **Impact of inflammation on epigenetic DNA methylation: a novel risk factor for cardiovascular disease?** *J Intern Med* 2007, **261**:488–499.
16. Kim J, Bhattacharjee R, Khalyfa A, Kheirandish-Gozal L, Capdevila OS, Wang Y, Gozal D: **DNA methylation in inflammatory genes among children with obstructive sleep apnea.** *Am J Respir Crit Care Med* 2012, **185**:330–338.
17. Klingenberg R, Gerdes N, Badeau RM, Gisterå A, Strodtzoff D, Ketelhuth DF, Lundberg AM, Rudling M, Nilsson SK: **Depletion of FOXP3+ regulatory T cells promotes hypercholesterolemia and atherosclerosis.** *J Clin Invest* 2013, **123**:1323–1334.
18. Grupo Español de Sueño: **Consenso nacional sobre el síndrome de apneas-hipopneas del sueño.** *Arch Bronconeumol* 2005, **41**(Suppl 4):1–100.
19. Johns MW: **A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale.** *Sleep* 1991, **14**:540–545.
20. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Rocella EJ: **The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report.** *JAMA* 2003, **289**(19):2560–2572.
21. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino OR, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J: **ATS/ERS Task Force. Standardisation of spirometry.** *Eur Respir J* 2005, **26**:319–338.
22. Masa JF, Jiménez A, Durán J, Capote F, Monasterio C, Mayos M, Terán J, Hernández L, Barbé F, Maimó A, Rubio M, Montserrat JM: **Alternative methods of titrating continuous positive airway pressure: a large multicenter study.** *Am J Respir Crit Care Med* 2004, **170**(11):1218–1224.
23. Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S, Gottlieb PA, Kapranov P, Gingeras TR, Fazekas de St Groth B, Clayberger C, Soper DM, Ziegler SF, Bluestone JA: **CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells.** *J Exp Med* 2006, **203**:1701–1711.
24. Bibikova M, Barnes B, Tsan C, Ho V, Klotzle B, Le JM, Delano D, Zhang L, Schroth GP, Gunderson KL, Fan JB, Shen R: **High density DNA methylation array with single CpG site resolution.** *Genomics* 2011, **98**:288–295.
25. Bock C: **Analysing and interpreting DNA methylation data.** *Nat Rev Genet* 2012, **13**:705–719.
26. Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT, Barbisin M, Xu NL, Mahuvakar VR, Andersen MR, Lao KQ, Livak KJ, Guegler KJ: **Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR.** *Nucleic Acids Res* 2005, **33**:e179.
27. Livak KJ, Schmittgen TD: **Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method.** *Methods* 2001, **25**:402–408.

28. Muntendam P, McCall C, Sanz J, Falk E, Fuster V: **The Biolmage Study: novel approaches to risk assessment in the primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease: study design and objectives.** *Am Heart J* 2010, **160**:49–57.
29. Greenberg SM, Vernooij MW, Cordonnier C, Viswanathan A, Al-Shahi Salman R, Warach S, Launer LJ, Van Buchem MA, Breteler MM, Microbleed Study Group: **Cerebral microbleeds: a guide to detection and interpretation.** *Lancet Neurol* 2009, **8**:165–174.
30. Tan HL, Gozal D, Wang Y, Bandla HP, Bhattacharjee R, Kulkarni R, Kheirandish-Gozal L: **Alterations in circulating T-cell lymphocyte populations in children with obstructive sleep apnea.** *Sleep* 2013, **36**:913–922.
31. Drager LF, Bortolotto LA, Figueiredo AC, Krieger EM, Lorenzi GF: **Effects of continuous positive airway pressure on early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea.** *Am J Respir Crit Care Med* 2007, **176**:706–712.
32. Hermansson A, Ketelhuth DF, Strodtzoff D, Wurm M, Hansson EM, Nicoletti A, Paulsson-Berne G, Hansson GK: **Inhibition of T cell response to native low-density lipoprotein reduces atherosclerosis.** *J Exp Med* 2010, **207**(5):1081–1093.
33. Olson NC, Doyle MF, Swords N, Huber SA, Psaty BM, Kronmal RA, Tracy RP: **Decrease naïve and increased memory CD4+ T cells are associated with subclinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis.** *PLoS One* 2013, **8**(8):e71498.
34. Hansson GK, Hermansson A: **The immune system in atherosclerosis.** *Nat Immunol* 2011, **12**:204–212.
35. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S: **Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3.** *Science* 2003, **299**(5609):1057–1061.
36. Jia L, Zhu L, Wang JZ, Wang XJ, Chen JZ, Song L, Wu YJ, Sun K, Yuan ZY, Hui R: **Methylation of FOXP3 in regulatory T cells is related to the severity of coronary artery disease.** *Atherosclerosis* 2013, **228**:346–352.
37. Nacher M, Farré R, Montserrat JM, Torres M, Navajas D, Bulbena O, Serrano-Mollar A: **Biological consequences of oxygen desaturation and respiratory effort in an acute animal model of obstructive sleep apnea (OSA).** *Sleep Med* 2009, **10**:892–897.
38. Nieto FJ, Herrington DM, Redline S, Benjamin EJ, Robbins JA: **Sleep apnea and markers of vascular endothelial function in a large community sample of older adults.** *Am J Respir Crit Care Med* 2004, **169**:354–360.
39. Kylintireas I, Craig S, Nethononda R, Kohler M, Francis J, Choudhury R, Stradling J, Neubauer S: **Atherosclerosis and arterial stiffness in obstructive sleep apnea—a cardiovascular magnetic resonance study.** *Atherosclerosis* 2012, **222**:483–489.
40. Tahini S, Austin D, Lin L, Nieto FJ, Young T, Mignot E: **Correlates of C-reactive protein (CRP) – no association with sleep duration or sleep disordered breathing.** *Sleep* 2007, **30**:991–996.

doi:10.1186/1471-2466-14-114

Cite this article as: Marin *et al.*: Epigenetics modifications and Subclinical Atherosclerosis in Obstructive Sleep Apnea: The EPIOSA study. *BMC Pulmonary Medicine* 2014 **14**:114.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



