



AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA SINDROME D'APNEA- HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)

Raquel Català Pérez

Dipòsit Legal: T. 1566-2013

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

**Departament de Medicina i Cirurgia
Facultat de Medicina i Ciències de la Salut
Programa de Doctorat: BIOMEDICINA**



**Avaluació de la relació entre FABP4, FABP5 i el risc
cardiovascular en pacients amb la síndrome
d'apnea-hipopnea durant el son (SAHS)**

Raquel Català Pérez

TESI DOCTORAL

**Dirigida pel Prof. Lluís Masana Marín, i codirigida per la Dra. Anna
Texidó Bruguera i la Dra. Anna Cabré Llobet**

Reus, 2013

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013



Autorització del director/a o codirector/s/a/es de la tesi doctoral

DADES IDENTIFICATIVES DE LA TESI DOCTORAL	
Títol de la tesi doctoral "Avaluació de la relació entre FABP4, FABP5 i el risc cardiovascular en pacients amb la síndrome d'apnea-hipopnea durant el son (SAHS)"	
Doctorand/a RAQUEL CATALÀ PÉREZ	
Programa de Doctorat / Programa Oficial de Postgrau BIOMEDICINA	
Departament Medicina i Cirurgia	Grup de recerca Bases moleculars de la hiperlipèmia i de l'arteriosclerosi
Director/a LLUIS MASANA MARIN	Correu electrònic del Director/a luis.masana@urv.cat
Codirector/a Anna Teixidó Bruguera Anna Cabré Llobet	Correu electrònic del Codirector/a atexido@grupsagessa.cat anna.cabre@urv.cat
Tutor/a (si s'escau)	Correu electrònic del Tutor/a

INFORME DEL DIRECTOR DE TESI		
Els (co)director/s sotassignats emeten l'informe de la tesi doctoral presentada a tràmit de dipòsit, en base a la revisió dels següents elements de qualitat:		
	SI	NO
La tesi consisteix en un treball original de recerca	X	
El títol reflecteix acuradament el contingut de la tesi	X	
Les hipòtesis i/o els objectius de la tesi estan clarament formulats	X	
La metodologia està descrita	X	
Hi consta el procediment	X	
Hi consten els resultats i la discussió dels mateixos	X	
Les conclusions de la tesi corresponen a les hipòtesis i/o objectius formulats	X	
La bibliografia està ben reflectida	X	
D'aquesta tesi es deriven les següents aportacions científiques:		
<ul style="list-style-type: none"> - Català R, Cabré A, Hernández Flix S, Ferré R, Sangenis S, Plana N, Teixidó A, Masana L. "Circulating FABP4 and FABP5 levels are differently linked to OSA severity and treatment". Sleep (en premsa). IF: 5.051 - Català R, Ferré R, Cabré A, Sangenis S, Hernández Flix S, Plana N, Teixidó A, Masana L. "Continuous positive airway pressure treatment decreases carotid intima-media in obstructive sleep apnea". (en revisió) 		
.....		
.....		
.....		
Altres comentaris sobre la qualitat de la tesi:		
.....		
.....		

I en conclusió, s'emet l'informe FAVORABLE pel tràmit de dipòsit de la tesi doctoral i posterior defensa pública.

.Reus....., .10.... de juliol..... de 2013

Nom i cognoms: Lluís Masana Marin
 Director/a de la tesi

Nom i cognoms: Anna Teixidó Bruguera
 Codirector/a (si s'escau)

Nom i cognoms: Anna Cabré Llobet
 Codirector/a (si s'escau)

***Als meus avis
Als meus pares
Al castell de Cocentaina***

AGRAÏMENTS

Al Prof. Lluís Masana, director d'esta tesi, per la seua confiança, empena i gran qualitat científica. És un privilegi i un plaer treballar al seu costat.

A la Dra. Anna Teixidó, per haver-me posat en contacte amb el Dr. Masana i ajudar-me a posar en marxa este projecte.

A la Dra. Anna Cabré, per ser sempre a prop, per ajudar-me, animar-me i dirigir-me en el dia a dia i perquè sempre ha tingut tot el temps quan l'he necessitada. Gràcies per confiar en mi.

Al Dr. Raimon Ferré, per ensenyar-me la importància de l'ecografia carotídia.

A Salvador Hernández Flix, per donar-me l'oportunitat i recolzar-me en la meua dedicació a la patologia del son.

A la meua amiga i companya, Sandra Sangenís, per la seua infinita bondat i protecció. El triumvirat no podrà amb nosaltres.

A Rosa Tomàs, per la seua càlida acollida, ajuda i complicitat des del primer dia que vaig entrar per la porta del despatx de Pneumologia a l'antic hospital.

A Maria Porto, per ser com és i per totes les hores conviscudes a la Unitat del Son.

A tots els malalts que han participat voluntàriament en este projecte.

A totes les auxiliars i infermeres de la Curta Estada que han fet les proves del son; especialment a Montse Estivill i a Lourdes Vidal pel seu interès perquè tot anés cap a endavant.

Al Dr. Antonio Cáliz, a la Dra. Mercè Mayos i a Rosa Miralda de la Unitat del Son de l'Hospital de Sant Pau, per ser els responsables d'introduir-me en el món del son.

Al Dr. Pere Casan i al Dr. José Belda, per haver cregut en mi durant la residència, quan alguns no hi creien. Als meus adjunts de l'Hospital de Sant Pau: Dr. Jesús Sauret, Dr. Abilio Castellano, Dr. Antoni Antón i Dra. Rosa Güell, per haver-me ajudat sempre que els ho vaig demanar.

A les meues amigues: Daiana, Simona, Beth i Neus, pel seu suport incondicional.

Al meus avis, Milagro, Enrique, Carmen i David, per tots els valors transmesos. Sense el seu esforç i sacrifici esta tesi mai hagués estat possible.

Als meus pares, Milagro i David, per l'amor rebut, per creure en mi com ningú i per fer que jo mateixa cregués en mi. Per haver-me acompanyat en els moments més difícils de la meua vida, pels seus consells i pel seu recolzament. Mai us agrairé prou tot el que heu fet per mi.

A tots, MOLTES GRÀCIES.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)

Raquel Català Pérez

Dipòsit Legal: T. 1566-2013



ÍNDEX



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

1. PRESENTACIÓ I JUSTIFICACIÓ.....	15
2. INTRODUCCIÓ	21
2.1. Síndrome d'apnees-hipopnees durant el son (SAHS)	23
2.1.1. Definicions	23
2.1.2. Epidemiologia	24
2.1.3. Etiopatogènia	26
2.1.4. Clínica i exploració física	27
2.1.5. Diagnòstic	29
2.1.6. Tractament	32
2.1.7. Mecanismes fisiopatològics.....	34
2.1.7.1. Activació simpàtica	35
2.1.7.2. Estrès oxidatiu	36
2.1.7.3. Inflamació sistèmica	37
2.1.7.4. Disfunció endotelial	40
2.1.7.5. Angiogènesi i aterogènesi	41
2.1.8. Alteracions metabòliques i malalties cardiovasculars	44
2.1.9. Altres morbimortalitats associades	48
2.2. Família de FABP	50
2.2.1. <i>Adipocyte fatty-acid binding protein</i> (FABP4)	52
2.2.1.1. Funció	53
2.2.1.2. Expressió i regulació	54
2.2.1.3. Alteracions metabòliques associades	57
2.2.1.4. FABP4 i SAHS	61
2.2.2. <i>Epidermal fatty-acid binding protein</i> (FABP5)	62
3. HIPÒTESI I OBJECTIUS	65
4. MATERIAL I MÈTODES	69
4.1. Població i disseny de l'estudi	71
4.2. Mesuraments clínics	73
4.3. Variables polisomnogràfiques	74
4.4. Tractament amb CPAP nasal	75

4.5. Extracció de sang i creació de la col.lecció de mostres	77
4.6. Determinació de la FABP4 i de la FABP5 circulant	78
4.7. Estudi vascular: ecografia d'artèries caròtides	79
4.8. Quantificació del greix intraabdominal	81
4.9. Anàlisi estadística	83
5. RESULTATS	85
6. DISCUSSIÓ	113
7. CONCLUSIONS	123
8. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES	127
9. ANNEX I	157
9.1. Escala d'Epworth	159
9.2. Esquema de l'obtenció de mostres i les alíquotes processades i guardades al BioBanc	160
9.3. Procediment normalitzat de treball metodològic de la FABP4 de l'URLA	161
10. ANNEX II	167
10.1. COMUNICACIONS CIENTÍFIQUES A CONGRESSOS	169
10.2. ARTICLES CIENTÍFICS	171
- Català R , Cabré A, Hernández-Flix S, Ferré R, Sangenís S, Plana N, Texidó A, Masana L. «Circulating FABP4 and FABP5 levels are differently linked to OSA severity and treatment». Sleep [en premsa]. IF: 5.051 .	
- Català R , Ferré R, Cabré A, Sangenís S, Hernández-Flix S, Plana N, Texidó A, Masana L. «Continuous positive airway pressure treatment decreases carotid intima-media in obstructive sleep apnoea». [en revisió].	
10.3. FINANÇAMENT : BEQUES	222

1. Presentació i justificació



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

La tesi doctoral que es presenta s'ha desenvolupat a la Unitat de Trastorns Respiratoris del Son (UTRS) de la Secció de Pneumologia de l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus i a la Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosi (URLA) del Departament de Medicina i Cirurgia, en el programa de Biomedicina de la Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, de la Universitat Rovira i Virgili, sota la direcció del Prof. Lluís Masana Marín, i la codirecció de la Dra. Anna Teixidó Bruguera i la Dra. Anna Cabré Llobet.

La síndrome d'apnees-hipopnees durant el son (SAHS) és una malaltia molt prevalent que afecta el 4-6% dels homes i el 2-4% de les dones entre la població general adulta d'edats mitjanes i que augmenta amb l'edat. La SAHS és una entitat clínica relacionada amb la malaltia cardiovascular i s'associa a un augment de la morbimortalitat per esta causa. L'associació entre SAHS i arteriosclerosi cada vegada és més evident, a causa que els fenòmens d'hipoxèmia i reoxigenació estan implicats en l'alteració de les molècules d'adhesió responsables de la formació de la placa d'ateroma i de la vasoconstricció vascular.

Les malalties cardiovasculars són la primera causa de mortalitat a Catalunya, i a la resta del món industrialitzat. Les prediccions indiquen que, l'any 2020, les malalties cardiovasculars i l'arteriosclerosi, en particular, es convertiran en la principal causa mundial de mortalitat. L'URLA, des de la seua creació l'any 1985, ha realitzat múltiples estudis d'investigació clínica i bàsica en el camp de l'arteriosclerosi, la diabetis, la síndrome metabòlica, les hiperlipèmies, el teixit adipós, la inflamació i l'oxidació lipídica.

La línia d'investigació en què s'ha desenvolupat esta tesi deriva del coneixement i l'experiència de l'URLA en els processos d'inflamació implicats en el desenvolupament de l'arteriosclerosi associats a una nova línia, en què s'estudien nous biomarcadors d'alteracions metabòliques i en l'experiència clínica de l'UTRS. La Secció de Pneumologia de l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus es creà fa vint anys i disposa de l'UTRS des de l'any 1999, recentment acreditada com a Unitat Respiratòria per la Sociedad Española de Neumología (SEPAR) i pel Comité de Acreditación de Medicina del Sueño. El personal de la nostra secció compta amb una amplia experiència en la interpretació d'estudis del son.

En este sentit, el nostre treball s'ha focalitzat en l'estudi de les xaperones lipídiques intracel·lulars, és a dir, l'*adipocyte fatty acid-binding protein* (A-FABP o FABP4) i l'*epidermal fatty acid-binding protein* (E-FABP o FABP5) en els pacients amb SAHS. Els valors augmentats de la FABP4 es correlacionen amb dislipèmia aterògena i insulinoresistència, i executen un paper fonamental com a predictors de la síndrome metabòlica i de l'arteriosclerosi subclínica. En la SAHS, s'observa un augment de la

proteïna dels adipòcits responsable de la unió d'àcids grassos (FABP4) que es correlaciona amb la seva gravetat i les dessaturacions nocturnes. La FABP5 és també una proteïna que s'uneix a àcids grassos de cadena llarga amb especificitat per l'epidermis amb un paper menys investigat que la FABP4 però la majoria d'estudis suggereixen un rol molt similar com a biomarcador de risc cardiovascular. L'associació entre FABP5 i SAHS és del tot desconeguda.

Estes proteïnes citoplasmàtiques han despertat un interès creixent en els darrers anys a causa de la seua identificació en el plasma i les associacions trobades amb malalties de component metabòlica, com la síndrome metabòlica, la diabetis tipus 2 i l'arteriosclerosi, que les fan unes bones candidates com a nous biomarcadors plasmàtics de la presència i l'evolució d'estes malalties. Per tant, davant de les esmentades troballes, el nostre estudi espera, d'una banda, confirmar que la FABP4 és un biomarcador precoç d'arteriosclerosi en la SAHS i, de l'altra, aportar noves dades sobre el paper de la FABP5 en la SAHS. Des d'un punt de vista científic, esta tesi també, pretén proporcionar una nova evidència clínica sobre el tractament amb pressió contínua positiva (CPAP) de la SAHS com a reductor del risc cardiovascular amb la disminució dels nivells plasmàtics d'ambdues xaperones lipídiques. Però, encara és més interessant el seu potencial com a dianes terapèutiques per prevenir o combatre el desenvolupament de les malalties cardiovasculars en pacients amb SAHS.

A més a més, el nostre treball també vol demostrar que els pacients amb SAHS presenten major grau d'arteriosclerosi subclínica mitjançant un mètode no invasiu per estratificar el risc cardiovascular d'aquests malalts com és la determinació del gruix d'íntima-mitjana carotídi (GIMc) amb ecografia. Per altra banda, esta tesi pretén aportar noves dades sobre l'eficàcia del tractament amb CPAP en quant a la reducció del risc cardiovascular en pacients amb SAHS en constatar que la pressió contínua a la via aèria produeix la regressió del GIMc en aquests pacients.

La tesi està estructurada en diferents apartats. La «Introducció» se centra bàsicament en la SAHS, la FABP4 i la FABP5. Pel que fa a la SAHS, s'ha pretès proporcionar els coneixements necessaris per entendre el curs del treball i la seva correlació amb les malalties cardiovasculars. En relació amb la part corresponent a la FABP4 i FABP5, s'ha realitzat una anàlisi detallada del coneixement que es posseeix actualment, sobretot, des del seu paper com a biomarcadors d'alteracions metabòliques i de malaltia cardiovascular. Pel que fa a la FABP4, es fa una menció especial als estudis ja publicats en pacients amb SAHS. En l'apartat «Hipòtesi i objectius» es justifica el disseny de l'estudi plantejat. Tot seguit, els «Materials i mètodes» utilitzats per dur a terme el projecte amb les exploracions i procediments diagnòstics protocol·litzats. En els laboratoris de l'URLA es treballa segons el sistema de la norma de qualitat

ISO9001 i es garanteixen així, els resultats obtinguts en esta tesi. Els «Resultats» es presenten per separat abans i després del tractament amb CPAP, juntament amb les taules i figures respectives. Aquests resultats són analitzats i contrastats en detall a la «Discussió». I, les evidències trobades es presenten a l'apartat de «Conclusions». Finalment, les «Referències» de tota la bibliografia consultada i els «Annexos».

Els resultats de la tesi s'han descrit en dos manuscrits: un d'ells acceptat per la revista Sleep i en premsa i l'altre es troba sotmès a editor en una revista científica d'àmbit internacional del primer quartil. També s'ha fet difusió als congressos de les societats científiques següents: Societat Catalana de Pneumologia (SOCAP), SEPAR, Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), European Atherosclerosis Society (EAS), European Society of Hypertension (ESH) i World Association of Sleep Medicine (WASM). La comunicació oral presentada en la XXX Diada Pneumològica del 2012 de la SOCAP sota el títol «Correlació entre la severitat de la SAHS i els nivells de FABP4, marcador de risc cardiovascular» fou premiada com la millor comunicació presentada en aquest congrés. A la XXXI Diada Pneumològica de la SOCAP del 2013, la comunicació oral titulada «Disminució del gruix íntima-mitja carotídi com a resposta al tractament amb CPAP en pacients amb SAHS» també fou guardonada amb el primer premi com la millor comunicació.

A més a més, el projecte d'esta tesi ha obtingut la Beca 2009-2010 al millor Projecte Pneumològic Tema Lliure de la SOCAP i una ajuda a la recerca amb la Beca 2009 de la SEPAR.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)

Raquel Català Pérez

Dipòsit Legal: T. 1566-2013



2. Introducció



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

2.1) SÍNDROME D'APNEES-HIPOPNEES DURANT EL SON (SAHS)

La SAHS és una malaltia que es pot definir segons el Document Nacional de Consens del 2005 ¹ com: «una entitat caracteritzada per episodis repetits d'obstrucció de la via aèria superior (VAS) durant el son que pot manifestar-se per excessiva somnolència diürna (ESD), trastorns cognitivo-conductuals, respiratoris, cardíacs, metabòlics o inflamatoris».

2.1.1) Definicions

La SAHS és una patologia crònica caracteritzada per episodis repetits d'apnea-hipopnea durant el son.² L'apnea-hipopnea durant el son consisteix en la interrupció o disminució del flux oronasal a causa de l'obstrucció completa (apnea) o parcial (hipopnea) de la VAS, amb la presència d'esforços respiratoris repetits. Aquests episodis es mesuren amb l'índex d'apnees-hipopnees (IAH). Així, un IAH > 5 associat a símptomes relacionats amb la malaltia i no explicats per altres causes, confirma el diagnòstic.¹

L'apnea és l'absència o reducció > 90% del senyal respiratòri (detectat mitjançant termistor, cànula nasal o pneumotacògraf) durant un temps mínim de 10 segons i acaba amb un brusc reinici de la ventilació. Les apnees es poden classificar com: obstructives (presència d'esforç respiratori detectat per les bandes toracoabdominals), centrals (absència d'esforç respiratori detectat per les bandes toracoabdominals) i mixtes (comença amb un component central i acaba amb un component obstructiu). Cada cicle d'apnea i represa de la ventilació, s'acompanya per la dessaturació i ressaturació arterial de l'oxihemoglobina. Les hipopnees es defineixen com una reducció discernible (> 30% i < 90%) de l'amplitud del senyal respiratòri de > 10 segons de durada o una disminució notòria del sumatori toracoabdominal que s'acompanya d'una dessaturació (>3%) i/o un microdespertar a l'electroencefalograma (EEG). Aquests cicles d'apnea-hipopnea exposen els pacients a una hipòxia intermitent durant la nit.

Segons l'Acadèmia Americana dels Trastorns del Son (AASM), ³ la SAHS es pot definir com un IAH o índex d'alteració respiratòria (IAR) (són termes superposats) superior a 5 associat a un dels símptomes següents:

- a) ESD no explicada per altres causes

- b) 2 o més dels casos següents:
- b1. Asfíxies repetides durant el son
 - b2. Despertars recurrents durant el son
 - b3. Percepció del son com a no reparador
 - b4. Cansament i/o fatiga durant el dia
 - b5. Dificultats de concentració

2.1.2) Epidemiologia

La SAHS és una malaltia molt prevalent, doncs afecta el 4-6% dels homes i el 2-4% de les dones entre la població general adulta d'edat mitjana. Aquesta prevalença augmenta amb l'edat,⁴ de manera que arriba a triplicar-se en els ancians. S'estima que a Espanya entre un i dos milions d'individus són portadors d'una SAHS, però solament s'arriben a diagnosticar i tractar menys del 10% d'esta població. A l'Estat espanyol, entre el 3-6% de la població pateix una SAHS simptomàtica i entre el 24-26% té un IAH > 54.

La SAHS és un factor de risc de malaltia cardiovascular i cerebrovascular, s'associa a deteriorament de la qualitat de vida i és causa d'accidents de trànsit; a més a més, es relaciona amb un increment de la mortalitat.⁵⁻⁷ Tot això fa que sigui un problema de salut pública de primera magnitud, ja que està demostrat que els pacients no diagnosticats dupliquen el consum de recursos sanitaris respecte als diagnosticats i tractats.^{8,9}

Els factors de risc que predisposen a la SAHS són:

- a) **Sexe masculí.** La SAHS és entre 2 i 3 vegades més freqüent en homes que en dones, però amb tendència a igualar-se després de la menopausa.⁴
- b) **Obesitat.** Un alt percentatge de pacients SAHS són obesos i la reducció de pes en aquestos malalts es tradueix en una millora de la SAHS que pot arribar a remetre.
- c) **Alcohol.** El seu consum agreuja la SAHS que hi ha per depressió de l'activitat de la musculatura dilatadora faríngia i condiona que les apnees siguin de més durada i amb dessaturacions més severes.

- d) **Tabac.** Els fumadors tenen major risc de desenvolupar una SAHS a causa de la relació amb fenòmens d'irritació i inflamació de les VAS, ja que tendeix a augmentar la seua resistència.
- e) **Fàrmacs.** Les benzodiazepines disminueixen la resposta ventilatòria a la hipòxia i a la hipercàpnia durant el son i la vigília.
- f) **Posició corporal.** La posició de decúbit supí agreuja la SAHS i alguns pacients sols presenten SAHS quan adopten esta posició. La SAHS posicional es defineix quan l'IAH en decúbit supí dobla a l' obtinguda amb la resta de posicions.
- g) **Altres factors:** genètics, familiars i racials.

Per tant, el perfil típic del pacient SAHS és: home de mitjana edat, obès amb coll curt i gros, roncadors i amb ESD. Però en menor percentatge, la SAHS també pot presentar-se en pacients no obesos i, fins i tot, en joves. Els factors predisposants per desenvolupar la SAHS són:

- a) Malformacions maxil·lofacials:
 - Micrognàtia
 - Retrognàtia
 - Síndrome de Prader-Willi
- b) Trastorns mèdics generals:
 - Hipotiroïdisme
 - Cifoscoliosi
 - Acromegàlia
- c) Obstrucció de les VAS:
 - Cavitat nasal: dismorfies i luxacions septals, hipertròfia de cornets, rinitis, pòlips, tumors
 - Nasofaringi: adenoides
 - Orofaringi: amígdals i/o úvules hipertròfiques
 - Hipofaringi: base de llengua hipertròfica
 - Laringe: edema de les cordes vocals

2.1.3) Etiopatogènia

Els mecanismes etiopatogènics de la SAHS no són del tot coneguts i suggereixen un origen multifactorial.^{10,11} La gènesi de les apnees obstructives és deguda a la interacció de factors anatòmics i funcionals. Els factors anatòmics com l'obesitat, el coll curt i gros, les anomalies craniofacials o la hipertròfia amigdal·lar provoquen una reducció de la llum de les VAS, que la fan col·lapsable i que pot arribar al tancament complet. Els factors funcionals consisteixen en l'alteració dels mecanismes responsables de mantindre les VAS obertes. El defecte en aquestos produeix apnees obstructives, ja que la pressió subatmosfèrica resultant de la contracció dels músculs ventilatoris col·lapsa la faringe en no actuar correctament els mecanismes que la mantenen oberta durant el son (figura 1). Com a conseqüència de l'obstrucció faríngia, es generen esforços inspiratoris que mantenen el tancament de les VAS, fins que es produeix un microdespertar transitori, s'activen de nou els músculs de les VAS i es produeix el final de l'apnea. El microdespertar transitori és el responsable de la fragmentació del son; és a dir, de la somnolència, el cansament i la sensació de son no reparador.

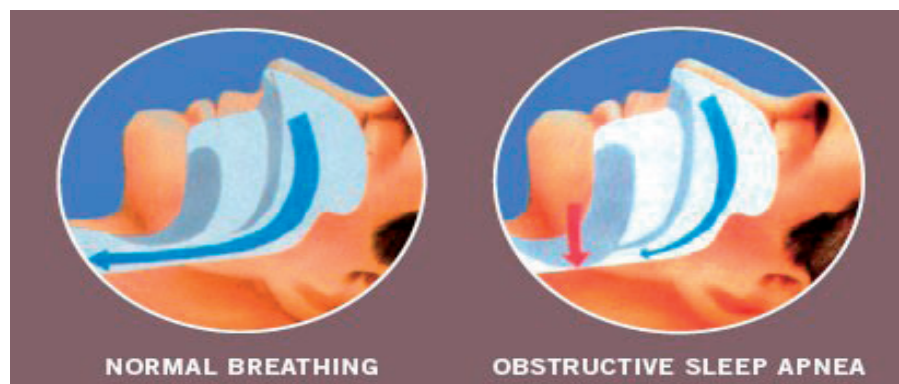


Figura 1. Imatge d'una respiració normal (on els músculs de les VAS estan relaxats) i una respiració patològica (els músculs del voltant de la llengua i úvula es relaxen excessivament, i bloquegen les VAS).

Per tant, quan el balanç entre les forces que mantenen obertes les VAS i les que tendeixen a col·lapsar-les es decanta cap a estes últimes, es produeixen les apnees obstructives. La seqüència de fenòmens que es repeteix durant la nit: son, apnea,

canvis gasomètrics, microdespertar transitori i fi de l'apnea originen una sèrie de canvis fisiopatològics responsables de les principals manifestacions clíniques de la malaltia.

2.1.4) Clínica i exploració física

La tríada clínica principal de la SAHS és:¹²

- a) **Roncopatía crònica:** és el símptoma amb major sensibilitat, la seua absència fa poc probable el diagnòstic de SAHS. Cal destacar que la majoria de roncadors no tenen SAHS, ja que a la població general està estimat que el 40% dels homes i el 20% de les dones ronquen.
- b) **Apnees observades:** és el símptoma amb major especificitat, que augmenta si estes són presenciades de manera continuada durant la mateixa nit i si són perllongades.
- c) **Hipersòmnia diürna o ESD:** símptoma poc específic i sensible, però que marca la intensitat clínica de la SAHS. La seua presència no explicada per altres circumstàncies és suficient per a la realització d'un estudi de son, fins i tot, davant l'absència d'altres símptomes associats. És fonamental fer el diagnòstic diferencial de la hipersòmnia (taula 1). La medicació de l'ESD pot realitzar-se mitjançant mètodes subjectius o objectius. El mètode subjectiu més utilitzat és el test d'Epworth.^{13,14} La presència d'una puntuació superior o igual a 12 punts (sobre 24) indica hipersòmnia patològica (annex 1). Els mètodes objectius són: test de latències múltiples del son, test de manteniment de la vigília, test d'Osler i el test de vigilància motriu.

Taula 1. Diagnòstic diferencial de la hipersòmnia.

Trastorns de la conducta	Mala higiene del son, síndrome d'insuficiència del son, altres
Malalties psiquiàtriques	Psicosis, trastorns de l'estat d'ànim, altres
Factors ambientals	Toxines, trastorns del son ambiental, altres
Drogodependències	Alcoholisme, hipnòtics, altres
Alteracions respiratòries del son	SAHS, síndrome d'apnea central del son, síndrome d'hipoventilació alveolar, taquipnea neurogènica del son, altres
Moviments anormals	Síndrome de moviments periòdics de les cames, altres
Alteracions vigília - son	<i>Jet lag</i> , treball a torns, grans dormilecs, síndrome de retard de fase, síndrome d'avanç de fase, horaris no circadians, patró vigília-son irregular, altres
Altres alteracions del SNC	Narcolèpsia, hipersòmnia idiopàtica, hipersòmnia recurrent, síndrome de subvigília, mioclonus fragmentari, parkinsonisme, demència, malaltia del son, altres
Altres causes	Menstruació, embaràs, altres

Taula 2. Síntomes més freqüents. Anamnesi i exploració física de la SAHS.

Síntomes més freqüents	Anamnesi i exploració física
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ronc estrepitós ▪ Apnees visualitzades ▪ Excessiva somnolència diürna ▪ Son no reparador ▪ Episodis asfíctics nocturns ▪ Despertars freqüents ▪ Cefalea matutina ▪ Nictúria ▪ Sequedat orofaríngia 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Antecedents d'interès (sobretot, cardiopulmonars) ▪ Clínica relacionada amb la SAHS ▪ Test d'Epworth ▪ Hàbits de son (horari, migdiada, higiene) ▪ Variables antropomètriques (IMC, perímetre de coll i cintura) ▪ Distància hioides-mandíbula ▪ Exploració ORL (obstrucció nasal, hipertròfia amigdal·lar o úvula, paladar tou llarg, grau de Mallapanti, examen del maxil·lar i mandíbula) ▪ Auscultació cardiopulmonar ▪ Presa de tensió arterial

En la taula 2, apareixen els símptomes i signes més freqüents de la SAHS, així com l'anamnesi i l'exploració física. És fonamental ser exhaustiu, ja que ens permet classificar els pacients en alta, mitjana o baixa probabilitat clínica pretest, que és imprescindible per valorar el mètode diagnòstic a utilitzar. Altres símptomes que s'observen són: diaforesi, malsons, somnolència, son neguitós, insomni, reflux gastroesofàgic, enuresi, disminució de la líbido, canvis de personalitat, pèrdua de memòria, dificultat de concentració, disminució del rendiment professional i dels estudis, apatia, irritabilitat, nàusees matutines, símptomes depressius, cansament crònic, moviments anormals, caigudes freqüents, esdeveniments cardiovasculars, poliglobúlia i crisis epilèptiques.

2.1.5) Diagnòstic

El diagnòstic definitiu de la SAHS s'estableix a la nit mitjançant el mètode de referència que és la polisomnografia (PSG) vigilada per un tècnic en el Laboratori del Son.^{1,15} Consisteix en el registre continu de:

- Variables neurofisiològiques: fonamentals per estadificar el son
 - EEG: registre de l'activitat elèctrica cerebral. La col·locació dels elèctrodes es realitza seguint el sistema internacional 10-20, que pren com a referència 4 punts: nàson, ínió, i conductes auditius dret i esquerre (figura 2).

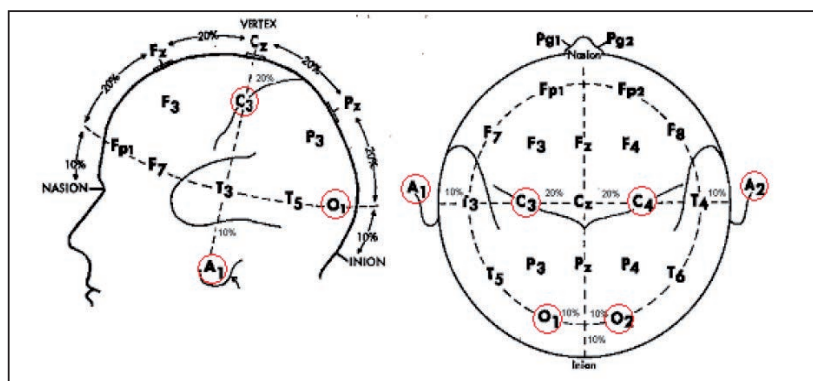


Figura 2. Sistema internacional 10-20.

- Electromiograma (EMG): registre de l'activitat muscular mentoniana i tibial
- Electrooculograma (EOG): registre dels moviments oculars

- Variables cardiorespiratòries
 - Electrocardiograma (ECG): registre del ritme cardíac
 - Banda toràcica i abdominal: registre de moviments respiratoris toràcics i abdominals
 - Flux aeri oro-nasal: identifica la presència d'apnees i hipopnees. Utilitza dos tipus de sensors: termistor i cànula

- Altres
 - Posició corporal: important en el cas de la SAHS posicional
 - Micròfon: informa de la intensitat i freqüència del ronc
 - Gravació audiovisual
 - Opcional: actimetria, pressió esofàgica, monitorització de CO₂, EMG diafragmàtic.

És necessari un registre superior a 6,5 hores i, almenys, amb 3 hores de son (figura 3).

La PSG és una tècnica cara i tècnicament complexa; i actualment, no està a l'abast de tots els centres hospitalaris i davant l'alta demanda d'exploracions no es pot utilitzar en tots els pacients. Per afrontar estes dificultats en el diagnòstic de la SAHS, s'han desenvolupat sistemes de poligrafia simplificats que solament analitzen variables respiratòries (poligrafies respiratòries) que es poden fer servir tant en el domicili com en el Laboratori del Son.

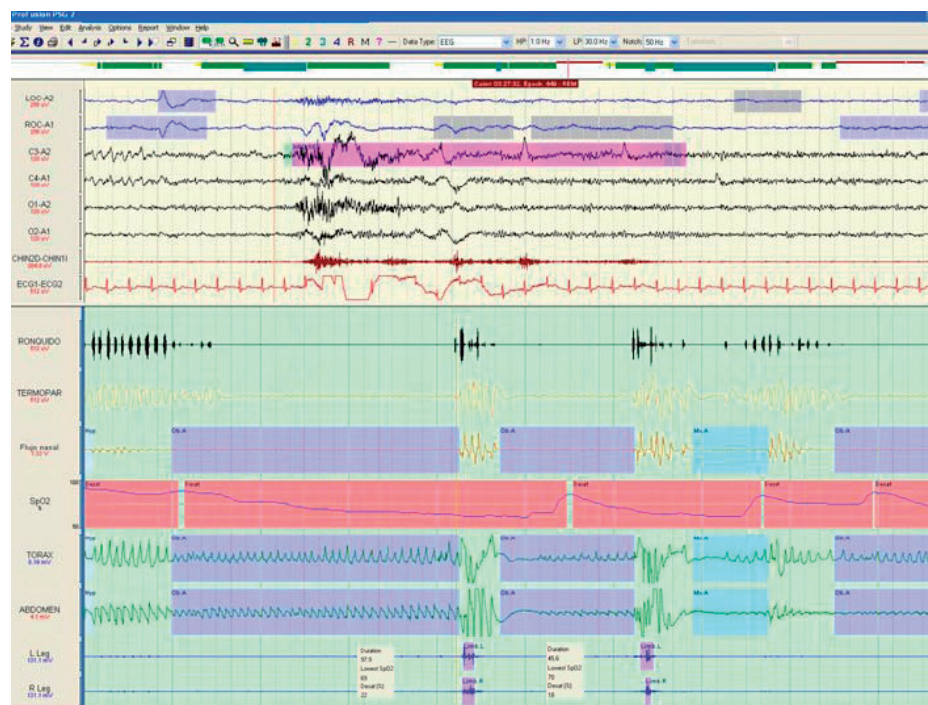


Figura 3. Exemple d'un registre polisomnogràfic.

La poligrafia respiratòria (PR) és un mètode acceptable per confirmar el diagnòstic dels pacients amb sospita clínica alta o moderada de SAHS, ja que permet reduir els costos i el temps d'espera i fer accessible el diagnòstic de la SAHS en els centres que no disposen de PSG convencional. Els inconvenients que presenta este mètode són: no pot avaluar la qualitat del son, s'infravaloren els trastorns respiratoris (s'expressen per hores de registre en lloc de per hores de son) i no permet avaluar altres trastorns no respiratoris del son. Si hi ha sospita clínica de SAHS i la PR és negativa o tècnicament deficient, està indicat fer una PSG.

L' AASM ha classificat els estudis del son en quatre tipus.¹⁷ El tipus 1 és la PSG convencional vigilada per un tècnic en un laboratori de son (mínim de 7 canals); el tipus 2 és la PSG realitzada amb un equip portàtil i no vigilada per un tècnic; el tipus 3 correspon a la PR i el tipus 4 correspon a estudis molt simplificats amb aparells de 1 o 2 canals (oximetria i/o respiració). L'oximetria és la tècnica que analitza la saturació arterial d'oxigen (SaO_2) de manera contínua i permet prioritzar els pacients.

La SAHS es defineix com un IAH de 5 o més per hora amb símptomes associats i la seua gravetat es classifica de la manera següent :¹⁸

- Lleu: IAH superior o igual a 5 i inferior a 15
- Moderada : IAH igual o superior a 15 i inferior a 30
- Severa: IAH igual o superior a 30

2.1.6) Tractament

Els objectius del tractament són el control de símptomes i minimitzar el risc cardiovascular i d'accidentalitat. Els dos pilars bàsics són les mesures higienico-dietètiques del son i la pressió contínua positiva (CPAP) a la VAS.

Les opcions terapèutiques són:

- Mesures higièniques del son:** permeten millorar la simptomatologia. Aconseguir una bona higiene del son és molt important, ja que la causa més freqüent de somnolència excessiva és el mal hàbit de son per insuficiència o irregularitat. Abstinència d'alcohol i de benzodiazepines i evitar el decúbit supí. Incorporar el capçal 30° pot ser útil.
- Dieta:** la pèrdua de pes en els pacients obesos pot ser curativa. Reduccions del 10% del pes poden disminuir l'IAH i millorar la simptomatologia. En els malalts amb obesitat mòrbida (IMC >40) es pot valorar la cirurgia bariàtrica.
- Altres tractaments conservadors:**
 - Tractar medicament de l'obstrucció nasal amb corticoides orals pot millorar la SAHS i la tolerància a la CPAP.
 - Corregir l'hipotiroïdisme: s'observa una reducció de l'IAH després del tractament substitutiu.
- CPAP nasal:** és el tractament d'elecció de la SAHS.¹⁹ Corregeix els fenòmens obstructius, el ronc, les dessaturacions nocturnes i els microdespertars secundaris a esdeveniments respiratoris, l'arquitectura del son, la capacitat d'atenció, redueix el risc d'accidents de trànsit i normalitza les xifres tensionals en un alt percentatge de pacients hipertensos. El benefici de la CPAP es produeix en pacients amb simptomatologia i IAH \geq 30. Segons el Consens Nacional de SAHS,¹ la CPAP està indicada en pacients amb IAH \geq 30 i IAH \geq 15 amb patologia cardiovascular associada i/o hipersòmnia diürna. Per ajustar la pressió òptima, es poden utilitzar diverses

tècniques: mitjançant PSG completa que assegura la correcció dels esdeveniments respiratoris i un sistema d'auto-CPAP validat i amb anàlisi visual²⁰. Els efectes secundaris apareixen la primera setmana de tractament i els més freqüents són: congestió nasal, irritació cutània, sequedat faríngia (millora amb la introducció d'un humidificador tèrmic), soroll, conjuntivitis, epistaxi, insomni i aerofàgia. L'única contraindicació és la fistula de líquid cefaloraquídi. La CPAP no és un tractament curatiu i obliga a que la seua aplicació sigui continuada. L'acceptació del tractament és superior a un 70% amb un compliment superior a les 5 hores per nit quan es realitza un seguiment intensiu.²¹ Es considera un bon compliment quan un pacient utilitza la CPAP més de 4 hores al dia. Es recomanen revisions al primer mes, cada tres mesos durant el primer any, cada sis mesos el segon any i després de manera anual. En el cas d'augment o disminució de pes significatius (10%) o reaparició de simptomatologia relacionada amb la SAHS, està indicat un nou estudi de titulació de CPAP.

- e) **Sistemes bipressió:** alguns pacients que no toleren la CPAP es poden beneficiar dels aparells de segona generació com la pressió positiva contínua a dos nivells (BiPAP) en les VAS, que permet ajustar independentment la pressió inspiratòria i espiratòria. El seu ús és molt controvertit i els estudis fets fins ara no han demostrat clars avantatges sobre la CPAP.
- f) **Dispositius d'avanç mandibular (DAM):** produeixen el desplaçament de la mandíbula cap endavant per augmentar l'espai retrofaringi i evitar la caiguda de la mandíbula i la llengua cap endarrere. Estan indicats en el tractament del ronc, de la SAHS lleu i moderada amb baix IMC i dessaturacions no importants i en la síndrome de resistència augmentada de les VAS que no toleren CPAP.
- g) **Tractaments quirúrgics:**
- Cirurgia nasal: en casos d'intolerància a la CPAP nasal.
 - Cirurgia palatofaríngia: amb tècnica quirúrgica convencional, làser o radiofreqüència. És útil per al ronc en un 80-90% dels casos i en un 40-50% pel que fa a la resolució de les apnees.
 - Cirurgia reductora de la base de la llengua: taxes d'èxit del 40% en els pacients amb SAHS lleu i moderada.

- Cirurgia multi nivell o en fases d'Stanford (maxil·lomandibular) : no té una alta taxa d'èxits i es recomana en els pacients que no toleren la CPAP nasal o bé la rebutgen d'entrada.
- Traqueotomia: molt excepcional.

2.1.7) Mecanismes fisiopatològics

Durant la SAHS, es produeixen canvis patològics tant al sistema respiratori com al circulatori. Els canvis són: graus variables d'hipoxèmia / hipercàpnia, reducció de la pressió intratoràcica i activació simpàtica i cortical (figura 4). Aquests esdeveniments indueixen mecanismes intermediaris que afavoreixen malalties cardiovasculars, metabòliques i mort sobtada.

Les apnees - hipopnees, mitjançant els esforços musculars realitzats o com a conseqüència dels episodis d'hipòxia - normòxia, produeixen un augment d'oxidases i una disfunció mitocondrial que impulsa un augment de radicals lliures i altres mediadors. Aquests, activen els factors de transcripció redox sensibles, que indueixen l'expressió gènica de mediadors inflamatoris i l'activació de cèl·lules endotelials, que contribueix a l'augment d'adhesió entre estes i els leucòcits, s'incrementa l'angiogènesi, i com a conseqüència final donen lloc a la lesió vascular i al desenvolupament de la patologia cardiovascular.²²

Els principals mecanismes proposats per induir la lesió vascular de la SAHS són:

- Activació simpàtica
- Estrès oxidatiu
- Inflamació sistèmica
- Disfunció endotelial
- Angiogènesi i aterogènesi

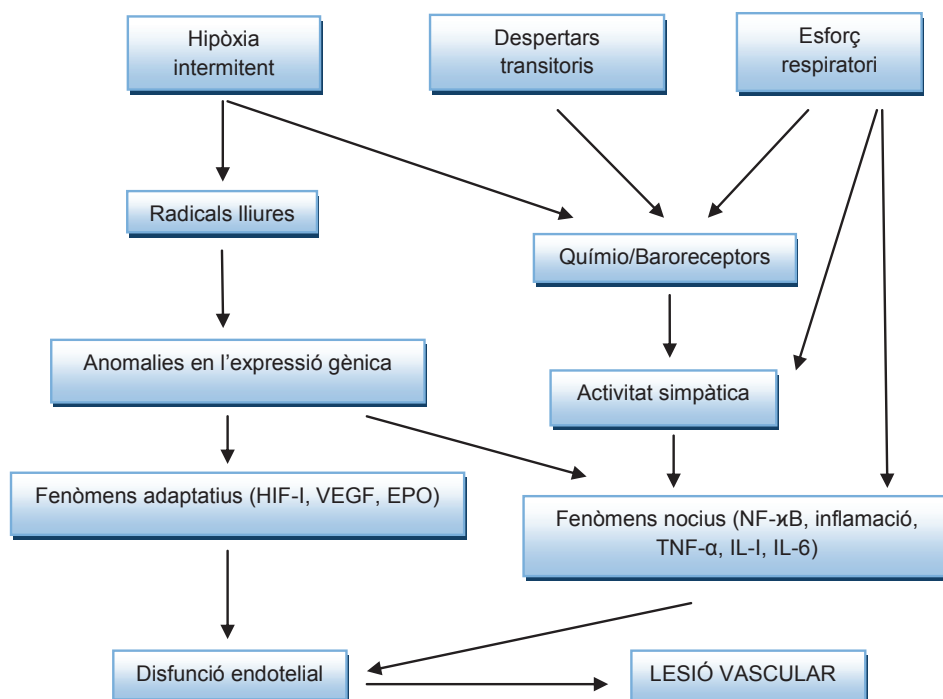


Figura 4. Principals mecanismes fisiopatològics de la SAHS.

2.1.7.1) Activació simpàtica

La hipòxia intermitent estimula l'activitat quimiorreceptora, incrementant l'activitat del sistema nerviós simpàtic, que condueix a la vasoconstricció i, potencialment, a la hipertensió sistèmica.

Els estudis realitzats en la SAHS han demostrat que l'activitat del sistema nerviós simpàtic roman elevada després de l'eliminació de la hipòxia i es postula que la hipòxia intermitent desnivella l'activitat simpàtica i augmenta la resposta a les subsegüents hipòxies.^{23,24} L'elevada activitat del sistema nerviós simpàtic regula la producció d'angiotensina II per estimulació de la producció de renina en el ronyó i, també, desenvolupa l'activació del múscul llis vascular i a la seua vasoconstricció. Tots dos mecanismes tenen com a conseqüència l'augment de la pressió sistèmica.²⁵

S'ha observat que en els pacients amb SAHS, l'angiotensina II està augmentada i desenvolupa una resposta constrictora que probablement sigui responsable de la hipertensió secundària observada en aproximadament el 50% dels malalts amb SAHS.²⁶ Moller i col·laboradors han observat que els pacients amb SAHS mostren valors alts de la pressió sanguínia tant diürns com nocturns, i elevats nivells

plasmàtics d'angiotensina II i aldosterona, que disminueixen amb la teràpia amb CPAP.²⁷

Un altre possible mecanisme que dona lloc a l'alteració de la funció vasoconstrictora és l'endotelina I (ET-I). Es tracta d'un neuropèptid vasoconstrictor que es produeix per l'enzim conversor de l'endotelina des del pèptid precursor. Diferents estudis han demostrat que en pacients SAHS, l'ET-I no està elevada en plasma, mentre que sí que ho està el pèptid precursor, els nivells del qual son reduïts pel tractament amb CPAP.²⁸

A més a més, els pacients amb SAHS presenten un augment dels nivells plasmàtics de catecolamines i tenen una resposta vascular α i β -adrenèrgica reduïda.^{29,30}

2.1.7.2) Estrès oxidatiu induït per radicals lliures

L'estrès oxidatiu es pot produir com a conseqüència d'un increment de l'exposició a oxidants o del descens de la protecció contra aquests oxidants o bé ambdós problemes alhora. De fet, es defineix l'estrès oxidatiu com un desequilibri entre la producció de radicals lliures d'oxigen (RLO) i la protecció antioxidant.

Les apnees recurrents indueixen hipòxia i normòxia repetides durant el son, fet que produeix una gran quantitat d'RLO.²² L'estrès oxidatiu que comporta un procés d'hipòxia - normòxia és la conseqüència del desequilibri entre l'augment de la producció d'RLO i la ineficàcia dels sistemes antioxidants per neutralitzar-los. Els RLO donen lloc al desenvolupament de l'estrès oxidatiu, el qual regula l'oxidació de lipoproteïnes de baixa densitat (LDL), la pèrdua de viabilitat de l'òxid nítric i la resposta inflamatòria vascular,²² la qual cosa comporta una disfunció endotelial.

El nombre de marcadors d'estrès oxidatiu i els seus nivells es relacionen amb la severitat de la SAHS.³¹ Així, un estudi realitzat en pacients amb SAHS ha observat augments en l'oxidació d'LDL i peroxidació lipídica, comparant amb subjectes de control i que el tractament amb CPAP suprimeix els canvis en l'estat redox associats amb la SAHS.³¹

La hipòxia intermitent dona lloc a l'activació de factors de transcripció redox-sensibles implicats en la SAHS com el factor nuclear kappa B (NF- κ B) i el factor induïble d'hipòxia (HIF-1), que són un mecanisme indirecte d'inducció de dany vascular per part dels RLO.³²

2.1.7.3) Inflamació sistèmica

Els episodis repetitius de desoxigenació i reoxigenació indueixen la producció excessiva d'RLO, citocines proinflamatòries, cèl·lules inflamatòries circulants, proteïna C reactiva (PCR) i mol·lècules d'adhesió endotelial. Estos canvis promouen la lesió endotelial generalitzada i afavoreixen el desenvolupament d'arteriosclerosi.³³

Els estudis de la inflamació sistèmica s'han centrat en l'anàlisi de:

- Proteïnes reactants de fase aguda
- Citocines
- Mol·lècules d'adhesió solubles
- Factors de transcripció

a) Proteïnes reactants de fase aguda:

La *PCR* és una proteïna de fase aguda sintetitzada pel fetge, que augmenta en situacions d'inflamació o d'infecció aguda la seua concentració plasmàtica fins a 1.000 voltes per damunt del seu valor basal. Les concentracions sèriques de la PCR es relacionen amb factors vinculats al risc cardiovascular (tabaquisme, edat, índex de massa corporal, hipertensió arterial, colesterolèmia, homocisteïnèmia).³⁴ L'estudi realitzat per Yokoe i col·laboradors, ha observat que en els pacients SAHS, els nivells de PCR estan augmentats i disminueixen amb la CPAP.³⁵ Posteriorment, un estudi clínic ha detectat que les concentracions de PCR estaven significativament més augmentades respecte al grup de control solament en els pacients SAHS obesos.³⁶ Aquests resultats indiquen que l'obesitat pot ser el principal factor desencadenant de la resposta inflamatòria i que és potenciada per la hipòxia intermitent característica dels pacients SAHS.

b) Citocines:

Són un grup de pèptids de baix pes mol·lecular, solubles, glicosilades i produïdes per les cèl·lules del sistema hematopoètic. Les podem classificar en: interleucines (IL), interferons (IFN), factors de necrosi tumoral (TNF), factors d'estimulació de colònies (CSF), proteïnes inflamatòries de

macròfags (MIP) i factors de creixement (GF). En el sistema nerviós central, les citocines actuen modulant processos que són importants per a la SAHS com la son, la gana, el control ventilatori i la termoregulació. En un procés d'hipòxia, es troben implicades citocines proinflamàtiques com la TNF- α i la IL-1, que indueixen la síntesi de la quimiocina IL-8 i regulen l'expressió de mol·lècules d'adhesió que promouen interaccions entre leucòcits i cèl·lules endotelials, fet que produeix un augment en l'alliberació de citocines.³⁷ Alguns estudis han demostrat que l'alteració del patró circadià normal en la secreció d'algunes citocines amb la seua excessiva producció durant el dia, pot ser un mecanisme important en el desenvolupament de la somnolència diürna i de la fatiga crònica que presenten els pacients SAHS.³⁸ Diverses investigacions han observat una associació entre l'índex de massa corporal (IMC) i els nivells circulants de TNF- α i IL-6, que també s'observa en la SAHS, i han postulat un efecte independent de l'obesitat en la secreció d'estes citocines en estos malalts.³⁹ Els estudis experimentals de Krueger i col·laboradors,⁴⁰ realitzats en conills, han observat que els efectes de la IL-1 sobre la son són dosiddependents i que produeix un augment del son profund.

c) Mol·lècules d'adhesió solubles:

La resposta inflamatòria es caracteritza, en primer lloc, per una dilatació dels vasos per incrementar el flux sanguini. En segon lloc, es produeixen una sèrie de canvis estructurals a la vasculatura que acaben amb la migració dels leucòcits a través de l'endoteli. Els leucòcits circulants són reclutats a les àrees d'inflamació per un procés que requereix la interacció leucòcit - endoteli a través de les mol·lècules d'adhesió. La fase inicial està regulada per les selectines.⁴¹ L'adherència dels neutròfils a la superfície endotelial està regulada per la interacció entre mol·lècules de la superfamília de les immunoglobulines expressades en la superfície de l'endoteli i les integrines β_2 als neutròfils. La superfamília de les immunoglobulines inclou moltes mol·lècules i cal destacar-ne quatre que s'expressen en la superfície de les cèl·lules endotelials i que participen en

l'adhesió dels neutròfils com: les mol·lècules d'adhesió intracel·lular (ICAM-1 i ICAM-2), la mol·lècula d'adhesió plaqueta - cèl·lula endotelial (PECAM-1) i la mol·lècula d'adhesió a cèl·lula vascular (VCAM). En els pacients SAHS, s'ha observat una acumulació de neutròfils en la VAS i un augment dels nivells plasmàtics de selectines i de TNF- α , que estan relacionats amb les citocines i els RLO.⁴² L'acumulació de neutròfils que té lloc al teixit com a conseqüència de l'hipòxia intermitent està condicionada per una sèrie de canvis cel·lulars que alteren les característiques d'adherència dels neutròfils. Entre estos canvis s'inclouen la producció de citocines (IL-1, TNF- α) per part de les cèl·lules i l'augment de l'expressió de mol·lècules d'adhesió, en l'endoteli, com la ICAM-1.⁴³ Durant la hipòxia, es produeixen alteracions a l'intercanvi iònic cel·lular, cosa que comporta edema a l'endoteli. La lesió endotelial està produïda per una disminució en la producció d'òxid nítric (NO), que és un potent vasodilatador, fet que condiciona la contracció de les cèl·lules endotelials. A més, també s'ha observat un desequilibri entre la producció de NO i del O₂ en l'endoteli. En condicions normals, la producció de NO és suficient per contrarestar la producció d'O₂, cosa que permet que el NO actue de segrestador d'RLO i minimitze les interaccions d'adhesió entre els neutròfils i la superfície de les cèl·lules endotelials.⁴⁴

d) Factors de transcripció

L'NF- κ B és un factor de transcripció que regula l'expressió de diferents gens implicats en la resposta inflamatòria, incloent citocines, quimiocines, factors de creixement, mol·lècules d'adhesió i algunes proteïnes. L'NF- κ B juga un paper molt important en les respostes cel·lulars a diferents tipus d'agressions com, per exemple, davant dels RLO.⁴⁵ Estudis clínics han demostrat que els pacients SAHS presenten nivells plasmàtics elevats de mediadors inflamatoris, incloent citocines (TNF- α , IL-6, IL-8) i mol·lècules d'adhesió (ICAM-1, VCAM-1, selectines). El fet que la SAHS estigui associada a una resposta inflamatòria, en la qual molts mediadors regulats per NF- κ B estan alterats, fa pensar que l'activació d'este factor nuclear

pugui ser un dels mecanismes més importants en la patogènia d'esta malaltia.⁴⁶ Per tant, l'activació del NF- κ B té un paper fonamental tant en la inflamació sistèmica com en el desenvolupament de les malalties cardiovasculars associades a la SAHS.

L'HIF-1 és un factor de transcripció que activa gens de proteïnes que modulen la resposta adaptativa a la reducció en la biodisponibilitat d'oxigen. Participa en el metabolisme de la glucosa i energètic, angiogènesi, reactivitat vascular i remodelació, proliferació i en la supervivència cel·lular. Els productes proteics identificats dels gens diana de l'HIF-1 inclouen: el factor de creixement de l'endoteli vascular (VEGF), el pèptid natriurètic atrial, l'ET-1, enzims glicolítics, la eritropoetina i la NO sintasa induïble.⁴⁷ L'HIF-1 s'inactiva amb l'augment de les concentracions intracel·lulars d'RLO. La hipòxia indueix l'activació de l'expressió gènica d'HIF-1. Actualment cap estudi clínic ha demostrat l'activació directa de l'HIF-1 en pacients amb SAHS. Però sí que s'ha observat en els pacients SAHS un augment dels nivells plasmàtics del VEGF, així com del pèptid natriurètic atrial, de l'eritropoetina i del precursor de l'ET-1.⁴⁸

2.1.7.4) Disfunció endotelial

La SAHS pot desencadenar en una patologia vascular a causa de la disfunció endotelial, mitjançant diferents vies com la hipoxèmia, la producció d'RLO i l'activació simpàtica. La disfunció endotelial dona lloc a vasoconstricció, proliferació de múscul llis vascular, hipercoagulabilitat, trombosis i esdeveniments cardiovasculars.⁴⁹ A més a més, la SAHS també s'associa a obesitat, hipertensió i desregulació metabòlica, que pot contribuir als efectes adversos a l'endoteli.

El dany endotelial es produeix per una alteració dels factors endotelials que són responsables del manteniment del to vascular, l'homeòstasis i la prevenció de la proliferació de cèl·lules anormals, incrementant la coagulació, alterant el trànsit de leucòcits i l'exposició d'estructures subendotelials a diversos factors de creixement de la sang. La vasoconstricció resultant, la proliferació del múscul llis vascular i la hipercoagulabilitat poden desencadenar conseqüències cardiovasculars adverses

associades a la SAHS com la hipertensió, la lesió arteriocoronària i el dany cerebrovascular.⁵⁰ En pacients SAHS, el tractament amb CPAP ha demostrat una millora en la funció endotelial.⁵¹ Investigacions recents,⁴³ realitzades en pacients amb SAHS han demostrat un augment dels nivells circulants de cèl·lules endotelials en estos pacients comparant amb controls i també han observat una correlació entre el nivell de cèl·lules endotelials circulants i una vasodilatació anormal.

L'endoteli és una font de mediadors vasoactius. Un balanç entre estos mediadors, incloent factors vasoconstrictors com el sistema renina-angiotensina-aldosterona, ET-1 i tromboxano A_2 (TxA_2) i factors vasodilatadors com el NO i la prostaciclina (PGI_2) modula el to vascular normal, l'homeòstasi i la reparació i el creixement del dany vascular.⁵² Una alteració en este balanç pot canviar l'entorn vascular, i l'arquitectura i les propietats tensils de la vasculatura, promovent vasoconstricció i impeding la vasodilatació endotelial.

El TxA_2 és un potent agent vasoconstrictor i trombogènic. La seua vida mitjana en mitjans aquosos és de trenta segons i es transforma de la forma no enzimàtica al metabòlit tromboxano B_2 (TxB_2). El TxB_2 és un mitogen de les cèl·lules de múscul llis i un inductor de l'agregació plaquetària. En pacients SAHS s'ha observat un augment dels nivells de TxB_2 , que es van restablir mitjançant el tractament amb CPAP. A més a més, esta substància vasoactiva pot jugar un paper fonamental en el desenvolupament de la hipertensió i altres malalties cardiovasculars associades a la SAHS.⁵³

La PGI_2 té una potent activitat vasodilatadora, antiagregant plaquetària i relaxant de la musculatura llisa. La seua vida mitjana és molt curta, 3 minuts en mitjans aquosos i es transforma en 6-keto-prostaglandina $F_{1\alpha}$, el metabòlit estable. És sintetitzada mitjançant la ciclooxigenasa per la via de l'àcid araquidònic de l'endoteli vascular. La PGI_2 protegeix contra la vasoconstricció i la remodelació tissular en resposta a diversos estímuls. En els pacients amb SAHS, els diferents estudis han observat una disminució dels nivells de PGI_2 , fet que pot explicar la vasoconstricció pulmonar, la proliferació de les cèl·lules de múscul llis i una major coagulació en estos malalts.⁵⁴

2.1.7.5) Angiogènesi i aterogènesi

La SAHS i l'angiogènesi tenen en comú l'estrès oxidatiu i la inflamació implicats en la disfunció endotelial que finalment desemboca en malalties cardiovasculars.

L'aterosclerosi és un dany progressiu caracteritzat per l'acumulació de lípids i elements fibrosos en les artèries llargues. A causa de les diferències en el flux dinàmic de la sang, hi ha àrees en la vasculatura més propenses a la formació de la lesió com

són les ramificacions o les zones de bifurcació.⁵⁵ Els processos que caracteritzen la formació de l'aterosclerosi són tres:

- Prolifерació de cèl·lules del múscul llis, macròfags i limfòcits T.
- Formació per part de les cèl·lules del múscul llis del teixit connectiu en la matriu, que inclou fibres elàstiques, col·lagen i proteoglicans.
- Acumulació de lípids i colesterol lliure i esterificat en la matriu, i cèl·lules associades.

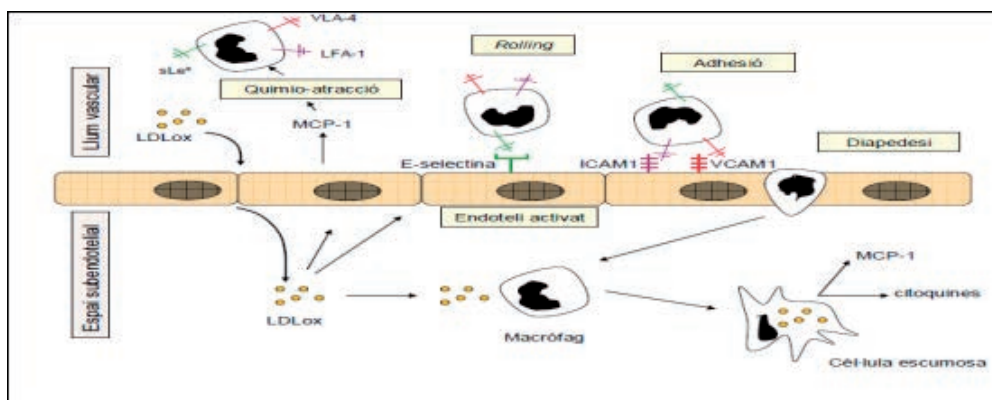


Figura 5. Esquema del procés arterioscleròtic.

En l'aterosclerosi, la inflamació participa des de l'inici de la lesió fins a les complicacions trombòtiques, participant-hi també en la progressió de la placa.⁵⁶ Una vegada els monòcits estan adherits a l'endoteli vascular, penetren la línia endotelial i entren en la capa íntima de la paret del vas per diapedesi entre les cèl·lules endotelials. Este procés requereix d'un gradient quimioattractiu com la proteïna quimioattractiva de monòcits (MCP-1) o les LDL modificades (LDL-ox). En la iniciació de l'aterosclerosi tant l'NF- κ B com l'HIF-1 juguen un paper molt important. L'NF- κ B regula la transcripció d'enzims que modificaran les LDL i l'expressió de l'MCP-1. Les LDL modificades activaran el factor de transcripció HIF-1.⁵⁷ En la capa íntima dels vasos, els monòcits maduren a macròfags, els quals augmenten l'expressió de receptors i fagociten lipoproteïnes modificades. Els èsters de colesterol acumulats en el citoplasma activen els macròfags i donen lloc a les cèl·lules escumoses. Estes cèl·lules són característiques dels estadis primerencs de l'aterosclerosi (figura 5).

Els macròfags produeixen factors de creixement i citocines que amplifiquen el senyal proinflamatori. Els limfòcits T també migren a la capa íntima i produeixen citocines proinflamatòries que col·laboren en la formació de la placa d'ateroma. La placa

d'ateroma desenvolupa canals microvasculars amb funció nutritiva com a resultat de la neoangiogènesi i promou el creixement de la placa d'ateroma. En la progressió de l'ateroma, la placa augmenta de grandària i es projecta al lumen arterial, amb la qual cosa impedeix el flux de sang.

Els mecanismes involucrats en el desenvolupament de les malalties associades a la SAHS poden ser degudes a l'activació dels factors de transcripció (NF- κ B, HIF-1) que promouen l'acumulació leucocitària i l'alteració de mediadors vasoactius que poden perjudicar la funció de la cèl·lula endotelial i promoure el procés ateroscleròtic.⁵⁸

Taula 3. Possibles efectes fisiopatològics de la SAHS sobre el sistema cardiovascular.

EFFECTES AGUTS	EFFECTES CRÒNICS
<ul style="list-style-type: none">▪ Disminució de l'aportació d'oxigen al miocardi▪ Hipòxia intermitent▪ Disminució de la despesa cardíaca▪ Augment de la demanda d'oxigen del miocardi▪ Despertars transitoris▪ Activació del sistema nerviós simpàtic▪ Increment de la post càrrega del ventricle esquerre▪ Negativització de la pressió intratoràcica▪ Elevació de la pressió sanguínia▪ Augment de la freqüència cardíaca▪ Isquèmia miocàrdica nocturna▪ Edema pulmonar nocturn▪ Arítmies cardíques	<ul style="list-style-type: none">▪ Alteracions del sistema nerviós autònom▪ Activació del sistema nerviós simpàtic▪ Disminució de la variabilitat de la freqüència cardíaca▪ Deteriorament del control mitjançant baroreflexos de la freqüència cardíaca▪ Hipertensió arterial sistèmica: nocturna i diürna▪ Efectes miocàrdics▪ Hipertròfia ventricular esquerra▪ Disfunció i insuficiència ventricular esquerra▪ Disfunció diastòlica ventricular dreta▪ Augment de l'agregabilitat plaquetària i de la coagulabilitat▪ Increment del risc d'accidents cardíacs i cerebrovasculars embòlics i trombòtics

Per tant, durant la SAHS, els canvis fisiopatològics que es produeixen, tant al sistema respiratori com al cardiocirculatori, poden tindre importants conseqüències sobre l'evolució dels pacients. Els canvis en la pressió intratoràcica, la hipòxia - normòxia i els microdespertars transitoris són els principals factors responsables dels increments en la pressió arterial que es produeixen al final de cada apnea obstructiva, que donen lloc a l'aparició d'efectes cardiovasculars aguts i crònics (taula 3).⁵⁹

2.1.8) Alteracions metabòliques i malalties cardiovasculars

La SAHS afavoreix el desenvolupament d'alteracions metabòliques i malalties cardiovasculars com HTA, insuficiència cardíaca, arítmies, cardiopatia isquèmica, ictus i mort sobtada.

- a) **Alteracions metabòliques:** en el desenvolupament de la malaltia cardiovascular en la SAHS, també estan involucrades la resistència a l'insulina i les alteracions en el metabolisme dels lípids. En els pacients amb SAHS severa, es registra un augment dels nivells plasmàtics de les LDL-c,⁶⁰ que es correlaciona amb l'IAH i disminueix després de 6 mesos en tractament amb CPAP.⁶¹ Dorkova et al.⁶² han observat que el tractament amb CPAP més de 4 hores/dia durant 8 setmanes en pacients amb SAHS severa, disminueix els nivells plasmàtics de colesterol total, apolipoproteïna B (ApoB), de l'índex de resistència insulínica (HOMA-IR), malondialdehid (MDA) i del TNF- α i augmenta l'activitat de la peroxidasa del glutatió eritrocítica (GPx) i redueix el risc cardiovascular. A l'estudi de Tamura et al.⁶³, en pacients SAHS no obesos, es va realitzar la sobrecàrrega oral de glucosa i es va determinar que el 30% presentaven diabetis mellitus (DM) i el 30% intolerància hidrogenocarbonada, relacionant-se amb l'IAH i amb el fet de ser home. Un altre estudi que suggereix que la SAHS pot tindre un paper patogènic en l'homeòstasi lipídica i en la resistència insulínica, és el de Gozal et al.,⁶⁴ que estudiaren pacients prepuberals obesos i no obesos amb SAHS en els quals es realitzava l'amigdalectomia. S'observa que l'amigdalectomia produeix una disminució en les LDL-c i un augment en les lipoproteïnes d'alta densitat (HDL-c) i ApoB. En els obesos, després del tractament, s'observa una disminució en els valors d'insulina.
- b) **Hipertensió arterial (HTA):** la relació entre SAHS i risc cardiovascular comporta moltes dificultats a causa dels factors de confusió implicats en ambdues entitats com obesitat, edat, gènere, etc.; però una de les associacions més establertes és entre HTA i SAHS.⁶⁵ La prevalença d'HTA en els pacients amb SAHS és del 40-60% i s'estima que un terç dels hipertensos tenen SAHS.⁶⁶ La SAHS és considerada pel Joint National Committee on the Detection and Management of Hypertension com la primera causa identificable d'HTA i recomana descartar SAHS en aquells

pacients amb HTA de diagnòstic recent i resistent, especialment, en aquells que tenen un comportament *non-dipper* (reducció de menys del 10% de la tensió arterial durant la nit).⁶⁷ L'Sleep Heart Health Study^{68,69} és un estudi realitzat amb 6.046 pacients i ha demostrat la relació lineal entre HTA i la gravetat de la SAHS; a més a més, ha observat que la presència de somnolència diürna augmentava l'associació entre HTA i IAH. En la cohort de Wiscosin^{70,71} (1.522 pacients) es va estimar que el risc relatiu de desenvolupar HTA en pacients amb IAH > 15/hora era de 2,9 i es va analitzar la mortalitat als 18 anys de seguiment en els pacients amb SAHS en funció de la somnolència mesurada per l'escala d'Epworth, essent similar en els malalts amb hipersòmnia i sense. Com a mecanismes patogènics mitjançant els quals la SAHS produeix aquest efecte sobre l'HTA s'han postulat: hipòxia intermitent,⁷² augment de l'activitat simpàtica (comportament *non-dipper*)⁷³ i altres que encara estan per aclarir. Respecte a l'efecte de la CPAP sobre el control de la HTA, les dos metanàlisis més recentment publicades,^{74,75} han trobat una reducció al voltant de 2 mmHg estadísticament significativa i la disminució del risc de malaltia cardíaca i cerebrovascular, i de defunció. Barbé i col·laboradors han demostrat que la prescripció de CPAP en pacients amb SAHS sense ESD no redueix la incidència d'esdeveniments cardiovasculars.⁷⁶

- c) **Insuficiència cardíaca (IC):** la prevalença d'IC en pacients SAHS és superior al 10%. La fallida cardíaca és 2,38 vegades més comuna en les SAHS lleu i moderada que en els pacients no SAHS.⁷³ Tots els estudis publicats indiquen una millora significativa en la fracció d'ejecció del ventricle esquerre, reducció del nombre d'hospitalitzacions i augment de la supervivència en pacients amb IC-SAHS que toleren i utilitzen la CPAP.^{77,78}
- d) **Arítmies:** la prevalença de tot tipus d'arítmies, especialment de la fibril·lació auricular (FA), està augmentada en pacients SAHS.⁶⁹ El tractament amb CPAP en malalts amb SAHS i FA revertida per cardioversió tenen una reducció en la probabilitat de recurrència de l'FA.⁷⁹
- e) **Cardiopatia isquèmica (CI):** la SAHS és un factor de risc de patir malaltia coronària.⁸⁰ Estudis poblacionals i amb base clínica han demostrat una associació independent entre el grau de la SAHS i la probabilitat de patir

CI.⁶⁸ Este excés de risc respecte la població sana es produeix sobretot en persones menors de 50 anys i és independent de l'IMC. Altres autors com Mooe et al.⁸¹ han demostrat que la SAHS no tractada empitjora el pronòstic dels pacients coronaris. La severitat de l'aterosclerosi coronària es relaciona amb l'índex de dessaturacions nocturnes.⁸²

- f) **Ictus:** la SAHS és un factor predisposant per presentar un accident cerebrovascular (ACV). El risc de patir malaltia cerebrovascular és d'1,6 a 4,3 superior en els pacients SAHS que en la resta de la població.^{68,83} Sommers et al.⁸⁴ després de revisar la bibliografia publicada, han observat un augment de la mortalitat i de nous ACV en pacients amb SAHS coexistent. El tractament amb CPAP, a causa de la manca de compliment pròpia d'estos malalts, no ha demostrat una millora en el pronòstic.
- g) **Arteriosclerosi:** l'associació entre SAHS i arteriosclerosi cada vegada és més ferma. Els fenòmens d'hipoxèmia i reoxigenació estan implicats en l'alteració de mol·lècules d'adhesió responsables de la formació de la placa d'ateroma i de la vasoconstricció vascular, com ET1, VCAM, ICAM i òxid nítric (NO).⁸⁵ Dermatteis et al.⁸⁶ han estudiat els canvis a nivell cardiovascular en un grup de ratolins sotmesos a hipòxia intermitent 8 hores diàries durant 35 dies i han observat: increment de la pressió arterial als 14 dies, augment de les catecolamines i a nivell aòrtic i cardíac, una disminució de PECAM-1, que és un signe precoç d'aterosclerosi. Els estudis de Cross et al.⁸⁷ han demostrat que en els pacients amb SAHS i sense morbiditat cardiovascular, però amb majors dessaturacions, tenen disminuïda la capacitat de dilatació vascular i que esta disminució és directament proporcional a l'IAH i al nombre de dessaturacions. Després de 6 setmanes de tractament amb CPAP millorava la capacitat de vasodilatació. Altres estudis analitzen els graus d'inflamació, estrès oxidatiu i disfunció endotelial en la SAHS com a mecanismes implicats en l'arteriosclerosi. Jelic et al.⁸⁸ han comparat les cèl·lules endotelials venoses d'un grup de pacients amb SAHS i de subjectes sans; han observat una disminució de les proteïnes reguladores de la producció d'òxid nítric (NO sintetasa) i un augment dels valors de ciclooxygenasa 2 (mesura de la inflamació) i de nitrotirosina (marcador d'estrès oxidatiu) en les SAHS i un descens en els pacients amb CPAP. En els pacients amb SAHS lliures de morbiditat cardiovascular, s'observa un

augment de la producció de leucotriens B4 (LTB4), que es correlaciona amb la saturació mínima i mitjana, i amb el diàmetre luminal de la caròtida;⁸⁹ un increment dels valors del receptor 1 per al TNF- α (marcador de morbimortalitat cardiovascular).⁹⁰ Ambdós augments es redueixen amb el tractament amb CPAP. Els valors plasmàtics de la PCR i del fragment terminal del precursor del pèptid natriurètic cerebral N-terminal (NTproBNP) (marcador de disfunció ventricular) estan incrementats en la SAHS greu.⁹¹

- h) **Arteriosclerosi subclínica:** l'avaluació del risc cardiovascular en els pacients SAHS es basa en càlculs sobre la presència de factors de risc clàssics com l'edat, el sexe, el tabaquisme, la pressió arterial, els nivells de colesterol i diabetis, sense oblidar que la SAHS és un factor de risc *per se*. S'han desenvolupat molts índexs i taules per detectar les persones en risc, però la seua sensibilitat i especificitat són baixes.⁹² Per millorar la capacitat de predir el risc global de desenvolupar una complicació cardiovascular, han sorgit nous mètodes no invasius per la detecció de l'arteriosclerosi subclínica. Un d'estos mètodes és la valoració ecogràfica del GIMc.⁹³ Es tracta d'un mètode reproducible, que consisteix a realitzar una ecografia de les artèries caròtides per mesurar els canvis estructurals que es produeixen a la paret dels vasos sanguinis a causa de l'arteriosclerosi.⁹⁴ Els valors del GIMc depenen de l'edat, del sexe i de la raça.⁹⁵ El GIMc augmenta amb el nombre de factors de risc cardiovascular i s'associa de manera independent amb el desenvolupament de malaltia cardiovascular.⁹⁶ Així, per cada 0,1 mm d'augment del GIMc, el risc d'infart agut de miocardi s'incrementa entre un 10-15% i el d'ictus entre un 10-13%.⁹⁶⁻⁹⁷ Hi ha evidències que demostren que la progressió del GIMc pot ser aturada per tractaments antiaterogènics com les estatines o els hipotensors.^{98,99} Els estudis realitzats en pacients amb SAHS han demostrat que el GIMc està augmentat respecte als controls i als obesos, i es correlaciona amb la severitat de la SAHS i les dessaturacions nocturnes i amb l'increment de marcadors inflamatoris com PCR, IL-6 i IL-8.^{100,101,102} L'associació de SAHS i HTA té un efecte additiu i els estudis realitzats per Drager et al. demostren que els pacients SAHS hipertensos són els que presenten més augment del GIMc respecte als SAHS, HTA i controls.¹⁰³ El tractament amb CPAP no modifica significativament el GIMc respecte als pacients amb SAHS severa no tractats amb pressió continua en els que s'observa augment d'aquest paràmetre¹⁰⁴.

- i) **Mortalitat cardiovascular:** la relació causal entre SAHS i mortalitat cardiovascular no està del tot demostrada, però els estudis poblacionals publicats mostren una clara associació. Young et al.⁷ han observat que en els pacients amb SAHS severa i en les dècades centrals de la vida (30-60 anys) del grup de la cohort de Wisconsin, la mortalitat per qualsevol causa augmenta 2,7 vegades respecte als no SAHS (IAH < 5). Els malalts amb SAHS lleu no presenten augment de la mortalitat. El grup de SAHS moderada presentava un risc de mort major del 50% que els no SAHS, però la diferència no fou estadísticament significativa. Pel que fa a la mortalitat per causa cardiovascular, en els pacients SAHS greu no tractats amb CPAP era cinc vegades superior als no SAHS. L'excés de mortalitat està relacionat especialment amb la mort per ictus i infart de miocardi.¹⁰⁵ Un estudi realitzat per Gami et al.¹⁰⁶ posa en evidència un augment de mort sobtada en els pacients SAHS durant les hores de son, fet que suposa un canvi respecte a la població general (6 hores del matí al migdia).

2.1.9) Altres morbimortalitats associades

- a) **Càncer:** la relació entre càncer i SAHS és molt recent i relativament emergent. La hipòxia intermitent està relacionada amb la producció d'una sèrie de mol·lècules implicades en la carcinogènesi.¹⁰⁷ Com ja hem comentat a l'apartat de mecanismes fisiopatològics, la hipòxia intermitent que comporta la SAHS produeix un augment en l'activitat del factor de transcripció HIF-1 que activa la VEGF, i genera així un increment en la neovascularització i l'excessiva producció dels RLO. L'HIF-1 està relacionat amb la transcripció de gens que juguen un paper fonamental en la invasió tumoral, ja que inhibeix l'apoptosi tumoral en melanomes i fibrosarcomes, augmenta la producció de metàstasi i incrementa la resistència al tractament quimioteràpic.¹⁰⁸ Recentment, un estudi realitzat en un model animal que consistia a induir un melanoma en 15 ratolins mitjançant la injecció subcutània de cèl·lules de melanoma, ha observat que, en aquells ratolins en els quals estaven sotmesos a hipòxia intermitent, el volum de creixement del tumor era major i més ràpid i amb més metàstasi que en els ratolins sotmesos a normòxia.¹⁰⁹ En humans, Nieto et al.¹¹⁰ han observat

que en els pacients SAHS amb IAH > 30 durant un seguiment de 22 anys, la mortalitat per càncer està més augmentada que respecte al grup de control i s'incrementa amb la dessaturació nocturna.

- b) Accidentabilitat:** els accidents de trànsit són una causa important de mortalitat en el món occidental i entre 1-20% d'estos estan relacionats amb la somnolència en conduir.¹¹¹ La SAHS augmenta l'excés de risc de patir un accident de trànsit tant en conductors no professionals com professionals i mostra una oportunitat relativa d'1,3 a 13 amb una mitjana de 3,1.¹¹²⁻¹¹³ El tractament amb CPAP redueix el percentatge d'accidents als nivells de la població general.¹¹⁴ Per tant, el tractament amb CPAP és cost-efectiu, ja que s'ha realitzat una estimació d'estalvi sobre 800.000 col·lisions degudes a la SAHS, d'11 bilions de dòlars i 980 vides anuals als Estats Units.¹¹⁵ La valoració del risc i de la capacitat per conduir dels pacients SAHS és molt difícil per als metges, però és imprescindible avisar cadascun dels pacients de no conduir si estan somnolents. A l'Estat espanyol, la detecció del conductor de risc està a càrrec dels centres de reconeixement de conductors, que es basa en l'annex IV del Reial decret 772/1997 que tipifica la SAHS dintre del grup de trastorns respiratoris del son, i estableix que els conductors amb SAHS no podran obtindre ni renovar el seu permís de conducció sense un informe previ d'una Unitat del Son, i hi ha un període de vigència de dos anys per a conductors professionals i d'un any per als professionals.¹¹⁶

2.2) FAMÍLIA DE FABP

Les proteïnes d'unió a àcids grassos (FABP) constitueixen una família de proteïnes intracel·lulars de baix pes molecular (14-15kDa) amb gran afinitat per lligands hidrofòbics com àcids grassos saturats i insaturats, eicosanoids i altres lípids.¹¹⁷ Estan involucrades amb el transport intracel·lular d'àcids grassos cap a enzims i diferents compartiments cel·lulars, modulant el metabolisme lipídic intracel·lular i regulant l'expressió gènica.¹¹⁸ La família FABP es compon de 9 membres, identificats fins a l'actualitat, específics de teixit (figura 6). Es caracteritzen perquè els gens que codifiquen estes proteïnes deriven d'un mateix gen.¹¹⁹ Podem trobar FABP al llarg de totes les espècies, i demostrar una forta conservació en l'evolució.

L'estructura gènica conservada en tots els membres de la família consisteix en 4 exons separats per 3 introns i una caixa *TATA*box en la regió de transcripció. L'estructura tridimensional de la proteïna presenta característiques molt similars en tots els tipus de FABP, però hi ha diferències identificades en la seqüència d'aminoàcids (20-70%). Estan compostes per 10 làmines β antiparal·leles.¹²⁰

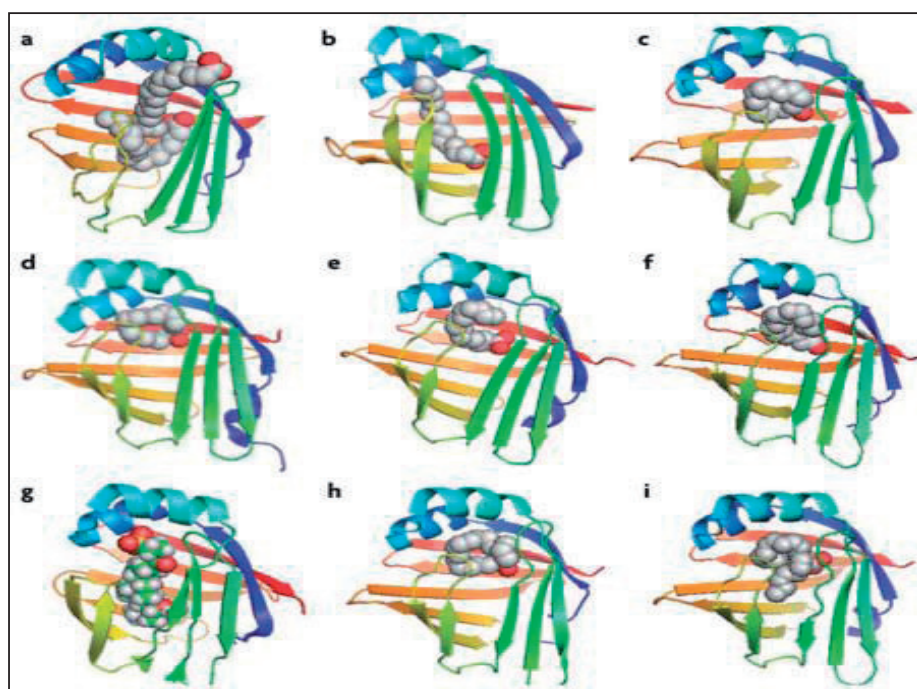


Figura 6. Estructures cristal·lines de les proteïnes FABP: a) FABP1 o hepàtica; b) FABP2 o intestinal; c) FABP3 o de cor; d) FABP4 o d'adipòcit; e) FABP5 o epidèrmica; f) FABP6 o ileal; g) FABP7 o de cervell; h) FABP8 o de mielina; i) FABP9 o de testicle. Furuhashi M. et al. Nature Reviews 2008; 7:489-502.

Les FABP faciliten activament el transport de lípids a compartiments específics de la cèl·lula: a les *lipid droplets* per a l'emmagatzematge energètic; cap al reticle endoplasmàtic per a reesterificació i emmagatzematge; a la mitocòndria o els peroxisomes per a l'oxidació; i al nucli per a la regulació de l'expressió gènica.

De les diverses FABP,¹²⁰ específiques de teixit, podem destacar:

- **Liver FABP (FABP1)** (L-FABP) és abundant en el citoplasma de l'hepatòcit, però també s'expressa en altres teixits com en l'intestí, el pàncrees, els ronyons, els pulmons i l'estómac. Representa el 5% del total de proteïnes citosòliques de la cèl·lula hepàtica.
- **Intestinal FABP (FABP2)** (I-FABP), s'expressa majoritàriament en l'epiteli intestinal, abundant en la secció distal, on podria interferir en la captació d'àcids grassos provinents de la dieta cap a la circulació sanguínia.
- **Heart FABP (FABP3)** (H-FABP), s'expressa en diversos teixits com el cor, el múscul esquelètic, el cervell, els ronyons, els pulmons, l'estómac, els testicles, l'artèria aorta, la glàndula suprarenal i mamària, la placenta, els ovaris i el teixit adipós marró. És essencial per a la β -oxidació en els cardiomiòcits i modula la captació d'àcids grassos a nivell musculoesquelètic.
- **Adipocyte FABP (FABP4)** (A-FABP o aP2), s'expressa en adipòcits, macròfags i cèl·lules dendrítiques. Representa al voltant del 6% del total de proteïnes citosòliques dels adipòcits madurs. La seua funció principal, com es presentarà detalladament en l'apartat següent, és el transport d'àcids grassos de cadena llarga a altres compartiments subcel·lulars per al metabolisme, o per a la secreció cel·lular després de la lipòlisi. Actualment, hi ha un increment de les evidències del paper predictiu de la FABP4 circulant en la síndrome metabòlica i el risc cardiometabòlic.
- **Epidermal FABP (FABP5)** (E-FABP), s'expressa principalment en les cèl·lules epidèrmiques de la pell. Tot i així, també és present en altres teixits com la llengua, els adipòcits, els macròfags, la cèl·lula dendrítica, la glàndula mamària, el cervell, l'intestí, els ronyons, el fetge, els testicles, la retina i la melsa. Comparteix un 52% d'homologia d'aminoàcids amb la FABP4 i presenta la

mateixa afinitat i selectivitat per als lligands com els àcids grassos. Evidències dels darrers anys en experimentació animal suggereixen que la FABP5 plasmàtica també juga un paper destacat en les alteracions metabòliques i resistència a la insulina.

- **Ileal FABP (FABP6) (I-FABP)**, és present en l'íleon (part distal de l'intestí prim), l'ovari, la glàndula suprarenal i l'estómac. Presenta una afinitat molt alta per als àcids biliars.
- **Brain FABP (FABP7) (B-FABP)**, és present en el cervell, la cèl·lula glial, la retina i la glàndula mamària. En condicions patològiques, B-FABP és sobreexpressada en pacients amb la síndrome de Down i l'esquizofrènia.
- **Myelin FABP (FABP8) (M-FABP)**, s'expressa en el sistema nerviós perifèric i la cèl·lula de Schwann. És una de les proteïnes més abundants en la mielina del sistema nerviós perifèric. La seva funció coneguda és transportar principalment fosfolípids per a la producció i el manteniment de la mielina (70% composta de lípids).
- **Testis FABP (FABP9) (T-FABP)**, es presenta en el teixit dels testicles, en les glàndules salivals i en les mamàries.

2.2.1) ADIPOCYTE FATTY ACID-BINDING PROTEIN (FABP4)

La FABP4, A-FABP, ALBP (*adipocyte lipid binding protein*) o aP2, és una proteïna intracel·lular transportadora de lípids i va ser per primera vegada descrita en el teixit adipós.¹²¹ La FABP4 s'expressa en els adipòcits madurs, teixit adipós, macròfags, cèl·lules dendrítiques, cèl·lules endotelials, glàndula mamària, epitelí bronquial, múscul estriat i placa d'ateroma, i constitueix aproximadament l'1% de totes les proteïnes solubles en el teixit adipós.¹²²

Està formada per 132 aminoàcids i el gen que la codifica es localitza en el cromosoma 8, a la posició 8q21.3-q22.1 i consta d'una regió promotora a 5,4kb de l'inici de la transcripció (Gen Bank accession number J02874).¹²³ Els 132 aminoàcids s'organitzen en 10 tires β i 2 hèlixs en l'estructura secundària. La regió compresa entre

les posicions 127-129 és el lloc d'interacció amb l'àcid gras.¹²⁴ A la regió compresa entre els residus 22 i 32 es localitza la *nuclear localization signal* (NLS), indicada per possibilitar la translocació al nucli.¹²⁵ A la posició 20, es troba un residu susceptible de ser fosforilat per tirosina-cinasa. I a la posició 23, s'ha descrit una variant genètica que produeix un canvi d'aminoàcid, de glutamat a aspartat, que s'ha relacionat amb la presència de càncer de mama i el colo-rectal.¹²⁶

2.2.1.1) Funció

La funció de la FABP4 *in vivo* no està totalment caracteritzada. La seua funció principal sembla que és com a xaperona citoplasmàtica de cadena llarga d'àcids grassos, la qual els transporta a altres compartiments subcel·lulars per al metabolisme, o per a la secreció cel·lular després de la lipòlisi.¹²⁷ La FABP4 també pot ser translocada al nucli per regular la funció de determinats factors de transcripció com PPAR γ .

Els mecanismes d'acció de la FABP4 en el metabolisme i la inflamació, la biologia definitiva i la funció de la FABP4 en la fisiologia humana segueixen sent poc clares. S'han realitzat diversos treballs amb models de ratolins genoanul·lats per a la FABP4 i mostren que esta deficiència sembla que té efecte en la sensibilitat a la insulina, el metabolisme lipídic i la lipòlisi.¹²⁸ Per tant, la deficiència de la FABP4 protegeix contra la hiperinsulinèmia, la resistència a la insulina i la diabetis tipus 2 induïda per l'obesitat. En els ratolins genoanul·lats FABP4, s'ha demostrat que redueixen un 40% la lipòlisi basal *in vivo* i augmenten la secreció d'àcids grassos 2 o 3 vegades més *in vivo*, suggerint un increment d'àcids grassos en plasma.¹²⁹ És a dir, la FABP4 podria mediar l'eflux d'àcids grassos i tindre un paper fisiològic en la regulació de la lipòlisi adipocitària.

La FABP4 influeix en la velocitat de lipòlisi de l'adipòcit. La lipòlisi en l'adipòcit es dona per la interacció de la FABP4 amb la HSL, formant complexos 1:1.¹²⁹ L'activació d'HSL, mitjançant la FABP4, depèn de les propietats de la FABP4 en unir-se als àcids grassos. En absència dels àcids grassos, la formació del complex FABP4 i la HSL no està demostrada.

Amb la finalitat d'avaluar si la deficiència de la FABP4 podia tindre conseqüències en el macròfag, que pogués interferir en el desenvolupament de l'arteriosclerosi, es varen aïllar macròfags de ratolins doble genoanul·lats per FABP4 i apoE (model murí establert d'arteriosclerosi).¹³⁰ En estes cèl·lules, es va observar una reducció de les citocines proinflamatòries, com TNF- α , IL1 β , MCP-1 i IL6, i una reducció en l'acumulació de colesterol esterificat en el seu interior quan es van exposar a LDL modificades. En models animals, estes modificacions són acompanyades d'una

disminució en la mida de les lesions ateroscleròtiques i un retard en el desenvolupament de les plaques ateroscleròtiques.^{131,132} Estos resultats suggereixen que l'expressió de la FABP4 pot tindre un paper important en la formació de la cèl·lula escumosa i en el desenvolupament de l'aterosclerosi a través de mecanismes potencialment independents dels seus efectes metabòlics.

Recentment, s'ha sintetitzat un potent inhibidor de la FABP4, el BMS309403, el qual desenvolupa una inhibició competitiva de la unió de l'àcid gras en la cavitat interna de la FABP4.¹³³ In vitro, s'ha observat una reducció de la formació de cèl·lules escumoses demostrat per la disminució del 40% de l'acumulació intracel·lular d'èsters de colesterol. En models animals, el tractament amb l'inhibidor redueix l'expressió de citocines inflamatòries en macròfags i en adipòcits, s'observa una reducció de la captació de greix. Models animals amb obesitat induïda genèticament o per dieta, tractats amb l'inhibidor, presenten una disminució en els nivells de glucosa, insulina i triglicèrids, un augment d'adiponectina i una elevada concentració d'àcids grassos lliures (figura 7).

2.2.1.2) Expressió i regulació

L'expressió de la FABP4 és potenciada durant la diferenciació adipocitària i és regulada a nivell transcripcional.¹³⁴ Estudis recents in vitro demostren la regulació positiva de l'expressió de la FABP4 per als àcids grassos, PPAR γ i insulina, com també per als agonistes de PPAR γ com són les tiazolidinadiones (TZD).¹³⁵ Estudis realitzats a l'URLA van demostrar que el tractament amb TZD indueix la diferenciació adipocitària in vitro associada a l'increment de l'expressió d'mRNA de la FABP4 i de nivells de proteïna cel·lular al medi de cultiu.¹³⁶ La interacció dels àcids grassos amb FABP4 és essencial per a la translocació cap al nucli, on el complex és capaç d'interaccionar amb PPAR γ i activar-lo.¹³⁷

La FABP4 també s'expressa en macròfags i és capaç de regular les mateixes funcions biològiques que en els adipòcits: acumulació de lípids, secreció de citocines i expressió d'un gran nombre de gens involucrats amb el metabolisme lipídic i la inflamació.¹³⁸

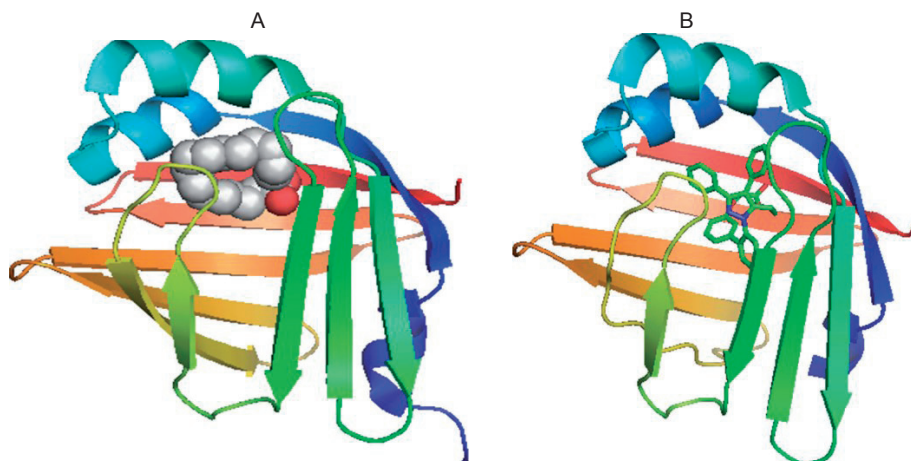


Figura 7. FABP4 unida amb un àcid gras o un inhibidor de molècula petita. a) FABP4 humana s'uneix a un àcid gras endogen com l'àcid palmític. b) FABP4 humana cristal·litzada en un complex amb BMS309403, un inhibidor sintètic FABP4. Furuhashi M., Tuncman G., Gorgun C. Z. et al. Nature 2007; 447:959-965.

L'augment de l'activitat de PPAR γ en deficiència de la FABP4 en macròfags està acompanyat també per un increment en la via d'eflux del colesterol.¹³⁷ Les proteïnes procedents de l'eflux de colesterol en deficiència de la FABP4 són estimulades i el colesterol és secretat. En paral·lel, hi ha una reducció de l'activitat de NF κ B, que suprimeix les funcions proinflamatòries. En canvi, la sobreexpressió de la FABP4 provoca l'acumulació d'èsters de colesterol. Per tant, estos resultats suggereixen que l'expressió de la FABP4 té un paper important en la formació de la cèl·lula escumosa i en la inflamació del procés ateroscleròtic.¹³⁹

La presència de la FABP4 plasmàtica ha estat confirmada en diferents estudis i la seua concentració en circulació és comparable a la majoria d'adipocines. Tot i que la FABP4, tradicionalment, ha estat descrita com a proteïna citosòlica, esta proteïna pot ser secretada pels adipòcits. Tal com han demostrat Xu i col·laboradors en estudis per espectrometria de masses, la FABP4 és alliberada al medi procedent d'adipòcits 3T3-L1.¹⁴⁰ Així doncs, **FABP4 es troba circulant en el plasma** i, en els darrers anys, molts esforços s'han centrat en el descobriment de la seua funció. Actualment, no es coneixen les vies de secreció de la proteïna al medi extracel·lular. A més, la seua funció fisiològica en circulació és desconeguda. Els recents estudis han demostrat que la FABP4 té un paper predictiu en la síndrome metabòlica, la DM tipus 2 i el risc cardiovascular.¹⁴¹ Les evidències científiques han demostrat que les concentracions plasmàtiques de la FABP4 estan directament relacionades amb la distribució del greix corporal i es troben augmentades en pacients amb obesitat, síndrome metabòlica,¹⁴⁰ diabetis tipus 2,^{136,142,143} hiperlipèmia familiar combinada¹⁴⁴ o en lipodistròfia en pacients

VIH.¹⁴⁵ Alguns estudis mostren una correlació de la FABP4 i la resistència a la insulina, i s'ha postulat com a predictor d'alteració de la regulació metabòlica.^{138,140} Els nivells de la FABP4 plasmàtica també s'han associat amb la presència de malaltia cardiovascular.¹⁴⁶ Hi ha troballes indirectes que la FABP4 circulant podria intervenir en la dislipèmia aterògena i contribuir amb la inflamació sistèmica, ja que correlaciona positivament amb la PCR.¹⁴⁷ A més, també s'ha associat a marcadors d'arteriosclerosi subclínica com la mesura del GIMc¹⁴⁸ i el volum de placa d'ateroma, mesurat per ecografia intravascular.¹⁴⁹

Els nivells circulants de la FABP4 mostren un dimorfisme sexual, amb nivells més augmentats en dones.¹⁵⁰ Esta diferència en el gènere podria ser deguda a que el percentatge de greix en dones és superior en el teixit adipós subcutani (SAT) i, en canvi, en els homes es troba augmentat en el teixit adipós visceral (VAT). Diversos estudis mostren que l'expressió de la FABP4 és superior en el SAT que en el VAT.^{121,122} La pèrdua de pes i la intervenció en l'estil de vida promouen la reducció plasmàtica de la FABP4, i mostren un lligand d'esta proteïna amb paràmetres d'adipositat.^{151,152}

Els nivells plasmàtics de la FABP4 poden variar en funció de les intervencions farmacològiques. En un estudi longitudinal amb pacients dislipèmics, es va valorar el tractament amb atorvastatina durant tres mesos. Els resultats varen ser la disminució de la FABP4 plasmàtica independentment dels canvis en els nivells de colesterol.¹⁵³ Però, estudis posteriors de l'URLA¹³⁶ no mostren cap efecte del tractament amb estatinen en els nivells de la FABP4 circulant; en canvi, s'observa un augment de la concentració plasmàtica en els pacients tractats amb TZD. Estos resultats donen suport als estudis in vitro i podrien explicar el fet que el tractament amb TZD a través de la inducció de l'activitat de PPAR γ indueix la diferenciació adipocitària i l'acumulació de greix intracel·lular.¹³⁵ Tanmateix, un estudi recent mostra l'impacte directe de la FABP4 circulant en la disminució de la contractibilitat de les cèl·lules musculars del miocardi,¹⁵⁴ la qual suggereix que la FABP4 en plasma podria tindre un efecte directe en algunes cèl·lules i els teixits perifèrics.

Tot i que, inicialment, la FABP4 es va descobrir en l'adipòcit, també s'ha detectat en macròfags, a plasma i en altres localitzacions com:

- a) **Plaques d'ateroma:** tant humanes com murines expressen nivells elevats de la FABP4.¹³²
- b) **Cèl·lules dendrítiques:** amb l'activació de la via de l'inhibidor de la cinasa nuclear kappa β .¹⁵⁵

- c) **Cèl·lules endotelials:** la FABP4 està implicada en la disfunció endotelial mitjançant diversos mecanismes com la regulació del factor de creixement de l'endoteli vascular (VEGF) i amb la inducció d'este factor davant de la hipòxia intermitent en cèl·lules endotelials aòrtiques humanes.¹⁵⁶
- d) **Cèl·lules epitelials bronquials:** Shum i col·laboradors van observar que l'expressió d'aP2 en les cèl·lules d'epiteli bronquial regula la resposta inflamatòria al·lèrgica de les vies respiratòries donada per les citocines produïdes per limfòcits Th2, per efecte de la inducció d'IL-4 i IL-3 en l'asma i han posat de manifest que l'absència de la FABP4 en ratolins protegeix de l'asma.¹⁵⁷
- e) **Pulmó:** s'ha detectat la FABP4 en les cèl·lules procedents de rentats broncoalveolars de pacients amb displàsia broncopulmonar¹⁵⁸ i sarcoïdosi,¹⁵⁹ que suggereix la seva implicació en la patogènesi d'estes malalties.
- f) **Ovari:** s'associa a la síndrome de l'ovari poliquístic, que freqüentment coexisteix amb la resistència a la insulina i s'expressa en les cèl·lules granuloses dels fol·licles atrèsics antrals.¹⁶⁰
- g) **Melsa i cèl·lules T:** augment de l'expressió de la FABP4 en limfòcits murins en resposta al tractament amb dexametasona.¹⁶¹
- h) **Tumors:** la FABP4 es detecta en tumors com el lipoblastoma i liposarcoma,¹⁶² i en carcinomes urotelials.¹⁶³

2.2.1.3) Alteracions metabòliques associades

La FABP4 s'ha postulat com un bon biomarcador d'alteracions metabòliques com: l'obesitat, la síndrome metabòlica, la resistència a la insulina, la diabetis mellitus tipus 2 i la malaltia cardiovascular.

- a) **Obesitat i síndrome metabòlica:** com hem comentat a l'apartat anterior, la funció de la FABP4 circulant no està totalment caracteritzada, però els estudis publicats fins al moment actual suggereixen un estret vincle amb

l'adipositat i la distribució de greix corporal. Els nivells circulants de la FABP4 estan significativament més elevats en presència de sobrepès o obesitat respecte al normopès,¹³⁸ i s'associen de manera positiva i independent de l'edat i el gènere, amb els marcadors tradicionals per a la valoració de l'adipositat: índex de massa corporal (IMC), índex cintura/maluc (*waist-to-hip ratio*, WHR), perímetre de cintura i percentatge de greix corporal.¹³⁸ Els estudis prospectius d'intervenció en poblacions infantil¹⁶⁵ i adulta¹⁶⁶ amb obesitat han valorat l'efecte del canvi en el pes corporal en relació amb els nivells de la FABP4 circulant i han observat que actuen sobre la dieta,^{165,166} l'activitat física¹⁶⁷ o, en el cas de l'obesitat mòrbida,¹⁶⁶ la cirurgia bariàtrica, produeix una disminució de la FABP4 circulant. L'obesitat abdominal és una de les alteracions metabòliques que caracteritza la síndrome metabòlica (SM).¹⁶⁸ L'SM és considerada com el principal factor de risc del desenvolupament de DM2 i malaltia cardiovascular per l'Organització Mundial de la Salut,¹⁶⁹ la National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III)¹⁷⁰ i la International Diabetes Federation.¹⁷¹ El criteri diagnòstic de l'SM consisteix a presentar tres o més dels components segons l'ATPIII. Els components de l'SM són: 1) obesitat abdominal, definida com perímetre abdominal ≥ 102 cm en homes i ≥ 88 cm en dones; 2) nivells de triglicèrids ≥ 150 mg/dl ($> 1,7$ mmol/l); 3) colesterol HDL < 40 mg/dl ($< 1,03$ mmol/l) en homes i < 50 mg/dl ($< 1,29$ mmol/l) en dones; 4) hiperglucèmia, nivells de glucosa ≥ 110 i < 126 mg/dl; 5) hipertensió arterial, pressió arterial $\geq 130/85$ mmHg. L'associació entre els nivells de la FABP4 circulant i l'SM ha sigut demostrada per Xu i col·laboradors que van trobar que els nivells de la FABP4 augmentaven amb el nombre de components de l'SM, tant en homes com en dones, en una població d'individus no diabètics.¹³⁸ El perfil lipídic de l'SM i la DM2 es caracteritza per nivells alts de triglicèrids i baixos de col-HDL i és conegut com a *dislipèmia aterògena*.¹⁷² Cabré i col·laboradors¹⁴⁴ han observat que en diabètics tipus 2, els nivells circulants elevats de la FABP4 es van associar positivament amb els nivells de triglicèrids, i inversament amb el col-HDL i l'apolipoproteïna A1 (apoA1), independentment de l'obesitat i la resistència a la insulina. El valor predictiu dels nivells basals de la FABP4 sobre el desenvolupament de l'SM va ser avaluat en un estudi longitudinal a 5 anys en població no diabètica i sense tractament farmacològic hipolipemiant, realitzat per Xu i col·laboradors,¹⁴⁰ i van observar que les concentracions basals de la FABP4 van ser significativament més altes en els individus que

van presentar progressió d'SM als 5 anys, independentment de l'adipositat i la resistència a la insulina. El fet de presentar nivells elevats de la FABP4 contribueix al desenvolupament d'SM en l'esteatosi hepàtica no alcohòlica.¹⁷³

- b) **Disfunció endotelial i resposta inflamatòria:** a l'apartat 2.1.7.4 d'esta tesi es fa referència a la disfunció endotelial i cal recordar que és un esdeveniment clau en el desenvolupament de l'arteriosclerosi. La valoració clínica del grau de disfunció endotelial en els individus no és una pràctica habitual. En un estudi recent realitzat per Aragonès i col·laboradors¹⁷⁴ han valorat la relació dels nivells circulants de la FABP4 amb la disfunció endotelial determinada per tonometria arterial perifèrica (PAT) en una població amb DM2 i han observat que els nivells elevats de la FABP4 s'associen independentment amb un empitjorament de la funció endotelial d'estos pacients. A nivell in vitro, les cèl·lules de l'endoteli presenten augments en l'expressió gènica i proteïna de la FABP4 per efecte de la hipòxia intermitent.¹⁵⁶ La FABP4 correlaciona positivament amb els marcadors d'inflamació, principalment amb la PCR¹⁴⁷ que ha suggerit la contribució de la FABP4 circulant en la inflamació sistèmica.
- c) **Resistència a la insulina i diabetis tipus 2:** la resistència a la insulina constitueix un important factor de risc de malaltia cardiovascular i mort prematura. L'obesitat és una de les principals causes de la resistència a la insulina.¹⁷⁵ Però, la resistència a la insulina no es manifesta en totes les persones obesas, ja que el factor genètic és determinant en el seu desenvolupament. Els diferents models animals han permès estudiar l'efecte de la FABP4 en relació amb la resistència a la insulina. El primer model animal deficient en FABP va ser *aP2^{-/-}*.¹⁷⁶ En estos ratolins quan es provocava una situació d'estrès com l'obesitat induïda per la dieta o per modificacions genètiques,¹⁷⁷ s'evidenciava que estos animals estan protegits davant la resistència a la insulina, ja que presentaven reducció en la hiperinsulinèmia i la glicèmia. També es produïen millores en el metabolisme lipídic en forma de disminucions en els nivells de colesterol i triglicèrids. És a dir, la FABP4 podria estar actuant com a nexa en la interacció que s'estableix entre el macròfag i l'adipòcit, i en la convergència dels metabolismes lipídic i glucídic.¹³³ Els nivells sèrics de la FABP4 s'han correlacionat positivament amb els nivells de glucosa, insulina i índexs de resistència a la insulina, com

l'HOMA-IR^{138,140} i negativament amb índexs de sensibilitat a la insulina, com el *Quantitative insulin sensitivity check index*.¹⁵⁰ En l'estudi de Xu i col·laboradors,¹³⁸ realitzat en població no diabètica, els nivells circulants de la FABP4 es van associar positivament amb les concentracions de glucosa postprandial i insulina en dejú. En un estudi prospectiu a 10 anys realitzat en no diabètics, es va observar que el fet de presentar nivells elevats de la FABP4 a l'inici de l'estudi constituïa un predictor de desenvolupament de DM2, independentment de l'obesitat, la resistència a la insulina i els índexs glicèmics.¹⁷⁸ Els individus amb alteracions en el metabolisme de la glucosa o amb DM2 presenten nivells circulants de la FABP4 més elevats que individus control sans.¹⁴⁸ En la síndrome de l'ovari poliquístic (PCOS), la presència d'obesitat i resistència a la insulina és molt prevalent; per tant, estes dones tenen un risc augmentat en el desenvolupament de DM2 i malaltia cardiovascular.¹⁶⁰ En un estudi prospectiu de canvis en l'estil de vida en població PCOS obesa, els canvis en els nivells de la FABP4 es van associar amb canvis en marcadors d'obesitat, però no de resistència a la insulina.¹⁷⁹ Els pacients amb DM2 poden desenvolupar nefropatia diabètica. En l'estudi realitzat per Cabré i col·laboradors,¹⁴² els nivells elevats de la FABP4 es van correlacionar amb nivells elevats de creatinina en plasma i velocitat de filtrat glomerular disminuïda. Un altre estudi va posar de manifest que els nivells de la FABP4 s'associaven amb els graus de severitat de la nefropatia.¹⁸⁰ És a dir, la determinació dels nivells de la FABP4 es pot suggerir com un marcador de nefropatia diabètica en DM2.

- d) **Malaltia cardiovascular:** la FABP4 s'ha detectat en les plaques d'ateroma murines i humanes.¹³² Tant l'SM com la DM2 es consideren factors de risc per a l'aterosclerosi i el desenvolupament de malaltia cardiovascular. I, en ambdues situacions, com hem esmentat en els apartats anteriors, els nivells circulants de la FABP4 es troben augmentats. En un estudi en població asiàtica amb risc cardiovascular, es va avaluar la relació entre els nivells de la FABP4 circulants i el GIMc,¹⁴⁸ i es va observar que els nivells circulants de la FABP4 es van associar positivament amb el GIMc en ambdós gèneres; però, únicament en les dones, els nivells eren significativament més alts en aquelles que presentaven plaques d'ateroma. En malaltia arterial coronària, els nivells de la FABP4 estan elevats i es correlacionen directament amb el nombre d'artèries coronàries estenòtiques.^{146,149} En el treball de Miyoshi i col·laboradors, els nivells de la FABP4 circulants es van associar de manera

independent amb la presència d'ateroma a nivell coronari determinada per ecografia intravascular.¹⁴⁹

2.2.1.4) FABP4 i SAHS

Atès que la SAHS és un factor de risc de malaltia cardiovascular i que els nivells elevats de la FABP4 circulant s'associen a la presència d'obesitat, resistència a la insulina i malaltia cardiovascular, en els darrers anys s'han desenvolupat diversos estudis amb la finalitat de demostrar l'associació entre els nivells de la FABP4 i la SAHS.

Lam i col·laboradors¹⁸¹ han observat un augment dels nivells plasmàtics de la FABP4 en la SAHS que es correlacionaven amb l'IAH, la SaO₂ mínima, el temps del son per sota del 90% de saturació d'oxigen (CT90), els nivells d'insulina, l'HOMA-IR i els nivells plasmàtics de triglicèrids, independentment de l'obesitat. Per tant, segons les evidències d'este estudi, els nivells de la FABP4 són marcadors de severitat en la SAHS.

Posteriorment, altres estudis com el d'Acioğlu¹⁸² et al. no han observat diferències estadísticament significatives entre pacients SAHS i no SAHS respecte als nivells de leptina i FABP4, i es van correlacionar amb l'IMC i no amb l'IAH.

La SAHS i la FABP4 s'associen amb un major risc de síndrome metabòlica en nens i adults. Un estudi recentment publicat que compara nens de 5 a 8 anys SAHS i no SAHS, i els subdivideix en obesos i no obesos, ha demostrat que els nivells circulants de la FABP4 són més elevats en els nens SAHS obesos que en els no SAHS obesos. És a dir, l'associació de SAHS i obesitat és un clar promotor del risc cardiometabòlic en esta població.¹⁸³

Altres estudis com el de Balci i col·laboradors¹⁸⁴ han trobat que l'augment dels nivells de la FABP4 es correlaciona amb la gravetat de la SAHS i amb l'índex de massa ventricular esquerra i l'índex de funció miocardiàc. Esta evidència podria suggerir que la FABP4 en els pacients SAHS és un marcador de la disfunció del ventricle esquerra en estos pacients.

Respecte al tractament amb CPAP, Sovova et al.¹⁸⁵ han observat que en pacients amb SAHS greu i un alt CT90 i amb factors de risc cardiovascular, el tractament amb CPAP disminueix els nivells de la FABP4 al mes i a l'any.

Per tant, davant les evidències científiques esmentades, resulta d'interès el plantejament de la intervenció sobre els nivells circulants de la FABP4 en els pacients SAHS com a diana terapèutica per a la prevenció i el tractament de les malalties de base metabòlica associades a ambdues entitats.

2.2.2) EPIDERMAL FATTY ACID-BINDING PROTEIN (FABP5 O E-FABP)

La FABP5, també coneguda com a E-FABP, mal1 o KLBP, és una proteïna citoplasmàtica formada per 135 aminoàcids que uneix àcids grassos i participa com la FABP4 en el seu transport i metabolisme intracel·lular. L'E-FABP és específica de les cèl·lules epidèrmiques de la pell i altament expressada en la pell dels malalts amb psoriasis.¹⁸⁶ El gen que la codifica es localitza en el cromosoma 8, a la posició 8q21.13.¹²³

La relació entre FABP4 i FABP5 és molt estreta, i estudis cromosòmics han determinat que la FABP4 i la FABP5, conjuntament amb la FABP8, formen part d'un clúster genètic.¹²⁴ Estes dues proteïnes, FABP4 i FABP5, tenen un 52% dels seus aminoàcids en comú i això permet que s'uneixin als àcids grassos amb similar selectivitat i afinitat.¹⁸⁷

La funció de la FABP5 no és del tot coneguda. La FABP5 també s'expressa en els adipòcits,¹²⁰ però constitueix una fracció menor que la FABP4, sent la quantitat aproximadament 100 vegades més petita que la de la FABP4 en el teixit adipós.¹⁸⁸ L'expressió de la FABP4 és més elevada al teixit adipós subcutani, mentre que al teixit adipós visceral l'expressió majoritària és la de la FABP5.¹²¹ Ambdues xaperones també s'expressen en els macròfags i en les cèl·lules dendrítiques.¹³⁰ En un estat de deficiència de la FABP4, l'expressió de la FABP5 exhibeix un fort increment compensatori en el teixit adipós, però no en els macròfags o en les cèl·lules dendrítiques.^{130,155} Diversos estudis han demostrat que tant la FABP4 com la FABP5 juguen un paper important en la regulació de la resistència a la insulina i en el desenvolupament de l'arteriosclerosi, a causa de la seva expressió en adipòcits i macròfags.^{130,155}

La FABP5 s'expressa en les localitzacions següents:

- a) **Teixit adipós:** en els estudis realitzats en ratolins transgènics amb sobreexpressió de la FABP5 s'ha observat un augment de la lipòlisi basal i estimulada per la HSL i un augment a la resistència insulínica.¹⁸⁹ Altres estudis fets en animals deficients de FABP5 han demostrat una protecció a desenvolupar diabetis.¹⁹⁰ Hoekstra i col·laboradors¹⁹¹ han observat que una alimentació rica en colesterol augmenta l'expressió de la FABP5 en les cèl·lules del parènquima hepàtic de ratolins deficients del receptor LDL i provoca un increment dels nivells plasmàtics de les lipoproteïnes

aterogèniques (VLDL i LDL). Esta última troballa podria indicar que la FABP5 té una funció específica en l'aterogènesi.

b) **Macròfags:** un estudi recent va mostrar en ratolins que el dèficit de FABP5 en macròfags protegeix contra l'arteriosclerosi mitjançant la reducció de l'expressió de gens inflamatoris com la ciclooxigenasa-2 i la IL-6.¹⁹²

c) **Altres localitzacions:**¹²⁰ pell, llengua, cèl·lules dendrítiques, glàndula mamària, cervell, intestí, ronyó, fetge, pulmó, cor, múscul esquelètic, plasma, testicles, cristal·lí, retina i timus.

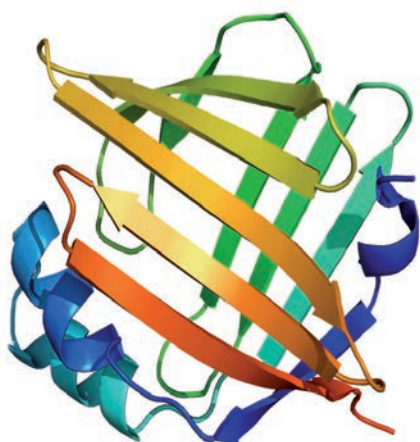


Figura 8. Estructura de la FABP5. Furuhashi M, Tuncman G, Gorgun CZ, et al. Nature 2007; 447:959-965.

El paper de la FABP5 és molt més desconegut que el de la FABP4, ja que hi ha menys investigacions que pel que fa a la FABP4, però la majoria d'estudis suggereixen un rol molt similar com a biomarcador de risc cardiovascular.¹⁹³

L'E-FABP està relacionada amb:

a) **Malaltia cardiovascular i síndrome metabòlica:** estudis com el de Maeda i col·laboradors¹⁹⁰ han demostrat que la deficiència combinada de la FABP4 i de la FABP5 protegeix contra la síndrome metabòlica i l'arteriosclerosi en ratolins. En un estudi en població xinesa d'edat mitjana, es va avaluar la relació entre els nivells de

FABP5 circulants i el GIMc,¹⁹³ i es va observar que els nivells circulants de FABP5 es van associar positivament amb el GIMc i amb els paràmetres d'adipositat, així com amb els nivells de la FABP4 i de PCR. També es va posar de manifest que la correlació entre FABP5 i SM fou independent de la FABP4. Hong i col·laboradors¹⁹⁴ han corroborat l'associació d'ambdues proteïnes amb l'SM, però només la FABP4 es va associar significativament amb un major risc de malaltia coronària en adults xinesos. En una cohort de pacients DM2, els nivells de FABP4, però no FABP5 es va associar amb la presència de calci en l'artèria coronària.¹⁹⁵ Davant les troballes d'estos últims estudis, l'impacte de la FABP5 com a nou biomarcador circulant de risc cardiometabòlic no està clarament establert, però sí la relació additiva de la FABP4 i de la FABP5 amb l'SM.

- b) **Resistència a la insulina i DM2:** Yeung i col·laboradors¹⁸⁰ han observat que els nivells de la FABP4 i de la FABP5 es van correlacionar significativament amb la creatinina sèrica i la taxa de filtració glomerular, i ambdós tipus de FABP s'associaven amb els graus de severitat de la nefropatia. Un estudi recent indica que els inhibidors de la FABP4 i de la FABP5 milloren la dislipèmia, però no la resistència a la insulina en ratolins amb obesitat induïda per dieta.¹⁹⁶
- c) **Tumors:** alguns estudis postulen que la FABP5 plasmàtica és un marcador pronòstic independent de supervivència global i de supervivència lliure de recurrència en el càncer de mama.¹⁹⁷ També es correlaciona amb la progressió tumoral del colangiocarcinoma intrahepàtic.¹⁹⁸

L'associació entre FABP5 i SAHS és del tot desconeguda. Davant de tot l'esmentat, és fonamental que hi hagi més estudis per aprofundir en el coneixement de les funcions de la FABP5 com a biomarcador de risc cardiometabòlic i conèixer quin paper desenvolupa en els pacients amb SAHS.

3. Hipòtesi i objectius



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

HIPÒTESI

Les evidències sobre la relació entre SAHS i malaltia cardiovascular són cada vegada més fermes. Els cicles repetits durant el son d'hipoxèmia i reoxigenació a la SAHS que ocasionen estrès oxidatiu, lesió endotelial, alteracions metabòliques i trastorns inflamatoris, estan implicats en la formació de la placa d'ateroma dels pacients amb SAHS. Atès que la SAHS és un factor de risc de malalties cardiovasculars i metabòliques, i que els nivells elevats de la FABP4 circulant s'associen a la presència d'obesitat, resistència a la insulina i malaltia cardiovascular, és molt interessant demostrar l'associació entre els nivells de la FABP4 i la SAHS, i conèixer la seua resposta al tractament amb CPAP.

També, en esta tesi es pretén valorar si hi ha una associació entre la FABP5 i la SAHS, ja que la majoria d'estudis suggereixen que té un rol similar i complementari a la FABP4. Tanmateix, es pretén relacionar els nivells de FABP5 i FABP4, i les alteracions metabòliques observades en els pacients amb SAHS. Esta tesi també vol demostrar, d'una banda, que els pacients amb SAHS presenten major grau d'arteriosclerosi subclínica i, de l'altra, l'eficàcia del tractament amb CPAP sobre la reducció del risc cardiovascular, constatant que la pressió contínua a la via aèria produeix la regressió del GIMc en estos pacients.

La hipòtesi del treball és, per una banda, que en pacients SAHS hi ha nivells plasmàtics de la FABP4 i de la FABP5 elevats que es correlacionen amb els diferents factors de risc cardiovasculars i metabòlics. Per altra banda, la SAHS s'associa a arteriosclerosi subclínica que pot millorar amb el tractament. La FABP4 i la FABP5 estan implicades en estos processos.

El nostre estudi espera confirmar que la FABP4 és un biomarcador precoç d'arteriosclerosi en la SAHS i conèixer el paper de la FABP5 en la SAHS.

OBJECTIU GLOBAL

Avaluar el paper de les concentracions plasmàtiques de FABP4 i FABP5 en pacients amb SAHS, sobre les característiques clíniques de la SAHS i els factors de risc cardiovasculars i metabòlics i la freqüència d'arteriosclerosi subclínica.

OBJECTIUS OPERATIUS

- 1) Determinar els nivells plasmàtics de la FABP4 i de la FABP5 en els pacients SAHS, i valorar la seva associació amb la gravetat de la síndrome.
- 2) Estudiar l'associació entre FABP4 i FABP5 en els pacients SAHS.
- 3) Estudiar l'impacte dels nivells plasmàtics de la FABP4 i de la FABP5 sobre els factors cardiovasculars i metabòlics dels pacients SAHS.
- 4) Comparar la FABP4 i la FABP5 circulant en els pacients SAHS abans i després del tractament amb CPAP nasal (> 4 hores/dia) durant 8 setmanes i la seua repercussió sobre els factors de risc.
- 5) Valorar la presència d'arteriosclerosi subclínica mitjançant la mesura del GIMc de les artèries caròtides comunes en pacients SAHS en funció de la seua gravetat, i el paper de la FABP4 i de la FABP5 en este procés.
- 6) Avaluar l'efecte de la CPAP en els canvis del GIMc dels pacients SAHS durant un període de seguiment de 2 anys, i el paper de la FABP4 i de la FABP5.

4. Material i mètodes



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

4.1) POBLACIÓ I DISSENY DE L'ESTUDI

Este treball inclou dos parts: un estudi prospectiu i longitudinal i un d'intervenció.

La població total estudiada a nivell basal va ser de 125 participants de 18 a 75 anys procedents de la UTRS de la Secció de Pneumologia de l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus remesos per sospita de SAHS i que van ser diagnosticats mitjançant PSG. A tots els subjectes inclosos se'ls va realitzar:

- 1) Estudi antropomètric i anamnesi completa, que va incloure hàbits tòxics, factors de risc cardiovascular, antecedents patològics i test d'Epworth.
- 2) PSG diagnòstica.
- 3) Extracció sanguínia amb determinació d'hemograma, perfil lipídic, hepàtic i tiroïdal, glucosa, insulina plasmàtica, determinació de la FABP4 i de la FABP5.
- 4) Estudi vascular mitjançant ecografia d'artèries caròtides per determinar el GIMc.
- 5) Quantificació del greix intraabdominal.

Després de la PSG, els participants foren classificats en no SAHS i SAHS. Els pacients diagnosticats de SAHS van seguir controls en la UTRS. L'estudi d'intervenció en els pacients SAHS fou subdividit en dues parts:

- 1) A les 8 setmanes, en els SAHS tributaris de tractament amb CPAP, se'ls va realitzar un nou test d'Epworth i es va obtenir una nova mostra de sang per mesurar la concentració en sèrum de FABP4, FABP5 i altres paràmetres analítics.
- 2) Els pacients SAHS controlats a la UTRS van ser seguits durant 2 anys i es va realitzar un nou test d'Epworth i una nova determinació del GIMc i de la quantificació del greix intraabdominal.

L'estudi fou aprovat pel Comitè Ètic d'Investigació i Clínic (CEIC) de l'hospital i abans d'entrar a l'estudi, totes les persones participants van signar el consentiment informat.

Els **criteris d'exclusió** de l'estudi van ser:

- a) menors de 18 anys i majors de 75 anys
- b) pneumotòrax
- c) canvis posttuberculosos en forma de paquipleuritis que produeixen una alteració funcional de tipus no obstructiu
- d) necessitat de ventilació mecànica invasiva
- e) antecedents de cirurgia pulmonar en els últims 2 anys
- f) cardiopatia isquèmica en forma d'àngor i infart agut de miocardi (IAM) de cronologia inferior a 1 any
- g) accident cerebrovascular agut en els últims 6 mesos
- h) insuficiència renal i hepàtica
- i) malalties psiquiàtriques
- j) alcoholisme sever
- k) neoplàsia en estat avançat

Els **criteris de retirada** de l'estudi als pacients admesos:

- a) empitjorament de la clínica que justifica canviar el tractament
- b) ingrés hospitalari
- c) mitjana de compliment de la CPAP nasal menor de 4 hores/dia
- d) no signar el consentiment informat
- e) retirada voluntària de l'estudi

El primer pacient reclutat es va incloure en novembre de 2009 i l'últim en juny de 2011.

4.2) MESURAMENTS CLÍNICS

En la UTRS, es van determinar de cada participant les variables clíniques següents:

- 1) Paràmetres antropomètrics: edat, sexe, pes, talla, índex de massa corporal (IMC), perímetre de coll, perímetre abdominal.
- 2) Tensió arterial.
- 3) Hàbits tòxics.
- 4) Antecedents patològics (ictus, arítmia, cardiopatia isquèmica, miocardiopatia, etc).
- 5) Factors de risc cardiovascular (diabetis mellitus, HTA, dislipèmia, obesitat).
- 6) Fàrmacs: depressors del SNC, hipolipemians, antidiabètics, etc.
- 7) Interrogatori exhaustiu sobre la presència de roncs, apnees observades, cefalea matutina i qualitat del son.
- 8) Versió espanyola del test d'Epworth (ESS) validada per quantificar el grau de somnolència diürna en la primera visita (ESS_0) i a les 8 setmanes en els pacients SAHS tractats amb CPAP (ESS_1).¹⁴ Al final del seguiment, es va determinar un nou test d'Epworth (ESS_2) (annex 1).
- 9) Espirometria simple amb prova broncodilatadora realitzada amb l'espírometre Datospir-120 de Sibel (Barcelona, Espanya) per determinar el flux espiratori forçat (FEV1), la capacitat vital forçada (FVC), la relació FEV1/FVC, expressades en valors absoluts (litres) i percentatge respecte al teòric.
- 10) Radiografia de tòrax.

4.3) VARIABLES POLISOMNOGRÀFIQUES

El diagnòstic de SAHS es va realitzar mitjançant PSG completa vigilada amb l'equip eXea PSG de BITMED (Saragossa, Espanya) durant una nit en la UTRS. Es van registrar els senyals de: EEG, EOG, EMG, ECG, flux oronasal (cànula de pressió nasal i termistor), moviments toracoabdominals, roncs i SaO₂. En tots els casos, es va realitzar una lectura manual de l'estudi. Per classificar les fases del son i els esdeveniments respiratoris es van seguir els criteris estàndards internacionals de l'AASM Manual.³ Es va comprovar la qualitat i validesa del registre, i es va considerar com a vàlid un temps de registre (TIB) mínim de 6,5 hores i un temps total de son (TTS) de 180 minuts. Amb la codificació manual del son es va determinar l'hipnograma, que consisteix en la representació gràfica de les distintes fases del son i permet tindre una visió global de l'arquitectura del son.

Per a la codificació dels esdeveniments respiratoris, es van tindre en compte les consideracions generals següents:

- a) El sensor utilitzat per identificar l'absència de flux en els esdeveniments respiratoris tipus apnea fou el termistor oronasal.
- b) El sensor per a la codificació de les hipopnees fou la cànula de pressió.
- c) El sensor per a la detecció de la SaO₂ en sang fou la polsioximetria.
- d) Els sensors alternatius si es perdien els senyals eren: per a l'apnea, la cànula nasal; i, per a la hipopnea, el termistor.

Durada dels esdeveniments respiratoris: des del punt més baix de la primera respiració en què clarament està disminuït el flux fins a l'inici de la primera respiració normal.

Les variables polisomnogràfiques analitzades foren :

- a) IAH.
- b) Índex de dessaturacions (IDO).
- c) Índex de microdespertars o d'arousals.
- d) CT90 i percentatge de temps en què la SaO₂ fou menor del 85% (CT85).
- e) SaO₂ mitja nocturna (%).

- f) SaO₂ mínima nocturna (%).
- g) Durada mitjana i màxima de les apnees i hipopnees (segons).
- h) Nombre total d'apnees i hipopnees.
- i) Nombre d'apnees obstructives, mixtes i centrals.
- j) Freqüència cardíaca mitjana.
- k) Eficiència de son, que es calcula seguint esta fórmula: TTS / TIB x 100.
- l) Latència del son (minuts).
- m) Percentatge de TTS en cada fase de son.

Seguint les recomanacions actuals, els participants foren classificats segons l'IAH en 4 categories: no SAHS (IAH < 5), SAHS lleu (IAH ≥ 5 i < 15), SAHS moderada (IAH ≥ 15 i < 30) i SAHS severa (IAH ≥ 30).

4.4) TRACTAMENT AMB CPAP NASAL

Els pacients diagnosticats de SAHS greu o aquells amb SAHS moderada i amb patologia cardiovascular associada o SAHS moderada amb clínica de somnolència diürna (ESS₀ > 12) van ingressar una altra nit, per titular la pressió efectiva mitjançant l'auto-CPAP amb l'equip Goodknight 420G CPAP de Covidien – Nellcor and Puritan Bennett (Bouldar, EUA).

Les CPAP automàtiques són uns aparells que mitjançant l'anàlisi del flux, la morfologia de l'ona inspiratòria i el ronc, ajusten contínuament el nivell de CPAP. La utilització de l'auto-CPAP per titular la pressió té uns resultats similars als que s'obtenen per a la titulació amb PSG convencional.²⁰

Es va monitoritzar el compliment de la CPAP i la presència d'efectes no desitjats i/o aparició de nous signes clínics. El compliment es va considerar acceptable si el pacient utilitzava la CPAP nasal com a mínim 4 hores a la nit durant un 75% o més de les nits.

Els efectes secundaris més freqüents que poden presentar els pacients tractats amb CPAP i que hem vigilat i registrat són:

- a) **Rinitis.** Produïda per edema i inflamació de la mucosa nasal. Sol cedir espontàniament o bé, es tracta amb instil·lacions de sèrum fisiològic o corticoides en solució aquosa per via nasal.
- b) **Fuites.** Són de dos tipus: per boca i per les parts laterals de la mascareta. La fuga per boca redueix l'eficàcia del sistema, fa soroll, produeix sequedat de boca i incomoditat al pacient. En estos casos, poden utilitzar-se sistemes per tancar la boca com mentoneres o canviar a mascareta nasobucal. La fuga pels laterals de la mascareta pot reduir-se utilitzant la mascareta adequada i amb una bona fixació del sistema mitjançant l'arnés.
- c) **Lesions cutànies.** Es produeixen en la zona de contacte amb la mascareta de CPAP i poden desenvolupar úlceres de decúbit.
- d) **Sequedat orofaríngia.** Sol cedir espontàniament. Si persisteix més de quatre setmanes, es pot col·locar un humidificador tèrmic connectat a la CPAP que les cases subministradores de la CPAP proporcionen al pacient.
- e) **Soroll.** És a causa de la fuga d'aire controlada per la vàlvula espiratòria i/o per la fuga al voltant de la mascareta.
- f) **Conjuntivitis.** Com a conseqüència de la fuga d'aire per la mascareta que impacta als ulls, i produeix un cert grau d'irritació. El pacient ha d'ajustar bé la mascareta o canviar la talla i/o model si és necessari.
- g) **Insomni.** En general, pot aparèixer en la fase d'adaptació i no és recomanable l'ús d'inductors del son.
- h) **Claustrofòbia i ansietat.** Pot ser necessari suport psicològic i adaptació lenta.
- i) **Epistaxi.** S'origina en la part anterior de les fosses nasals i és a causa de la sequedat nasal. Es recomana una bona humidificació amb rentats nasals amb sèrum fisiològic o aigua marina, humidificador ambiental o adaptat a la CPAP nasal i/o pomades nasals.
- j) **Fred.** Especialment durant l'hivern i en cases sense calefacció, on l'aire de la CPAP pot entrar en la via aèria a una temperatura inferior a 15°C.

La solució és augmentar la temperatura de l'habitació i/o un sistema de CPAP dotat d'escalfament-humidificació de l'aire.

- k) **Aerofàgia.** Poc freqüent i es produeix per deglució d'aire de la CPAP. En general, desapareix amb l'adaptació del pacient i la desaparició de l'ansietat. S'aconsella dormir amb el capçal del llit aixecat per reduir la deglució aèria.

La síndrome dels efectes secundaris de la CPAP agrupa els més freqüents: rinitis i sequedat de boca, treure's la mascareta sense voler durant la nit i les fuites bucal.

4.5) EXTRACCIÓ DE SANG I CREACIÓ DE LA COL·LECCIÓ DE MOSTRES

El dia de la PSG es va realitzar una extracció de sang, després de 12 hores en dejú, de la qual es van mesurar els paràmetres de l'estudi i es va procedir a crear una col·lecció de mostres al **BioBanc-Reus**. Les mostres obtingudes dels pacients van ser processades i emmagatzemades segons la normativa ISO9001:2008 en el BioBanc (IISPV) i les dades bioquímiques van ser obtingudes segons la normativa ISO9001:2008 en la Unitat de Recerca de Lípids i Arteriosclerosi (URLA). La col·lecció va quedar registrada com a SAHS i va consistir en 8 alíquotes de plasma de 500 µl, 10 alíquotes de sèrum de 350 µl, i leucòcits per obtenir DNA per a nous estudis (annex 2).

En total es van extraure els tubs següents: 1 tub de sèrum de 8,5 ml, 1 tub de citrat de 3 ml i 1 tub de plasma-EDTA de 3 ml per a analítica general; 1 tub de sèrum de 8,5 ml per determinar la FABP4 i la FABP5, i per a la col·lecció; 2 tubs de plasma-EDTA de 9,5 ml per a l'obtenció dels extractes de proteïnes nuclears i citoplasmàtiques de cèl·lules mononuclears circulants i el plasma es va destinar a la col·lecció i 1 tub de plasma-EDTA de 9,5 ml per a l'obtenció de leucòcits per a l'obtenció de DNA. En els pacients tractats amb CPAP, es va realitzar una nova extracció de sang a les 8 setmanes del tractament (annex 2).

Els paràmetres bioquímics que es van determinar:

- Perfil lipídic: colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL-c), LDL-colesterol (LDL-c) per la fórmula de Friedewald, triglicèrids (TG). La fórmula de Friedewald és: $LDLc = (HDLc + TG / 2,21)$ en mmol/L. Perfil tiroïdal, glucosa, hemoglobina-glicada (HbA_{1c}) foren mesurades immediatament utilitzant tècniques enzimàtiques adaptades a COBAS autoanalyzer

(Roche Diagnostics, Barcelona, Espanya). Insulina plasmàtica, mitjançant l'equip de reactius comercial d'ELISA (Mercodia, Uppsala, Suècia).

- HOMA-IR, que es calcula segons la fórmula següent: (insulina plasmàtica x glucosa plasmàtica) / 22,5.
- Hemograma, coagulació.
- Funció renal i hepàtica.
- FABP4 i FABP5.

4.6) DETERMINACIÓ DE LA FABP4 I DE LA FABP5 CIRCULANT

Les concentracions plasmàtiques de FABP4 i FABP5 circulant van ser valorades usant equips de reactius comercials de la tècnica d'ELISA (BioVendor Laboratory Medicine Inc., Brno, República Txeca). Esta quantificació es va realitzar mitjançant una tècnica quantitativa immunoenzimàtica d'ELISA de tipus sandvitx i es van determinar les concentracions de FABP4 i FABP5 en plasma seguint el procediment recomanat per l'equip de reactius comercial i el procediment normalitzat de treball de l'URLA (annex 3).

L'equip de reactius proporciona una placa de 96 pouets. En cada pou estava fixat un anticòs monoclonal pel biomarcador FABP4 i per FABP5. Es va determinar mitjançant dos equips de reactius diferents, primer FABP4 i després FABP5. Es van dispensar els estàndards (de concentracions conegudes) i les mostres (plasma procedent dels individus de l'estudi) en cada pou per analitzar la presència de l'antigen complementari.

Després del rentat de tots els pous per descartar la resta de proteïnes les quals no havien quedat unides, es va afegir l'anticòs primari específic de la FABP4 i de la FABP5 amb l'enzim conjugat. Tot seguit, es va dur a terme el rentat per eliminar l'excés de reactiu i es va afegir la solució de substrat, la qual va desenvolupar color en proporció de la quantitat de biomarcador unit. Finalment, la reacció colorimètrica va ser aturada per la solució stop (H_2SO_4) i la intensitat del color va ser mesurada pel lector de plaques d'ELISA a una velocitat d'ona de 450 nm (Bio Whittaker, Lonza, Colònia, Alemanya).

Per comparació de la densitat òptica de la mostra amb la corba estàndard, es va determinar la concentració de FABP4 i FABP5 mitjançant l'anàlisi de les dades

computades per l'absorbància dels estàndards versus la concentració utilitzada en una regressió polinòmica de quart grau. Els resultats són expressats en µg/ml.

4.7) ESTUDI VASCULAR: ECOGRAFIA D'ARTÈRIES CARÒTIDES

L'exploració ecogràfica es va realitzar mitjançant l'ecògraf de l'equip MyLab 60 X-Vision sonograph (Esaote SpA, EUA) amb una sonda de matriu lineal d'ultrasò transductor 7-12 MHz de freqüència per identificar el complex de l'íntima-mitjana de la caròtida comuna (CCA) (1 cm proximal a la bifurcació), de les artèries caròtides esquerra i dreta. La determinació del GIMc va ser feta per radiofreqüència i quantificació semiautomàtica *in vivo* per disminuir la variabilitat interoperador i intraoperador.

La prova es va fer amb els pacients en decúbit supí amb el cap girat 45° cap al costat contrari del costat explorat (figura 8)



Figura 8. Posició del pacient per a estudi d'ecografia carotídia.

Es van examinar tres segments predeterminats de les artèries d'ambdós costats: caròtida comuna (1 cm proximal al bulb carotídi), bulb carotídi (1-2 cm) i caròtida interna.¹⁹⁹ Es van obtenir les imatges ecogràfiques des d'un angle lateral fix. El GIMc, definit com la distància que hi ha entre la interfaç de la llum carotídia-íntima i la interfaç mitjana-adventícia de la paret distal, es va determinar en secció longitudinal a la regió prèvia a la bifurcació de l'artèria caròtida comuna (1 cm)^{200,201} (figura 9).

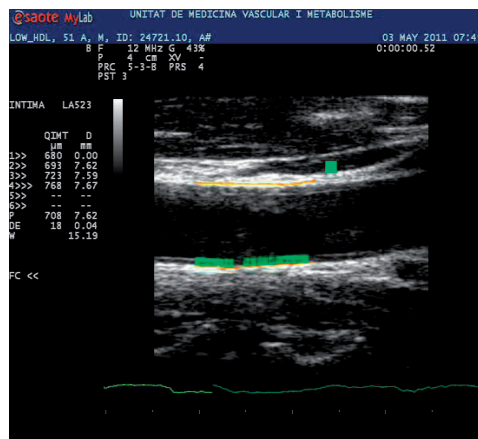


Figura 9. Imatge ecogràfica del GIMc en color verd definit com la distància que hi ha entre la interfàç de la llum carotídia-íntima i la interfàç mitjana-adventícia de la paret distal.

La presència de plaques d'ateroma es va avaluar en els tres segments i fou definida com a engruiximents focals del GIMc amb una altura $\geq 1,5$ mm o de la llum arterial $> 0,5$ mm o superior al 50% del GIMc adjacent^{199,202} (figura 10 i figura 11).

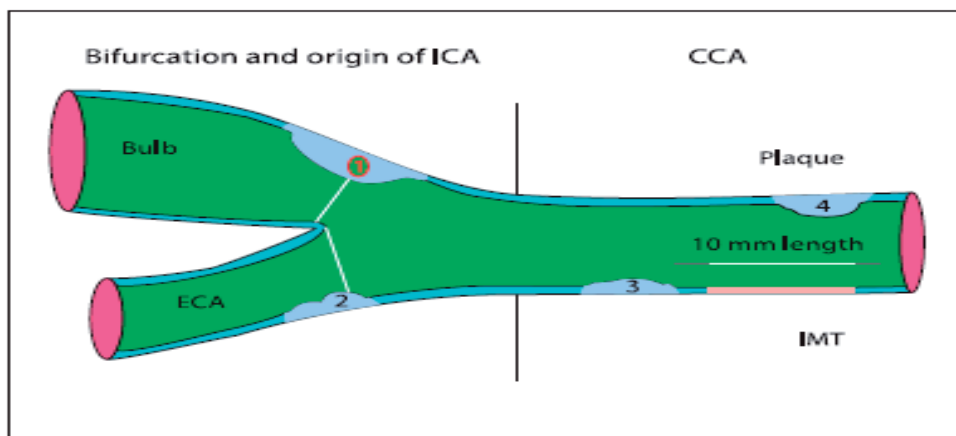


Figura 10. Representació gràfica de l'arbre carotí amb plaques i mesurament del GIMC segons el consens de Mannheim. 1: engruiximent $> 1,5$ mm. 2: engruiximent de la llum arterial $> 0,5$ mm. 3, 4: engruiximent $> 50\%$ del GIMc adjacent. Touboul PJ et al. Mannheim intima-media thickness consensus. Cerebrovasc Dis. 2004; 18:346-349.

Totes les imatges van ser captades per la mateixa persona entrenada en la realització d'ecografies caròtides. Es va calcular la mitjana del GIMc (μm) i la mitjana del costat dret i esquerre, i es va registrar la presència de placa d'ateroma en la primera visita. Als pacients diagnosticats de SAHS que estaven en seguiment per la UTRS, es va realitzar una segona ecografia per avaluar la resposta al tractament amb CPAP i en els no tributaris de CPAP, per valorar els canvis de GIMc.



Figura 11. Imatge ecogràfica d'una placa d'ateroma.

4.8) QUANTIFICACIÓ DEL GREIX INTRAABDOMINAL

El greix corporal es va mesurar amb el pacient en decúbit supí i els braços en extensió recolzats al llit en posició paral·lela al cos i segons els consensos²⁰³ (figura 12). Es va realitzar amb l'ecògraf de l'equip MyLab 60X – Vision ultrasonograph (Esaote, Itàlia).

La quantificació del greix intraadominal es va realitzar després del càlcul del GIMc en tots els pacients en la primera visita i als pacients amb SAHS, es va tornar a mesurar per valorar l'efecte de la CPAP i en els no tributaris de CPAP com a grup de control, per poder corroborar l'existència o no d'una redistribució de greix corporal com a efecte de la CPAP.

En cada pacient, es van quantificar les variables següents:

- SAT.** Es defineix com la distància entre la superfície anterior de la línia alba i la barrera de pell-greix. Es va mesurar per sonda de 7,5 MHz col·locada a l'epigastri i perpendicular a la pell amb imatge longitudinal a la línia alba.
- VAT.** S'estén des de la superfície anterior del fetge (lòbul esquerre) fins a la superfície posterior de la línia alba. Es mesura com el SAT.
- Índex de greix visceral (PIF).** És la distància entre la paret anterior de l'artèria aorta i la superfície posterior del múscul recte abdominal. Es va mesurar per sonda de 3,5 a 3,75 MHz, 1-5 cm per damunt del melic o a la línia mitjana entre el melic i l'apèndix xifoide.

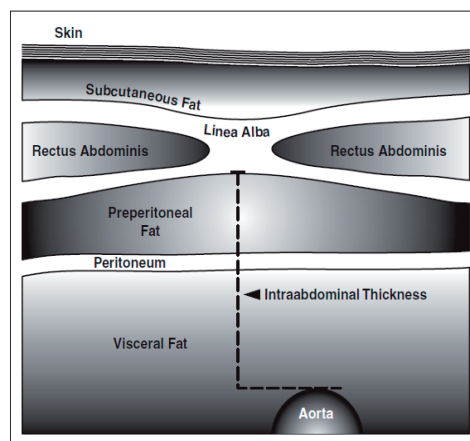
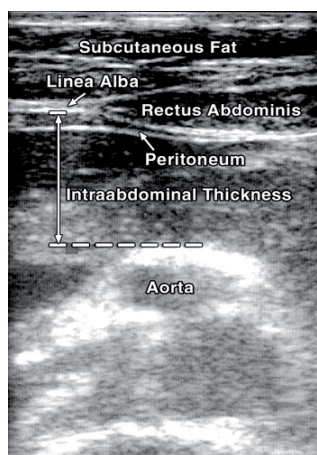


Figura 12. Punts de referència anatòmics per a l'estimació ecogràfica del greix intraabdominal. Vlachos IS et al. AJR Am J Roentgenol. 2007; 189: 1545-1553.

4.8) ANALISI ESTADÍSTICA

L'anàlisi estadística es va realitzar amb el programa SPSS versió 19.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, EUA). Totes les variables van ser estudiades amb la prova de Kolmogorov-Smirnov per comprovar la normalitat de les variables. Les variables contínues són presentades com la mitjana \pm la desviació estàndard per les dades en distribució normal i com la mitjana (percentil 25 - percentil 75) per a les dades que no segueixen una distribució normal i com a freqüències (n) o percentatges (%) per a les variables categòriques. La comparació de les mitjanes es va realitzar mitjançant l'anàlisi de la variància (ANOVA) i per a la comparació de variables qualitatives hem utilitzat la χ^2 . Les concentracions de FABP4 i FABP5 dels 4 grups, s'han avaluat amb l'ANOVA o la prova no paramètrica U de Mann-Whitney. L'associació bivariada va ser analitzada amb les correlacions Spearman o Pearson. L'efecte del tractament amb CPAP es va analitzar mitjançant la prova de Wilcoxon per a dades aparellades. L'anàlisi de regressió lineal es va realitzar per avaluar l'associació dels canvis GIMc i els efectes del tractament amb CPAP. Es van considerar significatius els valors de $p < 0,05$.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)

Raquel Català Pérez

Dipòsit Legal: T. 1566-2013



5. Resultats



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

5.1) CARACTERÍSTIQUES ANTROPOMÈTRIQUES, POLISOMNOGRÀFIQUES I BIOQUÍMIQUES BASALS DE LA POBLACIÓ

Els 125 participants de l'estudi foren classificats segons l'índex d'apnees-hipopnees (IAH) en quatre categories, segons la puntuació obtinguda en la PSG : no SAHS (n = 18), SAHS lleu (n = 33), moderada (n = 24) i SAHS greu (n = 50).

El tractament amb CPAP va ser prescrit a un total de 58 participants, dels quals 8 amb diagnòstic de SAHS moderada amb factors de risc cardiovascular o $ESS_0 > 10$ i per a tots els 50 participants amb criteris de SAHS severa. Entre ells, 2 participants van interrompre el tractament amb CPAP per intolerància i es van excloure de l'estudi i 8 participants es van negar a completar l'estudi de seguiment. Dels 48 participants amb CPAP que van finalitzar l'estudi: 7 eren SAHS moderada i 41 severa. En la figura 1 s'especifica el diagrama de flux del disseny de l'estudi.

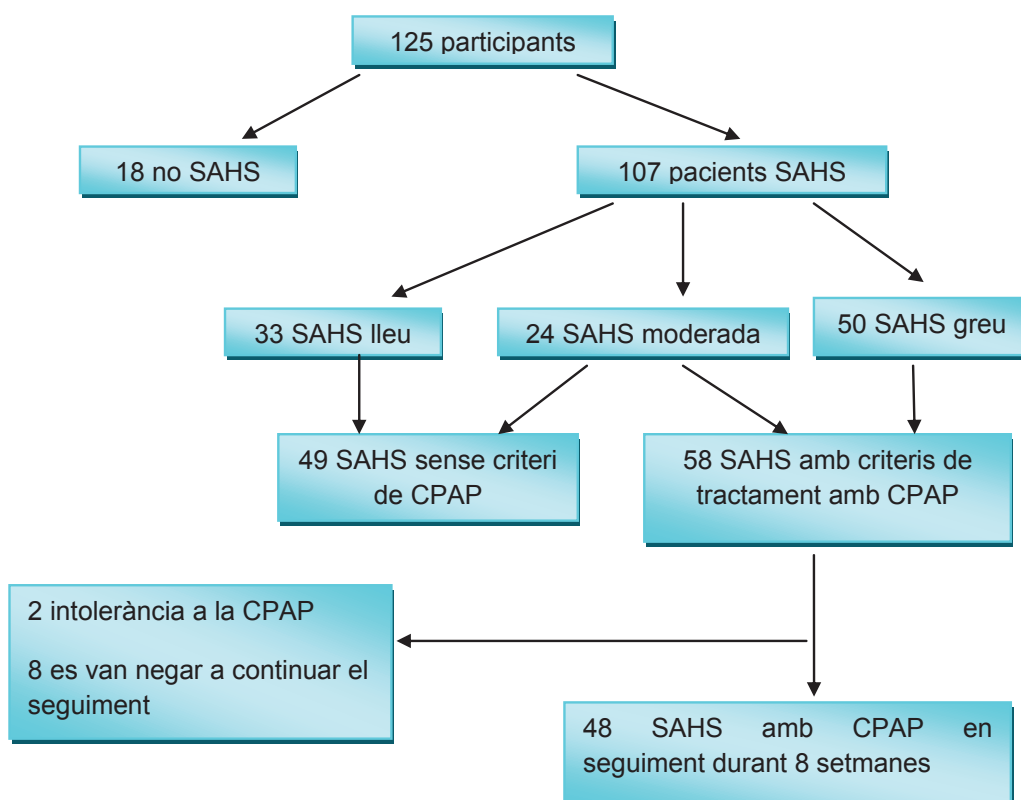


Figura 1. Diagrama de flux del disseny de l'estudi

Les característiques basals dels participants de l'estudi distribuïts d'acord amb les categories abans esmentades es resumeixen a la taula 1.

Taula 1. Característiques basals de la població de l'estudi

VARIABLE	no SAHS (n = 18)	SAHS lleu (n = 33)	SAHS moderada (n = 24)	SAHS severa (n = 50)	P
Edat, anys	43 ± 10	50 ± 10	52 ± 10	50 ± 10	0.028
Sexe, ♀/♂	7 / 11	6 / 27	4 / 20	8 / 42	0.191
IMC, kg/m ²	27.0 ± 2.7	29.7 ± 5.2	30.3 ± 3.9	33.7 ± 5.2	<0.001
Perímetre de coll, cm	38.6 ± 3.9	40.4 ± 3.9	42.0 ± 3.9	42.9 ± 3.3	<0.001
Perímetre abdominal, cm	91.6 ± 8.7	102.2 ± 13.2	105.0 ± 11.1	111.0 ± 9.7	<0.001
SAT, mm	10.2 ± 5.1	11.0 ± 4.4	11.8 ± 5.4	11.4 ± 5.9	0.802
VAT, mm	14.1 ± 4.3	17.1 ± 4.5	16.4 ± 6.1	15.8 ± 5.1	0.257
PIF, mm	36.3 ± 15.6	54.9 ± 21.8	58.7 ± 23.1	71.9 ± 17.9	<0.001
TAS, mmHg	123 ± 10	124 ± 13	126 ± 13	133 ± 19	0.107
TAD, mmHg	72 ± 9	76 ± 11	77 ± 13	79 ± 13	0.157
ESS ₀	6.5 ± 2.6	9.9 ± 5.0	8.8 ± 4.7	10.7 ± 5.0	0.010
FEV ₁ , l	3.3 ± 0.8	3.1 ± 0.8	3.0 ± 0.6	2.8 ± 0.8	0.318
FEV ₁ , %	96.6 ± 16.4	89.6 ± 16.4	86.6 ± 15.1	81.1 ± 18.4	0.038
FVC, l	4.1 ± 0.9	4.0 ± 1.0	4.0 ± 0.9	3.7 ± 1.0	0.393
FVC, %	96.6 ± 16.8	88.9 ± 13.8	86.7 ± 13.4	81.0 ± 17.9	0.030
FEV ₁ /FVC	79.3 ± 6.0	77.0 ± 6.2	75.7 ± 7.2	76.2 ± 8.7	0.487
IAH	1.0 (0.3 – 2.0)	9.7 (6.3 – 11.5)	22.2 (16.7 – 27.4)	64.7 (44.8 – 87.1)	<0.001
CT90, %	0.1 (0.0 – 0.2)	1.0 (0.2 – 2.8)	4.9 (1.6 – 8.0)	14.0 (6.2 – 34.5)	<0.001
CT85, %	0.0 (0.0 – 0.0)	0.0 (0.0 – 0.2)	0.5 (0.0 – 1.5)	3.2 (0.9 – 11.3)	<0.001
IDO	0.3 (0.1 – 0.6)	2.4 (0.9 – 5.8)	11.7 (7.3 – 18.9)	46.8 (24.1 – 75.2)	<0.001
SO ₂ mitjana, %	95.3 (94.0 – 96.2)	94.5 (93.6 – 95.3)	93.1 (92.5 – 94.5)	92.2 (90.2 – 93.2)	<0.001
Glucosa, mmol/l	5.1 (4.9 – 5.3)	5.3 (4.9 – 5.7)	5.6 (5.2 – 6.1)	5.5 (5.1 – 6.0)	0.013
HbA _{1c} , %	5.2 (4.9 – 5.4)	5.3 (5.1 – 5.7)	5.6 (5.4 – 5.8)	5.6 (5.3 – 6.0)	0.001
Insulina, mU/ml	5.0 (4.3 – 8.2)	7.6 (4.6 – 11.3)	7.6 (5.6 – 10.9)	10.3 (7.3 – 19.4)	0.001
HOMA-IR	1.1 (1.0 – 1.9)	1.9 (1.1 – 2.7)	1.9 (1.4 – 3.1)	2.5 (1.7 – 6.0)	<0.001
Colesterol total, mmol/l	5.0 ± 0.8	5.0 ± 0.8	5.0 ± 1.1	5.1 ± 0.9	0.644
LDL-colesterol, mmol/l	3.4 ± 0.8	3.5 ± 0.7	3.3 ± 0.9	3.5 ± 0.9	0.599
HDL-colesterol, mmol/l	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.0 ± 0.2	0.022
Triglicèrids, mmol/l	1.0 (0.7 – 1.3)	1.3 (0.9 – 2.0)	1.2 (0.7 – 1.7)	1.2 (1.0 – 1.6)	0.071
GGT, µKat/l	0.33 (0.17–0.53)	0.48 (0.33–0.55)	0.44 (0.26–0.58)	0.50 (0.33–0.78)	0.039
Creatinina, µmol/l	75 ± 17	80 ± 13	76 ± 13	75 ± 18	0.208
FABP4, µg/l*	19.1 ± 7.9	22.9 ± 10.0	24.4 ± 7.2	28.5 ± 10.0	0.001
FABP5, µg/l	5.6 (4.4 – 9.8)	5.7 (4.9 – 7.8)	5.7 (4.9 – 9.3)	5.8 (4.2 – 7.4)	0.812

Definició de les abreviacions: IMC = índex de massa corporal; TAS = pressió arterial sistòlica; TAD = pressió arterial diastòlica; ESS = test d'Epworth basal; FEV₁ = flux espiratori forçat; FVC = capacitat vital forçada; IAH = índex d'apnea – hipopnea; CT90 = temps de son amb SaO₂ per sota del 90%; CT85 = temps de son amb SaO₂ per sota del 85%; IDO = índex de dessaturació; HbA_{1c} = hemoglobina glicosilada; GGT = gamma-glutamilttransferasa. Resultats representats mitjana ± DS o mitjana (rang interquartil).

*Valors de la FABP4 ajustats per edat, sexe, IMC i nivells d'insulina

Els pacients SAHS eren d'edat més avançada que els pacients no SAHS i esta diferència va ser significativa ($P=0,004$). A més, els valors de IMC, perímetre abdominal i de coll augmentaven en funció de la severitat de la SAHS (P global $<0,001$) i les concentracions de colesterol HDL disminueixen a mesura que augmenta la severitat de la SAHS (P global $=0,022$) (taula 1). Tal com esperàvem, els valors de hemoglobina glicada, insulina i del HOMA augmentaven en funció de la gravetat de la SAHS (P global $=0,001$).

Pel que fa a la presència del **factors de risc cardiovasculars** clàssics com HTA, DM2 i DLP i l'antecedent de cardiopatia isquèmica i ictus en els pacients amb SAHS, no vàrem trobar diferències estadísticament significatives intergrups segons la severitat de la SAHS. Respecte a l'**hàbit tabàquic** (no fumadors, fumadors, ex fumadors), no hi havia diferències significatives segons la severitat de la SAHS: SAHS lleu (39,4% / 21,2% / 39,4%); SAHS moderada (41,7% / 20,8% / 37,5%) i SAHS severa (28,0% / 24,0% / 48,0%), respectivament. Sols un 10 % dels pacients amb SAHS greu foren diagnosticats de malaltia pulmonar obstructiva crònica (MPOC), un 4,2% amb SAHS moderada i un 3% SAHS lleu, però les diferències intergrups no foren estadísticament significatives. Destaca que el 24% dels pacients amb SAHS severa tenien professió de risc, és a dir, eren conductors professionals.

Els nivells de la FABP4, però no els de la FABP5, són ajustats pels principals factors confonedors: edat ($r = 0,257$, $P = 0,004$), sexe ($r = -0,466$, $P = 0,001$), IMC ($r = 0,512$, $P < 0,001$) i nivells d'insulina ($r = 0,371$, $P < 0,001$).

Els nivells circulants de la FABP4 foren significativament més elevats en el grup SAHS comparat amb el grup no SAHS, però no els nivells de la FABP5 que no augmenten en el grup SAHS. Els nivells circulants de la FABP4 van ser més alts en els pacients amb SAHS comparats amb els no SAHS ($25,8 \pm 9,7$ $\mu\text{g/l}$ versus $19,1 \pm 7,9$ $\mu\text{g/l}$, $P = 0,003$), independentment de l'edat, el sexe, l'índex de massa corporal i els nivells d'insulina (figura 2). En canvi, els nivells de la FABP5 van ser similars en els grups SAHS i no SAHS ($P = 0,919$) (figura 3).

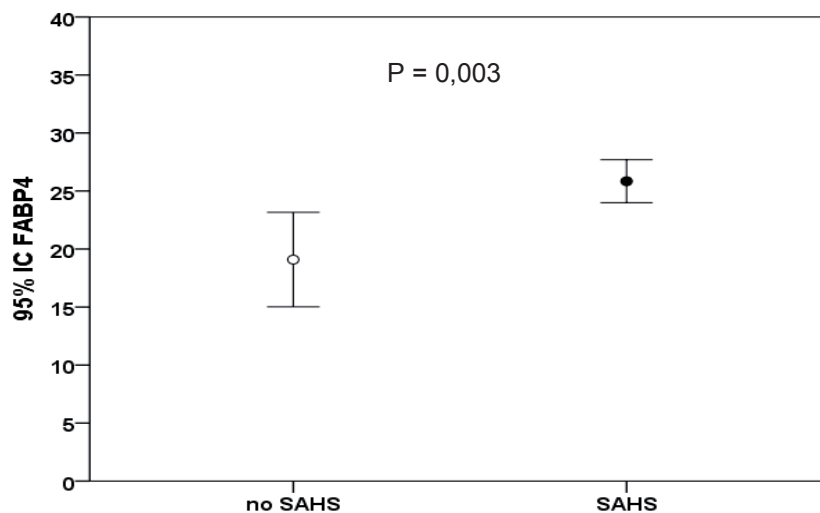


Figura 2. Nivells circulants de la FABP4 en no SAHS (cercle blanc) i en SAHS (cercle negre)

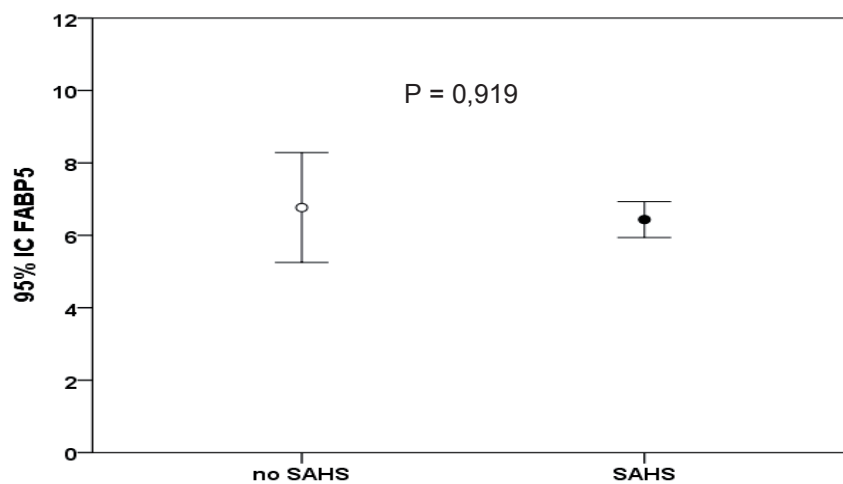


Figura 3. Nivells circulants de la FABP5 en no SAHS (cercle blanc) i en SAHS (cercle negre)

Els nivells de la FABP4 augmenten segons la severitat de la SAHS, però no els nivells de la FABP5 que no canvien intergrups. Els nivells basals de la FABP4 augmentaven segons la gravetat de la SAHS (P global = 0,017). En canvi, els nivells de la FABP5 van ser similars independentment de la gravetat de la SAHS (P global= 0,641) (figura 4).

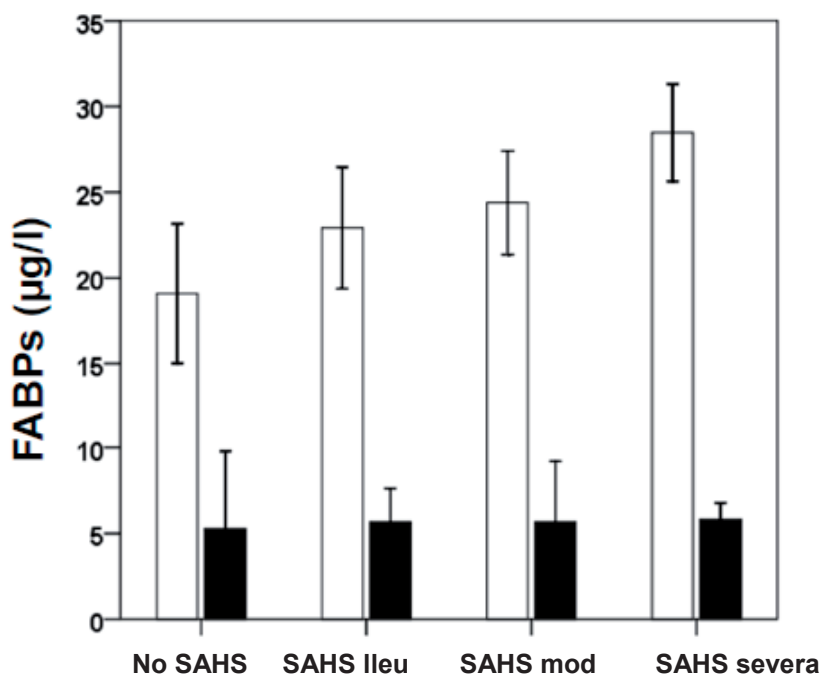


Figura 4. Comparació dels nivells circulants de la FABP4 (barres blanques) i la FABP5 (negres) basals segons la severitat de la SAHS.

Els resultats representen la mitjana i la DS dels nivells de la FABP4 o la mitjana i els 25^{ns}-75^{ns} percentils per als nivells de FABP5.

***Valors de FABP4 ajustats per edat, sexe, IMC i nivells d'insulina.**

Les variables polisomnogràfiques dels pacients SAHS queden reflectides en la taula 2.

Taula 2. Variables polisomnogràfiques dels pacients SAHS

VARIABLE	SAHS LLEU (n=33)	SAHS MODERADA (n=24)	SAHS GREU (n=50)	p
IAH	9,4 ± 2,8	22,1 ± 5,0	67,9 ± 25,6	< 0,001
CT90, %	0,99 (0,24 – 2,76)	4,94 (1,63 – 8,01)	14,0 (6,2 – 34,5)	< 0,001
CT85, %	0,00 (0,00 – 0,18)	0,45 (0,03 – 1,49)	3,20 (0,87 – 11,34)	< 0,001
IDO	2., (0,9 – 5,8)	11,7 (7,3 – 18,9)	46,8 (24,1 – 75,2)	< 0,001
SaO ₂ mitjana, %	94,3 ± 1,2	93,3 ± 1,6	91,4 ± 2,8	< 0,001
SaO ₂ mínima, %	83,5 ± 6,6	76,0 ± 9,1	67,8 ± 8,5	< 0,001
Apnees obstructives,n	19,0 (8,0 – 34,5)	77,0 (34,8 – 100,0)	224,5 (143,8-434,3)	< 0,001
Apnees centrals,n	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 1,0)	0,114
Apnees mixtes,n	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 4,0)	0,0 (0,0 – 6,3)	0,015
Hipopnees	44,0 (27,5 – 53,0)	74,5 (37,5 – 116,5)	145,5 (71,8 – 216,3)	< 0,001
Durada mitjana apnees,segons	18,7 ± 6,8	22,1 ± 7,2	22,8 ± 5,7	0,030
Durada mitjana hipopnees, segons	23,3 ± 3,9	23,4 ± 5,1	20,1 ± 3,4	< 0,001
CPAP,%	0	33,3	100	< 0,001

Definició de les abreviacions: IAH = índex d'apnea – hipopnea; CT90 = temps de son amb SaO₂ per sota del 90%; CT85 = temps de son amb SaO₂ per sota del 85%; IDO = índex de dessaturació.

5.2) CORRELACIONS DELS NIVELLS BASALS DE LA FABP4 I LA FABP5 AMB LES VARIABLES ANTROPOMÈTRIQÜES, BIOQUÍMIQUES I POLISOMNOGRÀFIQUES

A la taula 3, es presenten les correlacions de la FABP4 i de la FABP5 amb els paràmetres clínics, bioquímics i polisomnogràfics. **Els nivells de la FABP4 i de la FABP5 es correlacionen positivament en els pacients SAHS.** Pel que fa a la FABP4 circulant, vàrem observar una correlació positiva i estadísticament significativa amb les variables antropomètriques i el metabolisme de la glucosa independent de l'edat, el sexe, l'índex de massa corporal i els nivells d'insulina i no mostraren associació amb el perfil lipídic d'estos pacients.

Taula 3. Correlacions de FABP4* ajustada i FABP5 basal amb les variables antropomètriques, bioquímiques i polisomnogràfiques.

Variable	FABP4		FABP5	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Pes	0,458	< 0,001	0,202	0,037
Altura	-0,460	< 0,001	0,025	0,797
Perímetre de coll	0,185	0,056	0,080	0,413
Perímetre abdominal	0,623	< 0,001	0,261	0,007
SAT	0,432	< 0,001	0,215	0,027
VAT	0,087	0,378	0,117	0,231
PIF	0,177	0,081	0,210	0,038
TAS	0,167	0,085	0,148	0,127
TAD	0,228	0,018	0,074	0,450
ESS ₀	0,288	0,003	-0,011	0,912
FEV ₁	-0,565	< 0,001	0,128	0,208
FVC	-0,622	< 0,001	0,078	0,448
FEV ₁ /FVC	0,033	0,748	0,127	0,211
IAH	0,298	0,002	-0,012	0,902
Nbre. d'apnees obstructives	0,209	0,031	0,000	1,000
Nbre. d'hipopnees	0,312	0,001	-0,043	0,659
CT90	0,334	< 0,001	0,126	0,196
CT85	0,317	0,001	0,173	0,074
IDO	0,246	0,006	0,170	0,080
SaO ₂ mitjana	-0,411	< 0,001	-0,106	0,277
SaO ₂ mínima	-0,379	< 0,001	-0,037	0,705
Glucosa	0,278	0,004	0,067	0,495
HbA _{1c}	0,305	0,001	0,162	0,096
Colesterol total	-0,145	0,137	0,205	0,034
LDL-colesterol	-0,182	0,060	0,201	0,037
HDL-colesterol	0,032	0,744	-0,072	0,463
Triglicèrids	-0,023	0,816	-0,150	0,122
Creatinina	-0,317	0,001	-0,059	0,544
GGT	-0,036	0,715	0,217	0,025
FABP4	-	-	0,238	0,013

Definició de les abreviacions: IMC = índex de massa corporal; TAS = pressió arterial sistòlica; TAD = pressió arterial diastòlica; ESS = test d'Epworth basal; FEV₁ = flux espiratori forçat; FVC = capacitat vital forçada; IAH = índex d'apnea – hipopnea; CT90 = temps de son amb SaO₂ per sota del 90%; CT85 = temps de son amb SaO₂ per sota del 85%; IDO = índex de dessaturació; HbA_{1c} = hemoglobina glicosilada; GGT = gamma-glutamilttransferasa

* Valors de la FABP4 ajustats per edat, sexe, IMC i nivells d'insulina excepte en l'estudi de les associacions amb el pes, el perímetre de cintura, de coll, l'alçada, el SAT, VAT i PIF

Els nivells de FABP5 també es van correlacionar amb el pes i el perímetre abdominal. La FABP5 es correlaciona positivament i estadísticament significativa amb els nivells de colesterol total i amb la FABP4.

Els nivells de FABP4 i FABP5 es van correlacionar amb el SAT, mentre que la FABP5 també es va associar significativament a PIF ($P=0,038$).

5.3) ASSOCIACIÓ DE LA FABP4 I DE LA FABP5 CIRCULANTS AMB ELS PARÀMETRES POLISOMNOGRÀFICS DELS PACIENTS SAHS

La FABP4 circulant basal, però no FABP5, es van associar amb els paràmetres polisomnogràfics específics de SAHS de manera independent a les variables de confusió (taula 3). És a dir, la FABP4 circulant a l'inici de l'estudi es va correlacionar positivament amb la percepció individual de somnolència diürna (ESS_0) ($r = 0,288$, $P = 0,003$) i la verificació de SAHS per variables PSG com l'IAH ($r = 0,298$, $P = 0,002$), el nombre d'apnees i hipopnees obstructives ($r = 0,209$, $P = 0,031$ i $r = 0,312$, $P = 0,001$, respectivament), l'IDO ($r = 0,246$, $P = 0,006$) i el temps de son amb SaO_2 per sota de 90% (CT90) ($r = 0,334$, $P < 0,001$) i el CT85 ($r = 0,317$, $P = 0,001$) (taula 3).

També els nivells circulants de la FABP4 es van correlacionar inversament i significativament amb la SaO_2 mitjana ($r = -0,411$, $P < 0,001$), FEV1 ($r = -0,565$, $P < 0,001$) i FVC ($r = -0,622$, $P < 0,001$) (taula 3).

La correlació entre els nivells circulants de la FABP4 i el CT90 es va incrementar després d'excloure les variables confusores com l'efecte de l'edat, el sexe i l'IMC en ambdues variables ($r = 0,741$, $P < 0,001$) (figura 5). Pel que fa a les concentracions plasmàtiques de FABP5, la correlació amb la CT90 no va augmentar (taula 3 i figura 5).

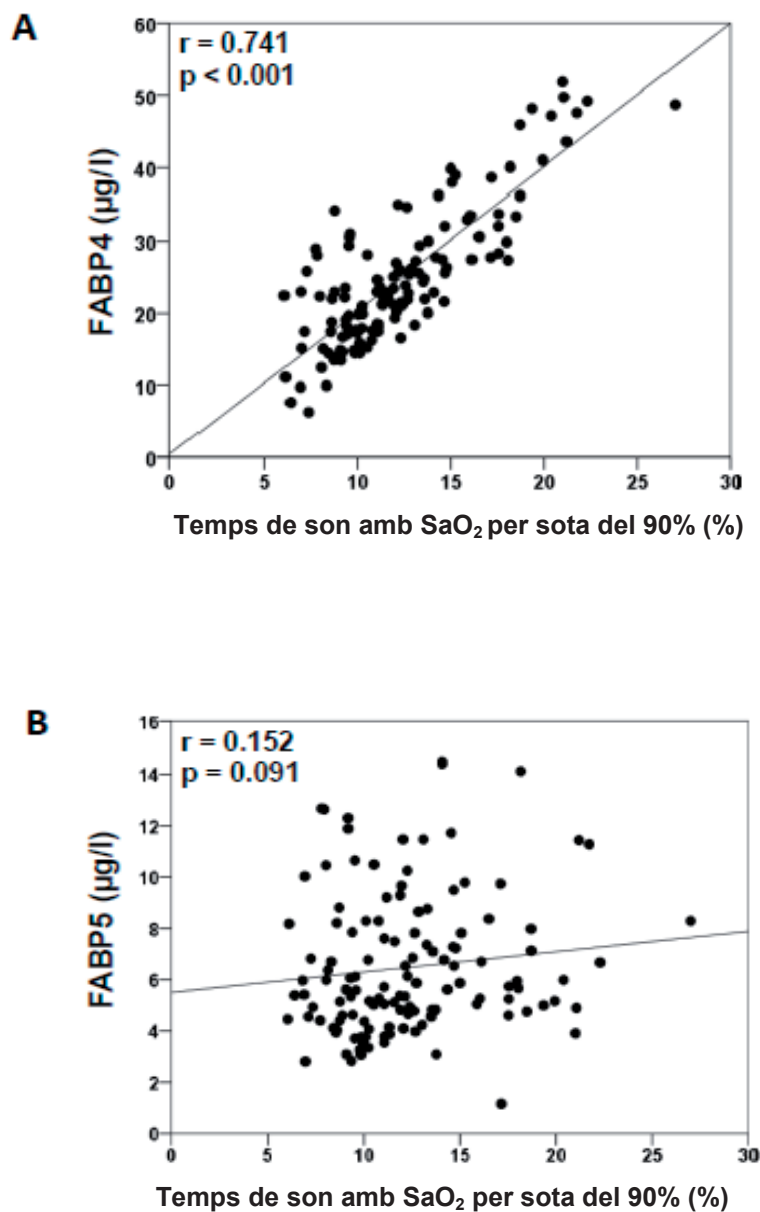


Figura 5. Correlació entre els nivells basals de la FABP4 (A) i de la FABP5 (B) amb el temps de son amb SaO_2 per sota del 90%. *Valors de la FABP4 ajustats per edat, sexe, IMC i nivells d'insulina

També, l'anàlisi de regressió logística binària va revelar que l'increment d'1 unitat en la FABP4 circulant representa un augment del 10,8% del risc de tindre SAHS ($P = 0,010$) i, en els pacients amb SAHS, un increment d'1 unitat de la FABP4 circulant representa el 6,2% més de risc de tindre SAHS greu versus SAHS lleu ($P = 0,020$). Ambdues observacions són independents de l'edat, el sexe, l'índex de massa corporal i els valors d'insulina dels pacients.

5.4) EFECTE DE LA INTERVENCIÓ DE LA CPAP EN ELS NIVELLS CIRCULANTS DE LA FABP4 I DE LA FABP5

Al final de la intervenció de l'estudi inicial (8 setmanes), el compliment del tractament amb CPAP es va aconseguir en un 83% dels participants ($n = 48$) amb una mitjana de compliment de 6,0 (5,0–7,0) hores/nit i una pressió de CPAP mitjana de $8,9 \pm 2,0$ cm H₂O.

Tots els participants de l'estudi de seguiment van mostrar millora estadísticament significativa en la seua somnolència diürna mitjançant la puntuació d'Epworth, passant d'una puntuació inicial (EES_0) de $10,96 \pm 5,03$ a una puntuació (ESS_1) (de $4,35 \pm 2,70$) ($P < 0,001$). Només 1 pacient (2%) després de 8 setmanes en tractament amb CPAP va tindre una puntuació $EES_1 > 10$.

Després del tractament amb CPAP, es van observar canvis en el perfil lipídic. Els paràmetres antropomètrics (pes i IMC) van canviar significativament després del tractament amb CPAP ($94,1 \pm 11,6$ kg pre-CPAP versus $92,7 \pm 11,5$ kg després de la CPAP, $P = 0,013$ i $32,9 \pm 4,5$ kg/m² pre-CPAP versus $32,5 \pm 4,5$ kg/m² post-CPAP, $P = 0,010$, respectivament). No obstant això, no es van observar canvis pel que fa al metabolisme de la glucosa, però sí una disminució en els nivells de colesterol total ($P = 0,023$) i del LDL colesterol ($P = 0,012$) (taula 4).

Taula 4. Canvis en les variables antropomètriques i bioquímiques pre-CPAP i post-CPAP

	Pre-CPAP	Post-CPAP	p
Epworth	10,96 ± 5,03	4,35 ± 2,70	< 0,001
Pes,kg	94,1 ± 11,6	92,7 ± 11,5	0,013
IMC, kg/m ²	32,9 ± 4,5	32,5 ± 4,5	0,010
Glucosa, mmol/l	6,1 ± 2,3	6,1 ± 1,9	0,581
HbA _{1c} , %	5,8 ± 0,8	5,7 ± 0,8	0,185
Insulina, mU/ml	9,7 (7,5-17,1)	9,3 (6,7-16,6)	0,841
HOMA-IR	2,7 (1,7-5,0)	2,4 (1,8-4,2)	0,350
Colesterol total, mmol/l	5,15 ± 1,06	4,86 ± 1,03	0,023
HDL-colesterol, mmol/l	1,03 ± 0,25	1,08 ± 0,31	0,174
LDL-colesterol, mmol/l	4,12 ± 1,00	3,79 ± 0,94	0,012
Colesterol no-HDL, mmol/l	1,20 (1,00-1,60)	1,30 (0,90-2,10)	0,247
Triglicèrids, mmol/l	0,48 (0,32-0,70)	0,44 (0,32- 0,57)	0,104
GGT, µKat/l	77 ± 17	77 ± 19	0,941
Creatinina, µmol/l	374 ± 73	363 ± 72	0,128
Urat, µmol/l			

Definició de les abreviacions: IMC = índex de massa corporal ; GGT = gamma-glutamilttransferasa

HbA_{1c} = hemoglobina glicosilada

Els nivells plasmàtics de la FABP4 després del tractament amb CPAP no van augmentar, però sí la FABP5. La concentració mitjana de la FABP4 va mostrar una tendència a disminuir amb el tractament amb CPAP (28,4 ± 9,1 µg/l pre-CPAP versus 27,1 ± 3,8 µg/l després de la CPAP, P = 0,442) (figura 6). En canvi, les concentracions plasmàtiques de la FABP5 després de CPAP van augmentar [5,7 (4,4-7,5 µg/l) pre-CPAP versus 7,4 (6,3-9,4) µg/l després de la CPAP, P < 0,001] (figura 6).

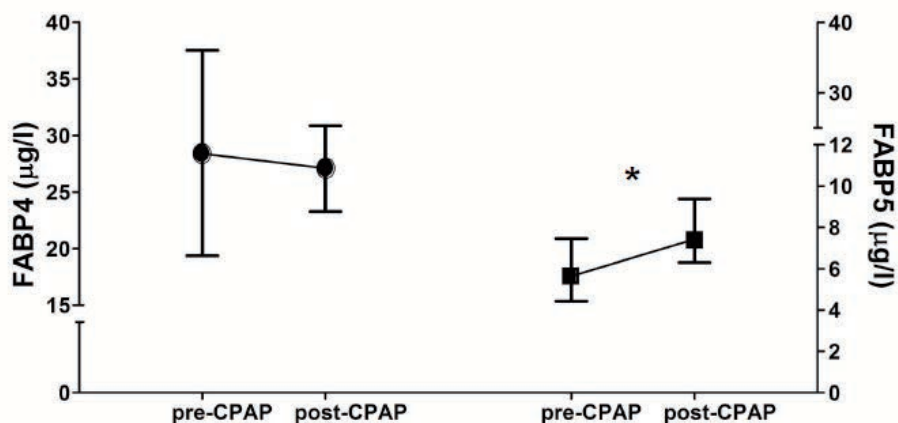


Figura 6. Efecte del tractament amb CPAP en els nivells de la FABP4 (cercles) i de la FABP5 (quadrets). Els resultats representen la mitjana i la DS dels nivells de la FABP4 o la mitjana i els 25^{ns}-75^{nsh} percentils per als nivells de la FABP5. Valors de la FABP4 ajustats per edat, sexe, IMC i nivells d'insulina.

La FABP4 plasmàtica disminueix en els pacients amb SAHS severa després del tractament amb CPAP. La reducció dels nivells de la FABP4 circulant és estadísticament significativa en els pacients SAHS més greus ($n = 14$); és a dir, en aquells amb IAH més elevat i major temps de son amb $\text{SaO}_2 < 90\%$ (CT90), on s'observen uns nivells de $30,7 \pm 9,3 \mu\text{g/l}$ pre-CPAP versus $27,7 \pm 4,4 \mu\text{g/l}$ després de la CPAP ($P = 0,026$).

Per confirmar els resultats i ampliar l'estudi, es van dividir els pacients portadors de CPAP en tercils de CT90; és a dir, els individus del tercer tercil són els que presentaven més dessaturació nocturna. Es va observar una disminució estadísticament significativa en la FABP4 circulant en els pacients del tercer tercil després de 8 setmanes en tractament amb CPAP (Figura 7).

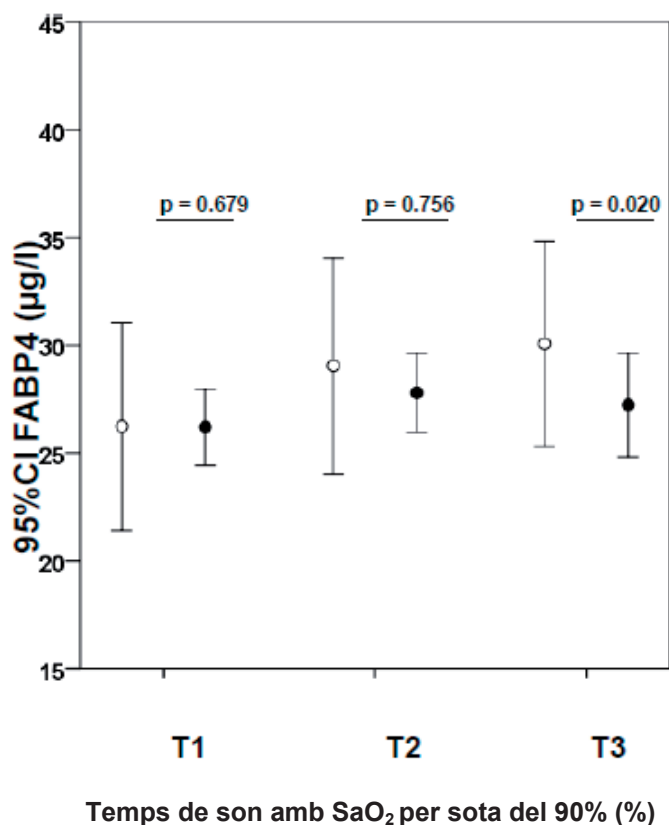


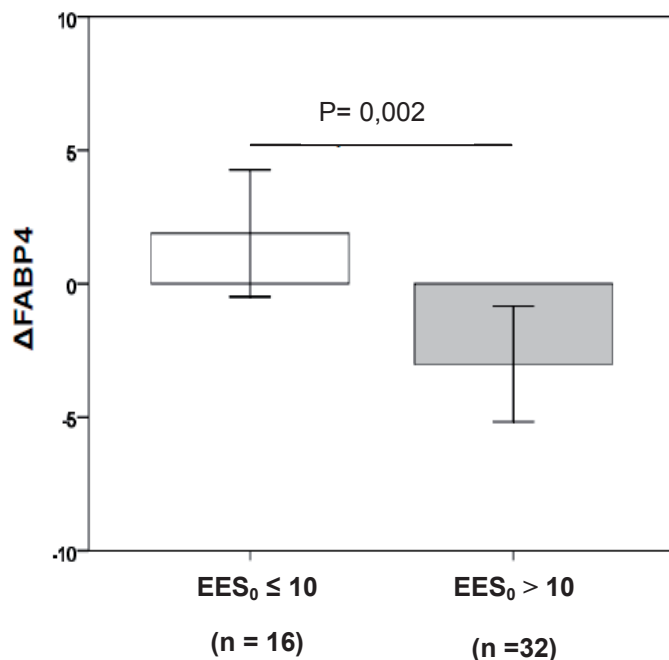
Figura 7. Nivells circulants de la FABP4 pre-CPAP (cercle blanc) i post-CPAP (cercle negre) en funció dels tercers de CT90 (T1, T2 i T3)

Els pacients portadors de CPAP amb ESD presenten una disminució dels nivells de la FABP4 post-CPAP. Els pacients amb criteris de CPAP van ser dividits segons la seua puntuació inicial d'Epworth (EES_0) en dos grups: $EES_0 \leq 10$ (sense ESD) i $EES_0 > 10$ (amb ESD). A la taula 5, es resumeixen les característiques clíniques i polisomnogràfiques dels dos grups.

Els pacients amb ESD tenien un IAH i una CT90 més elevada, encara que la diferència no fou estadísticament significativa. A més, els pacients amb hipersònnia diürna presentaven més percentatge de dislipèmia i de DM ($P=0,014$ i $P=0,043$, respectivament). Els pacients portadors de CPAP amb $EES_0 \leq 10$ van presentar augment en els seus nivells FABP4 en resposta al tractament amb CPAP ($24,7 \pm 7,2$ µg/l de pre-CPAP versus $26,6 \pm 3,5$ µg/l post-CPAP, $P = 0,030$). En canvi, en els pacients SAHS amb ESD, la reducció de la FABP4 circulant fou estadísticament significativa ($30,3 \pm 9,5$ µg/l de pre-CPAP versus $27,3 \pm 4,0$ µg/l post-CPAP,

P = 0,020). La diferència en el canvi de FABP4 en el seguiment que s'observa en els pacients amb ESD respecte als SAHS sense ESD és estadísticament significativa (P=0,002). (Figura 8)

Figura 8. Valors de la diferència de FABP4 pre-CPAP i post-CPAP dels pacients segons la puntuació basal del test d'Epworth (EES₀).



Taula 5. Característiques basals dels pacients portadors de CPAP segons la puntuació basal del test d'Epworth (EES₀)

Variable	ESS ₀ < 10 (n = 16)	ESS ₀ > 10 (n = 32)	P
ESS	5,5 ± 2,7	14,0 ± 3,3	< 0,001
FEV ₁ , l	3,2 ± 0,5	2,6 ± 0,9	0,036
IAH	53,5 ± 24,4	69,1 ± 30,4	0,110
CT90	9,4 (5,8 - 30,7)	16,5 (7,5 - 45,4)	0,298
CT85	1,8 (0,5 - 4,3)	4,6 (1,0 - 16,5)	0,061
IDO	44,6 (24,1 - 63,9)	63,4 (42,9 - 83,2)	0,052
SaO ₂ mitjana, %	92,3 ± 1,9	90,9 ± 2,6	0,043
SaO ₂ mínima, %	70,7 ± 9,9	66,6 ± 7,7	0,149
Obesitat, %	62,5	75	0,369
HTA, %	37,5	56,2	0,221
Dislipidèmia, %	6,2	40,6	0,014
Diabetes, %	0	21,9	0,043

5.5) GRUIX DE L'ÍNTIMA-MITJANA CAROTIDI (GIMc) I FREQÜÈNCIA DE PLAQUES D'ATEROMA A NIVELL BASAL DE LA POBLACIÓ

Els pacients SAHS presenten major grau d'arteriosclerosi subclínica. Els valors de GIMc van ser més elevats en el grup SAHS que en el no SAHS ($665,4 \pm 120,1$ versus $581,3 \pm 78,1 \mu\text{m}$, $P = 0,005$) independentment de l'edat, el gènere i l'IMC (figura 9). No es van observar diferències significatives en els valors de GIMc en els pacients SAHS associat a factors de risc cardiovascular com la presència d'HTA, DM o dislipèmia.

A més a més, es va detectar major nombre d'individus amb placa d'ateroma en el grup SAHS (48% versus 2%, $P = 0,004$). Segons la severitat del SAHS, les plaques observades es van distribuir : 54 % en SAHS severa, 37.5 % en moderada i 45% en SAHS lleu ($P=0,394$).

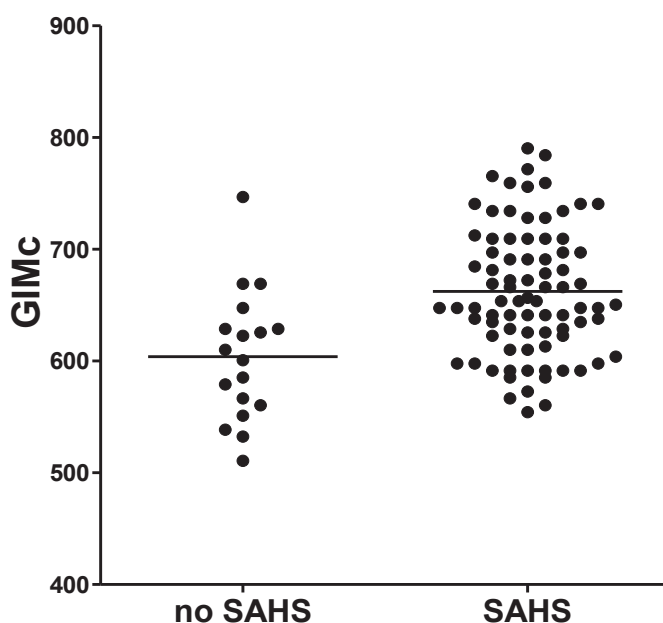


Figura 9. Valors individuals del GIMc ajustat per edat, sexe i IMC en pacients SAHS i no SAHS

En la nostra població, el GIMc no augmenta segons la severitat de la SAHS.

Pel que fa a la severitat de la SAHS, s'observa que el GIMc està més augmentat en els pacients SAHS moderada ($695 \pm 135 \mu\text{m}$) que en els SAHS lleu ($652 \pm 109 \mu\text{m}$) i els pacients SAHS severa ($659 \pm 119 \mu\text{m}$) (figura 10).

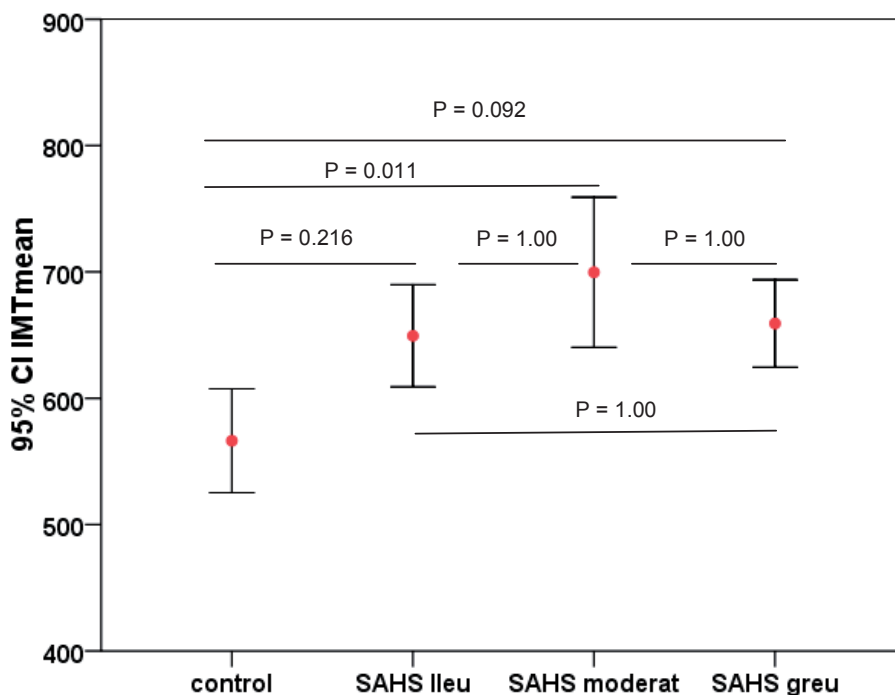


Figura 10. Valors de GIMc segons la severitat de la SAHS

5.6) CORRELACIONS A NIVELL BASAL DE GIMc AMB LES VARIABLES ANTROPOMÈTRIQÜES, BIOQUÍMIQUES I POLISOMNOGRÀFIQUES EN ELS PACIENTS SAHS

Els valors de GIMc es van correlacionar positivament amb FABP4 ($r = 0,22$, $P = 0,022$), la puntuació del test d'Epworth basal ($r = 0,23$, $P = 0,014$) i l'edat ($r = 0,45$, $P < 0,001$) i no es va correlacionar amb ninguna variable polisomnogràfica específica de SAHS. Tampoc vàrem observar correlació amb els nivells basals de FABP5 ni amb el perfil lipídic ni amb el metabolisme de la glucosa ni amb SAT, VAT ni PIF (Taula 6).

Taula 6. Correlacions a nivell basal de GIMc amb les variables antropomètriques, bioquímiques i polisomnogràfiques

Variable	GIMc	
	r	P
Edat	0,455	<0,001
IMC	0,073	0,456
Altura	0,042	0,669
Perímetre de coll	0,169	0,081
Perímetre abdominal	0,101	0,300
SAT	-0,029	0,771
VAT	-0,132	0,177
PIF	0,048	0,639
ESS ₀	0,238	0,014
FEV ₁	-0,169	0,096
FVC	-0,120	0,239
FEV ₁ /FVC	-0,103	0,315
IAH	0,026	0,792
Núm. de apnees obstructives	0,079	0,420
Núm. de hipopnees	-0,016	0,277
CT90	0,057	0,561
CT85	0,021	0,828
IDO	0,090	0,354
SaO ₂ mitjana	-0,034	0,725
SaO ₂ mínima	0,017	0,859
Glucosa	0,051	0,600
HbA _{1c}	0,160	0,099
Colesterol total	0,057	0,562
LDL-colesterol	0,052	0,591
HDL-colesterol	0,072	0,462
Triglicèrids	0,042	0,666
Creatinina	0,070	0,477
FABP4	0,221	0,022
FABP5	-0,003	0,977

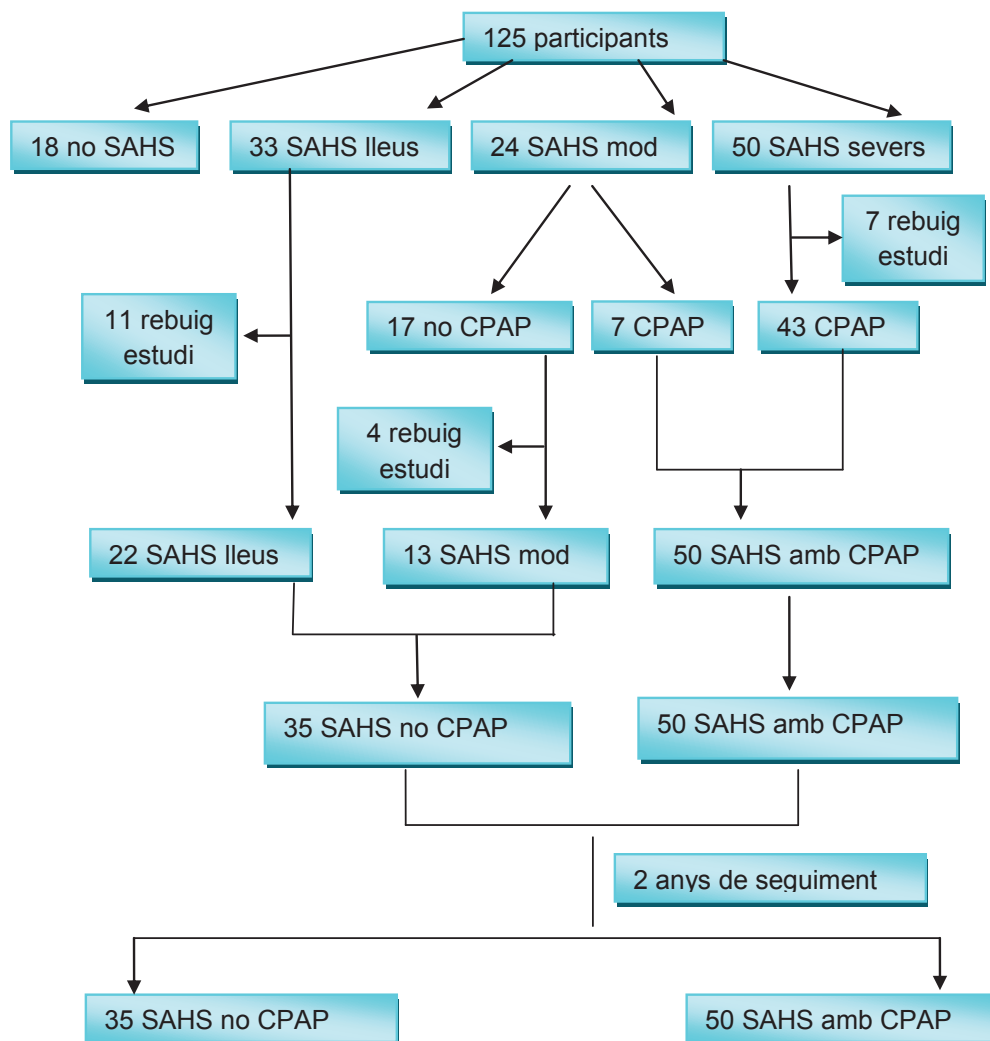
Definició de les abreviacions: IMC = índex de massa corporal; ESS = test d'Epworth basal; FEV₁ = fluxe espiratori forçat; FVC = capacitat vital forçada; IAH = índex d'apnea – hipopnea; CT90 = temps de son amb SaO₂ per sota del 90%; CT85 = temps de son amb SaO₂ per sota del 85%; IDO = índex de dessaturació; HbA_{1c} = hemoglobina glicosilada.

* **Valors de la FABP4 ajustats per edat, sexe, IMC i nivells d'insulina**

5.7) EFECTE DEL TRACTAMENT AMB CPAP A LLARG TERMINI DELS PACIENTS SAHS SOBRE L'ARTERIOSCLEROSI SUBCLÍNICA

Dels 125 participants inicials de l'estudi, 85 pacients amb SAHS van continuar seguiment en la nostra UTRS, però 22 van rebutjar continuar en l'estudi. Els 85 SAHS van ser controlats durant un període de seguiment de 2,1 (1,6-2,4) anys, 50 dels quals tractats amb CPAP (43 de severos i 7 de moderats) i 35 SAHS no tributaris al tractament amb CPAP (13 de moderats i 22 de SAHS lleus) (figura 11). Per comparar l'efecte del tractament a llarg termini, es van dividir en dos subgrups: SAHS amb CPAP i SAHS sense CPAP. Al final del seguiment, es va realitzar una nova ecografia carotídia i quantificació del greix intrabdominal.

Figura 11. Diagrama de flux de l'estudi de seguiment.



Els pacients SAHS amb indicació de CPAP presenten major grau d'arteriosclerosi subclínica a nivell basal. Les característiques clíniques, bioquímiques i polisomnogràfiques d'ambdós grups a nivell basal; és a dir, a la primera visita, es poden observar a la taula 7.

Taula 7. Característiques clíniques dels pacients SAHS amb CPAP i dels SAHS sense CPAP a nivell basal

Variable	CPAP grup (n =50)	No CPAP grup (n=35)	P
Edat, anys	51,9 ± 10	50,6 ± 7,8	NS
Sexe, % ♂	82	80	NS
Fumadors, %	22	14,3	NS
Hipertensió, %	48	22,9	0,01
DM 2, %	16	2,9	NS
Dislipèmia, %	34	20	NS
Obesitat, %	68	45,7	0,03
IMC, kg/m ²	33 ± 4,5	29,8 ± 4,7	0,002
TAS, mmHg	132,4 ± 17,9	122,8 ± 11,2	0,006
TAD, mmHg	78,6 ± 11,9	76 ± 11,7	NS
Glucosa, mmol/l	6 ± 2,2	5,3 ± 0,6	NS
Colesterol total, mm/L	5 ± 1	5,3 ± 0,8	NS
LDLc, mmol/L	3,4 ± 0,9	3,4 ± 0,72	NS
HDLc, mmol/L	1 ± 0,24	1,1 ± 0,3	0,02
Triglicèrids, mmol/L	1,4 ± 0,69	1,5 ± 0,87	NS
No-HDLc, mmol/L	4 ± 0,96	4,1 ± 0,9	NS
Creat, mmol/L	75,9 ± 17,7	77,7 ± 14	NS
Mitjana GIMc, μm	668,5 ± 121,1	640,2 ± 115,6	NS
Plaques, %	54	37,1	NS
Epworth basal	11,3 ± 4,9	9,5 ± 5,3	0,006
FEV1, %	81,4 ± 18,2	91,1 ± 14,7	0,01
IAH	62,6 ± 29,5	14,2 ± 7,4	< 0,0001
CT90, %	22,6 ± 20,6	3 ± 5,3	< 0,0001
SaO ₂ mitjana, %	91,4 ± 2,4	94,3 ± 1,1	< 0,0001

Definició de les abreviacions: IMC = índex de massa corporal; TAS = pressió arterial sistòlica; TAD = pressió arterial diastòlica; ESS = test d'Epworth basal; FEV₁ = flux espiratori forçat; IAH = índex d'apnea – hipopnea; CT90 = temps de son amb SaO₂ per sota del 90%; CT85 = temps de son amb SaO₂ per sota del 85%.

Tal com podem observar a la taula, no es van trobar diferències estadísticament significatives en ambdós grups, pel que fa a l'edat i al sexe i tampoc, respecte a la presència de DM2 i dislipèmia, però en el grup CPAP hi havia una major proporció d'HTA i amb major IMC. En la primera visita, tant el GIMc com la presència de plaques d'ateroma fou més elevada en el grup CPAP, però la diferència no fou estadísticament significativa.

El tractament amb CPAP produeix regressió del GIMc en els pacients SAHS. En el grup SAHS sense CPAP, la mitjana del GIMc no va canviar significativament durant el seguiment ($666,1 \pm 116,6$ versus $648,2 \pm 110,2 \mu\text{m}$, $P = 0,249$); mentre que en el grup CPAP, es va observar una disminució del GIMc estadísticament significativa ($679,8 \pm 122,9$ versus $631,8 \pm 118,0 \mu\text{m}$ $P < 0,001$) (figura 12).

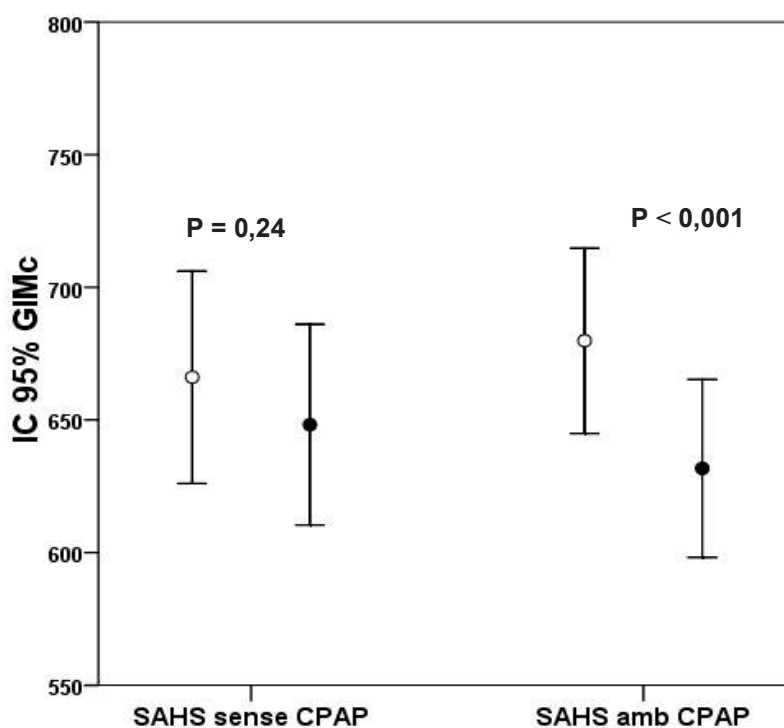


Figura 12. Comparació del GIMc a nivell basal (cercle blanc) i als 2 anys de seguiment (cercle negre) en el pacients SAHS en funció del tractament amb CPAP

La regressió del GIMc en els pacients SAHS amb CPAP s'associa al compliment del tractament amb pressió contínua. En correlacionar les hores d'ús de CPAP amb el canvi de GIMc en el grup CPAP, es va observar major disminució del GIMc a més hores de compliment de la CPAP ($r = -0,639$, $P < 0,0001$) (figura 13).

Per confirmar els resultats, es va dividir el grup CPAP en complidors i no complidors. En el grup CPAP, els pacients amb adherència al tractament ($n = 44$) van mostrar una disminució del GIMc del 9% ($690,8 \pm 125,5$ vs $626,4 \pm 119,1 \mu\text{m}$, $P < 0,0001$), mentre que els pacients mal complidors ($n = 6$) van presentar un augment del GIMc, que suposava un 12% ($599,6 \pm 61,7$ versus $671,1 \pm 110,9 \mu\text{m}$, $P = 0,046$) (figura 14).

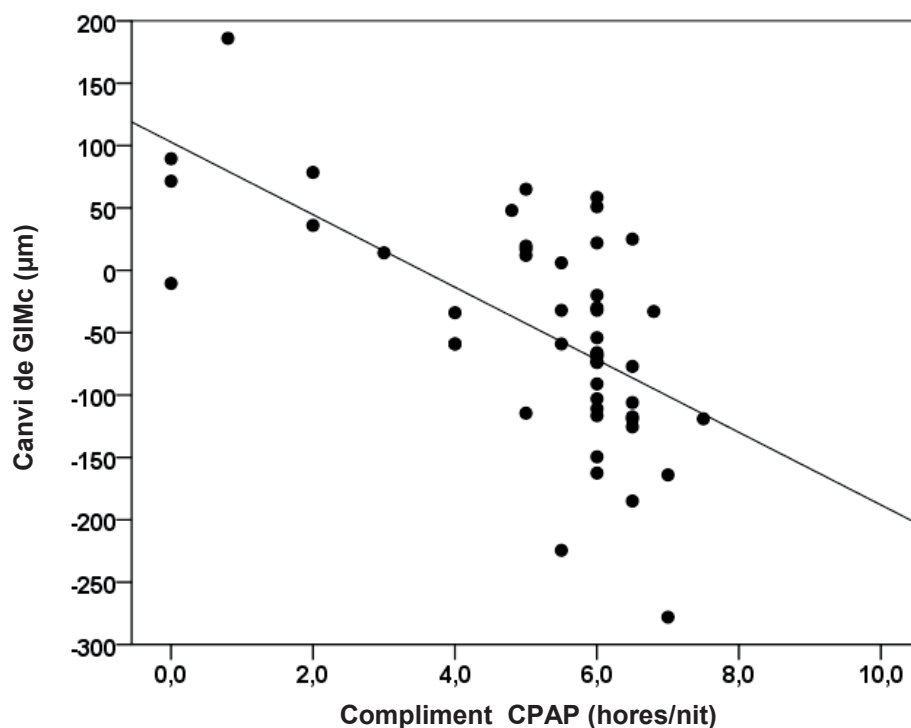


Figura 13. Correlació entre el GIMc i les hores de compliment de la CPAP en els pacients SAHS

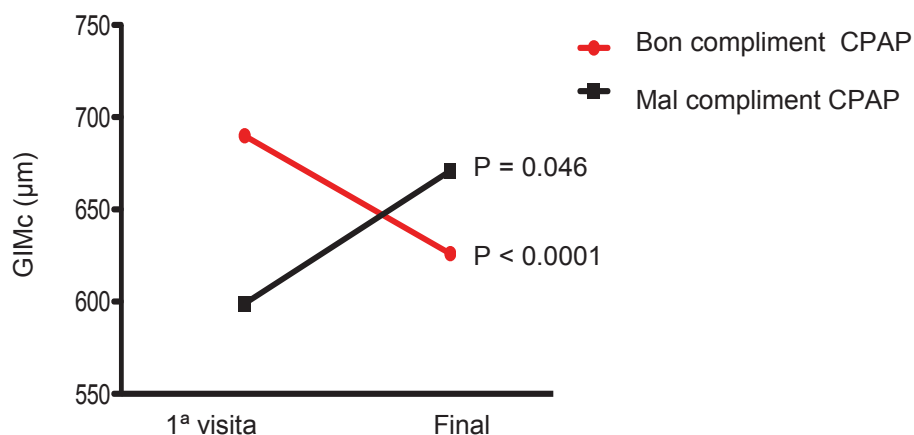


Figura 14. Evolució del GIMc en els pacients SAHS amb CPAP segons compliment

En el grup CPAP, els paràmetres antropomètrics com el pes o l'IMC no van canviar de forma estadísticament significativa després de 2 anys amb pressió positiva i la puntuació del test d'Epworth va disminuir de forma significativa d'EES₀ de 11,4 ± 4,9 a EES₃ de 3,3 ± 3,1 (P<0,001).

La regressió de la placa d'ateroma s'observa en els pacients tractats amb CPAP. En els pacients tractats amb CPAP es va detectar major presència de placa d'ateroma a l'inici de l'estudi (54%). Als 2 anys de seguiment el percentatge de placa dels pacients SAHS tractat amb CPAP baixa al 44% (P = 0,001).

El canvi de GIMc es van correlacionar negativament amb el número d'apnees obstructives ($r = -0,326$, $P = 0,002$), però no amb l'IAH ni amb l'IDO ni amb la resta de variables polisomnogràfiques específiques de SAHS. No es va correlacionar ni amb la puntuació del test d'Epworth basal ni amb l'edat. Tampoc vàrem observar correlació amb els nivells basals de FABP4, FABP5 ni amb SAT, VAT ni PIF (taula 8).

No s'observa correlació entre els nivells de FABP4 i FABP5 basals amb els canvis de GIMc al final del seguiment. En el grup SAHS sense CPAP, ni la FABP4 ni la FABP5 s'associen al canvi de GIMc ($r = 0,065$, $P = 0,711$ i $r = -0,068$, $P = 0,696$; respectivament). Al grup SAHS amb CPAP, la FABP4 i la FABP5 basals tampoc es correlacionen amb els canvis de GIMc ($r = 0,183$, $P = 0,202$ i $r = 0,151$, $P = 0,294$; respectivament). Si subdividim, el grup SAHS amb CPAP segons compliment: en els pacients mal complidors s'observa una correlació positiva amb tendència a la

significació ($r = 0,771$, $P = 0,072$), però no s'associa en els pacients complidors ($r = 0,137$, $P = 0,374$).

Taula 8. Correlacions del canvi de GIMc amb les variables antropomètriques, bioquímiques i polisomnogràfiques

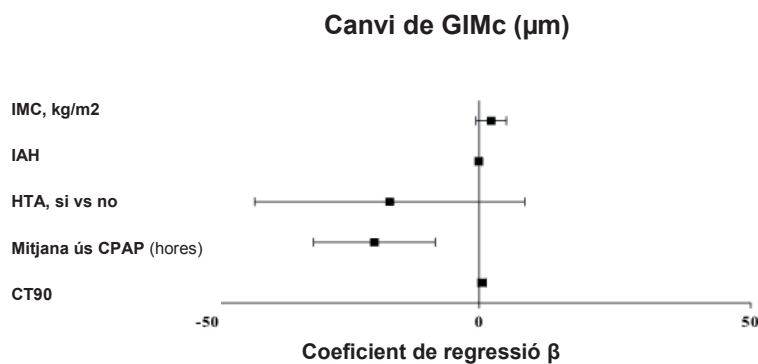
Variable	Canvi de GIMc	
	r	P
Edat	-0,012	ns
Pes	0,016	ns
Altura	0,012	ns
IMC	0,037	ns
Perímetre de coll	0,055	ns
Perímetre abdominal	0,068	ns
SAT	0,041	ns
VAT	0,004	ns
PIF	0,098	ns
ESS ₀	0,091	ns
FEV ₁	-0,153	ns
FVC	-0,099	ns
FEV ₁ /FVC	-0,099	ns
IAH	-0,160	ns
Núm. de apnees obstructives	-0,326	0,002
Núm. de hipopnees	-0,006	ns
CT90	-0,560	ns
IDO	-0,169	ns
SaO ₂ mitjana	0,048	ns
FABP4	0,069	ns
FABP5	0,061	ns

Definició de les abreviacions: IMC = índex de massa corporal; ESS = test d'Epworth basal; FEV₁ = flux espiratori forçat; FVC = capacitat vital forçada; IAH = índex d'apnea – hipopnea; CT90 = temps de son amb SaO₂ per sota del 90%; IDO = índex de dessaturació.

* **Valors de la FABP4 ajustats per edat, sexe, IMC i nivells d'insulina**

A l'anàlisi de regressió multivariant, observem que, dels factors predictors del canvi de GIMc als 2 anys, únicament la variable hores d'ús de CPAP fou estadísticament significant ($P < 0,0001$) i en segon lloc, el diagnòstic de HTA. L'IMC i els paràmetres polisomnogràfics, com l'IAH i la CT90, no van ser determinants sobre l'evolució del GIMc (figura 15). Els resultats observats van ser independents dels canvis de tractament farmacològic o el pes.

Figura 15. Anàlisi de regressió multivariant dels factors predictors del canvi de GIMc. Variable depenent: canvi de GIMc. *Definició de les abreviacions:* IMC = índex de massa corporal; IAH = índex d'apnea-hiponea; HTA = hipertensió arterial; CT90 = temps amb SaO₂ per sota del 90%. Mètode: R^2 : 0.452, Durbin Watson: 1.745, $p = < 0.0001$.



5.8) EFECTE DEL TRACTAMENT AMB CPAP A LLARG TERMINI DELS PACIENTS SAHS SOBRE EL GREIX INTRABDOMINAL

El tractament amb CPAP en els pacients amb SAHS produeix redistribució del greix intrabdominal. En el grup SAHS sense CPAP, la mitjana del SAT i del VAT no va canviar significativament durant el seguiment [(11.41 ± 4.77 vs 11.78 ± 5.55 mm, P = 0.288) i (16.91 ± 4.22 vs 15.93 ± 3.59 mm, P = 0.211), respectivament], però es va observar un augment estadísticament significatiu del PIF (55.19 ± 23.44 vs 63.45 ± 23.94 mm, P = 0.021). Mentre que en els pacients SAHS tractats amb CPAP, no varem observar canvis a la mitjana del VAT i del PIF [(15.74 ± 5.79 vs 15.45 ± 6.73 mm, P = 0.603) i (70.89 ± 19.64 vs 74.51 ± 25.38 mm, P = 0.264), respectivament], però el SAT va disminuir de forma significativa als 2 anys del tractament amb CPAP (11.29 ± 5.69 vs 10.47 ± 5.71 mm, P = 0.012).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)

Raquel Català Pérez

Dipòsit Legal: T. 1566-2013



6. Discussió



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

La tesi derivada del nostre treball permet avaluar la relació entre SAHS i malaltia cardiovascular. Atès que la SAHS és un factor de risc de malaltia cardiovascular i que les xaperones lipídiques com la FABP4 i la FABP5 s'associen a la presència d'obesitat, resistència a la insulina i malaltia cardiovascular, este estudi ha avaluat l'associació entre els nivells de la FABP4 segons la severitat de la SAHS i la seua resposta al tractament amb CPAP. S'ha determinat per primera vegada la FABP5 circulant en la SAHS i s'ha demostrat que no es correlaciona amb la severitat de la SAHS i que no respon al tractament amb CPAP.

Tanmateix, hem determinat l'arteriosclerosi subclínica en els pacients amb SAHS i la resposta a la pressió contínua positiva durant un període de seguiment de 2 anys. Els nostres resultats permeten afirmar que un correcte compliment de la CPAP produeix la disminució de la FABP4 circulant i la regressió del GIMc en els pacients amb SAHS independentment dels factors de risc cardiovasculars.

6.1) FABP4 I FABP5 : DIFERENT COMPORTAMENT SEGONS LA SEVERITAT DE LA SAHS I EL TRACTAMENT AMB CPAP

El fonament d'este treball és que la SAHS està fortament associada a alteracions de la síndrome metabòlica, com la hipertensió, la dislipidèmia, resistència a la insulina, l'obesitat i amb major risc cardiovascular,²⁰⁴ i les FABP estan sorgint com a biomarcadors cardiovasculars de risc metabòlic. Hem analitzat FABP4 i FABP5 perquè totes dues se sintetitzen en els adipòcits i macròfags, tenen una funció metabòlica similar i els seus nivells en plasma s'han associat a alteracions metabòliques.²⁰⁵

El nostre principal resultat és, d'una banda, que FABP4 i FABP5 tenen un comportament biològic diferent en el context de la SAHS. Mentre la FABP4 està fortament correlacionada amb la presència i severitat SAHS, i el seus nivells disminueixen amb el tractament amb CPAP en els pacients amb SAHS més severa, la FABP5 no està associada als paràmetres de SAHS ni a la seua severitat i augmenta després de CPAP.

D'altra banda, la FABP4 circulant, però no FABP5, determina un augment del risc de la presència de SAHS i en els pacients SAHS, incrementa el risc de patir una SAHS severa, independentment de l'edat, sexe, IMC i valors d'insulina dels pacients.

6.1.1) Els nivells de la FABP4 circulants es correlacionen amb la presència i severitat de SAHS. La FABP5 no s'associa als paràmetres de SAHS ni a la seua gravetat.

L'associació entre la SAHS i les alteracions metabòliques és més enllà de l'atzar. L'apnea del son presenta vies patològiques comunes amb les dels components de la síndrome metabòlica; en particular, l'obesitat i les seves alteracions lipídiques associades i el metabolisme de la glucosa, ja que ambdues patologies comporten un estat inflamatori subclínic i prooxidant.³³ Les FABP circulants alliberades del teixit adipós, tant dels adipòcits i macròfags, s'han relacionat amb trastorns metabòlics, però l'evidència amb FABP4 és més forta. En el nostre estudi, hem observat que els pacients amb SAHS tenen els valors de la FABP4 més augmentats que els no SAHS. Esta observació està d'acord amb una publicació anterior en població xinesa.¹⁸¹

A més a més, els nostres resultats mostren que els nivells plasmàtics de la FABP4 augmenten significativament amb la gravetat de la SAHS, independentment de l'IMC o del perímetre de la cintura, fet que recolza l'efecte directe de la FABP4 amb les alteracions respiratòries de la SAHS. No obstant això, la correlació entre els nivells circulants de la FABP4 i el temps de son amb SaO₂ per sota del 90% (CT90) es va incrementar després d'excloure les variables confusores com l'edat, el sexe i l'IMC en ambdues variables.

La quantitat de la FABP4 circulant està fortament lligada a la quantitat de teixit adipós, principalment al SAT.^{121,122} En estudis previs, s'ha demostrat que la FABP4 circulant és major en dones que en homes.¹⁵⁰ Una explicació per a esta diferència en el gènere podria ser que el percentatge de greix en dones és superior en el SAT i, en canvi, en els homes es troba augmentat en el VAT. En la nostra població formada en un 80% per homes, la FABP4 circulant es correlaciona de manera positiva i significativa amb el SAT. Esta observació suggereix que la correlació SAHS i FABP4 és altament independent del greix. L'associació entre adipositat corporal i FABP5 és diferent. En esta cohort de pacients amb SAHS, FABP5 tenia una feble associació amb el SAT, però una forta correlació amb el PIF. Per tant, una diferent distribució del greix en els pacients SAHS podria explicar algunes de les diferències entre FABP.

Un altre aspecte a tindre en compte és que la SAHS *per se* podria contribuir a la secreció de FABP4. Tant FABP4 com FABP5 s'expressen en els teixits del pulmó, principalment en els macròfags alveolars.¹⁵⁸ Alguns estudis han observat que FABP4 també se sintetitza a les cèl·lules endotelials peribronquials.¹⁵⁸ Estes evidències científiques suggereixen que la FABP4 podria tindre un paper en els mecanismes de la lesió pulmonar que, fins ara, és desconegut. Per tant, l'efecte de la hipoxèmia

intermitent que es produeix durant el son, de manera directa o indirecta, en els pacients amb SAHS pot contribuir a augmentar la FABP4, però no la producció de FABP5, encara que no es pot descartar.

En la nostra població hi va haver una correlació significativa entre FABP4 circulant basal i el temps de son amb SaO₂ per sota del 90%; és a dir, amb la dessaturació nocturna. Els estudis *in vitro* han demostrat que els productes oxidatius poden produir un augment en la producció de la FABP4.¹³² Els episodis repetits de desoxigenació i reoxigenació en la SAHS indueixen l'estrès oxidatiu, i contribueixen a promoure la inflamació i la lesió dels òrgans diana, que comporta l'augment del risc cardiovascular associat a la SAHS.²⁰⁴ Recentment, s'ha demostrat que els nivells de la FABP4 causen dany directe als cardiomiòcits, la qual cosa podria contribuir a la disfunció miocàrdica en situacions en les quals s'incrementa la FABP4¹⁵⁴ i algunes dades preliminars suggereixen que FABP4 podria alterar la funció endotelial;²⁰⁶ per tant, FABP4 podria contribuir a l'augment del risc vascular observat en SAHS.

6.1.2) En els pacients SAHS, la FABP4 circulant s'associa al metabolisme de la glucosa, però no al perfil lipídic. La FABP5 no es correlaciona amb les alteracions metabòliques d'esta població.

Durant la SAHS, es produeixen canvis patològics tant al sistema respiratori com al circulatori que indueixen mecanismes intermediaris²² com l'activació simpàtica, l'estrès oxidatiu, la inflamació sistèmica i la disfunció endotelial que poden estar implicats en les alteracions metabòliques observades. Els nostres resultats posen de manifest estes afirmacions, ja que els pacients amb SAHS severa tenien més augmentades les concentracions d'hemoglobina glicada, insulina i HOMA respecte als pacients SAHS lleu i moderada, així com concentracions d'HDL-colesterol inferiors a la resta de grups. Tanmateix, FABP4 també sembla que interfereix en el metabolisme de la insulina per la interacció directa amb el seu receptor en diversos tipus cel·lulars.²⁰⁷ En estudis previs, es va postular que la FABP4 podria ser un bon biomarcador plasmàtic de la predisposició a presentar síndrome metabòlica i DM2.²⁰⁸ Pel que fa a la FABP4 circulant dels pacients SAHS, vàrem observar una correlació positiva i estadísticament significativa amb les variables antropomètriques i el metabolisme de la glucosa independent de l'edat, el sexe, l'índex de massa corporal i els nivells d'insulina, però no vam observar associació amb el perfil lipídic d'estos pacients. Els nivells de FABP5 no es van correlacionar ni amb el metabolisme de la glucosa ni amb el perfil lipídic.

6.1.3) La FABP4 plasmàtica disminueix en els pacients amb SAHS severa després de 8 setmanes en tractament amb CPAP. La FABP5 circulant augmenta post-CPAP.

Sorprenentment, el tractament amb CPAP van tindre diferents efectes en la FABP4 i la FABP5. S'esperava que ambdues concentracions plasmàtiques de FABP disminuïren després de la millora de l'oxigenació amb la CPAP. Els resultats van evidenciar que FABP4 només va disminuir significativament en els pacients més greus i amb més dessaturació nocturna, fet que s'adequa a l'estudi prèviament publicat per Sovova et al.¹⁸⁵

També hem observat que els nivells de la FABP4 d'aquells pacients amb criteris per al tractament amb CPAP, però sense somnolència diürna ($EES_0 < 10$), no es van modificar després de 8 setmanes amb tractament. Esta observació pot anar a favor de l'article recentment publicat per Barbé i col·laboradors que demostren que la prescripció de CPAP en pacients amb SAHS sense somnolència durant el dia no redueix la incidència d'esdeveniments cardiovasculars.⁷⁶

Pel que fa a la FABP5, el tractament amb CPAP produeix un augment dels seus nivells circulants en tots els casos. L'explicació d'este fenomen podria estar associada a les observacions recents que mostren que l'expressió gènica de la FABP5 en el teixit adipós és inhibida per la hipòxia,²⁰⁹ el que no succeeix amb la FABP4. En conseqüència, la millora de l'oxigenació podria conduir a una major producció de FABP5 en greix. A més, les concentracions de FABP5 es van correlacionar amb PIF i quan la FABP5 es va ajustar per PIF, es va observar una correlació inversa significativa entre la gravetat de la SAHS i els nivells de la FABP5. L'impacte de la CPAP en l'adipositat corporal ha sigut estudiat per diferents autors, però amb resultats inconsistents. Les nostres dades suggereixen, d'acord amb Trenell et al.²¹⁰ que el tractament amb CPAP podria suposar una redistribució del greix corporal amb la disminució del VAT, donant lloc a diferents efectes sobre les concentracions de les FABP. La troballa de l'augment del PIF en els pacients SAHS no tractats amb CPAP i la disminució del SAT en els tractats amb CPAP, també dona suport a la disminució del risc cardiovascular que suposa el tractament amb pressió positiva.

Cal afegir, que este treball presenta diverses limitacions. D'una banda, no es va realitzar una segona PSG després del tractament amb CPAP; per tant, no es pot establir una correlació entre l'evolució de les FABP i els canvis clínics. L'únic paràmetre clínic

que tenim després del tractament i com a variable de seguiment és el test d'Epworth, tal com passa en la pràctica clínica habitual, però com hem demostrat la seva evolució es va associar als canvis en la FABP4 circulant. D'altra banda, la mida de la mostra en l'estudi d'intervenció és bastant petita i la quantificació del greix corporal va ser estudiada mitjançant ecografia, fet que pot donar una avaluació parcial de la distribució del greix total.

No obstant això, els resultats són prou robustos per afirmar la rellevància clínica de l'associació entre els nivells plasmàtics de la FABP4 i la severitat de la SAHS, així com la seua disminució amb el tractament amb CPAP en els més greus, fet que suggereix que la FABP4 circulant es correlaciona amb les alteracions que es produeixen durant la nit en els pacients SAHS. Encara que metabòlicament FABP4 i FABP5 són complementàries, a la SAHS no tenen este comportament, molt probablement a causa dels diferents rols que estes proteïnes tenen a nivell pulmonar i les seues diferents associacions amb la distribució del greix corporal.

6.2) ARTERIOSCLEROSI SUBCLÍNICA EN SAHS: RESPOSTA AL TRACTAMENT AMB CPAP A LLARG TERMINI

L'associació entre la SAHS i les alteracions cardiovasculars cada vegada és més ferma, ja que probablement comparteixen processos fisiopatològics comuns. Avui dia hi ha una activa investigació que es centra en els mecanismes que vinculen ambdues alteracions. Estudis previs han demostrat que els episodis repetits d'hipòxia i reoxigenació i l'activitat simpàtica augmentada durant el son en SAHS, podria activar diferents vies que promouen l'aterosclerosi com: l'estrès oxidatiu, la disfunció endotelial i la inflamació sistèmica.²¹¹ En conjunt, tots aquests factors poden contribuir a la progressió de l'aterosclerosi i al desenvolupament d'un esdeveniment cardiovascular com un infart de miocardi o un accident cerebrovascular.²¹²⁻²¹³

Els estudis amb SAHS són difícils perquè estos pacients tenen sovint nombrosos factors de risc per l'aterosclerosi incloent la hipertensió, la diabetis i l'obesitat. Així doncs, en els darrers anys hi ha una necessitat creixent per identificar una nova metodologia no invasiva, per tal de facilitar la identificació dels individus amb risc de patir esdeveniments cardiovasculars com són els pacients amb SAHS. En aquest treball, hem intentat valorar si l'estudi del GIMc determinat per ecografia és un bon candidat com a eina clínica de la valoració d'arteriosclerosi subclínica en pacients amb SAHS.

6.2.1) Els pacients SAHS presenten major grau d'arteriosclerosi subclínica i no s'associa a la severitat de la malaltia.

El coneixement de l'arteriosclerosi subclínica en pacients amb SAHS és escàs i els factors que prediuen el GIMc en estos pacients no són del tot coneguts. El GIMc és un mètode útil i no invasiu, així com un bon marcador per investigar el grau d'arteriosclerosi subclínica i una eina clínica fiable per a la predicció d'esdeveniments cardiovasculars.²¹³⁻²¹⁴ Els nostres resultats demostren que el GIMc està més augmentat en el grup SAHS i recolzen que la determinació del GIMc és un mètode eficaç per a la valoració de l'arteriosclerosi subclínica dels pacients SAHS en les UTRS.

A més, no hem trobat cap relació significativa entre la gravetat de la SAHS i el GIMc. És una troballa que no concorda amb els articles publicats prèviament, en els quals s'afirma que l'augment del GIMc es relaciona amb la severitat de la SAHS.^{96,97} No obstant això, una limitació d'estos estudis és que estos pacients són relativament joves amb SAHS i que no representen el típic pacient amb SAHS com és el cas de la nostra cohort. Per contra, recentment, Baguet i els seus companys van observar que el GIMc no va ser diferent entre grups segons la severitat de la SAHS,²¹⁵ fet que s'ajusta a les nostres observacions. Per tant, l'anàlisi general de les dades basals suggereix una associació directa entre la SAHS i el GIMc independent de les variables de confusió i de la severitat de la malaltia.

Tanmateix, el nostre estudi també posa de manifest un major percentatge de plaques en els pacients SAHS, que confirma els resultats d'estudis anteriors que han trobat que els pacients amb SAHS tenen una major predisposició a la formació de la placa.²¹⁶ Probablement, l'aterosclerosi en pacients amb SAHS està determinada principalment per l'estrès oxidatiu que comporta la malaltia. La gravetat de la dessaturació d'oxigen és un dels principals determinants del GIMc i l'aparició de plaques en pacients SAHS.²¹⁷ No obstant això, en els nostres pacients amb SAHS, la gravetat de la dessaturació d'oxigen no va ser el millor predictor del GIMc.

6.2.2) El tractament amb CPAP durant 2 anys produeix la regressió del GIMc en els pacients SAHS i es correlaciona amb la bona adherència a la CPAP.

Els articles publicats per Drager i col·laboradors demostren una associació independent entre SAHS i arteriosclerosi.^{97,98} Els nostres resultats confirmen i reforcen esta hipòtesi. Este estudi demostra que l'arteriosclerosi subclínica hi és en este grup de pacients i que el tractament amb CPAP pot revertir els marcadors validats de

l'arteriosclerosi. Els pacients SAHS en tractament amb CPAP al final del període de seguiment presenten una disminució del GIMc; mentre que en el grup SAHS sense CPAP, la mitjana del GIMc no va canviar significativament durant els 2 anys. Dels actualment publicats, el nostre estudi és el que presenta un major seguiment dels pacients, ja que els estudis realitzats de més llarg termini mostren que la reducció del GIMc es va produir principalment en els primers 6 mesos i es va mantenir als 12 mesos en pacients amb CPAP amb bon compliment.²¹⁸

A més a més, el grup CPAP amb bona adherència al tractament va mostrar una notable disminució del GIMc, mentre que els pacients mal complidors van presentar un augment del GIMc. Aquests efectes es van observar sense canvis en el pes o el tractament que fou monitoritzat durant els 2 anys de seguiment. Cal destacar que la regressió del GIMc en els nostres pacients SAHS amb CPAP s'igualava a la que aporten els estudis realitzats amb estatines a llarg termini que mostren que estos fàrmacs modifiquen el GIMc després de 6 mesos de tractament.²¹⁹⁻²²⁰ Curiosament, dels factors predictors del canvi de GIMc als 2 anys, únicament la variable hores d'ús de CPAP fou estadísticament significant i, en segon lloc, el diagnòstic d'HTA en el límit de la significació, mentre que la resta dels factors clàssics de risc cardiovasculars com la dislipèmia o la diabetis, l'IMC, el sexe, l'edat ni els paràmetres polisomnogràfics no van ser determinants sobre l'evolució del GIMc. En conjunt, els resultats proporcionen evidència que la SAHS és un factor de risc independent d'arteriosclerosi.

Pel que fa a l'augment del GIMc observat en els pacients SAHS sense adherència al tractament amb pressió positiva, esta troballa pot ser deguda a l'addició de dos factors principals: la persistència de la hipòxia intermitent no corregida per CPAP per manca de compliment i el fet que la SAHS s'associa amb increment *per se* del risc cardiovascular. Un altre aspecte a destacar de les nostres dades és que en el grup SAHS sense CPAP, la mitjana del GIMc no va canviar de manera significativa durant els 2 anys.

Els nostres resultats han demostrat, per primera vegada, la regressió de la placa d'ateroma en pacients amb SAHS tractats amb CPAP. Esta evidència reforça i dona suport a l'eficàcia del tractament amb CPAP en la reducció del risc cardiovascular en pacients SAHS. La regressió de la placa observada com a efecte del tractament de CPAP podria ser explicada per la correcció dels fenòmens obstructius, els *arousals* i les dessaturacions secundàries als esdeveniments respiratoris, la restauració de l'arquitectura del son i la normalització del sistema simpàtic, que donaria lloc a una reparació vascular i endotelial, i evitaria l'acció de la cascada inflamatòria que s'activa com a resultat de l'alliberament de radicals lliures que es produeix durant la nit en els pacients amb SAHS.

Un factor, que cal tindre present en l'estudi, és que tots els estudis ecogràfics van ser realitzats per la mateixa persona, de manera que redueix la variabilitat inter observador i que el seguiment durant 2 anys amb ecografia carotídia és l'estudi més llarg realitzat fins la data en una població de pacients amb SAHS. Per tant, el nostre treball reforça i afirma la validesa de l'ecografia carotídia com a eina clínica fiable per a la determinació de l'arteriosclerosi subclínica en els pacients SAHS.

La principal limitació de l'estudi és el fet de la comparació de dos grups de pacients amb diferents nivells de gravetat SAHS. No obstant això, els factors de risc cardiovasculars no van ser diferents entre els grups.

En conclusió, l'augment del GIMc en la nostra població es va associar amb SAHS, però no es va correlacionar amb la seva gravetat. Este estudi demostra que l'arteriosclerosi subclínica està més augmentada en els pacients SAHS i que el tractament amb CPAP produeix la regressió del GIMC en els pacients amb SAHS independentment dels factors de risc cardiovasculars.

En resum, els nostres resultats donen suport a l'eficàcia del tractament amb CPAP sobre la reducció del risc cardiovascular en pacients amb SAHS. El nostre estudi demostra que l'ecografia carotídia en estos pacients pot informar amb fiabilitat de la precocitat del fenomen arterioscleròtic i la seua troballa podria ser una indicació de CPAP en SAHS. No obstant això, es necessiten més estudis abans que esta tècnica es generalitze a les nostres unitats de son.

7. Conclusions



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

1) Els valors elevats de la FABP4 estan associats a la presència i severitat de la SAHS, recolzant el seu paper com a biomarcador en les comorbiditats metabòliques dels pacients amb SAHS.

- 1.1) La concentració plasmàtica de la FABP4 és superior en els pacients SAHS davant dels no SAHS.
- 1.2) Els nivells de la FABP4 circulants augmenten segons la severitat de la SAHS.
- 1.3) La FABP4 es correlaciona amb la dessaturació nocturna.
- 1.4) La FABP4 s'associa positivament amb la percepció individual de somnolència diürna mesurada mitjançant el test d'Epworth.
- 1.5) En els pacients SAHS, la FABP4 es correlaciona amb el metabolisme de la glucosa i no amb el perfil lipídic.
- 1.6) La FABP4 es correlaciona amb el SAT en els pacients SAHS

2) En els pacients SAHS, els nivells de la FABP4 circulants disminueixen després del tractament amb CPAP.

- 2.1) La reducció dels nivells de la FABP4 s'observa en els pacients SAHS més greus; és a dir, amb un IAH més elevat i major dessaturació nocturna.
- 2.2) Els pacients portadors de CPAP amb hipersòmia diürna presenten més reducció dels nivells de la FABP4 a les 8 setmanes del tractament que els SAHS sense excessiva somnolència basal.

3) Els nivells de la FABP5 circulants no s'associen a la presència ni a la severitat de la SAHS i augmenten després del tractament amb CPAP

- 3.1) Els nivells de la FABP5 no s'associen amb els paràmetres polisomnogràfics dels pacients SAHS.
- 3.2) La concentració plasmàtica de la FABP5 no és superior en els pacients SAHS que en els no SAHS.
- 3.3) Els nivells de la FABP5 circulants no augmenten segons la severitat de la SAHS.

- 3.4) En els pacients SAHS, la FABP5 es correlaciona amb la FABP4, però no amb el metabolisme de la glucosa ni amb el perfil lipídic.
- 3.5) La FABP5 es correlaciona amb el PIF en els pacients SAHS.
- 3.6) La FABP5 circulant augmenta després del tractament amb CPAP.

4) El tractament amb CPAP en els pacients SAHS produeix redistribució del greix intrabdominal.

- 4.1) El PIF augmenta en els pacients SAHS no tractats amb CPAP.
- 4.2) El SAT disminueix en els pacients SAHS tractats amb CPAP.

5) Els pacients SAHS presenten major grau d'arteriosclerosi subclínica i el tractament amb CPAP produeix la regressió del GIMc independentment dels factors de risc cardiovasculars.

- 5.1) Els valors del GIMc i el percentatge de plaques d'ateroma són més elevats en els pacients SAHS.
- 5.2) El GIMc no s'associa amb els paràmetres polisomnogràfics dels pacients SAHS.
- 5.3) El GIMc no augmenta segons la severitat de la SAHS.
- 5.4) El GIMc es correlaciona amb els nivells basals de FABP4, però no amb els de FABP5.
- 5.5) El GIMc es correlaciona amb l'edat i la percepció individual de somnolència diürna mesurada mitjançant el test d'Epworth.
- 5.6) L'adherència al tractament amb CPAP en els pacients SAHS produeix la regressió del GIMc i de la presència de plaques d'ateroma.
- 5.7) Els canvis del GIMc no es correlacionen amb els nivells basals de la FABP4 i la FABP5.
- 5.8) La determinació del GIMc és un mètode eficaç per a la valoració de l'arteriosclerosi subclínica dels pacients SAHS en les UTRS.

8. Referències bibliogràfiques



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

- 1) Durán-Cantolla J, Puertas Cuesta FJ, Pin Arboledas G, Santa María Cano J, Blanco González JE, Ugarte Libano R y Grupo Español de Sueño. Documento Nacional de Consenso sobre el Síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS). Arch Bronconeumol 2005; 41(4):1-110.
- 2) Young T, Peppard P E, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165:1217-1239.
- 3) American Academy of Sleep Medicine Task Force. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. Sleep 1999; 22:667-689.
- 4) Durán J, Esnaola S, Ramón R, Iztueta A. Obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in a population-based sample subjects aged 30 to 70 years. Am J Respir Crit Care Med 2001; 163:685-689.
- 5) Schünemann HJ, Jaeschke R, Cook DJ, Bria WF, El-Solh AA, Ernst A, Fahy BF, Gould MK, Horan KL, Krishnana JA, Manthous CA, Maurer JR, McNicholas WT, Oxman AD, Rubinfeld G, Turino GM, Guyatt G. ATS Documents Development and Implementation Committee. An oficial ATS statement: grading the quality of evidence and strength of recommendations in ATS guidelines and recomendations. Am J Respir Crit Care Med 2006; 174: 605-614.
- 6) 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.
- 7) Young T, Finn L, Peppard P, Szklo-Coxe M, Austin D, Nieto J, Stubbs R, Hla KM. Sleep-disordered-Breathing and mortality; Eighteen-year follow-up of Wiscosin Sleep Cohort. Sleep 2008; 31:1071-1078.

- 8) Peker Y, Hedner J, Johanson A, Bende M. Reduced hospitalization with cardiovascular and pulmonary disease in obstructive sleep apnea patients on nasal CPAP treatment. *Sleep* 1997;20:645-653.
- 9) Ronald J, Delaive K, Roos L, Manfreda J, Bahammam A, Kryger MH. Health care utilization in the 10 years prior to diagnosis in obstructive sleep apnea patients. *Sleep* 1999; 2:225-229.
- 10) Fogel R B, Malhotra A, White DP. *Sleep 2: pathophysiology of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome*. *Thorax* 2004; 59:159-163.
- 11) White DP. The pathogenesis of obstructive sleep apnea: advances in the past 100 years. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006; 34:1-6.
- 12) Capote F, Masa JF, Jiménez A, Peces-Barba G, Amilibia J, Rubio R. Manifestaciones clínicas del SAHS. Métodos diagnósticos. Síndrome de resistencia aumentada de la vía aérea superior. *Arch Bronconeumol* 2002; 38 (supl 3): 21-7.
- 13) Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991; 14:540-545.
- 14) Chiner E, Arriero JM, Signes-Costa J, Marco J, Fuentes I. Validation of the Spanish version of the Epworth Sleepiness Scale in patients with a sleep apnea syndrome. *Arch Bronconeumol* 1999;35:422-427.
- 15) Kushida CA, Littner MR, Morgenthaler T, Alessi CA, Bailey D, Coleman J Jr, Friedman L, Hirshkowitz M, Kapen S, Kramer M, Lee-Chiong T, Loubé DL, Owens J, Pancer JP, Wise M. Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: an update for 2005. *Sleep* 2005; 28:499-521.
- 16) H. H. Jasper, "The ten twenty electrode system of the International Federation," *Electroenceph. Clin. Neurophysiol*, 1958; 10:371-375.

- 17) Ferber R, Millman R, Coppola M, Fleetham J, Murray CF, Iber C, Mc Call V, Nino Murcia G, Pressman M, Sanders M. Portable recording in the assesment of obstructive sleep apnea. *Sleep* 1994;17:378-392.
- 18) 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.
- 19) Ballester E, Badia JR, Hernández L, Carrasco E, de Pablo J, Fornas C, Rodriguez-Roisin R, Montserrat JM. Evidence of the effectiveness of continuous positive airway pressure in the treatment of sleep apnea/hypopnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:495-501.
- 20) 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: 1218-1224.
- 21) Mc Ardle N, Devereux G, Heidarnjad H, Engleman HM, Mackay TW, Douglas NJ. Long-term use of CPAP therapy for sleep apnea/hypopnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1108-1114.
- 22) Lavie L. Obstructive sleep apnoea syndrome: an oxidative stress disorder. *Sleep Med REV*, 2003;7:35-51.
- 23) Xie A, Skatrud JB, Puleo DS, Morgan BJ. Esposure to hypoxia produces long-lasting sympathetic activation in humans. *J Appl Physiol* 2001;91:1555-1562.
- 24) Cutler MJ, Swift NM, Keller DM, Wasmund WL, Smith ML. Hypoxia-mediated prolonged elevation of sympathetic nerve activity after periods of intermittent hypoxic apnea. *J Appl Physiol* 2004;96:754-761.

- 25) Fletcher EC, Orolinova N, Bader M. Blood pressure response to chronic episodic hypoxia: the renin-angiotensin system. *J Appl Physiol* 2002;92:627-633.
- 26) Kraiczi H, Hedner J, Peker Y, Carlson J. Increased vasoconstrictor sensitivity in obstructive sleep apnea. *J Appl Physiol* 2000;89:493-498.
- 27) Moller DS, Lind P, Strunge B, Pedersen EB. Abnormal vasoactive hormones and 24-hour blood pressure in obstructive sleep apnea. *Am J Hypertens* 2003;16:274-280.
- 28) Jordan W, Reinbacher A, Cohrs S, Grunewald RW, Mayer G, Rütther E, Rodenbeck A. Obstructive sleep apnea: Plasma endothelin-I precursor but not endothelin-I levels are elevated and decline with nasal continuous positive airway pressure. *Peptides* 2005;26:1654-1660.
- 29) Mills PJ, Kennedy BP, Loredó JS, Dimsdale JE, Ziegler MG. Effects of nasal continuous positive airway pressure and oxygen supplementation on norepinephrine kinetics and cardiovascular responses in obstructive sleep apnea. *J Appl Physiol* 2006;100:343-348.
- 30) Grote L, Kraiczi H, Hedner J. Reduced alpha and beta (2). Adrenergic vascular response in patients with obstructive sleep apnea. *Am J respir Crit Care Med* 2000;162:1480-1487.
- 31) Barceló A, Miralles C, Barbé F, Vila M, Pons S, Agustí AG. Abnormal lipid peroxidation in patients with sleep apnoea. *Eur Respir J* 2000;16:644-647.
- 32) Fenster BE, Tsao PS, Rockson SG. Endothelial dysfunction: clinical strategies for treating oxidant stress. *Am Heart J* 2003;146:218-226.
- 33) Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Selective activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Circulation* 2005;112:2660-2667.

- 34) Frohlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H, Muche R, Brenner H, Koenig W. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabetes Care* 2000;23:1835-1839.
- 35) 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.
- 36) Barceló A, Barbé F, Llompart E, Mayoralas LR, Lalaria 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.
- 37) Thornton AJ, Strieter RM, Lindley I, Baggolini M, Kunkel SL. Cytokine-induced gene expression of a neutrophil chemotactic factor/IL-8 in human hepatocytes. *J Immunol* 1990;144:2609-2613.
- 38) Krueger JM, Takahashi S, Kapás L, Bredow S, Roky R, Fang J, Floyd R, Renegar KB, Guha-Thakurta N, Novitsky S. Cytokines in sleep regulation. *Adv Neuroimmunol* 1995;5:171-188.
- 39) Vgontzas AN, Bixler EO, Chrousos GP. Metabolic disturbances in obesity versus sleep apnea: the importance of visceral obesity and insulin resistance. *J Intern Med* 2003;254:32-44.
- 40) Krueger JM, Walter J, Dinarello CA, Wolff SM, Chedid L. Sleep-promoting effects of endogenous pyrogen (interleucine-1). *Am J Physiol* 1984;246:994-999.
- 41) Crockett-Torabi E. Selectins and mechanisms of signal transduction. *J Leukoc Biol* 1998;63:1-14.

- 42) Robinson GV, Pepperell JC, Segal HC, Davies RJ, Strandling JR. Circulating cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnoea: data from randomised controlled trials. *Thorax* 2004;59:777-782.
- 43) El Solh AA, Akinnusi ME, Baddoura FH, Mankowski CR. Endothelial cell apoptosis in obstructive sleep apnea: a link to endothelial dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:1186-1191.
- 44) Lee SR, Lo EH. Induction of caspase-mediated cell death by matrix metalloproteinases in cerebral endothelial cells after hypoxia-reoxygenation. *J Cereb Blood Flow metab* 2004;24:720-727.
- 45) Rahman I, MacNee W. Role of transcription factors in inflammatory lung diseases. *Thorax* 1998;53:601-612.
- 46) Greenberg H, Ye X, Wilson D, Htoo AK, Hendersen T, Liu SF. Chronic intermittent hypoxia activates nuclear factor-kappaB in cardiovascular tissues in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;343:591-596.
- 47) Semenza GL. Oxygen-regulated transcription factors and their role in pulmonary disease. *Respir Res* 2000;1:159-162.
- 48) Pouyssegur J, Mechta-Grigoriou F. Redox regulation of the hypoxia-inducible factor. *Biol Chem* 2006;387:1337-1346.
- 49) Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Circulation* 2004;109:159-165.
- 50) Budhiraja R, Sharief I, Quan SF. Sleep disordered breathing and hypertension. *J Clin Sleep Med* 2005;1:401-404.

- 51) Lattimore JL, Wilcox I, Skilton M, Langenfeld M, Celermajer DS. Treatment of obstructive sleep apnoea leads to improved microvascular endothelial function in the systemic circulation. *Thorax* 2006;61:491-495.
- 52) Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990;323:27-36.
- 53) Zamarrón-Sanz C, Ricoy-Gabaldón J, Gude-Sampedro F, Riveiro-Riveiro A. Plasma levels of vascular endothelial markers in obstructive sleep apnea. *Arch Med Res* 2006;37:552-555.
- 54) Humbert M et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:13S-42S.
- 55) Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000;407:233-41.
- 56) Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2006;83:456S-460S.
- 57) Shatrov VA, Sumbayev VV, Zhou J, Brune B. Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) triggers hypoxia-inducible factor-1-alpha (HIF-1 alpha) accumulation via redox-dependent mechanisms. *Blood* 2003;101:4847-4849.
- 58) Von Kanel R, Dimsdale JE. Hemostatic alterations in patients with obstructive sleep apnea and the implications for cardiovascular disease. *Chest* 2003;124:1956-1967.
- 59) Leung RS, Bradley TD. Sleep apnea and cardiovascular disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:2147-2165.
- 60) Roche F, Sforza E, Pichot V, Maudoux D, Garcin A, Celle S, Picard-Kossovsky M, Gaspoz JM, Barthélémy JC; PROOF Study Group. On behalf of the PROOF Study Group. Obstructive sleep apnea/hypopnea influences high-density lipoprotein cholesterol in the elderly. *Sleep Med* 2009;10:882-886.

- 61) Börgel J, Sanner BM, Bittlinsky A, Keskin F, Bartels NK, Buechner N, Huesing A, Rump LC, Mügge A. Obstructive sleep apnea and its therapy influence high-density lipoprotein cholesterol serum levels. *Eur Respir J* 2006;27:121-127.
- 62) Dorkova Z, Petrascova D, Molcanyiova A, Popovnakova M, Tkacova R. Effects of continuous positive airway pressure on cardiovascular risk profile in patients with severe obstructive sleep apnea and metabolic syndrom. *Chest* 2008;134:686-692.
- 63) Tamura A, Kawano Y, Watabane T, Kadota J. Relationship between the severity of obstructive sleep apnea and impaired glucosa metabolism in patients with obstructive sleep apnea. *Respir Med* 2008;1012:1412-1416.
- 64) Gozal D, Sans Capdevila O, Kheirandish-Gozal L. Metabolic alterations and systemic inflammation in obstructive sleep apnea among nonobese and obese prepuberal children. *Am J Respir Care Med* 2008;177:1142-1149.
- 65) Nieto FJ, Young TB, Lind BK, Shahar E, Shamet JM, Redline S et al. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea and hypertension in a large community-based study. *Sleep Heart Health Study. JAMA* 2000;283:1829-1836.
- 66) Gami AS, Howard DE, Olson EJ, Somers VK. Day-night pattern of sudden death in obstructive sleep apnea. *N Engl J Med* 2005;352:1206-1249.
- 67) Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ; National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of high blood pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003;289:2560-2572.

- 68) Shahar E, Whitney CW, Redline S, Lee ET, Newman AB, Nieto FJ, O'Connor GT, Boland LL, Schwartz JE, Samet JM. 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.
- 69) Kapur VK, Resnick HE, Gottlieb DJ, for the Sleep Heart Health Study Group. Sleep disordered breathing and hypertension: does self-reported sleepiness modify the association?. *Sleep* 2008;31:1127-1132.
- 70) Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *N Engl J Med* 2000;342:1378-1384.
- 71) Young T, Finn L, Peppard PE, Szklo-Coxe M, Austin D, Nieto FJ, Stubbs R, Hla KM. Sleep disordered breathing and mortality: eighteen-year follow-up of the Wisconsin Sleep Cohort. *Sleep* 2008;31:1071-1078.
- 72) Fletcher EC. Physiological consequences of intermittent hypoxia: systemic blood pressure. *J Appl Physiol* 2001;90:1600-1605.
- 73) Sommers VK, Dyken ME, Clary MP, Abboud FM. Sympathetic normal mechanisms in obstructive sleep apnea. *J Clin Invest* 1995;96:1897-1904.
- 74) Haentjens P, Van Meerhaeghe A, Mascariello A, De Weerd S, Poppe K, Dupont A, Velkeniers B. The impact of continuous positive airway pressure on blood pressure in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Arch Intern Med* 2007;167:757-765.
- 75) Bazzano LA, Khan Z, Reynolds K, He J. Effect of nocturnal nasal continuous positive pressure on blood pressure in obstructive sleep apnea. *Hypertension* 2007;50:417-423.

- 76) Barbé F, Durán-Cantolla J, Sánchez-de-la-Torre M, Carmona C, Barceló A, Chiner E, Masa JF, Gonzalez M, Marín JM, Garcia-Rio F, Diaz de Atauri J, Terán 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.
- 77) Kaneko Y, Floras JS, Usui K, Plante J, Tkacova R, Kubo T, Ando S, Bradley TD. Cardiovascular effects of continuous positive airway pressure in patients with heart failure and obstructive sleep apnea. *N Engl J Med*. 2003 Mar 27; 348:1233-1241.
- 78) 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; 169:361-366.
- 79) Kanagala R, Murali NS, Friedman PA, Ammash NM, Gersh BJ, Ballman KV, Shamsuzzaman AS, Somers VK. Obstructive sleep apnea and the recurrence of atrial fibrillation. *Circulation* 2003; 107:2589-2594.
- 80) Peker Y, Kraiczi H, Hedner J, Loth S, Johanson A, Brende M. An independent association between obstructive sleep apnea and coronary artery disease. *Eur Respir J* 1999;14:179-184.
- 81) Moe T, Franklin KA, Holmstrom K, Rabben T, Wiklund U. Sleep disordered breathing and coronary artery disease: long-term prognosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:81-86.
- 82) Hayashi M, Fujimoto K, Urishibata K et al. Nocturnal oxygen desaturation correlates with the severity of coronary atherosclerosis in coronary artery disease. *Chest* 2003;124:936-941.

- 83) Arzt M, Yount T, Finn L, Skatrud JB, Bradley TD. Association of sleep-disordered breathing and the occurrence of stroke. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:1447-1451.
- 84) Sommers VK, White DP, Amin R, Abraham WT, Costa F, Culebras A, Daniels S, Floras JS, Hunt CE, Olson LJ, Pickering TG, Russell R, Woo M, Young T; American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology; American Heart Association Stroke Council; American Heart Association Council on Cardiovascular Nursing; American College of Cardiology Foundation. Sleep apnea and cardiovascular disease: an American Heart Association/American College Of Cardiology Foundation Scientific Statement from the American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology, Stroke Council, and Council On Cardiovascular Nursing. In collaboration with the National Heart, Lung, and Blood Institute National Center on Sleep Disorders Research (National Institutes of Health). *Circulation* 2008;118:1-32.
- 85) Ursavas A, Karadag M, Rodoplu E, Yilmaztepe A, Oral HB, Gözü RO. Circulating ICAM-1 and VCAM-1 levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Respiration* 2007;74:525-532.
- 86) Dermatteis M, Julián C, Guillermet CH, Sturm N, Lantuejoul S, Mallaret M, Lévy P, Gozal E. Intermittent hypoxia induces early functional cardiovascular remodelling in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177:227-235.
- 87) Cross MD, Mills NL, Al-y M, Riha R, Vennelle M, Mackay TW, Newby DE, Douglas NJ. Continuous positive airway pressure improves vascular function in obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome: a randomised controlled trial. *Thorax* 2008;63:578-583.

- 88) Jelic S, Padeletti M, Kawut SM, Higgins C, Canfield SM, Onat D, Colombo PC, Basner RC, Factor P, LeJemtel TH. Inflammation, oxidative stress and repair capacity of the vascular endothelium in obstructive sleep apnea. *Circulation* 2008;117:2270-2278.
- 89) Lefebvre B, Pépin JL, Baguet JP, Tamisier R, Roustit M, Riedweg K et al. Leukotriene B4: early mediator of atherosclerosis in obstructive sleep apnea?. *Eur Respir J* 2008;32:113-120.
- 90) Arias MA, García-Río F, Alonso-Fernández A, Herranz A, Hidalgo R, Martínez-Mateo V et al. Continuous positive airway pressure decreases elevated plasma levels of soluble tumor necrosis factor alpha receptor 1 in obstructive sleep apnea. *Eur Respir J* 2008;32:1009-1015.
- 91) Sánchez A, Schwartz AR, Sánchez PL, Fernández JL, Ramos J, Martín-Herrero F, González-Celador R, Ruano R, Bregón I, Martín-Luengo C, Gómez FP. Marcadores hemodinámicos e inflamatorios del síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño e hipoxemia nocturna. Efectos del tratamiento con presión positiva continua nasal de la vía aérea. *Arch Bronconeumol* 2008;44:531-539.
- 92) Masana L. Which cardiovascular risk tables we use?. *Rev Esp Cardiol* 2007;60:690-692.
- 93) De Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smith AJ, Fruchart JC et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker of atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:III33-38.
- 94) Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, Najjar SS, Rembold CM, Post WS; American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the

- American Society of Echocardiography carotid Intima-Media Thickness Task Force.
Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008;21:93-111.
- 95) Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2007;115:459-467.
- 96) O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999;340:14-22.
- 97) O'Leary DH, Bots ML. Imaging of atherosclerosis: carotid intima-media thickness. *Circulation* 2007;115:459-467.
- 98) Balk EM, Karas RH, Jordan HS, Kupelnick B, Chew P, Lau J. Effects of statins on vascular structure and function: a systematic review. *Am J Med* 2004;117:775-790.
- 99) Constanzo P, Perrone-Filardi P, Vassallo E, et al. Does carotid intima-media thickness regression predict reduction of cardiovascular events? A meta-analysis of 41 randomized trials. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:2006-2020.
- 100) 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;27:129-133.
- 101) Minoguchi K, Yokoe T, Tazaki T, Minoguchi H et al. Increased carotid intima-media thickness and serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:625-630.
- 102) Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Figuereido AC, Krieger EM, Lorenzi-Filfo G.

- Early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:613-618.
- 103) Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Krieger EM, Lorenzi-Filfo G. Additive effects of obstructive sleep apnea and hypertension on early markers of carotid atherosclerosis. *Hypertension* 2009;53:64-69.
- 104) Drager LF, Bortolotto LA, Figuereido AC, Krieger EM, Lorenzi-Filfo G. Effects of continuous positive airway pressure on early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:706-712.
- 105) Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agusti AG. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: An observational study. *Lancet* 2005;365:1046-1053.
- 106) Gami AS, Howard DE, Olson EJ, Somers VK. Day–Night Pattern of Sudden Death in Obstructive Sleep Apnea. *N Engl J Med* 2005; 352:1206-1214
- 107) Lévy P, Pépin JL, Arnaud C, Tamisier R, Borel JC, Dematteis M, Godin-Ribuot D, Ribuot C. Intermittent hypoxia and sleep-disordered breathing: current concepts and perspectives. *Eur Respir J* 2008; 32: 1082-1095.
- 108) Semenza GL. Oxygen Sensing, Homeostasis and disease. *New Engl J Med* 2011; 365: 537-547.
- 109) Almendros I, Montserrat JM, Ramírez J, Torres M, Duran-Cantolla J, Navajas D, Farré R. Intermittent hypoxia enhances cancer progression in a mouse model of sleep apnoea. *Eur Respir J* 2012; 39: 215-216.
- 110) Nieto FJ, Peppard P, Young T, Finn L, Hla KM, Farré R. Sleep disordered breathing and cancer mortality: results from the Wisconsin Sleep Cohort Study. *Am Respir J Crit Care Med* 2012 Jul 15;186:190-194.
-

- 111) Barbé F, Pericas J, Muñoz A, Findley L, Antó JM, Agustí AG. Automobile accidents in patients with sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:18-22.
- 112) Terán Santos J, Jiménez Gómez A, Cordero Guevara JA. The association between sleep apnea and the risk of traffic accidents. *N Engl J Med* 1999;340:847-851.
- 113) Masa JF, Rubio M, Findley LJ. Habitually sleepy drivers have a high frequency of automobile crashes associated with respiratory disorders during sleep. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1407-1412.
- 114) Howard ME, Desai AV, Grunstein RR, Hukins C, Arsmstrong JG, Joffe D, Swann P, Campbell DA, Pierce RJ. Sleepiness, sleep disordered breathing and accident risk factors in commercial vehicle drivers. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:1014-1021.
- 115) Sassani A, Findley LJ, Kryger M, Goldlust E, George C, Davidson TM. Reducing motor-vehicle collisions, costs and fatalities by treating obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep* 2004;27:369-380.
- 116) Real Decreto 772/1997 del 30 de mayo por el que se aprueba el Reglamento General de Conductores.
- 117) Krusinova E, Pelikanova T. Fatty acid binding proteins in adipose tissue: a promising link between metabolic syndrome and atherosclerosis? *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 82 Suppl 2:S127-34.
- 118) Boord JB, Fazio S, Linton MF. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13:141-147.
- 119) Zimmerman AW, Veerkamp JH. New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins. *Cell Mol Life Sci.* 2002; 59:1096-1116.

- 120) Furuhashi M, Hotamisligil GS. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7:489-503.
- 121) Fisher RM, Eriksson P, Hoffstedt J, Hotamisligil GS, Thörne A, Rydén M, Hamsten A, Arner P. Fatty acid binding protein expression in different adipose tissue depots from lean and obese individuals. *Diabetologia* 2001; 44:1268-1273.
- 122) Fisher RM, Thorne A, Hamsten A, Arner P. Fatty acid binding protein expression in different human adipose tissue depots in relation to rates of lipolysis and insulin concentration in obese individuals. *Mol Cell Biochem* 2002; 239:95-100.
- 123) Prinsen CF, de Bruijn DR, Merkx GF, Veerkamp JH. Assignment of the human adipocyte fatty acid-binding protein gene (FABP4) to chromosome 8q21 using somatic cell hybrid and fluorescence in situ hybridization techniques. *Genomics*. 1997; 40:207-209.
- 124) Chmurzynska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. *J Appl Genet.* 2006; 47:39-48.
- 125) Tan NS, Shaw NS, Vinckenbosch N, Liu P, Yasmin R, Desvergne B. Selective cooperation between fatty acid binding proteins and peroxisome proliferator activated receptors in regulating transcription. *Mol Cell Biol.* 2002; 22:5114-5127.
- 126) Sjöblom T, Jones S, Wood LD, Parsons DW, Lin J, Barber TD, Mandelker D, Leary RJ, Ptak J, Silliman N, Szabo S, Buckhaults P, Farrell C, Meeh P, Markowitz SD, Willis J, Dawson D, Willson JK, Gazdar AF, Hartigan J, Wu L, Liu C, Parmigiani G, Park BH, Bachman KE, Papadopoulos N, Vogelstein B, Kinzler KW, Velculescu VE. The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 2006; 314:268-274.
- 127) Fu Y, Luo L, Luo N, Garvey WT. Lipid metabolism mediated by adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene expression in human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis* 2006; 188:102-111.

- 128) Uysal KT, Scheja L, Wiesbrock SM, Bonner-Weir S, Hotamisligil GS. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2. *Endocrinology* 2000; 141:3388-3396.
- 129) Scheja L, Makowski L, Uysal KT, Wiesbrock SM, Shimshek DR, Meyers DS, Morgan M, Parker RA, Hotamisligil GS. Altered insulin secretion associated with reduced lipolytic efficiency in aP2^{-/-} mice. *Diabetes* 1999; 48:1987-1994.
- 130) Makowski L, Boord JB, Maeda K, Babaev VR, Uysal KT, Morgan MA, Parker RA, Suttles J, Fazio S, Hotamisligil GS, Linton MF. Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. *Nat Med* 2001; 7:699-705.
- 131) Fu Y, Luo N, Lopes-Virella MF. Oxidized LDL induces the expression of ALBP/aP2 mRNA and protein in human THP-1 macrophages. *J Lipid Res* 2000; 41:2017-2023.
- 132) Fu Y, Luo N, Lopes-Virella MF, Garvey WT. The adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene facilitates foam cell formation in human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis* 2002; 165:259-269.
- 133) Furuhashi M, Tuncman G, Gorgun CZ, Makowski L, Atsumi G, Vaillancourt E, Kono K, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, Sulsky R, Robl JA, Parker RA, Hotamisligil GS. Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. *Nature* 2007; 447: 959-965.
- 134) Boord JB, Fazio S, Linton MF. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13:141-147.
- 135) Perera RJ, Marcusson EG, Koo S, Kang X, Kim Y, White N, Dean NM. Identification of novel PPARgamma target genes in primary human adipocytes. *Gene* 2006; 369:90-99.

- 136) Cabre A, Lazaro I, Girona J, Manzanares JM, Marimón F, Plana N, Heras M, Masana L. Fatty acid binding protein 4 is increased in metabolic syndrome and with thiazolidinedione treatment in diabetic patients. *Atherosclerosis* 2007; 195:150-158.
- 137) Makowski L, Brittingham KC, Reynolds JM, Suttles J, Hotamisligil GS. The fatty acid-binding protein, aP2, coordinates macrophage cholesterol trafficking and inflammatory activity. Macrophage expression of aP2 impacts peroxisome proliferator-activated receptor gamma and I κ B kinase activities. *J Biol Chem* 2005; 280:12888-12895.
- 138) Xu A, Wang Y, Xu JY, Stejskal D, Tam S, Zhang J, Wat NM, Wong WK, Lam KS. Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Chem*. 2006; 52:405-413.
- 139) Fisher RM, Eriksson P, Hoffstedt J, Hotamisligil GS, Thörne A, Rydén M, Hamsten A, Arner P. Fatty acid binding protein expression in different adipose tissue depots from lean and obese individuals. *Diabetologia* 2001; 44:1268-1273.
- 140) Xu A, Tso AW, Cheung BM, Wang Y, Wat NM, Fong CH, Yeung DC, Janus ED, Sham PC, Lam KS. Circulating adipocyte-fatty acid binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study. *Circulation* 2007; 115:1537-1543.
- 141) Hsu BG, Chen YC, Lee RP, Lee CC, Lee CJ, Wang JH. Fasting serum level of Fatty-Acid-binding protein 4 positively correlates with metabolic syndrome in patients with coronary artery disease. *Circ J* 2010; 74:327-331.
- 142) Cabré A, Lázaro I, Girona J, Manzanares JM, Marimón F, Plana N, Heras M, Masana L. Plasma fatty acid-binding protein 4 increases with renal dysfunction in type 2 diabetic patients without microalbuminuria. *Clin Chem* 2008; 54:181-7.
-

- 143) Cabré A, Lázaro I, Girona J, Manzanares JM, Marimón F, Plana N, Heras M, Masana L. Plasma fatty acid binding protein 4 is associated with atherogenic dyslipidemia in diabetes. *J Lipid Res* 2008; 49:1746-51.
- 144) Cabré A, Lázaro I, Cofan M, Jarauta E, Plana N, Garcia-Otín AL, Ascaso JF, Ferré R, Civeira F, Ros E, Masana L. FABP4 plasma levels are increased in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2010; 51:1173-1178.
- 145) Coll B, Cabré A, Alonso-Villaverde C, Lazaro I, Aragonés G, Girona J, Masana L. The fatty acid binding protein-4 (FABP4) is a strong biomarker of metabolic syndrome and lipodystrophy in HIV infected patients. *Atherosclerosis* 2008; 199:147-153.
- 146) Rhee EJ, Lee WY, Park CY, Oh KW, Kim BJ, Sung KC, Kim BS. The association of serum adipocyte fatty acid-binding protein with coronary artery disease in Korean adults. *Eur J Endocrinol* 2009; 160:165-172.
- 147) Khalyfa A, Bhushan B, Hegazi M, Kim J, Kheirandish-Gozal L, Bhattacharjee R, Capdevila OS, Gozal D. Fatty-acid binding protein 4 gene variants and childhood obesity: potential implications for insulin sensitivity and CRP levels. *Lipids Health Dis* 2010; 9:9-18.
- 148) Yeung DC, Xu A, Cheung CW, Wat NM, Yau MH, Fong CH, Chau MT, Lam KS. Serum adipocyte fatty acid-binding protein levels were independently associated with carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:1796-1802.
- 149) Miyoshi T, Onoue G, Hirohata A, Hirohata S, Usui S, Hina K, Kawamura H, Doi M, Kusano KF, Kusachi S, Ninomiya Y. Serum adipocyte fatty acid-binding protein is independently associated with coronary atherosclerotic burden measured by intra-vascular ultrasound. *Atherosclerosis* 2010; 211:164-169.
- 150) Stejskal D, Karpisek M. Adipocyte fatty acid binding protein in a Caucasian population: a new marker of metabolic syndrome? *Eur J Clin Invest* 2006; 36:621-625.

- 151) Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth CL. Adipocyte fatty acid-binding protein in obese children before and after weight loss. *Metabolism* 2007; 56:1735-1741.
- 152) Haider DG, Schindler K, Prager G, Bohdjalian A, Luger A, Wolzt M, Ludvik B. Serum retinol-binding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1168-1171.
- 153) Karpisek M, Stejskal D, Kotolova H, Kollar P, Janoutova G, Ochmanova R, Cizek L, Horakova D, Yahia RB, Lichnovska R, Janout V. Treatment with atorvastatin reduces serum adipocyte-fatty acid binding protein value in patients with hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest* 2007; 37:637-642.
- 154) Lamounier-Zepter V, Look C, Alvarez J, Christ T, Ravens U, Schunck WH, Ehrhart-Bornstein M, Bornstein SR, Morano I. Adipocyte fatty acid-binding protein suppresses cardiomyocyte contraction: a new link between obesity and heart disease. *Circ Res* 2009; 105:326-334.
- 155) Rolph MS, Young TR, Shum BO, Gorgun CZ, Schmitz-Peiffer C, Ramshaw IA, Hotamisligil GS, Mackay CR. Regulation of dendritic cell function and T cell priming by the fatty acid binding protein aP2. *J Immunol* 2006; 177: 7794–7801.
- 156) Han Q, Yeung SC, Ip M, and Mak JC. Effects of intermittent hypoxia on A/E-FABP expression in human aortic endothelial cells. *Int J Cardiol* 2010; 145: 396–398.
- 157) Shum B, Mackay C, Gorgun C, Frost MJ, Kumar RK, Hotamisligil GS, Rolph MS. The adipocyte fatty acid-binding protein aP2 is required in allergic airway inflammation. *J Clin Invest* 2006; 116: 2183–2192.
- 158) Ghelfi E, Karaaslan C, Berkelhamer S, Akar S, Kozakewich H, Cataltepe S. Fatty acid binding proteins and peribronchial angiogenesis in bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 45: 550–556.

- 159) Maver A, Medica I, and Peterlin B. Search for sarcoidosis candidate genes by integration of data from genomic, transcriptomic and proteomic studies. *Medical Science Monitor* 2009; 15: SR22–SR28.
- 160) Wang J, Tang J, Wang B, Song J, Liu J, Wei Z, Zhang F, Ma X, Cao Y. FABP4: a novel candidate gene for polycystic ovary syndrome. *Endocrine* 2009; 36: 392–396.
- 161) Abdelwahab S A, Owada Y, Kitanaka N, Adida A, Sakagami H, Ono M, Watanabe M, Spener F, Kondo H. Enhanced expression of adipocyte-type fatty acid binding protein in murine lymphocytes in response to dexamethasone treatment. *Mol Cell Biochem* 2007; 299: 99–107.
- 162) Bennett JH, Shousha S, Puddle B, and Athanasou NA. Immunohistochemical identification of tumours of adipocytic differentiation using an antibody to aP2 protein. *J Clin Pathol* 1995; 48:950–954.
- 163) Ohlsson G, Moreira JMA, Gromov P, Sauter G, and Celis JE. Loss of expression of the adipocyte-type fatty acid binding protein (A-FABP) is associated with progression of human urothelial carcinomas. *Mol Cell Proteomics* 2005; 4: 570–581.
- 164) Fisher RM, Thorne A, Hamsten A, Arner P. Fatty acid binding protein expression in different human adipose tissue depots in relation to rates of lipolysis and insulin concentration in obese individuals. *Mol Cell Biochem*. 2002; 239:95-100.
- 165) Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth CL. Adipocyte fatty acid-binding protein in obese children before and after weight loss. *Metabolism*. 2007; 56:1735-1741.
- 166) Haider DG, Schindler K, Bohdjalian A, Prager G, Luger A, Wolzt M, Ludvik B. Plasma adipocyte and epidermal fatty acid binding protein is reduced after weight loss in obesity. *Diabetes Obes Metab*. 2007; 9:761-763.
- 167) Lazaro I, Ferre R, Plana N, Aragones G, Girona J, Merino J, Heras M, Masana L, Cabre A. Lifestyle changes lower Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein plasma concentration in obese patients at cardiovascular risk. *Rev Esp Cardiol* 2012; 65: 152-157.

- 168) Despres JP, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E, Rodes-Cabau J, Bertrand OF, Poirier P. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28:1039-1049.
- 169) Alberti KG, Zimmet PZ. New diagnostic criteria and classification of diabetes again? *Diabet Med.* 1998; 15:535-536.
- 170) Executive Summary of The Third of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285:2486-2497.
- 171) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet.* 2005; 366:1059-1062.
- 172) Taskinen MR. Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice. *Diabetologia.* 2003; 46:733-749.
- 173) Milner KL, van der Poorten D, Xu A, Bugianesi E, Kench JG, Lam KS, Chisholm DJ, George J. Adipocyte fatty acid binding protein levels relate to inflammation and fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2009; 49:1926-1934.
- 174) Aragones G, Ferre R, Lazaro I, Cabre A, Plana N, Merino J, Heras M, Girona J, Masana L. Fatty acid binding protein 4 is associated with endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2010; 213:329-31.
- 175) Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000; 106: 473-481.
- 176) Hotamisligil GS, Johnson RS, Distel RJ, Ellis R, Papaioannou VE, Spiegelman BM. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science* 1996; 274: 1377-1379.
- 177) Uysal KT, Scheja L, Wiesbrock SM, Bonner-Weir S, Hotamisligil GS. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2. *Endocrinology.* 2000; 141:3388-3396.
-

- 178) Tso AW, Xu A, Sham PC, Wat NM, Wang Y, Fong CH, Cheung BM, Janus ED, Lam KS. Serum adipocyte fatty acid binding protein as a new biomarker predicting the development of type 2 diabetes: a 10-year prospective study in a Chinese cohort. *Diabetes Care*. 2007; 30:2667-2672.
- 179) Mohlig M, Weickert MO, Ghadamgadai E, Machlitt A, Pfuller B, Arafat AM, Pfeiffer AF, Schofl C. Adipocyte fatty acid-binding protein is associated with markers of obesity, but is an unlikely link between obesity, insulin resistance, and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome women. *Eur J Endocrinol* 2007; 157:195-200.
- 180) Yeung DC, Xu A, Tso AW, Chow WS, Wat NM, Fong CH, Tam S, Sham PC, Lam KS. Circulating levels of adipocyte and epidermal fatty acid-binding proteins in relation to nephropathy staging and macrovascular complications in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2009; 32:132-134.
- 181) Lam DC, Xu A, Lam KS, Lam B, Lam JC, Lui MM, Ip MS. Serum adipocyte-fatty acid binding protein level is elevated in severe OSA and correlates with insulin resistance. *Eur Respir J* 2009;33:346-351.
- 182) Acioğlu E, Yiğit O, Volkan Sunter A, Taşkın U, Berçik İnal B, Sahin M. Obesity and obstructive sleep apnea syndrome. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;39:744-751.
- 183) Bhushan B, Khalyfa A, Spruyt K, Kheirandish-Gozal L, Capdevila OS, Bhattacharjee R, Kim J, Keating B, Hakonarson H, Gozal D. Fatty-acid binding protein 4 gene polymorphisms and plasma levels in children with obstructive sleep apnea. *Sleep Med*. 2011;12:666-671
- 184) Balc MM, Arslan U, Frat H, Kocaoğlu I, Vural MG, Balc KG, Maden O, Gürbüz OA, Ardç S, Yeter E. Serum levels of adipocyte fatty Acid-binding protein are independently associated with left ventricular mass and myocardial performance index in obstructive sleep apnea syndrome. *J Investig Med*. 2012; 60: 1020-1026.

- 185) Sovova E, Hobzova M, Stejskal D, Sova M, Kolek V, Zapletalova J. Treatment of obstructive sleep apnea with continuous positive airway pressure decreases adipocyte fatty acid-binding protein levels. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2012; 156:58-62.
- 186) Madsen PS, Rasmussen HH, Leffers H, Honore B, Celis JE. Molecular cloning and expression of a novel keratinocyte protein (psoriasis-associated fatty acid-binding protein [PA-FABP]) that is highly up-regulated in psoriatic skin and that shares similarity to fatty acid-binding proteins. *J Invest Dermatol* 1992; 99:299-305.
- 187) Haunerland NH and Spener F. Fatty acid-binding proteins insights from genetic manipulations. *Prog Lipid Res* 2004; 43: 328–349.
- 188) Simpson MA, Li Cata VJ, Coe NR, and Bernlohr DA. Biochemical and biophysical analysis of the intracellular lipid binding proteins of adipocytes. *Mol Cel Biochem* 1990; 192: 33–40.
- 189) Maeda K, Uysal KT, Makowski L, Görgün CZ, Atsumi G, Parker RA, Brüning J, Hertzog AV, Bernlohr DA, Hotamisligil GS. Role of the fatty acid binding protein mal1 in obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2003; 52: 300–307.
- 190) Maeda K, Cao H, Kono K, Gorgun CZ, Furuhashi M, Uysal KT, Cao Q, Atsumi G, Malone H, Krishnan B, Minokoshi Y, Kahn BB, Parker RA, Hotamisligil GS. Adipocyte / macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes. *Cell Metab* 2005; 1: 107–119.
- 191) Hoekstra M, Stitzinger M, Van Wanrooij EJ, Michon IN, Kruijt JK, Kamphorst J, Van Eck M, Vreugdenhil E, Van Berkel TJ, Kuiper J. Microarray analysis indicates an important role for FABP5 and putative novel FABPs on a Western-type diet. *J Lipid Res* 2006; 47: 2198–2207.

- 192) Babaev VR, Runner RP, Fan D, Ding L, Zhang Y, Tao H, Erbay E, Görgün CZ, Fazio S, Hotamisligil GS, Linton MF. Macrophage mal1 deficiency suppresses atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-null mice by activating peroxisome proliferator-activated receptor- γ -regulated genes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 1283–1290.
- 193) Yeung DCY, Wang Y, Xu A, Cheung SC, Wat NM, Fong DY, Fong CH, Chau MT, Sham PC, Lam KS. Epidermal fatty-acid-binding protein: a new circulating biomarker associated with cardiometabolic risk factors and carotid atherosclerosis. *Eur Heart J* 2008; 29:2156–2163.
- 194) Hong J, Gu W, Zhang Y, Yan Q, Dai M, Shi J, Zhai Y, Wang W, Li X, Ning G. Different association of circulating levels of adipocyte and epidermal fatty acid-binding proteins with metabolic syndrome and coronary atherosclerosis in Chinese adults. *Atherosclerosis* 2011; 217: 194–200.
- 195) Bagheri R, Qasim AN, Mehta NN, Terembula K, Kapoor S, Braunstein S, Schutta M, Iqbal N, Lehrke M, Reilly MP. Relation of plasma fatty acid binding proteins 4 and 5 with the metabolic syndrome, inflammation and coronary calcium in patients with type-2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2010; 106:1118-1123.
- 196) Lan H, Cheng CC, Kowalski TJ, Pang L, Shan L, Chuang CC, Jackson J, Rojas-Triana A, Bober L, Liu L, Voigt J, Orth P, Yang X, Shipps GW Jr, Hedrick JA. Small-molecule inhibitors of FABP4/5 ameliorate dyslipidemia but not insulin resistance in mice with diet-induced obesity. *J Lipid Res*. 2011; 52:646-656.
- 197) Rong-Zong L, Kathryn G, Darryl DG, Devon RG, Mackey JR, and Godbout R. Association of FABP5 Expression with Poor Survival in Triple-Negative Breast Cancer. Implication for Retinoic Acid Therapy *Am J Pathol* 2011, 178:997–1008.

- 198) Chi-Young J, Young-Sool H, Bok IC, Seon Min L, Young-Tae J, Eun-Jung J, Sang-Ho J, Young-Joon L, Sang-Kyung C, Woo-Song H, Soon-Tae P, Soon-Chan H. Fatty acid-binding protein 5 promotes cell proliferation and invasion in human intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Lett.* 2005 Jul 8; 225:151-157.
- 199) Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Desvarieux M et al. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis.* 2004; 18:346-349.
- 200) Wyman RA, Mays ME, McBride PE, Stein JH. Ultrasound-detected carotid plaque as a predictor of cardiovascular events. *Vasc Med.* 2006; 11:123-130.
- 201) Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke* 2006; 37:87-92.
- 202) Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, Najjar SS, Rembold CM, Post WS; American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008; 21:743-753.
- 203) Vlachos IS, Hatzioannou A, Perelas A, Perrea DN. Sonographic assessment of regional adiposity. *AJR Am J Roentgenol.* 2007; 189: 1545-1553.
- 204) Gozal D and Kheirandish-Gozal L. Cardiovascular Morbidity in Obstructive Sleep Apnea. Oxidative stress, inflammation and much more. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177:369-375.
- 205) Furuhashi M, Ishimura S, Ota H, Miura T. Lipid chaperones and metabolic inflammation. *Int J Inflamm* 2011; 2011: 642612.
-

- 206) Aragonès G, Saavedra P, Heras M, Cabré A, Girona J, Masana L. Fatty acid-binding protein 4 impairs the insulin-dependent nitric oxide pathway in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Diabetol* 2012; 11: 72.
- 207) Nielsen SU, Spener F. Fatty acid-binding protein from rat heart isphosphorylated on Tyr19 in response to insulin stimulation. *J Lipid Res* 1993; 34: 1355-1366.
- 208) Tso AW, Xu A, Sham PC, Wat NM, Wang Y, Fong CH, Cheung BM, Janus ED, Lam KS. Serum adipocyte fatty acid binding protein as anew biomarker predicting the development of type 2 diabetes: a 10-year prospective study in a Chinese cohort. *Diabetes Care* 2007; 30: 2667-2672.
- 209) Mazzatti D, Lim FL, O'Hara A, Wood IS, Trayhurn P. A microarray analysis of the hypoxia-induced modulation of gene expression in human adipocytes. *Arch Physiol Biochem* 2012; 118: 112–120.
- 210) Trenell MI, Ward JA, Yee BJ, Phillips CL, Kemp GJ, Grunstein RR, Thompson CH. Influence of constant positive airway pressure therapy on lipid storage, muscle metabolism and insulin action in obese patients with severe obstructive sleep apnoea syndrome. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9: 679-687.
- 211) Mehra R, Principe-Rodriguez K, Kirchner HL, Strohl KP. Sleep apnea in acute coronary syndrome: high prevalence but low impact on 6-month outcome. *Sleep Med* 2006; 7:521-528.
- 212) Bradley TD, Floras JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *Lancet* 2009; 373 :82-93.
- 213) Gottlieb DJ, Yenokyan G, Newman AB et al. Prospective study of obstructive sleep apnea and incident coronary heart disease and heart failure: the Sleep Heart Health Study. *Circulation* 2010; 122 : 352-360.

- 214) De Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smith AJ, Fruchart JC, Kastelein JJ. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker of atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109:III33-8.
- 215) Baguet JP, Nadra M, Barone-Rochette G, Ormezzano O, Pierre H, Pépin JL. Early cardiovascular abnormalities in newly diagnosed obstructive sleep apnea. *Vasc Health Risk Manag* 2009; 5: 1063-1073.
- 216) Suzuki T, Nakano H, Maekawa j, Okamoto Y, Ohnishi Y, Yamauchi M, Kimura H. Obstructive sleep apnea and carotid-artery intima-media thicknees. *Sleep* 2004; 27:129-133.
- 217) Baguet JP, Hammer L, Levy 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: 3407-3412.
- 218) 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 Res* 2012; 13: 22.
- 219) Grobbee DE, Bots ML. Atherosclerosis disease regression with statins: studies using vascular markers. *Int J Cardiol* 2004; 96: 447-459.
- 220) Hedblab B, Wikstrand J, Janzon L, Wedel H, Berglund G. Low-dose metoprolol CR/XL and fluvastain slow progression of carotid intima-media thickness: main results from the Beta-Blocker Cholesterol-Lowering Asymptomatic Plaque Study (BCAPS). *Circulation* 2001; 103: 1721-6.

9. Annex I



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013



UNITAT DE TRASTORNS RESPIRATORIS DEL SON

ESCALA EPWORTH DE SOMNOLÈNCIA DIÛRNA

Com és de fàcil que es quedi dormit en les següents situacions?

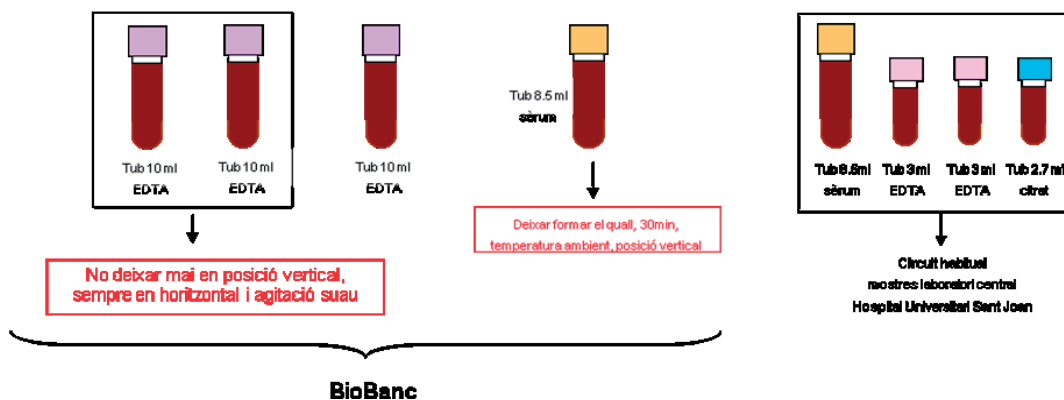
Si no ha estat en alguna d'aquestes situacions recentment, pensi com es comportaria si estigués amb ella. Utilitzi la següent escala i triï el número més adequat a la situació segons esta escala:

- 0 = Mai m'adormo
- 1 = Poques possibilitats d'adormir-me
- 2 = Bastants possibilitats d'adormir-me
- 3 = Gairebé sempre m'adormo

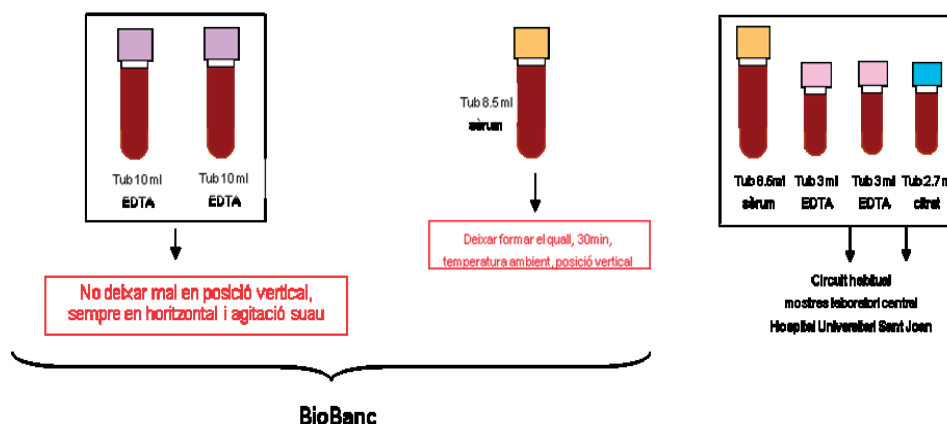
SITUACIÓ	PUNTUACIÓ
Assegut i llegint	
Mirant la TV	
Assegut i inactiu en un lloc públic	
De passatger al cotxe durant més d'una hora, sense pauses	
Descansant, a mitja tarda	
Assegut, parlant amb algú	
Assegut, tranquil després dels àpats sense alcohol	
Al cotxe, en parar uns minuts pel trànsit	
PUNTUACIÓ TOTAL	

Esquema de l'obtenció de mostres i les alíquotes processades i guardades al BioBanc



SAHS (esquema tubs d'extracció visita 1)



SAHS (esquema tubs d'extracció visita 2)



Procediment normalitzat de treball metodològic de la FABP4 de l'URLA

 UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI			
Procediment Normalitzat de Treball Metodològic			
Human Adipocyte FABP ELISA - FABP4			
PNT-PO0703-URLA-11		Revisió: 00	Data: 24-07-2008
1. Fonament i objectiu			
<p>L'ELISA de l'<i>adipocyte fatty acid binding protein</i> humana (AFABP – Cat. No. RD191036200R) de BioVendor és un <i>biotin labelled antibody based sandwich enzyme immunoassay</i> per la determinació quantitativa d'AFABP humana en sèrum, plasma i extractes de teixits i medi de cultiu.</p> <p>A l'ELISA, els calibradors i les mostres són incubades amb un anticòs <i>goat polyclonal</i> anti-AFABP humana retintut en pous de placa de 96 pous. Després d'una hora d'incubació i una sèrie de rentats, s'afegeix un anticòs policlonal anti-AFABP marcat amb biotina i s'incuba amb l'AFABP capturada durant una hora. Després d'una segona sèrie de rentats, s'afegeix un conjugat <i>streptavidin-horseradish</i> peroxidase. Després de 30 min d'incubació i l'última sèrie de rentats, el conjugat remanent permet reaccionar amb el substrat H_2O_2-<i>tetramethylbenzidine</i>. La reacció s'atura per l'addició d'una solució àcida i l'absorbància del producte groc resultant es mesura a 450nm. L'absorbància és proporcional a la concentració d'AFABP. La corba estàndard es construeix representant els valors d'absorbància vers les concentracions d'AFABP, i les concentracions de les mostres desconegudes es determinen utilitzant la corba estàndard.</p>			
2. Espècimen			
Sèrum o plasma humà, extractes de teixits o medi de cultiu.			
3. Documentació relacionada			
4. Definicions			
5. Historial de revisions			
Modificacions efectuades	No de Revisió	Data	
6. Solucions, reactius i materials			
<p>Nota: com es tracta d'un kit ELISA comercial, totes les solucions i reactius que són necessaris, venen inclosos en el propi kit. Només cal seguir les indicacions del protocol proporcionat per la casa comercial.</p> <p>Tots els reactius proporcionats estan preparats per fer-los servir, excepte el <i>AFABP Master Calibrator</i>, els <i>Quality Controls</i> i el <i>Wash Solution Concentrate (10x)</i>. A l'apartat número 9, s'indica la seva preparació.</p>			
Material	Capacitat	Tractament Previ	Observacions
tubs eppendorf	1,5ml	----	No és necessari autoclavat
probeta	1l	----	----
puntes micropipeta	2-200µl	----	No és necessari autoclavat
puntes micropipeta	100-1000µl	----	No és necessari autoclavat
puntes micropipeta multicanal	50-350µl	----	No és necessari autoclavat

7. Instrumentació i equips:					
Equip	Ubicació	Núm. Inventari	Núm. PNT-EE	Observacions	
Lector ELISA BioWhittaker KINETIC-QCL	Laboratori 2. Bioquímica	012592			
Roller	Laboratori 2. Bioquímica	012416			
Agitador orbital	(propietat de Psiquiatria)			Ens el deixen fer servir cada vegada que el necessitem.	
Micropipeta multicanal	Laboratoris 1/2. Genètica i Biologia Molecular/Bioquímica				
Micropipeta 2-200µl	Laboratoris 1/2. Genètica i Biologia Molecular/Bioquímica				
Micropipeta 100-1000µl	Laboratoris 1/2. Genètica i Biologia Molecular/Bioquímica				
8. Precaucions					
És imprescindible llegir-se el protocol de la casa comercial que ve amb el kit abans d'iniciar el procediment. Cada lot sol tenir una actualització del protocol i en cada compra ens arriba un lot diferent.					
9. Procediment					
<p>Nota #1. Aquest kit ELISA comercial inclou un protocol proporcionat per la casa comercial; s'indica seguir les instruccions de procediment proporcionades per la casa comercial.</p> <p>Nota #2. Tots els reactius s'han d'atemperar previ a fer-los servir; també, s'han de portar a temperatura ambient, les mostres de plasma i sèrum previ a ser pipetejades.</p> <p>Nota #3. Per realitzar aquest kit es necessita 1 litre d'aigua MilliQ per placa, que sigui recent. És a dir, del mateix dia o del dia anterior.</p> <p>Nota #4. Si no és necessària tota la placa, es poden retirar les tires que no siguin necessàries i guardar-les en un altre marc de placa de 96 pous dins la bossa d'alumini proporcionada amb la bosseta dessecant i segellar-la. Cal guardar-la a 2-8°C, preservant-la de la humitat.</p>					
9.1. Preparació dels reactius					
<p>9.1.1. <i>Wash solution</i> Diluir els 100ml de <i>Wash Solution Concentrate</i> amb 900ml d'aigua MilliQ en una probeta de 1l. Estabilitat i emmagatzematge: la <i>Wash solution</i> diluïda és estable durant un mes a 2-8°C.</p> <p>9.1.2. <i>Human AFABP Calibrators</i> IMPORTANT: per la reconstitució del <i>Master Calibrator</i> liofilitzat amb el <i>Dilution Buffer</i>, cal consultar en cada cas el <i>Certificate of Analysis</i> que va inclòs en cada kit (fulla groga). Reconstituir el <i>Master Calibrator</i> liofilitzat amb el <i>Dilution Buffer</i> previ a l'inici de l'assaig. Afegir el volum indicat de <i>Dilution Buffer</i> i deixar dissoldre com a mínim 15 min, en el <i>roller</i>. La concentració resultant de la solució estoc d'AFABP humana és de 25ng/ml. Estabilitat i emmagatzematge: els calibradors són estables fins a la data de caducitat indicada si es conserven a -20°C.</p> <p>9.1.3. <i>Quality Controls</i> IMPORTANT: per la reconstitució dels <i>Quality Controls</i> liofilitzats amb aigua MilliQ, cal</p>					

<p>consultar en cada cas el <i>Certificate of Analysis</i> que va inclòs en cada kit.</p> <p>Reconstituir els <i>Quality Controls (HIGH i LOW)</i> liofilitzats amb el aigua MilliQ previ a l'inici de l'assaig. Cal tractar els controls com a mostres; per tant, cal diluir-los 1:10 amb <i>Dilution Buffer</i> abans de ser utilitzats. Per exemple: 30µl <i>Quality Control</i> + 270µl <i>Dilution Buffer</i></p> <p>Estabilitat i emmagatzematge: els controls de qualitat reconstituïts però no diluïts, són estables fins a la data de caducitat indicada si es conserven a -20°C.</p>																															
<p>9.2. <u>Preparació de la corba estàndard</u></p> <p>El <i>Master Calibrator</i> reconstituït constitueix la solució estoc d'AFABP de 25ng/ml. La corba estàndard es prepara a partir de l'estoc per dilucions seriades amb <i>dilution buffer</i> segons la següent taula:</p> <table border="1" data-bbox="344 580 1148 1024"> <thead> <tr> <th></th> <th>Volum estàndard</th> <th>Volum <i>Dilution Buffer</i></th> <th>Concentració</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Estàndard 6</td> <td>solució estoc <i>Master Calibrator</i></td> <td>---</td> <td>25 ng/ml</td> </tr> <tr> <td>Estàndard 5</td> <td>500µl estàndard 6</td> <td>750µl</td> <td>10 ng/ml</td> </tr> <tr> <td>Estàndard 4</td> <td>500µl estàndard 5</td> <td>500µl</td> <td>5 ng/ml</td> </tr> <tr> <td>Estàndard 3</td> <td>500µl estàndard 4</td> <td>500µl</td> <td>2.5 ng/ml</td> </tr> <tr> <td>Estàndard 2</td> <td>500µl estàndard 3</td> <td>750µl</td> <td>1 ng/ml</td> </tr> <tr> <td>Estàndard 1</td> <td>500µl estàndard 2</td> <td>500µl</td> <td>0.5 ng/ml</td> </tr> </tbody> </table>					Volum estàndard	Volum <i>Dilution Buffer</i>	Concentració	Estàndard 6	solució estoc <i>Master Calibrator</i>	---	25 ng/ml	Estàndard 5	500µl estàndard 6	750µl	10 ng/ml	Estàndard 4	500µl estàndard 5	500µl	5 ng/ml	Estàndard 3	500µl estàndard 4	500µl	2.5 ng/ml	Estàndard 2	500µl estàndard 3	750µl	1 ng/ml	Estàndard 1	500µl estàndard 2	500µl	0.5 ng/ml
	Volum estàndard	Volum <i>Dilution Buffer</i>	Concentració																												
Estàndard 6	solució estoc <i>Master Calibrator</i>	---	25 ng/ml																												
Estàndard 5	500µl estàndard 6	750µl	10 ng/ml																												
Estàndard 4	500µl estàndard 5	500µl	5 ng/ml																												
Estàndard 3	500µl estàndard 4	500µl	2.5 ng/ml																												
Estàndard 2	500µl estàndard 3	750µl	1 ng/ml																												
Estàndard 1	500µl estàndard 2	500µl	0.5 ng/ml																												
<p>9.3. <u>Preparació de les mostres</u></p> <p>La dilució recomanada per les mostres de sèrum o plasma és de 1:10 amb <i>Dilution Buffer</i>. Depenent del tipus de població d'estudi es podria requerir una altra dilució.</p> <p>Es recomana: 30µl mostra + 270µl <i>dilution buffer</i>.</p> <p>Estabilitat i emmagatzematge: no guardar les mostres diluïdes.</p>																															
<p>9.4. <u>Procediment experimental</u></p> <p>9.4.1. Preparar una plantilla amb el disseny de la placa ELISA, en què a cada pou de la placa s'indiqui què hi correspon (blancs, estàndards, controls i mostres).</p> <p>9.4.2. Pipetejar 100µl dels estàndards, els controls de qualitat, el blanc (<i>dilution buffer</i>) i les mostres; preferiblement per duplicat d'acord amb la plantilla prèviament dissenyada. Quan s'hagin dispensat totes les mostres, cal eliminar les bombolles generades en dispensar amb una agulla de xeringa. Seguidament, cal segellar la placa amb un film adhesiu transparent.</p> <p>9.4.3. Incubar la placa a temperatura ambient durant 1 hora, en un agitador orbital a 100rpm.</p> <p>9.4.4. Primera sèrie de rentats. Eliminar el volum dels pous i picar la placa sobre un bloc de papers de filtre, perquè quedi ben seca. Rentar amb la micropipeta multicanal amb wash solution 1x: 300µl/pou. Omplir la placa, buidar-la i picar-la sobre papers de filtre. Realitzar aquesta operació 5 vegades. Després del darrer rentat, cal eliminar les bombolles amb una agulla de xeringa.</p> <p>9.4.5. Pipetejar 100µl de <i>Biotin Labelled Anti-AFABP Antibody Solution</i> a cada pou.</p> <p>9.4.6. Incubar la placa a temperatura ambient durant 1 hora, en un agitador orbital a</p>																															

100rpm. 9.4.7. Segona sèrie de rentats. Eliminar el volum dels pous i picar la placa sobre un bloc de papers de filtre, perquè quedi ben seca. Rentar amb la micropipeta multicanal amb wash solution 1x: 300µl/pou. Omplir la placa, buidar-la i picar-la sobre papers de filtre. Realitzar aquesta operació 5 vegades.
9.4.8. Després del darrer rentat, cal eliminar les bombolles amb una agulla de xeringa. 9.4.9. Pipetejar 100µl de <i>Streptavidin-HRP Conjugate</i> a cada pou. 9.4.10. Incubar la placa a temperatura ambient durant 30 min, en un agitador orbital a 100rpm.
9.4.11. Tercera sèrie de rentats. Eliminar el volum dels pous i picar la placa sobre un bloc de papers de filtre, perquè quedi ben seca. Rentar amb la micropipeta multicanal amb wash solution 1x: 300µl/pou. Omplir la placa, buidar-la i picar-la sobre papers de filtre. Realitzar aquesta operació 5 vegades.
9.4.12. Pipetejar 100µl de <i>Substrate Solution</i> a cada pou. Cal realitzar aquesta operació preservant el reactiu de l'exposició a la llum. Un cop dispensat el volum de reactiu als pous de la placa, cal cobrir-la amb un paper d'alumini durant el temps d'incubació.
9.4.13. Incubar la placa a temperatura ambient durant 10 min; important, SENSE AGITACIÓ. Durant aquest temps, els pous adquireixen una coloració blava, en diferent grau segons la concentració d'AFABP.
9.4.14. Aturar la reacció afegint 100µl de <i>Stop Solution</i> per pou. En aquest punt, la coloració blava es torna groga en afegir la solució de stop.
9.4.15. Esperar 5 min després d'haver afegit la solució de stop i, seguidament, determinar l'absorbància llegint a 450nm en un lector ELISA. Si algun valor excedeix el límit que pot llegir el lector ELISA, la lectura que s'obindrà serà OVERFLOW. En aquest cas, es pot fer una segona lectura a 405nm.
9.4.16.
10. Verificació de la tècnica i interpretació de resultats
10.1. Càlculs A partir dels valors d'absorbància obtinguts pels estàndards i pel blanc, es confeccionarà una corba estàndard. Es recomana utilitzar el programari <i>GraphPad Prism 5</i> . El model matemàtic que cal aplicar és una funció paramètrica de quart ordre. Si aquest model no s'ajustés adequadament, és possible aplicar una funció paramètrica de tercer ordre. Els estàndards no estan diluïts, mentre que les mostres i els controls de qualitat sí ho estan; la dilució aplicada que es recomana d'inici és 1:10. Cal tenir en compte el factor de dilució a l'hora de fer els càlculs.
10.2. Límits de l'assaig Els resultats que excedeixen el valor d'absorbància de l'estàndard corresponent a la concentració de 25ng/ml malgrat la dilució 1:10 aplicada haurien de ser repetits aplicant una dilució més gran. També s'haurien de repetir aquelles mostres que el seu valor d'absorbància estigui per sota del valor més baix de la corba aplicant una dilució més petita o si es donés el cas, sense diluir la mostra. El factor de dilució a aplicar ha de decidir-se en funció a l'absorbància obtinguda i les absorbàncies observades per la corba estàndard.
10.3. Controls de qualitat Cal validar els valors de concentració obtinguts pels controls de qualitat HIGH i LOW. Per fer-ho, cal recórrer al <i>Certificate of Analysis</i> que va inclòs en cada kit (fulla groga). En aquest document, es presenten uns rangs de valors de concentració en els que s'haurien de trobar les concentracions obtingudes pels controls en el nostre assaig.
11. Guia de problemes

Problema	Possible causa
1. Senyal FEBLE a tots els pous	Omissió d'algun reactiu en algun dels passos del kit.
	Preparació no adequada d'algun reactiu o mala conservació.
	Realització del procediment abans que els reactius es trobessin a temperatura ambient.
2. Senyal MOLT ALTA o ELEVAT soroll de fons	Procediment de rentats no realitzat de manera adequada.
	Sobreexposició; temps d'incubació amb el substrat excessiu abans d'afegir la solució de stop.
3. Elevat coeficient de variació (CV)	Procediment de rentats no realitzat de manera adequada.
4. Efecte del procés de congelació/descongelació en la concentració d'AFABP en les mostres	No s'observa cap deriva significativa en la determinació de la concentració d'AFABP en mostres de sèrum i plasma després de tres cicles de congelació/descongelació.
5. Estabilitat de les mostres a 4°C	Les mostres haurien de ser conservades a -20°C. Però, no s'observa una deriva significativa en la concentració d'AFABP en mostres de sèrum i plasma quan aquestes s'emmagatzemen a 4°C durant 2 setmanes.
6. Efecte de la matriu de la mostra (sèrum/plasma)	No s'observen diferències significatives en les concentracions d'AFABP en mostres de sèrum, plasma citrat, plasma EDTA i plasma Heparina.
12. Referències	
Referències a l'adipocyte fatty acid binding protein (AFABP):	
<ul style="list-style-type: none"> • Makowski L, Brittingham KC, Reynolds JM, Suttles J and Hotamisligil GS: The Fatty Acid Binding Protein, aP2, Coordinates Macrophage Cholesterol Trafficking and Inflammatory Activity. <i>J Biol Chem.</i> Apr 1; 280(13): 12888-95 (2005). • Maeda K, Cao H, Kono K, Gorgun CZ, Furuhashi M, Uysal KT, Cao Q, Atsumi G, Malone H, Krishnan B, Minokoshi Y, Kahn BB, Parker RA and Hotamisligil GS: Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes. <i>Cell Metabolism.</i> February; 1(2): 107-19 (2005). • Boord JB, Maeda K, Makowski L, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, Hotamisligil GS: Combined adipocyte-macrophage fatty acid-binding protein deficiency improves metabolism, atherosclerosis, and survival in apolipoprotein E-deficient mice. <i>Circulation.</i> Sep 14; 110(11): 1492-8 (2004). • Lehmann F, Haile S, Axen E, Medina C, Uppenberg J, Svensson S, Lundback T, Rondahl L, Barf T: Discovery of inhibitors of human adipocyte fatty acid-binding protein, a potential type 2 diabetes target. <i>Bioorg Med Chem Lett.</i> Sep 6; 14(17): 4445-8 (2004). • Damcott CM, Moffett SP, Feingold E, Barmada MM, Marshall JA, Hamman RF, Ferrell RE: Genetic variation in fatty acid-binding protein-4 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma interactively influence insulin sensitivity and body composition in males. <i>Metabolism.</i> Mar; 53(3): 303-9 (2004). • Jenkins-Kruchten AE, Bennaars-Eiden A, Ross JR, Shen WJ, Kraemer FB, Bemlohr DA: Fatty acid-binding protein-hormone-sensitive lipase interaction. Fatty acid dependence on binding. <i>J Biol Chem.</i> Nov 28; 278(48): 47636-43 (2003). • Hertzog AV, Bennaars-Eiden A, Bemlohr DA: Increased lipolysis in transgenic animals overexpressing the epithelial fatty acid binding protein in adipose cells. <i>J Lipid Res.</i> Dec; 43(12): 2105-11 (2002). • Fu Y, Luo N, Lopes-Virella MF, Garvey WT: The adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene facilitates foam cell formation in human THP-1 macrophages. <i>Atherosclerosis.</i> Dec; 165(2): 259-69 (2002). • Storch J, Veerkamp JH, Hsu KT: Similar mechanisms of fatty acid transfer from human and rodent fatty acid-binding proteins to membranes: liver, intestine, heart muscle, and adipose tissue FABPs. <i>Mol Cell Biochem.</i> Oct; 239(1-2): 25-33 (2002). 	

- Fisher RM, Hoffstedt J, Hotamisligil GS, Thorne A, Ryden M: Effects of obesity and weight loss on the expression of proteins involved in fatty acid metabolism in human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord*. Oct; **26**(10): 1379-85 (2002).
- Boord JB, Maeda K, Makowski L, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, Hotamisligil GS: Adipocyte fatty acid-binding protein, aP2, alters late atherosclerotic lesion formation in severe hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Oct 1; **22**(10): 1686-91(2002).
- Fisher RM, Eriksson P, Hoffstedt J, Hotamisligil GS, Thorne A, Ryden M, Hamsten A, Amer P: Fatty acid binding protein expression in different adipose tissue depots from lean and obese individuals. *Diabetologia*. Oct; **44**(10): 1268-73 (2001).
- Scheja L, Makowski L, Uysal KT, Wiesbrock SM, Shimshek DR, Meyers DS, Morgan M, Parker RA, Hotamisligil GS: Altered insulin secretion associated with reduced lipolytic efficiency in aP2-/- mice. *Diabetes*. Oct; **48**(10): 1987-94 (1999).
- Coe NR, Simpson MA, Bernlohr DA: Targeted disruption of the adipocyte lipid-binding protein (aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular fatty acid levels. *J Lipid Res*. May; **40**(5): 967-72 (1999).
- Baxa CA, Sha RS, Buelit MK, Smith AJ, Matarese V, Chinander LL, Boundy KL and Bernlohr DA: Human adipocyte lipid-binding protein: purification of the protein and cloning of its complementary DNA. *Biochemistry*. **28**(22): 8683-90 (1989).

Referències a aquest producte:

- Xu A, Tso AW, Cheung BM, Wang Y, Wat NM, Fong CH, Yeung DC, Janus ED, Sham PC, Lam KS: Circulating adipocyte-fatty acid binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study. *Circulation*. Mar 27; **115**(12): 1537-43 (2007).
- Bronsky J, Karpisek M, Bronska E, Pechova M, Jancikova B, Kotolova H, Stejskal D, Prusa R, Nevoril J: Adiponectin, adipocyte fatty acid binding protein, and epidermal fatty acid binding protein: Proteins newly identified in human breast milk. *Clin Chem*. Sep; **52**(9): 1763-70 (2006).
- von Eynatten M, Schneider JG, Allolio B: Adipocyte fatty acid binding protein (A-FABP) ist ein neuer Serum-Marker für Adipositas, Insulinresistenz und Metabolisches Syndrom. *Diabetologie*. 1: S23-S172 (2006).
- Xu A, Wang Y, Xu JY, Stejskal D, Tam S, Zhang J, Wat NM, Wong WK, Lam KS: Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Chem*. Mar; **52**(3): 405-13 (2006).
- Stejskal D and Karpisek M: Adipocyte fatty acid binding protein (A-FABP) in Caucasian population: a new marker of metabolic syndrome? *Eur J Clin Invest*. Sep; **36**(9): 621-5 (2006).
- Cabré A, Lázaro I, Girona J, Manzanares JM, Marimón F, Plana N, Heras M, Masana L: Fatty acid binding protein 4 is increased in metabolic syndrome and with thiazolidinedione treatment in diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2007; 195:e150-8. PMID: 17553506
- Coll B, Cabré A, Alonso-Villaverde C, Lázaro I, Aragonés G, Parra S, Girona J, Masana L: The fatty acid binding protein-4 (FABP4) is a strong biomarker of metabolic syndrome and lipodystrophy in HIV-infected patients. *Atherosclerosis*. 2008;199(1):147-53. PMID: 17983623
- Cabré A, Lázaro I, Girona J, Manzanares JM, Marimón F, Plana N, Heras M, Masana L: Plasma fatty acid-binding protein 4 increases with renal dysfunction in type 2 diabetic patients without microalbuminuria. *Clin Chem*. 2008;54:181-7. PMID: 18024526
- Cabré A, Lázaro I, Girona J, Manzanares JM, Marimón F, Plana N, Heras M, Masana L: Plasma fatty acid binding protein 4 is associated with atherogenic dyslipidemia in diabetes. *J Lipid Res*. 2008;49: 1746-51. PMID: 18421072

13. Control de la documentació

14. Annexos

10. Annex II



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

COMUNICACIONS CIENTÍFIQUES A CONGRESSOS:

- **Català R**, Cabré A, Teixidó A, Sangenis S, Hernández-Flix S, Masana L. «Correlació entre la severitat de la SAHS i els nivells de FABP4, marcador de risc cardiovascular». **Millor comunicació (primer premi)** presentada a la XXX Diada Pneumològica de la SOCAP. Sant Joan Despí, 2012.....Dotació: 2.000 €.

- **Català R**, Cabré A, Ferré R, Teixidó A, Sangenis S, Hernández-Flix S, Masana L. «FABP4 circulante se asocia con la severidad del síndrome de apneas hipopneas del sueño (SAHS) y su elevada arteriosclerosis subclínica». **Comunicació oral** al 25º Congreso Nacional de la SEA. Reus, 2012.

- **Català R**, Cabré A, Teixidó A, Sangenis S, Hernández-Flix S, Masana L. «Adipocyte fatty acid-binding protein (FABP4): marcador de riesgo cardiovascular que se correlaciona con la severidad del SAHS». Pòster discussió al 45º Congreso Nacional SEPAR. Madrid, 2012.

- **Català R**, Cabré A, Ferré R, Sangenis S, Teixidó A, Hernández-Flix S, Masana L. «Disminució del gruix íntima-mitja carotídi com a resposta al tractament amb CPAP en pacients amb SAHS». **Millor comunicació (primer premi)** presentada a la XXXI Diada Pneumològica de la SOCAP. Sitges, 2013.Dotació: 2.000 €.

- **Català R**, Cabré A, Ferré R, Sangenis S, Ibarretxe D, Teixidó A, Hernández-Flix S, Masana L. «Arteriosclerosis subclínica en el síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño». Pòster al 46º Congreso Nacional SEPAR. Barcelona, 2013.

- **Català R**, Cabré A, Ferré R, Sangenis S, Hernández-Flix S, Masana L. «Circulating FABP4 and subclinical atherosclerosis in obstructive sleep apnea syndrome». **Comunicació oral** al 5th World Congress on Sleep Medicine de la WASM. València, 2013.

- Ferré R, **Català R**, Cabré A, Hernández-Flix S, Sangenis S, Plana N, Teixidó A, Masana L. «Continuous Positive airway pressure treatment regresses carotid intima media thickness in obstructive sleep apnea syndrome». Pòster al 81º Congrès de l' EAS. Lió, 2013.

- Ferré R, **Català R**, Cabré A, Hernández- Flix S, Sangenís S, Plana N, Texidó A, Masana L. «Continuous Positive airway pressure treatment regresses carotid intima media thickness in obstructive sleep apnea syndrome». **Comunicació oral** al 26º Congreso Nacional de la SEA. Saragossa, 2013.

- Ferré R, **Català R**, Cabré A, Hernández- Flix S, Sangenís S, Plana N, Merino J, Texidó A, Masana L. «Continuous Positive airway pressure treatment regresses carotid intima media thickness in obstructive sleep apnea syndrome». Pòster al 23rd European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection. ESH. Milà, 2013.

ARTICLES CIENTÍFICS

- **Català R**, Cabré A, Hernández-Flix S, Ferré R, Sangenís S, Plana N, Texidó A, Masana L. «Circulating FABP4 and FABP5 levels are differently linked to OSA severity and treatment». **Sleep** (en premsa). **IF: 5.051**

- **Català R**, Ferré R, Cabré A, Sangenís S, Hernández-Flix S, Plana N, Texidó A, Masana L. «Continuous positive airway pressure treatment decreases carotid intima-media in obstructive sleep apnea». (en revisió)

Circulating FABP4 and FABP5 levels are differently linked to OSA severity and treatment

Raquel Català,^{1,2,*} Anna Cabré,^{2,3,*} Salvador Hernández-Flix,^{1,2} Raimón Ferré,^{2,3} Sandra Sengenís,^{1,2} Núria Plana,^{2,3} Anna Texidó,^{1,2} Lluís Masana^{2,3}

*Both authors contributed equally.

¹Sleep Disorders Unit, Respiratory Department, Reus, Spain

²“Sant Joan” University Hospital, Universitat Rovira i Virgili, IISPV, Reus, Spain

³Research Unit on Lipids and Atherosclerosis, Vascular Medicine and Metabolism Unit, Spanish Biomedical Research Centre in Diabetes and Associated Metabolic Disorders (CIBERDEM), Reus, Spain

Correspondence to Dr Anna Cabré, Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosi, Facultat de Medicina, Universitat Rovira i Virgili, C. Sant Llorenç 21, 43201-Reus, Spain;
anna.cabre@urv.cat

Running Head: FABP4 and FABP5 in OSA

Competing interests: Competing interests RC, AC, SHF, RF, SS, NP, AT have nothing to disclosure. LM has participated in the RECIPE study supported by DANONE and LM is a recipient of lecture fees from MSD and Kowa.

ABSTRACT

Objective To evaluate circulating adipocyte and epidermal fatty acid-binding protein (FABP4 and FABP5) concentrations in patients with obstructive sleep apnea (OSA), as well as the effects of continuous positive airway pressure (CPAP) treatment.

Methods Our cross-sectional study included 125 patients. After polysomnography, 58 participants met the criteria for CPAP treatment and they were included in a closed cohort study of 8-weeks of CPAP treatment. General anthropometric and biochemical data and circulating FABP4 and FABP5 levels were determined in all patients at baseline and after CPAP treatment in those receiving this therapy.

Results Circulating FABP4 but not FABP5 levels were higher in patients with OSA ($p=0.003$). FABP4 but not FABP5 values were associated with parameters of OSA severity independently of age, gender, adiposity and insulin resistance ($p<0.05$). FABP4 but not FABP5 concentrations were determinants of OSA presence [OR: 1.11, $p=0.010$] and severity [OR: 1.06, $p=0.020$]. After CPAP treatment, FABP4 levels decreased in the more severe patients ($p=0.019$), while FABP5 levels increased in all patients ($p<0.001$).

Conclusions FABP4 is directly associated with OSA severity and did not change with CPAP treatment, while FABP5 was not associated with OSA severity and increased with CPAP treatment. FABP4 and FABP5 have different associations with OSA. FABP4 but not FABP5 could be considered a marker of metabolic alterations in OSA patients.

KEYWORDS: adipocyte fatty acid-binding protein, continuous positive airway pressure, epidermal fatty acid-binding protein, obstructive sleep apnea, therapy

INTRODUCTION

Obstructive sleep apnea (OSA) is a very prevalent disease in adult population, and its prevalence increases with age^{1,2}. OSA is a risk factor for cardiovascular disease, particularly when accompanied by marked nocturnal hypoxemia^{1,2}. The relationship between OSA and cardiovascular risk is complicated by confounding factors involved in the two entities such as obesity, age and gender. It has been recently reported that, in severe OSA patients, treatment with continuous positive airway pressure (CPAP), in addition to improving daytime symptoms (excessive sleepiness) and quality of life,³ has a considerable impact on metabolic alterations, including decreased cholesterol levels and improved insulin resistance which reduce cardiovascular risk^{4,5}.

The association between OSA and cardiometabolic alterations is likely due to common pathophysiological pathways. Recently there has been active research focusing on molecules linking OSA with metabolic alterations. Among these studies, the fatty acid binding proteins (FABP) are good candidates as markers of OSA and metabolic alterations.

FABPs are a family of metabolically related, low molecular weight proteins acting as cytoplasm fatty acid transporters. The adipocyte FABP (FABP4) is one of the better known FABP subtypes. Data from animal studies have suggested that increased FABP4 levels are associated with dyslipidemia and with the development of insulin resistance^{6,7}. Interestingly, FABP4 is also expressed in macrophages, particularly during intracellular lipid accumulation, as in the foam cell formation process⁸. In FABP4 knock out animals, the epidermal FABP (FABP5) is overexpressed in adipocytes, replacing, in part, the FABP4 intracellular function⁶.

Albeit mainly intracellular, these proteins are in part released into plasma, and circulating levels can be measured. The role of circulating FABP4 as a metabolic derangement biomarker has been widely established by our group and other groups¹⁰⁻¹⁴. FABP4 plasma levels are associated with obesity, type 2 diabetes, and metabolic syndrome¹⁰⁻¹². Interestingly, the increase in plasma FABP4 levels precedes the above-mentioned metabolic alterations¹³ and thus has been suggested as a biomarker of metabolic risk¹⁴. FABP4 has also been associated with vascular disease because FABP4 levels are associated with the coronary atherosclerosis burden¹⁵. Circulating FABP4

correlates with endothelial dysfunction and a causal role, beyond its role as a biomarker, in vascular damage has been suggested¹⁶. Circulating FABP4 levels have been studied in OSA patients, and an association with OSA presence and severity has been reported^{17,18}. Moreover, CPAP treatment seems to decrease FABP4 levels¹⁹. Recently, Bhushan and colleagues reported that childhood obesity and OSA are associated with higher plasma FABP4 levels, which increase cardiometabolic risk²⁰. The clinical significance of circulating FABP5 is less known. It has a significant direct correlation to FABP4 and has been suggested to have a role similar to that of FABP4 as biomarker of cardiometabolic risk. Moreover, its association to carotid intima-media thickness has been reported, although its impact as a cardiovascular risk marker is not clearly established^{21,22}. Both FABP4 and FABP5 are also expressed in alveolar macrophages and endothelial peribronchial cells, although only high FABP4 levels have been associated with asthma and bronchopulmonary dysplasia²³. There are no data on the correlation between FABP5 and OSA.

We hypothesized that, because of the close metabolic relationship between FABP4 and FABP5, both adipokines would be associated with OSA severity and associated metabolic disorders. Taking into consideration the complimentary metabolic role of FABP4 and FABP5 at the cellular level, we aim to analyze the association of these two molecules with OSA and its treatment.

MATERIAL AND METHODS

Design and study participants

This study included two parts: a cross-sectional study and a closed-cohort intervention study. We included 125 men and women, aged 18 – 75, with suspected OSA who were referred to the Sleep Disorders Unit of our hospital. OSA was assessed by overnight polysomnography (PSG). Exclusion criteria included ventilatory failure, previous cardiovascular disease, other major chronic medical illness, psychiatric disorders and severe alcoholism. All participants received dietary counseling and sleep hygiene advice at the beginning of the study.

Sleep study

PSG was performed using a computerized diagnostic system (eXea PSG, BITMED, Zaragoza, Spain). Manual scoring of sleep and respiratory events were performed according to standard criteria. Sleep parameters included the apnea/hypopnea index (AHI score), duration of desaturation, arousal index, oxygen desaturation index (ODI) and lowest and mean oxygen saturation (SaO₂). After PSG, OSA severity was quantified as follows AHI < 5/h (non OSA), 5/h \geq AHI < 15/h (mild), 15/h \geq AHI < 30/h (moderate), and AHI \geq 30/h (severe).

Clinical measurements

Anthropometric parameters and blood pressure were measured. Forced expiratory volume in the first second (FEV₁), forced vital capacity (FVC), and the FEV₁/FVC ratio were determined at baseline by simple spirometry. The Epworth Sleepiness Scale score was calculated²⁴ at baseline (ESS₀) and at the end of intervention period.

Body fat was measured according to the ultrasound image review consensus²⁵ (MyLab 50 X-Vision ultrasonograph, Esaote, Italy). Briefly, the thicknesses of subcutaneous and visceral adipose tissue (SAT and VAT respectively) were measured by placing the probe (7.5 – 12 MHz) perpendicular to the skin on the epigastrium. SAT was defined as the distance between the anterior surface of alba line and fat–skin barrier. VAT extends from the anterior surface of the liver (left lobe) to the posterior surface of alba line. The preaortic intrabdominal fat (PIF) was the distance between the aorta anterior wall and the posterior surface of the rectus abdominis muscle, measured 1–5 cm above the umbilicus at the xiphou-umbilical line.

CPAP intervention

Following confirmation of OSA, all severe and moderate OSA with daytime sleepiness (ESS₀ > 10) or associated cardiovascular risk factors were treated with CPAP for 8 weeks and effective pressure was verified initially (Goodknight 420G CPAP, Covidien-Nellcor and Puritan Bennett, Boulder, USA). Adherence was defined as follows: CPAP used at least 4 h/night during 75% of

the study nights. Withdrawal criteria included worsening of the clinical symptoms, non-adherence or voluntary departure from the study.

Laboratory analysis

Blood samples were drawn after an overnight fast, and serum and plasma samples were obtained. Lipid profiles and glucose, HbA_{1c}, creatinine and gamma glutamyl transpeptidase (GGT) levels were measured immediately, using standard enzymatic and colorimetric techniques adapted to a Modular P-800 autoanalyzer (Roche Diagnostics, Barcelona, Spain). FABP4, FABP5 and insulin levels were determined with commercial ELISA kits (BioVendor–Laboratory Medicine, Brno, Czech Republic; and Mercodia AB, Uppsala, Sweden) in serum samples stored at -80°C. All of the samples were analyzed individually and simultaneously. Insulin resistance was calculated using the homeostasis model assessment method²⁶. Biochemical assessments were performed at baseline and at the end of the intervention period.

Statistical analysis

Two-sided $p < 0.05$ obtained with SPSS version 19.0 (Chicago, USA) were considered statistically significant (Statistics are detailed in the online supplement).

RESULTS

Anthropometry and biochemical baseline characteristics and their correlations to FABP4 and FABP5

The 125 participants were distributed into four categories according the AHI score obtained by PSG: non-OSA (n=18), mild OSA (n=33), moderate OSA (n=24) and severe OSA (n=50).

Among OSA patients, 49 subjects did not meet criteria for CPAP treatment (including mild OSA patients and those moderate OSA patients without cardiovascular risk factors or ESS₀<10). CPAP treatment was prescribed to a total of 58 participants, 8 of whom were diagnosed with moderate OSA with cardiovascular risk factors or ESS₀>10, and to all 50 participants with severe OSA criteria. Among these participants, 2 participants discontinued CPAP treatment and were excluded from the follow-up study, and 8 participants declined to undergo the follow-up study

(figure 1). Finally, 48 patients underwent follow-up; among them, 7 had moderate OSA, and 41 had severe OSA. The baseline characteristics of the study participants, distributed according to the above-mentioned OSA categories, are summarized in table 1 and in supplementary table 1. We observed a positive association between baseline circulating FABP4 levels and anthropometric variables and glucose metabolism variables independent of age, gender, BMI and insulin levels (table 2). Although FABP5 levels were also associated with weight and waist circumference, their associations were weaker (table 2). FABP4 levels were more strongly correlated with SAT than FABP5; however only FABP5 was significantly associated with PIF (table 2).

Association of circulating FABP4 and FABP5 with OSA parameters

Baseline circulating FABP4 levels were higher in OSA patients compared to non-OSA patients ($25.8 \pm 9.7 \mu\text{g/l}$ vs. $19.1 \pm 7.9 \mu\text{g/l}$, $p=0.003$) independent of age, gender, BMI and insulin levels. Higher baseline levels of FABP4 were observed with increasing OSA severity (overall $p=0.017$) (figure 2). FABP5 levels were similar in the non-OSA and OSA groups ($p=0.919$) regardless of OSA severity ($p=0.641$) (figure 2). Moreover, baseline circulating FABP4, but not FABP5, levels were associated with specific OSA parameters independent of confounding variables (table 2). Briefly, FABP4 at baseline was positively correlated with the individual perception of daytime somnolence (ESS_0) ($r=0.288$, $p=0.003$) and the verification of OSA alterations by PSG variables such as the AHI score ($r=0.298$, $p=0.002$), the number of obstructive apnea and hypopnea episodes ($r=0.209$, $p=0.031$ and $r=0.312$, $p=0.001$, respectively), ODI ($r=0.246$, $p=0.006$) and the sleep time with SaO_2 levels below 90% ($r=0.334$, $p<0.001$) and 85% ($r=0.317$, $p=0.001$) (table 2). The association between baseline circulating FABP4 levels and sleep time with SaO_2 levels below 90% was increased after adjusting for of age, gender and BMI on both variables ($r=0.778$, $p<0.001$) (figure 3). Baseline circulating FABP4 levels were also inversely correlated with SaO_2 mean levels ($r=-0.411$, $p<0.001$), FEV_1 ($r=-0.565$, $p<0.001$) and FVC ($r=-0.622$, $p<0.001$). None of these parameters were correlated with FABP5 plasma concentrations (table 2 and figure 3). Moreover, a binary logistic regression analysis revealed that each increment of 1 unit in circulating FABP4 accounted for a 10.8% increased risk of having OSA ($p=0.010$). Within OSA

patients, an increment of 1 unit of circulating FABP4 levels accounted for a 6.2% increased risk of having severe OSA vs. mild OSA ($p=0.020$). Both observations were independent of the age, gender, BMI and insulin values of the patients.

Effect of CPAP intervention on circulating FABP4 and FABP5

At the end of the intervention study (8 weeks), adherence to CPAP treatment was achieved by 83% of the participants ($n=48$) with a median of 6.0 (5.0 – 7.0) h per night and a mean CPAP pressure of 8.9 ± 2.0 cm H₂O

All the participants from the follow-up study showed improvement in their daytime sleepiness reported by the ESS score, and only 1 of those patients (2%) had an ESS score greater than 10 at the end of the 8-week CPAP treatment period.

Anthropometry parameters (weight and BMI) changed significantly after CPAP treatment (94.1 ± 11.6 kg pre-CPAP vs. 92.7 ± 11.5 kg post-CPAP, $p=0.013$ and 32.9 ± 4.5 kg/m² pre-CPAP vs. 32.5 ± 4.5 kg/m² post-CPAP, $p=0.010$, respectively). However, no changes were observed regarding glucose metabolism (data not shown).

The mean FABP4 concentration showed a decreasing trend following CPAP treatment (28.4 ± 9.1 µg/l pre-CPAP vs. 27.1 ± 3.8 µg/l post-CPAP, $p=0.442$) (figure 4), and this reduction became significant when only the most severe patients (those with a higher AHI score and sleep time with SaO₂ levels <90%, $n=14$) were taken into consideration (30.7 ± 9.3 µg/l pre-CPAP vs. 27.7 ± 4.4 µg/l post-CPAP, $p=0.026$). Those patients allocated to received CPAP despite not presenting daytime sleepiness ($ESS_0 \leq 10$, $n=20$), did not show statistically significant differences in their FABP4 levels in response to CPAP treatment (26.0 ± 8.5 µg/l pre-CPAP vs. 26.9 ± 4.0 µg/l post-CPAP, $p=0.218$). The FABP5 plasma concentrations after CPAP were increased [5.7 (4.4 – 7.5 µg/l) pre-CPAP vs. 7.4 (6.3 – 9.4) µg/l post-CPAP, $p<0.001$] (figure 4).

DISCUSSION

OSA is strongly associated with metabolic syndrome alterations such as hypertension, dyslipidemia, insulin resistance, obesity and increased cardiovascular risk²⁷ and FABPs are emerging cardio metabolic risk biomarkers. Our main result is that FABP4 and FABP5 show

different biological behaviors in the OSA context. While FABP4 is correlated with OSA presence and severity and its levels decrease with treatment only in the most severe patients, FABP5 is not associated with OSA parameters and shows increased expression after CPAP.

OSA shares common pathological pathways with that of metabolic syndrome components, particularly obesity and its associated lipid and glucose metabolism alterations, as well as with subclinical inflammatory and prooxidant status²⁸. The circulating FABPs released from the adipose tissue, both from adipocytes and macrophages, have been related to metabolic alterations, with stronger evidence for FABP4. We observed that OSA patients have increased FABP4 values. This observation is in accordance with a previous publication in the Chinese population¹⁹. Moreover, our data extend this observation by showing that FABP4 plasma levels increase significantly with OSA severity. The amount of circulating FABP4 is strongly linked to the quantity of adipose tissue, mainly the SAT²⁹. However after adjusting the data for BMI and waist circumference the correlation between both sleep time with SaO₂ levels <90% and FABP4 remained highly significant. Because FABP4 exhibits higher expression in SAT, the impact of fat on FABP4 is mainly observed in women; however, our population was 80% men. These observations suggest that the OSA and FABP4 correlation is highly fat independent. The association between FABP5 and corporal adiposity is different. In this cohort of OSA patients, FABP5 showed a weak association with SAT but a strong correlation with PIF. Therefore a different fat distribution could explain some of the differences between FABPs. Another possibility to take into consideration is that OSA itself could contribute to FABP4 secretion. Both FABP4 and FABP5 are expressed in lung tissues, mainly in alveolar macrophages²³. FABP4 is also synthesized in peribronchial endothelial cells²³. Therefore, a direct pulmonary effect of hypooxygenation in OSA patients leading to increased FABP4, but not FABP5, production cannot be ruled out. Moreover, the FABP changes were independent of BMI supporting a direct effect associated with OSA alterations. The impact of sleep abnormalities, such as apnea and hypoxia, on the sympathetic system could be implicated in the observed metabolic alterations. Surprisingly, CPAP treatment had different effects on FABP4 and FABP5 levels. It was expected that the plasma concentrations of both FABP would decrease after improving oxygenation;

however, only FABP4 decreased significantly in those more severe patients, which is in accordance with that previously published data by Sovova et al.¹⁹. Moreover, the FABP4 levels of those patients that fulfilled the criteria for CPAP treatment but who did not present clinical daytime sleepiness were not altered after the 8-week CPAP treatment. Barbé et al. have previously demonstrated that CPAP prescription in OSA patients without daytime sleepiness does not reduce the incidence of cardiovascular events³⁰. Regarding FABP5, CPAP treatment produced an enhancement of its circulating levels. This phenomenon may be explained by recent observations showing that FABP5, but not FABP4, gene expression in adipose tissue is inhibited by hypoxia³¹. Accordingly, improving oxygenation could lead to higher FABP5 production in fat. Moreover, FABP5 concentrations were correlated with PIF, and when FABP5 concentrations were adjusted according to PIF, there was a significant inverse correlation between OSA severity and FABP5 levels. The impact of CPAP on body adiposity has been addressed in some studies, with inconsistent results. Our data are in accordance with those of other studies³² suggesting an effect on total fat and VAT.

In our population, there was a significant correlation between baseline circulating FABP4 and sleep time with SaO₂ levels below 90%. *In vitro* studies have shown that oxidative products promote FABP4 upregulation⁸. The repeated episodes of de-oxygenation and re-oxygenation in OSA, which induce oxidative stress, contribute to inflammation and end-organ injury, thereby leading to the increased cardiovascular risk associated with OSA²⁷. It has been reported that circulating FABP4 directly interferes with myocardial cell function by reducing their contractibility,³³ and some preliminary data suggest that FABP4 could alter endothelium function¹⁶; therefore, FABP4 might contribute to the increased vascular risk observed in OSA.

Limitations of the study

We did not perform a second PSG after CPAP treatment; thus, we could not establish a correlation between FABP changes and clinical evolution. The only clinical measure of the effect of CPAP treatment in OSA patients used in this study was EES, which is also commonly used in clinical practice, and its evolution was associated with changes in FABP4 expression. The sample

size, particularly in the intervention study, was rather small, complicating the statistical significance of any changes. Fat distribution was studied by ultrasonography, providing only a partial assessment of total fat distribution. BMI differences between the OSA and non-OSA patients hindered interpretation of the results.

CONCLUSIONS

Increases in FABP4 expression are associated with OSA presence and severity, and FABP4 levels decrease following CPAP treatment in the most severe patients, suggesting that FABP4 is associated with alterations that occur during OSA. Although metabolically complimentary to FABP4, FABP5 levels are not correlated with OSA, most likely because of the different roles that these proteins play at the pulmonary level and their different associations with body fat distribution.

Acknowledgments The authors are grateful to Rosa Tomàs for her assistance with initiating the project and to Maria Porto for her technical contributions to the study.

Funding This work was supported by Catalan Respiratory Society (SOCAP, grant 2009), Spanish Respiratory Society (SEPAR, grant 2009) and CIBER in Diabetes and Associated Metabolic Disorders (ISCIII, Ministerio de Economía y Competitividad, Madrid, Spain). They had no role in the design, execution or publication of this study.

Patient consent Obtained.

Ethics approval The study protocol was approved by our hospital's ethics committee, and all subjects gave written informed consent.

Contributors Conception and design: RC, AC, AT, LM; Patients recruitment and clinical management: RC, SHF, RF, SS, NP, AT, LM; Analysis and interpretation: RC, AC, AT, LM; Drafting the manuscript: RC, AC, SHF, AT, LM.

REFERENCES

- 1 Durán J, Esnaola S, Ramón R, Iztueta A. Obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in a population-based sample subjects aged 30 to 70 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:685–9.
- 2 Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1217–39.
- 3 Siccoli MM, Pepperell JC, Kohler M, Craig Se, Davies RJ, Stradling JR. Effects of continuous positive airway pressure on quality of life in patients with moderate to severe obstructive sleep apnea: data from a randomized controlled trial. *Sleep* 2008;31:1551–8.
- 4 Börgel J, Sanner BM, Bittlinsky A, et al. Obstructive sleep apnea and its therapy influence high-density lipoprotein cholesterol serum levels. *Eur Respir J* 2006;27:121–7.
- 5 Dorkova Z, Petrasova D, Molcanyiova A, Popovnakova M, Tkacova R. Effects of continuous positive airway pressure on cardiovascular risk profile in patients with severe obstructive sleep apnea and metabolic syndrome. *Chest* 2008;134:686–92.
- 6 Scheja L, Makowski L, Uysal KT, et al. Altered insulin secretion associated with reduced lipolytic efficiency in aP2^{-/-} mice. *Diabetes* 1999;48:1987–94.
- 7 Coe NR, Simpson MA, Bernlohr DA. Targeted disruption of the adipocyte lipid-binding protein (aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular fatty acid levels. *J Lipid Res* 1999;40:967–72.
- 8 Fu Y, Luo N, Lopes-Virella MF, Garvey WT. The adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene facilitates foam cell formation in human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis* 2002;165:259–69.
- 9 Furuhashi M, Ishimura S, Ota H, Miura T. Lipid chaperones and metabolic inflammation. *Int J Inflam* 2011;2011:642612.

- 10 Cabré A, Lázaro I, Girona J, et al. Fatty acid binding protein 4 is increased in metabolic syndrome and with thiazolidinedione treatment in diabetic patients. *Atherosclerosis* 2007;195:150–8.
- 11 Tso AW, Xu A, Sham PC, et al. Serum adipocyte fatty acid binding protein as a new biomarker predicting the development of type 2 diabetes: a 10-year prospective study in a Chinese cohort. *Diabetes Care* 2007;30:2667–72.
- 12 Xu A, Tso AWK, Cheung BMY, et al. Circulating adipocyte-fatty acid binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study. *Circulation* 2007;115:1537–43.
- 13 Cabré A, Babio N, Lázaro I, et al. FABP4 predicts atherogenic dyslipidemia development. The PREDIMED study. *Atherosclerosis* 2012;222:229–34.
- 14 von Eynatten M, Breitling LP, Roos M, Baumann M, Rothenbacher D, Brenner H. Circulating adipocyte fatty acid-binding protein levels and cardiovascular morbidity and mortality in patients with coronary heart disease: a 10-year prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:2327–35
- 15 Miyoshi T, Onoue G, Hirohata A, et al. Serum adipocyte fatty acid-binding protein is independently associated with coronary atherosclerotic burden measured by intravascular ultrasound. *Atherosclerosis* 2010;211:164–9.
- 16 Aragonès G, Saavedra P, Heras M, Cabré A, Girona J, Masana L. Fatty acid-binding protein 4 impairs the insulin-dependent nitric oxide pathway in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Diabetol* 2012;11:72.
- 17 Lam DC, Xu A, Lam KS, et al. Serum adipocyte-fatty acid binding protein level is elevated in severe OSA and correlates with insulin resistance. *Eur Respir J* 2009;33:346–51.
- 18 Balc MM, Arslan U, Frat H, Kocaoğlu I, Vural MG, Balc KG, Maden O, Gürbüz OA, Ardç S, Yeter E. Serum levels of adipocyte fatty Acid-binding protein are ndependently associated with

- left ventricular mass and myocardial performance index in obstructive sleep apnea syndrome. *J Investig Med* 2012;60:1020–6.
- 19 Sovova E, Hobzova M, Stejskal D, Sova M, Kolek V, Zapletalova J. Treatment of obstructive sleep apnea with continuous positive airway pressure decreases adipocyte fatty acid-binding protein levels. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2012;156:58–62.
- 20 Bhushan B, Khalyfa A, Spruyt K, et al. Fatty-acid binding protein 4 gene polymorphisms and plasma levels in children with obstructive sleep apnea. *Sleep Med* 2011;12:666–71.
- 21 Yeung DCY, Wang Y, Xu A, et al. Epidermal fatty-acid-binding protein: a new circulating biomarker associated with cardiometabolic risk factors and carotid atherosclerosis. *Eur Heart J* 2008;29:2156–63.
- 22 Hong J, Gu W, Zhang Y, et al. Different association of circulating levels of adipocyte and epidermal fatty acid-binding proteins with metabolic syndrome and coronary atherosclerosis in Chinese adults. *Atherosclerosis* 2011;217:194–200.
- 23 Ghelfi E, Karaaslan C, Berkelhamer S, Akar S, Kozakewich H, Cataltepe S. Fatty acid-binding proteins and peribronchial angiogenesis in bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;45:550–6.
- 24 Chiner E, Arriero JM, Signes-Costa J, Marco J, Fuentes I. Validation of the Spanish version of the Epworth Sleepiness Scale in patients with a sleep apnea syndrome. *Arch Bronconeumol* 1999;35:422–7.
- 25 Vlachos IS, Hatzioannou A, Perelas A, Perrea DN. Sonographic assessment of regional adiposity. *AJR Am J Roentgenol* 2007;189:1545–53.
- 26 Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28: 412–419.

- 27 Gozal D and Kheirandish-Gozal L. Cardiovascular Morbidity in Obstructive Sleep Apnea. Oxidative stress, inflammation and much more. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177:369–75.
- 28 Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Selective activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Circulation* 2005;112:2660–7.
- 29 Fisher RM, Eriksson P, Hoffstedt J, et al. Fatty acid binding protein expression in different adipose tissue depots from lean and obese individuals. *Diabetologia* 2001;44:1268–73.
- 30 Barbé F, Durán-Cantolla J, Sánchez-de-la-Torre M, et al, for the 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;307:2161–8.
- 31 Mazzatti D, Lim FL, O'Hara A, Wood IS, Trayhurn P. A microarray analysis of the hypoxia-induced modulation of gene expression in human adipocytes. *Arch Physiol Biochem* 2012;118:112–20.
- 32 Trenell MI, Ward JA, Yee BJ, Phillips CL, Kemp GJ, Grunstein RR, Thompson CH. Influence of constant positive airway pressure therapy on lipid storage, muscle metabolism and insulin action in obese patients with severe obstructive sleep apnoea syndrome. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9: 679–87.
- 33 Lamounier-Zepter V, Look C, Alvarez J, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein suppresses cardiomyocyte contraction: a new link between obesity and heart disease. *Circ Res* 2009;105:326–34.

Table 1 Baseline characteristics of the study population

Variable	non OSA (n=18)	mild OSA (n=33)	moderate OSA (n=24)	severe OSA (n=50)	p
Age (years)	43 ± 10	50 ± 10	52 ± 10	50 ± 10	0.028
Gender (F/M)	7 / 11	6 / 27	4 / 20	8 / 42	0.191
BMI (kg/m²)	27.0 ± 2.7	29.7 ± 5.2	30.3 ± 3.9	33.7 ± 5.2	<0.001
Neck circumference (cm)	38.6 ± 3.9	40.4 ± 3.9	42.0 ± 3.9	42.9 ± 3.3	<0.001
Waist circumference (cm)	91.6 ± 8.7	102.2 ± 13.2	105.0 ± 11.1	111.0 ± 9.7	<0.001
SAT, (mm)	10.2 ± 5.1	11.0 ± 4.4	11.8 ± 5.4	11.4 ± 5.9	0.802
VAT (mm)	14.1 ± 4.3	17.1 ± 4.5	16.4 ± 6.1	15.8 ± 5.1	0.257
PIF (mm)	36.3 ± 15.6	54.9 ± 21.8	58.7 ± 23.1	71.9 ± 17.9	<0.001
Diabetes (%)	0	9.1	8.3	12	0.496
Hypertension (%)	5.6	39.4	29.2	46	0.017
Smoking status (non-/current /ex-smoker, %)	72.2/11.1/16.7	39.4/21.2/39.4	41.7/20.8/37.5	28/24/48	0.092
ESS score	6.5 ± 2.6	9.9 ± 5.0	8.8 ± 4.7	10.7 ± 5.0	0.010
FEV ₁ (l)	3.3 ± 0.8	3.1 ± 0.8	3.0 ± 0.6	2.8 ± 0.8	0.318
FVC (l)	4.1 ± 0.9	4.0 ± 1.0	4.0 ± 0.9	3.7 ± 1.0	0.393
FEV ₁ /FVC	79.3 ± 6.0	77.0 ± 6.2	75.7 ± 7.2	76.2 ± 8.7	0.487
AHI score	1.0 (0.3 – 2.0)	9.7 (6.3 – 11.5)	22.2 (16.7 – 27.4)	64.7 (44.8 – 87.1)	<0.001
Sleep time with SaO₂ < 90% (%)	0.1 (0.0 – 0.2)	1.0 (0.2 – 2.8)	4.9 (1.6 – 8.0)	14.0 (6.2 – 34.5)	<0.001
ODI	0.3 (0.1 – 0.6)	2.4 (0.9 – 5.8)	11.7 (7.3 – 18.9)	46.8 (24.1 – 75.2)	<0.001
SaO₂ mean (%)	95.3 (94.0 – 96.2)	94.5 (93.6 – 95.3)	93.1 (92.5 – 94.5)	92.2 (90.2 – 93.2)	<0.001

OSA, obstructive sleep apnea; BMI, body mass index; SAT, subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue; PIF, preaortic intrabdominal fat; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; ESS, epworth sleepiness scale; FEV₁, forced expiratory volume in the first second; FVC, forced vital capacity; AHI, apnea-hypopnea index; SaO₂, oxygen saturation; ODI, oxygen desaturation index.

The results represent the mean±SD or the median (25th–75th percentiles).

Table 2 Correlations of the adjusted FABP4* and FABP5 levels with anthropometric, biochemical and polysomnographic variables at baseline

Variable	FABP4		FABP5	
	r	p	r	p
Weight	0.458	<0.001	0.202	0.037
Height	-0.460	<0.001	0.025	0.797
Neck circumference	0.185	0.056	0.080	0.413
Waist circumference	0.623	<0.001	0.261	0.007
SAT	0.432	<0.001	0.215	0.027
VAT	0.087	0.378	0.117	0.231
PIF	0.177	0.081	0.210	0.038
ESS ₀ score	0.288	0.003	-0.011	0.912
FEV ₁	-0.565	<0.001	0.128	0.208
FVC	-0.622	<0.001	0.078	0.448
FEV ₁ /FVC	0.033	0.748	0.127	0.211
AHI score	0.298	0.002	-0.012	0.902
Number of obstructive apneas	0.209	0.031	0.000	1.000
Number of hypopneas	0.312	0.001	-0.043	0.659
Sleep time with SaO ₂ < 90%	0.334	<0.001	0.126	0.196
ODI	0.246	0.006	0.033	0.716
SaO ₂ mean	-0.411	<0.001	-0.106	0.277
FABP4	-	-	0.238	0.013

FABP4, adipocyte fatty acid-binding protein; SAT, subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue; PIF, preaortic intrabdominal fat; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; ESS, epworth sleepiness scale; FEV₁, forced expiratory volume in the first second; FVC, forced vital capacity; AHI, apnea-hypopnea index; SaO₂, oxygen saturation; ODI, oxygen desaturation index; GGT, gamma glutamyl-transferase.

*The FABP4 values were adjusted for age, gender, BMI and insulin levels unless when associations between weight, height, neck circumference, waist circumference, SAT, VAT and PIF were studied.

FIGURE LEGENDS

Figure 1 Flow-chart of the study design.

OSA, obstructive sleep apnea; CPAP, continuous positive airway pressure.

Figure 2 Comparison of circulating FABP4 (white bars) and FABP5 (black bars) levels in the serum of the study participants at baseline according to OSA severity.

FABP4, adipocyte fatty acid-binding protein; FABP5, epidermal fatty acid-binding protein; OSA, obstructive sleep apnea.

The results represent the mean and SD for FABP4 levels or the median and 25th-75th percentiles for FABP5 levels.

The FABP4 values were adjusted for age, gender, BMI and insulin levels.

Figure 3 Association of sleep time with SaO₂ levels <90% with circulating FABP4 or FABP5 levels in the study population at baseline.

FABP4, adipocyte fatty acid-binding protein; FABP5, epidermal fatty acid-binding protein; SaO₂, oxygen saturation.

The FABP4 values were adjusted for age, gender, BMI and insulin levels.

Figure 4 Effect of CPAP treatment on circulating FABP4 (circles) and FABP5 (squares) levels in OSA patients.

CPAP, continuous positive airway pressure; FABP4, adipocyte fatty acid-binding protein; FABP5, epidermal fatty acid-binding protein; OSA, obstructive sleep apnea.

The results represent mean and the SD for FABP4 levels or the median and 25th-75th percentiles for FABP5 levels.

The FABP4 values were adjusted for age, gender, BMI and insulin levels.

*p<0.001.

Figure 1

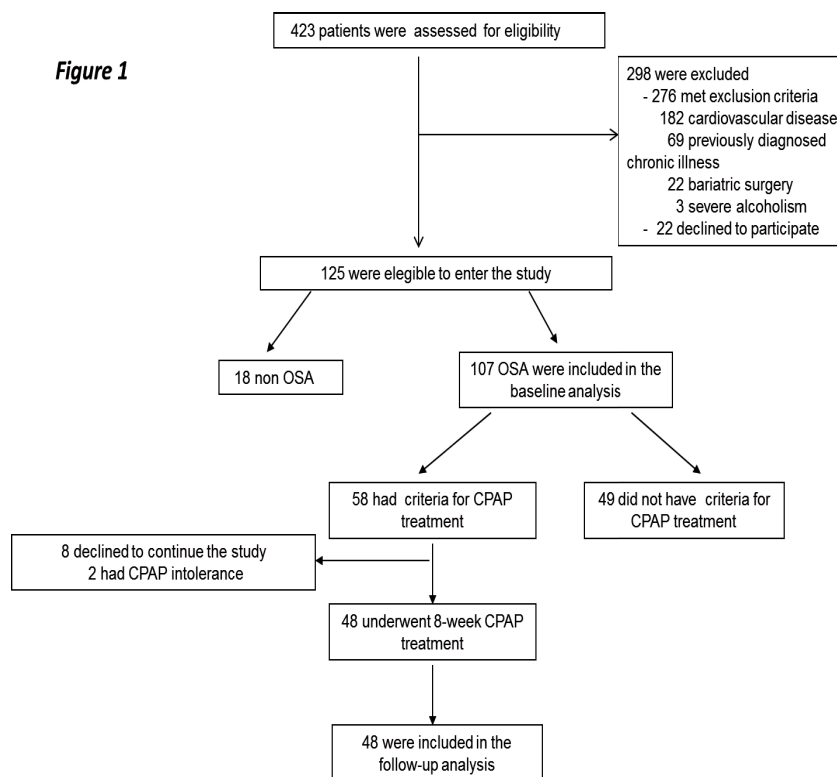


Figure 2

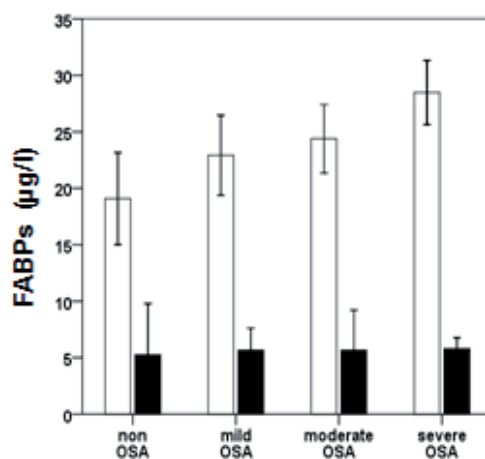


Figure 3

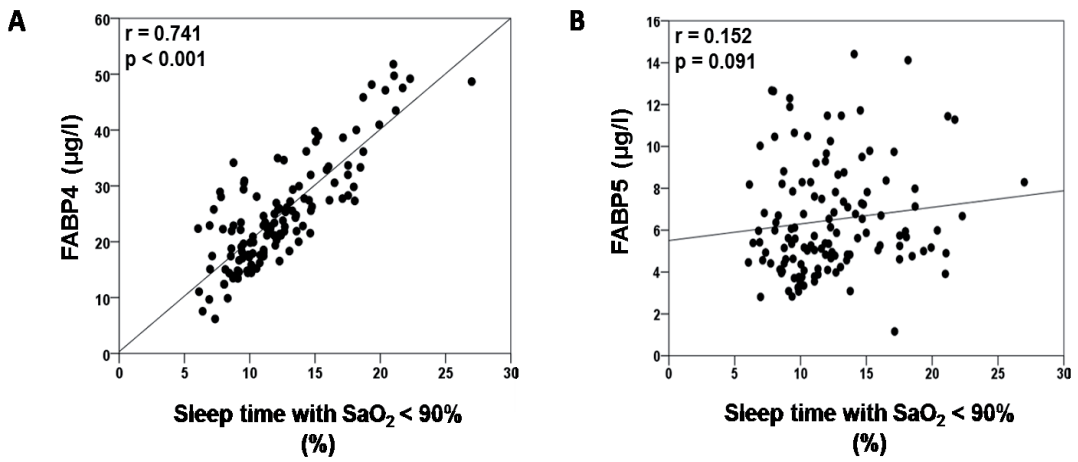
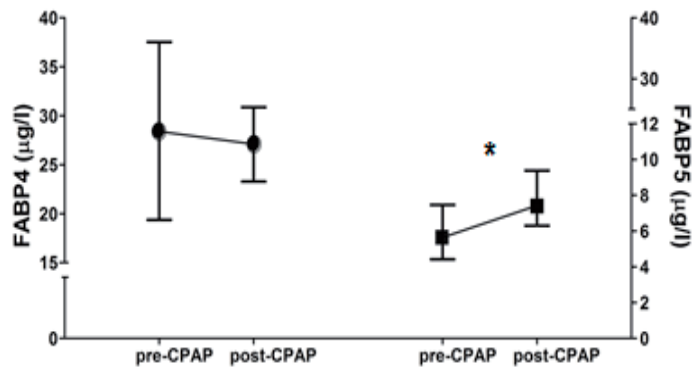


Figure 4



Circulating FABP4 and FABP5 levels are differently linked to OSA severity and treatment

Raquel Català, Anna Cabré, Salvador Hernández-Flix, Raimón Ferré, Sandra Sangenis,

Núria Plana, Anna Teixidó, and Lluís Masana

Online Data Supplement

METHODS

Sleep studies

An oronasal thermistor was used to identify the absence of flow rate during respiratory apnea events. The measurement of nasal cannula pressure was used for the coding of hypopnea. If the signals were lost, alternative measurements included the following: for apnea, nasal cannula and hypopnea by the thermistor. An oximeter, based on a 4-beat exponential average (PureLight technology of NONIN MEDICAL, Inc., Plymouth, Minnesota, USA), was used. Respiratory movement belts were based on inductive technology. Manual scoring of sleep and respiratory events was performed by trained personnel, according to the standard criteria^{1,2}. Apnea was defined as an absence of airflow of 10 seconds or longer, and hypopnea was defined as an airflow reduction (>50%) lasting 10 seconds or longer, with a greater than 3% decrease in oxygen desaturation. Obstructive sleep apnea was defined as an apnea-hypopnea index (AHI) score of 5 or more events per h. We included a manual overview of ODI events. ODI was assessed at 3% desaturation. CPAP titration was performed using an auto-CPAP device, following a validated protocol³.

Laboratory analysis

Blood was collected in EDTA, citrate and serum tubes at 8:00 am after a 10 h overnight fast. The blood tubes were centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes at 4°C within 1 h, and plasma and serum were obtained. Lipids, GGT, HbA1c and creatinine were analyzed immediately, and plasma and serum aliquots were stored at -80°C until the FABP4, FABP5 and insulin analyses were performed.

Statistical analysis

The normality distribution was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test. A log-transformation was performed before the analyses when the variables exhibited a skewed distribution. The data are presented as the means \pm SDs or the median (25th – 75th percentiles) as appropriate for continuous variables (normally or non-normally distributed, respectively) and as frequencies for categorical variables. The Mann-Whitney U or χ^2 test was used to compare continuous or categorical variables between groups. Spearman's

correlation tests were used to analyze bivariate associations. The effects of confounding variables on FABP4 expression (variables strongly correlated with FABP4 levels) were excluded by adjusting FABP4 levels for age, sex, BMI, and insulin levels, using a regression lineal model. The CPAP effect was analyzed using Wilcoxon's signed-rank test. Logistic regression analyses were conducted to evaluate the associations of FABP4 and FABP5 with the presence and severity of OSA. Tertiles of the AHI score (1 to 3) and sleep time with SaO₂ levels < 90% (1 to 3) were calculated in the patients on CPAP treatment. Both variables were fused into a single variable (2 to 6) to identify the most severe patients, who were defined as the patients with higher scores (5-6).

RESULTS

Circulating FABP4 levels, but not FABP5 levels, were significantly correlated with age, sex, BMI and insulin levels (Supplementary table 2).

We studied SAT, VAT and PIF because FABP4 is closely associated with total fat amounts, particularly SAT, which was confirmed in this group of patients. VAT and SAT, assessed by ultrasonography, were measured in the xiphoid region and were not correlated with the total fat amount but provide an idea of relative proportions. PIF was more clearly associated with total visceral fat. In our study, BMI was positively correlated with SAT ($r=0.378$, $p<0.001$), VAT ($r=0.320$, $p<0.001$) and PIF ($r=0.675$, $p<0.001$).

References

1. 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;22:667-89.
2. Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson A, Quan SF, for the American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications, 1st. ed: Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine, 2007.

3. 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;170:1218-24.

Supplementary table 1.

Variable	non OSA (n=18)	mild OSA (n=33)	moderate OSA (n=24)	severe OSA (n=50)	p
SBP (mmHg)	123 ± 10	124 ± 13	126 ± 13	133 ± 19	0.107
DBP (mmHg)	72 ± 9	76 ± 11	77 ± 13	79 ± 13	0.157
FEV ₁ (%)	96.6 ± 16.4	89.6 ± 16.4	86.6 ± 15.1	81.1 ± 18.4	0.038
FVC (%)	96.6 ± 16.8	88.9 ± 13.8	86.7 ± 13.4	81.0 ± 17.9	0.030
Sleep time with SaO ₂ < 85% (%)	0.0 (0.0 – 0.0)	0.0 (0.0 – 0.2)	0.5 (0.0 – 1.5)	3.2 (0.9 – 11.3)	<0.001
Fasting blood glucose (mmol/l)	5.1 (4.9 – 5.3)	5.3 (4.9 – 5.7)	5.6 (5.2 – 6.1)	5.5 (5.1 – 6.0)	0.013
HbA _{1c} (%)	5.2 (4.9 – 5.4)	5.3 (5.1 – 5.7)	5.6 (5.4 – 5.8)	5.6 (5.3 – 6.0)	0.001
Fasting insulin (mU/ml)	5.0 (4.3 – 8.2)	7.6 (4.6 – 11.3)	7.6 (5.6 – 10.9)	10.3 (7.3 – 19.4)	0.001
HOMA-IR	1.1 (1.0 – 1.9)	1.9 (1.1 – 2.7)	1.9 (1.4 – 3.1)	2.5 (1.7 – 6.0)	<0.001
Total cholesterol (mmol/l)	5.0 ± 0.8	5.0 ± 0.8	5.0 ± 1.1	5.1 ± 0.9	0.644
LDL-cholesterol (mmol/l)	3.4 ± 0.8	3.5 ± 0.7	3.3 ± 0.9	3.5 ± 0.9	0.599
HDL-cholesterol (mmol/l)	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.0 ± 0.2	0.022
Triglycerides (mmol/l)	1.0 (0.7 – 1.3)	1.3 (0.9 – 2.0)	1.2 (0.7 – 1.7)	1.2 (1.0 – 1.6)	0.071
Creatinine (µmol/l)	75 ± 17	80 ± 13	76 ± 13	75 ± 18	0.208
GGT (µKat/l)	0.33 (0.17 – 0.53)	0.48 (0.33 – 0.55)	0.44 (0.26 – 0.58)	0.50 (0.33 – 0.78)	0.039
FABP4 (µg/l)*	19.1 ± 7.9	22.9 ± 10.0	24.4 ± 7.2	28.5 ± 10.0	0.001
FABP5 (µg/l)	5.6 (4.4 – 9.8)	5.7 (4.9 – 7.8)	5.7 (4.9 – 9.3)	5.8 (4.2 – 7.4)	0.812

OSA, obstructive sleep apnea; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; FEV₁, forced expiratory volume in the first second; FVC, forced vital capacity; SaO₂, oxygen saturation. HbA_{1c}, glycated haemoglobin; HOMA-IR, homeostasis model assessment insulin resistance index; LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; GGT, gamma glutamyl-transferase; FABP4, adipocyte fatty acid-binding protein; FABP5, epidermal fatty acid-binding protein.

The results represent the mean±SD or the median (25th–75th percentiles).

*The FABP4 values were adjusted for age, gender, BMI and insulin levels

Supplementary table 2.

	FABP4		FABP5	
	r	p	r	p
Age	0.257	0.004	-0.064	0.481
Gender	-0.466	0.001	-0.128	0.155
BMI	0.512	<0.001	0.152	0.091
insulin	0.371	<0.001	0.122	0.178

Continuous positive airway pressure treatment decreases carotid intima-media thickness in obstructive sleep apnea

Raquel Català^{1,2,*}, Raimon Ferré^{2,3}, Anna Cabré^{2,3}, Sandra Sangenis^{1,2}, Salvador Hernández-Flix^{1,2}, Nuria Plana^{2,3}, Anna Teixidó^{1,2}, and Lluís Masana^{2,3}

¹Sleep Disorders Unit, Respiratory Department; ²“Sant Joan” University Hospital, Universitat Rovira i Virgili, IISPV; and ³Research Unit on Lipids and Atherosclerosis, Vascular Medicine and Metabolism Unit, Spanish Biomedical Research Centre in Diabetes and Associated Metabolic Disorders (CIBERDEM), Reus, Spain

*Corresponding author. Tel: +34977310300, Fax: +34977323754.

Email: raqcatala@hotmail.com

Abstract

Aims Obstructive sleep apnea (OSA) is thought to be associated with an increased risk of cardiovascular disease. Carotid intima - media thickness (cIMT) is a surrogate marker of subclinical atherosclerosis. We evaluated subclinical atherosclerosis in OSA patients and the effect of continuous positive airway pressure (CPAP) treatment on cIMT.

Methods and results We included 125 patients with suspected OSA. After polysomnography, 107 patients were diagnosed with OSA; 58 of these met the criteria for CPAP treatment. cIMT was measured by ultrasonography at baseline in all patients and after 2.1 years of follow up in 50 patients on CPAP and 35 without CPAP treatment. CPAP adherence was defined as ≥ 4 h/night, for ≥ 75 % of study nights. The average cIMT was significantly thicker in OSA than in non-OSA patients (665 ± 120 vs. 581 ± 78 μm , $P = 0.005$). Atheromatous carotid plaque was more prevalent in OSA than non-OSA patients (48 % vs. 2 %, $P = 0.004$). Baseline cIMT did not differ according to OSA severity. Among OSA patients, the mean cIMT remained stable over time in the group without CPAP, whereas cIMT decreased markedly in the CPAP group (679 ± 122 vs. 631 ± 117 μm , $P < 0.0001$).

Conclusion Increased cIMT was associated with the presence of OSA, but not with its severity and regressed upon CPAP treatment. Our study supports the efficacy of CPAP treatment in mitigating the cardiovascular risk of OSA patients and suggests that increased cIMT may be a further indication for CPAP treatment in these patients.

Keywords: obstructive sleep apnea, intima-media thickness, atherosclerosis, continuous positive airway pressure

Introduction

Obstructive sleep apnea (OSA) is a major public health problem, affecting 3-7 % of the general adult population, and its prevalence increases with age.¹⁻² OSA is caused by the collapse of the upper airway during sleep; this generates recurrent episodes of partial (hypopnoea) or complete (apnoea) obstruction, resulting in intermittent hypoxemia, arousals and cardiovascular and metabolic consequences.³ A number of recent studies have suggested the possibility that sleep apnoea could be a manifestation of metabolic syndrome, and it is associated with cardiovascular disease.^{4,5} The relationship between OSA and cardiovascular risk is challenging to evaluate due to the confounding factors associated with both entities, such as obesity, age, gender and other cardiovascular risk factors. The association between hypertension, obesity, lipid alterations and insulin resistance and OSA is well established.⁶ Continuous positive airway pressure (CPAP) is the first-line treatment for symptomatic obstruction sleep apnoea, relieving daytime sleepiness and improving patient quality of life.⁷ Moreover, CPAP treatment has an important impact on metabolic alterations decreasing cholesterol levels, insulin resistance and blood pressure, and thus, reducing cardiovascular risk.⁸⁻¹⁰

The association between OSA and cardiovascular alterations is likely due not to chance but rather to certain common pathophysiological pathways. Currently, there is active research focusing on the mechanisms linking both alterations. Previous studies have demonstrated that repeated episodes of hypoxia and reoxygenation and increased sympathetic activity during sleep in OSA, could activate different pathways that promote atherosclerosis, such as oxidative stress, endothelial dysfunction and systemic inflammation.¹¹ Together, all of these factors could contribute to atherosclerosis progression by causing myocardial infarction and stroke.^{4,5} Clinical studies focusing on the role of atherosclerosis in sleep apnoea syndrome are often difficult to interpret

because OSA patients frequently present numerous cardiovascular risk factors. However, Drager and colleagues have demonstrated an independent association between OSA and atherosclerosis.¹² Progressive, subclinical arterial wall alterations precede cardiovascular clinical events, which reflect advanced atherosclerotic disease. Early-stage morphological abnormalities of the arterial walls can be visualised by B-mode ultrasonography to measure the carotid intima-media thickness (cIMT). The cIMT is a useful, non-invasive, reliable and reproducible marker of the degree of subclinical atherosclerosis, and it is directly correlated with the incidence of cardiovascular events.¹³⁻¹⁵ cIMT above the 75th percentile adjusted by age and gender is considered a marker of increased cardiovascular risk. In addition, the presence of plaques is an independent predictor of future cardiovascular disease.¹⁶ Recent studies in patients with OSA and without other comorbidities have shown that cIMT is increased and correlates with the severity of OSA, particularly when accompanied by marked nocturnal hypoxemia.^{17,18} OSA and hypertension together have additive effects on markers of subclinical atherosclerosis.¹⁹ Moreover, although CPAP treatment is not associated with changes in carotid diameter, it has been suggested to improve early signs of atherosclerosis.²⁰

The purpose of this study was to evaluate the hypothesis that CPAP treatment in patients with OSA can improve the carotid IMT.

Methods

Patients

This work is an observational prospective case-control study. We included 125 men and women, aged 18 – 75, who were referred to the Sleep Disorders Unit of our hospital for suspected OSA. OSA was diagnosed by overnight polysomnography (PSG) in 107 patients, of whom 85 were followed-up for 2.1 (1.6 – 2.4) years (50 with CPAP and 35

without CPAP treatment). The exclusion criteria were as follows: ventilatory failure, previous cardiovascular disease, other major chronic illness, psychiatric disorders or severe alcoholism. The investigation conformed to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by our hospital ethics committee and all subjects gave written informed consent. All of the participants received dietary counselling and sleep hygiene advice at the study enter.

Clinical measurements and laboratory analysis

Anthropometric parameters and blood pressure were measured at baseline and at the end of the intervention. Forced expiratory volume in the first second (FEV₁), forced vital capacity (FVC) and the FEV₁/FVC ratio were determined at baseline by simple spirometry. The Epworth Sleepiness Scale score was calculated^{21,22} at baseline (ESS₀) and at the end of intervention period (ESS₁); a score of more than 10 was considered suggestive of excessive daytime somnolence.

Fasting venous blood samples were collected from all participants between 8:00 and 10:00 AM after PSG for lipid profile, glucose, HbA_{1c}, creatinine and red blood cell count measurements, using standard techniques.

Sleep Study

PSG was performed using a computerised diagnostic system (eXea PSG, BITMED, Zaragoza, Spain). Manual scoring of sleep and respiratory events was performed according to standard criteria by trained personnel.²³ An apnea was defined as an absence of airflow for 10 seconds or longer and a hypopnoea as an airflow reduction (>50 %) lasting 10 seconds or longer with a greater than 4 % decrease in oxygen saturation. OSA

was defined as an apnea-hypopnea index (AHI) score of 5 or more events per hour. The sleep parameters studied were AHI score, duration of desaturation, arousal index, oxygen desaturation index (ODI) and lowest and mean oxygen saturation values (SaO_2). Based on the PSG, OSA severity was classified as $5/\text{h} \geq \text{AHI} < 15/\text{h}$ (mild), $15/\text{h} \geq \text{AHI} < 30/\text{h}$ (moderate) and $\text{AHI} \geq 30/\text{h}$ (severe).²⁴

CPAP intervention

Following confirmation of OSA, patients with severe or moderate OSA with daytime sleepiness ($\text{ESS}_0 > 10$)²⁵ or associated cardiovascular risk factors underwent an attended overnight autoCPAP titration (Goodknight 420G CPAP, Covidien- Nellcor and Puritan Bennett, Boulder, USA) on the second night of the sleep study. A patient was considered adherent when CPAP was used at least 4 h/night for 75 % of the nights of the study. The patients were withdrawn from the study if their clinical symptoms worsened or upon voluntary withdrawal.

Measurement of Carotid IMT and Plaque

The carotid intima-media thickness (cIMT) was measured on the same day as the blood samples were obtained at baseline and at the end of the follow-up period, in OSA patients. We used a My Lab 60 X-Vision sonograph (Esaote S.p.A, USA) with a linear array ultrasound probe of 7–12 MHz transducer to identify the intima-media complex of the far wall of the common carotid (CCA) (1 cm proximal to the bifurcation) of the left and right carotid arteries. Assessment of cIMT was made by radiofrequency of *in vivo* images. The images were obtained and measured by a single operator to avoid inter-observer variability. We averaged the CCA IMT measurements of the left and the right carotid arteries to obtain the mean cIMT (mIMT). A plaque was defined as a focal structure of at least 0.5 mm or 50 % of the surrounding IMT value encroaching into the

arterial lumen, or a thickness > 1.5 mm as measured from the media-adventitia interface to the intima lumen interface.²⁶

Statistical Analysis

The cIMT was the primary outcome. The data are presented as the mean \pm SD or median and interquartile range as appropriate for continuous variables and as frequencies for categorical variables. Data not normally distributed, as determined using Kolmogorov–Smirnov test, were logarithmically transformed before analysis. The Mann-Whitney U or χ^2 test was used to compare continuous or categorical variables between groups. The baseline characteristics of patients with OSA according to the CPAP group assigned were compared by two-tailed *t*-tests for continuous variables and Fisher's exact for nominal variables. Spearman correlation tests in OSA patients were used to analyse bivariate associations. The effect of CPAP treatment was analysed using the Wilcoxon signed-rank test. Linear regression analyses were conducted to evaluate the association between cIMT changes and CPAP treatment. A sample size of 64 subjects was able to detect a significant mean difference with an alpha = 0.05 and a detection power of 90%. In all cases, a two-sided *P*-value of less than 0.05 was considered to be statistically significant. Statistical tests were performed using SPSS version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). Sample size calculation and 95% CI for Spearman rho coefficients were obtained using the MedCalc software version 12.7.0.0 (MedCalc, Belgium).

Results

Study participants

The 125 patients were distributed in four categories according to the AHI score obtained by PSG: non OSA ($n = 18$), mild OSA ($n = 33$), moderate OSA ($n = 24$) and severe OSA ($n = 50$). The baseline characteristics and respiratory parameters of the study participants

stratified according to the above mentioned OSA categories are summarised in *Table 1*.

The average cIMT of OSA patients was significantly thicker than that of non-OSA patients (665 ± 120 vs. 581 ± 78 μm , $P = 0.005$). The proportion of patients with atheromatous carotid plaque was higher in the OSA group than in non-OSA group (48% vs. 2%, respectively; $P = 0.004$).

Relationship between cIMT and OSA severity

Baseline cIMT did not differ among OSA severity groups (mild OSA, 652 ± 109 μm ; moderate OSA, 695 ± 135 μm and severe OSA, 659 ± 119 μm , $P = 0.391$). Briefly, cIMT at baseline was positively correlated with the perception of daytime somnolence (ESS_0) ($r = 0.238$, 95% CI [0.051 to 0.409], $P = 0.014$) and age ($r = 0.455$, 95% CI [0.291 to 0.594], $P < 0.0001$). None of the variables obtained by PSG in OSA patients showed any correlation with cIMT values. Plaques were detected in 54% of patients with severe OSA, 38% of patients with moderate OSA, and 45% of those with mild OSA.

Effects of CPAP

CPAP treatment was prescribed to a total of 57 participants, including 50 participants with severe OSA and 7 with moderate OSA accompanied by cardiovascular risk factors or $\text{ESS}_0 > 10$. Among those, 7 patients with severe OSA declined to participate in the follow-up study (*Figure 1*). The optimal CPAP was 8.9 ± 2.0 cm H_2O (range: 6 – 14 cm H_2O). At the end of the follow up, 88 % of participants reported adherence to CPAP treatment, with a median of 4.9 ± 2.1 (range: 0 – 7 h) hours per night.

Anthropometry parameters (weight and BMI) did not change significantly after CPAP treatment. However, sleepiness (evaluated by Epworth score) decreased significantly in the CPAP group (11.4 ± 4.9 to 3.3 ± 3.1 , $P < 0.001$).

In the CPAP group, the adherent patients ($n = 44$) showed a striking decrease in cIMT (690 vs. 626 μm , $P < 0.0001$), whereas the non-adherent patients ($n = 6$) presented an increase in cIMT (599 vs. 671 μm , $P = 0.046$). Thus, changes in cIMT were significantly correlated with CPAP compliance ($r = -0.639$, 95% CI [-0.779 to -0.439], $P < 0.0001$) (*Figure 2*).

Anthropometric and biochemical changes at follow up between the CPAP and OSA without CPAP treatment groups

Eighty-five OSA patients were followed-up for an average of 2.1 (1.6 – 2.4) years. Of these patients, 50 were newly treated with CPAP at study entry (43 severe OSA and 7 moderate OSA) and 35 did not use CPAP (13 moderate OSA and 22 mild OSA) (*Table 2*). However, 22 OSA patients declined to participate in the follow-up study. There were no significant differences at baseline in demographics and CV risk factors between OSA patients with and without CPAP. The subjects did not significantly alter the dosage of any medications used during the study.

The serial mIMT at baseline and at 24 months were 680 ± 123 vs. 632 ± 118 μm , $P < 0.0005$ and 666 ± 117 vs. 648 ± 110 μm $P = 0.249$ in the CPAP and no CPAP groups, respectively (*Figure 3*). The mIMT did not change significantly from baseline to study follow up in the no CPAP OSA patients. A multivariate analysis performed on the CPAP group and adjusted for possible confounding factors, showed that the main determinant of cIMT change was CPAP adherence (*Figure 4*).

Regarding the presence of plaques, 3 of 13 OSA patients without CPAP and 9 of 27 patients with CPAP presented a striking decrease in cIMT, resulting in plaque regression (23% vs. 33%). The observed changes were independent of classical cardiovascular risk factors and pharmacological treatment or weight changes.

Discussion

In this study, we confirmed that OSA patients have an elevated cIMT, which is a validated marker of subclinical arteriosclerosis. Our most important finding is that the cIMT was decreased after two years of CPAP treatment. This observation is further supported by the finding that only those patients who adhered to treatment showed a regression; in the non-adherent group, the cIMT increased. Although an association between OSA and cardiovascular and metabolic risk factors has been demonstrated previously, the effect of CPAP on cIMT was independent of its impact on cardiovascular risk factors related to metabolic dysfunction.

Knowledge regarding early atherosclerosis in patients with OSA is scarce, and factors predicting carotid IMT in these patients are not well defined. The impact of sleep abnormalities, especially apnoea and hypoxia, on the sympathetic system could be implicated in some metabolic and vascular alterations. However, the underlying mechanisms are not completely understood. The demonstration of an independent association between OSA and atherosclerosis is difficult because the majority of patients with OSA suffer from metabolic alterations and several risks factors for atherosclerosis, including hypertension, diabetes and obesity. Conversely, a cross-sectional study demonstrated an independent association between OSA and atherosclerosis.¹² OSA-related hypoxia and systemic inflammation might be associated with the progression of atherosclerosis and increased risk of cardiovascular morbidity.¹⁹ The present study found that cIMT was significantly higher in patients with OSA than in non OSA subjects. In addition, cIMT was significantly correlated with Epworth Sleepiness Scale score and age. Our study confirmed the results of previous studies, namely that patients with OSA have an increased predisposition to plaque formation.¹⁷ However, our study differed from previous studies in that patients with hypertension, diabetes or hyperlipidemia were

excluded because these conditions can increase cIMT. The ratio of plaque formation reported here was less profound than that in a previous report investigating patients with OSA and control subjects by Schultz *et al.*²⁷ Thus, the present data demonstrated that, even in the absence of multiple risk factors, OSA is associated with a significant degree of plaque formation.

The atherosclerosis in OSA patients is likely caused mainly by the oxidative stress associated with the disease. The pathophysiological mechanisms linking both alterations are not known. The severity of oxygen desaturation is one of the main determinants of cIMT and plaque occurrence in OSA patients.²⁸ However, in our OSA patients, the severity of oxygen desaturation was not the best predictor of carotid wall thickness. On the other hand, we did not find a significant link between the severity of OSA and cIMT. This is inconsistent with the findings of several previous studies.^{17,18} However, one major limitation of these studies is that they recruited relatively young patients who may not represent typical patients with OSA. In contrast, Baguet *et al.* recently observed that cIMT did not differ among OSA severity groups.²⁹

This study demonstrates that early atherosclerosis exists in this group of patients and that CPAP treatment can reverse validated markers of atherosclerosis. Interestingly, patients assigned to CPAP therapy reverted to intima-media thickness values that are within the same range as those of control subjects with no OSA. The magnitude of reduction in cIMT with CPAP was similar in those patients with no OSA and without cardiovascular disease.

Therefore, the overall analysis of basal data suggests a direct association between OSA and cIMT independent of confounding variables. Our prospective results confirm and reinforce this hypothesis. A clear significant reduction on cIMT was observed after 2

years of CPAP despite the absence of changes in BMI. Our results are consistent with those of previous studies that showed that the reduction of cIMT occurred primarily in the first 6 months and was sustained at 12 months in patients with reasonable CPAP compliance.³⁰

The decrease in cIMT was paralleled by clinical improvement assessed by the Epworth test. All studied markers of atherosclerosis were similar in OSA patients with and without daytime sleepiness, suggesting that the harmful effects of OSA are not confined to individuals with hypersomnolence.¹⁸

In the CPAP group, we found a significant correlation between CPAP adherence and a striking decrease in cIMT. The observation of a significant reduction (9 %) of cIMT after 2 years of CPAP therapy is remarkable. Many studies showed that statins reduced intima-media thickness after 6 months of therapy.^{31,32} Interestingly, CPAP may share some similarities with the effects of statins. However, poor CPAP compliance is associated with increased cIMT (12 %) much higher than that observed in OSA patients without CPAP. This finding may be due to the combination of two main factors: the persistence of intermittent hypoxia not corrected by CPAP and the fact that untreated OSA is an independent risk factor for all-cause mortality after long-term follow-up.³³ In the OSA subjects who received no CPAP, the mean cIMT did not change significantly along the study.

The plaque regression in OSA patients with CPAP, independent of classical cardiovascular risk factors and pharmacological treatment or weight changes supports the efficacy of CPAP treatment for cardiovascular risk reduction in OSA patients. Several prospective studies have shown that the plaque presence in the carotid arteries increases the risk of a coronary event or stroke between 1.8 and 4.1 fold²⁶. This plaque regression

associated with the CPAP treatment effect could be explained by the reduction of arousals, chest effort, intermittent hypoxia and sympathetic activation at night in OSA patients. These conditions would lead vascular and endothelial repair, limiting the activation of the inflammatory cascade as a result of the release of free radicals.

Our study has both strengths and limitations that should be discussed. The strengths include that all cIMT studies were performed by the same person, reducing inter- and intra-observer variability, and that the follow-up for 2 years with carotid ultrasound is the longest-term study performed in a population of OSA patients to date. The main limitations are the study population size and the comparison of two groups of patients with different OSA severities, with some patients treated and some not. However, the cardiovascular risk factors did not differ between groups. The only clinical measure of the effect of CPAP treatment in OSA patients used in this study was EES₁, which is also commonly used in clinical practice.

In conclusion, increased cIMT was associated with OSA but was not correlated with OSA severity. This study demonstrates that early atherosclerosis occurs in this group of patients and that CPAP treatment reduced cIMT in OSA patients independently of the management of other cardiovascular risk factors. Our results support the efficacy of CPAP treatment in the reduction of cardiovascular risk in OSA patients. Carotid ultrasonography provided a reliable report of the precocious arteriosclerotic phenomena in these patients. Our study suggests that the finding of increased cIMT may be a further indication for CPAP treatment in moderate OSA patients. However, additional studies are needed before this technique is more widely used in our sleep units.

Funding

This work was supported by Catalan Respiratory Society (SOCAP, grant 2009), Spanish Respiratory Society (SEPAR, grant 2009) and CIBER in Diabetes and Associated Metabolic Disorders (ISCIII, Ministerio de Economía y Competitividad, Madrid, Spain).

Conflict of Interest: none declared.

References

1. Durán J, Esnaola S, Ramón R, Iztueta A. Obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in a population-based sample subjects aged 30 to 70 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;**163**:685–689.
2. 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.
3. Bradley TD, Floras JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *Lancet* 2009;**373**:82–93.
4. 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.
5. Young T, Finn L, Peppard PE, Szklo-Coxe M, Austin D, Nieto FJ, Stubbs R, Hla KM. Sleep disordered breathing and mortality: eighteen-year follow-up of the Wisconsin Sleep Cohort. *Sleep* 2008;**31**:1071–1078.
6. 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**:1829–1836.
7. Siccoli MM, Pepperell JC, Kohler M, Craig Se, Davies RJ, Stradling JR. Effects of continuous positive airway pressure on quality of life in patients with moderate to severe obstructive sleep apnea: data from a randomized controlled trial. *Sleep* 2008;**31**:1551–1558.

8. Börgel J, Sanner BM, Bittlinsky A, Keskin F, Bartels NK, Buechner N, Huesing A, Rump LC, Mügge A. Obstructive sleep apnea and its therapy influence high-density lipoprotein cholesterol serum levels. *Eur Respir J* 2006;**27**:121–127.
9. Dorkova Z, Petrascova D, Molcanyiova A, Popovnakova M, Tkacova R. Effects of continuous positive airway pressure on cardiovascular risk profile in patients with severe obstructive sleep apnea and metabolic syndrome. *Chest* 2008;**134**:686–692.
10. Bazzano LA, Khan Z, Reynolds K, He J. Effect of nocturnal nasal continuous positive airway pressure on blood pressure in obstructive sleep apnea. *Hypertension* 2007;**50**:417–423.
11. Mehra R, Principe-Rodriguez K, Kirchner HL, Strohl KP. Sleep apnea in acute coronary syndrome: high prevalence but low impact on 6-month outcome. *Sleep Med* 2006;**7**:521–528.
12. Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Figuereido AC, Krieger EM, Lorenzi-Filfo G. Early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;**172**:613–618.
13. De Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smith AJ, Fruchart JC et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker of atherosclerosis. *Circulation* 2004;**109**:III33–38.
14. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999;**340**:14–22.

15. O'Leary DH, Bots ML. Imaging of atherosclerosis: carotid intima-media thickness. *Circulation* 2007;**115**:459–467.
16. Vijay Nambi, Lloyd Chambless, Aaron R. Folsom, Max He, Yijuan Hu, Tom Mosley, Kelly Volcik, Eric Boerwinkle, Christie M. Ballantyne. Carotid Intima-Media Thickness and Presence or Absence of Plaque Improves Prediction of Coronary Heart Disease Risk The ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) Study. *J Am Coll Cardiol* 2010;**55**:1600–1607.
17. 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**:129–133.
18. Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Figuereido AC, Krieger EM, Lorenzi-Filfo G. Early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;**172**:613–618.
19. Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Krieger EM, Lorenzi-Filfo G. Additive effects of obstructive sleep apnea and hypertension on early markers of carotid atherosclerosis. *Hypertension* 2009;**53**:64–69.
20. Drager LF, Bortolotto LA, Figuereido AC, Krieger EM, Lorenzi-Filfo G. Effects of continuous positive airway pressure on early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;**176**:706–712.
21. Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991;**14**:540–545.

22. Chiner E, Arriero JM, Signes-Costa J, Marco J, Fuentes I. Validation of the Spanish version of the Epworth Sleepiness Scale in patients with a sleep apnea syndrome. *Arch Bronconeumol* 1999;**35**:422–427.
23. Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson A, Quan SF, for the American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications, 1st. ed: Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine, 2007.
24. 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.
25. Jenkinson C, Davies RJ, Mullins R, Strading JR. Comparison of three measures of quality of life outcome in the evaluation of continuous positive airways pressure therapy for obstructive sleep apnoea: a randomized prospective parallel trial. *Lancet* 1999;**353**:2100–2105.
26. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, Najjar SS, Rembold CM, Post WS. American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;**21**:93e111.
27. Shultz R, Seeger W, Fegbeutel C, Husken H, Bodeker RH, Tillmanns H, Grebe M. Changes in extracranial arteries in obstructive sleep apnea. *Eur Respir J* 2005; **25**:69–74.

28. Baguet JP, Hammer L, Levy 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**:3407–3412.
29. Baguet JP, Nadra M, Barone-Rochette G, Ormezzano O, Pierre H, Pépin JL. Early cardiovascular abnormalities in newly diagnosed obstructive sleep apnea. *Vasc Health Risk Manag* 2009;**5**:1063–1073.
30. 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 Res* 2012;**13**:22.
31. Grobbee DE, Bots ML. Atherosclerosis disease regression with statins: studies using vascular markers. *Int J Cardiol* 2004;**96**:447–459.
32. Hedblab B, Wikstrand J, Janzon L, Wedel H, Berglund G. Low-dose metoprolol CR/XL and fluvastatin slow progression of carotid intima-media thickness: main results from the Beta-Blocker Cholesterol-Lowering Asymptomatic Plaque Study (BCAPS). *Circulation* 2001;**103**:1721–1726.
33. Young T, Finn L, Peppard P, 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**:1071–1078.

Figure Legends

Figure 1 Study flow chart.

Figure 2 Correlation of changes in cIMT and CPAP adherence.

cIMT, carotid intima-media thickness; CPAP, continuous positive airway pressure.

Figure 3 Carotid intima-media thickness at baseline (white boxes) and after 2-year follow-up (striped boxes) in relation to CPAP adherence.

Figure 4 Multivariate regression analyses. Dependent variable: mean intima-media thickness change. Introduced variables: hypertension, mean CPAP adherence, BMI, CT 90, AHI. Method: introduce, R^2 : 0.452, Durbin Watson: 1.745, $p = <0.0001$.

CPAP, continuous positive airway pressure; body mass index, BMI; CT90, Oxygen saturation < 90%, % of total sleep time.

Table I Baseline characteristics of the study population

Variable	non OSA (n = 18)	mild OSA (n = 33)	moderate OSA (n = 24)	severe OSA (n = 50)	P value
Age (years)	43 ± 10	50 ± 10	52 ± 10	50 ± 10	0.028
Male gender, n (%)	11 (61)	27 (82)	20 (83)	42 (84)	0.191
BMI (kg/m ²)	27.0 ± 2.7	29.7 ± 5.2	30.3 ± 3.9	33.7 ± 5.2	<0.001
Neck circumference (cm)	38.6 ± 3.9	40.4 ± 3.9	42.0 ± 3.9	42.9 ± 3.3	<0.001
Abdominal circumference (cm)	91.6 ± 8.7	102.2 ± 13.2	105.0 ± 11.1	111.0 ± 9.7	<0.001
SBP (mmHg)	123 ± 10	124 ± 13	126 ± 13	133 ± 19	0.107
DBP (mmHg)	72 ± 9	76 ± 11	77 ± 13	79 ± 13	0.157
ESS baseline score	6.5 ± 2.6	9.9 ± 5.0	8.8 ± 4.7	10.7 ± 5.0	0.010
FEV ₁ (L)	3.3 ± 0.8	3.1 ± 0.8	3.0 ± 0.6	2.8 ± 0.8	0.318
FVC (L)	4.1 ± 0.9	4.0 ± 1.0	4.0 ± 0.9	3.7 ± 1.0	0.393
FEV ₁ /FVC	79.3 ± 6.0	77.0 ± 6.2	75.7 ± 7.2	76.2 ± 8.7	0.487
AHI score ^a	1.0 (0.3 – 2.0)	9.7 (6.3 – 11.5)	22.2 (16.7 – 27.4)	64.7 (44.8 – 87.1)	<0.001
CT90 (%) ^a	0.1 (0.0 – 0.2)	1.0 (0.2 – 2.8)	4.9 (1.6 – 8.0)	14.0 (6.2 – 34.5)	<0.001
ODI ^a	0.3 (0.1 – 0.6)	2.4 (0.9 – 5.8)	11.7 (7.3 – 18.9)	46.8 (24.1 – 75.2)	<0.001
SaO ₂ mean (%) ^a	95 (94 – 96)	95 (94 – 95)	93 (93 – 95)	92 (90 – 93)	<0.001
Fasting blood glucose (mmol/L) ^a	5.1 (4.9 – 5.3)	5.3 (4.9 – 5.7)	5.6 (5.2 – 6.1)	5.5 (5.1 – 6.0)	0.013
Fasting insulin (mU/mL) ^a	5.0 (4.3 – 8.2)	7.6 (4.6 – 11.3)	7.6 (5.6 – 10.9)	10.3 (7.3 – 19.4)	0.001
HOMA-IR ^a	1.1 (1.0 – 1.9)	1.9 (1.1 – 2.7)	1.9 (1.4 – 3.1)	2.5 (1.7 – 6.0)	<0.001
Total cholesterol (mmol/L)	5.0 ± 0.8	5.0 ± 0.8	5.0 ± 1.1	5.1 ± 0.9	0.644
LDL cholesterol (mmol/L)	3.4 ± 0.8	3.5 ± 0.7	3.3 ± 0.9	3.5 ± 0.9	0.599
HDL cholesterol (mmol/L)	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.0 ± 0.2	0.022
Triglycerides (mmol/L) ^a	1.0 (0.7 – 1.3)	1.3 (0.9 – 2.0)	1.2 (0.7 – 1.7)	1.2 (1.0 – 1.6)	0.071
Creatinine (μmol/L)	75 ± 17	80 ± 13	76 ± 13	75 ± 18	0.208
Urate (μmol/L)	338 ± 83	370 ± 64	356 ± 80	368 ± 80	0.700
cIMT (μm)	581 ± 78	652 ± 109	695 ± 135	659 ± 119	0.018
Plaques (%)	2	15	9	27	0.016

OSA, obstructive sleep apnoea; BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; pESS, epworth sleepiness scale; FEV₁, forced expiratory volume in the first second; FVC, forced vital capacity; AHI, apnoea-hypopnoea index; CT90, Oxygen saturation < 90%, % of total sleep time; ODI, oxygen desaturation index; SaO₂, oxygen saturation; HOMA-IR, Homeostasis model assessment insulin resistance index; LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; cIMT, carotid intima-media thickness.

^aLog-transformed before analysis.

TABLE 2 Baseline characteristics of the OSA with and without CPAP patients

Variable	CPAP group (n = 50)	No CPAP group (n = 35)	P value
Age (years)	51.9 ± 10	50.6 ± 7.8	0.485
Male gender, n (%)	41 (82)	28 (80)	1.000
Smoking (%)	22	14	0.125
Hypertension (%)	48	23	0.024
Type 2 DM (%)	16	3	0.075
Dyslipidaemia (%)	34	20	0.222
BMI (kg/m ²)	33 ± 4.5	29.8 ± 4.7	0.002
SBP (mmHg)	132.4 ± 17.9	122.8 ± 11.2	0.006
DBP (mmHg)	78.6 ± 11.9	76 ± 11.7	0.334
Baseline ESS score	11.3 ± 4.9	9.5 ± 5.3	0.118
FEV ₁ (L)	2.8 ± 0.8	3.2 ± 0.7	0.043
AHI score ^a	59.1 (38.4 – 85.8)	11.8 (8.5 – 19.0)	<0.0001
CT90 (%) ^a	13.8 (5.7 – 39.9)	1.2 (0.3 – 3.0)	<0.0001
SaO ₂ mean (%) ^a	92 (90 – 93)	95 (94 – 95)	<0.0001
HDL cholesterol (mmol/L)	1 ± 0.24	1.1 ± 0.3	0.022
LDL cholesterol (mmol/L)	3.4 ± 0.9	3.4 ± 0.72	0.856
Non-HDL cholesterol (mmol/L)	4 ± 0.96	4.1 ± 0.9	0.722
Triglycerides (mmol/L) ^a	1.20 (1.00 – 1.70)	1.30 (0.90 – 2.00)	0.952
Creatinine (mmol/L)	75.9 ± 17.7	77.7 ± 14	0.617
Urate (μmol/L)	373.1 ± 76.3	360.7 ± 76.3	0.462
cIMT mean (μm)	668.5 ± 121.1	640.2 ± 115.6	0.606
Plaque (%)	54	37	0.185

OSA, obstructive sleep apnoea; CPAP, continuous positive airway pressure; DM, diabetes mellitus; BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; ESS, epworth sleepiness scale; FEV₁, forced expiratory volume in the first second; AHI, apnoea-hypopnoea index; CT90, Oxygen saturation < 90%, % of total sleep time; SaO₂, oxygen saturation; HDL, high density lipoprotein; LDL, low density lipoprotein; cIMT, carotid intima-media thickness.

^aLog-transformed before analysis.

Figure 1

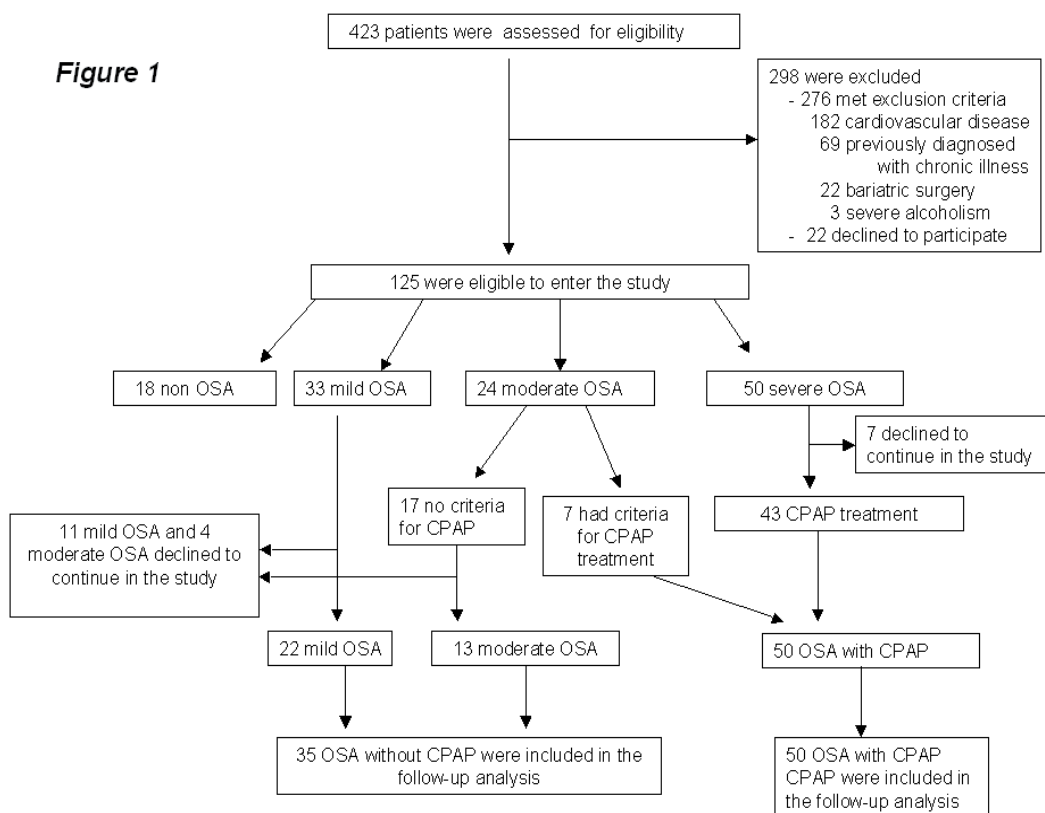


Figure 2

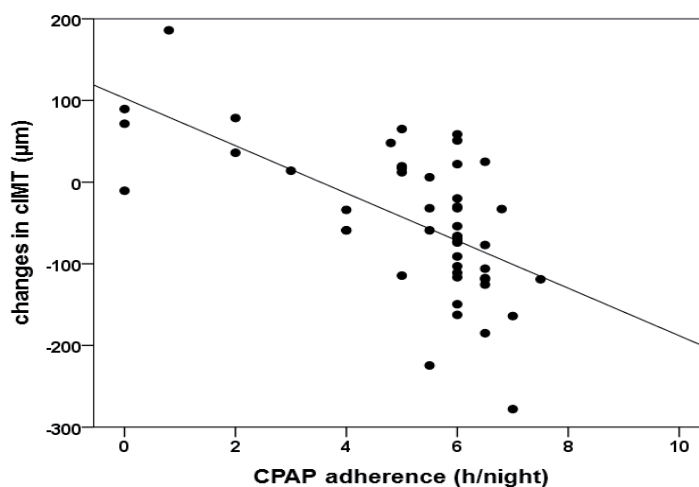


Figure 3

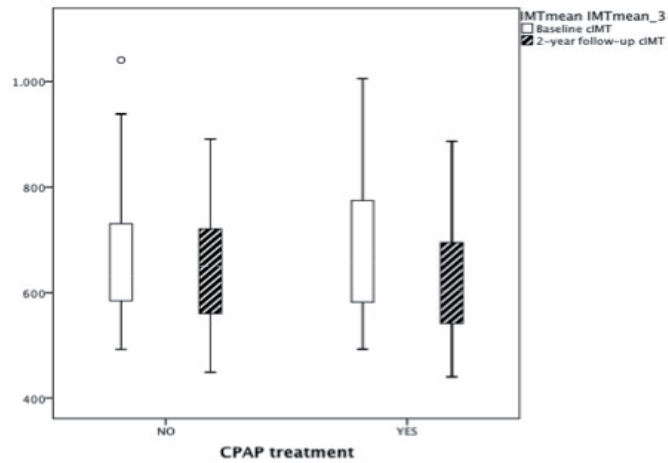
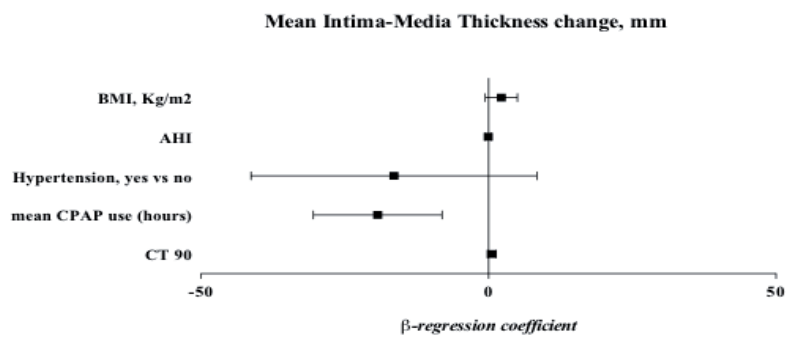


Figure 4



FINANÇAMENT:

- **Beca al Millor Projecte Pneumològic** Tema Lliure, 2009. **SOCAP**. “Avaluació de la relació entre el gen Nrf2, FABP4 i el risc cardiovascular en pacients amb la síndrome d’apnees-hipopnees durant la son (SAHS)”. **Investigadora principal:** Raquel Català Pérez.....Dotació: 12.000 €

- **Beca de la SEPAR** d’Ajuda a la Recerca, 2009. Fundación Respira. “Avaluació de la relació entre el gen Nrf2, FABP4 i el risc cardiovascular en pacients amb la síndrome d’apnees-hipopnees durant la son (SAHS)”. **Investigadora principal:** Raquel Català Pérez.....Dotació: 9.000 €

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
AVALUACIÓ DE LA RELACIÓ ENTRE FABP4, FABP5 I EL RISC CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB LA
SINDROME D'APNEA-HIPOPNEA DURAN EL SON (SAHS)
Raquel Català Pérez
Dipòsit Legal: T. 1566-2013