



LA HIPOXEMIA NOCTURNA ASOCIADA AL SAHS AUMENTA LA LIBERACIÓN DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR.

B. Jurado Gámez¹, C. Bujalance Cabrera¹, L. Caballero Ballesteros¹, I. García Porcuna², MS Arenas de Larriva¹, N. Feu Collado¹, C. Marín Hinojosa³, L. Muñoz Cabrera¹.

¹ Servicio de Neumología. Hospital Universitario Reina Sofía. ² Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Córdoba.

³ Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Estudio parcialmente financiado por Fundación Neumosur (PI:10/2007) y Asociación Neumocor.

Resumen

Introducción: en el síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS) la lesión del endotelio vascular es uno de los mecanismos involucrados en la aterogénesis. Se postula que las moléculas de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) pueden elevarse en el SAHS.

Objetivos: respecto a un grupo control, comparar en pacientes con SAHS los valores circulantes de la ICAM-1 y la VCAM-1.

Métodos: A los enfermos se les realizó una historia clínica, exploración física, bioquímica general, determinación sérica de ICAM-1 y VCAM-1 y una polisomnografía diagnóstica. Se incluyeron 32 sujetos con SAHS (índice de apneas-hipopneas ≥ 5). Fueron excluidos aquellos con SapO₂ $\leq 93\%$ y enfermedad vascular sintomática. Los resultados se compararon con un grupo control de 16 individuos que no fueron diagnosticados de SAHS (IAH < 5).

Resultados: no hubo diferencias significativas en edad, género, IMC y SapO₂ basal entre los dos grupos del estudio. En el SAHS se observaron cifras significativamente elevadas de ICAM-1 ($p < 0,005$) y VCAM-1 ($< 0,01$) y una correlación significativa de estos valores con el ID3, T90 y SapO₂ media. En un análisis de regresión lineal, incluyendo edad, género, IMC y variables de SapO₂ nocturna los factores que explicaron la varianza de la ICAM-1 y VCAM-1 fueron el ID3 y T90 ($p < 0,05$).

Conclusiones: en los pacientes con SAHS los marcadores de adhesión celular se encuentran significativamente elevados y los factores independientemente asociados a ellos fueron la hipoxemia intermitente (ID3) y la gravedad de la hipoxemia nocturna (T90).

Palabras clave: apneas obstructivas del sueño, hipoxemia nocturna, ICAM-1, índice de desaturación de oxígeno, enfermedad cardiovascular, moléculas de adhesión celular, VCAM-1.

Night hypoxemia associated with SAHS increases the liberation of cellular adhesion molecules

Abstract

Introduction: In Sleep Apnoea-Hypopnea Syndrome (SAHS) an injury to the vascular endothelium is one of the mechanisms involved in atherogenesis. It is postulated that intercellular adhesion molecules-1 (ICAM-1) and vascular cellular adhesion molecules-1 (VCAM-1) can rise in SAHS.

Objectives: To compare the values of ICAM-1 and VCAM-1 in peripheral blood of patients with SAHS compared with a control group.

Method: A clinical history was taken from the subjects; they underwent physical and general biochemical explorations, serial determinations of ICAM-1 and VCAM-1 and a diagnostic polysomnograph. 32 subjects with Obstructive Sleep Apnoea Syndrome (SAHS) (apnoea-hypopnea index ≥ 5) were included. Those with SapO₂ $\leq 93\%$ and symptomatic vascular disease were excluded. The results were compared with a control group of 16 individuals who were not diagnosed with SAHS (IAH < 5).

Results: There were no significant differences in age, gender, ICM and basal SapO₂ between the two groups in the study. Significantly raised figures of ICAM-1 and VCAM-1 (< 0.01) were observed ($p < 0.005$) in the SAHS and a significant correlation of these values with the average ID3, T90 and SapO₂. In a linear regression analysis, including age, gender, ICM and night SapO₂ variables, the factors that explained the variance of the ICAM-1 and VCAM-1 were the ID3 and T90 ($p < 0.05$).

Conclusions: In the patients with SAHS, the cellular adhesion markers are significantly raised and the factors independently associated with these were the intermittent hypoxemia (ID3) and the severity of the night hypoxemia (T90).

Key words: Obstructive Sleep Apnea, night hypoxemia, ICAM-1, oxygen desaturation index, cardiovascular disease, cellular adhesion molecules, VCAM-1.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS) es una enfermedad prevalente en hombres obesos y edad media de la vida, aunque cada vez se describe más en mujeres y en individuos delgados^{1,2}. Se caracteriza por frecuentes episodios durante el

sueño de obstrucción total (apneas) o parcial (hipopneas) de la vía aérea superior, lo que provoca hipoxia intermitente y excesiva somnolencia diurna. Varios estudios consideran al SAHS como un factor de riesgo cardiovascular relacionado con hipertensión y morbilidad vascular³⁻⁵.

Recibido: 23 de marzo de 2009. Aceptado: 19 de julio de 2010.

Dr. Bernabé Jurado Gámez.
bernabejurado@neumosur.net

En este aspecto, se han descrito determinados mecanismos que están involucrados en el desarrollo de enfermedad cardiovascular en pacientes con SAHS⁶⁻⁹. Entre ellos se piensa que los trastornos respiratorios pueden inducir la circulación de mediadores inflamatorios y favorecer la aterogénesis⁸⁻¹⁰.

Se considera que el desarrollo y las complicaciones de las placas de ateroma se producen por la respuesta inflamatoria a determinados factores nocivos. Estos factores pueden facilitar la liberación de citoquinas proinflamatorias que estimulan la producción por las células endoteliales de moléculas procoagulantes y de adhesión celular. En modelos experimentales de aterosclerosis, la primera señal de actividad de la enfermedad es una alteración de la regulación de las moléculas de adhesión¹¹.

En el SAHS se postula que existe un estado proinflamatorio, si bien este aspecto, así como el posible mecanismo por el que facilita la aterogénesis no está bien establecido.

En el presente estudio se plantea la hipótesis de que el daño vascular asociado al SAHS puede estar relacionado con disfunción endotelial y, por tanto, puede alterar la regulación de los marcadores circulares de adhesión celular.

Se diseñó un trabajo con el objetivo de comparar los valores sanguíneos de la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1) en un grupo de sujetos con SAHS respecto a un grupo de sujetos sin SAHS.

PACIENTES Y MÉTODO

Selección de pacientes

Estudio prospectivo de carácter observacional longitudinal con grupo control realizado en una unidad de Trastornos del Sueño de un Hospital Universitario.

Se consideró población elegible la formada por los sujetos remitidos a la consulta de trastornos del sueño de nuestro hospital para estudio de trastornos respiratorios del sueño.

A todos los pacientes se les realizó una historia clínica, exploración física, bioquímica general, determinación sérica de ICAM-1 y VCAM-1 y una polisomnografía diagnóstica.

En el trabajo se incluyeron a enfermos entre 30 y 65 años, que fueron consecutivamente diagnosticados tras el estudio polisomnográfico de SAHS y no cumplían ningún criterio de exclusión. En el grupo control se incluyeron a los sujetos procedentes de la

misma población que no fueron diagnosticados de SAHS.

Los criterios de exclusión fueron la existencia de enfermedad respiratoria crónica con $\text{SapO}_2 \leq 93\%$ y/o enfermedad vascular sintomática, incluyendo el diagnóstico o síntomas de cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular y claudicación intermitente.

Tras la polisomnografía, los sujetos fueron asignados a un grupo (pacientes/controles) y se compararon entre ambos los valores de ICAM-1 y VCAM-1.

El estudio se realizó con el informe favorable del comité ético del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, respetando los derechos fundamentales de la persona y los postulados éticos que afectan a la investigación biomédica con seres humanos, según contenido de la Declaración de Helsinki (1964), convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina (1997), Declaración Universal de la UNESCO sobre genoma humano y requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética (2007).

Polisomnografía

Para la realización de la polisomnografía se siguió el protocolo estandarizado de nuestra unidad de trastornos del sueño¹².

Se consideró la existencia de una apnea si se observó en la polisomnografía un descenso significativo (>90%) de la señal del flujo aéreo de al menos 10 segundos de duración y se estableció la existencia de hipopnea si se observó un descenso evidente de dicha señal (>30% y <90%) acompañado de una caída en la $\text{SapO}_2 \geq 3\%$ y/o un microdespertar.

Durante la polisomnografía se monitorizaron las siguientes variables respiratorias: índice de apneas-hipopneas (IAH) o suma de apneas más hipopneas por hora de sueño, SapO_2 en vigilia, SapO_2 mínima alcanzada durante el sueño, índice de desaturación de oxígeno o número de caídas en la $\text{SapO}_2 > 3\%$ por hora de sueño (ID3), y porcentaje de sueño con $\text{SapO}_2 < 90\%$ (T90).

Según el IAH obtenido tras realizar la polisomnografía, los pacientes fueron asignados al grupo de sujetos con SAHS si presentaron un $\text{IAH} \geq 5$ o al grupo control (no SAHS) si tuvieron un $\text{IAH} \leq 5$.

Moléculas de adhesión celular

Todas las muestras de sangre se extrajeron con el paciente en ayunas a las 8 horas am. Los niveles

séricos de las moléculas de adhesión celular solubles se midieron mediante una técnica de inmunoensayo con microesferas fluorescentes y detección multiplex por citometría, cumpliendo las recomendaciones del fabricante (Flow Cytomix ® Bender MedSystems TM, Viena, Austria). Las muestras de sangre fueron centrifugadas inmediatamente a 3.000 rpm durante 10 minutos a 4 °C. El suero fue alícuotado y congelado a -80 ° C hasta su análisis. El coeficiente de variación intra-ensayo para las mediciones de la molécula de adhesión celular solubles fue de 1,4% a 4,3% (n = 10), y el coeficiente de variación interensayo de 4,4% al 6,9% (n = 5). El cálculo de los resultados se realizó mediante el software FlowCytomix Pro 2.2.

Análisis estadístico

Los datos de las variables continuas se expresaron por la media y desviación estándar. La comparación de los datos entre el grupo con SAHS y el grupo control se realizaron aplicando la prueba de U Mann-Whitney. Para correlacionar los resultados de las variables continuas se empleó el coeficiente de Spearman. Todas las correlaciones realizadas fueron bilaterales, considerando valores estadísticamente significativos una $p < 0,05$. Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para identificar cualquier relación significativa entre las variables relacionadas con la SapO₂ nocturna

(predictoras) y las moléculas de adhesión (variable dependiente). El análisis estadístico se realizó mediante el paquete SPSS para Windows, versión 13.0.

RESULTADOS

Se estudiaron 51 sujetos, 3 de los cuales no se tuvieron en cuenta en el análisis final por registrarse en 2 casos artefactos en la SapO₂ nocturna que impedían un análisis adecuado de la misma y en otro por presentar un tiempo de sueño en la polisomnografía inferior a 120 minutos. Por tanto la muestra la componen 48 sujetos.

Las características basales y respiratorias de los pacientes estudiados se muestran en la tabla 1. No hubo diferencias significativas en edad, género, IMC y SapO₂ basal. La escala de Epworth, el número de trastornos respiratorios durante el sueño (IAH) y las variables relacionadas con la SapO₂ nocturna, esto es SapO₂ media, hipoxia intermitente (ID3) y gravedad de la hipoxia (T90) fueron significativamente diferentes en ambos grupos ($p < 0,001$).

Como se observa en la tabla 1, en el grupo con SAHS se observaron cifras significativamente elevadas de ICAM-1 ($p < 0,005$) y VCAM-1 ($< 0,01$) respecto al grupo control.

Igualmente en los pacientes con SAHS se observó una correlación significativa entre los niveles circulan-

Tabla 1. Comparación de las características clínicas y variables respiratorias observadas en los dos grupos del estudio. Datos expresados como número o media ± desviación estándar.

Variable	SAHS n = 32	No-SAHS n = 16	valor p
Edad, años	47 ± 11,2	46 ± 9,4	NS
Género, hombres / mujeres	22 / 10	9 / 7	NS*
IMC, kg/m ²	30 ± 4,1	29 ± 4,5	NS
Fumadores, si/no	7 / 25	4 / 12	NS*
Hipertensión arterial, si / no	6 / 26	4 / 12	NS*
Diabetes, si / no	3 / 29	2 / 14	NS*
SapO ₂ vigilia, %	95 ± 1,4	95 ± 1,8	NS
Epworth, puntuación	12 ± 3,3	8 ± 4,2	<0,005
IAH	36 ± 21,9	3 1,1	<0,001
SapO ₂ media	93 ± 1,9	94 ± 0,6	<0,05
ID3, eventos/hora sueño	33 ± 19,1	6 ± 3,6	<0,001
T90, %	7 ± 10	0 ± 0,3	<0,001
ICAM-1 (ng/ml)	477 ± 312	238 ± 72	<0,005
VCAM-1 (ng/ml)	1335 ± 450	1019 ± 348	<0,01

* χ^2 . IAH: suma de apneas e hipopneas por hora de sueño. ID3: número de caídas significativas (> 3%) en la SapO₂ por hora de sueño. T90: porcentaje de sueño con una SapO₂ < 90%.

Tabla 2. Resultado del an3lisis de regresi3n lineal m3ltiple de la ICAM-1 y VCAM-1 (variables dependientes) y edad, g3nero, IMC y valores de la SapO₂ nocturna (variables predictoras).

Variables predictoras	ICAM-1		VCAM-1	
	Coficiente β	valor p	Coficiente β	valor p
ID3	0,482	0,009	0,376	0,022
T90	0,439	0,042	0,394	0,044
SapO ₂ media	0,328	0,157	0,097	0,639
Edad	0,028	0,839	0,172	0,170
G3nero	0,106	0,417	0,019	0,870
IMC	0,092	0,501	0,173	0,164

ID3: n3mero de ca3das significativas (> 3%) en la SapO₂ por hora de sue1o. T90: porcentaje de sue1o con una SapO₂ < 90%.

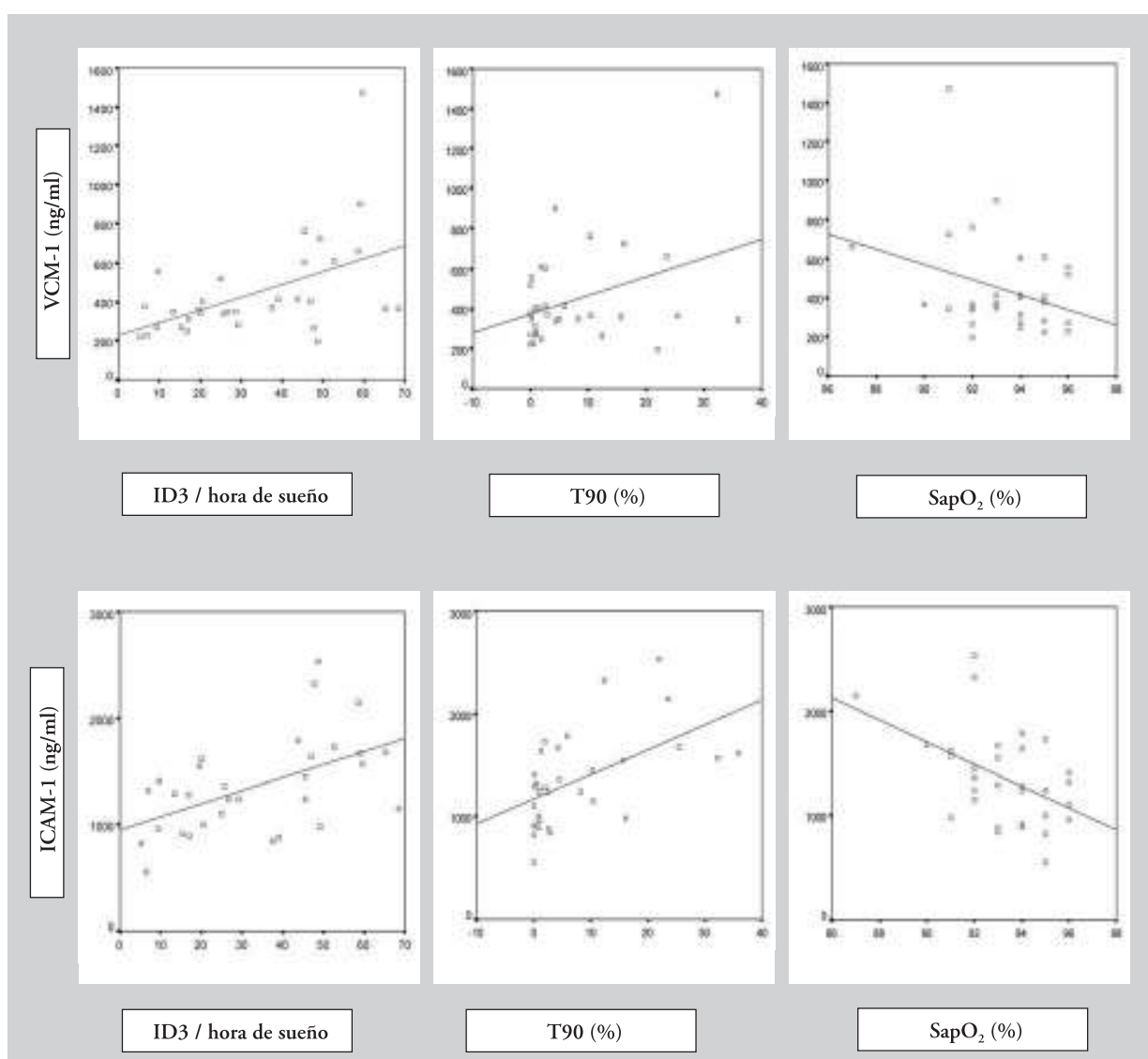


Figura 1. Correlaci3n significativa entre los niveles circulantes de ICAM-1 y VCAM-1 con el ID3, T90 y SapO₂ media.

tes de ICAM-1 y VCAM-1 con el ID3, T90 y SapO₂ media. Estos resultados se muestran gráficamente en la figura 1.

El análisis de regresión multivariante, tomando como variable dependiente la ICAM-1 y como variables predictoras la edad, género, IMC y las variables respiratorias mostró una R² corregida de 0,273 (p=0,003). Respecto a la VCAM-1 el análisis de regresión presentó una R² corregida de 0,425 (p=0,006). Como se observa en la tabla 2, el ID3 y, en menor medida, el T90 fueron los factores que explicaron independientemente la varianza de la ICAM-1 y VCAM-1.

DISCUSIÓN

El presente trabajo, realizado en un grupo de enfermos con SAHS moderado-grave muestra que, respecto a un grupo de pacientes sin la enfermedad, los marcadores de adhesión celular se encuentran significativamente elevados. La hipoxemia intermitente (ID3) y la gravedad de la hipoxemia nocturna (T90) fueron los factores que se asociaron a los valores de la ICAM-1 y VCAM-1. El estudio aumenta el grado de evidencia acerca del papel del SAHS como potencial factor de riesgo vascular.

El SAHS se asocia a mayor morbimortalidad de causa vascular³⁻⁵. Se han involucrado diversos mecanismos, describiéndose como vía final la disfunción endotelial⁶⁻⁹. En esta misma línea, el aumento circulante de la ICAM-1 y la VCAM-1, moléculas responsables de la adhesión de los leucocitos al endotelio, se considera indicador del daño endotelial.

Investigaciones realizadas en la enfermedad cardiovascular subclínica han relacionado a las moléculas de adhesión celular con la gravedad de la arteriosclerosis^{13,14}. En pacientes con cardiopatía isquémica se ha observado que los niveles de ICAM-1 estaban implicados en un aumento de mortalidad de origen cardiovascular^{15,16}.

En nuestro estudio, los pacientes con SAHS presentaron un importante aumento en las moléculas de adhesión vascular, lo cual es concordante con las investigaciones realizadas por otros autores que involucran a la apnea del sueño en el desarrollo de la aterogénesis^{17,18}. En esta línea, Ohga et al¹⁹, en un grupo de enfermos con SAHS y en controles pareados por edad, midieron las cifras de ICAM-1, VCAM-1 y L-selectina antes y después del sueño, observaron que en los enfermos estaban significativamente aumentados antes de dormir y además la ICAM-1 y L-selectina aumentaron tras el sueño. El-Solh et al²⁰, en pacientes

con enfermedad coronaria compararon 15 enfermos con SAHS moderado-grave con un grupo control y encontraron unas cifras de ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina significativamente elevadas en el grupo con SAHS. Estos resultados comentados anteriormente son concordantes con los obtenidos en nuestro estudio y apuntan hacia la relación existente entre apneas durante el sueño y disfunción endotelial²¹.

Posibles limitaciones de este estudio

Se ha descrito una asociación entre las moléculas de adhesión y obesidad. Recientemente Carpagnano et al²², estudian el papel de la obesidad en la inflamación y observan que, respecto a un grupo de sujetos sanos, existe un aumento plasmático de ICAM-1 e IL-8 en pacientes con SAHS, con o sin obesidad, y también en sujetos únicamente obesos. Estos marcadores de inflamación fueron mayores en el grupo con obesidad y SAHS, aunque sin lograr significación estadística. Los autores sugieren que la obesidad per se, además de la hipoxemia secundaria al SAHS, puede ser causa de inflamación. No obstante, una limitación importante del trabajo fue incluir un número de individuos escaso (≤ 10 por grupo). En nuestro estudio, los sujetos asignados a ambos grupos no fueron emparejados por el IMC. Sin embargo, no hubo diferencias significativas intergrupo en esta variable y además se tuvo en cuenta en el análisis estadístico. Así, en el modelo de regresión lineal múltiple, se observó que el ID3 y T90 fueron factores de riesgo independientes para unos niveles altos de ICAM-1 y VCAM-1. En segundo lugar, se han medido las cifras de estos marcadores para valorar la expresión de las moléculas de adhesión asociadas a las células, no se ha estudiado directamente estas células, no obstante esta metodología es la habitualmente utilizada y validada en estudios previos.

En conclusión, en el SAHS se objetiva un aumento significativo en los valores circulantes de las moléculas de adhesión. Este resultado es relevante dado que los pacientes con elevación de estos marcadores pueden tener un mayor riesgo para desarrollar arteriosclerosis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bixler EO, Vgontzas AN, Lin H-M, Ten Have T, Rein J, Vela-Bueno A, Kales A. Prevalence of sleep disordered breathing in women. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 608-13.
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. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agusti AG. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet* 2005; 365: 1046-1053.
4. Bradley TD, Floras JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *Lancet* 2009; 373: 82-93.
5. Takama N, Kurabayashi M. Influence of untreated sleep-disordered breathing on the long-term prognosis of patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2009; 103: 730-734.
6. L. Lavie and P. Lavie. Molecular mechanisms of cardiovascular disease in OSAHS: the oxidative stress link. *Eur Respir J* 2009; 33: 1467-1484.
7. Arnardottir ES, Mackiewicz M, Gislason T, Teff KL, Pack AI. Molecular signatures of obstructive sleep Apnea in adults: A review and perspective. *Sleep* 2009; 32; 447-470.
8. Atkeson A, Yeh SY, Malhotra A, Jelic S. Endothelial function in obstructive sleep apnea. *Prog Cardiovas Dis* 2009; 51: 351-362.
9. Jelic S, Le Jemtel TH. Inflammation, oxidative stress, and the vascular endothelium in obstructive sleep apnea. *Trends Cardiovasc Med* 2008; 18: 253-260.
10. Garvey JF, Taylor CT, McNicholas WT. Cardiovascular disease in obstructive sleep apnoea syndrome: the role of intermittent hypoxia and inflammation. *Eur Respir J* 2009; 33: 1195-1205.
11. Li H, Cybulski MI, Gimbrone MA Jr, et al: An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 197-204.
12. Jurado Gámez B. Fernández Marín MC, Cobos Ceballos MJ, Ibáñez Meléndez R, Arenas de la Larriva MS, Muñoz Cabrera L, Cosano Povedano A. Valoración de la oxidación proteica en pacientes con apneas del sueño. *Rev Esp Pat Torac* 2009; 21: 154-158.
13. Blann AD, Lip GY, McCollum CN: Changes in von Willebrand factor and soluble ICAM, but not soluble VCAM, soluble E-selectin or soluble thrombomodulin, reflect the natural history of the progression atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002; 165: 389-491.
14. Van der Meer IM, de Maat MP, Bots ML, et al: Inflammatory mediators and cell adhesion molecules as indicators of severity of atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 838-842.
15. Blankenberg S, Rupprecht HI, Bickel C, et al: Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104: 1336-1342.
16. Jenny NS, Arnold AM, Kuller LH, et al: Soluble intracellular adhesion molecule-1 is associated with cardiovascular disease risk and mortality in older adults. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 107-113.
17. De la Peña, M, Barceló A, Barbé F, Piérola J, Pons J, Rimbau E, Ayllón O, Agustí AGN. Endothelial function and circulating endothelial progenitor cells in patients with sleep apnea syndrome. *Respiration* 2008; 76: 28-32.
18. El Solh AA, Akinnusi ME, Baddoura FH, CR Mankowski. Endothelial cell apoptosis in obstructive sleep apnea. A link to endothelial dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 1186-1191.
19. Ohga E, Nagase T, Tomita T, et al: Increased levels of circulating ICAM-1, VCAM-1 and L-selectin in obstructive sleep apnea syndrome. *J Appl Physiol* 1999; 87: 10-14.
20. El-Solh AA, Mador MJ, Sikka P, et al: Adhesion molecules in patients with coronary artery disease and moderate-to-severe obstructive sleep apnea. *Chest* 2002; 121: 1541-1547.
21. Jelic S, Lederer DJ, Adams T, Padeletti M, Colombo PC, Factor PH, Le Jemtel TH. Vascular Inflammation in Obesity and Sleep Apnea. *Circulation* 2010. doi: 10.1161/CirculationAHA.109.900357.
22. Carpagnano GE, Spanevello A, Sabato R, et al. Systemic and airway inflammation in sleep apnea and obesity: the role of ICAM-1 and IL-8. *Transl Res* 2010; 155: 35-43.