

## EXPRESIÓN DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN SENSIBLES A LA HIPOXIA, DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA Y DEL ESTRÉS OXIDATIVO A NIVEL MUSCULAR EN TRES MODELOS CLÍNICOS DE HIPOXEMIA

M.I. Asensio Cruz, C. Calero Acuña, V. Sánchez López, J.L. López Villalobos, F. Ortega Ruiz, A. Sánchez Armengol.

Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias, Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/Universidad de Sevilla, Spain b. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES).

Artículo elaborado gracias a Beca Neumosur nº 8/2017.

### RESUMEN

**Objetivos:** comparar la expresión de marcadores de respuesta a hipoxia, inflamatorios y de estrés oxidativo en biopsia muscular de grupos de pacientes con hipoxia crónica continua, crónica intermitente y ambas combinadas. Evaluar el estado de la musculatura periférica y compararla entre grupos.

**Método:** incluimos varones mayores de 18 años, diagnosticados de EPOC, Apnea Obstructiva del Sueño (AOS) o AOS-EPOC, a los que se realizó biopsia muscular del cuádriceps. Los biomarcadores seleccionados para su estudio en músculo fueron factores de transcripción asociados a la hipoxia, como el factor inducible por hipoxia HIF-1, HIF-2 y el factor nuclear. También biomarcadores inflamatorios como factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , interleukina 6 y 8, factor de crecimiento endotelial vascular y proteína de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), así como biomarcadores de estrés oxidativo, como superóxidodismutasa (SOD) y actividad catalasa. Además se realizó evaluación de la función muscular en los tres grupos.

**Resultados:** reclutamos 29 sujetos: 4 con EPOC, 12 con AOS y 13 EPOC-AOS. En el músculo, encontramos diferencias entre los grupos de estudio en VCAM-1 (casos de EPOC que expresan 2,1 veces más que AOS y 1,16 veces más que EPOC-AOS) y SOD (EPOC-AOS que expresan 3,48 veces más que EPOC, y AOS 3,02 veces más que EPOC).

**Conclusiones:** la expresión de biomarcadores estudiados es de intensidad similar en los tres grupos de pacientes referidos, con pocas excepciones. La fuerza muscular periférica y el porcentaje de masa libre de grasa es significativamente menor en los pacientes con EPOC que en los pacientes con AOS.

**Palabras clave:** EPOC, AOS, hipoxia, respuesta inflamatoria, estrés oxidativo, músculo.

EXPRESSION OF TRANSCRIPTION FACTORS SENSITIVE TO HYPOXIA, OF THE INFLAMMATORY RESPONSE AND OF OXIDATIVE STRESS AT THE MUSCLE LEVEL IN THREE CLINICAL MODELS OF HYPOXEMIA

### ABSTRACT

**Objectives:** to compare the expression of markers of response to hypoxia, inflammation, and oxidative stress in muscle biopsy from groups of patients with continuous chronic hypoxia, intermittent chronic hypoxia, and both combined. Evaluate the state of the peripheral musculature and compare it between groups.

**Method:** we included men older than 18 years, diagnosed with COPD, Obstructive Sleep Apnea (OSA) or OSA-COPD, who underwent quadriceps muscle biopsy. The biomarkers selected for study in muscle were transcription factors associated with hypoxia, such as the hypoxia-inducible factor HIF-1, HIF-2, and nuclear factor. Also inflammatory biomarkers such as tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin 6 and 8, vascular endothelial growth factor and vascular cell adhesion protein 1 (VCAM-1), as well as oxidative stress biomarkers such as superoxide dismutase (SOD) and catalase activity. In addition, evaluation of muscle function was performed in the three groups.

**Results:** we recruited 29 subjects: 4 with COPD, 12 with OSA, and 13 COPD-OSA. In muscle, we found differences between the study groups in VCAM-1 (COPD cases expressing 2.1 times more than OSA and 1.16 times more than COPD-OSA) and SOD (COPD-OSA expressing 3.48 times more than OSA). times more than COPD, and OSA 3.02 times more than COPD).

**Conclusions:** the expression of biomarkers studied is of similar intensity in the three groups of referred patients, with few exceptions. Peripheral muscle strength and the percentage of fat-free mass is significantly lower in patients with COPD than in patients with OSA.

**Keywords:** COPD, OSA, hypoxia, inflammatory response, oxidative stress, muscle.

### INTRODUCCIÓN

Los pacientes con EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica) con afectación funcional moderada y severa suelen sufrir una insuficiencia respiratoria con hipoxemias crónicas mantenidas que se han relacionado con acentuación de la sintomatología, así como complicaciones como hipertensión pulmonar y mayor mortalidad<sup>1</sup>.

Por otro lado, la Apnea Obstructiva del Sueño (AOS) se caracteriza por somnolencia y trastornos neuropsiquiátricos y cardiorrespiratorios secundarios a una alteración anatómico-funcional de la vía aérea superior que conduce a episodios repetidos de obstrucción de la misma durante el sueño, provocando descensos de la saturación arterial de oxígeno (SaO<sub>2</sub>). Por tanto, constituye un ejemplo paradigmático de hipoxemias transitorias<sup>2</sup>.

Recibido: 08.05.2022 Aceptado: 28.06.2022

Dra. María Isabel Asensio Cruz.  
[miacruz06@hotmail.com](mailto:miacruz06@hotmail.com)

Parece claro que los pacientes con síndrome overlap (EPOC-AOS) tienen un peor pronóstico que los pacientes que padecen una sola de las dos enfermedades.

La capacidad de la hipoxia para promover adaptaciones persistentes es debida en gran parte a la capacidad de inducir cambios en la transcripción de genes. Esta respuesta se debe principalmente a los factores de transcripción sensibles a la hipoxia, conocidos como hipoxia-inducible factor 1 (HIF-1), hipoxia-inducible factor 2 (HIF-2) y nuclear factor-kappa B (NF-KB), todos interrelacionados entre sí<sup>3</sup>. La NF-KB juega un papel clave en la respuesta inflamatoria y en la respuesta inmune innata regulando la expresión de citoquinas como TNF- $\alpha$ , IL-8, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y endotelina-1 (ET-1) que se han relacionado con los procesos de aterosclerosis y riesgo cardiovascular<sup>4</sup>.

Existen evidencias de que existen marcadas diferencias en la respuesta de los sistemas fisiológicos frente a la hipoxia sostenida y la hipoxia intermitente. La activación de NF-KB, HIF-1 y HIF-2 ha sido demostrada en tejido cardiovascular de modelo de ratón expuesto a hipoxia intermitente<sup>5</sup> y en cultivos de monocitos y linfocitos sanguíneos en pacientes con AOS<sup>6</sup>. Sin embargo, no se conoce la expresión de los factores de transcripción sensibles a la hipoxia en pacientes con EPOC.

Con respecto a sujetos sanos, los pacientes con EPOC tienen aumentado el estrés oxidativo tanto en reposo como el inducido por el ejercicio<sup>7</sup>, aunque se desconoce la respuesta de la actividad antioxidante en estos pacientes.

El bajo umbral láctico y de la máxima concentración láctica en pacientes con AOS sugiere un defecto en el metabolismo oxidativo muscular con una posible inhibición de las enzimas glucolíticas y disminución del contenido de glucógeno intramuscular. Son conocidos los cambios estructurales y mayor fatigabilidad de los músculos de las vías aéreas superiores y de los músculos inspiratorios, especialmente del diafragma en estos pacientes. En modelo de animal se ha podido demostrar que estas alteraciones podrían estar mediadas por una sobreexpresión tanto de HIF-1 y HIF-2 como de NF-KB<sup>8</sup>, provocando una respuesta inflamatoria y de sustancias oxidantes que dañan la fibra muscular. Se han descrito en el músculo cuádriceps de pacientes con AOS cambios estructurales (aumento del diámetro de las fibras tipo II) y anormalidades metabólicas (aumento del contenido proteico y de la actividad de la fosfofructo-kinasas y citocromo oxidadas)<sup>9</sup>, aunque se desconoce el origen de estas alteraciones y los niveles de expresión de HIF-1, HIF-2 y de NF-KB.

Por otro lado, en la disfunción muscular de los pacientes con EPOC, algunos autores han observado un aumento de las células inflamatorias y de las citocinas presentes en los músculos de las extremidades<sup>10</sup>. Sin embargo, otros investigadores no han podido confirmar estos hallazgos e incluso han descrito una disminución de la expresión de citocinas inflamatorias en el cuádriceps de los pacientes<sup>11</sup>, siendo las sustancias oxidantes las principales causantes de las alteraciones encontradas. Se desconoce el nivel de alteraciones musculares y de expresión de HIF-1, HIF-2 y de NF-KB en los pacientes con síndrome overlap.

El objetivo principal de nuestro trabajo es comparar la expresión de los factores de transcripción sensibles a la hipoxia, marcadores de inflamación sistémica, estrés oxidativo y actividad antioxidante en fibra muscular de pacientes con AOS, EPOC y EPOC-AOS. Los resultados de biomarcadores encontrados en el plasma de los pacientes incluidos en nuestro estudio han sido previamente publicados por nuestro grupo<sup>12</sup>.

## PACIENTES Y MÉTODOS

Hemos llevado a cabo un estudio prospectivo y observacional con pacientes de sexo masculino y mayores de 18 años, que se han incluido en grupo EPOC, grupo AOS, grupo EPOC más AOS. Para ser incluido en el grupo EPOC se han exigido todos los siguientes criterios:

- Patrón espirométrico obstructivo ( $FEV_1/FVC < 0,7$ ), con un volumen máximo espirado en el primer segundo de una espiración forzada ( $FEV_1 < 80\%$  en la espirometría tras broncodilatación).
- Presión parcial de oxígeno en la sangre arterial ( $PaO_2 < 70$  mmHg en la gasometría arterial. Se eligió este punto de corte para asegurar que los pacientes tuvieran una hipoxemia mantenida sin ser tan grave como para su exclusión por tener indicación de oxigenoterapia).
- Índice de apneas-hipopneas (IAH)  $< 5$  en la poligrafía respiratoria.
- Pacientes estables y recibiendo la terapia apropiada.

Para el grupo AOS se han exigido todos siguientes criterios:

- Patrón espirométrico en valores de normalidad.
- $PaO_2 > 80$  mmHg en la gasometría arterial.
- IAH  $> 15$  en la poligrafía respiratoria.
- No habían recibido tratamiento con CPAP antes de la inclusión en el estudio.

Se han considerado los siguientes criterios de exclusión:

- Presencia de patología osteomuscular, enfermedades neuromusculares o patologías degenerativas que interfieran o limiten la realización de la biopsia muscular periférica.
- Tratamiento con anticoagulantes.
- Diagnóstico de bronquiectasias u otra afectación respiratoria distinta de la EPOC.
- Tratamiento actual o previo con oxígeno domiciliario.
- Neoplasia diagnosticada en los 5 años previos, así como incapacidad para participar en el programa o realizar alguna de las pruebas.

Además de las pruebas anteriormente referidas, a todos los pacientes se les ha realizado biopsia muscular del cuádriceps y evaluación del estado funcional de la musculatura periférica.

La biopsia muscular se ha llevado a cabo en un ambiente de cirugía ambulatoria, obteniéndose muestras en la parte media del muslo (vasto lateral del músculo cuádriceps). Las muestras de biopsia se han congelado en nitrógeno líquido inmediatamente tras su obtención, y se han conservado a -80°C para su procesamiento posterior. Para la determinación de biomarcadores en tejido muscular se ha utilizado la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-qPCR), un método consistente en 3 pasos: extracción de RNA, transcripción inversa a cDNA y amplificación génica.

Para la evaluación del estado funcional de la musculatura periférica se ha realizado el test de una repetición máxima (Test 1 RM) que mide la cantidad máxima de peso en kilogramos que puede ser levantado en una maniobra individual usando una estación multigimnástica. Además, se valoró la fuerza máxima isométrica de cuádriceps dominante y se evaluó por bioimpedancia la composición corporal, la masa grasa y magra y su distribución.

Para cada uno de los tres grupos de pacientes con hipoxia se ha estimado que 12 pacientes es el número que permite detectar diferencias significativas en las variables morfológicas y metabólicas musculares considerando unos riesgos alfa < 0,05 y beta < 0,20 en contraste bilateral. Para el estudio estadístico hemos empleado SSPS versión 15,0 para Windows XP (SSPS, Inc, Chicago, IL, USA). Los resultados se han expresado como media ± desviación estándar (DS). Para comparar las distintas variables cuantitativas continuas entre los grupos se ha empleado la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

Se ha considerado estadísticamente significativa una  $p < 0,05$ . Para analizar las correlaciones entre las distintas variables se ha usado el coeficiente no paramétrico de correlación de Spearman.

El estudio ha seguido las recomendaciones de la declaración de Helsinki sobre experimentación en seres humanos y niveles de seguridad de protección de datos personales exigidos por la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre. El estudio recibió la aprobación del Comité de Ética del Hospital Universitario Virgen del Rocío (código CEI2017/MIAC) y todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito antes de la inclusión.

## RESULTADOS

Hemos estudiado un total de 29 pacientes de sexo masculino distribuidos de la siguiente forma: 4 en el grupo EPOC, 12 en el grupo AOS y 13 en el grupo con EPOC más AOS. En la **Tabla 1** se muestran los datos antropométricos, el resultado de las pruebas funcionales respiratorias y el resultado de la poligrafía respiratoria en los 3 grupos de pacientes.

**Tabla 1:** Características basales de los pacientes.

	Grupo EPOC (n = 4)	Grupo AOS (n = 12)	Grupo EPOC más AOS (n = 13)
Edad (años)	64,75 ± 11,8	47,92 ± 8,4	68,77 ± 4,9
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,5 ± 2,6	30,3 ± 4,8	31,4 ± 4,9
FEV <sub>1</sub> (ml)	1232 ± 209,2	3616 ± 420,6	1512,3 ± 368,2
FEV <sub>1</sub> (%)	43,2 ± 3,6	97,3 ± 13,5	53,8 ± 13,4
DLCO (mL/min./mmHg)	4,54 ± 1,15	9,74 ± 1,09	5,26 ± 1,61
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	67,25 ± 2,8	86,8 ± 6,5	66,83 ± 3,6
IAH	3,07 ± 1,8	39,64 ± 20,8	38,94 ± 16,3
ID	3,02 ± 2,5	42,09 ± 25,2	36,88 ± 16,2
SpO <sub>2m</sub> (%)	90,07 ± 1,49	93,28 ± 1,9	88,17 ± 4,12
CT <sub>90</sub> (%)	39,22 ± 36,26	10,38 ± 12,53	51,17 ± 31,68

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; AOS: apnea obstructiva del sueño; IMC: índice de masa corporal; FEV1: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; DLCO: capacidad de difusión de monóxido de carbono; PaO<sub>2</sub>: presión parcial de oxígeno en la sangre arterial; IAH: Índice de apneas-hipopneas (número total de apneas + hipopneas / hora de registro; ID: Índice de desaturaciones (número total de desaturaciones/hora de registro); SpO<sub>2m</sub>: SaO<sub>2</sub> media; CT90: porcentaje del tiempo de registro con una SaO<sub>2</sub> < 90%.

En lo que se refiere a la expresión de los diferentes parámetros estudiados a nivel de la musculatura periférica en los tres grupos de pacientes (**Tabla 2**), no hemos encontrado diferencias significativas en la expresión de los factores de transcripción sensibles a la hipoxia entre los pacientes de los grupos EPOC, AOS y EPOC más AOS.

Sí hemos encontrado un nivel significativamente más elevado de uno de los marcadores que refleja un proceso inflamatorio a nivel muscular (VCAM) en los pacientes con EPOC respecto a los pacientes del grupo AOS. La expresión de la enzima antioxidante SOD era significativamente más elevada en los pacientes con AOS que en los del grupo EPOC.

**Tabla 2:** Factores de transcripción, parámetros de inflamación y de estrés oxidativo en músculo de los tres grupos de pacientes

	Grupo EPOC	Grupo AOS	Grupo EPOC más AOS
HIF-1 (pg/ml)	0,052 ± 0,078	0,05 ± 0,034	0,058 ± 0,05
HIF-2 (pg/ml)	0,13 ± 0,157	0,17 ± 0,09	2,33 ± 6,72
NF-kβ (pg/ml)	0,38 ± 0,733	0,065 ± 0,062	0,062 ± 0,049
IL-6 (pg/ml)	0,007 ± 0,009	0,007 ± 0,008	0,006 ± 0,006
IL-8 (pg/ml)	0,022 ± 0,02	0,463 ± 1,429	0,372 ± 0,865
TNF-α (pg/ml)	0,03 ± 0,06	0,002 ± 0,003	0,005 ± 0,009
VEGF (pg/ml)	0,165 ± 0,31	0,126 ± 0,08	0,218 ± 0,43
VCAM (pg/ml)	0,105 ± 0,03*	0,05 ± 0,04	0,09 ± 0,08
CAT(nmol/min/ml)	1,432 ± 2,166	0,733 ± 0,353	1,295 ± 1,429
SOD(U/ml)	4,577 ± 3,559	13,856 ± 9,676**	15,954 ± 17,478

\* Aumento significativo (p < 0,05) en EPOC vs AOS

\*\* Aumento significativo (p < 0,05) en AOS vs EPOC

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; AOS: apnea obstructiva del sueño; HIF-1: factor inducible por hipoxia 1; HIF-2: factor inducible por hipoxia 2; NF-KB: factor nuclear Kappa-B; IL- 6: Interleucina 6; IL- 8: Interleucina 8; TNF-α: Factor de necrosis tumoral alfa; VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular; VCAM: Vascular celladhesionprotein 1; CAT: actividad catalasa; SOD: superóxidodismutasa.

No hemos encontrado diferencias significativas en ninguno de los parámetros analizados comparando los pacientes del grupo EPOC más AOS con los pacientes del grupo EPOC ni los del grupo AOS.

Respecto al estado funcional de la musculatura periférica, la fuerza isométrica máxima de cuádriceps era significativamente menor en el grupo EPOC frente al grupo AOS (32 ± 8,2 Kg vs 57,9 ± 13,7 Kg; p < 0,013), así como en el grupo EPOC más AOS frente al grupo de pacientes con AOS (34,6 ± 13,2 vs 57,9 ± 13,7; p < 0,001).

La composición del tejido muscular también ha mostrado diferencias entre los grupos, con un porcentaje de masa libre de grasa significativamente inferior en el grupo EPOC, tanto frente al grupo AOS (48,7 ± 2,6% vs 68,5 ± 6,6%; p < 0,006) como frente al grupo EPOC más AOS (48,7 ± 2,6% vs 59,7 ± 7,4; p < 0,017). A su vez, los pacientes del grupo EPOC más AOS también tenían un porcentaje de masa libre de grasa inferior que los del grupo AOS (59,7 ± 7,4% versus 68,5 ± 6,6%; p < 0,008).

En el grupo de pacientes con EPOC hemos encontrado una correlación de signo inverso que roza la significación estadística entre la fuerza del músculo cuádriceps y el nivel de IL-8 a nivel muscular (r = -0,94; p < 0,051). En los pacientes con AOS hemos encontrado una correlación significativa de signo negativo entre la fuerza del músculo cuádriceps y el nivel del factor de transcripción NF-KB en fibra muscular (r = -0,61; p < 0,046).

## DISCUSIÓN

En nuestro trabajo, en lo referido a la afectación a nivel de la musculatura periférica, no hemos encontrado diferencias significativas en los tres grupos de pacientes en la expresión de los factores de transcripción sensibles a la hipoxia. Sin embargo, comparando a los pacientes con EPOC con los pacientes con AOS, hemos encontrado en los primeros un nivel más elevado de VCAM, lo que refleja un estado inflamatorio más intenso a nivel muscular, así como un nivel más bajo de la enzima antioxidante SOD, lo que traduce una menor capacidad de anular la acción deletérea de los radicales libres producidos por la hipoxia crónica. Esto va en la misma línea de lo aportado por otros autores<sup>13</sup>, en el sentido de que el estrés oxidativo parece ser un desencadenante principal de la posterior disminución de la expresión de SOD. Nuestros resultados concuerdan con el hecho de que la disfunción en la musculatura periférica es frecuente en los pacientes con EPOC y es importante clínicamente, ya que está relacionada con la discapacidad y la afectación en la calidad de vida de estos pacientes.

Se ha sugerido que la activación sostenida de NF-KB por el estrés oxidativo juega un papel central en la disfunción del músculo esquelético de la EPOC<sup>14</sup>. El hecho de que no hayamos encontrado diferencias en los niveles de los factores HIF y NF-KB en el grupo EPOC en nuestro estudio se debe a que no estamos comparando pacientes con EPOC con sujetos sanos, sino con pacientes diagnosticados de AOS.

El estrés oxidativo ha sido ampliamente propuesto como uno de los mecanismos más importantes implicados en la etiología de la disfunción de los músculos periféricos en la EPOC. Paralelamente a lo que ocurre en condiciones caracterizadas por hipoxia continua, los pacientes con AOS (hipoxia intermitente) también muestran cambios estructurales y bioenergéticos en su músculo esquelético. Estos pacientes tienen una respuesta de lactato en sangre máxima reducida durante el ejercicio máximo, así como una tasa disminuida de depuración de lactato en sangre. En conjunto, estos hallazgos sugieren un defecto en el metabolismo oxidativo muscular en sujetos con AOS<sup>15</sup>.

En nuestros pacientes con EPOC-AOS la respuesta inflamatoria y de estrés oxidativo de la fibra muscular es intermedia entre los otros dos grupos, no existiendo diferencias significativas en ninguno de los parámetros.

En el grupo de pacientes con EPOC hemos encontrado que la fuerza muscular periférica y el porcentaje de masa libre de grasa es significativamente menor que en los pacientes con AOS, lo cual supone un estado funcional y una composición tisular más desfavorable. Además, en el grupo EPOC hemos encontrado una correlación inversa prácticamente significativa entre la fuerza del cuádriceps y los niveles de IL-8 muscular. En el grupo de pacientes con AOS hemos obtenido una correlación inversa significativa entre la fuerza del cuádriceps y el nivel del factor de transcripción NF-KB a nivel muscular. En conjunto, estos resultados apoyan la hipótesis de que existe una afectación primaria local en la fibra muscular de los pacientes EPOC, a diferencia de lo que sucedería en los pacientes AOS, en los cuales habría una afectación muscular secundaria y dependiente de la afectación sistémica inducida por la hipoxia intermitente crónica.

Como fortaleza del estudio consideramos la importancia de analizar la patogenia de la hipoxemia diferenciando distintos grados de intensidad en la misma. La musculatura periférica en estas patologías podría exhibir diferente grado de afectación y ser el origen de fenómenos de regeneración celular diferencial que pueden repercutir en acentuación de la sintomatología y generar importante incapacidad e invalidez. Con este proyecto pretendemos aumentar el conocimiento de la patogenia de las alteraciones provocadas por la hipoxemia y, si fuera posible, encontrar nuevas dianas terapéuticas (uno de ellos podría ser los programas de entrenamiento al ejercicio).

Respecto a la metodología llevada a cabo en nuestro estudio encontramos algunas limitaciones. En nuestro estudio solo se han incluido pacientes varones. Debido a que el tamaño estimado para cada uno de los tres grupos de pacientes era de sólo 12 pacientes, el hecho de haber incluido ambos sexos en cada grupo habría fraccionado la muestra, debilitando el poder estadístico de la misma.

El pequeño tamaño de la muestra de pacientes EPOC es otra limitación relevante y es debido a la dificultad para reclutar pacientes con  $\text{PaO}_2 < 70$  mmHg en la gasometría arterial que no tuvieran alguno de los criterios de exclusión, sobre todo tratamiento actual o previo con oxígeno domiciliario o con anticoagulantes. Además, para ser incluido en el grupo EPOC se ha exigido un IAH  $< 5$  en la poligrafía respiratoria, lo cual ha sido difícil de conseguir debido a la alta prevalencia de IAH  $> 5$  en hombres mayores de 60 años.

Otra limitación es el hecho de no tener grupo control de personas sanas para la determinación de biomarcadores en fibra muscular. Esta opción se valoró al inicio del estudio pero se desestimó por la dificultad para obtener voluntarios sanos por ser la biopsia muscular una técnica más invasiva.

En definitiva, en nuestro trabajo, la expresión de biomarcadores estudiados es de intensidad similar en los tres grupos de pacientes referidos, con solo unas pocas excepciones y la fuerza muscular periférica y el porcentaje de masa libre de grasa es significativamente menor en los pacientes con EPOC que en los pacientes con AOS.

## BIBLIOGRAFÍA

1. The global strategy for the diagnosis, management, and prevention of COPD. Updated 2019. Website: [www.goldcopd.org](http://www.goldcopd.org).
2. Peppard PE, Young T, Barnett JH et al. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol* 2013; 177: 1.006-1.014.
3. McNicholas WT, Verbraecken J, Marin JM. Sleep disorders in COPD: the forgotten dimension. *Eur Respir Rev*. 2013; 22: 365-375.
4. Destors M, Tamiés R, Galerneau LM et al. Pathophysiology of obstructive sleep apnea syndrome and its cardiometabolic consequences. *Presse Med*. 2017; 46: 395-403.
5. 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: 1.195-1.205.
6. Poredos P, Jezovnik MK. The Role of Inflammatory Biomarkers in the Detection and Therapy of Atherosclerotic Disease. *CurrVascPharmacol*. 2016; 14: 534-546.
7. Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Selective activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Circulation* 2005; 112: 2.660-2.667.
8. Pialoux V, Hanly PJ, Foster GE et al. Effects of exposure to intermittent hypoxia on oxidative stress and acute hypoxic ventilatory response in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 15: 1.002-1.009.
9. Kent BD, Ryan S, McNicholas WT. Obstructive sleep apnea and inflammation: relationship to cardiovascular co-morbidity. *Respir PhysiolNeurobiol* 2011; 178: 475-481.
10. Lavie L. Oxidative stress-a unifying paradigm in obstructive sleep apnea and comorbidities. *Prog Cardiovasc Dis* 2009; 51: 303-312.
11. Yuan G, Khan SA, Luo W et al. Hypoxia-inducible factor 1 mediates increased expression of NADPH oxidase-2 in response to intermittent hypoxia. *J CellPhysiol* 2011; 226: 2.925-2.933.
12. Asensio-Cruz MI, Calero-Acuña C, Arellano-Orden E et al. Differences in Overexpression of Hypoxia-induced Transcription Factors and Associated Biomarkers in Three Different Types of Chronic Hypoxia. *ArchBronconeumol*. 2021; 57(8): 555-556.
13. Prabhakar NR, Semenza GL. Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2. *Physiol Rev* 2012; 92: 967-1003.
14. Maltais F, Decramer M, Casaburi R et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: Update on limb muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014; 189: e15-62.
15. Tonini J, Michallet AS, Flore P et al. Effect of chronic intermittent hypoxia on exercise adaptations in healthy subjects. *Respir PhysiolNeurobiol*. 2011; 179: 287-293.