



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

UAB

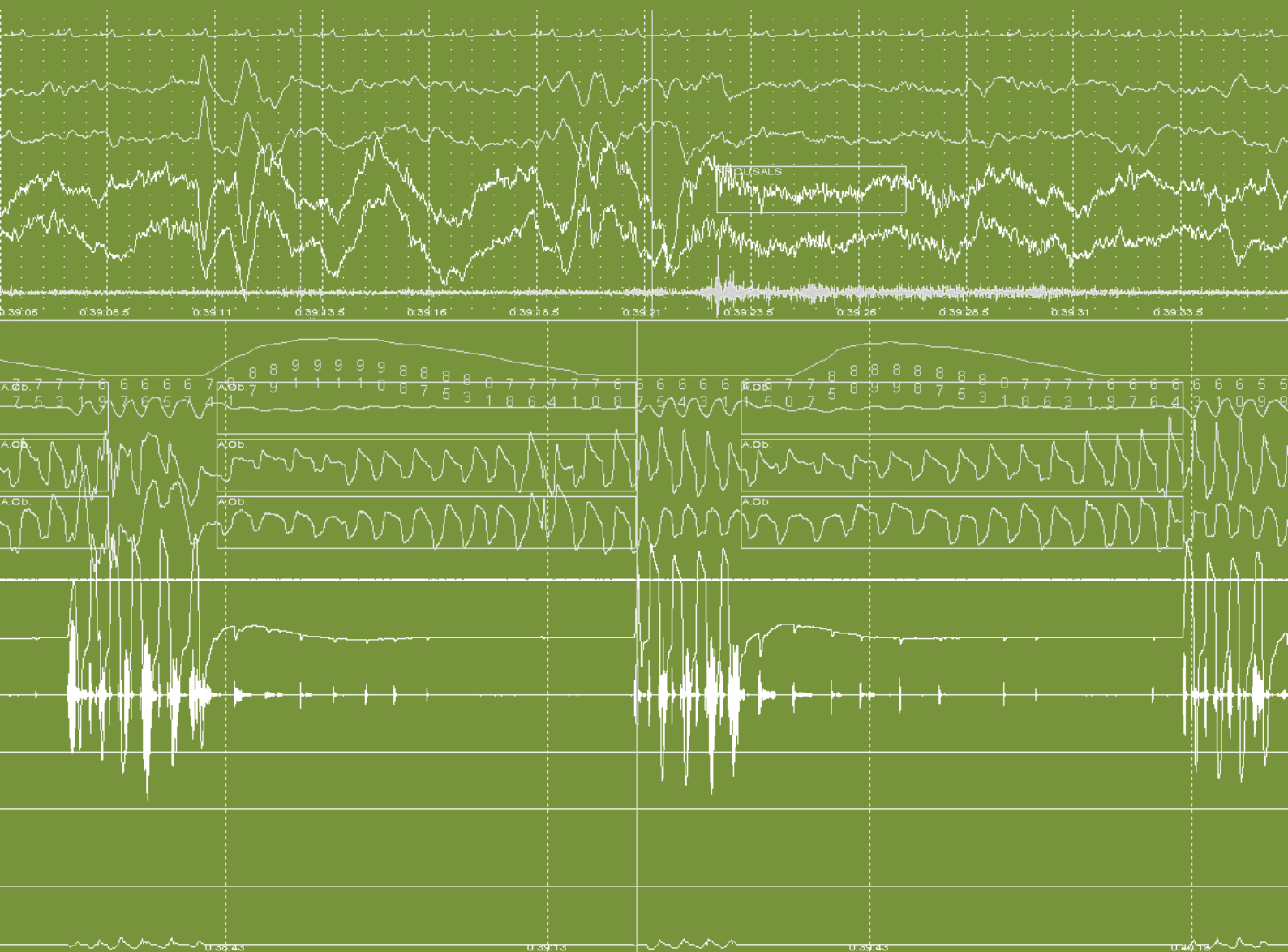
Universitat Autònoma
de Barcelona

TESI DOCTORAL

IMPACTE DE LA SÍNDROME D'APNEA DEL SON SOBRE EL METABOLISME GLUCÍDIC I LA SÍNDROME METABÒLICA EN L'OBESITAT MÒRBIDA

DOCTORANDA: NEUS SALORD I OLÈO
DIRECTORA DE LA TESI: MERCÈ MAYOS I PÉREZ

Barcelona 2015



TESI DOCTORAL

**IMPACTE DE LA SÍNDROME D'APNEA DEL SON SOBRE EL
METABOLISME GLUCÍDIC I LA SÍNDROME METABÒLICA EN
L'OBESITAT MÒRBIDA**

**DOCTORANDA: NEUS SALORD I OLÈO
DIRECTORA DE LA TESI: MERCÈ MAYOS I PÉREZ**

2015

Programa de Medicina Interna
Departament de Medicina
Facultat de Medicina



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Dedicada a en Vicent i a na Mar

Mon cor estima un arbre! Més vell que l'olivera
més poderós que el roure, més verd que el taronger,
conserva de ses fulles l'eterna primavera
i lluita amb les ventades que atupen la ribera,

que cruixen lo terror.

No guaita per ses fulles la flor enamorada;
no va la fontanella ses ombres a besar;
mes Déu unguí d'aroma sa testa consagrada
i li donà per terra l'esquerpa serralada,

per font la immensa mar.

Quan lluny, damunt les ones, reneix la llum divina,
no canta per ses branques l'aucell que encaptivam;
el crit sublim escolta de l'àguila marina
o del voltor qui puja sent l'ala gegantina

remoure son fullam.

Del llim d'aquesta terra sa vida no sustenta;
revincla per les roques sa poderosa rel;
té pluges i rosades i vents i llum ardenta,
i, com un vell profeta, rep vida i s'alimenta

de les amors del cel.

Arbre sublim! del geni n'és ell la viva imatge;
domina les muntanyes i aguaita l'infinit;
per ell la terra és dura, mes besa son ramatge
el cel que l'enamora, i té el llamp i l'oratge

per glòria i per delit.

Oh sí: que quan a lloure bramulen les ventades
i sembla entre l'escuma que tombi el seu penyal,
llavors ell riu i canta més fort que les onades
i, vencedor, espolsa damunt les nuvolades

sa cabellera real.

Arbre mon cor t'enveja. Sobre la terra impura,
com a penyora santa duré jo el teu record.
Lluitar constant i vèncer, regnar sobre l'altura
i alimentar-se i viure de cel i de llum pura...

Oh vida! oh noble sort!

Amunt ànima forta! Traspassa la boirada
i arrela dins l'altura com l'arbre dels penyals.
Veuràs caure a tes plantes la mar del món irada,
i tes cançons tranquil·les aniran per la ventada

com l'au dels temporals.

AGRAÏMENTS

En primer lloc agrair a la Dra. Mercè Mayos directora d'aquesta tesi per la confiança dipositada en mi fa anys. Per transmetre'm la seva passió per l'estudi de la patologia respiratòria durant el son, ensenyar-me i introduir-me en aquest món i haver tingut la paciència de guiar-me tots aquests anys per arribar a la finalització d'aquest treball de tesi doctoral. Per obrir-me l'interès per estudiar la patologia respiratòria del malalt obès amb les seves conseqüències, plantejar la primera pregunta clínica que va fer que formuléssim la hipòtesi de l'estudi i lluitar fins el final en els moments de desànim per treure el màxim suc a aquest treball.

A la Dra. Carme Monasterio amb qui he compartit aquests darrers 9 anys de professió i de qui he tingut la sort de seguir aprenent. Per ser inconformista, lluitadora i treballadora incansable. Pel suport a l'hora d'iniciar l'estudi de l'impacte de l'apnea-hipopnea del son en el metabolisme glucídic i la síndrome metabòlica dels pacients amb obesitat mòrbida. Per la seves aportacions, idees i lectura crítica que ha fet possible que aquest treball tirés endavant.

A la Dra. Mercè Gasa, que es va apuntar al nostre tren quan el projecte just començava i que ha aportat el seu treball rigorós i dedicació gràcies als quals vam poder finalitzar amb èxit una recollida de dades exhaustiva i una primera part de l'estudi.

Al personal de la unitat de son de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau: la Rosita Miralda, la Ariadna Farrè, la Montse Carreras i la Fátima Morante per ensenyar-me tant habilitats tècniques i clíniques com humanes, diferents aspectes indispensables per atendre i entendre els malalts amb patologia del son. Per participar en les proves i seguiment de gran part dels malalts d'aquest estudi. Finalment, gràcies per la vostra estima.

Al personal de la unitat de son de l'Hospital Universitari de Bellvitge: Neus Martí, Tomàs Brinquis, Pilar Garriga, Sandra Pèrez, Maria Calvo, Carme Rodríguez perquè sense vosaltres no hagués sigut possible aquest estudi. Per participar en les proves i seguiment de gran part d'aquest malalts. Per la vostra bona feina. A tots, junt amb les noves incorporacions Cinta i Eliseo, gràcies per formar part d'aquest gran equip que és la Unitat d'Estudis Respiratoris del Son de l'Hospital

Universitari de Bellvitge. Gràcies per la vostra companyonia i per fer el dia a dia més fàcil sempre amb alegria.

Al Dr. Jordi Dorca per dipositar la seva confiança en mi, per fer possible que es portés a terme aquest treball al Servei de Pneumologia de l'Hospital Universitari de Bellvitge, per animar-me sempre a no deixar deures pendents i encoratjar-me per a finalitzar aquest treball de tesi doctoral.

Al Dr. Josep M. Montserrat cap de la Unitat del Son del Hospital Clínic, per ser sempre catalitzador d'idees, compartir generosament el seu coneixement en cada reunió formulant sempre noves preguntes que contestar, deixar-nos participar de molts dels seus projectes i connectar-nos amb altres investigadors.

A la Dra. Marisa Bonsignore de Palermo, de qui he tingut el plaer d'aprendre en l'escriptura científica dels articles que han sortit d'aquest estudi, i m'ha aportat una visió global i actualitzada de les alteracions metabòliques associades a la síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son.

A la Dra. Núria Vilarrasa i Dr. Toni Perez endocrinòlegs de l'Hospital Universitari de Bellvitge i del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, per estar sempre disponibles i assessorar-nos en un món inicialment desconegut per nosaltres i del que tant hem après aquests darrers anys. A tot l'equip multidisciplinari d'obesitat mòrbida (dietistes, endocrinòlegs, cirurgians, psiquiatres...) que han fet possible aquest estudi amb el seu treball. Finalment, gràcies als malalts amb obesitat mòrbida que han participat pacientment en el transcurs de l'estudi.

A la Dra. Ana Fortuna (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau), Dr. Ferran Barbé (Hospital Arnau de Vilanova; Lleida), Dra. Antònia Barceló (Hospital de son Espases, Palma) i Manuel Sánchez de la Torre (Hospital Arnau de Vilanova; Lleida) que han participat amb diferents parts de l'estudi per les seves aportacions i el seu suport.

A les meues companyes de residència i sobretot amigues Laura, Karina, Carme i Ana per aprendre juntes i compartir grans moments del meus inicis com a pneumòloga i també de la meua vida personal ...i sobretot per riure sempre juntes.

A n'Àngels, na Sandra i na Joana pel seu suport i la seua amistat que es manté intacta malgrat la distància i els anys. Gràcies als qui s'han anat sumant tots aquests anys Luis, Teo, Gabi, Sebas, Lito, Enric, Àngela, Kàtia, Manel... gràcies a tots pel vostre suport i per compartir grans moments.

A mon pare i ma mare, en Carles i n'Elena, per posar la llavor de qui som, per ensenyar-me a ser lluitadora, perseverant, crítica, a cercar el meu propi camí.... i sobretot per la seua estima incondicional.

A les meues germanes i millors amigues na Rosa, na Núria i na Francina, que m'heu acompanyat sempre, i tot i ser a vegades enfora tinc sempre la certesa que sou a prop meu. A n'Igor i na Francina gràcies per la vostra generositat, per compartir els grans moments aquests darrers anys, haver viscut les primeres ecografies de na Mar, els dinars de família, compartir amics i recolzar-me en moments no tant bons.

A en Vicent, el meu company de tots aquest anys, per creure en mi en moments en que jo ja no hi creia, per recolzar-me sempre incondicionalment en tots ets meus projectes. Sense ell aquesta tesi no hagués estat possible. Gràcies per compartir una manera d'entendre la vida, emprendre amb jo els projectes vitals més importants, per la teva generositat i sobretot pel teu amor incondicional.

I finalment, gràcies a na Mar per donar-nos una alenada d'aire fresc a les nostres vides i il·luminar el nostre dia a dia amb la seua alegria desbordant.

PRESENTACIÓ

Aquesta Tesi doctoral s'emmarca dins de l'estudi SYBILA portat a terme per un equip multidisciplinari de les unitats de son de tres centres de la província de Barcelona: l'Hospital Universitari de Bellvitge, l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i l'Hospital Clínic i Provincial de Barcelona.

L'objectiu de l'estudi va ser avaluar la relació entre la síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son (SAHS) i la disfunció metabòlica, a través del model extrem que suposen els pacients amb obesitat mòrbida amb una elevada prevalença de disfunció metabòlica i també de la SAHS.

La presentació d'aquesta tesi es realitza en forma de compendi de publicacions de dos articles publicats en revistes internacionals de l'àmbit de la medicina del son i de la medicina respiratòria segons la normativa vigent de la Universitat Autònoma de Barcelona (RD 1393/2007 aprovada en junta de govern 2 març 2011) i pretén aprofundir en la fisiopatologia que regeix la relació entre la SAHS, la síndrome metabòlica i l'obesitat, així com l'efecte del tractament amb pressió positiva a la via aèria sobre la disfunció metabòlica en pacients amb SAHS greu.

L'estudi a on es descriuen les característiques basals de la població analitzada, i que va ser publicat pel nostre grup en el *European Respiratory Journal* en el 2011, no està inclòs en la presentació de la actual tesi però donada la seva relació amb els resultats exposats s'inclou en els annexos.

PUBLICACIONS QUE COMPOSEN LA TESI DOCTORAL

1. **Salord N.**, Gasa M., Mayos M., Fortuna-Gutierrez A. M., Montserrat J. M., Sánchez-de-la-Torre M., Barceló A., Barbé F., Vilarrasa N., Monasterio C.. Impact of OSA on biological markers in morbid obesity and metabolic syndrome. *J Clin Sleep Med.* 2014;10(3):263-70.

2. **Salord N.**, Fortuna A. M., Monasterio C., Gasa M., Pérez A., Bonsignore M. R., Vilarrasa N., Montserrat J. M., Mayos M. A Randomized Controlled Trial of Continuous Positive Airway Pressure on Glucose Tolerance in Obese Patients with Obstructive Sleep Apnea.*Sleep.* 2015 Aug 31. pii: sp-00651-14. [Epub ahead of print]

PUBLICACIÓ RELACIONADA

ANNEX 1

1. Gasa M., **Salord N.**, Fortuna A. M., Mayos M., Vilarrasa N., Dorca J., Montserrat J. M., Bonsignore M. R., Monasterio C. Obstructive sleep apnoea and metabolic impairment in severe obesity.*Eur Respir J.* 2011;38(5):1089-97.

LLISTAT D'ABREVIATURES

CPAP	Pressió positiva contínua a la via aèria
c-HDL	Colesterol lligat a lipoproteïnes d'elevada densitat
c-LDL	Colesterol lligat a lipoproteïnes de baixa densitat
c-VLDL	Colesterol lligat a lipoproteïnes de molt baixa densitat
DC	Diàmetre de la cintura
DMT2	Diabetis Mellitus tipus 2
FFA	Àcids grassos lliures (de l'anglès free fatty acids)
NF-kB	Factor nuclear factor kappa
FPG	Glucosa basal en dejú (de l'anglès fasting plasma glucose)
HOMA-IR	De l'anglès Homeostatic model assessment index of insulin resistance
HI	Hipòxia intermitent
HbA1c	Hemoglobina glicosilada A1c
IAH	Índex d'apnea-hipopnea
ID	Índex de dessaturació
IFG	Glucosa en dejú alterada (de l'anglès Impaired fasting glucose)
IGT	Intolerància a la glucosa (de l'anglès Impaired glucose tolerance)
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índex de massa corporal
IPR	Índex de pertorbació respiratòria
ISI	Índex de sensibilitat a la insulina
NAFLD	Esteatosi hepàtica d'origen no alcohòlic (de l'anglès non alcoholic fatty liver disease)
NASH	Esteatohepatitis no alcohòlica (de l'anglès non alcoholic steatohepatitis)
NCEP-ATP III	De l'anglès National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III
SAHS	Síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son
sCD40L	Lligand soluble del CD40
SpO ₂	Saturació arterial d'oxihemoglobina per pulsioximetria
SMet	Síndrome Metabòlica
TAC	Tomografia axial computeritzada
TC	Tractament conservador
TG	Triglicèrids
TNF- α	Factor de necrosi tumoral α
TTOG	Test de tolerància oral a la glucosa
VEGF	Factor de creixement vascular endotelial

ÍNDEX GENERAL

1. INTRODUCCIÓ.....	31
1.1. Revisió històrica i definició de la síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son (SAHS).....	33
1.2. Epidemiologia i factors de risc de la SAHS.....	34
1.3. Tractament de la SAHS.....	36
1.4. La SAHS i l'obesitat: una relació bidireccional.....	37
1.5. La SAHS i la síndrome metabòlica.....	38
1.5.1. Associació entre la SAHS i la síndrome metabòlica.....	42
1.5.2. Efecte del tractament amb pressió positiva contínua a la via aèria (CPAP) sobre la síndrome metabòlica.....	43
1.6. La SAHS i les alteracions del metabolisme lipídic.....	44
1.6.1. Associació entre la SAHS i el metabolisme lipídic.....	44
1.6.2. Efecte del tractament amb CPAP sobre la dislipèmia.....	45
1.7. La SAHS i l'esteatosi hepàtica no alcohòlica.....	46
1.8. La SAHS i les alteracions del metabolisme glucídic.....	48
1.8.1. Associació entre la SAHS i la intolerància a la glucosa/insulinorresistència.....	49
1.8.2. Associació entre la SAHS i la diabetis mellitus tipus 2.....	51
1.8.3. Associació entre la SAHS i la incidència de la diabetis mellitus tipus 2.....	52
1.8.4. Efecte de la SAHS sobre el control glicèmic dels pacients amb diabetis mellitus tipus 2.....	53
1.8.5. Efecte del tractament amb CPAP sobre el metabolisme glucídic.....	54
1.8.5.1. Efecte del tractament amb CPAP sobre la prediabetis.....	55
1.8.5.2. Efecte del tractament amb CPAP sobre la diabetis tipus 2 i el seu control.....	56
1.9. Mecanismes fisiopatològics de la SAHS en el desenvolupament de les alteracions del metabolisme glucídic.....	57
1.9.1. Efectes de la privació i fragmentació del son sobre el metabolisme glucídic.....	58
1.9.2. Efectes de la hipòxia intermitent sobre el metabolisme glucídic.....	60
1.9.2.1. Efectes sistèmics de la hipòxia intermitent: Activació simpàtica, inflamació sistèmica i estrès oxidatiu.....	60
1.9.2.2. Efecte de la hipòxia intermitent sobre els òrgans diana.....	61

1.9.2.2.1. Efecte de la hipòxia intermitent sobre el fetge.....	62
1.9.2.2.2. Efecte de la hipòxia intermitent sobre el pàncrees..	63
1.9.2.2.3. Efecte de la hipòxia intermitent sobre el múscul..	64
1.9.2.2.4. Efecte de la hipòxia intermitent sobre el teixit adipós	64
2. JUSTIFICACIÓ DE L'ESTUDI.....	69
3. HIPÒTESI DE L'ESTUDI.....	77
3.1. Hipòtesi comuna dels estudis de la tesi.....	79
3.2. Hipòtesi de l'estudi 1.....	79
3.2. Hipòtesi de l'estudi 2.....	79
4. OBJECTIUS CONCRETS.....	81
4.1. Objectius de l'estudi 1.....	83
4.2. Objectius de l'estudi 2.....	83
5. ESTUDIS PUBLICATS.....	85
6. RESULTATS.....	89
6.1. Article 1.....	91
6.2. Resum dels resultats de l'article 1.....	101
6.3. Article 2.....	102
6.4. Resum dels resultats de l'article 2.....	112
7. DISCUSIÓ CONJUNTA.....	115
8. CONCLUSIONS.....	125
9. REFERÈNCIES.....	129
10. ANNEX 1.....	159

INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Revisió històrica i definició de la síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son (SAHS)

Encara que ja existeixen referències en la literatura clàssica,¹ Charles Dickens a la novel·la *The Posthumous Papers of the Pickwick club* al 1837 va descriure detalladament Jack, un personatge “formós i gras” que molt probablement patia les conseqüències d'una síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son (SAHS), ja que tal i com es retratava a la novel·la clàssica, roncava fortament, tenia una cara pletòrica amb edemes perifèrics, alternava períodes de son amb menjar, i segons Dickens, tenia una percepció en general disminuïda. Una clara representació de les conseqüències d'una SAHS greu, amb excessiva somnolència diürna, *cor pulmonale* i deterior cognitiu.²

És per aquest motiu que en descripcions clíniques posteriors, es va utilitzar el terme de la síndrome de Pickwick, en que conflueixen, el que avui en dia considerem, dues patologies clarament diferenciades però que comparteixen característiques clíniques comunes com son la SAHS i la síndrome d'obesitat hipoventilació. No va ser, però, fins 1956 quan Burwell va descriure com a síndrome de Pickwick l'associació d'hipercàpnia diürna, obesitat mòrbida, somnolència diürna, cianosi, policitemia i *cor pulmonale*³ i que actualment coneixem com a síndrome d'obesitat hipoventilació. Finalment al 1976 Guilleminault va redefinir i ampliar el que actualment coneixem com la síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son incloent també la seva ocurrència en pacients no obesos i per tant diferenciant-la de la síndrome d'obesitat hipoventilació.⁴

A pesar de que aquesta descripció clínica i fisiopatològica és recent, actualment es considera una de les malalties respiratòries més prevalents⁵ a la nostra pràctica clínica diària a poca distància de la malaltia pulmonar obstructiva crònica.⁶ Més enllà de les seves conseqüències clíniques immediates, en les darreres dècades s'ha demostrat que la SAHS és un factor que contribueix independentment a les malalties cardiovasculars,⁷ en especial a la hipertensió,⁸ les metabòliques com la diabetis mellitus⁹ i a les cerebrovasculars.¹⁰ És, per tant, per

les seves vastes conseqüències, cada vegada més abordada per diferents especialitats mèdiques conferint-li un creixent interès multidisciplinari i de salut pública.

Aquest fet es recull a la darrera definició que es va publicar a l'any 2005 per la Societat Espanyola de Pneumologia i Cirurgia Toràcica (SEPAR) fruit del consens de 17 societats científiques. Es considera la SAHS com un quadre de somnolència excessiva, trastorns cognitivoconductuals, respiratoris, cardíacs, metabòlics o inflamatoris secundaris a episodis repetits d'obstrucció de la via aèria superior durant el son.¹¹ A més, aquests episodis es mesuren amb l'índex de apnea-hipopnea del son (IAH). Un IAH major de 5 associat a símptomes relacionats amb la malaltia i no explicats per altres causes, es considera diagnòstic de SAHS.¹¹

1.2. Epidemiologia i factors de risc de la SAHS

La síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son és una malaltia molt prevalent que afecta entre el 4 i 6% dels homes i entre el 2 i 4% de les dones de la població adulta, encara que es considera que aproximadament el 24% dels homes i el 9% de les dones en la població general presenten un trastorn respiratori durant el son amb o sense clínica associada, la qual cosa suposa un problema de salut pública i comporta un elevat cost econòmic.^{5,12,13}

La SAHS es caracteritza per la presència durant el son d'episodis repetits de col·lapse total (apnees) o parcial (hipopnees) de la via aèria superior. Aquests episodis s'acompanyen de dessaturacions cícliques nocturnes que suposen episodis d'hipòxia i reoxigenació (hipòxia intermitent), augment d'activitat simpàtica i canvis de pressió intrapleural.¹⁴ La hipòxia intermitent i l'augment de l'activitat simpàtica afavoriran l'activació de vies fisiopatogèniques intermediàries (inflamació sistèmica, estrès oxidatiu, alliberació d'àcids grassos lliures, disfunció endotelial i hipercoagulabilitat) que secundàriament produiran un augment de l'aterogènesi,¹⁴ el substrat fisiopatològic per al desenvolupament d'hipertensió arterial,⁸ malaltia cardiovascular,⁷ malaltia cerebrovascular,¹⁰ síndrome metabòlica,¹⁵ l'augment de la mortalitat per causes cardiovasculars i l'augment de la mortalitat global.¹⁶ Paral·lelament, i com a conseqüència dels events respiratoris nocturns, es

produiran despertars corticals transitoris (*arousals*) que fragmentaran l'estructura del son, produint un son no reparador, desenvolupant la característica somnolència diürna, alteració de les funcions cognitives, deteriorament de la qualitat de via i augment del risc de patir accidents de trànsit.¹⁷⁻¹⁹

Els principals factors de risc que predisposen al desenvolupament de la SAHS a l'edat adulta son l'edat, el gènere masculí i l'obesitat. L'obesitat incrementa directament el risc de col·lapse de la via aèria afavorit pel dipòsit de greix a la mateixa. Altres mecanismes relacionats son la disminució dels volums pulmonars secundàriament al dipòsit de greix visceral, la modificació dels mecanismes neurals compensatoris i la inestabilitat del centre respiratori (veure figura 1).²⁰

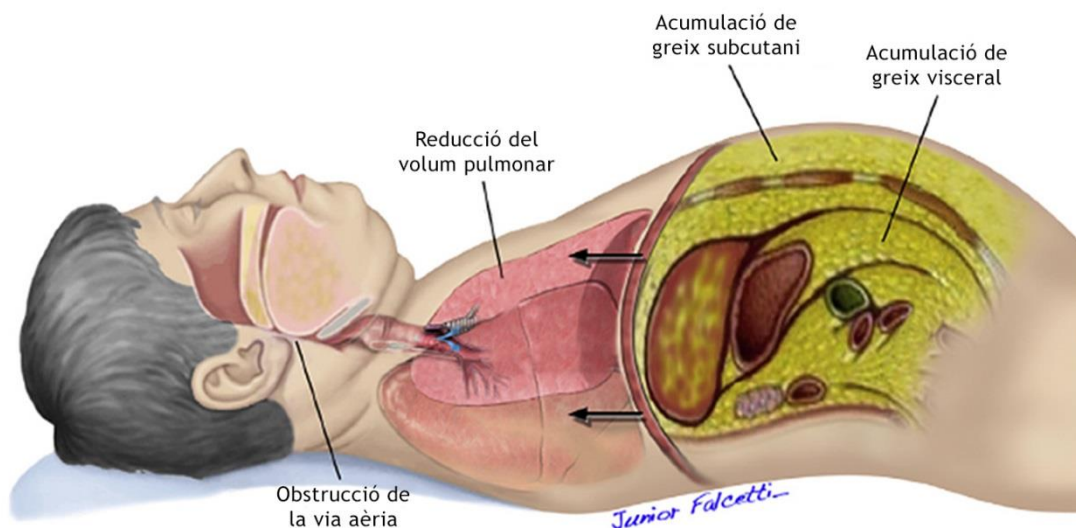


Figura 1. Factors anatòmics que predisposen als obesos a la SAHS.

No queda clar encara perquè els homes tenen més risc de desenvolupar la SAHS, es creu que principalment es deu a la major tendència a patir una distribució central del greix quan guanyen pes, la qual cosa afavoriria el dipòsit de greix a nivell de la via aèria i també produiria una disminució dels volums pulmonars.²¹ Addicionalment, hi ha estudis que indiquen que els homes tenen una via aèria més allargada i per tant amb més propensió al col·lapse.²² S'ha observat per altra banda que les dones tenen una millor resposta del centre respiratori enfront de càrregues resistives (major ventilació minut durant càrregues inspiratòries resistives).²³ L'edat avançada n'és un altre important factor de risc pel

desenvolupament de la SAHS. Es creu que la gent gran té una major tendència al col·lapse de la via aèria per la pèrdua de l'elasticitat tant de la via aèria com del pulmó, tenint en conseqüència uns volums pulmonars menors. La gent gran pot tenir també disminuït el llindar d'arousal, produït per una pitjor qualitat de son, i probablement també tenen per una menor eficiència dels músculs dilatadors de la via aèria.²⁴⁻²⁷

Altres factors de risc per al desenvolupament de la apnea del son de tipus ètnics, genètics, alteracions anatòmiques craniofacials, la menopausa en les dones i, finalment, la SAHS també s'ha associat a tabaquisme per mecanismes que no es coneixen amb exactitud.²⁷

1.3. Tractament de la SAHS

El tractament amb pressió positiva contínua a la via aèria (CPAP) és el tractament d'elecció per la SAHS greu o simptomàtica. Va ser descrita per primera vegada l'any 1981.²⁸ Aplicada per via nasal, la pressió positiva a la via aèria produeix un increment de la pressió intraluminal a la via aèria que contraresta les forces d'oclusió, també incrementa el volum pulmonar al final de l'inspiració, estabilitzant d'aquesta manera la tracció caudal del pulmó. El tractament amb CPAP ha demostrat que és cost-efectiva quan es tenen en compte els beneficis neurocognitius i cardiovasculars.²⁹ La adherència a la CPAP oscil·la entre el 60 i 70%, que és semblant al d'altres tractaments crònics.³⁰

L'objectiu del tractament amb la CPAP serà evitar el col·lapse de la via aèria superior, eliminar, per tant, els esdeveniments respiratoris nocturns, la dessaturació arterial nocturna, normalitzar l'IAH, l'eficiència i estructura del son i, en conseqüència, millorar la simptomatologia secundària, la qualitat de son i també la qualitat de vida.²⁹

La darrera normativa de la SEPAR estableix la indicació de tractament amb CPAP en pacients amb SAHS greu (IAH>30) o una SAHS moderada (IAH 15-29,9) en cas d'haver-hi símptomes o comorbiditat associada. En els pacients amb SAHS lleu i en els pacients amb SAHS moderada sense símptomes ni comorbiditat es recomana fer una valoració individualitzada, ja que hi ha evidència que tenir un

IAH>15 suposa un increment del risc cardiovascular independent dels símptomes.³¹ Actualment les alternatives de tractament a la CPAP inclouen la teràpia posicional i els dispositius d'avançament mandibular. Les mesures higienicodietètiques estan indicades a tot pacient amb SAHS independentment de la gravetat.³¹

1.4. La SAHS i l'obesitat: una relació bidireccional

Tal i com s'ha comentat al segon apartat d'aquesta introducció, l'obesitat és el principal factor de risc per al desenvolupament de la SAHS.²⁰ Estudis poblacionals longitudinals han estimat que la incidència de la SAHS es multiplica per 6 quan s'incrementa un 10% del pes en comparació en subjectes amb pes estable i, per altra banda, la pèrdua del 10% de pes pot reduir fins a un 26% l'IAH inicial.³² Fins el 70% dels pacients amb SAHS tenen obesitat, que normalment és una obesitat de distribució central, es a dir, amb acumulació de greix a nivell abdominal i cervical.³³ Es postula que aquesta distribució del greix suposa una major càrrega mecànica sobre el sistema respiratori, augmentant la pressió tissular sobre la via aèria, disminuint el volum pulmonar i la tracció caudal de la tràquea el que afavoreix el col·lapse de la via aèria superior. Addicionalment a través de la secreció de certes adipocines com la leptina, l'obesitat pot inestabilitzar el control del centre respiratori.²⁰ L'estreta relació entre l'acumulació de greix visceral i la SAHS va ser descrita per Vogonzas *et al.*, que van detectar que la quantitat de greix visceral mesurat per tomografia axial computeritzada (TAC) abdominal, tenia una millor correlació que l'índex de massa corporal (IMC) amb les diferents mesures de severitat de la SAHS com l'IAH i la hipòxia intermitent.³⁴

Per altra banda, es possible que la SAHS per si mateixa pugui predisposar a l'obesitat i empitjorar les seves conseqüències. Estudis epidemiològics prospectius han demostrat que la disminució de les hores de son, un dels efectes de la SAHS, pot predisposar al desenvolupament de l'obesitat.³⁵ S'ha demostrat que els pacients diagnosticats de SAHS tenen una major dificultat per a perdre pes respecte a pacients sense SAHS amb el mateix grau d'obesitat.³⁶ Una possible explicació és que la somnolència i el cansament, símptomes freqüents en la SAHS, s'associen a una reducció de l'activitat física i, per tant a una reducció de la despesa energètica.³⁷ Un efecte clau en aquesta relació, és la resposta del teixit

visceral al tractament de la SAHS. Existeixen estudis positius que van observar una disminució significativa del greix visceral després del tractament amb CPAP.^{38,39} Malauradament, aquestes dades no s'han pogut confirmar posteriorment per estudis controlats aleatoritzats. Hoyos *et al.* en estudi aleatoritzat amb sham-CPAP, un sistema de CPAP infraterapèutic utilitzat com a control, no van observar canvis a les 12 setmanes sobre el greix visceral ni perihepàtic mesurat per TAC abdominal.⁴⁰ Dos estudis més aleatoritzats controlats fets amb posterioritat,^{41,42} tampoc varen poder demostrar canvis amb el tractament amb CPAP sobre el greix intraabdominal mesurant per ressonància magnètica nuclear i TAC abdominal.

En relació aquest efecte bidireccional SAHS-Obesitat, en les darreres dècades s'ha demostrat que la SAHS té un efecte negatiu sobre els diferents aspectes del metabolisme i que comparteix moltes de les vies per les quals l'obesitat i, en concret, l'obesitat visceral provoca alteracions metabòliques. Aquestes alteracions es revisen en els apartats següents d'aquesta introducció. Un fet clau en la majoria de treballs que investiguen la relació entre la SAHS i les anomalies metabòliques consisteix a controlar els resultats ajustant-los pel grau d'obesitat o excloent als pacients obesos. En aquest treball de tesi doctoral hem optat per estudiar una població extrema en que hi ha un elevat risc de patir tant la SAHS com les diferents alteracions metabòliques secundàries a l'obesitat.

1.5. La SAHS i la síndrome metabòlica

La síndrome metabòlica (SMet) constitueix una constel·lació de diferents factors metabòlics i antropomètrics reconeguts com a factors de risc cardiovasculars. Segons la darrera definició de la *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel* (<NCEP-ATP) III, la SMet es diagnostica quan, com a mínim, es compleixen tres dels criteris següents: augment de la circumferència de la cintura com a indicador d'obesitat central, augment de la tensió arterial, hiperglucèmia en dejú, hipertriglicèridemia i disminució de colesterol unit a proteïnes de baixa densitat (c-HDL).⁴³ La definició de la SMet no ha estat exempta de polèmica, sobretot per la manca d'una unitat fisiopatogènica entre els diferents factors que la defineixen.⁴⁴ Però de fet, la presència de la SMet augmenta la incidència de malaltia cardiovascular i diabetis mellitus independentment del

gènere i augmenta tant la mortalitat global com la produïda per causa cardiovascular.⁴⁵⁻⁴⁷ Addicionalment, s'ha associat un augment de risc cardiovascular progressiu en incrementar-se el nombre de components de la SMet.⁴⁸ La SMet és, per tant, una eina útil clínicament, ja que proporciona d'una manera ràpida i amb dades fàcilment accessibles (dades antropomètriques i les obtingudes amb una anàlisi estàndard) una aproximació del risc cardiometabòlic tant en la població general com en poblacions especialment susceptibles amb factors de risc cardiovasculars o en poblacions amb obesitat. Existeixen diferents definicions de la SMet (veure taula 1).⁴³ Aquest fet explica algunes diferències de prevalença entre publicacions, que oscil·len entre el 8% de l'Índia, i el 24% dels EEUU en homes i del 7% a França al 43% de Itàlia en dones.⁴⁹ Però, una dada consistent en la literatura és que la SMet està creixent paral·lelament a la actual epidèmia d'obesitat, independentment del continent i l'ètnia.⁴⁹ La definició de la NCEP-ATP III és actualment la més utilitzada per ser la més simple i de més fàcil aplicació.

TAULA 1. DEFINICIONS DE LA SÍNDROME METABÒLICA

	Organització mundial de la salut 1999	Grup europeu per a l'estudi de la insulinoresistència 1999	NCEP-ATP III 2009	Federació internacional per a la diabetis 2005
	Diabetis, intolerància a la glucosa o insulinoresistència i dos o més dels criteris:	Insulinoresistència en pacients no diabètics i dos o més dels criteris:	Tres o més dels criteris:	Circumferència de la cintura específica per l'ètnia i dos o més dels criteris següents:
Criteri d'obesitat	IMC > 30 kg/m ² o Índex cintura/maluc >0,9 homes >0,85 dones	Circumferència cintura: >94 cm homes >80 cm dones	Circumferència cintura (s'ajusta per ètnia): >94 cm homes >80 cm dones	
Glucosa basal dejú		≥6,1 mmol/L	≥5,6 mmol/L o ús de medicació	≥5,6 mmol/L o diabetis
Triglicèrids	>1,7 mmol/L	>2 mmol/L	>1,7 mmol/L o medicació	>1,7 mmol/L o medicació
Colesterol HDL	<0,9 mmol/L homes <1,0 mmol/L dones	<1,0 mmol/L	<1,0 mmol/L homes <1,3 mmol/L dones o medicació	<1,03 mmol/L homes <1,29 mmol/L dones o medicació
Pressió arterial	≥140/90 mm Hg o medicació	≥140/90 mm Hg o medicació	≥130/85 mm Hg o medicació	≥130/85 mm Hg o medicació
Addicionals	Secreció d'albumina: ≥20 mcg/min o Rati albumina/creatinina: ≥30 mg/g			

NCEP-ATP III: *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III*

A pesar que no hi ha un acord amb la base fisiopatològica d'aquesta síndrome, és considera l'obesitat visceral i la insulinoresistència com els seus eixos vertebradors.⁵⁰ Es creu que el greix visceral juga un paper crucial a través de l'alliberació dels àcids grassos lliures (FFA) i angiotensina II. A nivell del fetge, els FFA produiran un increment de la producció de glucosa, triglicèrids i la secreció de lipoproteïnes de molt baixa densitat. Els FFA també reduiran la sensibilitat a la insulina a nivell muscular, inhibint la recaptació de la glucosa mediada per la insulina.⁵¹ Paral·lelament es disminuirà la producció de glicogen i per tant es produirà acumulació intramuscular de triglicèrids. L'excés de glucosa, FFA i angiotensina tindrà efectes tòxics directes a nivell de les cèl·lules β pancreàtiques produint hiperinsulinèmia i per tant la insulinoresistència.⁵² Addicionalment, la hiperinsulinèmia pot contribuir directament a la hipertensió augmentant la reabsorció de sodi i incrementat el to simpàtic (veure figura 2A).^{53,54}

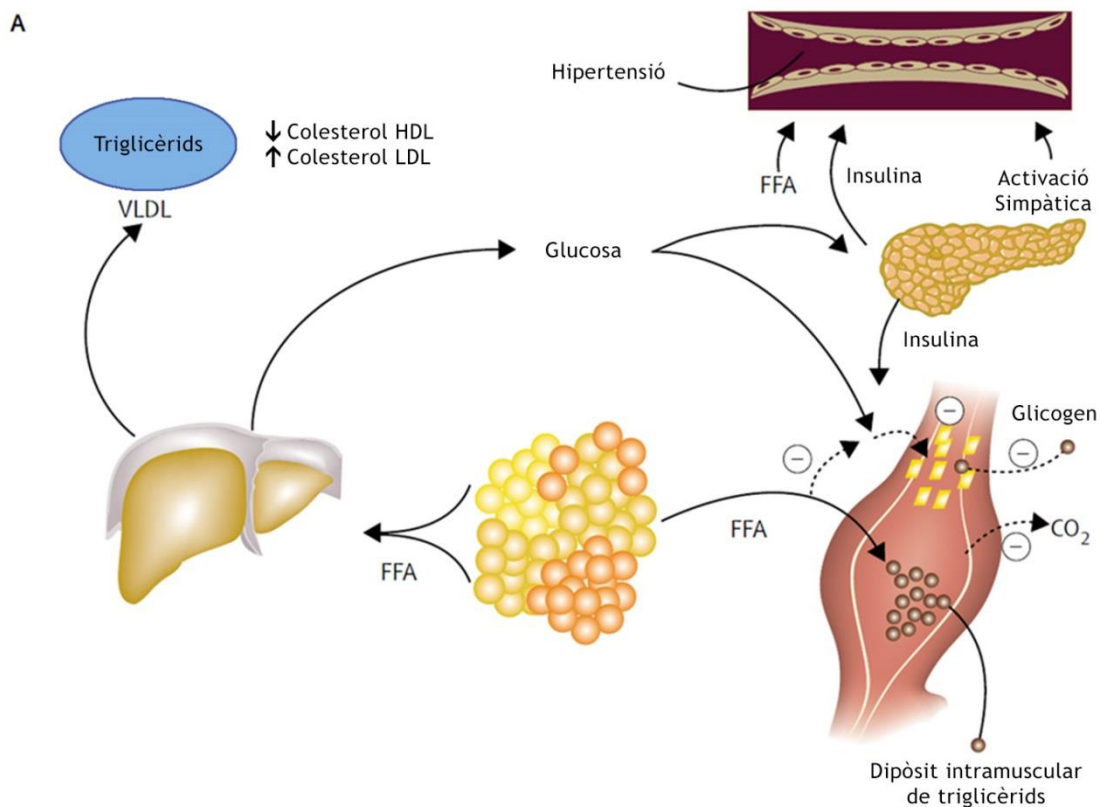


Figura 2A. Mecanismes que regeixen les alteracions metabòliques en la SMet: Els àcids grassos lliures (FFA) alliberats del teixit adipós i el seu efecte en diferents òrgans. Factors anatòmics que predisposen als obesos a la SMet.

A tots aquests mecanismes s'hi sumarà l'efecte endocrí i paracrí proinflamatori produït pel mateix teixit adipós (veure figura 2B). La producció per part dels adipòcits i els macròfags derivats dels monòcits existents en el mateix teixit adipós de Interleucina 6 (IL-6) i el factors de necrosi tumoral alfa (TNF- α) entre altres, produiran més insulinoresistència i lipòlisi dels triglicèrids emmagatzemats al teixit adipós, incrementant per tant, els FFA circulants. La IL-6 junt a altres citocines, pot estimular també la producció de glucosa hepàtica i de colesterol lligat a proteïnes de molt baixa densitat (c-VLDL), afavorint també la insulinoresistència a nivell muscular.⁵⁵ Paral·lelament, les citocines i els FFA estimularan la producció hepàtica de fibrinogen i de l'activador de l'inhibidor 1 del plasminogen afavorint un estat protrombòtic. Addicionalment s'ha associat la síndrome metabòlica a la reducció d'adiponectina, una hormona amb efecte antiinflamatori i potenciadora de la sensibilitat a la insulina, que podria contribuir per tant a la fisiopatologia de la síndrome.⁵⁶

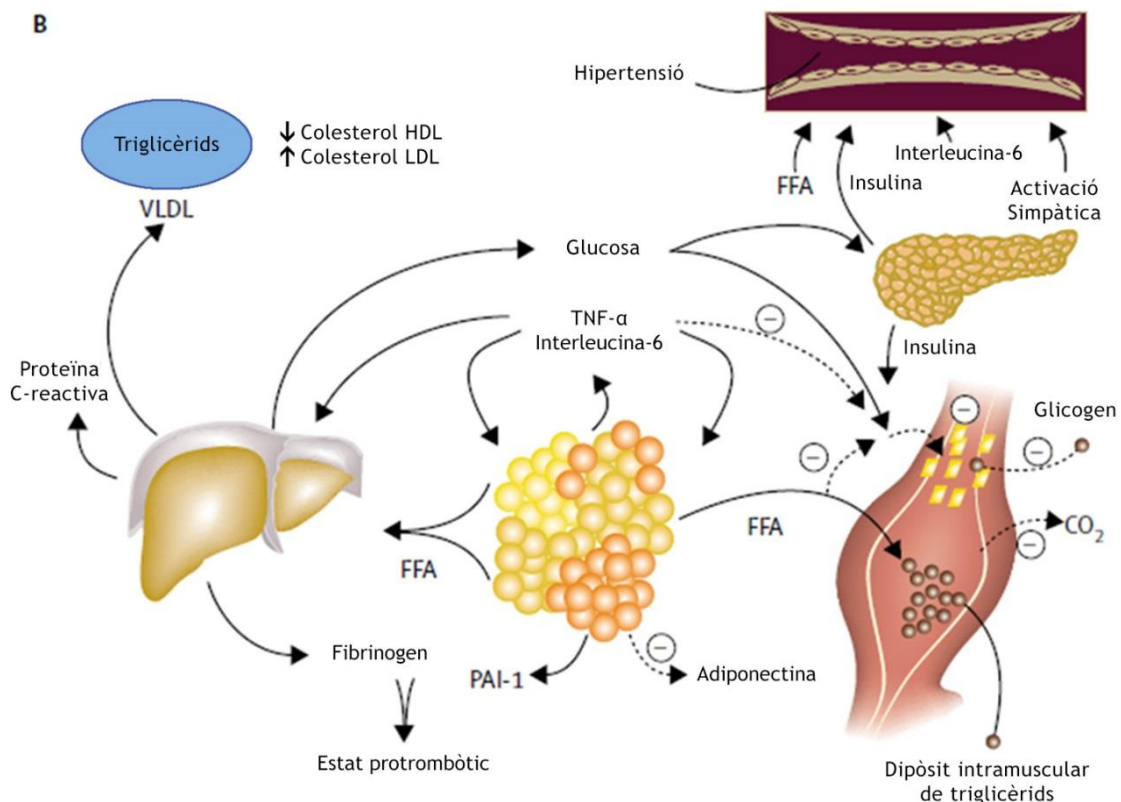


Figura 2B. Mecanismes que regeixen les alteracions metabòliques en la SMet: Esquema de l'efecte sobreposat de l'estat proinflamatori sobre la insulinoresistència produïda pels FFA.

1.5.1. Associació entre la SAHS i la síndrome metabòlica

La síndrome metabòlica és molt prevalent en els pacients amb SAHS amb percentatges que varien entre el 42% i el 87%.^{57,15} La coexistència de les dues entitats és tan freqüent que al final dels anys 90 es va proposar que la SAHS podria formar part de la SMet en el que es va anomenar com la síndrome Z.⁵⁸ L'associació entre les dues entitats s'ha avaluat en grans estudis poblacionals,⁵⁹⁻⁶¹ estudis transversals^{15,62,63} i corroborat per estudis de cohorts⁶⁴ que han demostrat una associació consistent independentment de l'ètnia i del continent. Una de les principals preocupacions d'aquests estudis ha sigut controlar el possible efecte confusor de l'obesitat en aquesta relació. Tal i com s'ha desenvolupat a l'apartat anterior, tant l'obesitat com la resistència a la insulina són els principals determinants del desenvolupament de la SMet. Però, a més, l'obesitat també es considera el principal factor de risc pel desenvolupament de la SAHS. Per aquest motiu en els estudis mencionats s'ha fet un esforç especial per controlar l'efecte confusor de l'obesitat, i ho han fet ajustant aquesta associació per l'IMC^{60,15,64} pel perímetre de cintura⁶² o per l'índex de cintura-maluc.⁶¹ Altres estudis han controlat aquest factor, comparant a pacients amb SAHS i sense SAHS aparellats per l'IMC,⁶² o d'una forma més concreta han ajustat pel greix visceral mesurat pel TAC abdominal⁶³ o bé, han descartat simplement als pacients amb obesitat.⁶³ En conjunt totes aquestes aproximacions, i a pesar d'alguns estudis negatius,^{65,66} coincideixen a trobar una associació entre la SAHS i la SMet independent de l'obesitat. El nostre grup, en un estudi previ que s'inclou a l'annex d'aquesta tesi doctoral, va demostrar que inclús en pacients amb obesitat extrema, pacients amb obesitat mòrbida inclosos en un programa de cirurgia bariàtrica, la SAHS també s'associava a un pitjor perfil metabòlic.⁶⁷ De fet globalment s'estima que el fet de patir una SAHS augmenta 5 vegades la probabilitat de patir SMet.

La majoria d'estudis han trobat una associació significativa entre la SMet i l'IAH, mentre que l'associació amb la hipòxia intermitent era lleu o absent. Aquest resultat difereix dels models animals que suggereixen la importància de la hipòxia intermitent i les alteracions metabòliques.⁶⁸ De fet en els pacients amb SAHS, l'índex de dessaturacions (ID) té una correlació més important amb el greix visceral que amb altres índex d'obesitat com l'IMC.³⁴ Per aquest motiu alguns autors han proposat que la SAHS es pugui considerar part de la SMet.^{34,58} En aquesta línia,

diversos estudis suggereixen que la presència del SAHS en pacients amb SMet establerta contribueix a un major grau d'alteració metabòlica i d'inflamació un cop ajustat pels paràmetres d'obesitat central, i aquesta relació és independent de la somnolència.⁶⁹

Existeixen diferents qüestions no resoltes quant a la relació entre la SAHS i la SMet. Es creu que la SAHS actua com a factor agreujant de l'efecte de l'obesitat sobre la disfunció metabòlica, però no està clarament definit si existeix un patró concret de la disfunció metabòlica associada a la SAHS i si aquest patró varia en funció del grau d'obesitat, de l'edat o del gènere. De fet la major part d'estudis s'ha portat a terme en homes o amb un clar predomini masculí,^{15,60,62} en aquests estudis l'associació de la SAHS amb la SMet és dona a través sobretot dels factors obesitat central, hipertensió i hiperglucèmia. En l'únic estudi poblacional fins el moment fet en dones, que en va incloure 400 amb edats compreses entre 20 i 70 anys, es va demostrar que la relació entre el IAH i la SMet es produïa sobretot per la presència de l'obesitat central, la dislipèmia i la hipertensió, i en menor grau per la hiperglucèmia.⁶¹

1.5.2. Efecte del tractament amb CPAP sobre la síndrome metabòlica.

S'ha demostrat milloria de diferents aspectes del perfil metabòlic després del tractament de la SAHS, però la major part no inclouen un grup control. Fins el moment tan sols s'han publicat dos estudis aleatoritzats i controlats que analitzen l'efecte de la CPAP sobre la SMet en conjunt. Coughlin *et al.* no van demostrar cap milloria en el metabolisme glicídic, lipídic ni tampoc en la SMet en un conjunt de 36 pacients amb SAHS greu comparats amb els pacients del grup de sham-CPAP, però sí una milloria de la tensió arterial.⁷⁰ Entre les limitacions de l'estudi cal tenir en compte el curt interval d'intervenció, 6 setmanes amb un període de rentat entre les intervencions probablement insuficient (1 setmana), i per altra banda el compliment baix de la teràpia (inferior a 4 hores/nit). Més recentment, Hoyos *et al.* en un estudi controlat en una població de SAHS obesos no seleccionats tampoc va poder demostrar cap efecte de la CPAP sobre la SMet en conjunt, però un altre cop els resultats estaven limitats per una baixa adherència al tractament.⁷¹ Dorkova *et al.* en un estudi no controlat va plantejar la importància del compliment del tractament de la CPAP per obtenir efectes sobre el metabolisme.⁷¹ En aquest

estudi la CPAP reduïa significativament el grau de resistència a la insulina, inflamació, estrès oxidatiu i risc cardiovascular global tan sols en el grup de pacients que complien el tractament més de 4 hores.⁷²

1.6. La SAHS i les alteracions del metabolisme lipídic

La dislipèmia és un dels factors de risc principals per al desenvolupament de l'arteriosclerosi, base fisiopatològica de la malaltia cardiovascular. L'increment de la relació entre els nivells de colesterol lligat a lipoproteïnes de baixa densitat (c-LDL) i colesterol lligat a lipoproteïnes d'elevada densitat (c-HDL) està associat a un major risc cardiovascular.⁷³ Com que s'ha demostrat que la SAHS actua com un factor de risc cardiovascular, és d'especial interès estudiar si la dislipèmia pot ser una de les vies a través de la qual la SAHS incrementa el risc cardiovascular.¹⁶

Estudis experimentals en animals han demostrat que la hipòxia intermitent indueix a dislipèmia tant en ratolins prims com en obesos, així com que la intensitat de la hipòxia és proporcional a la disfunció lipídica.⁶⁸ Addicionalment l'exposició a la hipòxia intermitent simultània a una dieta rica amb colesterol indueix arteriosclerosi aòrtica, fet que no es produeix per les dues exposicions per separat.⁶⁸

1.6.1. Associació entre la SAHS i el metabolisme lipídic

En humans, l'estudi de l'associació entre la SAHS i la dislipèmia és probablement un dels aspectes menys estudiats en relació a les alteracions metabòliques associades al trastorn respiratori del son. La major part dels estudis existents no han sigut dissenyats per avaluar el perfil lipídic com a principal variable, addicionalment cal tenir en compte que molts d'ells estan limitats per la seva escassa potència i per la manca de control de factors confusors tant importants com la dieta i el nivell d'activitat física, al qual el metabolisme lipídic n'és especialment sensible.⁷⁴

En el primer estudi poblacional transversal en 4991 subjectes de la cohort del *Sleep Health Heart Study* van observar que a mesura que augmentava la gravetat de la SAHS (mesurada per l'índex de pertorbació respiratòria (IPR)), augmentaven

els nivells de triglicèrids (TG) i disminuïen els nivells c-HDL.⁷⁵ Posteriorment en un estudi francès fet amb 846 persones grans voluntàries, dissenyat específicament per avaluar la relació de la SAHS amb el perfil lipídic, també es va observar que a mesura que s'incrementava l'ID augmentaven els nivells de TG i disminuïen els de c-HDL. Aquesta relació era independent de l'edat, del gènere i de l'obesitat central. En canvi l'IAH tan sols s'associava independent a la hipertrigliceridèmia.⁷⁶

Aquesta relació és confirmada en diferents estudis clínics realitzats en població remesa a unitats de son, en que també troben una associació entre la disminució dels nivells de c-HDL i la SAHS independent de l'IMC¹⁵ i l'increment de c-LDL i la SAHS corregida pel diàmetre de cintura.⁶² Kono *et al.* en un estudi aparellat en pacients no obesos (IMC <30Kg/m² i àrea de greix visceral mesurada per TAC Abdominal <90cm²) a pesar de no trobar diferències entre pacients SAHS i no SAHS dels valors mitjans de TG o c-HDL, van trobar diferències significatives amb el percentatge de pacients amb i sense dislipèmia (48% vs 25%, p <0,05).⁶³ Recentment en una cohort prospectiva de 2081 pacients remesos per polisomnografia no es va confirmar l'associació del colesterol total o c-LDL amb l'ID, però en contrast la gravetat de la hipòxia intermitent s'associava a l'increment dels TG i disminució del c-HDL independent de la SMet i de l'obesitat.⁷⁶ L'IAH tan sols s'associava a la hipertrigliceridèmia. L'associació entre la hipercolesterolèmia i la hipertrigliceridèmia també s'ha confirmat en pacients amb sospita de SAHS d'origen asiàtic.⁷⁸

1.6.2. Efecte del tractament amb CPAP sobre la dislipèmia

Els estudis clínics aleatoritzats, especialment si utilitzen la sham-CPAP, són crucials per a estudiar l'efecte del tractament sobre els diferents aspectes metabòlics ja que pel sol fet de ser diagnosticats de SAHS i d'iniciar tractament amb CPAP pot comportar canvis d'estil de vida especialment sobre l'activitat física i la dieta. El primer estudi i amb una major grandària mostral (n=220) va demostrar una disminució significativa dels nivells de colesterol total després d'un mes de tractament amb CPAP en pacients amb somnolència, SAHS greu i obesitat grau II).⁷⁹ Aquest efecte no es va poder confirmar quan es va comparar amb el grup de CPAP subterapèutica. En dos estudis posteriors tampoc es van observar canvis en població semblant amb obesitat greu al mes i tres mesos de tractament.^{70,80} Cal

remarcar que en aquests dos darrers estudis l'ús de la CPAP va ser inferior a 4 hores. En un tercer estudi fet amb una població amb SAHS greu simptomàtica però amb obesitat més moderada, després d'un període de 4 mesos de tractament tampoc es van veure canvis en el perfil lipídic.⁸¹ En el 2010 Lam *et al.* tampoc van poder demostrar cap efecte sobre el metabolisme lipídic a la setmana de tractament amb CPAP, però, en canvi, al seguiment dels pacients 11 setmanes més, en un disseny d'estudi obert, si que van detectar disminució de TG i del colesterol total en pacients amb IMC per sota de 25 kg/m².⁴⁰

Tampoc es van obtenir canvis en el perfil lipídic en un altre model d'estudi utilitzat per Kohler *et al.* que consisteix amb la retirada del tractament durant 2 setmanes, mentre que es va demostrar que en retirar el tractament amb CPAP augmentaven els nivells de les catecolamines en orina, no es van veure canvis en els nivells de lípids.⁸²

Per tant els estudis mencionats demostren un escàs efecte de la CPAP sobre el perfil lipídic en condicions basals. Recentment Phillips *et al.* van publicar l'únic assaig terapèutic controlat amb CPAP amb resultats clarament positius. En aquest estudi van estudiar les corbes de concentració de lípids cada 3-4 hores durant 24h en 29 pacients, observant una disminució molt més marcada dels TG postprandials en els pacients als 2 mesos de tractament amb CPAP terapèutica comparada amb la sham-CPAP.⁸³ Aquest fet podria ser remarcable ja que els nivells de TG postprandials estan associats a un augment del risc cardiovascular.⁸⁴

1.7. La SAHS i la esteatosis hepàtica no alcohòlica

La esteatosis hepàtica no alcohòlica (NAFLD), és l'acumulació excessiva de lípids principalment en forma de triacilglicerols en el fetge de pacients en que s'ha descartat el consum d'alcohol en excés. La NAFLD és la hepatopatia més prevalent i la causa principal d'elevació de les transaminases. La NAFLD inclou el fetge gras simple i la esteatohepatitis no alcohòlica (NASH). La NASH pot evolucionar a cirrosi post-NASH (20% dels casos) i a carcinoma hepatocel·lular. La prevalença de les dues entitats augmenta proporcionalment amb el grau d'obesitat.⁸⁵

Avui en dia es considera l'esteatosi hepàtica com una manifestació de resistència a la insulina i una part important de la SMet.⁸⁶ Encara que la seva fisiopatologia és complexa, es creu que la evolució de la NAFLD a NASH es deu inicialment a que la obesitat visceral i la insulioresistència augmenten el flux de àcids grassos lliures (FFA) cap el fetge on serviran de substrat per a la síntesi i acumulació de TG. Posteriorment una segona noxa com l'estrès oxidatiu o la peroxidació lipídica iniciarien un estat inflamatori progressant a la NASH.⁸⁷

D'aquí que els darrers anys ha crescut l'estudi de la relació entra la SAHS i la NASH, ja que la hipòxia intermitent crònica a través de l'alliberació de radicals lliures podria activar el desenvolupament de NAFLD i accelerar la seva progressió a NASH. Estudis realitzats en animals han demostrat que, de fet, la hipòxia intermitent produeix acumulació de TG a nivell hepàtic,⁸⁸ i és capaç d'estimular la sobreexpressió de gens lipogènics, atenuar la regulació del metabolisme lipídic i reduir la sensibilitat a la insulina.⁸⁹

Juntament als factors de risc clàssics com la diabetis, l'obesitat i la hiperlipèmia, el SAHS ha sorgit com un causa de NAFLD. Després de l'ajust pels confusors, el SAHS greu ha demostrat ser un bon factor predictor de l'elevació dels nivells de transaminases hepàtiques.^{90,91} En estudis oberts abans-després del tractament amb CPAP, s'ha demostrat que un dia de tractament millora els nivells de transaminases i aquestes es mantenen al cap de 6 mesos.³⁸ Tractaments amb CPAP a més llarg termini (2 - 3 anys) també van demostrar milloria de la esteatosi valorada per TAC abdominal i corroborada per la milloria de les transaminases.⁹² Però els dos únics estudis aleatoritzats controlats no van poder reproduir aquest efecte.^{41,82} Val a dir que es tractaven de pacients amb nivells de transaminases quasi dintre de la normalitat. Però l'elevació dels enzims hepàtics no es tradueix necessàriament amb la presència de NAFLD/NASH. Per al seu diagnòstic es precisa biòpsia hepàtica, la qual cosa limita molt la possibilitat d'explorar l'efecte de la SAHS directament sobre les cèl·lules hepàtiques. Fins ara tan sols 2 estudis han analitzat la histologia hepàtica en relació a la SAHS.^{91,94} En els dos casos es tractava de pacients obesos mòrbids en els quals s'havia obtingut una biòpsia hepàtica en el moment de la cirurgia bariàtrica. Els dos estudis van demostrar una forta associació entre la severitat de la hipòxia i l'esteatosi i fibrosi hepàtica.

Recentment s'han desenvolupat noves tècniques no invasives prometedores Steatotest© NASHtest© i Fibrotest© per avaluar l'esteatosi, l'esteatohepatitis i la cirrosi respectivament. En una cohort de 220 pacients SAHS amb diferents nivells d'obesitat, la gravetat de la hipòxia es va associar amb l'esteatosi mesurada amb el Steatotest©.⁹⁵ Queda encara per analitzar la resposta al tractament de la CPAP de la esteatosi mesurada amb aquests nous tests.

1.8. La SAHS i les alteracions del metabolisme glucídic

La *International Diabetes Federation* estima que 246 milions d'adults tenen diabetis mellitus, i atès l'increment progressiu de l'obesitat podrien arribar a patir diabetis mellitus tipus 2 (DMT2) fins a 380 milions al 2025. La diabetis és la causa del 6% de la mortalitat global i s'estima que el 50% de les morts associades a la DMT2 estan causades per malalties cardiovasculars.⁹⁶ En la darrera dècada s'ha anat acumulant evidència de que la SAHS s'associa a alteració del metabolisme glucídic.⁹⁷ La recerca dels darrers anys s'ha centrat a contestar les preguntes clíniques de si l'apnea del son predisposa a l'alteració glucídica independentment de l'obesitat, si té un efecte sinèrgic negatiu sobre el metabolisme glucídic i les seves complicacions a llarg termini i si el tractament de la SAHS pot revertir part d'aquestes alteracions.^{98,99} La DMT2 i les diferents alteracions del metabolisme glucídic es poden definir d'acord a distints criteris i per diferents mètodes que van des de l'alteració de la glucèmia basal en dejú,¹⁰⁰ passant per la intolerància oral a la glucosa mesurada pel test de sobrecàrrega oral a la glucosa i la insulinoresistència (tant mesurada per mètodes simples com el HOMA-IR com pel laboratori *clamp* hiperinsulinèmic euglicèmic),^{101,102} fins a la diabetis establerta. A la taula 2 es descriuen les definicions de les diferents alteracions del metabolisme glucídic que han sigut utilitzats en els estudis que exploren la associació entre la SAHS i el metabolisme glucídic.

TAULA 2. MÈTODES I DEFINICIONS DE LES DIFERENTS ALTERACIONS DEL METABOLISME GLUCÍDIC

Mètode	Descripció	Classificació
Glucosa basal en dejú (FPG)	Glucosa en sèrum mesurada en dejú	Glucosa en dejú alterada (IFG) Glucosa basal en dejú entre 110 y 126 mg/dl Diabetis: Glucosa basal en dejú ≥ 126 mg/dl o 7 mmol/L (ADA 2010)
Hemoglobina glicosilada A1c (Hb A1c)	Determinada en una mostra sanguínia mesura el control glucídic durant 2 - 3 mesos	Diabetis: Hb A1c > 6,5% Prediabetis Hb A1c de 5,7 a 6,4% (ADA 2010)
Homeostatic model assessment index of insulinresistance. (HOMA-IR)	Producte normalitzat de glucosa i insulina en dejú utilitzant la fórmula (Insulina sèrica x glucosa sèrica)/22,5	Estimació de la insulinoresistència validada contra el clamp hiperinsulinèmic euglicèmic. Mesura el grau de insulinoresistència (Mathews 1985)
Test de tolerància oral a la glucosa (TTOG)	El test de tolerància oral a la glucosa es realitza després de com a mínim 8 hores de dejú, s'administra una sobrecàrrega oral de 75g de glucosa dissolta en aigua	Tolerància a la glucosa normal: Glucosa plasmàtica a les 2h <140 o <7,8 mmol/L Alteració de la tolerància a la glucosa: Glucosa plasmàtica a les 2h entre 140-199 mg/dl o 7,8-11,1 mmol/L Diabetis: Glucosa plasmàtica a les 2h del TTOG ≥ 200 mg/dl o $\geq 11,1$ mmol/L (ADA 2010)
Clamp hiperinsulinèmic euglicèmic	Sensibilitat a la insulina quantificada per via infusió endovenosa de glucosa i insulina mesurant sota un estat de euglicèmia	És la tècnica de referència per mesurar la insulinoresistència (De Fronzo 1979)

1.8.1. Associació entre la SAHS i la intolerància a la glucosa/insulinoresistència

La intolerància a la glucosa (IGT) es considera un estat prediabètic reversible que és un potent factor de risc per a la progressió a la diabetis i per al desenvolupament de malaltia cardiovascular.^{103,104} El concepte d'intolerància de la glucosa en dejú (IFG) es va introduir a l'any 1997 per la *American Diabetes Association* com un anàleg més simple del test de tolerància oral a la glucosa (TTOG).¹⁰⁵ La IFG identifica un subgrup de població de risc diferent que la IGT pel desenvolupament de diabetis i amb menys risc de malaltia cardiovascular.¹⁰⁶ Això es deu a que probablement utilitza altres vies fisiopatològiques. La IFG és el mètode més senzill i àmpliament utilitzat. La resistència a la insulina és, en canvi, la via fisiopatològica principal que conduirà finalment a la diabetis establerta.¹⁰² Es consideren per tant, 3 mesures d'estats prediabètics que aporten informació complementària i tenen un interès especial per ser modificables. La seva correcció suposa la possibilitat de prevenir també la morbimortalitat associada a la DMT2.

Existeixen amplis estudis poblacionals transversals que han demostrat l'associació entre la insulinoresistència i la intolerància a la glucosa, tant en dejú com després de la sobrecàrrega oral a la glucosa, amb la SAHS. Els estudis mencionats han demostrat que aquesta associació és independent del gènere,^{107,108} de l'ètnia,¹⁰⁹⁻¹¹³ de l'edat i del grau d'obesitat.¹¹⁴

El *Sleep Heart Health Study* que inclou una població de 2656 individus, va demostrar que la hipòxia (valorada per la saturació mitjana nocturna) s'associava a intolerància a la glucosa independentment de l'edat, del gènere, l'IMC i la circumferència de la cintura.¹⁰⁹ La gravetat de la SAHS mesurada amb l'IAH també s'associava al grau de insulinoresistència després d'ajustar per l'obesitat. Més recentment es va demostrar amb la mateixa cohort que la magnitud de l'associació entre el trastorn respiratori del son i la IFG, IGT i la diabetis era semblant tant en pacients amb normopès com amb sobrepès.¹¹⁴ Theorell-Haglöw *et al.* en un estudi fet en 400 dones van demostrar que la SAHS s'associava independentment a una disminució de la sensibilitat a la insulina mesurada per l'índex de sensibilitat a la insulina (ISI), calculat pel TTOG.¹⁰⁸ En un estudi longitudinal poblacional, Linberg *et al.* van demostrar que la presència de la SAHS s'associava al deteriorament de la sensibilitat a la insulina en el seguiment a 11 anys.¹¹⁵ La gravetat de la hipòxia intermitent (mesurada per l>ID) s'associava a una disminució de l'ISI i a un augment de l'HOMA-IR, mentre que l'IAH sols s'associava a l'increment de l'HOMA-IR.¹¹⁵

La majoria d'estudis clínics fets en població derivada per sospita de SAHS confirmen aquesta associació^{62,116-127} amb tan sols alguns estudis negatius.¹²⁸⁻¹³⁰ En poblacions de pacients derivats per estudi a unitats de son, els pacients amb SAHS tenien més alteració de la glucosa basal i més diabetis independentment de l'obesitat i l'edat.¹²² S'ha descrit també un augment de la IR i la IGT independent del pes^{62,118,120,121} i una relació inversa entre la insulinoresistència i l'IAH^{122,121} i l>ID.¹¹⁷ Addicionalment, Barceló *et al.* després de comparar 2 grups de pacients amb SAHS amb i sense somnolència van suggerir que la hipersomnolència diürna podria ser un marcador de risc de desenvolupar alteracions del metabolisme glucídic.¹²⁷ Van observar que els pacients amb somnolència (mesurada per escala de somnolència de Epworth i test de latències múltiples) presentaven nivells sèrics de glucosa i insulina superiors.¹²⁷

1.8.2. Associació entre la SAHS i la diabetis mellitus tipus 2

La prevalença de la SAHS, entre els pacients amb DMT2 oscil·la entre 86% i 58% segons els estudis poblacionals més importants fets en pacients diabètics i utilitzant la polisomnografia com a eina diagnòstica.¹³¹⁻¹³⁵ La prevalença més elevada correspon a l'estudi multicèntric fet en una població de 305 diabètics amb obesitat, *Sleep-AHEAD*.¹³³ Mentre que la prevalença més baixa, del 58%, és l'observada pel *Sleep Heart Health Study*,¹³¹ coneguda cohort multicèntrica que incloïa pacients de major edat, menys obesos, on el criteri de DMT2 era la de l'autodeclaració i s'utilitzava un criteri estricte de hipopnea (dessaturació del 4%). Aronsohn *et al.* en un estudi fet a la consulta de endocrinologia/atenció primària en 60 pacients diabètics consecutius, van trobar una prevalença de SAHS de 77%. En aquest cas es tractava de pacients més joves (57 anys) amb una obesitat menys greu (IMC=34), però utilitzant un criteri d'hipopnea menys estricte amb una dessaturació del 3%.¹³⁵

De forma inversa múltiples estudis, tant poblacionals com clínics, han estimat que la prevalença de DMT2 en pacients amb SAHS oscil·la entre el 15 - 30% dependent de la població estudiada, de la gravetat de la SAHS i del mètode utilitzat per definir la DMT2.^{9,114,122,136-143} La major part d'aquests estudis van utilitzar definicions validades de DMT2 basades en dades de la glucosa basal o del test de tolerància oral a la glucosa, mentre que alguns d'ells van emprar definicions menys estandarditzades basades en l'autodeclaració de DMT2 o l'ús d'antidiabètics orals. Els estudis van trobar una associació significativa després d'ajustar els resultats pels principals factors de risc que comparteixen ambdues entitats, incloent l'IMC o altres mesures d'obesitat central. En dos d'aquests estudis, l'associació es perdia després de controlar per factors de confusió.^{138,139} S'ha demostrat també l'existència d'una relació estadísticament significativa entre la gravetat de la SAHS i la prevalença de DMT2.^{9,136,140,144} Cal destacar, per la seva grandària mostral, els resultats de la *European Sleep Apnoea Cohort* (ESADA), atès que van analitzar 7000 pacients procedents d'aquesta cohort multicèntrica i multinacional que inclou pacients de tot Europa, d'Israel i de Turquia. En aquesta cohort el diagnòstic de SAHS greu (IAH>30) es va associar amb el risc de tenir DMT2, definida pel nivell d'hemoglobina glicosilada (HbA1c), un cop ajustat per l'obesitat, l'edat, comorbiditats i l'ús de medicació (OR ajustat = 1,87; 95% IC, 1,45-2,42).¹⁴¹

La hipersomnolència diürna, també s'ha hipotetitzat com a medidora entre la associació de SAHS i DMT2. En aquest sentit, Ronksley *et al.*, van trobar que l'associació entre SAHS i DMT2 tan sols es donava en pacients amb SAHS greu i somnolència diürna, definida per una escala de Epworth superior a 9 punts.¹⁴¹ Val a dir que de moment no s'ha comprovat aquesta hipòtesi amb mesures objectives de somnolència com podria ser el test de latències múltiples.

1.8.3. Associació entre la SAHS i la incidència de la diabetis mellitus tipus 2

A més de demostrar-se aquesta relació en estudis transversals, 7 estudis longitudinals prospectius han analitzat la incidència de DMT2 en els pacients amb SAHS. De fet, en la cohort de Wisconsin es va observar que la presència de SAHS (IAH ≥ 15) augmentava el risc de patir DMT2 després d'un seguiment de 4 anys.⁹ Però aquest risc no era estadísticament significatiu en ajustar pel grau d'obesitat, pel gènere i per l'edat. En canvi, en el *Busselton Health Study*, fet a Austràlia la SAHS augmentava el risc de patir DMT2 també amb un seguiment a 4 anys i aquest es mantenia en ajustar pel diàmetre de cintura (HR: 1,3, IC 95% 1,6-114).¹³⁹ Aquests darrers resultats s'han d'interpretar amb cautela per l'ampli interval de confiança i la menor grandària mostral (n=299). Botros *et al.* van trobar també una associació independent entre la SAHS i la DMT2 incident després d'ajustar per edat, gènere, raça, IMC, glucosa basal en dejú i inclús ajustant pel canvi de pes durant el seguiment de 2,7 anys.¹³⁷ En dividir els pacients per quartils de gravetat de la SAHS, el fet de estar en els 3 darrers quartils (IPR > 8) augmentava la incidència de DMT2 (HR: 1,43, IC 95% 1,10-1,86).¹³⁷ Celen *et al.* en un estudi clínic fet amb 168 pacients amb un seguiment mitjà de 16 anys van trobar una major incidència de DMT2 en els pacient amb SAHS però tant sols en dones.¹⁴² En canvi, en un estudi poblacional més recent fet a Suècia amb una cohort de 141 homes sense DMT2 coneguda i amb un seguiment mitjà d'11 anys, van observar que aquesta relació no era exclusiva de les formes més greus ja que l'increment de la gravetat de la dessaturacions nocturnes era un factor predictor del desenvolupament de DMT2 (HR: 4,4, IC 95% 1,1-18,1) després d'un rigorós ajust pels factors confusors (edat, IMC, HTA inicial, diferència d'IMC inicial-final i anys de tractament amb CPAP).¹⁴⁵ Finalment, aquesta associació, també es va confirmar en un estudi asiàtic fet amb 4000 individus de mitjana edat, on es va observar que la hipòxia intermitent estava associada a un increment del risc de

desenvolupar DMT2 als 3 anys de seguiment.¹⁴⁶ El valor global de les esmentades evidències va ser avaluat per una metanàlisi que incloïa els sis darrers estudis amb 5953 participants i un seguiment mitjà de 2,7 - 16 anys.¹⁴⁷ Van concloure que la SAHS moderada-greu s'associava a un major risc de patir DMT2 (Risc relatiu 1,63; IC 95% 1,09-2,54) en comparació amb l'absència de SAHS.¹⁴⁷ En canvi, els pacients amb SAHS lleu no van mostrar un risc superior als no SAHS (Risc relatiu 1,22; IC 95% 0,91-1,65). La principal limitació d'aquests estudis va ser l'escassa incidència de nous casos de diabetis.¹⁴⁷ D'aquí ve el valor de la darrera publicació, en que es va demostrar una incidència acumulada de DMT2 de 9% (IC 95%: 8,4–9,8%) en una cohort històrica en que es van avaluar 8678 pacients no diabètics, amb un seguiment mitjà de 67 mesos.¹⁴⁸ En aquest estudi els pacients amb SAHS greu (IAH>30) tenien un 30% de probabilitat de desenvolupar DMT2 definida en base dels registres nacionals.¹⁴⁸

Per tant, l'evidència constatada per estudis transversal demostra que hi ha una major prevalença de DMT2 en els pacients amb SAHS i, aquesta és independent dels factors de risc que tenen les dues malalties en comú. Encara que escassa, hi ha evidència que indica que la SAHS pot afavorir el desenvolupament de la DMT2.

1.8.4. Efecte de la SAHS sobre el control glicèmic dels pacient amb diabetis mellius tipus 2

Un aspecte rellevant és també l'efecte que pot tenir la SAHS sobre el control de la DMT2 ja establerta i en concret sobre el control glicèmic. En un primer estudi amb 279 pacients diabètics no es va trobar una associació significativa entre la SAHS i el control de la DMT2 a través de l'Hemoglobina glicosilada (HbA1c).¹³² En aquest estudi es va fer polisomnografia per al diagnòstic de la SAHS tan sols en el 22% dels pacients, i la durada dels estudis nocturns va ser curta, aproximadament d'unes 4 hores. Posteriorment Aronsohn *et al.* van realitzar polisomnografia completa (amb més de 7 hores de registre) a 60 pacients reclutats en una clínica de diabetis. El 77% d'aquests pacients van presentar una SAHS,¹³⁵ la gravetat de la qual s'associava a un increment dels nivells de HbA1c després de l'ajust rigorós per les variables clíniques i antropomètriques (incloent medicacions, obesitat i nivell d'exercici). Els pacients diabètics amb SAHS tenien una mitjana ajustada de

HbA1c 3,69% superior als pacient no apneics.¹³⁵ Cal destacar que la magnitud d'aquesta associació és comparable, com a mínim, a la diferència aconseguida pels antidiabètics orals utilitzats habitualment. A l'anàlisi multivariant, la HbA1c també es va correlacionar de forma significativa amb l'IAH i a altres variables de son. Si tan sols s'analitzaven les primeres 4 hores de son aquesta associació no es mantenia, la qual cosa fa pensar que el temps de son i probablement el percentatge son REM pot influir en aquesta relació. Aquests resultats es van confirmar per dos estudis clínics posteriors.^{149,150} Fendri *et al.* en un estudi clínic fet en 26 pacients amb sobrepès-obesitat, i DMT2, van monitoritzar la glucosa transcutània de forma contínua durant la nit i van comprovar que els pacients amb SAHS tenien la glucosa nocturna un 38% més elevada quan es comparava amb els pacient que no tenien SAHS, independent de l'IMC.¹⁵⁰

Recentment, l'esmentada cohort europea ESADA va corroborar aquests resultats en 1100 pacients diabètics, en els quals van trobar que l'increment de la gravetat de la SAHS augmentava la probabilitat de tenir un mal control glicèmic (HbA1c >7%).¹⁴¹ Els pacients amb una SAHS greu tenien una OR de 2,02 (IC 95%, 1,11-3,66) per un pitjor control de la diabetis, un cop ajustat pels principals factors de confusió.¹⁴¹ De la mateixa manera la mitjana de la HbA1c entre els pacients diabètics augmentava amb l'increment de la gravetat de la SAHS de 6,76% (IC 95%, 6,39-7,13) en els pacients sense SAHS a 7,48% (IC 95%, 7,18-7,79) en els pacients amb SAHS greu o moderat.¹⁴¹ En conjunt, per tant, hi ha evidència de que tant la presència com la gravetat de la SAHS pot estar associada a un pitjor control glicèmic, i aquest fet pot tenir importants implicacions en el maneig del pacient diabètic.

1.8.5. Efecte del tractament amb CPAP sobre el metabolisme glucídic

Un cop revisades les evidències publicades sobre la relació entre la apnea del son i el metabolisme glucídic, un pas indispensable per discernir i diferenciar possibles associacions marcades per múltiples covariables, és valorar l'efecte que pot tenir el tractament de la SAHS sobre la incidència, control i sobretot pel seu efecte sobre estats prepatològics que conduiran finalment a una DMT2 establerta.

1.8.5.1. Efecte del tractament amb CPAP sobre la prediabetis

Hi ha nombrosos estudis oberts que han demostrat un efecte positiu de la CPAP sobre el metabolisme glucídic en pacients no diabètics.^{72,151} En un estudi no controlat, Harch *et al.* van ser dels primers en observar una milloria en la sensibilitat a la insulina mesurada per la prova de referència, el *clamp* hiperinsulinèmic euglicèmic, després de dues nits de CPAP.¹⁵¹ Yang *et al.* en un metaanàlisi en que van incloure 15 estudis, la major part d'ells no controlats, va demostrar una millora del HOMA-IR amb la CPAP, però en canvi no van trobar efecte sobre els nivells de glucosa basal.¹⁵² Tal i com he comentat en l'apartat del metabolisme lipídic, l'estudi dels efectes del tractament amb estudis aleatoritzats controlats és crucial, atès que el metabolisme glucídic, igual que el lipídic, és extremadament sensible als efectes de l'exercici físic, la dieta i les modificacions de l'estil de vida, que actuen com a factors confusors. Actualment existeixen sis estudis controlats que avaluen l'efecte de la CPAP sobre la prediabetis amb resultats menys optimistes. Coughlin *et al.* en un estudi controlat creuat, no van trobar canvis en el HOMA-IR, en una població de pacients homes obesos caucàsics i amb una SAHS greu, després de 6 setmanes de tractament amb CPAP comparat amb sham-CPAP.⁷⁰ Posteriorment Hoyos *et al.* tampoc van trobar cap diferència en el HOMA-IR en un estudi aleatoritzat controlat després de 12 setmanes de tractament, en una població no seleccionada de pacients obesos amb SAHS.⁴⁰ Si que van trobar canvis en l'índex ISI tan sols en els pacients complidors de la CPAP (>4h/nit).⁴⁰ És important remarcar que tant en l'estudi d'Hoyos *et al.* com en el de Coughlin *et al.* l'ús mitjà de la CPAP va ser inferior a 4 hores per nit,^{40,70} suggerint que una bona adherència a la CPAP pot ser crucial per veure efectes al tractament sobre el metabolisme glucídic. En aquest sentit, la importància del l'ús de la CPAP ha sigut confirmada recentment en un estudi controlat realitzat en pacients amb prediabetis i sobrepès/obesitat en que es va demostrar que el tractament amb 8 hores amb CPAP durant 2 setmanes millorava la tolerància a la glucosa (TTOG) i la sensibilitat a la insulina (mitjançant el test dinàmic endovenós de tolerància a la glucosa) quan es comparava amb un tractament placebo per via oral.¹⁵³ Un altre estudi controlat realitzat amb pacients asiàtics amb sobrepès/obesitat van observar milloria de la sensibilitat a la insulina (mitjançant el test dinàmic endovenós de tolerància a la glucosa) tan sols després d'una setmana de tractament,⁴² val a dir que la milloria va persistir als 3 mesos tan

sols en els pacients IMC $>25\text{Kg/m}^2$. Paral·lelament, en un estudi pilot en 13 subjectes amb SAHS moderat-greu paucisimptomàtics (escala de Epworth <10) i no diabètics, no van trobar cap milloria en els paràmetres glucídics (HOMA-IR, HbA1c) després de 4 setmanes de tractament.¹⁵⁴ A pesar de la negativitat d'alguns dels estudis mencionats, una metaanàlisi recent d'estudis aleatoritzats i controlats que incloïa 244 pacients sense diabetis, va mostrar una baixada modesta del HOMA-IR (-0,44) després del tractament amb CPAP comparat al de la sham-CPAP.¹⁵⁵ La major limitació d'aquesta metaanàlisi és que inclou un estudi que posteriorment es va retirar per errors d'anàlisi detectats amb posterioritat.^{156,157} Finalment Weinstock *et al.* no van trobar cap diferència a la tolerància a la glucosa mesurada pel TTOG després de 8 setmanes de tractament amb CPAP comparat amb sham-CPAP en una població amb una obesitat moderada.¹⁵⁸ En canvi en aquest mateix estudi, en un subanàlisi amb els pacients amb SAHS més greu (IAH >30) es va observar una milloria amb la CPAP de la glucosa a les 2h del TTOG, del IHOMA-IR, de l'ISI i del percentatge de normalització de la tolerància oral a la glucosa.¹⁵⁸ Kohler *et al.* no van obtenir canvis en el HOMA-IR en el model de retirada del tractament durant dues setmanes.⁸²

En conclusió podem dir que no hi ha resultats concloents sobre l'efecte de la CPAP sobre diferents marcadors prediabètics. Sembla ser que l'efecte sobre la resistència a la insulina quan es mesura per l'HOMA-IR és escàs i no s'han demostrat canvis amb la CPAP de la glucosa basal en dejú. Els canvis positius demostrats sobre la tolerància oral a la glucosa i a la sensibilitat a la insulina semblen dependents de la gravetat de la SAHS, d'una bona adherència al tractament i s'han observat en pacients que com a mínim presenten sobrepès.

1.8.5.2. Efecte del tractament amb CPAP sobre la diabetis tipus 2 i el seu control

Tan sols existeix un estudi observacional en una cohort de pacients amb SAHS moderat-greu (IAH ≥ 20) que estudia l'efecte de la CPAP sobre la incidència de DMT2. En aquest estudi van observar que l'ús regular de la CPAP, determinat per la declaració del metge de primària, s'associava a una reducció significativa de la incidència de DMT2 després d'un seguiment mitjà de 2,7 anys.¹³⁷

Queda encara per dilucidar l'efecte del tractament amb CPAP sobre el control de la diabetis. Existeixen 5 estudis no controlats que han analitzat l'efecte de la CPAP sobre el metabolisme glucídic en pacients amb DMT2. Dos d'ells van demostrar milloria dels nivells de glucosa nocturna després d'una nit i després de 5 setmanes de tractament amb CPAP.^{159,160} Dos estudis més, van demostrar millora de la sensibilitat a la insulina mesurada pel clamp hiperinsulinèmic euglucèmic, sense observar canvis a la HbA1c.^{161,162} Pel contrari, Babu *et al.* en un estudi fet en 25 pacients obesos amb DMT2, van observar milloria a la HbA1c i en la glucosa postpandrial després de 3 mesos de tractament amb CPAP. Aquesta milloria va ser més marcada en els pacients que van utilitzar la CPAP més de 4 hores, de fet el descens de HbA1c es correlacionava amb l'ús de la CPAP.¹⁶³ West *et al.* en l'únic estudi aleatoritzat i controlat amb un disseny doble-cec, no van poder demostrar cap efecte sobre la HbA1c o la sensibilitat a la insulina després de 3 mesos de tractament.⁸⁰ Aquest estudi es va realitzar en 42 pacients diabètics obesos (IMC=37) i amb somnolència diürna (escala de Epworth mitjana de 14) i una SAHS greu (IAH mitjà de 36/h), però el compliment mitjà del tractament va ser baix (3,4h/nit).⁸⁰ Aquest baix compliment podria explicar en gran part la negativitat de l'estudi. En conclusió, hi ha escassa evidència sobre l'efecte de la CPAP tant sobre la incidència com sobre el control de la DMT2. Estudis de cohorts longitudinals i estudis controlats-aleatoritzats més amplis són necessaris per aclarir i quantificar els possibles efectes del tractament eficaç de la SAHS sobre la incidència i el control de la DMT2.

1.9. Mecanismes fisiopatològics de la SAHS en el desenvolupament de les alteracions del metabolisme glucídic

Queden encara per establir els mecanismes fisiopatològics que produeixen les alteracions metabòliques en la SAHS. La fragmentació del son i la hipòxia intermitent son les dues conseqüències principals que caracteritzen la SAHS i que es consideren els desencadenants de l'activació d'una sèrie de vies fisiopatològiques intermediàries que inclouen: la hiperactivitat del sistema simpàtic, l'activació de les vies inflamatòries sistèmiques i dels teixit adipós, l'estrès oxidatiu, alteració de les hormones reguladores de la gana i diferents alteracions en els eixos hipotàlem-hipofisaris. Aquests mecanismes afavoriran el desenvolupament

de resistència a la insulina amb la conseqüent progressió a intolerància a la glucosa i finalment a la DMT2 establerta, veure figura 3.^{164,165}

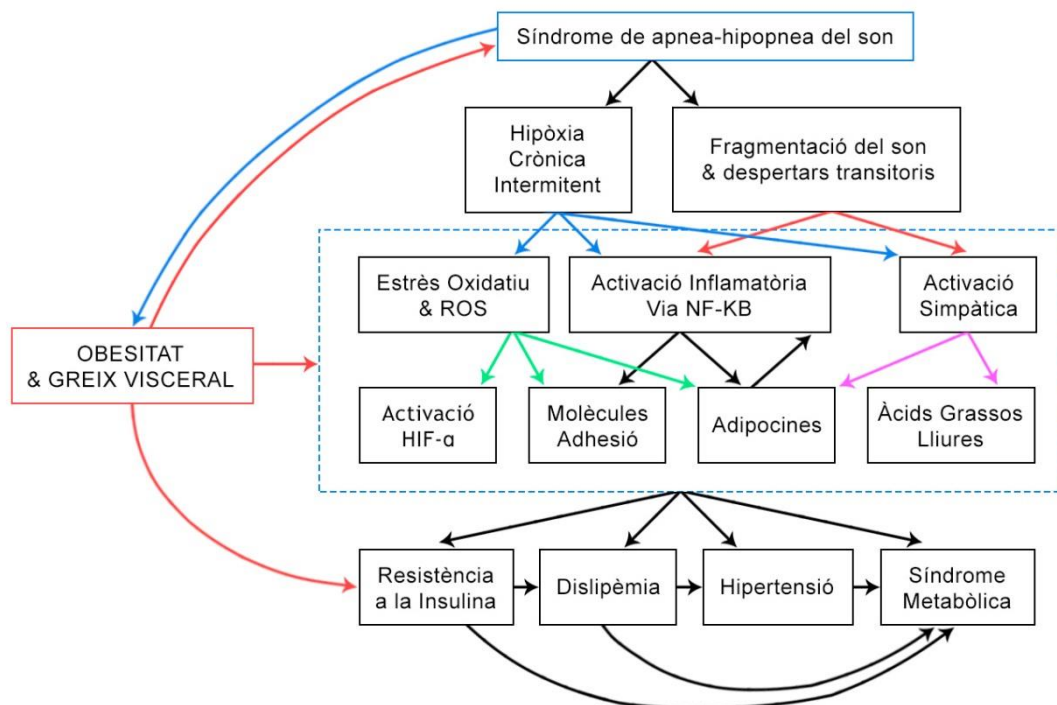


Figura 3. Mecanismes que regeixen les alteracions metabòliques en la SAHS.

1.9.1. Efectes de la privació i fragmentació del son sobre el metabolisme glucídic

Els episodis d'oclusió total o parcial de la via aèria (episodis d'apnea-hipopnea) produeixen despertars corticals transitoris (*arousals*) i, per tant, fragmentació del son, la alteració de la estructura i la reducció del son total. La relació entre la reducció en hores de son i el metabolisme glucídic en els pacients amb poblacions SAHS ha sigut poc estudiada. Hi ha múltiples estudis, tant longitudinals com transversals, fets amb poblacions diverses que suggereixen que el temps de son reduït, que en la majoria d'estudis es defineix com dormir menys de 6 hores, s'associa a un risc augmentat de desenvolupar DMT2.¹⁶⁶⁻¹⁷¹ De fet, en un metanàlisi recent, el risc relatiu per al desenvolupament de DMT2 en els pacients que presentaven son insuficient era de 1,28 (IC 95% 1,03-1,60) comparat amb els subjectes amb son normal.¹⁷² Aquests resultats estan recolzats per estudis experimentals fets en adults sans, en els quals es va demostrar que la restricció de

la durada del son produiria una disminució de la sensibilitat a la insulina i una reducció de la tolerància a la glucosa.¹⁷³⁻¹⁷⁵

Encara no es coneixen els mecanismes pels quals la restricció de les hores de son produeix l'alteració del metabolisme glucídic. Els pacients amb privació de son, tant total com parcial, així com els pacients que dormen crònicament poques hores pateixen un augment vespertí del cortisol plasmàtic i un augment de les catecolamines circulants,¹⁷⁶⁻¹⁷⁸ el que suggeriria que el dèficit de son produeix una alteració del eix hipotàlem-hipofisiari i l'activació del sistema simpàtic. Per una altra banda també s'ha demostrat que tant els subjectes que dormen normalment poques hores, com els que estan sotmesos a privació de son tenen un augment de la producció de citocines proinflamatòries, adipocines produïdes pel teixit adipós i una alteració de la secreció de l'hormona de creixement.¹⁷⁹

Paral·lelament, estudis transversals han determinat que el dormir poques hores és un factor de risc independent per guanyar pes i per tenir una distribució central del greix.¹⁸⁰ El resultat es podria explicar en part, per la preferència per aliments rics en carbohidrats i greixos dels subjectes sans que experimentalment es van sotmetre a restricció de son.¹⁸¹ Aquesta privació de son es va associar al desequilibri entre dues de les hormones reguladores de la gana, la leptina i la grelina, fet que explicaria l'augment de la sensació de la gana i per tant l'increment de la ingesta.¹⁸¹ Addicionalment, hi ha evidència que la somnolència i el cansament s'associen a una reducció de la activitat física i per tant a una reducció de la despesa energètica.³⁷

Independentment de la durada de son, el tret característic de la SAHS és la fragmentació del son. S'ha intentat emular experimentalment aquest patró mitjançant estímuls auditius o mecànics per aïllar l'efecte de la hipòxia intermitent. La fragmentació del son a curt termini (2-3 nits) ha demostrat disminuir la sensibilitat a la insulina.^{182,183} De fet en l'estudi de Tasali *et al.* suggereixen que la supressió del son profund produït per la fragmentació del mateix podria ser un dels mecanismes intermediaris.¹⁸² Encara que hi ha menys evidència que amb la hipòxia intermitent, en un assaig clínic fet amb adolescents, es va trobar associació entre el índex de *arousals* i la resistència a la insulina mesurada per l'HOMA-IR independent de l'obesitat i de l'IAH.¹⁸⁴

En conjunt podem dir que la privació i la fragmentació del son pot contribuir a la disfunció metabòlica en la SAHS. Però encara hi manquen estudis poblacionals, clínics i translacionals ben dissenyats que puguin determinar aïlladament l'efecte d'aquests estímuls sobre les vies intermediàries i el metabolisme.

1.9.2 Efectes de la hipòxia intermitent sobre el metabolisme glucídic

Una característica típica de la SAHS són els episodis ràpids d'hipòxia reoxigenació produïts en conseqüència del episodis de oclusió de la via aèria. De fet avui en dia la hipòxia intermitent (HI) es considera el signe guia de la SAHS i cada vegada més és el nexa d'unió entre la SAHS i la malaltia cardiovascular i les alteracions metabòliques.¹⁸⁵ Per aquest motiu s'han desenvolupat models animals que analitzen independentment aquest mecanisme. De fet, s'ha demostrat amb models de ratolins, tant prims com obesos, que la HI disminueix la sensibilitat a la insulina, i aquest efecte és reversible un cop cessa l'estímul.¹⁸⁶⁻¹⁸⁹ Es creu que la HI també pot afectar el metabolisme glucídic a través de l'augment del to simpàtic, de la inflamació sistèmica, de l'augment de l'estrès oxidatiu i també dels efectes directes sobre el teixit adipós, el fetge, el pàncrees i el músculs (veure figures 3 i 4).

1.9.2.1 Efectes sistèmics de la hipòxia intermitent: Activació simpàtica, inflamació sistèmica i estrès oxidatiu

S'ha demostrat àmpliament que la hipòxia intermitent estimula diverses vies fisiopatològiques. L'augment del to simpàtic produït per la HI ha sigut extensament estudiat tant en models animals com amb humans, i de fet, es considera que és un dels principals factors que contribueixen al desenvolupament de la hipertensió i a la malaltia cardiovascular en els pacients amb SAHS.¹⁹⁰ Paral·lelament s'ha demostrat que les catecolamines produeixen una disminució de la sensibilitat a la insulina i una disminució de la recaptació de glucosa mediada per la insulina.^{191,192} Per dades procedents d'estudis clínics fets en pacients amb SAHS, coneixem que hi ha un augment de la pressió arterial associada al augment de l'activitat simpàtica i que aquesta millora amb el tractament amb CPAP.¹⁹³⁻¹⁹⁵ De fet aquests resultats s'han pogut reproduir en models animals, en que s'ha demostrat que l'efecte de la hipòxia intermitent sobre la pressió arterial s'ha pogut inhibir a través

de fàrmacs bloquejadors del sistema simpàtic.¹⁹⁶ Aquestes dades s'han pogut corroborar recentment en un assaig fet amb ratolins sotmesos a hipòxia intermitent, en el qual els animals medul·lectomitzats milloraven la secreció d'insulina i la hiperglucèmia en comparació amb els que no havien sigut medul·lectomitzats.¹⁹⁷

Els episodis d'hipòxia-reoxigenació que es produeixen en la SAHS també s'han associat a la producció de radicals lliures i, per tant, es considera que promouen l'estrès oxidatiu, que secundàriament, també podria contribuir a l'alteració del metabolisme glucídic.¹⁹⁸ Jelic *et al.* van cultivar cèl·lules endotelials procedents de pacients amb SAHS i van detectar nivells més elevats de nitrotirosina i de ciclooxigenasa 2, marcadors de l'estrès oxidatiu i de la inflamació, en pacients amb SAHS, que posteriorment milloraven de forma significativa amb el tractament amb CPAP.¹⁹⁹ Addicionalment, estudis amb ratolins han demostrat que la HI produeix un increment de la peroxidació lipídica que es correlaciona amb la disfunció ventricular esquerra.²⁰⁰

La hipòxia intermitent activa la transcripció del factor nuclear factor kappa (NF-κB).²⁰¹ Aquest es considera un dels principals reguladors de la resposta inflamatòria i dels gens proaterogènics, que finalment produiran entre d'altres el TNF-α, la interleucina 8 o la molècula d'adhesió intercel·lular 1.²⁰¹⁻²⁰³ S'ha demostrat activació del NF-κB en teixit cardiovascular de ratolins sotmesos a HI i a monòcits cultivats de pacients amb SAHS.^{202,203} Amb aquest mateix model d'estudi de l'efecte de la HI sobre cultius cel·lulars, s'ha demostrat una activació preferencial del NF-κB sobre el factor induïble per hipòxia (HIF-1) que s'estimula sobretot per la hipòxia mantinguda.²⁰¹ De fet els mediadors sistèmics i vasculars dependents del NF-κB s'han trobat elevats en pacients amb SAHS, quan es comparen amb pacients control, el que contribueix en a la disfunció endotelial.²⁰⁴⁻²⁰⁶ El tractament amb CPAP ha demostrat millorar aquests mediadors.²⁰⁶

1.9.2.2. Efecte de la hipòxia intermitent sobre els òrgans diana

A banda dels efectes sistèmics de la hipòxia intermitent actualment tenim evidència dels efectes organespecífics que influiran directament sobre el control del metabolisme glucídic (figura 4).

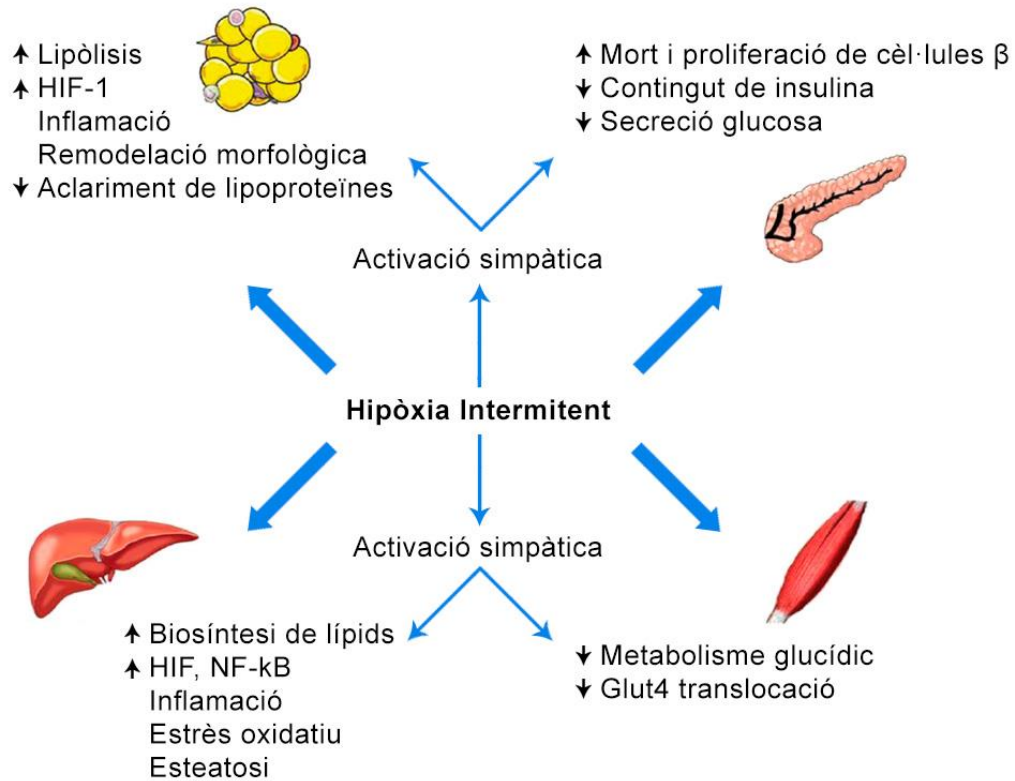


Figura 4. Mecanismes entre la hipòxia intermitent i la alteració del metabolisme glucídic.

1.9.2.2.1. Efecte de la hipòxia intermitent sobre el fetge

Tal i com s'ha esmentat a l'apartat 8 d'aquesta introducció, hi ha evidència de que la HI crònica a través de l'alliberació de radicals lliures, entre d'altres, podria activar el desenvolupament de NAFLD i accelerar la seva progressió a NASH. S'ha observat que l'exposició a HI incrementa els enzims clau per a la biosíntesi de lípids en el fetge, en part mediat pel factor de transcripció HIF-1.^{208,209} La producció de glucosa està augmentada per la HI, com corrobora l'augment del contingut de glicogen, l'increment de l'expressió d'enzims clau per a la gluconeogènesi i la secreció de glucosa pels hepatòcits.^{88,188,210}

Els metabòlits de l'òxid nítric així com l'òxid nítric-sintasa induïble augmenten amb la HI crònica paral·lelament a la reducció dels enzims antioxidants i provoquen dany a l'ADN i apoptosi dels hepatòcits.^{211,212} Addicionalment, la HI incrementa la peroxidació lipídica i l'expressió o fosforilació de la p47Phox, una proteïna citoplasmàtica reguladora de la NADPH oxidasa, enzim generador de

superòxids.²¹³ Les citocines proinflamàtòries, TNF α i la proteïna inflamatòria dels macròfags 2 no s'afectaven en els ratolins prims sotmesos a HI però, en canvi, si que s'incrementaven en els ratolins obesos sotmesos 4 setmanes a HI.¹⁸⁶ Períodes més perllongats d'hipòxia intermitent si que han demostrat l'augmenta de citocines proinflamàtòries com la interleucina-1 β , la IL-6, i la proteïna inflamatòria dels macròfags també en ratolins prims paral·lelament a l'activació del NF- κ B.²¹⁰ De fet, tant el factor de transcripció HIF-1 α com el NF- κ B s'han vist incrementats després de 5 setmanes de HI.²¹²

En resum, l'evidència experimental recolza que la HI promou la lesió hepàtica i incrementa la secreció de glucosa per diversos mecanismes. Els danys tant funcionals com estructurals podrien explicar, per tant, la relació entre la NAFLD i la SAHS desenvolupada anteriorment.

1.9.2.2.2. Efecte de la hipòxia intermitent sobre el pàncrees

Es dedueix la disfunció de les cèl·lules β pancreàtiques en resposta a la HI donada la observació de que la disminució de la sensibilitat a la insulina no es compensa per un increment de la secreció d'insulina. En pacients amb obesitat mòrbida sense alteracions basals del metabolisme glucídic, la SAHS es va associar independentment a un increment de la funció pancreàtica basal,²¹⁴ la qual cosa permet hipotetitzar sobre un possible efecte d'esgotament de les cèl·lules β pancreàtiques. Per una altra banda la secreció d'insulina pancreàtica no es va alterar en voluntaris sans exposats a HI, encara que la sensibilitat a la insulina si que va disminuir.²¹⁵ En ratolins sotmesos a HI crònica es va observar la mort i a la vegada proliferació de cèl·lules β pancreàtiques.²¹⁶ Donada la disminució de l'enzim convertidor de proinsulina en insulina (prohormona convertasa 1), es va veure que disminuïa el contingut d'insulina de les cèl·lules β pancreàtiques dels ratolins exposats a HI.²¹⁷ Experiments cel·lulars *in vitro* també han suggerit que l'exposició a HI disminueix la secreció d'insulina a través de la disminució dels gens transcriptors que modulen l'alliberació d'insulina.²¹⁸ Finalment, en models de ratolins també s'ha demostrat que els radicals lliures ocasionats per la HI produeixen danys directes a les cèl·lules β .^{217,218}

1.9.2.2.3. Efecte de la hipòxia intermitent sobre el múscul

Com a principal òrgan sensible a la insulina, el múscul és responsable del 80-90% de la recaptació de la glucosa mediada per la insulina. Molt pocs estudis s'han centrat en la resposta del múscul a la HI. Recentment, però, a través d'un model de ratolí sotmès a HI, s'ha observat la disminució del metabolisme glucídic al múscul solí.²¹⁹ Per altra banda, la translocació del GLUT4 podria explicar un dels mecanismes del desenvolupament de l'IR dels ratolins exposats a HI.²²⁰

1.9.2.2.4. Efecte de la hipòxia intermitent sobre el teixit adipós

El teixit adipós és considerat la peça fonamental per a la generació de resistència a la insulina. Els àcids grassos lliures produïts per lipòlisi del teixit adipós, son capaços de induir la resistència a la insulina a través del seus efectes en el múscul, fetge i al mateix teixit adipós.²²¹ Els resultats de diversos estudis han mostrat que la HI pot produir dislipèmia a través de la alliberació de FFA, el que pot ser normalitzat en humans amb el tractament amb oxigen suplementari.²²²⁻²²⁴ La HI també s'acompanya per canvis morfològics i funcionals en el teixit adipós dels ratolins.²²⁴ Addicionalment la dislipèmia induïda per HI també es deu a la disminució de l'aclariment de les lipoproteïnes donada la inhibició de la lipoproteinlipasa mediada pel HIF-1 i la angiopoietina-Like4.²²⁴⁻²²⁶ Finalment, la HI disminueix la adiponectina en els adipòcits,²²⁷ que com es veurà en un apartant més endavant, és una hormona que afavoreix la insulino-sensibilitat i pel contrari incrementa la producció de resistina, que contribuirà en el desenvolupament de insulinoresistència a través de les citocines TNF- α i IL-6.²²⁸

El teixit metabòlicament disfuncional dels adipòcits es caracteritza per la infiltració dels macròfags i altres cèl·lules immunes incloent limfòcits T i mastòcits. Addicionalment, els macròfags que es troben a l'obesitat son actius (fenotip M1) i produeixen infinitat de citocines com l'IL-6 TNF- α , també expressen l'òxid nítric-sintasa induïble i promouen d'aquesta manera la insulinoresistència induïda per l'obesitat. Paral·lelament en subjectes primis els macròfags expressen una altre patró d'activació (M2) amb expressió d'un altre espectre de factors antiinflamatoris com l'interleucina 10 o l'adiponectina que disminueixen la inflamació i estan associats a la reparació del teixit.²²⁹

Diversos estudis han demostrat que el teixit adipós visceral tant en humans obesos com en ratolins està sotmès a més hipòxia que en els controls prims.^{230,231} Donades les dificultats tècniques, no ha sigut possible la mesura directa de l'efecte de les fluctuacions d'oxigen que tenen lloc en la SAHS sobre el teixit adipós visceral en humans. En un model en ratolins Reinke *et al.* van observar que les fluctuacions d'oxigen s'atenuaven en el teixit adipós. No es coneix si aquest fet es reproduïx en humans.²³² Si s'extrapola aquest efecte, es podria estipular que hi pot haver diferències locals de l'efecte de la hipòxia sobre el teixit adipós dependent de la localització i la seva proximitat al sistema circulatori.

Recentment s'ha observat que l'activació del HIF-1 α té lloc en l'obesitat i com a resposta a la hipòxia tissular relativa, desencadenant un augment de la resposta inflamatòria i disfunció metabòlica.²³³ El bloqueig, tant genètic com farmacològic, d'aquest gen ha demostrat inhibir aquesta resposta. La activació de HIF-1 α en resposta a la HI ha demostrat que accelera la arteriosclerosi en ratolins prims amb deficiència de Apo-E.²²⁵ Utilitzant aquest mateix model animal, s'ha demostrat un increment d'infiltració de macròfags així com l'augment de l'expressió de la proteïna quimiotàctica dels monòcits, alteracions que es van associar a una reducció de la sensibilitat a la insulina i que promouen la progressió de les lesions d'arteriosclerosi.²²⁴ En biòpsies de pacients amb obesitat mòrbida que es sotmetien a cirurgia bariàtrica, no es va poder demostrar aquesta infiltració de macròfags mediada per la HI.⁹¹ No es disposa de dades de pacients no mòrbids, però en recolzament a aquesta hipòtesi, Gharib *et al.* en un estudi fet en ratolins van identificar un important efecte de la HI sobre l'expressió de gens en un mapeig del teixit adipós visceral de nombrosos processos, incloent el metabolisme i l'estrès oxidatiu.²³⁴

El teixit adipós es considera avui en dia un òrgan endocrí actiu que secreta una infinitat de proteïnes entre elles les adipocines que contribuiran a múltiples processos fisiopatològics.²³⁵ Cal mencionar per separat, la leptina, l'adiponectina i la quemerina per la seva importància i perquè han sigut objecte d'estudi de la seva relació amb la SAHS i el metabolisme.

La leptina és una hormona secretada pel teixit adipós, és reguladora de la gana i de la despesa energètica.²³⁶ Els nivells de leptina augmenten

exponencialment amb l'increment de l'IMC i prediu el desenvolupament de la SMet.²³⁷ Els pacients obesos son resistents a l'efecte de la leptina.²³⁶ La leptina va ser la primera adipocina que es va relacionar amb la SAHS: es va demostrar que els pacients amb SAHS tenien nivells més elevats de leptina i els seus nivells es correlacionaven amb al seva gravetat.²³⁸ Aquestes troballes es van associar amb una major disfunció endotelial^{239,240} i, per tant, s'ha hipotetitzat el seu paper sobre la patogènesis de les complicacions cardiovasculars en el SAHS. Alguns estudis observacionals han demostrat la milloria dels nivells de leptina amb la CPAP.^{38,241} En el model animal estudiat per Polotsky *et al.* l'augment de la insulinoresistència en resposta a la HI depenia de l'alteració de les vies relacionades amb leptina.¹⁸⁹

La adiponectina és una citocina produïda pel teixit adipós, regula la sensibilitat a la insulina i té un efecte antiinflamatori i protector sobre el llit vascular, per tant té un efecte clau i protector en el desenvolupament de la SMet.²⁴² Estudis amb pacients amb apnea del son no han sigut concloents ja que en alguns d'ells han trobat nivells més baixos en els pacient amb SAHS,²⁴³ mentre que altres estudis no han pogut corroborar aquests resultats.¹²⁴ Estudis *in vitro* han observat la supressió de la adiponectina per la HI.²²⁷

La quemerina és una adipocina descrita recentment, molt present en el teixit adipós juga un paper important en la lipogènesi, homeòstasi de la glucosa i en la diferenciació de l'adipòcit.²⁴⁴ Estudis clínics han observant que els pacients amb SMet tenen nivells més elevats de quemerina comparats amb els pacients sense SMet i aquesta s'associava al grau d'obesitat mesurat per l'IMC, al nivell sèric de TG i a la pressió arterial.²⁴⁵ En un estudi clínic asiàtic amb pacients amb obesitat moderada van veure que els pacients amb SAHS tenien nivells més elevats de quemerina, i aquesta es correlacionava amb la SAHS independentment de l'associació amb l'obesitat. En aquest estudi la quemerina també es correlacionava amb diferents marcadors d'inflamació, la qual cosa obre la possibilitat a que la quemerina sigui un dels nexes d'unió entre el teixit adipós, la inflamació i la SAHS.²⁴⁶

En resum, hi ha evidència creixent de l'efecte additiu de la HI en la disfunció del teixit adipós, però es requereixen més estudis translacionals per determinar el seu paper.

JUSTIFICACIÓ DE L'ESTUDI

2. JUSTIFICACIÓ DE L'ESTUDI

La síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son (SAHS) es caracteritza per episodis recurrents d'oclusió total o parcial de la via aèria superior durant el son que provoquen hipòxia intermitent, fragmentació del son, somnolència diürna excessiva i augment del risc cardiovascular.¹¹ L'obesitat i en particular l'obesitat central, és un dels principals factors de risc per al desenvolupament de la SAHS.⁵ En estudis poblacionals longitudinals realitzats als Estats Units, en concret en la coneguda cohort de Wisconsin es va demostrar que un increment d'un 10% de pes s'associava a un increment de 6 cops en la incidència de SAHS entre persones que no presentaven una SAHS a l'inici de l'estudi.³² Pel contrari, estudis de tractament amb dieta o tractament quirúrgic de l'obesitat han demostrat millores substancials de la SAHS associades a la pèrdua ponderal.²⁴⁷ Però l'obesitat, no és tan sols un factor de risc per a la SAHS, sinó que també és el principal factor de risc per a la malaltia cardiovascular, la diabetis i està associada a una major mortalitat.

La síndrome metabòlica (SMet) consisteix en un conjunt de factors de risc que inclouen l'obesitat central, alteració de glucosa en dejú, hipertrigliceridèmia i disminució del colesterol associat a lipoproteïnes d'elevada densitat.⁴³ De fet a la població general la SMet està associada a un augment del risc de patir diabetis mellitus tipus 2 (DMT2), esdeveniments cardiovasculars i a un augment de la mortalitat.^{43,48,248} La insulinoresistència i l'obesitat central es consideren l'eix vertebrador de la SMet.⁴³

Dades procedents d'estudis clínics i epidemiològics han demostrat l'associació entre la SAHS i els diferents components de la SMet, en particular la insulinoresistència, la hipertensió i la disfunció del metabolisme lipídic.²⁴⁹ Però sovint, l'associació entre SAHS i obesitat limita poder-ne separar els seus respectius papers tant en el metabolisme com en els efectes nocius cardiovasculars a llarg termini.^{9,99}

En un estudi recent (annex 1) el nostre grup va descriure que inclús en pacients amb obesitat mòrbida l'associació amb la SAHS conferia una major pertorbació metabòlica independentment de l'obesitat central. En aquest estudi es

va observar que el perfil metabòlic empitjorava progressivament amb l'increment de la gravetat de la SAHS,⁶⁷ suggerint que altres factors a part de l'obesitat jugaven un paper en el desenvolupament de la insulinoresistència i de les diferents alteracions metabòliques en els pacients amb SAHS.

La SAHS estimula a través de la hipòxia intermitent i la fragmentació del son diferents mecanismes intermediaris (l'estrès oxidatiu, la inflamació, l'estimulació simpàtica i la disfunció endotelial), que són potencialment perjudicials per a l'homeòstasi dels sistemes cardiovascular i metabòlic.^{14,249} La SAHS podria també incrementar la disfunció del greix visceral, jugant un paper clau en la relació entre l'obesitat i la SMet. De fet, avui en dia es considera el greix visceral com un òrgan actiu que produeix infinitat de molècules, com citocines proinflamatòries i adipocines (com la leptina i adiponectina), que també modulen els mecanismes reguladors de l'homeòstasi metabòlica, entre ells l'estrès oxidatiu, la inflamació i l'activació simpàtica, que estan directament involucrats en la progressió de l'arteriosclerosi, el factor clau per al desenvolupament del risc cardiovascular.²⁵⁰ Recentment s'ha descrit una nova adipocina, la quemerina, molt present al teixit adipós, que es pensa que juga un important paper en la lipogènesi, l'homeòstasi de la glucosa i la diferenciació de l'adipòcit.²⁴⁴

Diferents estudis clínics i experimentals han explorat les possibles interaccions entre la SAHS, l'obesitat i la SMet. Però a hores d'ara no queda clar l'impacte independent que cada un d'ells pot tenir en els mencionats mecanismes intermediaris i les seves respectives conseqüències fisiopatològiques.²⁵¹ A causa de l'efecte confusor de l'obesitat, la majoria d'estudis clínics han aparellat els pacients per l'índex de massa corporal (IMC) per analitzar les diferències dels pacients amb SAHS i sense SAHS. De totes maneres, aquest aparellament per l'IMC, pot ser insuficient, ja que el greix visceral és un factor de risc més potent que d'altres dipòsits de greix per predir els efectes adversos de l'obesitat sobre diferents aspectes de la salut com la hipertensió, la insulinoresistència, la DMT2 i la SMet.^{252,253} El diàmetre de la cintura (DC) es considera un bon predictor de la obesitat visceral,²⁵⁴ però no existeixen estudis aparellats per DC centrats en l'efecte la SAHS de les diferents vies fisiopatològiques en pacients amb obesitat mòrbida.

Com que al nostre estudi mencionat prèviament vàrem trobar una associació entre la SAHS i la SMet, inclús amb pacients amb obesitat mòrbida,⁶⁷ en la primera publicació que compona aquesta tesi doctoral vàrem investigar l'efecte de la SAHS sobre 4 de les principals vies fisiopatològiques involucrades amb la SMet, la arteriosclerosi i la homeòstasi de la glucosa. Per aquesta raó, vàrem comparar la síntesi de tres adipocines, (adiponectina, leptina i quemerina), citocines proinflamatòries, un marcador de disfunció endotelial (factor de creixent vascular endotelial) i un marcador d'arteriosclerosi en pacients amb obesitat mòrbida i SMet amb i sense SAHS. Finalment, es va incorporar un tercer grup comparatiu de malalts amb obesitat mòrbida sense SAHS i sense SMet i es van aparellar pel diàmetre de la cintura.

En la segona publicació que compona aquesta tesi doctoral, feta amb la mateixa població, ens hem centrat en l'efecte del tractament de la SAHS sobre la insulinoresistència, el metabolisme glucídic i la síndrome metabòlica. El tractament amb pressió continua positiva a la via aèria (CPAP) és el tractament d'elecció en casos de SAHS moderada-greu de l'adult.¹¹ S'ha demostrat que la CPAP manté permeable la via aèria, impedit el seu col·lapse durant el son i, per tant, pot prevenir la hipòxia intermitent i l'activació simpàtica, ambdós mecanismes considerats les principals vies involucrades en les conseqüències cardiovasculars i metabòliques de la SAHS.²⁹

Mentre que nombrosos estudis controlats han demostrat que la CPAP millora la clínica i l'estat de salut en general del pacient amb SAHS, escassos estudis han analitzat el efectes del tractament d'elecció de la SAHS sobre el perfil metabòlic.²⁹ Els estudis existents han donat resultats contradictoris i per tant no han sigut concloents.^{40,70,80,158} Inclús s'ha suggerit que la CPAP, pot ser tan sols beneficiosa en poblacions seleccionades de subjectes sense obesitat i amb una SAHS greu en les que l'obesitat no fos el factor determinat principal per a les alteracions metabòliques.²⁵⁵ De totes maneres aquesta hipòtesi no ha sigut provada perquè la majoria d'estudis exclouen els pacients amb obesitat i en concret els pacients amb obesitat mòrbida.

Amb l'objectiu d'estudiar possibles poblacions diana en que la SAHS pugui exercir un efecte deleteri sobre el metabolisme, en aquest treball de tesi doctoral

s'ha escollit una població extrema en que interaccionen les dues patologies i per tant amb un elevat risc de patir tant alteracions metabòliques com una SAHS greu. En el segon article publicat i seguint amb el model de pacients amb obesitat mòrbida, s'ha dissenyat un estudi aleatoritzat controlat de grups paral·lels en que es comparen l'efecte del tractament amb CPAP durant 12 setmanes amb el tractament conservador en una població de pacients amb obesitat mòrbida amb SAHS greu, sense diabetis, que estaven inclosos en un programa de cirurgia bariàtrica.

HIPÒTESI DE L'ESTUDI

3. HIPÒTESI DE L'ESTUDI

3.1. Hipòtesi comuna dels estudis de la tesi

La síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son (SAHS) és un dels mecanismes a través dels quals l'obesitat produeix síndrome metabòlica (SMet) i disfunció metabòlica, perpetuant les conseqüències sistèmiques de l'obesitat.

3.2. Hipòtesi de l'estudi 1

Els mecanismes pels quals la SAHS, en subjectes amb obesitat mòrbida, augmenta la prevalença de la SMet, les alteracions del metabolisme glucídic i la progressió de l'arteriosclerosi, inclouen diverses vies fisiopatològiques, entre elles, l'activació de la cascada inflamatòria, l'augment de les adipocines (leptina i quemerina), la inhibició de la producció d'adiponectina, l'increment del factor de creixent vascular endotelial (VEGF) i del lligand soluble del CD40 (sCD40L). Aquest increment està relacionat amb la intensitat de la hipòxia intermitent.

3.1. Hipòtesi de l'estudi 2

En els pacients amb obesitat mòrbida i SAHS greu, el tractament amb la pressió contínua a la via aèria (CPAP) millora la insuliroresistència, que és la base fisiopatològica de la SMet.

En la mateixa població, el tractament dels pacients amb SAHS greu disminuirà la prevalença de la SMet, millorarà la tolerància a la glucosa i en general el metabolisme glucídic. El tractament amb CPAP millorarà també el perfil lipídic.

OBJECTIUS CONCRETS

4. OBJECTIUS CONCRETS

4.1. Objectius de l'estudi 1

Els pacients amb SAHS greu i obesitat mòrbida presenten una major elevació de marcadors proinflamatoris, adipocines, factor de creixent vascular endotelial (VEGF) i del lligand soluble del CD40 (sCD40L), comparats amb els pacients amb obesitat mòrbida sense SAHS, amb i sense síndrome metabòlica. Aquest increment es correlaciona amb la gravetat de la SAHS i la hipòxia intermitent, mesurades a través de l'índex d'apnea-hipopnea del son i de l'índex de dessaturació arterial.

4.2. Objectius de l'estudi 2

En la població d'obesos mòrbids amb SAHS greu el tractament amb CPAP pot millorar la insulinoresistència com a marcador de l'eix unitari de disfunció metabòlica.

El tractament amb CPAP en els pacients obesos mòrbids i SAHS greu millora el percentatge de SMet, la tolerància a la glucosa, el control glicèmic mesurat per la hemoglobina glicosilada i pot millorar el perfil lipídic.

ESTUDIS PUBLICATS

5. ESTUDIS PUBLICATS

- **Salord N.**, Gasa M., Mayos M., Fortuna-Gutierrez A. M., Montserrat J. M., Sánchez-de-la-Torre M., Barceló A., Barbé F., Vilarrasa N., Monasterio C. *Impact of OSA on biological markers in morbid obesity and metabolic syndrome.* J Clin Sleep Med. 2014;10(3):263-70.
- **Salord N.**, Fortuna A. M., Monasterio C., Gasa M., Pérez A., Bonsignore M. R., Vilarrasa N., Montserrat J. M., Mayos M. *A Randomized Controlled Trial of Continuous Positive Airway Pressure on Glucose Tolerance in Obese Patients with Obstructive Sleep Apnea.* Sleep. 2015 Aug 31. pii: sp-00651-14. [Epub ahead of print]

RESULTATS

6. RESULTATS

6.1. Article 1

Impact of OSA on Biological Markers in Morbid Obesity and Metabolic Syndrome

Neus Salord, M.D.^{1,4}; Mercè Gasa, Ph.D.^{1,2}; Mercedes Mayos, Ph.D.^{3,5}; Ana Maria Fortuna-Gutierrez, M.D.^{4,5};
Josep Maria Montserrat, Ph.D.^{4,6}; Manuel Sánchez-de-la-Torre, Ph.D.^{4,7}; Antonia Barceló, Ph.D.^{4,8}; Ferran Barbé, Ph.D.^{4,8};
Núria Vilarrasa, Ph.D.^{9,10}; Carmen Monasterio, Ph.D.^{1,2,4}

¹Sleep Unit, Department of Respiratory Medicine, Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat, Spain; ²Section of Respiratory Medicine, Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL), Hospitalet de Llobregat, Spain; ³Universitat Autònoma de Barcelona, Department of Medicine, Barcelona, Spain; ⁴Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Spain; ⁵Sleep Unit, Department of Respiratory Medicine, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain; ⁶Sleep Unit, Department of Respiratory Medicine, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain; ⁷Respiratory Diseases Research Unit, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, IRB Lleida Lleida, Spain; ⁸Clinic Analysis Service, Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca, Spain; ⁹Department of Endocrinology and Nutrition, Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat, Spain; ¹⁰CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Barcelona, Spain

Background and Objective: There is compelling evidence that obstructive sleep apnoea (OSA) can affect metabolic syndrome (MetS) and cardiovascular risk, but the intermediate mechanisms through which it occurs have not been well defined. We explored the impact of OSA in morbidly obese patients with MetS on adipokines, pro-inflammatory markers, endothelial dysfunction, and atherosclerosis markers.

Methods: We included 52 morbidly obese patients in an observational study matched for age, gender and central obesity in 3 groups (OSA-MetS, Non-OSA-MetS, and Non OSA-non-MetS). Anthropometrical, blood pressure, and fasting blood measurements were obtained the morning after an overnight polysomnography. VEGF, soluble CD40 ligand (sCD40L), TNF- α , IL-6, leptin, adiponectin, and chemerin were determined in serum by ELISA. OSA was defined as apnea/hypopnea index ≥ 15 and MetS by NCEP-ATP III.

Results: Cases and control subjects did not differ in age, BMI, waist circumference, and gender (43 ± 10 years, 46 ± 5 kg/m², 128 ± 10 cm, 71% females). The cases had severe OSA with

47 (32-66) events/h, time spent $< 90\%$ SpO₂ 7% (5%-31%). All groups presented similar serum cytokines, adipokines, VEGF, and sCD40L levels.

Conclusions: In a morbidly obese population with established MetS, the presence of OSA did not determine any differences in the studied mediators when matched by central obesity. Morbidly obese NonOSA-NonMetS had a similar inflammatory, adipokine VEGF, and sCD40L profile as those with established MetS, with or without OSA. Obesity itself could overwhelm the effect of sleep apnea and MetS in the studied biomarkers.

Keywords: Obstructive sleep apnoea, obesity, metabolic syndrome, adipokines, inflammatory markers, endothelial dysfunction

Citation: Salord N; Gasa M; Mayos M; Fortuna-Gutierrez AM; Montserrat JM; Sánchez-de-la-Torre M; Barceló A; Barbé F; Vilarrasa N; Monasterio C. Impact of OSA on biological markers in morbid obesity and metabolic syndrome. *J Clin Sleep Med* 2014;10(3):XXX-XXX.

Metabolic syndrome (MetS) is a cluster of metabolic and cardiovascular abnormalities (central obesity, impaired glucose metabolism, hypertension, hypertriglyceridemia, and lower high-density lipoprotein cholesterol) that is associated with an increase in cardiovascular morbidity and mortality.^{1,2} There is increasing evidence, mainly from studies in moderately obese sleep-referred patient cohorts, that obstructive sleep apnea (OSA) may impact negatively on MetS or some of its components, independent of the body mass index (BMI).³ Furthermore, in a large cross-sectional study of non-selected morbidly obese patients with a high prevalence of MetS,⁴ OSA was associated with a worse metabolic profile independent of BMI, suggesting that OSA plays an important role in the pathogenesis of metabolic dysfunction, even in morbid obesity.

OSA stimulates, mainly through intermittent hypoxia, several intermediate mechanisms including oxidative stress, inflammation, sympathetic activation, and endothelial dysfunction that

BRIEF SUMMARY

Current Knowledge/Study Rationale: There is evidence that obstructive sleep apnea (OSA) can affect metabolic syndrome (MetS) and cardiovascular risk even in morbid obesity, but the intermediate mechanisms through which this occurs have not been well defined.

Study Impact: In a morbidly obese population with established MetS, the presence of OSA did not determine any differences in inflammatory, adipokine, VEGF, or sCD40L profile. Obesity itself could produce a ceiling effect on sleep apnea and MetS in the studied intermediate biomarkers.

are potentially harmful to the cardiovascular system and metabolism.⁵ OSA could also increase visceral fat dysfunction, which could play a pivotal role in the relationship between obesity and MetS.⁶ Visceral fat is now considered a highly active organ that produces a variety of molecules, such as inflammatory cytokines and adipokines (e.g., leptin and adiponectin); these also modulate mechanisms related to metabolic dysfunction, such

N Salord, M Gasa, M Mayos et al

as oxidative stress, inflammation, and sympathetic activation, and they are also involved in the progression of arteriosclerosis, the key factor for cardiovascular risk.⁶ More specifically, one recently described adipokine, chemerin, highly expressed in adipose tissue, is thought to play an important role in metabolic lipogenesis, glucose homeostasis, and adipocyte differentiation.⁷

Many experimental and clinical studies have explored the possible underlying interaction between OSA, obesity and MetS, but there has been no clarification to date of the impact of each entity on the intermediate mechanisms related to pathological consequences.³ Given the concern about the confusing effect of obesity, most clinical studies match patients for BMI to assess differences between OSA patients and controls without OSA. The BMI could be insufficient, however, as abdominal visceral fat is a stronger risk factor than other fat deposits for adverse health consequences such as hypertension, insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome.^{8,9} Waist circumference (WC) has been considered a surrogate marker of visceral adiposity.¹⁰ However, no studies matched by WC have focused on the effect of OSA on MetS and its pathogenic pathways in morbidly obese patients.

As an association between OSA and MetS has been observed even morbidly obese patients,⁴ in the present observational study, we investigated how the presence of OSA could be associated with alterations in three of the main known pathways involved in MetS and atherosclerosis, its underlying physiopathological process. For this purpose we compared the synthesis of several adipokines, including chemerin, pro-inflammatory markers and endothelial dysfunction markers in morbidly obese patients with MetS with and without OSA, as well as a third group of morbidly obese patients without MetS and without OSA and we matched them for waist circumference.

METHODS

Study Design, Setting, and Participants

We included patients with MetS criteria from a previous published morbid obesity (MO) cohort of 159 patients from 3 university hospitals.⁴ Patients with and without OSA were matched for age, gender, and waist circumference (as a measure of central obesity). The patients included were determined by the ability to match pairs from the previous cohort. To explore the effect of morbid obesity alone, we also included a third group without MetS and without OSA, matched by the same confounders. The study protocol was approved by the ethics committee of each hospital (PR052/08, 07/064/797, PI080277). All participants gave informed written consent.

Each participant completed a detailed questionnaire on medical history, cardiovascular risk factors, and current medication. Anthropometric characteristics included BMI, neck circumference (at the level of the laryngeal prominence), waist circumference (WC, measured midway between the lowest rib and the iliac crest), waist/hip ratio, and percentage of body fat mass measured with electrical bioimpedance (BIA 101, Akern Bioresearch, Florence, Italy). Blood pressure (BP) was measured by a standard mercury sphygmomanometer while the subject was seated at rest; the mean value of ≥ 2 measurements was calculated.

Sleep Study

OSA was determined by a full overnight polysomnography (PSG) (Siesta, Compumedics, Abbotsford, Australia). PSG interpretation was assessed according to the standard criteria of Rechtschaffen and Kales. Apnea was defined as a cessation of flow ≥ 10 sec and hypopnea as 30% to 90% flow reduction for ≥ 10 sec accompanied by a fall $\geq 3\%$ in oxyhemoglobin saturation (SpO_2) and/or a microarousal. The apnea-hypopnea index (AHI) was the total number of such events per hour of sleep. An AHI of 15 events/h was chosen to define the presence of OSA according to the study design. The degree of nocturnal desaturation was assessed by the mean percentage of sleep time with SpO_2 below 90% (Time $SpO_2 < 90\%$). Excessive daytime sleepiness was evaluated by the Epworth Sleepiness Scale (ESS).

Blood Measurements and Definition of Metabolic Syndrome

The morning after PSG (08:00-09:00), a venous blood sample was obtained from all patients in fasting conditions. Fasting blood glucose (FBG), percentage of glycosylated hemoglobin (HbA1c), total cholesterol, triglycerides, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, and very low-density lipoprotein (VLDL) cholesterol levels were determined with standard laboratory methods. Insulin was determined by the automated chemiluminescence method (Advia Centaur, Siemens, NY, USA) with a sensitivity of 0.5 mU/L and an inter-assay coefficient of variation (CV) of 7.5%. Insulin resistance was estimated using the homeostasis model assessment (HOMA) score, defined by fasting serum insulin mU/L \times fasting plasma glucose mmol/L/22.5. MetS was defined according to the NCEP-ATP III modified criteria.¹

Serum Special Sampling

Blood samples obtained in tubes without anticoagulant were centrifuged immediately; the resulting serum was stored in aliquots at -80°C until analysis. Measurements were always made in duplicate, and the mean values were used for analysis. Biomarker levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercially available kits: VEGF (Invitrogen, California, USA); soluble CD40 ligand (sCD40L) (R&D Systems, Minneapolis, USA); TNF- α (Invitrogen California, USA); IL-6 (Invitrogen California, USA); leptin (SPI-BIO, Montigny, France); adiponectin (SPI-BIO, Montigny, France) and chemerin (USCN Life Science, Wuhan, China). See online data for information about assay sensitivity and inter- and intra-assay coefficients of variation (Table S1).

Statistical Methods

Patients were matched by a weighted Manhattan distance based on the normalized variables calculated between patients. Each patient from one group was matched with another in the other group with the lowest distance from him/her. If the matching was performed in a 1:2 proportion, each patient was matched to the 2 patients in the other group with the lowest distance from him/her. Sample size was determined by the ability to match pairs from the previous cohort.

Results are shown as median and interquartile range. Due to the skewed distribution and sample size, comparisons among

Table 1—Patients’ general characteristics: matched 1:1 and 1:2 by waist circumference, age and sex.

	Non-OSA & Non-MetS (IAH < 15) N = 13	Non-OSA & MetS (IAH < 15) N = 13	OSA & MetS (IAH > 15) N = 26	p value between groups
Age, years	39 (31-46)	45(36-53)	45 (39-51)	0.114
Sex, n females (%)	9 (69.2%)	8 (61.5%)	20 (76%)	0.597
BMI, kg/m ²	44.4 (41-47)	46.2 (43-51)	45.1(42-50)	0.505
Waist circumference, cm	124 (117-132)	130 (120-137)	128 (121-135)	0.366
Weight, kg	121 (107-142)	124 (108-133)	120 (111-134)	0.863
Waist to hip ratio	0.88 (0.85-0.97)	0.89 (0.85-0.96)	0.93 (0.89-0.99)	0.155
Postmenopausal status, ratio (%)	1/9 (11%)	2/8 (25 %)	5/20 (25%)	0.679
Neck circumference, cm	42 (39-44)	41 (40–47)	43 (41-49)	0.232
Fat Mass, %	46 (37 -50)	51 (48-57)	51 (43-55)	0.069

MetS, metabolic syndrome. Data are presented as median (interquartile range) for continuous data and n (percentage) for categorical data. Kruskal-Wallis with Bonferroni PostHoc and chi-square test were performed.

Table 2—Previous diseases and treatments: matched 1:1 and 1:2 by waist circumference, age and sex.

	Non-OSA & Non-MetS (IAH < 15) N = 13	Non-OSA & MetS (IAH < 15) N = 13	OSA & MetS (IAH > 15) N = 26	p value between groups
Ischaemic heart disease n (%)	0	0	1 (4%)	1
Current smoker, n (%)	3 (23%)	3 (23%)	3 (12%)	0.811
Insulin therapy, n (%)	1 (8%)	1 (8%)	1 (4%)	1
Oral hypoglycemiant, n (%)	0	2 (15%)	6 (23%)	0.151
Previous diabetic treatment, n (%)	1 (8%)	3 (23%)	7 (27%)	0.375
Aspirin, n (%)	0	2 (15%)	2 (8%)	0.353
Statins, n (%)	0**	1 (8%)	7 (27%)	0.074
NSAIDs, n (%)	1 (8%)	2 (15%)	4 (15%)	0.882
ACEIs, n (%)	1 (8%)	3 (23%)	6 (23%)	0.649
ARBs, n (%)	0	0	2 (8%)	0.490
Calcium antagonists, n (%)	0	0	1 (3.8%)	1
β-blockers	0	0	5 (19.2%)	0.065
Diuretics, n (%)	2 (15%)	3 (23%)	6 (23%)	0.911
Number of anti-hypertensive treatments				
None	10	7	14	< 0.001
One treatment	3	6	4	
≥ 2 treatments	0	0	8	

MetS, metabolic syndrome; ACEIs, angiotensin-converting enzyme inhibitors; ARBs, angiotensin receptor blockers; NSAIDs, non-steroidal anti-inflammatory drugs. Data are presented as n (Percentage). Exact Fisher test and McNemar test were performed. *p < 0.05 between Non-OSA-Non-MetS and Non-OSA & MetS patients. **p < 0.05 between Non-OSA-Non-MetS and OSA & MetS patients. ***p > 0.05 between Non-OSA & MetS and OSA & MetS patients.

the 3 groups were performed with the Kruskal-Wallis test, with post hoc Bonferroni correction for multiple comparisons. Correlations between variables were explored using the Spearman test. Statistical significance was defined as p < 0.05.

RESULTS

Twenty-six patients with OSA and MetS (OSA-MetS) criteria were matched with 13 non-OSA patients with MetS (non-OSA-MetS) and 13 non-OSA and non-MetS controls (non-OSA-non-MetS). Cases and control subjects were similar in age, weight, and waist circumference, as expected (Table 1). The 3 groups had similar BMI and neck circumference, and there was a nonsignificant trend toward higher fat mass in the 2

MetS groups (Table 1). As usual in morbid obesity, the cohorts were mainly composed of premenopausal women. Although the OSA-MetS patients were taking more medication and had higher previously diagnosed hypertension, there were no differences between the groups regarding drugs used or smoking status (Table 2). Post hoc analysis only showed a significant difference in the higher use of statins in OSA-MetS patients with respect to non-OSA -non-MetS patients.

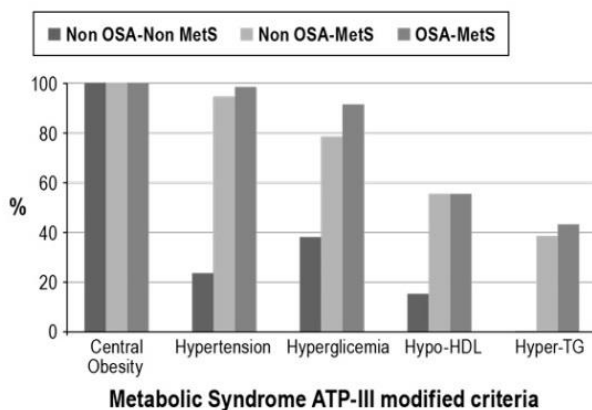
The OSA-MetS patients had a high AHI with a median and interquartile range (IQR) of 47.1 (32-66) events/h, Time SpO₂ < 90% 7% (5%-31%), and a mean and minimal night oxyhemoglobin saturation of 92% (90%-93%) and 73% (65%-81%), respectively (Table 3). Although OSA patients had higher arousal indexes, all the groups had similar sleep

Table 3—Patients' sleep characteristics: matched 1:1 and 1:2 by waist circumference, age and sex

	Non-OSA & Non-MetS (IAH < 15) N = 13	Non-OSA & MetS (IAH < 15) N = 13	OSA & MetS (IAH > 15) N = 26	p value between groups
IPAQ (METs)	2,241 (631-5063) (n = 12)	1,935 (707-4013)	2,142 (537-3462) (n = 25)	0.928
Sleep hours by sleep diary	7.5 (4.1-8.5) (n = 11)	7.5 (5.3-7.7)	8 (6.3-9) (n = 25)	0.216
Epworth Sleepiness Score	6 (3-10)	5 (3.5-8.5)	7.5 (3.8-11.5)	0.643
AIH (events/hour)	11.5 (9-14)**	13.3 (8-14)***	47.1 (32-66)	< 0.001
Time spent < 90% of TST (%)	0.1 (0-1)**	0.1 (0-1)***	7.0 (5-31)	< 0.001
Sleep efficiency (%)	76.3 (72-86)	79.4 (73-87)	84.4 (76-88)	0.440
Phase I sleep (%)	6.6(5-9)	7.3 (4-11)	5.8 (3-13)	0.916
Phase II sleep (%)	51.6 (48-58)	63.8 (51-76)	54.8 (49-63)	0.107
Slow wave sleep, (%)	28.1 (18-31)	21.6 (9-29)	18.7 (14-25)	0.252
REM sleep (%)	14.5 (12-18)	14.5 (8-18)	15.7 (13-17)	0.635
Arousal Index (arousals/hour)	11.2 (9-15)**	11.0 (7-16)***	30.2 (20-47)	< 0.001
Mean night oxyhaemoglobin saturation (%)	95 (94-97)**	94 (94-96)*** (n = 12)	92 (90-93)	< 0.001
Minimal night oxyhaemoglobin saturation (%)	87 (86-90)**	88 (84-90)***	73 (65-81)	< 0.001
ODI 4% (dip/hour)	3 (2-5)**	4 (3-7)***	28 (17-51) (n = 25)	< 0.001

METs, metabolic equivalent tasks; MetS, metabolic syndrome; TST, total sleep time; IPAQ, International Physical Activity Questionnaire; REM, rapid eye movement; ODI, oxyhaemoglobin desaturation (dip) index. Data are presented as median (interquartile range) for continuous data. Kruskal-Wallis with Bonferroni PostHoc test was performed. *p < 0.05 between Non-OSA-Non-MetS and Non-OSA & MetS patients. **p < 0.05 between Non-OSA-Non-MetS and OSA & MetS patients. ***p > 0.05 between Non-OSA & MetS and OSA & MetS patients.

Figure 1—Distribution of metabolic syndrome components between the three groups.



no differences were found in the post hoc analysis between MetS patients with and without OSA (Table 4). When glucose metabolism was further analyzed, no differences were found in fasting insulin, the HOMA index, or glycosylated hemoglobin (Table 4). OSA-MetS patients tended to present a pattern of more impaired liver enzymes, but this was only significant for ALT. Figure 1 shows the distribution of MetS components in the 3 groups.

All the groups presented similar serum levels of cytokines (IL-6, TNF- α), adipokines (leptin, adiponectin, and chemerin), VEGF, and sCD40L (Table 5). No correlation was found between the biomarkers and any OSA variable (data not shown). Leptin was closely correlated with the anthropometric variables (BMI [r = 0.479, p < 0.001], waist-to-hip ratio [r = -0.598, p < 0.001], and fat mass [r = 0.401, p = 0.004]), while adiponectin was correlated negatively to waist-to-hip ratio (r = -0.598, p < 0.001), waist (r = -0.407, p = -0.003), and neck circumference (r = -0.406, p < 0.003) and VEGF with fat mass (r = 0.3, p = 0.021).

DISCUSSION

The present study is the first to explore the effect of OSA on the many known mechanistic pathways that may contribute to MetS in a non-selected morbidly obese population. In this extremely obese population with established MetS, the presence of OSA did not produce any differences in serum cytokines (IL-6, TNF- α), adipokines (leptin, adiponectin and chemerin), or VEGF and sCD40L levels, as no difference was found between

efficiency and sleep stage percentages. No differences between the groups were encountered in physical activity measured by the IPAQ questionnaire or sleep hours measured by the sleep diary (Table 3).

As regards the MetS components, there were significant differences in systolic and diastolic blood pressure, triglycerides, HDL cholesterol, and fasting glucose. These differences were, as expected, mainly the result of the more favorable metabolic profile of the non-OSA-non-MetS obese group (Table 4). Although there was a significant trend of OSA-Mets patients with higher TG and lower HDL cholesterol levels,

Table 4—Patients' metabolic characteristics: matched 1:1 and 1:2 by waist circumference, age and sex.

	Non-OSA & Non-MetS (IAH < 15) N = 13	Non-OSA & MetS (IAH < 15) N = 13	OSA & MetS (IAH > 15) N = 26	p value between groups
Median systolic blood pressure (mmHg)	120 (117-126)**	145 (129-152)*	140 (132-151)	0.002
Median diastolic blood pressure (mmHg)	80 (70-82)**	92 (83-100)*	90 (85-98)	0.001
Triglycerides (mmol/l)	1,00 (0.80-1.15)**	1.10 (0.85-1.97)	1.40 (1.00-1.93)	0.041
Total cholesterol (mmol/l)	4.95 (4.32-5.38)	5.16 (4.73-5.40)	4.72 (4.31-5.32)	0.493
HDL-cholesterol (mmol/l)	1.34 (1.17-1.52)**	1.23 (0.89-1.53)	0.99 (0.86-1.22)	0.007
LDL-cholesterol (mmol/l)	1.34 (1.17-1.57)	1.23 (0.89-1.72)	1.01 (0.93-1.38) (n = 25)	0.098
VLDL-cholesterol (mmol/l)	0.35 (0.15-0.55)	0.36 (0.26-1.19)	0.55 (0.26-0.79)	0.364
Fasting glucose (mmol/l)	5.1 (4.9-5.7)**	6.2 (5.5-7.5)*	6.1 (5.6-6.6)	0.001
Fasting insulin (MU/l)	20.5 (10.5-24.6) (n = 11)	25.8(16.1-28.7) (n = 10)	24.4 (16.5-26.9) (n = 19)	0.748
HOMA (mcroU/ml/dl)	4.5 (2.9-5.2) (n = 11)	5.1 (3.1-5.9) (n = 10)	5.1 (3.4-5.9) (n = 19)	0.671
Glycosylate haemoglobin (%)	5.6 (5.4-5.7)	5.6 (5.0-6.6)	5.9 (5.5-6.2)	0.959
AST (Ukat/L)	0.29 (0.24-0.33)	0.27 (0.24-0.34)	0.32 (0.26-0.41)	0.216
ALT (Ukat/L)	0.24 (0.21-0.35)**	0.29 (0.20-0.50)	0.37 (0.29-0.51)	0.024
GGT (Ukat/L)	0.28 (0.21-0.34)	0.34 (0.25-0.53)	0.43 (0.26-0.78)	0.104
AP (Ukat/L)	1.17 (0.93-1.50)	1.16 (0.90-1.40)	1.25 (1.10-1.88)	0.507
Metabolic index (n)	2 (1.5-2)**	4 (3-4)*	4 (3-4)	< 0.001

MetS, metabolic syndrome; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; VLDL, very low-density lipoprotein cholesterol; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; GGT, gamma-glutamyltransferase; AP alkaline phosphatase. Data are presented as median (interquartile range) for continuous data. Kruskal-Wallis with Bonferroni PostHoc was performed. *p < 0.05 between Non-OSA-Non-Mets and Non-OSA & MetS patients. **p < 0.05 between Non-OSA-Non-Mets and OSA & MetS patients. ***p > 0.05 between Non-OSA & MetS and OSA & MetS patients.

Table 5—Biological markers: matched 1:1 and 1:2 by waist circumference, age and sex.

	Non-OSA & Non-MetS (IAH < 15) N = 13	Non-OSA & MetS (IAH < 15) N = 13	OSA & MetS (IAH > 15) N = 26	p value between groups
IL-6 (pg/ml)	1.5 (0.3-3.5)	1.0 (0.2-2.6)	1.6 (0.5-3.2)	0.784
TNF-α (pg/ml)	9.1 (7.5-11.5)	9.7 (6.8-13.6)	9.8 (8.0-12.3)	0.889
Leptin (ng/ml)	43.7 (37.1-58.3)	46.7 (34.2- 68.1)	46.0 (29.9-74.5)	0.956
Adiponectin (µg/ml)	17.22 (16.1-18.8)	20.11 (14.6-24.1)	17.1(11.7-20.7)	0.508
Chemerin (ng/ml)	73.2 (62.0-98.4)	73.0 (57.4-90.1)	73.1(55.9-98.4)	0.947
VEGF (pg/ml)	290 (117-375)	456 (359-759)	287 (146-547)	0.121
sCD40L (ng/ml)	4.0 (2.2-5.4)	5.0 (3.2-5.3)	4.3(3.0-6.2)	0.693

MetS, metabolic syndrome; IL-6, interleukin 6; TNF-α, tumor necrosis factor α; VEGF, vascular endothelial growth factor; sCD40L, soluble CD40 ligand. Data are presented as median (Interquartile range) for continuous data. Kruskal-Wallis with Bonferroni PostHoc was performed. *p < 0.05 between Non-OSA-Non-Mets and Non-OSA & MetS patients. **p < 0.05 between Non-OSA-Non-Mets and OSA & MetS patients. ***p > 0.05 between Non-OSA & MetS and OSA & MetS patients.

OSA and non-OSA patients with MetS matched by central obesity. Morbidly obese patients without both established MetS and OSA already have a similar biomarker-altered profile.

The relationship between OSA and MetS or some of its components has been established, mainly through cohorts referred by sleep units with concomitant mild-to-moderate obesity.³ The major limitation of these studies is the control of obesity itself, as this is the main confounding factor and is often adjusted by multivariate analysis. To address this issue, Barceló et al. excluded patients with obesity and matched a sleep unit-referred cohort by BMI; OSA patients showed higher levels of free fatty acids, CRP, and oxidative stress markers.¹¹ Trombetta

et al. matched MetS patients by BMI with and without OSA; they demonstrated that in this high-risk cardiovascular population with moderate obesity, OSA was associated with greater sympathetic drive.¹² Moreover, there have been few case-control studies that matched patients by central adiposity to study the effect of OSA on the different components of MetS¹³ and the different biomarkers¹⁴ related to both conditions. It is therefore important to establish whether OSA and its associated metabolic abnormalities are independent of central obesity.

Our study focused on an extremely obese population, composed mainly of premenopausal women, in which we previously showed an association of OSA with a worse

N Salord, M Gasa, M Mayos et al

metabolic profile, mainly through systolic blood pressure, triglycerides, and Hb1Ac, after adjusting by BMI and waist circumference.⁴ In order to explore the possible mechanistic pathways explaining this association, we matched MetS patients according to their OSA status by waist circumference as a surrogate marker of central obesity. Patients in the OSA-MetS group had greater metabolic impairment than non-OSA-Non-MetS patients. Moreover, when we compared the two MetS groups, as well as fulfilling MetS criteria, the MetS-OSA group had a tendency toward higher hypertriglyceridemia, lower HDL-cholesterol levels, higher levels of liver transaminases, and greater requirements of antihypertensive treatment. This fact did not determine any differences in the studied biomarkers between OSA and non-OSA in MetS patients. In the study by Barceló et al., in the non-obese population only OSA patients without MetS had higher levels of free fatty acids, as no significant differences were found in biomarkers between OSA and non-OSA in patients with established MetS.¹¹ Surprisingly, when we reviewed the non-OSA-non-MetS patients, there were no differences in the biomarkers explored. Those patients who supposedly constituted the metabolically healthier group in fact presented lower blood pressure, serum triglyceridemia, and fasting glucose, while their HDL cholesterol was higher, although they already had the same biomarker profile. Metabolically healthy obesity is defined by a normal sensitivity to insulin and a normal lipid profile, and it is related to lower levels of inflammation and higher adiponectin concentrations.^{15,16} While American studies have shown that 30% of the obese population can be considered metabolically healthy,¹⁷ only 5% of morbidly obese patients were found to be metabolically healthy.¹⁸ In our study only three non-OSA-non-MetS patients had obesity as the sole criterion for MetS, and they also presented high HOMA-R indices. We could thus speculate that the lack of differences in the studied biomarkers could be evidence of an already adverse pre-pathological status, even in patients without established MetS in morbid obesity. Therefore, in this extremely obese population, patients without OSA or MetS already have an altered mediator pattern; if we assume the previously demonstrated effect of OSA on metabolic abnormalities, then OSA must stimulate another specific mechanism to trigger MetS, independent of those activated by obesity.

Inflammation has been recognized as an intermediary mechanism associated with insulin impairment, MetS, and cardiovascular disease.^{19,20} Many cross-sectional, case-control, and non-randomized interventional studies have suggested that the levels of the pro-inflammatory cytokines and C-reactive protein are elevated in OSA patients.^{21,22} These results have not been consistent, however, as contradictory findings have been reported in studies by both our group and others, in which this association was attributed mainly to obesity.^{23,24} Furthermore, obese patients are resistant to leptin, which mainly serves to regulate appetite and energy expenditure. In clinical studies, leptin has been correlated with insulin levels and BMI, and it predicts the development of MetS.^{25,26} Leptin was the first adipokine associated with OSA and its levels have proved to be higher in OSA patients. Vogontzas et al. found, however, that elevated leptin levels were more closely related to visceral fat and other pro-inflammatory markers than to AHI.²⁷ This could explain the ceiling effect in the morbidly obese population

in our work. Our study does not reveal any new information about adiponectin. Hypoadiponectinemia has been postulated as playing a role in the development of MetS,²⁸ as adiponectin regulates insulin sensitivity and has an anti-inflammatory and protective vascular effect. The studies of OSA to date are not conclusive, as some have found lower levels in OSA patients, but others such as ours have failed to show this down-regulation.^{29,30} As an original contribution, we explored chemerin as a novel adipokine. Clinical studies have shown that patients with MetS have higher levels of chemerin than those without MetS and present an association with BMI, serum triglycerides, and blood pressure.³¹ A recent case-control study with a moderately obese Asian population showed that OSA patients had higher chemerin levels and found a weak but positive correlation with sleep apnea severity and WC and BMI³²; in this study chemerin was also correlated with inflammation and hypothesized as a possible link between adipose tissue, OSA, and inflammation. These results could not be confirmed in our morbidly obese population with high indices of insulin resistance, where we found that central obesity had a stronger effect than OSA.

Apart from systemic inflammation and adipokine discharge, the main direct consequences of obstructive apneas—intrathoracic pressure changes, recurrent arousal, and intermittent hypoxia—also trigger an increase in sympathetic nerve activity, reduce baroreflex sensitivity, and cause endothelial dysfunction. These changes induce increased arterial stiffness and arterial hypertension, leading to the development of atherosclerosis.³³ In order to explore the latter mechanisms, we analyzed VEGF and sCD40 serum levels. VEGF is thought to promote atherogenesis through endothelial cell proliferation, cell migration, and increased vascular permeability.³⁴ Previous clinical studies have shown higher levels of VEGF in OSA patients than in controls,^{35,36} mainly as a result of hypoxia. Our results were limited by the great variability in VEGF in the sample, which prevented us from finding any differences between groups. At the same time, the presence of OSA did not suppose any effect on sCD40L levels. sCD40L is considered a surrogate marker of arteriosclerosis, part of a mechanism signalling platelet activation, and it is associated with increased cardiovascular risk.³⁷ Nevertheless, we could not rule out a role for other known intermediate mechanisms, such as increased sympathetic activity (not explored in our study), in the link between MetS, cardiovascular morbidity, and OSA in morbidly obese patients. A review of the randomized controlled interventional trials shows that Dragger et al. found an improvement in early signs of the atherosclerosis markers, C-reactive protein, and urine catecholamines in severe OSA after four months of CPAP, but their patients, unlike ours were only overweight and were otherwise free of any comorbidity.³⁸ Further studies focusing on patients with milder obesity^{39,40} did not observe any changes in systemic inflammation, insulin resistance, blood lipids, leptin, or adiponectin. Similarly, West et al. also failed to find any changes in C-reactive protein and adiponectin after CPAP treatment in a population of OSA patients with established diabetes and more severe obesity.⁴¹ Taken together, these data and our own reinforce the idea of the overwhelming effect of obesity and comorbidities on the studied markers.

Our study has a number of potential limitations that should be considered. Firstly, because of the cross-sectional descriptive nature of the study, it did not provide evidence of a cause-effect relationship. Secondly, the size of the study was limited by the prior cohort study and the need to match patients from the different groups. In order to include the maximum number of patients we performed a 2:1 match, since OSA patients were much more prevalent in our population. Although the sample size limits the power of the study, we were unable to find any trend in any biomarker explored, which makes it probable that morbid obesity itself exerts a possible ceiling effect. Finally, as mentioned above, our patients, as a clinical population, were undergoing active hypolipemia, antihypertensive, and hypoglycemia treatment that could interfere with the determination of metabolic profiles and biomarkers and minimize the difference between groups.

We could not find any distinct biomarker pattern of OSA in a morbidly obese population, nor did the studied biomarkers allow us to discriminate between patients with and without MetS in this population. Severe central obesity thus seems to trigger an array of downstream effects that overwhelm those possibly caused by intermittent hypoxia and sleep fragmentation in the mediators studied in this extremely obese population. As an independent association between metabolic abnormalities and OSA has been demonstrated not only in the general clinical population but also in high-risk cardiovascular and morbidly obese populations, we cannot rule out this being produced by other unexplored pathways. The absence of differences in the studied biomarkers between the groups does not detract from the importance of detecting OSA in morbidly obese patients, since it is a treatable condition with a great impact on health. It is therefore mandatory to perform further controlled studies to explore other pathways that could explain this relationship and enhance our understanding of the link between obesity, OSA, and cardiometabolic dysfunction, and our search for future treatment targets.

ABBREVIATIONS

- AHI, apnea-hypopnea index
- BMI, body mass index
- cHDL, high-density lipoprotein cholesterol
- cLDL, low-density lipoprotein cholesterol
- CV, cardiovascular
- cVLDL, very low-density lipoprotein cholesterol
- ESS, Epworth Sleepiness Scale
- FBG, fasting blood glucose
- HbA1c, percentage of glycosylated hemoglobin
- IL-6, interleukin 6
- MetS, metabolic syndrome
- MO, morbid obesity
- OSA, obstructive apnea-hypopnea syndrome
- sCD40L, soluble CD40 ligand
- SpO₂, arterial oxygen saturation by pulse oximetry
- TG, triglycerides
- Time SpO₂ < 90%, percentage of sleep time with SpO₂ below 90%
- TNF- α , tumour necrosis factor α
- VEGF, vascular endothelial growth factor
- WC, waist circumference

REFERENCES

1. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120:1640-5.
2. Ford ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005;28:1769-78.
3. Lam JC, Mak JC, Ip MS. Obesity, obstructive sleep apnoea and metabolic syndrome. *Respirology* 2012;17:223-36.
4. Gasá M, Salord N, Fortuna AM, et al. Obstructive sleep apnea and metabolic impairment in severe obesity. *Eur Respir J* 2011;38:1089-97.
5. Arnardottir ES, Mackiewicz M, Gislason T, Teff KL, Pack A. Molecular signatures of obstructive sleep apnea in adults: A review and perspective. *Sleep* 2009;32:447-70.
6. Bonsignore MR, McNicholas WT, Montserrat JM, Eckel J. Adipose tissue in obesity and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J* 2012;39:746-67.
7. Ernst MC, Sinal CJ. Chemerin. at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 2010;21:660-7.
8. Rosito GA, Massaro JM, Hoffmann U, et al. Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors, and vascular calcification in a community-based sample: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008;117:605-13.
9. Duren DL, Sherwood RJ, Czerwinski SA, et al. Body composition methods: comparisons and interpretation. *J Diabetes Sci Technol* 2008;2:1139-46.
10. Pascot A, Després JP, Lemieux I, et al. Contribution of visceral obesity to the deterioration of the metabolic risk profile in men with impaired glucose tolerance. *Diabetologia* 2000;43:1126-35.
11. Barceló A, Piérola J, de la Peña M, et al. Free fatty acids and the metabolic syndrome in patients with obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J* 2011;37:1418-23.
12. Trombetta IC, Somers VK, Maki-Nunes C, et al. Consequences of comorbid sleep apnea in the metabolic syndrome implications for cardiovascular risk. *Sleep* 2010;33:1193-9.
13. Kono M, Tatsumi K, Saibara T, et al. Obstructive sleep apnea syndrome is associated with some components of metabolic syndrome. *Chest* 2007;131:1387-92.
14. Lui MM, Lam JC, Mak HK, et al. C-reactive protein is associated with obstructive sleep apnea independent of visceral obesity. *Chest* 2009;135:950-6.
15. Karelis AD, Faraj M, Bastard JP, et al. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4145-50.
16. Aguilar-Salinas CA, Garcia EG, Robles L, et al. High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype. *Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4075-9.
17. Karelis AD, St-Pierre DH, Conus F, Rabasa-Lhoret R, Poehlman ET. Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know? *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2569-75.
18. Soverini V, Moscattiello S, Villanova N, Ragni E, Di Domizio S, Marchesini G. Metabolic syndrome and insulin resistance in subjects with morbid obesity. *Obes Surg* 2010;20:295-301.
19. Frohlich M, Imhof A, Berg G, et al. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome a population-based study. *Diabetes Care* 2000;23:1835-9.
20. Ridker PM, Coo N. Clinical usefulness of very high and very low levels of C-reactive protein across the full range of Framingham risk scores. *Circulation* 2004;109:1955-9.
21. Minoguchi, K, Yokoe T, Tazaki T, et al. Increased carotid intima media thickness and serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:625-30.
22. Can M, Açikgöz S, Mungan G, et al Serum cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnea. *Chest* 2006;129:233-7.
23. Ryan S, Nolan GM, Hannigan E, Cunningham S, Taylor C, McNicolas WT. Cardiovascular risk markers in obstructive sleep apnea syndrome and correlation with obesity. *Thorax* 2007;62:509-14.
24. Taheri S, Austin D, Lin L, Nieto F J, Young T, Mignot E. Correlates of serum C-reactive protein (CRP) - no association with sleep duration or sleep disordered breathing. *Sleep* 2007;30:991-6.
25. Korer J, Leibel RL. To eat or not to eat - how the gut talks to the brain. *N Engl J Med* 2003;349:926-8.

N Salord, M Gasa, M Mayos et al

26. Galletti F, Barbato A, Vesiero M, et al. Circulating Leptin levels predict the development of metabolic syndrome in middle-aged men: An 8-year follow-up study. *J Hypertens* 2007;25:1671-7.
27. Vogontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, et al. Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1151-8.
28. Fantuzzi G. Molecular mechanisms in allergy and clinical immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:911-9.
29. Wolk R, Svatikova A, Nelson CA, et al. Plasma levels of adiponectin, a novel adipocyte-derived hormone, in sleep apnea. *Obesity* 2005;13:186-90.
30. Makino S, Handa H, Suzukawa K, et al. Obstructive sleep apnea syndrome, plasma adiponectin levels and insulin resistance. *Clin Endocrinol* 2006;64:12-9.
31. Weigert J, Neumeier M, Wanninger J, et al. Systemic chemerin is related to inflammation rather than obesity in type 2 diabetes. *Clin Endocrinol* 2010;72:342-8.
32. Feng X, Li P, Zhou C, Jia X, Kang J. Elevated levels of serum chemerin in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Biomarkers* 2012;17:248-53.
33. Kohler M, Stradling JR. Mechanisms of vascular damage in obstructive sleep apnea. *Nat Rev Cardiol* 2010;7:677-85.
34. Chermiack EP. Vascular endothelial growth factor and sleep apnea: clutching at straws in the night. *Respiration* 2007;74:17-8.
35. De la Peña M, Barceló A, Barbe F, et al. Endothelial function and circulating endothelial progenitor cells in patients with sleep apnea syndrome. *Respiration* 2008;76:28-32.
36. Imagawa S, Yamaguchi Y, Higuchi M, et al. Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Blood* 2001;98:1255-7.
37. Szmítko PE, Wang CH, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: Part II. *Circulation* 2003;108:2041-8.
38. Drager LF, Bortolotto LA, Figueiredo AC, Krieger EM, Lorenzi GF. Effects of continuous positive airway pressure on early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:706-12.
39. Kohler M, Stoewhas AC, Ayers L, Senn O, et al. Effects of continuous positive airway pressure therapy withdrawal in patients with obstructive sleep apnea: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:92-9.

40. Hoyos CM, Killick R, Yee BJ, Phillips CL, Grunstein RR, Liu PY. Cardiometabolic changes after continuous positive airway pressure for obstructive sleep apnoea: a randomised sham-controlled study. *Thorax* 2012;67:1081-9.
41. West SD, Nicoll DJ, Wallace TM, Matthews DR, Stradling JR. Effect of CPAP on insulin resistance and HbA1c in men with obstructive sleep apnoea and type 2 diabetes. *Thorax* 2007;62:969-74.

ACKNOWLEDGMENTS

M. Clarke assisted with the English expression in versions of the manuscript. Advice on the statistical analysis was given by Daniel Quadras (IDIBELL, Barcelona, Spain). We thank the sleep unit staff of the Hospital Universitari de Bellvitge, Hospital de Llobregat, Spain, Tomas Brinquis, Pilar Garriga, Sandra Perez, Neus Marti and Carme Rodríguez and Rosa Miralda, Ariadna Farré and Montserrat Carreras from the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain for their inestimable collaboration.

SUBMISSION & CORRESPONDENCE INFORMATION

Submitted for publication May, 2013
Submitted in final revised form December, 2013
Accepted for publication December, 2013
 Address correspondence to: Neus Salord, Sleep Unit, Department of Respiratory Medicine, Hospital Universitari de Bellvitge, Feixa Llarga, s/n. CP 08907. Hospital de Llobregat, Spain; Tel: 93 260 7586. Fax: 93 260 7955; E-mail: nsalord@bellvitgehospital.cat

DISCLOSURE STATEMENT

Fondo de Investigación Sanitaria [Grant: FIS PI080800]; Spanish Respiratory Society SEPAR [Grant: Ayudas a la investigación 249/07]; Societat Catalana de Pneumologia SOCAP [Grants: 2052/08; 2052/09]. Fundació Catalana de Pneumologia FUCAP 2009. Study Supported by Air products. The authors have indicated no financial conflicts of interest.

SUPPLEMENTAL MATERIAL

Table S1—Assay characteristics

	Assay sensitivity	Intra-assay CV	Inter-assay CV
IL-6	< 2 pg/mL	6.17%	7.87%
TNF- α	1.7 pg/mL	4.4%	7.53%
Leptin	< 0.2 ng/mL	5.65%	6.75%
Adiponectin	0.5 ng/mL	4.4%	5.7%
Chemerin	< 6.5 pg/mL	6.17%	8.7%
VEGF	< 5 pg/mL	4.7%	8.1%
sCD40L	< 5 pg/mL	5.0%	6.2%

CV, coefficient of variation; IL-6, interleukin 6; TNF- α , tumor necrosis factor α ; VEGF, vascular endothelial growth factor; sCD40L, Soluble CD40 ligand.

6.2. Resum dels resultats de l'article 1

Vint-i-sis pacients amb síndrome d'apnea-hipopnea obstructiva del son (SAHS) i síndrome metabòlica (SMet) (SAHS-SMet) es van aparellar pel diàmetre de la cintura (DC) amb 13 pacients amb SMet sense SAHS (No-SAHS-SMet) i 13 pacients sense SMet ni SAHS (No-SAHS-No-SMet). D'acord amb el disseny de l'estudi els pacients tenien gènere, edats, IMC i DC semblants (71% dones, 43 ± 10 anys, 46 ± 5 kg/m², 128 ± 10 cm). Els pacients SAHS-SMet tenien per definició un SAHS greu amb un índex d'apnea-hipopnea/hora amb una mediana i rang interquartilic de 47,1 (32 - 66), temps amb saturació arterial d'oxihemoglobina per pulsioximetria (SpO₂) per sota del 90% del temps de l'estudi de 7% (5% - 31%) i una SpO₂ mitjana de 92% (90% - 93%). Els pacients dels tres grups van presentar una eficiència i estructura del son similar. No es van trobar diferències entre els grups pel que es refereix a la activitat física mesurada per l'*International Physical Activity Questionnaire*, ni quant a les hores habituals de son mesurades per una agenda de son.

Tots els grups van presentar nivells similar de citocines (IL-6, TNF- α), adipocines (leptina, adiponectina i quemerina), VEGF, i nivells del lligand soluble de CD40. Cap d'elles es va correlacionar amb cap variable de gravetat de la SAHS. La leptina es va correlacionar amb variables antropomètriques (IMC, índex de cintura-maluc i percentatge de greix corporal), mentre que la adiponectina es va correlacionar negativament amb l'índex de cintura-maluc, el diàmetre de cintura i del coll.

6.3. Article 2

SLEEP DISORDERED BREATHING

A Randomized Controlled Trial of Continuous Positive Airway Pressure on Glucose Tolerance in Obese Patients with Obstructive Sleep Apnea

Neus Salord, MD^{1,2,3,4}; Ana Maria Fortuna, MD^{3,4,5}; Carmen Monasterio, MD^{1,2,4}; Mercè Gasa, MD^{1,2}; Antonio Pérez, MD^{3,6,7}; Maria R. Bonsignore, MD⁸; Núria Vilarrasa, MD^{7,9}; Josep Maria Montserrat, MD^{4,10}; Mercedes Mayos, MD^{3,4,5}

¹Sleep Unit, Department of Respiratory Medicine, Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat, Spain; ²Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL). Area: Inflammatory, Chronic and Degenerative Diseases. Section: Respiratory Medicine. Hospitalet de Llobregat, Spain; ³Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ⁴CIBER Enfermedades Respiratorias (CibeRes) (CB06/06), Spain; ⁵Sleep Unit, Department of Respiratory Medicine, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain; ⁶Department of Endocrinology and Nutrition, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ⁷CIBER de diabetes y Enfermedades Metabólicas (CIBERDEM), Spain; ⁸Biomedical Department of Internal and Specialistic Medicine (DIBIMIS), University of Palermo, Italy; ⁹Department of Endocrinology and Nutrition, Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat, Spain; ¹⁰Sleep Unit, Department of Respiratory Medicine, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain

Study Objectives: Obstructive sleep apnea (OSA) is associated with an increased prevalence of metabolic syndrome (MetS), even in patients with morbid obesity. Our goal was to address whether continuous positive airway pressure (CPAP) treatment improved glucose metabolism in this population.

Methods: A prospective randomized controlled trial was performed in severe OSA patients with morbid obesity without diabetes in two university referral hospitals. Patients received conservative (CT) versus CPAP treatment for 12 weeks. MetS components, homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and oral glucose tolerance were assessed at baseline and after treatment.

Results: A total of 80 patients completed the study (42 CPAP and 38 CT patients). After 12 w of CPAP treatment, weight loss was similar in both groups and physical activity, prevalence of MetS, and HOMA-IR did not change in either group. In the CPAP group impaired glucose tolerance (IGT) reversed in nine patients and IGT developed in none, whereas IGT reversed in five patients and IGT developed in five patients in the CT group (P = 0.039 in the Fisher test). Changes in 2-h plasma glucose after glucose load were greater in the CPAP group than in the CT group (CPAP: -0.5 ± 1.5 versus CT: 0.33 ± 1.9 , P = 0.007).

Conclusions: The improvement of glucose tolerance in morbidly obese patients with severe OSA, without changes in HOMA-IR, supports an improvement in peripheral insulin resistance after CPAP treatment.

Clinical Trials Registration: NCT 01029561.

Keywords: continuous positive airway pressure, glucose tolerance, insulin resistance, obstructive sleep apnea

Citation: Salord N, Fortuna AM, Monasterio C, Gasa M, Pérez A, Bonsignore MR, Vilarrasa N, Montserrat JM, Mayos M. A randomized controlled trial of continuous positive airway pressure on glucose tolerance in obese patients with obstructive sleep apnea. *SLEEP* 2016;39(1):XXX-XXX.

Significance

Observational studies have suggested that obstructive sleep apnea (OSA) is associated with impaired glucose metabolism and metabolic syndrome. To date, it remains unclear whether sleep apnea treatment with CPAP is beneficial for glucose metabolism. This is the first study to investigate the effects of CPAP on glucose metabolism in a specific population of morbidly obese patients. These patients represent an extreme model for studying the relation between OSA and metabolic dysfunction because of an increased risk for both disorders. We demonstrated that an effective treatment of OSA with CPAP improves glucose tolerance in morbidly obese patients with severe OSA, without changes in HOMA-IR or metabolic syndrome. These results support an improvement in peripheral insulin resistance after CPAP treatment.

INTRODUCTION

Obesity, and particularly central adiposity, has been recognized as a significant risk factor in the pathophysiology of obstructive sleep apnea (OSA) in adults.¹ Furthermore, obesity is not only a major risk factor for sleep apnea but also for cardio-metabolic diseases. Metabolic syndrome (MetS) is a cluster of risk factors that include central obesity, dysglycemia, raised blood pressure, elevated triglyceride levels, and low high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol levels,² and is associated with an increased risk for diabetes, cardiovascular events, and mortality in the general population.²⁻⁴ Central obesity and insulin resistance are key features of MetS.²

Data from both epidemiological and clinical studies suggest an independent association of OSA with the different components of MetS, particularly insulin resistance, hypertension, and abnormal lipid metabolism.⁵ The common association between OSA and obesity makes it difficult to separate the role each one plays in their metabolic consequences.^{6,7} We recently reported that even in morbidly obese patients, OSA was associated with MetS independently of central obesity. Furthermore, the metabolic profile progressively worsened with increasing

OSA severity,⁸ suggesting that OSA can play a significant role in the development of insulin resistance and metabolic disturbances beyond obesity.

Continuous positive airway pressure (CPAP) is the treatment of choice for moderate-to-severe OSA in adults. CPAP prevents upper airway collapse during sleep and can ameliorate intermittent hypoxia and sympathetic overactivation, both of which are pathophysiological mechanisms involved in the metabolic and cardiovascular consequences of OSA.⁹

Many randomized controlled trials have shown that CPAP treatment clearly leads to an improvement in OSA patient health status,¹⁰ but few of them have analyzed its effect on the metabolic profile, and those that have reported contradictory results.¹¹⁻¹⁵ It has been suggested that CPAP could positively affect metabolic variables only in patients with severe OSA without morbid obesity.¹⁶ However, the data supporting this hypothesis are scarce and further studies are needed to better identify what type of patients with OSA stand to benefit from CPAP treatment.

We performed a randomized controlled trial (RCT) comparing 12 w of CPAP to conservative treatment (CT) in a

population of morbidly obese patients with severe OSA without clinically overt diabetes. We hypothesized that, compared with CT 12 w of CPAP treatment would primarily improve insulin resistance and secondarily lead to a greater improvement in glucose tolerance, MetS, and metabolic profile.

METHODS

Trial Design

A parallel RCT comparing 12 w of CPAP treatment to CT was designed.

Participants and Study Settings

Patients included in the obesity surgery program were studied prospectively in two referral sleep clinics in Barcelona from January 2009 through July 2011. Inclusion criteria for the obesity surgery program were: age between 18 and 65 y; a body mass index (BMI) ≥ 40 kg/m² or BMI ≥ 35 kg/m² with comorbidity related to obesity (hypertension, heart disease, degenerative osteoarthritis, and respiratory complications). Eligible patients had an apnea-hypopnea index (AHI) > 30 after a full overnight polysomnography (PSG). The exclusion criteria were: current or previous CPAP treatment, previously known diabetes mellitus or diabetic treatment, unstable cardiovascular conditions, severe cognitive or psychiatric disorders, chronic obstructive pulmonary disease, pregnancy, past or current history of alcohol abuse, refusal to participate, disabling daytime sleepiness, professional drivers or professionals performing potentially dangerous activities. The study protocol was approved by both Ethical Committees (PR052/08, 07/064/797). All participants gave their informed written consent. The trial registration number was NCT 01029561.

Interventions and Protocol

Included patients were randomized to receive individualized lifestyle counseling therapy plus CPAP (CPAP group) or conservative treatment (CT group) consisting only of individualized lifestyle counseling therapy.

At baseline and after 12 w, each participant completed a detailed questionnaire on medical history, cardiovascular risk factors, and current medication. Exercise level and sleep duration were recorded in a self-administered International Physical Activity Questionnaire¹⁷ (IPAQ) and a sleep diary for 15 consecutive days. Excessive daytime sleepiness was quantified by the Epworth Sleepiness Scale. Anthropometric characteristics included BMI, neck circumference, waist circumference, waist/hip ratio, and percentage of body fat mass measured by electrical bioimpedance (BIA 101, Akern Bioresearch, Florence, Italy). Clinical blood pressure (BP) was measured according to Spanish guidelines.¹⁸

Ethical Issues

After the indication for bariatric surgery, patients generally spend more than 1 y on the waiting list for surgery. During this time, patients receive medical care from an endocrinologist and respiratory and sleep studies are performed in order to reduce the perioperative complications associated with untreated sleep apnea. For ethical reasons, patients were included in our

study after the first evaluation by the endocrinologist and were prioritized for overnight PSG, in order to avoid a delay in the beginning of treatment. At the end of the 12-w study period, CPAP treatment was initiated in all CT patients.

Polysomnography

OSA was determined by a full overnight PSG. The PSG (Siesta, Compumedics, Melbourne, Australia) included recording of oronasal flow (termistor and cannula), thoracoabdominal movements, electrocardiogram, submental and pretibial electromyography, electrooculogram, electroencephalogram, pulse oximetry, and body position sensor. Rechtschaffen and Kales' criteria were used for the visual scoring of sleep stages. Apnea was defined as a cessation of flow for at least 10 sec, and hypopnea as any flow reduction of at least 10 sec, accompanied by a fall of $\geq 3\%$ in SpO₂ or microarousal. The AHI and the arousal index were defined as the number of apneas/hypopneas and arousals, respectively, per hour of sleep.

CPAP Titration and Compliance

CPAP titration was performed by an overnight PSG with manual CPAP titration or by autotitration devices.¹⁹ Objective treatment compliance was determined by dividing the number of hours recorded by the CPAP device's built-in hour meter by all the nights of the study period. Patients with an average use time < 4 h per night were considered non-compliant.

Glucose Metabolism, Lipoproteins, and MetS Definitions

At baseline and after 12 w of CPAP or CT, a venous blood sample was obtained from all patients in fasting conditions. Glycosylated hemoglobin (HbA1c), fasting plasma glucose (FPG), total cholesterol, triglycerides, and HDL cholesterol were determined with standard laboratory methods. In patients with FPG < 6.7 mmol/L, plasma glucose measurements were obtained 5 min before and 2 h after administration of 75-g oral glucose (2-h PG). Based on the results of the oral glucose tolerance test (OGTT), normal glucose tolerance was defined as 2-h PG < 7.8 mmol/L, impaired glucose tolerance (IGT) as 2-h PG from 7.8 to 11.0 mmol/L, and diabetes as 2-h PG ≥ 11.1 mmol/L.²⁰ Insulin levels were determined by the automated chemiluminescence method and insulin resistance was estimated using the homeostasis model assessment (HOMA-IR).²¹ MetS was defined in accordance with the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) modified criteria,² and metabolic index (MI) as the number of individual MetS components for each patient.

Outcomes

The primary outcome was the change in insulin resistance measured by HOMA-IR. Other secondary outcomes were change in glucose tolerance measured by the oral glucose tolerance test, percentage of metabolic syndrome according to NCEP-ATP III modified criteria, and metabolic profile.

Sample Size, Randomization, and Statistical Analysis

Sample size calculations showed that 42 subjects were needed in each group to detect a difference greater or equal to 1 unit of HOMA-IR, assuming a standard deviation of 1.5 based

on previous results in the clinical database of morbid obesity in one of our centers, with a minimum power of 80%. The dropout rate for the study was estimated at 15%.

Simple randomization was performed by a statistician not involved in the study with a computer-generated sequence of random numbers for balanced allocation. Math.random() function was used to generate the random allocation sequence prior to study activation. We did not use any restriction or blocking method. Randomization was assigned using the central database, where the previously reported number generation algorithm was stored. According to eligibility screening by the research coordinator, the system generated a unique number that could not be modified or erased.

The treatment arm was not blinded to the participants, care providers, nor to the person assessing the statistical analysis. Continuous variables were shown as mean ± standard deviation for normally distributed data or median (and interquartile range) for non-normally distributed data, and categorical variables as proportions. The intention-to-treat principle was applied for the analysis of the differences between treatment groups, but missing data were not imputed in order to avoid the dilution effect. Changes from baseline of treatment with CPAP and conservative treatment were calculated by subtracting the value after the 12-w intervention period from the value before the period, the *t*-test or the Mann-Whitney *U* test were used (continuous variables). We aggregated patients with IGT and those who screened positive for diabetes in the IGT category, as only three patients proved to be diabetic in the OGTT. Changes after 12 w in IGT and MetS were categorized as improved, worsened, or unchanged. The chi-square test or the Fisher exact test was used. Two-way analysis of variance (ANOVA) was used to assess changes in 2-h PG over time (repeated measures) and the interaction between it and the treatment group. This analysis was adjusted for basal BMI using analysis of covariance (ANCOVA). Two-sided *P* < 0.05 were considered to indicate statistical significance. Statistical analysis was performed with the statistical software package SPSS V-19 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

RESULTS

Two hundred forty-three patients were initially assessed for the study. Figure 1 shows exclusion causes and follow-up of participants. Ninety-eight patients were recruited, 44 of whom were assigned to CT and 54 to CPAP. Twelve patients in the CPAP group and six in the CT group discontinued follow-up; therefore, 80 patients completed the study and were analyzed. Patients

who discontinued the study had lower BP and FBG compared to patients who completed the study (Table S1, supplemental material).

Table 1 shows the baseline characteristics of the CPAP and CT groups. At baseline, patients in the CT group had higher

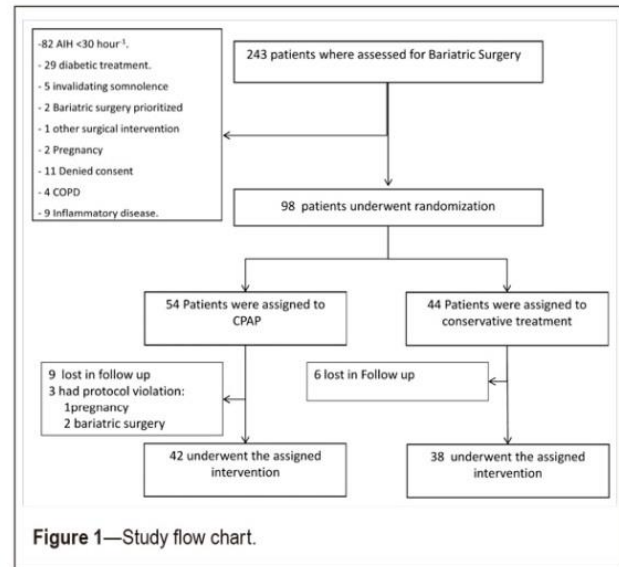


Figure 1—Study flow chart.

Table 1—Baseline characteristics of the study population.

	CPAP Group (n = 42)	Conservative Treatment Group (n = 38)	P
Age, y	48.5 ± 8.6	44.6 ± 9.4	0.057
Sex, males n (%)	11 (26)	11 (29)	0.783
Anthropometric and physical activity variables			
BMI, kg/m ² *	45.7 ± 5	49.3 ± 6.6	0.007
Neck circumference, cm*	42 (40–46)	43 (40–48)	0.310
Waist circumference, cm*	130 (120–137)	134 (126–147)	0.040
Waist/hip ratio	0.93 ± 0.07	0.97 ± 0.1	0.100
Fat mass, kg	58 ± 12.5	63.9 ± 21.1	0.136
IPAQ, METS min/w*	1838 (583–4207)	1470 (352–3861)	0.661
Sleep data			
Epworth Sleepiness Scale	7.9 ± 4.5	7.9 ± 5.2	0.892
Subjective sleep duration, h/day	7.6 ± 2.1	8 ± 1.7	0.386
AHI, events/h*	68.3 (43–88)	52.6 (37–78)	0.276
Time spent < 90% of TST, %*	13.8 (6–29)	17.7 (6–41)	0.765
ODI 3%, events/h	57.8 ± 28	52.5 ± 28	0.402
MetS			
MetS, n (%)	34 (81)	29 (76.3)	0.613
Metabolic index ,n	3 (3–4)	3. (2.7–4)	0.868

Data are presented as n (%) for categorical data or as median ± standard deviation or *median (interquartile range) for continuous data. *t*-test or Mann-Whitney *U* test were used for continuous variables and chi-square or Fisher test were used for categorical variables. Bold type is used to indicate statistical significant differences. AHI, apnea-hypopnea index; BMI, body mass index; IPAQ, International Physical Activity Questionnaire; MetS, metabolic syndrome; METS, metabolic equivalent tasks; ODI, oxygen desaturation index; TST, total sleep time.

Table 2—Effects of continuous positive airway pressure versus conservative treatment on clinical variables, glucose metabolism, and metabolic syndrome components.

	CPAP Group (n = 42)			Conservative Treatment Group (n = 38)			Intergroup Differences	
	Baseline	12 w	Change	Baseline	12 w	Change	Difference (95% CI)	P
BMI, kg/m ²	45.7 ± 5	44.7 ± 5	-0.96 ± 2.6	49.3 ± 6.6	48.3 ± 7	-0.99 ± 2.0	-0.009 (-1.04 to 1.03)	0.589
Epworth Sleepiness Scale	7.9 ± 4.5	5.0 ± 3.8	-2.88 ± 4.2	7.9 ± 5.2	7.5 ± 5.0	-0.35 ± 3.6	-2.52 (-4.31 to -0.75)	0.006*
IPAQ, METS min/w	1838 (583–4207)	1386 (515–4460)	166 ± 630	1470 (352–3861)	990 (347–3213)	-207 ± 2971	374 (-882 to 1631)	0.668
Total sleep hours, h/day	7.6 ± 2.1	7.3 ± 1.9	-0.31 ± 2	8 ± 1.7	8.1 ± 2	-0.06 ± 2	0.46 (-1.34 to 0.72)	0.944
Fasting insulin, mU/L (n = 40, n = 38)	25.7 (16–32)	26.1 (20–34)	1.5 ± 17	25.0 (19–38)	26.7 (19–35)	0.053 ± 13	3.48 (-5.7 to 8.6)	0.291
HOMA-IR (n = 40, n = 38)	6.8 (4.4–8.7)	6.5 (5.2–9.3)	0.32 ± 4.4	6.4 (5.2–11.0)	6.7 (5.1–9.3)	0.044 ± 3.7	0.27 (-1.55 to 2.10)	0.530
Glycosylated hemoglobin, %	5.8 (5.5–6.1)	5.8 (5.5–6.1)	0.035 ± 0.2	5.7 (5.5–5.9)	5.6 (5.4–6.0)	0.075 ± 0.6	-0.04 (-0.23 to 0.15)	0.671
2h-PG, mmol/L (n = 35, n = 34)	6.7 (5.3–8.9)	6.2 (5.1–8.5)	-0.5 ± 1.5	6.4 (5.0–7.0)	6.7 (5.7–7.9)	0.33 ± 1.9	-0.85 (-1.69 to -0.01)	0.007
MetS components								
Waist circumference, cm	130 (120–137)	129 (119–137)	-2.1 ± 6.8	134 (126–147)	133 (121–141)	-3.3 ± 10.8	-1.2 (-5.18 to 2.18)	0.870
Systolic blood pressure, mmHg	136 ± 18	135 ± 15	-0.869 ± 14	145 ± 18	140 ± 19	-5.140 ± 17	4.27 (-2.68 to 11.23)	0.225*
Diastolic blood pressure, mmHg	85 (80–91)	87 (80–97)	0.747 ± 10	90 (83–100)	90 (80–90)	-1.267 ± 15	2.01 (-3.56 to 7.59)	0.464*
Fasting glucose, mmol/L	5.8 ± 0.70	5.6 ± 0.67	-0.13 ± 0.57	5.7 ± 0.77	5.9 ± 2.3	0.205 ± 2.03	-0.33 (-0.10 to 0.40)	0.699
Triglycerides, mmol/L	1.45 (1.08–2.02)	1.50 (0.98–1.97)	0.018 ± 0.61	1.40 (1.17–1.94)	1.33 (1.2–2.0)	0.435 ± 2.8	-0.42 (-1.29 to 0.46)	0.942
HDL cholesterol, mmol/L (n = 42, n = 37)	1.17 ± 0.23	1.22 ± 0.28	0.044 ± 0.20	1.11 ± 0.24	1.15 ± 0.45	0.044 ± 0.38	0.0026 (-0.13 to 0.14)	0.572

Data are presented as median ± standard deviation or median (interquartile range) for continuous data. Treatment effect was calculated by subtracting the value after the 3-mo intervention period from the value before the period, intergroup changes are presented as mean difference ± standard deviation, P values were calculated with the use of the *t-test or Mann-Whitney U test. Bold type is used to indicate statistical significant differences. BMI, body mass index; CI, confidence interval; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance; IPAQ, International Physical Activity Questionnaire; MetS, metabolic syndrome; METS, metabolic equivalent tasks; 2-h PG, 2 h plasma glucose after administration of 75-g oral glucose.

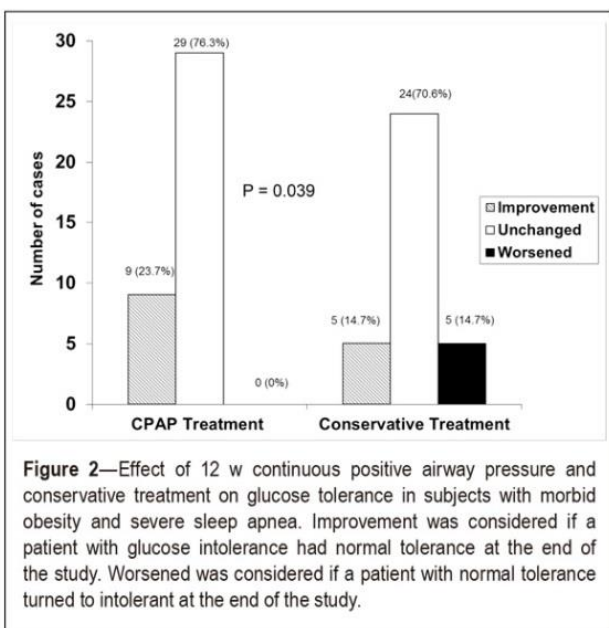


Figure 2—Effect of 12 w continuous positive airway pressure and conservative treatment on glucose tolerance in subjects with morbid obesity and severe sleep apnea. Improvement was considered if a patient with glucose intolerance had normal tolerance at the end of the study. Worsened was considered if a patient with normal tolerance turned to intolerant at the end of the study.

BMI and waist circumference when compared to patients in the CPAP group (Table 1). There were no major differences in age, sex, body fat, treatments, physical activity, or OSA severity between the two groups. Neither sleep efficiency nor sleep structure differed (Table S2, supplemental material) and metabolic variables and prevalence of MetS (Table 1) and its components were comparable at baseline.

Effects of Treatment

Objective mean compliance at 12 w in the CPAP group was 5.4 ± 1.6 h per night. Thirty-six patients (86%) used the CPAP

machine on average ≥ 4 h at 12 w. Mean CPAP pressure was 10.0 ± 1.6 cmH₂O. Patients in the CPAP group presented a significant improvement in sleepiness compared to patients in the CT group (Table 2).

Table 2 and Figure 2 summarize the changes observed in both groups after 12 w of treatment. Both groups presented a slight but equivalent weight loss with a one-point decrease in BMI (Table 2). Insulin resistance measured by HOMA-IR did not change after treatment. Most of the other variables explored, including FPG or HbA1c, were also unchanged at 12 w in both groups. The percentage of patients in which MetS reversed (19% versus 15.8%) and worsened (2.4% versus 7.9%) was similar in the CPAP and the CT groups.

Results of OGTT were obtained from 72 patients in both groups at baseline and after 12 w of treatment. Eight patients did not take part in the glucose tolerance test (eight missing values) and an additional three patients had a missing value in the numeric variable because of a data collection error. At baseline 18 of 38 patients (47.4%) patients in the CPAP group and 8 out of 34 (23.5%) in the CT group had IGT (P = 0.036). After 12 w of treatment with CPAP, IGT reverted to normal glucose tolerance in 9 patients and glucose tolerance remained unchanged in 29 patients. In the CT group, IGT reverted to normal glucose tolerance in 5 patients, IGT developed in 5 patients, and 24 remained unchanged (P = 0.039 at the exact Fisher test) (Figure 2). When this result was adjusted by logistic regression, baseline glucose intolerance was a predictor of improved oral glucose tolerance at the end of the study (P = 0.001). Additionally, 2-h PG after a 75-g glucose load decreased more in CPAP patients than in those treated conventionally (Table 2). We observed a significant effect of the treatment group (P = 0.048 ANOVA) in changes in 2-h PG over time (repeated measures). When we adjusted the same analysis for basal BMI (ANCOVA), it continued to have a trend toward

significance ($P = 0.081$) and this covariable did not show significance (BMI, $P = 0.571$ group $P = 0.280$).

When the six patients with < 4 h of CPAP compliance were excluded from analysis, the decrease of 2-h PG after 75-g load at 12 w remained significant (CPAP -0.38 ± 1.5 versus CT 0.32 ± 1.9 , mean difference -0.71 , confidence interval (CI) -1.5 to -0.27 , $P = 0.020$).

Finally, because the CT group presented higher levels of obesity than the CPAP group, the analysis was repeated after excluding five extremely obese patients. The BMI of the two groups became comparable (45.7 ± 5.1 and 47.5 ± 5.1 kg/m², $P = 0.077$). Changes in the reversal of IGT, as well as the decrease of 2-h PG in OGTT in the CPAP group, remained significantly different (CPAP -0.94 ± 1.5 versus CT 0.43 ± 2.1 , mean difference -0.94 , CI -1.86 to -0.043 , $P = 0.003$). After 12 w of treatment with CPAP, IGT reverted to normal glucose tolerance in 9 patients and glucose tolerance remained unchanged in 29 patients. In the CT group, IGT reverted to normal glucose tolerance in 5 patients, IGT developed in 5 patients, and 20 remained unchanged ($P = 0.030$ at the exact Fisher test).

DISCUSSION

In the current study performed in nondiabetic subjects with morbid obesity and severe sleep apnea, we demonstrated that the effective treatment of OSA with CPAP for 12 w improves glucose tolerance without improvement in insulin resistance as measured by HOMA-IR. Other metabolic variables and MetS prevalence were not significantly different between the CPAP and conservative intervention groups. To the best of our knowledge, this is the first randomized controlled study to evaluate these aspects in this population and it provides new information about the benefits of CPAP therapy on glucose metabolism and its potential mechanisms. These findings are potentially relevant because impaired glucose tolerance, a risk factor for the development of type 2 diabetes, is very prevalent in obese subjects.

Studies addressing the effect of CPAP treatment on glucose metabolism have reported conflicting results.^{11–16} In a non-controlled study, Harsch et al.¹¹ were the first to observe an improvement in insulin sensitivity, as measured by hyperinsulinemic euglycemic clamp, following 2 nights of CPAP treatment, in a group of nondiabetic Caucasian males with moderate OSA.¹¹ In a crossover controlled study, no change in HOMA-IR was found in a more obese population of Caucasian males with severe OSA after 6 w of CPAP treatment when compared with sham-CPAP.¹² More recently, Hoyos et al.¹⁴ did not find any difference in HOMA-IR in a 12-w RCT conducted in nonselected obese patients with OSA, but reported significant changes in the Insulin Sensitivity Index, though only in compliant patients. Another RCT conducted in overweight-obese Asian patients with moderate to severe OSA found a significant improvement in insulin sensitivity after only 1 w.²² In addition to the individual negative results in changes in HOMA-IR after CPAP in the aforementioned and other studies,^{13,23} a recent meta-analysis of RCT showed a modest decrease of HOMA-IR (-0.44) after CPAP compared to sham CPAP, mainly in nondiabetic patients.²⁴ It is noteworthy that in the studies by Hoyos et al.¹⁴ and Coughlin et al.,¹² mean CPAP use was lower than 4 h per

night, suggesting that good adherence to CPAP may be crucial for the achievement of a positive effect of CPAP treatment on insulin resistance.

In spite of the lack of effect on HOMA-IR while fasting, we found that 12 w of CPAP therapy improved glucose tolerance. This apparent discrepancy between HOMA-IR and 2-h PG during OGTT reflects the underlying physiological bases of IGT. IGT is associated with peripheral insulin resistance, most importantly at the level of skeletal muscle.²⁵ The HOMA-IR index is derived from the product of the fasting plasma glucose and insulin concentration and largely reflects the resistance of glucose production by liver and kidney to suppression by insulin, whereas hyperglycemic clamp-determined insulin sensitivity reflects the sensitivity of muscle glucose uptake to stimulation by insulin.²⁶ In this context, the improvement in glucose tolerance observed in our study after 12 w of CPAP treatment may reflect the reduction in muscle insulin resistance. Previously, Weinstock et al.¹⁵ did not find any difference in glucose tolerance measured by OGTT after 8 w of CPAP compared to sham CPAP in a moderately obese population, but they reported a positive effect of CPAP on 2-h PG, HOMA-IR, the insulin sensitivity index, and the percentage of normalization of glucose tolerance in severe OSA (> 30 AHI).¹⁵ Our results agree with data from Weinstock et al., because only patients with severe OSA were included in our study, and suggest that OSA severity is an important factor in studies addressing the effects of CPAP on glucose metabolism.

The positive data obtained at 12 w in the CPAP group regarding the response to glucose load indicate a potentially clinically relevant effect. The number of patients with IGT decreased in the CPAP group, with a shift toward normal response to OGTT, but not in the CT group. This effect could be, in part, overestimated due to a higher proportion of patients with glucose intolerance at baseline in the CPAP group due to random bias. In fact, we have shown that baseline impairment was a significant predictor of improvement, but it is important to note that no patients worsened in the CPAP group and five patients (14.7%) became intolerant in the conservative group. In any case, IGT is a reversible strong risk factor of progression to diabetes and the development of cardiovascular disease.^{27,28} Therefore, given the particularly high risk of the development of type 2 diabetes in severely obese patients with IGT, our findings suggest a potential role of CPAP treatment as an adjunctive therapy to lifestyle modifications and weight reduction, to prevent or delay the progression from pre-diabetes to type 2 diabetes.

In line with two previous controlled studies, the prevalence of MetS was unchanged after CPAP treatment. Coughlin et al.¹² did not find any effect on the whole syndrome after 6 w of CPAP treatment compared to sham CPAP in a population of patients with severe to moderate OSA, detecting changes only in blood pressure. Hoyos et al.²⁹ also observed no improvement in MetS in their unselected population with treated metabolic comorbidities. Taken together, these results suggest that the obesity factor is stronger than OSA in causing this cluster of metabolic abnormalities.

Apart from its randomized controlled design, other strengths of our study include satisfactory CPAP compliance compared

with previous studies in which low CPAP compliance could have limited a positive change in glucose metabolism.¹²⁻¹⁴ In order to control the possible effect of physical activity on metabolism we monitored it by IPAQ questionnaire: this important confounding factor has only been addressed previously by West et al.,¹³ and our results agree with theirs, because CPAP treatment was not associated with changes in physical activity. Unlike previous studies, which were performed only in men^{12-14,23} or groups with a low percentage of women,^{11,24} our population was composed mainly of women, which gives an additional value to our study results.

Our study has a number of potential limitations that should be considered. First, it has to be taken in account that our main positive result, changes in glucose tolerance, was a secondary outcome in which we have some missing values; the study was designed according to insulin resistance defined by HOMA-IR. For that reason the power of the effect of the treatment group in changes in 2-h PG over time was calculated *a posteriori* and it was 0.946. Second, despite blinded randomization, patients in the CT group were heavier and had higher waist circumferences. We addressed this random bias by performing a *post hoc* analysis excluding patients with a higher BMI and by using the ANCOVA analysis. The main findings remained unchanged. Additionally, both groups showed a decrease in BMI, probably because of diet and lifestyle counseling. Previously, weight loss programs have been used with positive results in patients with OSA³⁰ and when we applied them equally to the two groups, both had an equivalent weight loss. Consequently, the changes in glucose tolerance can be attributed to the effects of CPAP. Finally, our patients, as a clinical population, underwent active lipid-lowering and antihypertensive treatment that could have conditioned the differences between groups.

In summary, this RCT showed that, in individuals with both morbid obesity and severe sleep apnea, 12 w of CPAP treatment improved glucose tolerance without concomitant changes in the HOMA-IR index and physical activity. As the HOMA-IR index largely reflects hepatic insulin resistance and IGT is associated with peripheral insulin resistance, our study supports an improvement in peripheral insulin resistance as the preferential mechanism involved in the improvement in glucose tolerance after CPAP treatment. This study therefore contributes to the debate on the effect of CPAP treatment on glucose metabolism, and supports the use of CPAP as an adjunct therapy to lifestyle intervention in order to improve glucose metabolism in individuals with morbid obesity and severe sleep apnea.

ABBREVIATIONS

- 2-h PG, plasma glucose after 2 hour overload in oral glucose tolerance test
- AHI, apnea-hypopnea index
- BP, blood pressure
- CPAP, continuous positive airway pressure
- CT, conservative treatment
- FPG, fasting plasma glucose
- HbA1c, the percentage of glycosylated hemoglobin
- HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance

- IGT, impaired glucose tolerance
- MI, metabolic index
- MetS, metabolic syndrome
- OGTT, oral glucose tolerance test
- OSA, obstructive apnea-hypopnea syndrome
- RCT, randomized controlled trial

REFERENCES

1. Bonsignore MR, McNicholas WT, Montserrat JM, Eckel J. Adipose tissue in obesity and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J* 2012;39:746-67.
2. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120:1640-45.
3. Ford ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005;28:1769-78.
4. Ho JS, Cannaday JJ, Barlow CE, Mitchell TL, Cooper KH, FitzGerald SJ. Relation of the number of metabolic syndrome risk factors with all-cause and cardiovascular mortality. *Am J Cardiol* 2008;102:689-92.
5. Lam JC, Mak JC, Ip MS. Obesity, obstructive sleep apnoea and metabolic syndrome. *Respirology* 2012;17:223-36.
6. Lévy P, Bonsignore MR, Eckel J. Sleep, sleep-disordered breathing and metabolic consequences. *Eur Respir J* 2009;34:243-60.
7. Reichmuth KJ, Austin D, Skatrud JB, Young T. Association of sleep apnea and type II diabetes: a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:1590-5.
8. Gasa M, Salord N, Fortuna AM, et al. Obstructive sleep apnoea and metabolic impairment in severe obesity. *Eur Respir J* 2011;38:1089-97.
9. Kohler M, Stradling JR. Mechanisms of vascular damage in obstructive sleep apnea. *Nat Rev Cardiol* 2010;7:677-85.
10. Sanders MH, Montserrat JM, Farré R, Givelber RJ. Positive pressure therapy: a perspective on evidence-based outcomes and methods of application. *Proc Am Thorac Soc* 2008;5:161-72.
11. Harsch IA, Schahin SP, Radespiel-Tröger M, et al. Continuous positive airway pressure treatment rapidly improves insulin sensitivity in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:156-62.
12. Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, Wilding JP, Calverley PM. Cardiovascular and metabolic effects of CPAP in obese males with OSA. *Eur Respir J* 2007;29:720-27.
13. West SD, Nicoll DJ, Wallace TM, Matthews DR, Stradling JR. Effect of CPAP on insulin resistance and HbA1c in men with obstructive sleep apnoea and type 2 diabetes. *Thorax* 2007;62:969-74.
14. Hoyos CM, Killick R, Yee BJ, Phillips CL, Grunstein RR, Liu PY. Cardiometabolic changes after continuous positive airway pressure for obstructive sleep apnoea: a randomised sham-controlled study. *Thorax* 2012;67:1081-9.
15. Weinstock TG, Wang X, Rueschman M, et al. A controlled trial of CPAP therapy on metabolic control in individuals with impaired glucose tolerance and sleep apnea. *Sleep* 2012;35:617-25.
16. Pépin JL, Tamisier R, Lévy P. Obstructive sleep apnoea and metabolic syndrome: put CPAP efficacy in a more realistic perspective. *Thorax* 2012;67:1025-7.
17. Craig CL, Marchall AL, Sjostrom M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1381-95.
18. Marin R, de la Sierra A, Armario P, Campo C, Banegas JR, Gorostidi M, Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial (SEH-LELHA). 2005 Spanish guidelines in diagnosis and treatment of arterial hypertension. *Med Clin (Barc)* 2005;125:24-34.

19. Masa JF, Jiménez A, Durán J, et al. Alternative methods of titrating continuous positive airway pressure: a large multicenter study. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:1218–24.
20. Genuth S, Alberti KG, Bennett P, et al. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26:3160–7.
21. 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 concentration in man. *Diabetologia* 1985;28:412–9.
22. Lam JC, Lam B, Yao TJ, et al. A randomised controlled trial of nasal continuous positive airway pressure on insulin sensitivity in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J* 2010;35:138–45.
23. Comondore VR, Cheema R, Fox J, et al. The impact of CPAP on cardiovascular biomarkers in minimally symptomatic patients with obstructive sleep apnea: a pilot feasibility randomized crossover trial. *Lung* 2009;187:17–22.
24. Iftikhar IH, Khan MF, Das A, Magalang UJ. Meta-analysis: continuous positive airway pressure improves insulin resistance in patients with sleep apnea without diabetes. *Ann Am Thorac Soc* 2013;10:115–20.
25. Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KG. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycemia: the current status on definition and intervention. *Diabetic Med* 2002;19:708–23.
26. Meyer C, Pimenta W, Woerle HJ, et al. Different mechanisms for impaired fasting glucose and impaired postprandial glucose tolerance in humans. *Diabetes Care* 2006;29:1909–4.
27. Ten-year follow-up report on Birmingham Diabetes Survey of 1961. Report by the Birmingham Diabetes Survey Working Party. *Br Med J* 1976;2:35–7.
28. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care* 2007;30:753–9.
29. Hoyos CM, Sullivan DR, Liu PY. Effect of CPAP on the metabolic syndrome: a randomized sham-controlled study. *Thorax* 2013;68:588–9.
30. Bonsignore MR, Borel AL, Machan E, Grunstein R. Sleep apnoea and metabolic dysfunction. *Eur Respir Rev* 2013;22:353–64.

ACKNOWLEDGMENTS

Author Contributions: Neus Salord researched data, contributed to the discussion, and wrote and edited the manuscript. Mercedes Mayos researched data, contributed to the discussion, and reviewed and contributed to the manuscript. Ana M Fortuna, Antonio Perez, Carme Monasterio, Mercè Gasa researched data, contributed to the discussion, and reviewed the manuscript. Núria Vilarassa, Josep Maria Montserrat, Maria R. Bonsignore contributed to the discussion, and reviewed the manuscript. Neus Salord is the guarantor of this work and, as such, had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. David Bridgewater assisted with the English in versions of the manuscript. Advice on the statistical analysis was given by Ignasi Gich (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain) and Cristina Esquinas (Hospital de la Vall d'Hebrón, Barcelona, Spain). The authors thank the sleep unit staff at Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat, Spain, Tomas Brinquis, Pilar Garriga, Maria Calvo, Neus Martí and Carme Rodríguez and Rosa Miralda, Ariadna Farré and Montserrat Carreras at Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain for their inestimable collaboration.

SUBMISSION & CORRESPONDENCE INFORMATION

Submitted for publication October, 2014
 Submitted in final revised form July, 2015
 Accepted for publication July, 2015
 Address correspondence to: Neus Salord, MD, Sleep Unit, Department of Respiratory Medicine, Hospital Universitari de Bellvitge, Feixa Llarga, s/n. CP 08907. Hospitalet de Llobregat, Spain; Tel: 93 260 7586; Fax: 93 260 7955; Email address: nsalord@bellvitgehospital.cat

DISCLOSURE STATEMENT

This was not an industry supported study. This work was supported by: Fondo de Investigación Sanitaria [Grant: FIS PI080800]; Societat Catalana de Pneumologia SOCAP [2052/09]. The authors have indicated no financial conflicts of interest.

Table S1. Baseline characteristics of included and dropout patients

	Analyzed patients N = 80	Dropout patients N = 18	P
Age, y	46.7 ± 9	37.1 ± 22	0.088
Sex, female n (%)	58 (72.5%)	9 (50)	0.064
Anthropometric variables			
BMI*, kg/m ²	47.4 ± 6	47.1 ± 6.1	0.857
Neck circumference, cm	43.0 (40-46)	43.0 (41-47)	0.517
Sleepiness and apnea-hypopnea index			
Epworth Sleepiness Scale	7.8 ± 5	7.6 ± 5	0.857
AHI, h ⁻¹	56.4 (40-86)	63.4 (48-99)	0.507
Metabolic syndrome components			
Waist circumference, cm	132.8 (14)	130.8 (10)	0.923
Systolic blood pressure, mmHg	140 (16)	131(10)	0.002
Diastolic blood pressure, mmHg	90 (80-99)	80 (63-83)	<0.001
Fasting glucose , mmol/L (N = 80, N = 12)	5.7 (0.79)	5.0 (0.73)	0.003
Triglycerides, mmol/L (N = 80, N = 12)	1.40 (1.10-1.97)	1.66 (0.92-2.23)	0.706
HDL cholesterol, mmol/L (N = 80, N = 12)	1.14 ± 0.24	1.18 ± 0.37	0.740
Glucose metabolism			
Glycosylated hemoglobin, %(N=80, N=12)	5.7 (5.5-6.0)	5.6 (5.4-5.0)	0.646
Metabolic syndrome			
Metabolic syndrome, n, %(N = 80,N = 12)	63 (78.8)	7 (58.3)	0.122

Data are presented as n (Percentage) for categorical data or as mean ± standard deviation or median (interquartile range) for continuous data. t test or Mann-Whitney U test were used for continuous variables and chi-square or Fisher test were used for categorical variables. Bold type is used to remark statistical significant differences.

AHI = apnea-hypopnea index; BMI = body mass index

Table S2. Baseline sleep characteristics of the study population

	CPAP group N = 42	Conservative treatment group N = 38	P
AHI, h ⁻¹	68.3 (43-88)	52.6 (37-78)	0.276
Time spent < 90% of SpO ₂ of TST, %	13.8 (6-29)	17.7 (6-41)	0.765
ODI 3%, h ⁻¹	57.8 ± 28	52.5 ± 28	0.402
Mean SpO ₂ , %	91.5 (90.8-94.0)	92.0 (89.8-93.0)	0.356
Minimal SpO ₂ , %	73.5 (68.5-79.0)	73.0 (63.5-81.5)	0.922
Sleep efficiency, %	82.8(74.0-87.7)	77.1 (69.3-86.0)	0.321
Phase II sleep, %	61.9 (49.3-75.0)	57.0 (51.0-66.0)	0.330
Phase I sleep, %	7.6 (3.6-15.8)	6.1 (4.2-13)	0.482
REM sleep, %	14 (8.8-19)	13.3 (8-18)	0.432
Slow wave sleep, %*	16.2 (8.6-23)	18.4 (12.4-24.0)	0.103

AHI = apnea-hypopnea index; CPAP = continuous positive airway pressure; ODI = oxyhemoglobin desaturation index; REM = rapid eye movement; SpO₂: arterial oxygen saturation by pulse oximetry; TST = total sleep time. Data are presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range). Student *t* or Mann-Whitney *U* test were used for continuous variables.

6.4. Resum dels resultats de l'article 2

Un total de 80 pacients van completar l'estudi, 42 en el grup de tractament amb CPAP i 38 en el grup de tractament conservador (TC). A les determinacions basals i per l'atzar, els pacients del grup TC presentaven un IMC i un diàmetre de cintura superiors. No vàrem trobar altres diferències en l'edat, el gènere, el percentatge de greix corporal, el nivell d'activitat física o la gravetat de la SAHS entre els dos grups.

El compliment del tractament amb CPAP en el grup a estudi va ser a les 12 setmanes de $5,4 \pm 1,6$ hores/nit i el 86% dels pacients van emprar la CPAP ≥ 4 hores per nit. Després de 12 setmanes de tractament els pacients dels dos grups van tenir una pèrdua de pes equiparable, l'IMC va disminuir un punt en els dos grups. No vàrem trobar canvis en la activitat física, la prevalença de la SMet, o la insulinoresistència mesurada per l'HOMA-IR. En el grup de CPAP la intolerància a la glucosa es va revertir en 9 pacients i cap la va desenvolupar, mentre que en el grup que rebia TC, 5 pacients van revertir a nivells normals i 5 la van desenvolupar ($p = 0,039$ en el test de Fisher). Aquets resultats es van corroborar amb els canvis de la glucosa a les 2h del test de tolerància oral a la glucosa, que va disminuir en els pacients que es trobaven en tractament amb CPAP (CPAP: $-0,5 \pm 1,5$ vs TC: $0,33 \pm 1,9$, $p = 0,007$).

Es va fer una subanàlisi analitzant els resultats per protocol, incloent-hi tan sols els pacients amb un compliment de més de 4 hores, que no va canviar els resultats principals. Com que basalment els pacients del TC tenien un IMC i DC superior, es va fer una subanàlisi excloent-ne els pacients amb obesitat extrema, de manera que els pacients dels dos grups s'equiparaven tant per l'IMC com pel DC. Després d'aquesta anàlisi tampoc van variar els resultats principals. Paral·lelament, en ajustar els resultat per ANCOVA es va trobar que l'efecte IMC basal no era significatiu (IMC, $P = 0,571$ grup $P = 0,280$).

DISCUSSIÓ CONJUNTA

7. DISCUSSIÓ CONJUNTA

En aquest treball de tesi doctoral s'han presentat els resultats de dos estudis fets en una mateixa cohort de pacients amb obesitat mòrbida, que es va dissenyar per avaluar l'impacte de la SAHS en el metabolisme en general, fent especial esment del metabolisme glucídic i de la prevalença de la SMet. Aquests dos treballs formen part de l'estudi SYBILA en que van participar 3 hospitals universitaris de la província de Barcelona. En un treball previ, inclòs a l'annex 1 per la seva importància i estreta relació amb els dos treballs que componen la tesi, es va fer un estudi observacional amb un disseny transversal per avaluar l'associació entre la SAHS i el perfil metabòlic en el pacient amb obesitat mòrbida. Per aquest motiu, es van incloure 159 pacients no seleccionats amb obesitat mòrbida, en els quals es va poder demostrar que la SAHS incrementava quasi per 3 la possibilitat de presentar la SMet i aquesta associació era independent de l'obesitat. En aquest estudi es va poder comprovar que a mesura que la gravetat de la SAHS augmentava, s'incrementaven les alteracions metabòliques. Els pacients amb SAHS tenien un perfil metabòlic pitjor, caracteritzat principalment per una pressió sistòlica més elevada, hipertrigliceridèmia i un pitjor control glicèmic mesurat per la Hb1Ac. Aquests resultats es van reproduir també en excloure'n els pacients diabètics.⁶⁷

El primer treball que forma part d'aquesta tesi doctoral és l'estudi de quatre de les diferents vies fisiopatològiques intermediàries per les quals es creu que la SAHS afavoreix la insulinoresistència, la disfunció metabòlica, la hipertensió i la SMet. Per aquest motiu, amb les dades dels pacients procedents de l'estudi de Gasa *et al.* es va dissenyar un estudi aparellat pel principal factor confusor que és l'obesitat central. Finalment, el segon treball d'aquesta tesi doctoral és l'estudi de l'efecte del tractament de referència de la SAHS greu, la CPAP, sobre la insulinoresistència i la disfunció metabòlica. Amb aquest objectiu es va fer un estudi aleatoritzat, aparellat de grups paral·lels en que es comparava l'efecte del tractament amb CPAP amb del tractament conservador. En conjunt, aquests estudis presenten una clara coherència temàtica i venen a aprofundir en tota una línia d'estudi de l'impacte de la SAHS sobre el metabolisme en la obesitat greu.

El primer treball que compona la tesi doctoral, és el primer estudi publicat fins el moment que explora l'efecte de la SAHS sobre quatre de les vies intermediàries que poden contribuir a la SMet, en una població no seleccionada de malalts amb obesitat mòrbida. En aquesta població amb obesitat extrema i SMet establerta, la presència de SAHS no va produir diferències sobre els nivells sèrics de les citocines proinflamatòries (IL-6, TNF- α), adipocines (leptina, adiponectina i quemerina), de VEGF o de sCD40L. De la mateixa manera que no es va trobar cap diferència en els biomarcadors estudiats entre els pacients sense SAHS i sense SMet i els dos grups de pacients amb SMet establerta.

L'estudi es va centrar en una població amb obesitat extrema composta principalment per dones premenopàusiques en que, tal i com s'ha esmentat a l'inici d'aquesta discussió, es va trobar associació entre la SAHS i la SMet. Els pacients es van aparellar en tres grups (No-SAHS-No-SMet; No-SAHS-SMet i SAHS-SMet) segons el diàmetre de cintura que es va utilitzar com a marcador d'obesitat central. Tal i com era d'esperar els pacients del grup SAHS-SMet van presentar una major disfunció metabòlica que els pacients No-SAHS-No-SMet. Addicionalment, quan es van comparar els pacients dels dos grups amb SMet, el grup SAHS-SMet mostrava un perfil més deteriorat amb una tendència a presentar més hipertrigliceridèmia, nivells més baixos de c-HDL, nivells més elevats de les transaminases hepàtiques i més requeriments de fàrmacs antihipertensius. Aquest fet en canvi, no va determinar cap diferència en cap dels biomarcadors estudiats. En un estudi previ fet en una població de pacients no obesos, Barceló *et al.* van trobar que tan sols els pacients amb SAHS però sense SMet establerta presentaven nivells més elevats de FFA, ja que pel contrari no es van trobar diferències entre els pacients amb i sense SAHS amb SMet.²⁵⁶ Sorprenentment, quan en el nostre estudi vàrem examinar el grup No-SAHS-No-SMet, que per definició constituïa el grup metabòlicament més sa, vàrem observar que tenien el mateix perfil de biomarcadors que els altres grups. L'obesitat metabòlicament sana està definida per la presència d'una sensibilitat normal a la insulina i d'un perfil lipídic normal. S'ha associat a nivells més baixos d'inflamació sistèmica i nivells més elevats d'adiponectina.^{257,258} Mentre que estudis en població americana obesa han trobat una prevalença del 30% d'obesos metabòlicament sans,²⁵⁹ tan sols el 5% dels obesos mòrbids presenten aquest perfil metabòlicament més sa.²⁶⁰ En el nostre estudi tan sols tres pacients No-SAHS-No-SMet tenien l'obesitat com a únic criteri

de SMet i també presentaven nivells elevats d'HOMA-IR. Podríem per tant especular, que la manca de diferències en els marcadors estudiats pot evidenciar un estadi prepatològic, inclús en el pacient sense SMet establert. Per altre banda, les alteracions metabòliques produïdes pel SAHS incorporarien noves vies fisiopatològiques no explorades.

La inflamació sistèmica s'ha descrit com un mecanisme intermediari que s'associa a la insulinoresistència, a la SMet i a la malaltia cardiovascular.^{261,262} Molts estudis transversals, aparellats i intervencionistes no controlats han suggerit que els nivells de citocines proinflamatòries i proteïna C-reactiva estan elevades en la SAHS.^{263,264} Aquests resultats no han sigut consistents, ja que també s'han publicat estudis negatius.^{265,266} Els pacients amb obesitat son resistents a l'efecte de la leptina, hormona reguladora de la gana i de la despesa energètica.²³⁶ En estudis clínics, la leptina es correlaciona amb la insulina, l'IMC i pot predir el desenvolupament de la SMet.²³⁷ La leptina va ser la primera adipocina que es va relacionar amb la SAHS, es va observar que els pacients amb SAHS en tenien nivells més elevats. Però, de fet, Vgontzas *et al.* ja van descriure que la leptina elevada estava més lligada al greix visceral i a altres marcadors proinflamatoris que a l'IAH.¹²⁰ Aquest fet podria explicar l'efecte sostre de l'obesitat mòrbida del present estudi. Aquest primer treball de la tesi tampoc va revelar cap dada addicional sobre la relació entre la adiponectina i la SAHS. S'ha postulat que la hipoadiponectinèmia juga un paper en el desenvolupament de la SMet, perquè l'adiponectina regula la sensibilitat a la insulina i té un efecte antiinflamatori protector del llit vascular.²⁴² Els estudis amb malalts amb SAHS no han sigut concloents, ja que alguns han demostrat una disminució de l'adiponectina, mentre que d'altres, com el nostre, n'han mostrat nivells normals.^{243,244} Com una contribució original en aquest estudi s'ha explorat el comportament de la quemerina, una hormona molt present al teixit adipós visceral, que s'ha associat a la SMet, la hipertrigliceridèmia i la hipertensió.²⁴⁵ Tan sols un estudi havia explorat abans la seva associació amb la SAHS. Feng *et al.* van trobar una relació dèbil però positiva de la quemerina amb la gravetat de la SAHS i una relació de la inflamació sistèmica amb la quemerina, pel que va estipular que aquesta hormona podria ser un possible nexa entre la SAHS i la inflamació.²⁴⁸ Aquestes dades no s'ha pogut reproduir en el nostre estudi.

A banda de la inflamació sistèmica i l'alteració de les adipocines, els efectes directes de les apnees obstructives (els canvis de pressió intratoràcics, els *arousals* recurrents i la hipòxia intermitent) també desencadenen un augment del tònic simpàtic, redueixen la sensibilitat baroreflexa i causen dany endotelial. Aquests canvis indueixen a una major rigidesa arterial, provoquen hipertensió i finalment afavoriran el desenvolupament de l'arteriosclerosi.¹⁴ Amb l'objectiu d'explorar aquests altres mecanismes, vàrem analitzar els nivells sèrics de VEGF i de sCD40L. Es creu que el VEGF promou l'aterogènesi a través de la proliferació de les cèl·lules endotelials, la migració cel·lular i l'increment de la permeabilitat vascular.²⁶⁷ Estudis previs han mostrat nivells més elevats de VEGF en pacients amb SAHS que en pacients control, sobretot relacionats amb la hipòxia.^{268,269} Els nostres resultats estan limitats per una gran variabilitat dels nivells de VEGF, fet que va impossibilitar trobar cap diferència entre els grups. Al mateix temps la presència del SAHS no va suposar cap efecte sobre els nivells de sCD40L. Es considera el sCD40L un marcador de arteriosclerosi, part del mecanisme d'activació de les plaquetes i els seus nivells estan associats a un increment del risc cardiovascular.²⁷⁰ Altres estudis focalitzats amb pacients amb obesitat més lleu no van observar canvis en la inflamació sistèmica, insulinoresistència, perfil lipídic, leptina o adiponectina.^{40,82} De forma similar, West *et al.* tampoc van poder mostrar canvis a la proteïna C-reactiva ni a la adiponectina després del tractament amb CPAP en pacients SAHS, diabetis tipus 2 establerta i una obesitat més greu.⁸⁰ Conjuntament amb aquests resultats, el nostre estudi reforça la idea que l'obesitat i les comorbiditats exerceixen un efecte sostre en els biomarcadors estudiats. No podem descartar que altres mecanismes intermediaris no explorats en aquest estudi, com l'increment de l'activitat simpàtica, puguin ser el nexa d'unió preferencial entre la disfunció metabòlica, la SMet i la comorbiditat cardiovascular i la SAHS en els pacients amb obesitat mòrbida. De fet, Dragger *et al.* van observar la milloria de signes precoços de arteriosclerosi, proteïna C-reactiva i catecolamines en orina en SAHS greus després de quatre mesos de tractament amb CPAP, però els seus pacients, a diferència dels nostres, tenien tan sols sobrepès i estaven lliures de qualsevol comorbiditat.⁸¹

En el segon treball de la tesi doctoral vàrem demostrar que en els pacients no diabètics amb obesitat mòrbida i SAHS greu, el tractament efectiu de la SAHS amb CPAP durant 12 setmanes millorava la tolerància a la glucosa sense milloria

en la insulinoresistència mesurada per l'HOMA-IR. Les altres variables metabòliques i la prevalença de la SMet no es van modificar de forma significativa entre el grup de CPAP, comparativament amb el grup amb tractament conservador. Aquest és el primer estudi aleatoritzat controlat que avalua aquests aspectes en la població descrita, i per tant, els resultats d'aquest estudi aporten nova informació relativa als beneficis del tractament amb CPAP sobre el metabolisme glucídic i els seus possibles mecanismes potencials. De fet aquests resultats són rellevants atès que la intolerància a la glucosa, un factor de risc per al desenvolupament de la DMT2, és molt prevalent en els subjectes obesos.

Els treballs que han abordat l'efecte del tractament sobre el metabolisme glucídic han mostrat resultats contradictoris.^{40,70,80,158} En un estudi no controlat, Harsch *et al.* van demostrar per primera vegada la millora de la sensibilitat a la insulina, mesurada per la prova de referència, el clamp hiperinsulinèmic euglicèmic, després de dues nits de tractament amb CPAP, en un grup de pacients de raça caucàsica, no diabètics amb una SAHS moderada.¹⁵¹ En un estudi posterior fet amb un disseny aleatoritzat i creuat, no es van trobar canvis al HOMA-IR en una població més obesa amb SAHS greu, després de 6 setmanes de tractament amb CPAP, comparat amb l'efecte de la sham-CPAP.⁷⁰ Més recentment, Hoyos *et al.* no van observar diferències en l'HOMA-IR després de 12 setmanes de tractament amb CPAP, en una població no seleccionada de pacients amb obesitat important i amb SAHS greu, però, per contra, van trobar canvis significatius en els nivells de sensibilitat a la insulina tan sols en els pacients complidors.⁴⁰ En un altre estudi que es va portar a terme en pacients asiàtics amb sobrepès i una SAHS moderada-greu, es van observar canvis significatius també en la sensibilitat a la insulina després de tan sols d'una setmana de tractament.⁴² Malgrat els estudis individuals negatius en els canvis l'HOMA-IR, una metaanàlisi recent d'estudis controlats aleatoritzats en pacients no diabètics, va concloure que el tractament amb CPAP comparat amb la Sham-CPAP provoca un modest descens de l'HOMA-IR.¹⁵⁵ Cal tenir en conte que tant en l'estudi de Hoyos *et al.* com en el de Coughlin *et al.* la mitjana d'ús de la CPAP va ser més baixa de 4 hores per nit, el que suggereix que una bona adherència a la CPAP és crucial per assolir un efecte positiu de la CPAP a la insulinoresistència.^{40,70}

Malgrat que en l'estudi present no vam trobar efectes sobre l'HOMA-IR, vam observar que el tractament amb CPAP millorava la tolerància a la glucosa. Aquesta discrepància aparent entre l' HOMA-IR i la glucosa a les 2 hores durant el test de tolerància oral a la glucosa (TTOG) reflecteix la base fisiopatològica de la IGT. La IGT s'associa amb la resistència perifèrica a la insulina que és més evident a nivell del múscul esquelètic perifèric.²⁷¹ L'HOMA-IR és el producte de la glucosa basal en dejú i la concentració de la insulina i reflecteix la resistència a la supressió de la producció de la glucosa a nivell del fetge i del ronyó per la insulina, mentre que el clamp hiperinsulinèmic euglicèmic reflecteix la sensibilitat del múscul a l'estimulació per la insulina.²⁷² En aquest context la milloria de la tolerància a la glucosa després de 12 setmanes de tractament amb CPAP pot reflectir la reducció de la insulinoresistència a nivell del múscul. Abans que el nostre, l'estudi de Weinstock *et al.* en una població moderadament obesa, no va trobar cap diferència en l'efecte de la CPAP comparat amb el de la Sham-CPAP sobre la insulinoresistència mesurada per TTOG, després de 8 setmanes.¹⁵⁸ En canvi, va demostrar un efecte positiu de la CPAP a la glucosa a les 2 hores, l'HOMA-IR, i l'índex de sensibilitat a la insulina i percentatge de normalització de la glucosa en el subgrup de pacients amb una SAHS greu (IAH > 30).¹⁵⁸ Els resultats d'aquest segon treball de la tesi concorden amb els de Weinstock *et al.* i conjuntament suggereixen que la gravetat de la SAHS és un factor a tenir en compte a l'hora d'avaluar els efectes de la CPAP sobre el metabolisme glucídic.

Les dades positives obtingudes a les 12 setmanes de tractament en el grup de CPAP sobre la tolerància oral a la glucosa tenen un efecte clínic potencialment rellevant. El nombre de pacients amb IGT en el grup de CPAP va millorar significativament en comparació amb els del grup de TC que no va variar. El IGT és un important factor de risc per a la progressió a la diabetis i per al desenvolupament de malaltia cardiovascular que és reversible.^{103,104} Per tant, per l'elevat risc de desenvolupar diabetis dels pacients amb obesitat greu amb IGT, les nostres troballes suggereixen que la CPAP utilitzada de forma conjunta a les modificacions de l'estil de vida pot tenir un paper potencial per prevenir o retardar la progressió de prediabetis a DMT2.

En concordança amb dos estudis previs controlats, la prevalença de la SMet no va canviar després del tractament amb CPAP. Coughlin *et al.* no van observar cap efecte sobre la SMet després de 6 setmanes de tractament amb CPAP, comparat amb el de la Sham-CPAP en la esmentada població de pacients amb una SAHS moderada-greu, detectant tan sols canvis en la tensió arterial.⁷⁰ Hoyos *et al.* tampoc van observar cap millora en el seu estudi amb una població no seleccionada i amb comorbiditats tractades.⁷¹ Conjuntament, aquests resultats amb el del present estudi, suggereixen que l'obesitat és un factor més potent que la SAHS com a factor causal d'aquest conjunt d'anormalitats metabòliques que defineixen la SMet.

A banda del disseny controlat aleatoritzat, una de les forteses d'aquest estudi és el bon compliment del tractament amb CPAP, comparat amb la baixa adherència que van presentar alguns dels estudis anteriorment mencionats i que probablement van limitar els efectes positius de la CPAP sobre el metabolisme glucídic).^{40,70,80} Una altra fortalesa de l'estudi, va ser el control del possible efecte de la activitat física mitjançant el qüestionari IPAQ. D'acord amb l'estudi de West *et al.*, vàrem comprovar que el tractament amb CPAP no s'associava a canvis sobre el nivell d'activitat física, tenint sempre en compte les característiques de la nostra mostra d'estudi.⁸⁰

CONCLUSIONS

8. CONCLUSIONS

- No s'ha observat cap patró biològic d'entre els biomarcadors estudiats, que ens permeti diferenciar l'obesitat mòrbida simple de l'associada amb la síndrome d'apnea-hipopnea del son (SAHS) o amb la síndrome metabòlica (SMet).

- La gravetat de l'obesitat central, en aquesta població d'obesos mòrbids, sembla provocar un efecte sostre sobre totes les vies estudiades, malgrat que aquestes podrien estar estimulades per la hipòxia intermitent i la fragmentació de son que caracteritzen la SAHS.

- No es pot descartar que la relació de la SAHS amb les alteracions metabòliques es produeixi per altres vies no analitzades en aquest estudi, com la hiperestimulació simpàtica o l'estrès oxidatiu.

- El tractament amb CPAP durant 12 setmanes millora la tolerància a la glucosa amb pacients amb obesitat mòrbida i SAHS greu, sense canvis en l'HOMA-IR ni canvis en el nivell d'activitat física, la qual cosa recolza que la millora amb el tractament amb CPAP és produeix preferentment a través de la milloria de la resistència perifèrica a la insulina.

- El nostre estudi aporta noves dades en l'associació de la SAHS amb les alteracions del metabolisme glucídic i recolza que el tractament amb CPAP conjuntament amb els canvis d'estil de vida milloren el metabolisme glucídic en individus amb SAHS greu i obesitat mòrbida.

REFERÈNCIES

9. REFERÈNCIES

1. Kiely JL, Mc Nicholas WT. Overview and historical perspectives of sleep apnoea syndrome. *Eur Respir Mon.* 1998; 3:1-8.
2. Dickens C. *The posthumous Papers of the Pickwick Club.* London: Chapman and Hall. 1837.
3. Burwell CS, Robin ED, Whaley RD, Bicklemann AG. Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation: a Pickwickian syndrome. *Am J Med.* 1956;21(5):811-8.
4. Guilleminault C, Tilkian A, Dement WC. The sleep apnea syndromes. *Annu Rev Med.* 1976;27:465-84.
5. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population Health perspective. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 165(9):1217-39.
6. Celli BR, Halbert RJ, Isonaka, Schau B. Population impact of diferent definitions of airway obstruction. *Eur Respir J.* 2003; 22(2): 268-73.
7. McNicolas WT, Bonsignore MR, Management Committee of EU COST ACTION B26. Sleep apnoea as an independent risk factor for cardiovascular disease: corrent evidence, basic mechanisms and reseach priorities. *Eur Respir J.* 2007; 29(1): 156-78.
8. Parati G, Lombardi C, Hedner J, Bonsignore MR, Grote L, Tkacova R, et al. Recomendations for the manegement of patients with obstructive sleep apnea and hypertension. *Eur Respir J.* 2013; 41(3): 523-38.
9. Reichmuth KJ, Austin D, Skatrud JB, Young T. Association of sleep apnea and type II diabetes. *Am J Respir Med.* 2005;172(12):1590-5.
10. Bassetti CL, Hermann DM. Sleep and stroke. *Handb Clin Neurol* 2011;99:1051-72.
11. Consenso Nacional sobre el síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño. *Arch Bronconeumol.* 2005; supl 4:12-29.

12. Durán J, Esnaola S, Rubio R, Iztueta A. Obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in a population-based sample of subjects aged 30 to 70 yr. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(3 Pt 1):685-9.
13. AlGhanim N, Comondore VR, Fleetham J, Marra CA, Ayas NT. The economic impact of obstructive sleep apnea. *Lung.* 2008;186(1):7-12.
14. Kohler M, Stradling JR. Mechanisms of vascular damage in obstructive sleep apnea. *Nat Rev Cardiol.* 2010;7(12):677-85.
15. Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, Calverley PM, Wilding JP. Obstructive sleep apnoea is independently associated with an increased prevalence of metabolic syndrome. *Eur Heart J.* 2004;25(9):735-41.
16. 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(9464):1046-53.
17. Younes M. Role of arousals in the pathogenesis of obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169(5):623-33.
18. Engleman HM, Douglas NJ. Sleep. 4: Sleepiness, cognitive function, and quality of life in obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *Thorax.* 2004;59(7):618-22.
19. Terán-Santos J, Jiménez-Gómez A, Cordero-Guevara J. The association between sleep apnea and the risk of traffic accidents. Cooperative Group Burgos-Santander. *N Engl J Med.* 1999;340(11):847-51.
20. Schwartz AR, Patil SP, Laffan AM, Polotsky V, Schneider H, Smith PL. Obesity and obstructive sleep apnea: pathogenic mechanisms and therapeutic approaches. *Proc Am Thorac Soc.* 2008;5(2):185-92.
21. Whittle AT, Marshall I, Mortimore IL, Wraith PK, Sellar RJ, Douglas NJ. Neck soft tissue and fat distribution: comparison between normal men and women by magnetic resonance imaging. *Thorax.* 1999;54(4):323-8.
22. Malhotra A, Huang Y, Fogel RB, Pillar G, Edwards JK, Kikinis R, et al. The male predisposition to pharyngeal collapse: importance of airway length. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(10):1388-95.

23. Chin CH, Kirkness JP, Patil SP, McGinley BM, Smith PL, Schwartz AR, et al. Compensatory responses to upper airway obstruction in obese apneic men and women. *J Appl Physiol* (1985). 2012 ;112(3):403-10.
24. Malhotra A, Huang Y, Fogel R, Lazic S, Pillar G, Jakab M, et al. Aging influences on pharyngeal anatomy and physiology: the predisposition to pharyngeal collapse. *Am J Med*. 2006; 119(1):72.e9-14.
25. Eikermann M, Jordan AS, Chamberlin NL, Gautam S, Wellman A, Lo YL, et al. The influence of aging on pharyngeal collapsibility during sleep. *Chest*. 2007;131(6):1702-9.
26. Marcus CL Obstructive sleep apnea syndrome: differences between children and adults. *Sleep*. 2000;23 Suppl 4:S140-1.
27. Punjabi NM. The epidemiology of adult obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5(2):136-43.
28. Sullivan CE, Issa FG, Berthon-Jones M, Eves L. Reversal of obstructive sleep apnoea by continuous positive airway pressure applied through the nares. *Lancet*. 1981;1(8225):862-5.
29. Sanders MH, Montserrat JM, Farré R, Givelber RJ. Positive pressure therapy: a perspective on evidence-based outcomes and methods of application. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5(2):161-72.
30. Weaver TE, Mancini C, Maislin G, Cater J, Staley B, Landis JR, et al. Continuous positive airway pressure treatment of sleepy patients with milder obstructive sleep apnea: results of the CPAP Apnea Trial North American Program (CATNAP) randomized clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;186(7):677-83.
31. Lloberes P, Durán-Cantolla J, Martínez-García MÁ, Marín JM, Ferrer A, Corral J, et al. Diagnóstico y tratamiento del síndrome de apneas-hipopneas del sueño Normativa SEPAR. *Arch Bronconeumol*. 2011;47(3):143-56.
32. Peppard PE, Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J. Longitudinal study of moderate weight change and sleep-disordered breathing. *JAMA*. 2000;284(23):3015-21.

33. Vgontzas AN, Tan TL, Bixler EO, Martin LF, Shubert D, Kales A. Sleep apnea and sleep disruption in obese patients. *Arch Intern Med.* 1994;154(15):1705-11.
34. Vgontzas AN, Bixler EO, Chrousos GP. Sleep apnea is a manifestation of the metabolic syndrome. *Sleep Med Rev.* 2005;9(3):211-24.
35. Knutson KL, Van Cauter E. Associations between sleep loss and increased risk of obesity and diabetes. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1129:287-304.
36. Phillips BG, Hisel TM, Kato M, Pesek CA, Dyken ME, Narkiewicz K, et al. Recent weight gain in patients with newly diagnosed obstructive sleep apnea. *J Hypertens.* 1999;17(9):1297-300.
37. O'Driscoll DM, Turton AR, Copland JM, Strauss BJ, Hamilton GS. Energy expenditure in obstructive sleep apnea: validation of a multiple physiological sensor for determination of sleep and wake. *Sleep Breath.* 2013;17(1):139-46.
38. Chin K, Shimizu K, Nakamura T, Narai N, Masuzaki H, Ogawa Y, et al. Changes in intra-abdominal visceral fat and serum leptin levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome following nasal continuous positive airway pressure therapy. *Circulation.* 1999;100(7):706-12.
39. Trenell MI, Ward JA, Yee BJ, Phillips CL, Kemp GJ, Grunstein RR, et al. 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(5):679-87.
40. Hoyos CM, Killick R, Yee BJ, Phillips CL, Grunstein RR, Liu PY. Cardiometabolic changes after continuous positive airway pressure for obstructive sleep apnoea: a randomised sham-controlled study. *Thorax.* 2012;67(12):1081-9.
41. Sivam S, Phillips CL, Trenell MI, Yee BJ, Liu PY, Wong KK, et al. Effects of 8 weeks of continuous positive airway pressure on abdominal adiposity in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J.* 2012;40(4):913-8.
42. Lam JC, Lam B, Yao TJ, Lai AY, Ooi CG, Tam S, et al. A randomised controlled trial of nasal continuous positive airway pressure on insulin sensitivity in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J.* 2010;35(1):138-45.
43. Albert KGMM, Grundy SM, Eckert RH, Zimmet PA, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the

International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120(16):1640-45.

44. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28(9):2289-04.

45. Wilson PW, D'Agostino RB, Parise H, Sullivan L, Meigs JB. Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2005;112(20):3066-72.

46. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002;288(21):2709-16.

47. Gami AS, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK, et al. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(4):403-14.

48. Ho JS, Cannaday JJ, Barlow CE, Mitchell TL, Cooper KH, FitzGerald SJ. Relation of the number of metabolic syndrome risk factors with all-cause and cardiovascular mortality. *Am J Cardiol*. 2008;102(6):689-92.

49. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PA. The metabolic syndrome: Prevalence in worldwide populations. *Endocrino Metab Clin North Am*. 2004;33(2):351-75.

50. Grundy SM, Cleeman JL, Daniels RD, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute scientific statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735-52.

51. Eckel RH, Gundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;365(9468):1415-28.

52. Opie LH. Metabolic syndrome. *Circulation*. 2007;115(3):e32-5.

53. Kuroda S, Uzu T, Fujii T, Nishimura N, Nakamura S, Inenaga T, et al. Role of insulin resistance in the genesis of sodium sensitivity in essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 1999;13(4):257-62.
54. Anderson EA, Hoffman RP, Balon TW, Sinkey CA, Mark AL. Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans. *J Clin Invest*. 1991;87(6):2246-52.
55. Neuschwaner-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single topic conference. *Hepatology*. 2003;37(5):1202-19.
56. Nawrocki AR, Sherer PE. The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal inflammation. *Curr Opin Pharmacol*. 2004; 4(3):281-9.
57. Shiina K, Tomiyama H, Takata Y, Usui Y, Asano K, Hirayama Y, et al. Concurrent presence of metabolic syndrome in obstructive sleep apnea syndrome exacerbates the cardiovascular risk: a sleep clinic cohort study. *Hypertens Res*. 2006;29(6):433-41.
58. Wilcox L, McNamara SG, Collins FL, Grunstein RR, Sullivan CE. Syndrome Z: the interaction of sleep apnoea, vascular risk factors and heart disease. *Thorax*. 1998;53Suppl3:S25-8.
59. Lam JC, Lam B, Lam CL, Fong D, Wang JK, Tse HF, et al. Obstructive sleep apnea and the metabolic syndrome in community-based Chinese adults in Hong Kong. *Respir Med*. 2006;100(6):980-7.
60. Nieto FJ, Peppard PE, Young TB. Sleep disordered breathing and metabolic syndrome. *WMJ*. 2009;108(5):263-5.
61. Theorell-Haglow J, Berne C, Janson C, Lindberg E. The role of obstructive sleep apnea in metabolic syndrome: a population-based study in women. *Sleep Med*. 2011;12(4):329-34.
62. McArdle N, Hillman D, Beilin L, Watts G. Metabolic risk factors for vascular disease in obstructive sleep apnea: a matched controlled study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(2):190-5.

63. Kono M, Tatsumi K, Saibara T, Nakamura A, Tanabe N, Takiguchi Y, et al. Obstructive sleep apnea syndrome is associated with some components of metabolic syndrome. *Chest*. 2007;131(5):1387-92.
64. Sasanabe R, Banno K, Otake K, Hasegawa R, Usui K, Morita M, et al. Metabolic syndrome in Japanese patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Hypertens Res*. 2006;29(5):315-22.
65. Sharma SK, Kumpawat S, Goel A, Banga A, Ramakrishnan L, Chaturvedi P. Obesity, and not obstructive sleep apnea, is responsible for metabolic abnormalities in a cohort with sleep-disordered breathing. *Sleep Med*. 2007;8(1):12-7.
66. Chin K, Oga T, Takahashi K, Takegami M, Nakayama-Ashida Y, Wakamura T, et al. Associations between obstructive sleep apnea, metabolic syndrome, and sleep duration, as measured with an actigraph, in an urban male working population in Japan. *Sleep*. 2010;33(1):89-95.
67. Gasa M, Salord N, Fortuna AM, Mayos M, Vilarrasa N, Dorca J, et al. Obstructive sleep apnoea and metabolic impairment in severe obesity. *Eur Respir J*. 2011;38(5):1089-97.
68. Jun J, Polotsky VY. Sleep disorders breathing and metabolic effects: evidence from animal models. *Sleep Med Clin* 2007;2(2):263-77.
69. Drager LF, Lopes HF, Maki-Nunes C, Trombetta IC, Toschi-Dias E, Alves MJ, et al. The impact of obstructive sleep apnea on metabolic and inflammatory markers in consecutive patients with metabolic syndrome. *PLoS One*. 2010 5(8):e12065.
70. Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, Wilding JP, Calverley PM. Cardiovascular and metabolic effects of CPAP in obese males with OSA. *Eur Respir J*. 2007;29(4):720-27.
71. Hoyos CM, Sullivan DR, Liu PY. Effect of CPAP on the metabolic syndrome: a randomized Sham-controlled study. *Thorax*. 2013;68(6):588-9.
72. 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(4):686-92.

73. Goff DC, Jr., Bertoni AG, Kramer H, Bonds D, Blumenthal RS, Tsai MY, et al. Dyslipidemia prevalence, treatment, and control in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA): gender, ethnicity, and coronary artery calcium. *Circulation*. 2006;113(5):647-56.

74. Drager LF, Jun J, Polotsky VY. Obstructive sleep apnea and dyslipidemia: implications for atherosclerosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2010;17(2):161-5.

75. Newman AB, Nieto FJ, Guidry U, Lind BK, Redline S, Pickering TG, et al. Relation of sleep-disordered breathing to cardiovascular disease risk factors: the Sleep Heart Health Study. *Am J Epidemiol*. 2001;154(1):50-9.

76. Trzepizur W, Le Vaillant M, Meslier N, Pigeanne T, Masson P, Humeau MP, et al. Independent association between nocturnal intermittent hypoxemia and metabolic dyslipidemia. *Chest*. 2013;143(6):1584-9.

77. Roche F, Sforza E, Pichot V, Maudoux D, Garcin A, Celle S, et al. Obstructive sleep apnoea/hypopnea influences high-density lipoprotein cholesterol in the elderly. *Sleep Med*. 2009;10(8):882-6.

78. Chou YT, Chuang LP, Li HY, Fu JY, Lin SW, Yang CT, et al. Hyperlipidaemia in patients with sleep-related breathing disorders: prevalence & risk factors. *Indian J Med Res*. 2010;131:121-5.

79. Robinson GV, Pepperell JC, Segal HC, Davies RJ, Stradling JR. Circulating cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnoea: data from randomised controlled trials. *Thorax*. 2004;59(9):777-82.

80. West SD, Nicoll DJ, Wallace TM, Matthews DR, Stradling JR. Effect of CPAP on insulin resistance and HbA1c in men with obstructive sleep apnoea and type 2 diabetes. *Thorax*. 2007;62(11):969-74.

81. Drager LF, Bortolotto LA, Figueiredo AC, Krieger EM, Lorenzi GF. Effects of continuous positive airway pressure on early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176(7):706-12.

82. Kohler M, Stoewhas AC, Ayers L, Senn O, Bloch KE, Russi EW, et al. Effects of continuous positive airway pressure therapy withdrawal in patients with obstructive sleep apnea: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184(10):1192-9
83. Phillips CL, Yee BJ, Marshall NS, Liu PY, Sullivan DR, Grunstein RR. Continuous Positive Airway Pressure Reduces Post Prandial Lipidemia in Obstructive Sleep Apnea. A Randomised, Placebo Controlled Crossover Trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; 184(3):355-6.
84. Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA.* 2007;298(3):309–16.
85. Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24(5):695-08.
86. Bonsignore MR, McNicholas WT, Montserrat JM, Eckel J. Adipose tissue in obesity and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J.* 2012;39(3):746-67.
87. Rector RS, Thyfaul JP, Uptergrove GM, Morris EM, Naples SP, Borengasser SJ, et al. Mitochondrial dysfunction precedes insulin resistance and hepatic steatosis and contributes to the natural history of non-alcoholic fatty liver disease in an obese rodent model. *J Hepatol.* 2010;52(5):727-36.
88. Savransky V, Nanayakkara A, Vivero A, Li J, Bevans S, Smith PL, et al. Chronic intermittent hypoxia predisposes to liver injury. *Hepatology.* 2007;45(4):1007-13.
89. Piguet AC, Stroka D, Zimmermann A, Dufour JF. Hypoxia aggravates non-alcoholic steatohepatitis in mice lacking hepatocellular PTEN. *Clin Sci (Lond).* 2009;118(6):401-10.
90. Norman D, Bardwell WA, Arosemena F, Nelesen R, Mills PJ, Loredó JS, et al. Serum aminotransferase levels are associated with markers of hypoxia in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2008;31(1):121-6.
91. Aron-Wisnewsky J, Minville C, Tordjman J, Lévy P, Bouillot JL, Basdevant A, et al. Chronic intermittent hypoxia is a major trigger for non-alcoholic fatty liver disease in morbid obese. *J Hepatol.* 2012;56(1):225-33.

92. Shpirer I, Copel L, Broide E, Elizur A. Continuous positive airway pressure improves sleep apnea associated fatty liver. *Lung*. 2010;188(4):301-7.
93. Kohler M, Pepperell JC, Davies RJ, Stradling JR. Continuous positive airway pressure and liver enzymes in obstructive sleep apnoea: data from a randomized controlled trial. *Respiration*. 2009;78(2):141-6.
94. Polotsky VY, Patil SP, Savransky V, Laffan A, Fonti S, Frame LA, et al. Obstructive sleep apnea, insulin resistance, and steatohepatitis in severe obesity. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179(3):228-34.
95. Minville C, Hilleret MN, Tamisier R, Aron-Wisnewsky J, Clement K, Trocme C, et al. Nonalcoholic fatty liver disease, nocturnal hypoxia, and endothelial function in patients with sleep apnea. *Chest*. 2014;145(3):525-33.
96. The global challenge of diabetes. *Lancet*. 2007; 371(9626):1723.
97. Lam J CM, Lui MS, Ip M. Diabetes and metabolic aspects of OSA. *European Respiratory Monograph*. 2010;5:189-15.
98. Bonsignore MR, Borel AL, Machan E, Grunstein R. Sleep apnoea and metabolic dysfunction. *Eur Respir Rev*. 2013;22(129):353-64.
99. Lévy P, Bonsignore MR, Eckel J. Sleep, sleep-disordered breathing and metabolic consequences. *Eur Respir J*. 2009;34(1):243-60.
100. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes—2010. *Diabetes*. 2010;33(Suppl.1),S11–61.
101. 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(7):412–19.
102. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am.J.Physiol*. 1979;237(3):E214–23.
103. Ten-year follow-up report on Birmingham Diabetes Survey of 1961. Report by the Birmingham Diabetes Survey Working Party. *Br Med J*. 1976;2(6026):35-37.

104. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, Heine RJ, Henry RR, Pratley R, et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care*. 2007;30(3):753-59.
105. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1997;20(7):1183-97.
106. Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, et al. Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26(11):3160-67.
107. Punjabi NM, Sorkin JD, Katzel LI, Goldberg AP, Schwartz AR, Smith PL. Sleep-disordered breathing and insulin resistance in middle-aged and overweight men. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(5):677-82.
108. Theorell-Haglöw J, Berne C, Janson C, Lindberg E. Obstructive sleep apnoea is associated with decreased insulin sensitivity in females. *Eur Respir J*. 2008;31(5):1054-60.
109. Punjabi NM, Shahar E, Redline S, Gottlieb DJ, Givelber R, Resnick HE, et al. Sleep-disordered breathing, glucose intolerance, and insulin resistance: the Sleep Heart Health Study. *Am J Epidemiol*. 2004;160(6):521-30.
110. Redline S, Sotres-Alvarez D, Loredó J, Hall M, Patel SR, Ramos A, et al. Sleep-disordered Breathing in Hispanic/Latino Individuals of diverse backgrounds. The Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;189(3):335-44.
111. Bakker JP, Weng J, Wang R, Redline S, Punjabi NM, Patel SR. Associations Between Obstructive Sleep Apnea, Sleep Duration, and Abnormal Fasting Glucose: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(6):745-53.
112. Tanno S, Tanigawa T, Saito I, Nishida W, Maruyama K, Eguchi E, et al. Sleep-related intermittent hypoxemia and glucose intolerance: a community-based study. *Sleep Med*. 2014;15(10):1212-8.

113. Kim NH, Cho NH, Yun CH, Lee SK, Yoon DW, Cho HJ, et al. Association of obstructive sleep apnea and glucose metabolism in subjects with or without obesity. *Diabetes Care*. 2013;36(12):3909-15.
114. Seicean S, Kirchner HL, Gottlieb DJ, Punjabi NM, Resnick H, Sanders M, et al. Sleep-disordered breathing and impaired glucose metabolism in normal-weight and overweight/obese individuals: the Sleep Heart Health Study. *Diabetes Care*. 2008;31(5):1001-6.
115. Lindberg E, Theorell-Haglöw J, Svensson M, Gislason T, Berne C, Janson C. Sleep apnea and glucose metabolism: a long-term follow-up in a community-based sample. *Chest*. 2012;142(4):935-42.
116. Katsumata K, Okada T, Miyao M, Katsumata T. High incidence of sleep apnea syndrome in a male diabetic population. *Diabetes Res Clin Pract*. 1991;13(1-2):45-51.
117. Tiihonen M, Partinen M, Närvänen S. The severity of obstructive sleep apnoea is associated with insulin resistance. *J Sleep Res*. 1993;2(1):56-61.
118. Strohl KP, Novak RD, Singer W, Cahan C, Boehm KD, Denko CW, et al. Insulin levels, blood pressure and sleep apnea. *Sleep*. 1994;17(7):614-18.
119. Stoohs RA, Facchini F, Guilleminault C. Insulin resistance and sleep-disordered breathing in healthy humans. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154(1):170-74.
120. Vgontzas AN, Papanicolau DA, Bixler EO, Hopper K, Lotsikas A, Lin HM, et al. Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(3):1151-58.
121. Ip MS, Lam B, Ng MM, Lam WK, Tsang KW, Lam KS. Obstructive sleep apnea is independently associated with insulin resistance. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(5):670-76.
122. Meslier N, Gagnadoux F, Giraud P, Person C, Oukssel H, Urban T, et al. Impaired glucose-insulin metabolism in males with obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir J*. 2003;22(1):156-60.

123. Tassone F, Lanfranco F, Gianotti L, Pivetti S, Navone F, Rossetto R, et al. Obstructive sleep apnoea syndrome impairs insulin sensitivity independently of anthropometric variables. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;59(3):374–79.
124. Makino S, Handa H, Suzukawa K, Fujiwara M, Nakamura M, Muraoka S, et al. Obstructive sleep apnoea syndrome, plasma adiponectin levels, and insulin resistance. *Clin Endocrinol*. 2006;64(1):12–19.
125. Peled N, Kassirer M, Shitrit D, Kogan Y, Shlomi D, Berliner AS, et al. The association of OSA with insulin resistance, inflammation and metabolic syndrome. *Respir Med*. 2007;101(8):1696–01.
126. Kapsimalis F, Varouchakis G, Manousaki A, Daskas S, Nikita D, Kryger M, et al. Association of sleep apnea severity and obesity with insulin resistance, C-reactive protein, and leptin levels in male patients with obstructive sleep apnea. *Lung*. 2008;186(4):209–17.
127. Barcelo A, Barbe F, de la Pena M, Martinez P, Soriano JB, Piérola J, et al. Insulin resistance and daytime sleepiness in patients with sleep apnea. *Thorax*. 2008;63(11):946–50.
128. Davies RJ, Turner R, Crosby J, Stradling JR. Plasma insulin and lipid levels in untreated obstructive sleep apnoea and snoring; their comparison with matched controls and response to treatment. *J Sleep Res*. 1994;3(3):180–85.
129. Barceló A, Barbé F, Llompарт E, Mayoralas LR, Ladaría A, Bosch M, et al. Effects of obesity on C-reactive protein level and metabolic disturbances in male patients with obstructive sleep apnea. *Am J Med*. 2004;117(2):118–21.
130. Sharma SK, Kumpawat S, Goel A, Banga A, Ramakrishnan L, Chaturvedi P, et al. Obesity, and not obstructive sleep apnea, is responsible for metabolic abnormalities in a cohort with sleep-disordered breathing. *Sleep Med*. 2007;8(1):12–17.
131. Resnick HE, Redline S, Shahar E, Gilpin A, Newman A, Walter R, et al. Diabetes and sleep disturbances: findings from the Sleep Heart Health Study. *Diabetes Care*. 2003;26(3):702–9.

132. Einhorn D, Stewart D A, Erman M K, Gordon N, Philis-Tsimikas A, Casal E. Prevalence of sleep apnea in a population of adults with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Pract.* 2007;13(4):355–62.
133. Foster G D, Sanders M H, Millman R, Zammit G, Borradaile K E, Newman A B, et al. Obstructive sleep apnea among obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(6):1017–9.
134. Laaban J P, Daenen S, Leger D, Pascal S, Bayon V, Slama G, et al. Prevalence and predictive factors of sleep apnoea syndrome in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab.* 2009;35(5):372–7.
135. Aronsohn RS, Whitmore H, Van Cauter E, Tasali E. Impact of untreated obstructive sleep apnea on glucose control in type 2 diabetes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;181(5):507–13.
136. Tamura A, Kawano Y, Watanabe T, Kadota J. Relationship between the severity of obstructive sleep apnea and impaired glucose metabolism in patients with obstructive sleep apnea. *Respir Med.* 2008;102(10):1412–16.
137. Botros N, Concato J, Mohsenin V, Selim B, Doctor K, Yaggi, HK. Obstructive sleep apnea as a risk factor for type 2 diabetes. *Am J Med.* 2009;122(12):1122–27.
138. Mahmood K, Akhter N, Eldeirawi K, Onal E, Christman JW, Carley D W, et al. Prevalence of type 2 diabetes in patients with obstructive sleep apnea in a multi-ethnic sample. *J Clin Sleep Med.* 2009; 5(3):215–21.
139. Marshall NS, Wong KK, Phillips CL, Liu PY, Knuiman MW, Grunstein RR. Is sleep apnea an independent risk factor for prevalent and incident diabetes in the Busselton Health Study? *J Clin Sleep Med.* 2009;5(1):15–20.
140. Ronksley PE, Hemmelgarn BR, Heitman SJ, Hanly PJ, Faris PD, Quan H. Obstructive sleep apnoea is associated with diabetes in sleepy subjects. *Thorax.* 2009;64(10):834–39.
141. Kent BD, Grote L, Ryan S, Pépin JL, Bonsignore MR, Tkacova R, et al. Diabetes Mellitus Prevalence and Control in Sleep-Disordered Breathing: The European Sleep Apnea Cohort (ESADA) Study. *Chest.* 2014;146(4):982–90.

142. Celen, YT, Hedner J, Carlson J, Peker Y. Impact of gender on incident diabetes mellitus in obstructive sleep apnea: a 16-year follow-up. *J Clin Sleep Med*. 2010;6(3):244–50.
143. Fredheim JM, Rollheim J, Omland T, Hofso D, Roislien J, Vegsgaard K, et al. Type 2 diabetes and pre-diabetes are associated with obstructive sleep apnea in extremely obese subjects: a cross-sectional study. *Cardiovasc Diabetol*. 2011;10:84.
144. Samson P, Casey KR, Knepler J, Panos RJ. Clinical characteristics, comorbidities, and response to treatment of veterans with obstructive sleep apnea, Cincinnati Veterans Affairs Medical Center, 2005–2007. *Prev Chronic Dis*. 2012;9:E46.
145. Lindberg E, Theorell-Haglöw J, Svensson M, Gislason T, Berne C, Janson C. Sleep apnea and glucose metabolism: a long-term follow-up in a community-based sample. *Chest*. 2011;142(4):935–42.
146. Muraki I, Tanigawa T, Yamagishi K, Sakurai S, Ohira T, Imano H, et al. Nocturnal intermittent hypoxia and the development of type 2 diabetes: the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS). *Diabetologia*. 2010;53(3):481–8.
147. Wang X, Bi Y, Zhang Q, Pan F. Obstructive sleep apnoea and the risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Respirology*. 2013;18(1):140–6.
148. Kendzerska T, Gershon AS, Hawker G, Tomlinson G, Leung RS. Obstructive sleep apnea and incident diabetes. A historical cohort study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(2):218–25.
149. Pillai A, Warren G, Gunathilake W, Idris I. Effects of sleep apnea severity on glycemic control in patients with type 2 diabetes prior to continuous positive airway pressure treatment. *Diabetes Technol Ther*. 2011;13(9):945–49.
150. Fendri S, Rose D, Myambu S, Jeanne S, Lalau JD. Nocturnal hyperglycaemia in type 2 diabetes with sleep apnoea syndrome. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;91(1):e21–23.
151. Harsch IA, Schahin SP, Radespiel-Tröger M, Weintz O, Jahreiss H, Fuchs FS, et al. Continuous positive airway pressure treatment rapidly improves insulin

sensitivity in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169(2):156-62.

152. Yang D, Liu Z, Yang H, Luo Q. Effects of continuous positive airway pressure on glycemic control and insulin resistance in patients with obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *Sleep Breath.* 2013;17(1):33-8.

153. Pamidi S, Wroblewski K, Stepien M, Sharif-Sidi K, Kilkus J, Whitmore H, et al. Eight Hours of Nightly Continuous Positive Airway Pressure Treatment of Obstructive Sleep Apnea Improves Glucose Metabolism in Patients with Prediabetes. A Randomized Controlled Trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;192(1):96-05.

154. Comondore VR, Cheema R, Fox J, Butt A, John Mancini GB, Fleetham JA, et al. The impact of CPAP on cardiovascular biomarkers in minimally symptomatic patients with obstructive sleep apnea: a pilot feasibility randomized crossover trial. *Lung.* 2009;187(1):17–22.

155. Iftikhar IH, Khan MF, Das A, Magalang UJ. Meta-analysis: continuous positive airway pressure improves insulin resistance in patients with sleep apnea without diabetes. *Ann Am Thorac Soc.* 2013;10(2):115–20.

156. Sharma SK, Agrawal S, Damodaran D, Sreenivas V, Kadiravan T, Lakshmy R, et al. CPAP for the metabolic syndrome in patients with obstructive sleep apnea. *N Engl J Med.* 2011;369(18):1770.

157. Sharma SK, Agrawal S, Damodaran D, Sreenivas V, Kadiravan T, Lakshmy R, Jagia P, Kumar A. Retraction: CPAP for the metabolic syndrome in patients with obstructive sleep apnea. *N Engl J Med.* 2011;365:2277-86.

158. Weinstock TG, Wang X, Rueschman M, Ismail-Beigi F, Aylor J, Babineau, et al. A controlled trial of CPAP therapy on metabolic control in individuals with impaired glucose tolerance and sleep apnea. *Sleep.* 2012;35(5):617–25.

159. Pallayova M, Donic V, Tomori Z. Beneficial effects of severe sleep apnea therapy on nocturnal glucose control in persons with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin.* 2008;81(1):e8–e11.

160. Dawson A, Abel SL, Loving RT, Dailey G, Shadan FF, Cronin JW, et al. CPAP therapy of obstructive sleep apnea in type 2 diabetics improves glycemic control during sleep. *J Clin Sleep Med*. 2008;4(6):538–42.
161. Brooks B, Cistulli PA, Borkman M, Ross G, McGhee S, Grunstein R R, et al. Obstructive sleep apnea in obese noninsulin-dependent diabetic patients: effect of continuous positive airway pressure treatment on insulin responsiveness. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(6):1681–85.
162. Harsch IA, Schahin SP, Brückner K, Radespiel-Tröger M, Fuchs FS, Hahn EG, et al. The effect of continuous positive airway pressure treatment on insulin sensitivity in patients with obstructive sleep apnoea syndrome and type 2 diabetes. *Respiration*. 2004;71(3):252–59.
163. Babu AR, Herdegen J, Fogelfeld L, Shott S, Mazzone T. Type 2 diabetes, glycemic control, and continuous positive airway pressure in obstructive sleep apnea. *Arch Intern Med*. 2005;165(4):447–52.
164. Jun J, Polosty VY. Metabolic consequences of sleep-disordered breathing. *ILAR J*. 2009;50(3):289–309.
165. Briançon-Majollet A, Weiszenstein M, Henri M, Thomas A, Godin-Ribot D, Polak J. The impact of sleep disorders on glucose metabolism: endocrine and molecular mechanisms. *Diabetol Metab Syndr*. 2015;7:25.
166. Ayas NT, White DP, Al-Delaimy WK, Manson JE, Stampfer MJ, Speizer FE, et al. A prospective study of self-reported sleep duration and incident diabetes in women. *Diabetes Care*. 2003;26(2):380–4.
167. Chaput JP, Després JP, Bouchard C, Astrup A, Tremblay A. Sleep duration as a risk factor for the development of type 2 diabetes or impaired glucose tolerance: analyses of the Quebec Family Study. *Sleep Med*. 2009;10(8):919–24.
168. Gottlieb DJ, Punjabi NM, Newman AB, Resnick HE, Redline S, Baldwin CM, et al. Association of sleep time with diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Arch Intern Med*. 2005;165(8):863–7.
169. Mallon L, Broman JE, Hetta J. High incidence of diabetes in men with sleep complaints or short sleep duration: a 12-year follow-up study of a middle-aged population. *Diabetes Care*. 2005;28(11):2762–7.

170. Nilsson PM, Rööst M, Engström G, Hedblad B, Berglund G. Incidence of diabetes in middle-aged men is related to sleep disturbances. *Diabetes Care*. 2004;27(10):2464-9.
171. Yaggi HK, Araujo AB, McKinlay JB. Sleep duration as a risk factor for the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29(3):657-61.
172. Holliday EG, Magee CA, Kritharides L, Banks E, Attia J. Short sleep duration is associated with risk of future diabetes but not cardiovascular disease: a prospective study and meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(11):e82305.
173. Buxton OM, Pavlova M, Reid EW, Wang W, Simonson DC, Adler GK. Sleep restriction for 1 week reduces insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes*. 2010;59(9):2126-33.
174. Nedeltcheva AV, Kessler L, Imperial J, Penev PD. Exposure to recurrent sleep restriction in the setting of high caloric intake and physical inactivity results in increased insulin resistance and reduced glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(9):3242-50.
175. Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet*. 1999;354(9188):1435-9.
176. Spiegel K, Leproult R, L'hermite-Balériaux M, Copinschi G, Penev PD, Van Cauter E. Leptin levels are dependent on sleep duration: relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(11):5762-71.
177. Omisade A, Buxton OM, Rusak B. Impact of acute sleep restriction on cortisol and leptin levels in young women. *Physiol Behav*. 2010;99(5):651-6.
178. Kumari M, Badrick E, Ferrie J, Perski A, Marmot M, Chandola T. Self-reported sleep duration and sleep disturbance are independently associated with cortisol secretion in the Whitehall II study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(12):4801-9.
179. Grandner MA, Sands-Lincoln MR, Pak VM, Garland SN. Sleep duration, cardiovascular disease, and proinflammatory biomarkers. *Nat Sci Sleep*. 2013;5:93-107.
180. Knutson KL. Sleep duration and cardiometabolic risk: a review of the epidemiologic evidence. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010;24(5):731-43.

181. Spiegel K, Tasali E, Penev P, Van Cauter E. Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med.* 2004;141(11):846–50.
182. Tasali E, Leproult R, Ehrmann DA, Van Cauter E. Slow-wave sleep and the risk of type 2 diabetes in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(3):1044-9.
183. Stamatakis KA, Punjabi NM. Effects of sleep fragmentation on glucose metabolism in normal subjects. *Chest.* 2010;137(1):95–01.
184. Lesser DJ, Bhatia R, Tran WH, Oliveira F, Ortega R, Keens TG, et al. Sleep fragmentation and intermittent hypoxemia are associated with decreased insulin sensitivity in obese adolescent Latino males. *Pediatr Res.* 2012;72(3):293–8.
185. Lévy P, Ryan S, Oldenburg O, Parati G. Sleep apnoea and the heart. *Eur Respir Rev.* 2013;22(129):333-52.
186. Drager LF, Li J, Reinke C, Bevans-Fonti S, Jun JC, Polotsky VY. Intermittent hypoxia exacerbates metabolic effects of diet-induced obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2011;19(11):2167–74.
187. Lee EJ, Alonso LC, Stefanovski D, Strollo HC, Romano LC, Zou B, et al. Time-dependent changes in glucose and insulin regulation during intermittent hypoxia and continuous hypoxia. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113(2):467-78.
188. Polak J, Shimoda LA, Drager LF, Undem C, McHugh H, Polotsky VY, et al. Intermittent hypoxia impairs glucose homeostasis in C57BL6/J mice: partial improvement with cessation of the exposure. *Sleep.* 2013;36(10):1483–90.
189. Polotsky VY, Li J, Punjabi NM, Rubin AE, Smith PL, Schwartz AR, et al. Intermittent hypoxia increases insulin resistance in genetically obese mice. *J Physiol.* 2003;552(Pt 1):253-64.
190. Fletcher EC. Sympathetic over activity in the etiology of hypertension of obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2003;26(1):15-9.
191. Deibert DC, DeFronzo RA. Epinephrine-induced insulin resistance in man. *J Clin Invest.* 1980;65(3):717-21.

192. Dungan KM, Braithwaite SS, Preiser JC. Stress hyperglycaemia. *Lancet*. 2009;373(9677):1798-807.
193. Carlson JT, Hedner J, Elam M, Ejnell H, Sellgren J, Wallin BG. Augmented resting sympathetic activity in awake patients with obstructive sleep apnea. *Chest*. 1993;103(6):1763-8.
194. Narkiewicz K, Kato M, Phillips BG, Pesek CA, Davison DE, Somers VK. Nocturnal continuous positive airway pressure decreases daytime sympathetic traffic in obstructive sleep apnea. *Circulation*. 1999;100(23):2332-5.
195. Ziegler MG, Mills PJ, Loreda JS, Ancoli-Israel S, Dimsdale JE. Effect of continuous positive airway pressure and placebo treatment on sympathetic nervous activity in patients with obstructive sleep apnea. *Chest*. 2001;20(3):887-93.
196. Bao G, Metreveli N, Li R, Fletcher EC. Blood pressure response to chronic episodic hypoxia: role of the sympathetic nervous system. *J Appl Physiol*. 1997;83(1):95-101.
197. Shin MK, Han W, Bevans-Fonti S, Jun JC, Punjabi NM, Polotsky VY. The effect of adrenal medullectomy on metabolic responses to chronic intermittent hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol*. 2014;203:60-7.
198. Henriksen EJ, Diamond-Stanic MK, Marchionne EM. Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med*. 2011;51(5):993-9.
199. Jelic S, Padeletti M, Kawut SM, Higgins C, Canfield SM, Onat D et al. Inflammation, oxidative stress, and repair capacity of the vascular endothelium in obstructive sleep apnea. *Circulation*. 2008;117(17):2270-8.
200. Chen L, Einbinder E, Zhang Q, Hasday J, Balke CW, Scharf SM. Oxidative stress and left ventricular function with chronic intermittent hypoxia in rats. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(7):915-20.
201. Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Selective activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Circulation*. 2005;112(17):2660-7.

202. 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(2):591-6.
203. Yamauchi M, Tamaki S, Tomoda K, Yoshikawa M, Fukuoka A, Makinodan K, et al. Evidence for activation of nuclear factor kappaB in obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2006;10(4):189-93.
204. Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Systemic inflammation: a key factor in the pathogenesis of cardiovascular complications in obstructive sleep apnoea syndrome? *Thorax*. 2009;64(7):631-6.
205. Ohga E, Nagase T, Tomita T, Teramoto S, Matsuse T, Katayama H, et al. Increased levels of circulating ICAM-1, VCAM-1, and L-selectin in obstructive sleep apnea syndrome. *J Appl Physiol*. 1999;87(1):10-4.
206. Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Predictors of elevated nuclear factor-kappaB-dependent genes in obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174(7):824-30.
207. Li J, Thorne LN, Punjabi NM, Sun CK, Schwartz AR, Smith PL, et al. Intermittent hypoxia induces hyperlipidemia in lean mice. *Circ Res*. 2005;97(7):698-706.
208. Savransky V, Nanayakkara A, Li J, Bevans S, Smith PL, Rodriguez A, et al. Chronic intermittent hypoxia induces atherosclerosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(12):1290-7.
209. Li J, Bosch-Marce M, Nanayakkara A, Savransky V, Fried SK, Semenza GL, et al. Altered metabolic responses to intermittent hypoxia in mice with partial deficiency of hypoxia-inducible factor-1alpha. *Physiol Genomics*. 2006;25(3):450-7.
210. Savransky V, Bevans S, Nanayakkara A, Li J, Smith PL, Torbenson MS, et al. Chronic intermittent hypoxia causes hepatitis in a mouse model of diet-induced fatty liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007;293(4):G871-7.
211. Rosa DP, Martinez D, Picada JN, Semedo JG, Marroni NP. Hepatic oxidative stress in an animal model of sleep apnoea: effects of different duration of exposure. *Comp Hepatol*. 2011;10(1):1.

212. da Rosa DP, Forgiarini LF, Baronio D, Feijo CA, Martinez D, Marroni NP. Simulating sleep apnea by exposure to intermittent hypoxia induces inflammation in the lung and liver. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:879419.
213. Jun J, Savransky V, Nanayakkara A, Bevans S, Li J, Smith PL, et al. Intermittent hypoxia has organ-specific effects on oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008;295(4):R1274–81.
214. Pallayova M, Steele KE, Magnuson TH, Schweitzer MA, Hill NR, Bevans-Fonti S, et al. Sleep apnea predicts distinct alterations in glucose homeostasis and biomarkers in obese adults with normal and impaired glucose metabolism. *Cardiovasc Diabetol.* 2010;9:83.
215. Louis M, Punjabi NM. Effects of acute intermittent hypoxia on glucose metabolism in awake healthy volunteers. *J Appl Physiol.* 2009;106(5):1538–44.
216. Xu J, Long YS, Gozal D, Epstein PN. Beta-cell death and proliferation after intermittent hypoxia: role of oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2009;46(6):783–90.
217. Wang N, Khan SA, Prabhakar NR, Nanduri J. Impairment of pancreatic beta-cell function by chronic intermittent hypoxia. *Exp Physiol.* 2013;98J(9):1376–85.
218. Ota H, Tamaki S, Itaya-Hironaka A, Yamauchi A, Sakuramoto-Tsuchida S, Morioka T, et al. Attenuation of glucose-induced insulin secretion by intermittent hypoxia via down-regulation of CD38. *Life Sci.* 2012;90(5-6):206–11.
219. Liyori N, Alonso LC, Li J, Sanders MH, Garcia-Ocana A, O'Doherty RM, et al. Intermittent hypoxia causes insulin resistance in lean mice independent of autonomic activity. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175(8):851–7.
220. Carreras A, Kayali F, Zhang J, Hirotsu C, Wang Y, Gozal D. Metabolic effects of intermittent hypoxia in mice: steady versus high-frequency applied hypoxia daily during the rest period. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012;303(7):R700–9.
221. Delarue J, Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007;10(2):142–8.

222. Jun J, Reinke C, Bedja D, Berkowitz D, Bevans-Fonti S, Li J, et al. Effect of intermittent hypoxia on atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*. 2010;209(2):381–6.
223. Jun JC, Drager LF, Najjar SS, Gottlieb SS, Brown CD, Smith PL, et al. Effects of sleep apnea on nocturnal free fatty acids in subjects with heart failure. *Sleep*. 2011;34(9):1207–13.
224. Poulain L, Thomas A, Rieusset J, Casteilla L, Levy P, Arnaud C, et al. Visceral white fat remodelling contributes to intermittent hypoxia-induced atherogenesis. *Eur Respir J*. 2014;43(2):513–22.
225. Drager LF, Yao Q, Hernandez KL, Shin MK, Bevans-Fonti S, Gay J, et al. Chronic intermittent hypoxia induces atherosclerosis via activation of adipose angiotensin-like 4. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(2):240–8.
226. Yao Q, Shin MK, Jun JC, Hernandez KL, Aggarwal NR, Mock JR, et al. Effect of chronic intermittent hypoxia on triglyceride uptake in different tissues. *J Lipid Res*. 2013;54(4):1058–65.
227. Magalang UJ, Cruickshank JP, Rajappan R, Hunter MG, Patel T, Marsh CB, et al. Intermittent hypoxia suppresses adiponectin secretion by adipocytes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2009;117(3):129–34.
228. Borst SE, Conover CF, Bagby GJ. Association of resistin with visceral fat and muscle insulin resistance. *Cytokine*. 2005;32(1):39–44.
229. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85–97.
230. Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, Albarado DC, Hymel DT, Roan LE, et al. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity: evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response. *Diabetes*. 2009;58(3):718–25.
231. Ye J, Gao Z, Yin J, He Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293(4):E1118–28.

232. Reinke C, Bevans-Fonti S, Drager LF, Shin MK, Polotsky VY. Effects of different acute hypoxic regimens on tissue oxygen profiles and metabolic outcomes. *J Appl Physiol* (1985).2011;111(3):881-90.
233. Lee YS, Kim JW, Osborne O, Oh da Y, Sasik R, Schenk S, et al. Increased adipocyte O₂ consumption triggers HIF-1, causing inflammation and insulin resistance in obesity. *Cell*. 2014;157(6):1339-52.
234. Gharib SA, Khalyfa A, Abdelkarim A, Ramesh V, Buazza M, Kaushal N, et al. Intermittent hypoxia activates temporally coordinated transcriptional programs in visceral adipose tissue. *J Mol Med (Berl)*. 2012;90(4):435-45.
235. Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc*. 2001;60(3):329-39.
236. Korner J, Leibel RL. To eat or not to eat - how the gut talks to the brain. *N Engl J Med*. 2003;349(10):926-928
237. Galletiti F, Barbato A, Vesiero M, Iacone R, Russo O, Barba G et al. Circulating Leptin levels predict the development of metabolic syndrome in middle-aged men: An 8-year follow-up study. *J Hypertens*. 2007;25;1671-1677.
238. Snyder EM, Carr RD, Deacon CF, Johnson BD. Overnight hypoxic exposure and glucagon-like peptide-1 and leptin levels in humans. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008;33(5):929-35
239. Luo JD, Zhang GS, Chen MS. Leptin and cardiovascular diseases. *Drug News Perspect*.2005;18(7):427-31.
240. Parhami F, Tintut Y, Ballard A, Fogelman AM, Demer LL. Leptin enhances the calcification of vascular cells: artery wall as a target of leptin. *Circ Res*. 2001;88(9):954-60.
241. Ip MS, Lam KS, Ho C, Tsang KW, Lam W. Serum leptin and vascular risk factors in obstructive sleep apnea. *Chest*. 2000;118(3):580-6.
242. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*.2005;15(5):911-9.

243. Wolk R, Svatikova A, Nelson CA, Gami AS, Govender K, Winnicki M, et al. Plasma levels of adiponectin, a novel adipocyte-derived hormone, in sleep apnea. *Obes Res.* 2005;13(1):186-90.
244. Ernst MC, Sinal CJ. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends Endocrinol Metab.* 2010;21(11):660-7.
245. Weigert J, Neumeier M, Wanninger J, Filarsky M, Bauer S, Wiest R, et al. Systemic chemerin is related to inflammation rather than obesity in type 2 diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;72(3):342-8
246. Feng X, Li P, Zhou C, Jia X, Kang J. Elevated levels of serum chemerin in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Biomarkers.* 2012;17(3):248-53
247. Dixon JB, Schachter LM, O'Brien PE, Jones K, Grima M, Lambert G, et al. Surgical vs conventional therapy for weight loss treatment of obstructive sleep apnea: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2012 ;308(11):1142-9.
248. Ford ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care.* 2005;28(7):1769–78.
249. Lam JC, Mak JC, Ip MS. Obesity, obstructive sleep apnoea and metabolic syndrome. *Respirology.* 2012;17(2):223–36.
250. Bonsignore MR, McNicholas WT, Montserrat JM, Eckel J. Adipose tissue in obesity and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J.* 2012;39(3):746–67.
251. Arnardottir ES, Mackiewicz M, Gislason T, Teff KL, Pack A. Molecular signatures of obstructive sleep apnea in adults: A review and perspective. *Sleep.* 2009;32:447-70.
252. Rosito GA, Massaro JM, Hoffmann U, Ruberg FL, Mahabadi AA, Vasan RS, et al. Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors, and vascular calcification in a community-based sample: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008;117(5):605-13.
253. Duren DL, Sherwood RJ, Czerwinski SA, Lee M, Choh AC, Siervogel RM, et al. Body composition methods: comparisons and interpretation. *J Diabetes Sci Technol.* 2008;2(6):1139-46.

254. Pascot A, Després JP, Lemieux I, Bergeron J, Nadeau A, Prud'homme D, et al. Contribution of visceral obesity to the deterioration of the metabolic risk profile in men with impaired glucose tolerance. *Diabetologia*. 2000;43(9):1126-35.
255. Pépin JL, Tamisier R, Lévy P. Obstructive sleep apnoea and metabolic syndrome: put CPAP efficacy in a more realistic perspective. *Thorax*. 2012;67(12):1025-7.
256. Barceló A, Piérola J, de la Peña M, Esquinas C, Fuster A, Sanchez-de-la-torre M, et al. Free fatty acids and the metabolic syndrome in patients with obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2011; 37(6):1418-23.
257. Karelis AD, Faraj M, Bastard JP, St-Pierre DH, Brochu M, Prud'homme D, et al. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(7):4145-50.
258. Aguilar-Salinas CA, García EG, Robles L, Ruiz-Gomez DG, García-Ulloa AC, Melgarejo MA, et al. High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype. *Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(10):4075-9.
259. Karelis AD, St-Pierre DH, Conus F, Rabasa-Lhoret R, Poehlman ET. Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know? *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2569-75.
260. Soverini V, Moscatiello S, Villanova N, Ragni E, Di Domizio S, Marchesini G. Metabolic syndrome and insulin resistance in subjects with morbid obesity. *Obes Surg*. 2010;20(3):295-301.
261. Frohlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H, et al. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome a population-based study. *Diabetes Care*. 2000;23(12):1835-9.
262. Ridker PM, Cook N. Clinical usefulness of very high and very low levels of C-reactive protein across the full range of Framingham risk scores. *Circulation*. 2004;109(16):1955-9.
263. Minoguchi, K. Yokoe T, Tazaki T, Minoguchi H, Tanaka A, Oda N, et al. Increased carotid intima media thickness and serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(5):625-30.

264. Can M, Açikgöz S, Mungan G, Bayraktaroğlu T, Koçak E, Güven B, et al. Serum cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnea. *Chest*. 2006;129(2):233-7.
265. Ryan S, Nolan GM, Hannigan E, Cunningham S, Taylor C, McNicolas WT. Cardiovascular risk markers in obstructive sleep apnea syndrome and correlation with obesity. *Thorax*. 2007;62(6):509-14.
266. Taheri S, Austin D, Lin L, Nieto F J, Young T, Mignot E. Correlates of serum C-reactive protein (CRP) - no association with sleep duration or sleep disordered breathing. *Sleep*. 2007;30(8):991-6.
267. Cherniack EP. Vascular endothelial growth factor and sleep apnea: clutching at straws in the night. *Respiration*. 2007;74(1):17-8.
268. De la Peña M, Barceló A, Barbe F, Piérola J, Pons J, Rimbau E, et al. Endothelial function and circulating endothelial progenitor cells in patients with sleep apnea syndrome. *Respiration*. 2008;76(1):28-32.
269. Imagawa S, Yamaguchi Y, Higuchi M, Neichi T, Hasegawa Y, Mukai HY, et al. Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Blood*. 2001;98(4):1255-7.
270. Szmítko PE, Wang CH, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: Part II. *Circulation*. 2003;108(17):2041-8.
271. Unwin, N, Shaw, J, Zimmet, P, Alberti, KG. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycemia: the current status on definition and intervention. *Diabetic Medicine*. 2002;19(9):708-23.
272. Meyer C, Pimenta W, Woerle HJ, Van Haeften T, Szoke E, Mitrakou A, et al. Different Mechanisms for Impaired Fasting Glucose and Impaired Postprandial Glucose Tolerance in Humans. *Diabetes Care*. 2006;29(8):1909-14.

ANNEX 1



Obstructive sleep apnoea and metabolic impairment in severe obesity

M. Gasa^{*,#,†,‡}, N. Salord^{*,#,†}, A.M. Fortuna^{+,§}, M. Mayos^{+,§}, N. Vilarrasa[†], J. Dorca[#], J.M. Montserrat^{†,†,†,†}, M.R. Bonsignore^{**,##} and C. Monasterio^{*,#,†}

ABSTRACT: Obstructive sleep apnoea (OSA) seems to worsen metabolism. This effect has not been evaluated in morbid obesity (MO). We hypothesised that the metabolic profile is more impaired in MO patients with OSA than in those without, and investigated whether any specific metabolic dysfunction is related to OSA in MO.

A prospective multicentre cross-sectional study was conducted in consecutive subjects before bariatric surgery. OSA was defined as apnoea/hypopnoea index (AHI) ≥ 15 by overnight polysomnography. Anthropometrical, blood pressure (BP) and fasting blood measurements were obtained the morning after. Metabolic syndrome (MetS) was defined according to National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III modified criteria.

159 patients were studied: 72% were female and 72% had OSA. MetS prevalence was 70% in OSA versus 36% in non-OSA ($p < 0.001$). As AHI severity increased, metabolic parameters progressively worsened, even in those without type 2 diabetes (DM2). AHI was independently associated with systolic and diastolic BP, triglycerides and the percentage of glycosylated haemoglobin (HbA1c) in the total sample, and with systolic BP, high-density lipoprotein cholesterol and HbA1c in those samples without DM2. OSA increased the adjusted odds ratio of having MetS by 2.8 (95% CI 1.3–6.2; $p = 0.009$).

In MO, OSA is associated with major metabolic impairment caused by higher BP and poorer lipid and glucose control, independent of central obesity or DM2.

KEYWORDS: Metabolic index, metabolic syndrome, morbid obesity, obstructive sleep apnoea

Metabolic abnormalities, whether assessed as metabolic syndrome (MetS) [1] or as their single components (central obesity, impaired glucose metabolism, hypertension, hypertriglyceridaemia and lower high-density lipoprotein cholesterol (cHDL)) have been shown to increase cardiovascular (CV) morbidity and mortality [2–5]. Central obesity seems to play a crucial role in the origin of metabolic disruption, but many other mechanisms have also been considered responsible [6]. Recent reports have suggested that obstructive sleep apnoea (OSA) may worsen the effect of obesity on cardiometabolic risk and that it could represent an additional burden on the metabolic dysfunction associated with obesity [7, 8].

The mechanisms through which OSA may worsen metabolism are complex. It may trigger several pathological mediating pathways (sympathetic activation, neurohumoral changes, glucose homeostasis disruption, inflammation and oxidative stress) through chronic intermittent hypoxia (CIH),

and these may ultimately cause deterioration in the metabolic function [9, 10]. Animal studies have shown reduced insulin resistance and plasma lipids, as well as increased blood pressure (BP), after exposure of lean and obese animals to CIH [11], but data in humans are more scarce.

Obesity is the main confounding factor in the investigation of the association between OSA and metabolic dysfunction [12]. Most previous reports have excluded subjects with morbid obesity (MO), possibly because the effect of OSA is expected to be little or absent in this subpopulation, due to extreme obesity. Conversely, MO patients could have a higher CV risk compared with non-MO subjects, because of the high prevalence of both metabolic dysfunction [13, 14] and OSA [15, 16]. Therefore, investigating this association in MO should contribute to a better understanding of the relative interaction between OSA, MO and metabolic dysfunction.

AFFILIATIONS

*Sleep Unit, Dept of Respiratory Medicine, Hospital Universitari de Bellvitge.

#Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL), Inflammatory, Chronic and Degenerative Diseases, Respiratory Medicine Section.

†Dept of Endocrinology and Nutrition, Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat.

‡University of Barcelona, Barcelona.

§CIBER Enfermedades Respiratorias (CIBERes), Madrid, Spain.

¶Sleep Unit, Dept of Respiratory Medicine, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

**Sleep Unit, Dept of Respiratory Medicine, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain, and

##Biomedical Dept of Internal and Specialistic Medicine (DIBIMIS), Section of Pneumology, University of Palermo, Italy.

CORRESPONDENCE

M. Gasa

Sleep Unit, Dept of Respiratory Medicine
 Hospital Universitari de Bellvitge
 Feixa Llarga
 s/n. CP 08907

Hospitalet de Llobregat
 Spain

E-mail: mgasa@bellvitgehospital.cat

Received:

Dec 23 2010

Accepted after revision:

April 07 2011

First published online:

May 26 2011

European Respiratory Journal
 Print ISSN 0903-1936
 Online ISSN 1399-3003

This article has supplementary material accessible from www.erj.ersjournals.com

We hypothesised that, in a cohort of consecutive MO patients enrolled in a bariatric surgery programme, the metabolic profile is more impaired in those with OSA than in those with no OSA. Furthermore, we attempted to detect whether there is any specific metabolic dysfunction pattern related to OSA, and whether the overall CV risk increases in parallel with OSA severity in the morbidly obese.

METHODS

Subjects and protocol

Consecutive patients prospectively included in the obesity surgery programme were studied in the corresponding Sleep Units from January 2009 through February 2010. The study protocol was approved by the local ethical committee of each hospital (PR052/08, 07/064/797, PI080277). All participants gave their informed written consent.

Inclusion criteria were the same as those for the obesity surgery programme: aged 18–60 yrs and a body mass index (BMI) of $\geq 40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ or $\geq 35 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ with comorbidity related to obesity (resistant hypertension, established heart disease, severe degenerative osteoarthritis, respiratory failure). The following patients were excluded: those with known OSA and prior continuous positive airway pressure (CPAP) treatment, unstable CV conditions, acute or chronic inflammatory diseases during the previous 6 months, chronic immunosuppressant therapy, severe cognitive or psychiatric disorders, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [17], pregnancy or past or current history of alcohol abuse, and those who refused to give their consent.

Each participant completed a detailed questionnaire on medical history, cardiovascular risk factors and current medication. Exercise level and sleep duration were recorded by a self-administered International Physical Activity Questionnaire [18] and a sleep diary for 15 consecutive nights. Anthropometric characteristics included BMI, neck circumference (at the level of the laryngeal prominence), waist circumference (WC; measured midway between the lower rib and the iliac crest), waist/hip ratio and percentage of body fat mass measured by electrical bioimpedance (BIA 101; Akern Bioresearch, Florence, Italy). Clinical BP was measured by a standard mercury sphygmomanometer while the subject was seated at rest, and taken as the mean value of at least two measurements separated by 5 min; an additional measurement was made if there was a difference of $>5 \text{ mmHg}$ between the two [19]. Respiratory functional assessment included forced spirometry and arterial blood gas analysis, taken with the subject seated breathing room air.

Sleep study

OSA was determined by a full overnight polysomnography (PSG). PSG interpretation was assessed according to standard criteria [20], as described in E1 of the online supplementary material.

As few morbidly obese patients were expected to show an apnoea/hypnoea index (AHI) $<5 \text{ events}\cdot\text{h}^{-1}$ [16], an AHI cut-off of $15 \text{ events}\cdot\text{h}^{-1}$ was chosen to define the presence of OSA by the study design. The degree of nocturnal desaturation was assessed by the mean percentage of sleep time with arterial oxygen saturation measured by pulse oximetry $<90\%$ (time $\text{Sp}_2\text{O}_2 <90\%$). Excessive daytime sleepiness (EDS), quantified

by the Epworth sleepiness scale (ESS), was defined as an ESS score ≥ 10 .

Blood measurements and MetS definition

The morning after PSG, a venous blood sample was obtained from all patients in fasting conditions and an oral glucose tolerance test (OGTT) was performed, except in those with previously known type 2 diabetes (DM2). Fasting blood glucose (FBG), percentage of glycosylated haemoglobin (HbA1c), total cholesterol, triglycerides, cHDL, low-density lipoprotein cholesterol and very low-density lipoprotein cholesterol levels were determined with standard laboratory methods. Patients were classified according to the OGTT: normal glucose tolerance (post-load glucose $<7.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), impaired glucose tolerance (post-load glucose $7.8\text{--}11.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) and established DM2 (post-load glucose $\geq 11.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) [21].

MetS was defined in accordance with the National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP) III modified criteria [1] as the presence of three or more of the following: WC $\geq 88 \text{ cm}$ in females, $\geq 102 \text{ cm}$ in males; high BP as systolic ≥ 130 and/or diastolic $\geq 85 \text{ mmHg}$ or antihypertensive treatment; high FBG as $\geq 5.6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ or anti-diabetic treatment; high triglycerides as $\geq 1.7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ or lipid-lowering treatment; reduced cHDL as $<1.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ in males and $<1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ in females or lipid-lowering treatment. Metabolic index was established as the number of individual MetS components for each patient.

Cardiovascular risk assessment in the AHI categories

The Framingham cardiac risk score was applied to estimate the CV risk [22] in the different AHI categories. The scores consider sex, age, total cholesterol, cHDL, systolic BP and smoking, and they were used to predict the 10-yr risk of coronary events in the AHI categories.

Sample size

Power calculations indicated that 39 subjects were needed in each group to detect a difference of at least 0.32 in MetS prevalence between OSA and non-OSA, based on prior studies reporting high prevalence of MetS and OSA in MO [23] and similar MetS prevalence difference depending on OSA status [24], assuming an α risk of 0.05 and a β risk of 0.20.

Statistical methods

Data were expressed as mean \pm SD, median (interquartile range) or percentage for parametric, nonparametric and categorical data, respectively. The bivariate comparisons were evaluated using the Chi-squared (categorical), *t*- (parametric) or Mann–Whitney (nonparametric) unpaired tests.

Multiple comparisons were evaluated using the Chi-squared test (categorical), ANOVA with Scheffe *post hoc* analysis (parametric) and the Mann–Whitney test, applying the Bonferroni method when significant differences were found by the Kruskal–Wallis test (nonparametric). The adjusted linear regression model studied the association between AHI and individual measures of metabolic dysfunction. Logistic regression assessed the relationship between MetS and OSA (AHI ≥ 15). The association results were summarised using unadjusted and adjusted odds ratios and β coefficients with their 95% confidence intervals. A *p*-value of <0.05 was considered statistically

significant. SPSS version 15 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for all the analyses.

RESULTS

A total of 174 consecutive patients were evaluated. 15 patients were excluded due to inflammatory disease (n=8), COPD (n=3), pregnancy (n=1), immunosuppressant therapy (n=1) and refusal to participate (n=2). Thus, we studied 159 patients: 44 non-OSA and 115 OSA. The mean age was 43±10 yrs, the mean BMI was 46.1±5.8 kg·m⁻² and 72% of them were female.

OSA versus non-OSA group

OSA subjects were older, had a larger neck and WC, and had a nonsignificant trend toward a higher BMI (table 1). No differences were observed in sex predominance and OGTT categories. When stratifying by sex, the level of physical activity did not differ between OSA and non-OSA subjects (data not shown). In terms of comorbidities, hypertension and diabetes were reported more frequently by OSA than by non-OSA patients (hypertension 48% versus 21%, p=0.002, diabetes 24% versus 11%, p=0.057, respectively). With regard to medication, angiotensin receptor antagonists and oral hypoglycaemic

TABLE 1 General and sleep characteristics of the study cohort

	Total	Non-OSA	OSA	p-value
Subjects n	159	44	115	
Age yrs	43.0±10.0	39.3±10.6	44.9±9.6	0.002
BMI kg·m⁻²	46.1±5.8	44.7±4.7	46.7±6.1	0.052
Sex females	72.3	75.0	71.3	0.641
Current smoking	20.0	25.0	18.3	0.635
Alcohol consumption	5.7	6.8	5.2	0.696
Body fat %	48.4±8.2	47.5±8.4	48.8±8.1	0.396
WC cm	129.8±15.7	123.2±14.0	132.4±15.6	0.001
Waist/hip ratio	0.93±0.10	0.88±0.08	0.95±0.10	0.001
Neck circumference cm[#]	42.0 (40.0–46.0)	41.0 (39.0–43.0)	43.0 (40.0–48.0)	0.001
Obesity duration yrs	25.4±10.4	24.5±10.0	25.7±10.4	0.529
Physical activity MET·min·week⁻¹	2343.8±2421.9	2280.4±2382.2	2368.5±2447.5	0.840
Glucose tolerance assessment[†]				
Diabetes	41 (25.8)	8 (18.2)	33 (28.7)	0.284
IGT	25 (15.7)	6 (13.6)	19 (16.5)	
Normal	84 (52.8)	27 (61.4)	57 (49.6)	
Missing data	9 (5.7)	3 (6.8)	6 (5.2)	
Arterial blood gases				
Pa,O ₂ mmHg	84.8±11.0	88.1±10.4	83.5±11.1	0.020
Pa,CO ₂ mmHg	40.0±5.0	39.0±4.1	40.4±5.3	0.119
Spirometry				
FVC % pred	98.5±16.0	96.8±15.3	99.1±16.3	0.452
FEV ₁ % pred	99.3±15.4	97.0±13.5	100.1±16.1	0.282
FEV ₁ /FVC%	80.9±7.6	81.5±7.9	80.7±7.5	0.592
TST min	351.6±65.9	358.2±54.3	349.1±69.8	0.437
Sleep efficiency %	75.9±14.0	77.5±12.3	75.3±14.6	0.376
Stage I[#] %	6.8 (4.0–12.0)	7.2 (4.1–10.2)	6.7 (3.6–13.4)	0.928
Stage II[#] %	57.4 (49.6–68.2)	57.3 (49.8–65.5)	57.5 (49.3–68.2)	0.847
SWS[†] %	20.0 (12.7–28.7)	22.1 (12.1–31.3)	19.5 (12.7–27.9)	0.317
Stage REM[#] %	14.3 (9.0–18.3)	14.6 (9.6–18.7)	14.0 (9.0–18.3)	0.952
Arousal index[#] n·h⁻¹	23.1 (15.0–41.5)	11.4 (8.9–18.0)	28.9 (18.4–47.1)	0.001
AHI[#] events·h⁻¹	32.4 (14.6–53.0)	11.6 (8.0–13.9)	43.2 (29.5–64.2)	0.001
Time Sp,O₂ <90% TST[#] %	4.65 (0.5–19.3)	0.2 (0.0–1.2)	7.5 (2.1–29.4)	0.001
Self-reported sleep duration h·night⁻¹	7.47±1.63	6.75±1.74	7.74±1.51	0.001
ESS score	8.0±5.0	7.0±4.0	8.0±5.0	0.427
Subjects with ESS >10	26.4	22.7	27.8	0.514

Unless otherwise stated, data are presented as mean±sd, median (range) or n (%); data are presented as % for normal, non-normal ([#]) distributed and categorical data. Unpaired t-tests, Mann–Whitney and Chi-squared tests were performed on normally, skewed and categorical data, respectively. OSA: obstructive sleep apnoea; BMI: body mass index; WC: waist circumference; MET: metabolic equivalent task; IGT: impaired glucose tolerance; Pa,O₂: arterial oxygen tension; Pa,CO₂: arterial carbon dioxide tension; FVC: forced vital capacity; FEV₁: forced expiratory volume in 1 s; TST: total sleep time; SWS: slow-wave sleep; REM: rapid eye movement; AHI: apnoea/hypopnoea index; time Sp,O₂ <90% TST: mean percentage of sleep time with arterial oxygen saturation measured by pulse oximetry <90%; EES: Epworth sleepiness scale. [†]: data according to oral glucose test tolerance results in 117 patients and previous known diabetes in 33 patients.

agents were prescribed more in the OSA than in the non-OSA group (12% versus 0%, $p=0.015$, and 22% versus 7%, $p=0.027$, respectively).

Table 1 also shows the main sleep characteristics of the total sample, and according to the presence/absence of OSA. Self-reported sleep duration was longer in OSA than in non-OSA but the PSG total sleep time was similar in both groups. OSA subjects had worse sleep parameters in terms of nocturnal oxygen desaturation levels and arousal index, but with no differences in the sleep stage percentages or in the level of EDS, according to the ESS.

Metabolic variables according to AHI categories

OSA patients had a more impaired metabolic profile than non-OSA patients (table 2). They had higher levels of systolic and diastolic BP, FBG, HbA1c and triglycerides, and lower levels of cHDL. Moreover, as the severity of OSA increased according to AHI categories, a progressive significant worsening of individual metabolic parameters was found and the metabolic index deteriorated. The Framingham cardiac risk score also increased with the OSA categories (fig. 1).

The overall prevalence of MetS was 60%, but was twice as high in the OSA group compared with the non-OSA group (70% versus 36%, $p<0.001$). The prevalence of each individual MetS component was also higher in the OSA group but did not reach significance for reduced cHDL (41% versus 27%, $p=0.112$) (fig. 2).

We also examined the relationship between individual metabolic parameters and OSA markers by linear regression analysis (table 3). In the unadjusted model, all metabolic parameters were associated with AHI and time $S_{p,O_2} < 90\%$ (data not shown). After adjusting for age, sex, smoking and BMI, the association with AHI remained significant for systolic BP, diastolic BP, triglycerides and HbA1c, but was lost for FBG and cHDL. When adding WC to the adjustment, the associations did not change. Associations with oxygen desaturation index $\geq 3\%$ (ODI3%) followed a similar pattern to those with AHI (data not shown). In contrast, when the same analysis was performed with time $S_{p,O_2} < 90\%$, only HbA1c and triglycerides were significant; but after adjusting for WC, the association only remained significant for HbA1c.

Table 4 summarises the results of binary logistic regression to assess the association of OSA and MetS in MO patients. The

TABLE 2 Metabolic syndrome components and others metabolic variables according to obstructive sleep apnoea (OSA) categories

	Non-OSA		OSA		p-value [#]
	AHI <15	AHI 15–30	AHI 30–50	AHI >50	
Subjects n	44	29	42	43	
AHI [†] events·h ⁻¹	11.6 (8.0–17.3)	23.2 (19.8–27.5)	37.8 (33.3–46.4)	78.7 (58.6–114.6)	<0.001 ^{+,§§}
WC cm	123.2±14.1	126.3±12.1	130.9±14.2	137.9±17.5	<0.001 ^{+,++}
SBP mmHg	126.8±17.3	131.6±14.7	140.0±17.0	142.1±15.5	<0.001 ^{+,++}
DBP [†] mmHg	78.0 (60.0–87.5)	83.0 (80.0–90.0)	84.0 (80.0–90.0)	88.0 (83.0–93.0)	0.001 ⁺
cHDL mmol·L ⁻¹	1.32±0.27	1.34±0.59	1.20±0.34	1.07±0.26	0.004 ^{+,††}
TG [†] mmol·L ⁻¹	1.10 (0.90–1.53)	1.21 (0.90–1.90)	1.30 (1.00–1.90)	1.60 (1.20–2.30)	0.004 ⁺
FBG [†] mmol·L ⁻¹	5.45 (5.00–6.03)	5.50 (5.10–6.70)	5.80 (5.30–6.20)	6.40 (5.40–7.70)	0.007 ⁺
MetS	36.4	62.1	69.8	74.4	0.001
Metabolic index number of components	2.34±1.03	2.72±1.00	3.14±1.13	3.53±1.16	<0.001 ^{+,++§§}
Total cholesterol mmol·L ⁻¹	5.01±0.82	4.97±1.02	4.82±0.78	4.93±0.90	0.796
cLDL [†] mmol·L ⁻¹	1.39 (1.15–2.71)	1.22 (1.01–1.57)	1.19 (1.05–1.66)	1.16 (0.97–1.45)	0.030 ⁺
cVLDL [†] mmol·L ⁻¹	0.39 (0.27–0.66)	0.40 (0.22–0.71)	0.56 (0.29–0.67)	0.65 (0.43–1.04)	0.022 ⁺
HbA1c [†]	5.4 (5.0–5.8)	5.7 (5.3–6.2)	5.5 (5.3–6.0)	5.9 (5.5–7.1)	<0.001 ^{+,†††}
IGT + DM2	34.1	46.2	39.5	59.0	0.137

Unless otherwise stated, data are presented as mean±SD or median (interquartile range); data are presented as % for normal, non-normal distributed ([†]) and categorical data. AHI: apnoea/hypopnoea index; WC: waist circumference; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; cHDL: high-density lipoprotein cholesterol; TG: triglycerides; FBG: fasting blood glucose; MetS: metabolic syndrome; cLDL: low-density lipoprotein cholesterol; cVLDL: very low-density lipoprotein cholesterol; HbA1c: glycosylated haemoglobin; IGT: impaired glucose tolerance (metabolic syndrome definition based on National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP) III modified criteria [1] and metabolic index, calculated as the sum of components of metabolic syndrome presented in each subject divided by the number of subjects in each AHI category); DM2: type 2 diabetes. #: comparisons among OSA categories. Chi-squared test was used for categorical variables. ANOVA with Scheffe *post hoc* analysis was used for normal continuous variables. Kruskal–Wallis test was used for non-normal distributed continuous variables using Mann–Whitney test and Bonferroni correction to compare between groups. For normal data p-values of intra-group tests were presented as follows: ⁺, ⁺⁺, ^{§§} for intergroup results. ⁺: $p<0.001$ between groups AHI <15 and AHI >50. ⁺⁺: $p<0.001$ between groups: AHI <15 and AHI 30–50. ^{§§}: $p<0.001$ between groups AHI 15–30 and AHI >50. ^{††}: $p<0.001$ between groups AHI <15 and AHI 15–30. ^{†††}: $p<0.001$ between groups AHI 30–50 and AHI >50.

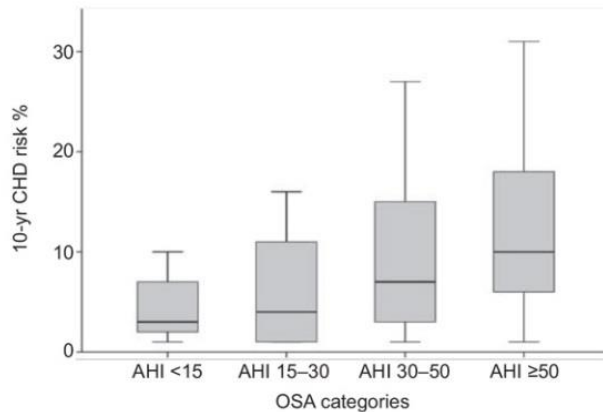


FIGURE 1. The Framingham cardiac risk score [22] was applied to estimate the 10-yr risk of coronary events in the different apnoea/hypopnoea index (AHI) categories. ANOVA with Scheffe *post hoc* analysis was used for comparisons between obstructive sleep apnoea (OSA) categories. CHD: coronary heart disease. $p < 0.005$.

occurrence of OSA was defined as $AHI \geq 15$, and the severity of nocturnal hypoxia by cumulative time at $Sp_{O_2} < 90\%$ as $\geq 4.65\%$ (as the median sample value). We also assessed the combination of both. After adjusting for age, sex, BMI and smoking, OSA increased the odds of having MetS threefold. The BMI did not appear to contribute to the association since its exclusion during the statistical analysis did not change the results (data not shown).

OSA status according to metabolic variables

When we compared patients with ($n=96$) and without ($n=63$) MetS, the prevalence of OSA was significantly higher in the MetS group (83% versus 56%, $p < 0.001$). The distribution of the number of MetS components (according to the metabolic index) significantly shifted toward high values in OSA compared with non-OSA patients (Chi-squared test, p -value 0.002; fig. 3).

Subanalysis in patients without known DM2

As MetS is considered a pre-morbid condition for DM2, we repeated the analysis after excluding 33 patients with DM2 (reported in supplementary material E2).

Subanalysis in females

Our sample was composed mainly of females ($n=115$), thus we repeated the analysis for the female subgroup (reported in supplementary material E3).

DISCUSSION

To our knowledge, this is the first large cross-sectional study focusing on the association of OSA and MetS in MO. In agreement with our hypothesis, MetS was more prevalent, and the metabolic profile more impaired, in morbidly obese patients with OSA than in those without. The metabolic profile progressively worsened with increasing OSA severity, irrespective of sex. This worsening remained even after excluding those patients with DM2. Therefore, even in a population with such a high prevalence of MetS as MO patients, OSA is associated with a worse metabolic profile, suggesting a

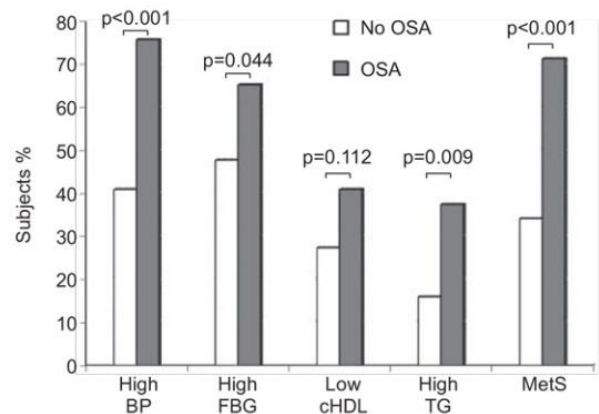


FIGURE 2. The presence of obstructive sleep apnoea (OSA) was considered when the apnoea/hypopnoea index was ≥ 15 events·h⁻¹. The metabolic syndrome (MetS) definition and its components were based on National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP) III modified criteria [1]. The Chi-squared test was used for comparisons. BP: blood pressure; FBG: fasting blood glucose; cHDL: high-density lipoprotein cholesterol; TG: triglycerides.

possible additional contribution to the increased CV risk associated with obesity.

The relationship between OSA and metabolic dysfunction has been studied mostly in moderately obese sleep-referred patient cohorts [9, 24–27], and more recently in specific high cardiovascular risk populations, such as MetS [7, 8, 28], hypertensive [29] and CV disease cohorts [30]. All these data agree that OSA is common in middle-aged moderately obese subjects and is associated with MetS or some of its components, independent of the BMI. We have chosen a different approach by studying severely obese patients who represent the extreme model of association between OSA, MetS and MO. Only a small retrospective study pointed out a higher prevalence of both disorders in the same bariatric cohort [23].

The comparison of OSA and non-OSA patients revealed a double prevalence of MetS (70% versus 36%, $p < 0.001$) and a progressively impaired metabolic profile in line with an increased AHI. Therefore, our data do not reinforce the notion that MO overwhelms the potential contribution of OSA to metabolic aggravation. Moreover, the occurrence of OSA still increased the adjusted odds of having MetS by up to threefold, irrespective of sex. This is a novel contribution because no analysis of the metabolic effect of OSA on MO females has been addressed before (see supplementary material E3). Interestingly, in females it seems necessary to increase whole body fat in order to increase central fat; in contrast, this is not required in males. Also, the percentage of menopause state was higher in OSA, compared with non-OSA females, in keeping with three large cohort studies [31–33]; however, the association between OSA and MetS did not change after adjusting for menopause state and percentage of body fat. Thus, it is plausible to consider that in morbidly obese patients, the metabolic dysfunction may be conferred not only by MO but also by OSA, which does not seem to have a sex-specific effect.

TABLE 3 The association of metabolic parameters with obstructive sleep apnoea severity evaluated as apnoea/hypopnoea index (AHI) and time for arterial oxygen saturation measured by pulse oximetry (Sp_{O_2} <90% total sleep time (TST) in the entire group

Dependent variable	Adjusted β coefficient [#] (95% CI)	p-value	Adjusted β coefficient [†] (95% CI)	p-value
Independent variable AHI				
WC cm	0.073 (0.021–0.124)	0.006		
SBP mmHg	0.158 (0.071–0.244)	<0.001	0.149 (0.060–0.238)	0.001
DBP mmHg	0.117 (0.037–0.196)	0.004	0.102 (0.021–0.183)	0.014
TG mmol·L ⁻¹	0.007 (0.003–0.011)	0.001	0.005 (0.001–0.010)	0.009
cHDL mmol·L ⁻¹	-0.002 (-0.004–0.000)	0.048	-0.002 (-0.004–0.000)	0.050
FBG mmol·L ⁻¹	0.008 (-0.002–0.017)	0.119	0.007 (-0.003–0.017)	0.162
HbA1c %	0.010 (0.005–0.016)	<0.001	0.010 (0.004–0.016)	0.001
Independent variable time				
Sp_{O_2} <90% TST				
WC cm	0.082 (0.012–0.152)	0.023		
SBP mmHg	0.117 (-0.003–0.238)	0.057	0.103 (-0.020–0.226)	0.099
DBP mmHg	-0.008 (-0.119–0.102)	0.882	-0.032 (0.143–0.079)	0.569
TG mmol·L ⁻¹	0.006 (0.001–0.012)	0.029	0.005 (-0.001–0.010)	0.092
cHDL mmol·L ⁻¹	-0.002 (-0.005–0.001)	0.117	-0.002 (-0.005–0.001)	0.124
FBG mmol·L ⁻¹	0.181 (-0.053–0.416)	0.129	0.168 (-0.071–0.407)	0.168
HbA1c %	0.011 (0.004–0.019)	0.005	0.011 (0.003–0.019)	0.008

Data were analysed using linear regression as the dependent variable of each metabolic parameter and AHI or time Sp_{O_2} <90% TST as the independent variable. WC: waist circumference; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; TG: triglycerides; cHDL: high-density lipoprotein cholesterol; FBG: fasting blood glucose; HbA1c: glycosylated haemoglobin. [#]: data adjusted by age, sex, body mass index (BMI) and smoking; [†]: data adjusted by age, sex, BMI, WC and smoking.

TABLE 4 The association of metabolic syndrome with obstructive sleep apnoea (OSA) in the global sample

Independent variable	Unadjusted OR (95% CI)	p-value	Adjusted OR (95% CI)	p-value
Presence of OSA AHI ≥ 15 events·h⁻¹				
Age yrs	4.00 (1.93–8.31)	<0.001	2.84 (1.30–6.22)	0.009
Sex [#]			1.07 (1.03–1.11)	0.001
BMI kg·m ⁻²			0.42 (0.18–0.98)	0.045
Smoking [†]			1.05 (0.98–1.13)	0.147
Presence of nocturnal hypoxaemia	4.93 (2.46–9.90)	<0.001	0.99 (0.59–1.68)	0.972
Time Sp_{O_2} <90% $\geq 4.65\%$ of TST				
Age yrs			3.34 (1.58–7.08)	0.002
Sex [#]			1.06 (1.02–1.10)	0.002
BMI kg·m ⁻²			0.53 (0.22–1.26)	0.153
Smoking [†]			1.05 (0.98–1.13)	0.184
Presence of OSA with significant nocturnal hypoxaemia AHI ≥ 15 events·h ⁻¹ and time Sp_{O_2} <90% $\geq 4.65\%$ of TST	5.10 (2.51–10.39)	<0.001	0.90 (0.52–1.54)	0.694
Age yrs			3.29 (1.51–7.15)	0.003
Sex [#]			1.06 (1.02–1.10)	0.004
BMI kg·m ⁻²			0.54 (0.23–1.29)	0.168
Smoking [†]			1.04 (0.97–1.12)	0.250
			0.92 (0.54–1.58)	0.765

Data were analysed using binary logistic regression. The presence of metabolic syndrome defined by National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP) III modified criteria [1] was considered the dependent variable. Data were adjusted for age, sex, BMI and smoking. Results were expressed as unadjusted and adjusted OR (95% CI) and p-value. AHI: apnoea/hypopnoea index; BMI: body mass index; time Sp_{O_2} <90% TST: mean percentage of total sleep time with arterial oxygen saturation measured by pulse oximetry <90% (presence of significant nocturnal hypoxaemia considering values higher or equal to the median of the variable time Sp_{O_2} <90% TST). [#]: no females, one male; [†]: one smoker, no nonsmokers.

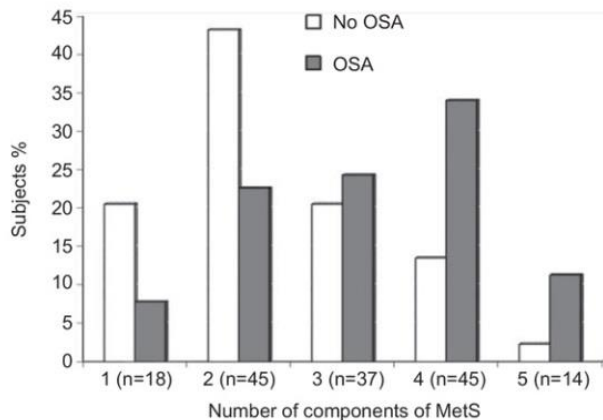


FIGURE 3. The distribution of the metabolic index according to the obstructive sleep apnoea (OSA) presence. The chi-square test was used for comparisons. MetS: metabolic syndrome. $p=0.002$.

Whether OSA is linked to a specific metabolic pattern has yet to be completely defined. In non-MO cohorts, OSA is associated with various metabolic abnormalities, probably due to the heterogeneity of the samples [24–27, 34, 35]. In the present study, a significant linear association was found between AHI and systolic and diastolic BP, triglycerides and HbA1c after controlling for BMI and WC. Furthermore, even in the subgroup of patients without diabetes, the association remained significant with systolic BP, cHDL and HbA1c. Thus, in MO patients, increasing severity of OSA is associated with metabolic worsening, caused mainly by higher systolic BP, lipid disruption and poorer glucose control, independent of adiposity and other confounders, and irrespective of established DM2.

Hypertension has been widely studied in OSA patients [36]. Recent guidelines on hypertension have recognised OSA as a frequent cause of secondary hypertension [37]. Our findings are consistent with previous large studies pointing to a high prevalence of hypertension among OSA patients [38–40]; more interestingly, a clear deterioration in BP levels in line with increasing OSA category was seen in this MO cohort, and higher BP is independently associated with OSA severity, regardless of sex or the degree of obesity.

With regard to glucose metabolism, most published reports have found a significant association between OSA and hyperglycaemia/insulin resistance/diabetes in moderate obese subjects [35, 41–43]. In the present study, although no differences in FBG or OGTT data were found when comparing the OSA and non-OSA groups, HbA1c was highly associated with OSA markers. So, even in the morbidly obese, our data showed a clear, graded inverse relationship between OSA severity and long-term glucose control, as assessed by HbA1c, after controlling for the degree of obesity and other confounders. This finding was also seen in patients without DM2.

The association between OSA and lipid profile has been investigated less. Overall, there is no definitive evidence regarding the effect of OSA on the lipid profile. The majority of cross-sectional studies are negative [26, 44–46], although some large sample studies found a positive association between OSA

and higher triglycerides and lower cHDL [24, 47, 48]. Our data also show, for first time in a cohort of MO patients, an independent association of AHI with higher triglycerides and lower cHDL.

Furthermore, although the Framingham study's generalisation of CV risk in MO patients should be interpreted with caution, our data suggest that OSA may contribute an additional burden to CV morbidity and mortality in this cohort, and it should be controlled in any study evaluating the consequences of MetS in the morbidly obese. Experimental studies in animals and humans have shown intermittent hypoxia to be a major determinant of metabolic dysfunction associated with OSA [49, 50]. In our cohort, OSA compared with non-OSA patients had a greater degree of nocturnal CIH due to higher AHI, time $Sp_{O_2} < 90\%$ and arousal index without higher subjective EDS or differences in sleep-stage percentages. Furthermore, AHI was independently associated with most of the individual metabolic parameters, according to the linear regression analysis, whereas time $Sp_{O_2} < 90\%$ was independently associated with only HbA1c. This may suggest that OSA contributes to metabolic dysfunction in MO, mostly through CIH. Moreover, adding a greater nocturnal hypoxaemia by means of greater time $Sp_{O_2} < 90\%$ to a high baseline AHI leads to greater metabolic dysfunction than a high baseline AHI alone, according to the logistic regression analysis. These findings concur with those observed by POLOTSKY *et al.* [51], supporting the “two-hit” model hypothesis to explain the potential role of OSA in the development of steatohepatitis and insulin resistance in severe obesity. MO might act as a “first hit” initiating a metabolic dysfunction, and severe OSA through nocturnal CIH may act as a “second hit” aggravating the disorder. Despite strong evidence from experimental studies demonstrating the role of CIH [11], a definitive causal role of OSA in metabolic impairment in humans cannot be firmly established. In interventional studies, CPAP therapy lowered BP [52], while data on glucose and/or lipid control still appear to be inconclusive [53–57]. Thus, further long-term randomised controlled interventional trials are clearly needed in well-characterised samples, and also in the morbidly obese, in order to address the direction of causality.

As well as being the main energy storage organ, adipose tissue is a highly active tissue involved in the integrated metabolism regulation [58]. Ectopic fat, particularly visceral fat, could adversely modify the metabolism, decreasing the insulin sensitivity in key tissues by a paracrine effect and through the release of adipokines that promote a low-grade pro-inflammatory state [59]. OSA may worsen this state [60] by acting as an additional cardiometabolic burden risk. In the present study, we used WC as an accepted surrogate of visceral adiposity [61]. OSA patients had greater WC and neck circumference compared with non-OSA subjects despite a similar BMI and fat mass percentage, suggesting that OSA is more closely linked to a particular visceral adiposity than to the overall obesity. Conversely, the association of OSA with several metabolic abnormalities remained independent of WC and sex, supporting the notion that OSA may play an additional role in the overall metabolic dysfunction, even in MO. Unfortunately, direct analysis of visceral fat was not possible in this study and thus our findings should be considered approximate. Despite this limitation, these results concur with the hypothesis previously proposed by VGONTZAS *et al.* [62]: visceral fat could progressively worsen

MetS and OSA manifestations but OSA may also aggravate MetS through an increase in sympathetic activation, inflammation and insulin resistance that deteriorates the overall metabolic dysfunction.

In our cohort, OSA prevalence was notably high: 72% of patients had an AHI ≥ 15 and only 2% had an AHI < 5 . Significantly, most subjects did not complain about EDS (72% of OSA patients had ESS < 10), even if they had severe OSA. Although previous studies demonstrated objectively higher EDS in obese patients, compared with healthy non-obese controls, regardless of OSA status [63, 64], the lack of sleepiness measured by EDS is concordant with previous studies evaluating patients before bariatric surgery. This point may reflect the limitations of the EDS in the MO population, as there are other potential cofactors that could affect EDS [65, 66]. Our finding of a lack of subjective sleepiness is clinically relevant, however, as it emphasises the need to perform sleep studies in this specific population, regardless of self-reported symptoms.

With regard to limitations, our cross-sectional study design does not provide cause-effect evidence, although the regression analysis showed an independent association between OSA markers and individual parameters of dysfunction. It would also have been desirable to perform abdominal computed tomography or magnetic resonance imaging to assess the amount of visceral fat, but the subjects did not fit into the machines due to their high body weights. Finally, as discussed, we did not assess objective EDS.

Conclusions

OSA is associated with a more severe metabolic profile in MO patients, independent of age, sex, BMI and smoking, suggesting an important role of OSA, in addition to obesity, in the pathogenesis of metabolic dysfunction in this population. As OSA is a treatable condition, and EDS assessed by ESS is not a good OSA marker in MO, clinicians dealing with obese subjects should appropriately assess OSA in addition to other classic known obesity-related comorbidities, in order to better treat the overall metabolic dysfunction.

M. Clarke assisted with the English expression in versions of the manuscript. The statistical analysis advice was performed by C. Masuet (Dept of Preventive Medicine and Biostatistics, Hospital de Bellvitge, Barcelona, Spain). We thank the Sleep Unit staff, T. Brinquis, P. Garriga and S. Perez (Dept of Respiratory Medicine, Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat, Spain) for their inestimable collaboration.

SUPPORT STATEMENT

This work was supported by: Fondo de Investigación Sanitaria (grant FIS PI080800); Spanish Respiratory Society SEPAR (grant Ayudas a la investigación 249/07); and Societat Catalana de Pneumologia SOCAP (grants 2052/08; 2052/09).

STATEMENT OF INTEREST

None declared.

REFERENCES

- 1 Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120: 1640–1645.
- 2 Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, *et al.* The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002; 288: 2709–2716.
- 3 Ford ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005; 28: 1769–1778.
- 4 Ho JS, Cannaday JJ, Barlow CE, *et al.* Relation of the number of metabolic syndrome risk factors with all-cause and cardiovascular mortality. *Am J Cardiol* 2008; 102: 689–692.
- 5 Thomas GN, Phillips AC, Carroll D, *et al.* The metabolic syndrome adds utility to the prediction of mortality over its components: the Vietnam Experience Study. *Atherosclerosis* 2010; 210: 256–261.
- 6 Bruce KD, Byrne CD. The metabolic syndrome: common origins of a multifactorial disorder. *Postgrad Med J* 2009; 85: 614–621.
- 7 Drager LF, Bortolotto LA, Maki-Nunes C, *et al.* The incremental role of obstructive sleep apnoea on markers of atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2010; 208: 490–495.
- 8 Trombetta IC, Somers VK, Maki-Nunes C, *et al.* Consequences of comorbid sleep apnea in the metabolic syndrome—implications for cardiovascular risk. *Sleep* 2010; 33: 1193–1199.
- 9 Levy P, Bonsignore MR, Eckel J. Sleep, sleep-disordered breathing and metabolic consequences. *Eur Respir J* 2009; 34: 243–260.
- 10 McNicholas WT, Bonsignore MR. Sleep apnoea as an independent risk factor for cardiovascular disease: current evidence, basic mechanisms and research priorities. *Eur Respir J* 2007; 29: 156–178.
- 11 Jun J, Polotsky VY. Metabolic consequences of sleep-disordered breathing. *ILAR J* 2009; 50: 289–306.
- 12 Tasali E, Ip MS. Obstructive sleep apnea and metabolic syndrome: alterations in glucose metabolism and inflammation. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5: 207–217.
- 13 Batsis JA, Romero-Corral A, Collazo-Clavell ML, *et al.* Effect of bariatric surgery on the metabolic syndrome: a population-based, long-term controlled study. *Mayo Clin Proc* 2008; 83: 897–907.
- 14 Soverini V, Moscattiello S, Villanova N, *et al.* Metabolic syndrome and insulin resistance in subjects with morbid obesity. *Obes Surg* 2010; 20: 295–301.
- 15 O’Keeffe T, Patterson EJ. Evidence supporting routine polysomnography before bariatric surgery. *Obes Surg* 2004; 14: 23–26.
- 16 Sareli AE, Cantor CR, Williams NN, *et al.* Obstructive sleep apnea in patients undergoing bariatric surgery – a tertiary center experience. *Obes Surg* 2011; 21: 316–327.
- 17 Gold PM. The 2007 GOLD Guidelines: a comprehensive care framework. *Respir Care* 2009; 54: 1040–1049.
- 18 Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, *et al.* International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35: 1381–1395.
- 19 Marin R, de la Sierra A, Armario P, *et al.* [2005 Spanish guidelines in diagnosis and treatment of arterial hypertension]. *Med Clin (Barc)* 2005; 125: 24–34.
- 20 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.
- 21 Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412–419.
- 22 Wilson PW, D’Agostino RB, Levy D, *et al.* Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97: 1837–1847.
- 23 Salord N, Mayos M, Miralda R, *et al.* Respiratory sleep disturbances in patients undergoing gastric bypass surgery and their relation to metabolic syndrome. *Obes Surg* 2009; 19: 74–79.

- 24 Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, *et al.* Obstructive sleep apnoea is independently associated with an increased prevalence of metabolic syndrome. *Eur Heart J* 2004; 25: 735–741.
- 25 Gruber A, Horwood F, Sithole J, *et al.* Obstructive sleep apnoea is independently associated with the metabolic syndrome but not insulin resistance state. *Cardiovasc Diabetol* 2006; 5: 22.
- 26 McArdle N, Hillman D, Beilin L, *et al.* Metabolic risk factors for vascular disease in obstructive sleep apnea: a matched controlled study. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 190–195.
- 27 Tkacova R, Dorkova Z, Molcanyiova A, *et al.* Cardiovascular risk and insulin resistance in patients with obstructive sleep apnea. *Med Sci Monit* 2008; 14: CR438–CR444.
- 28 Drager LF, Lopes HF, Maki-Nunes C, *et al.* The impact of obstructive sleep apnea on metabolic and inflammatory markers in consecutive patients with metabolic syndrome. *PLoS One* 2010; 5: e12065.
- 29 Drager LF, Genta PR, Pedrosa RP, *et al.* Characteristics and predictors of obstructive sleep apnea in patients with systemic hypertension. *Am J Cardiol* 2010; 105: 1135–1139.
- 30 Takama N, Kurabayashi M. Relationship between metabolic syndrome and sleep-disordered breathing in patients with cardiovascular disease—metabolic syndrome as a strong factor of nocturnal desaturation. *Intern Med* 2008; 47: 709–715.
- 31 Bixler EO, Vgontzas AN, Lin HM, *et al.* Prevalence of sleep-disordered breathing in women: effects of gender. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 608–613.
- 32 Young T, Finn L, Austin D, *et al.* Menopausal status and sleep-disordered breathing in the Wisconsin Sleep Cohort Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 1181–1185.
- 33 Shahar E, Redline S, Young T, *et al.* Hormone replacement therapy and sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 1186–1192.
- 34 Lam JC, Lam B, Lam CL, *et al.* Obstructive sleep apnea and the metabolic syndrome in community-based Chinese adults in Hong Kong. *Respir Med* 2006; 100: 980–987.
- 35 Ip MS, Lam B, Ng MM, *et al.* Obstructive sleep apnea is independently associated with insulin resistance. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 670–676.
- 36 Bradley TD, Floras JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *Lancet* 2009; 373: 82–93.
- 37 Calhoun DA, Jones D, Textor S, *et al.* Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation* 2008; 117: e510–e526.
- 38 Young T, Peppard P, Palta M, *et al.* Population-based study of sleep-disordered breathing as a risk factor for hypertension. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1746–1752.
- 39 Nieto FJ, Young TB, Lind BK, *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.
- 40 Lavie P, Herer P, Hoffstein V. Obstructive sleep apnoea syndrome as a risk factor for hypertension: population study. *BMJ* 2000; 320: 479–482.
- 41 Reichmuth KJ, Austin D, Skatrud JB, *et al.* Association of sleep apnea and type II diabetes: a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 1590–1595.
- 42 Punjabi NM, Beamer BA. Alterations in glucose disposal in sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 235–240.
- 43 Steiropoulos P, Papanas N, Bouros D, *et al.* Obstructive sleep apnea aggravates glycemic control across the continuum of glucose homeostasis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 286.
- 44 Kono M, Tatsumi K, Saibara T, *et al.* Obstructive sleep apnea syndrome is associated with some components of metabolic syndrome. *Chest* 2007; 131: 1387–1392.
- 45 Minoguchi K, Yokoe T, Tazaki T, *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.
- 46 Tan KC, Chow WS, Lam JC, *et al.* HDL dysfunction in obstructive sleep apnea. *Atherosclerosis* 2006; 184: 377–382.
- 47 Newman AB, Nieto FJ, Guidry U, *et al.* Relation of sleep-disordered breathing to cardiovascular disease risk factors: the Sleep Heart Health Study. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 50–59.
- 48 Roche F, Sforza E, Pichot V, *et al.* Obstructive sleep apnoea/hypopnea influences high-density lipoprotein cholesterol in the elderly. *Sleep Med* 2009; 10: 882–886.
- 49 Jun J, Polotsky VY. Sleep disordered breathing and metabolic effects: evidence from animal models. *Sleep Med Clin* 2007; 2: 263–277.
- 50 Louis M, Punjabi NM. Effects of acute intermittent hypoxia on glucose metabolism in awake healthy volunteers. *J Appl Physiol* 2009; 106: 1538–1544.
- 51 Polotsky VY, Patil SP, Savransky V, *et al.* Obstructive sleep apnea, insulin resistance, and steatohepatitis in severe obesity. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 228–234.
- 52 Bazzano LA, Khan Z, Reynolds K, *et al.* Effect of nocturnal nasal continuous positive airway pressure on blood pressure in obstructive sleep apnea. *Hypertension* 2007; 50: 417–423.
- 53 Lam JC, Lam B, Yao TJ, *et al.* A randomised controlled trial of nasal continuous positive airway pressure on insulin sensitivity in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J* 2010; 35: 138–145.
- 54 West SD, Nicoll DJ, Wallace TM, *et al.* Effect of CPAP on insulin resistance and HbA1c in men with obstructive sleep apnoea and type 2 diabetes. *Thorax* 2007; 62: 969–974.
- 55 Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, *et al.* Cardiovascular and metabolic effects of CPAP in obese males with OSA. *Eur Respir J* 2007; 29: 720–727.
- 56 Vgontzas AN, Zoumakis E, Bixler EO, *et al.* Selective effects of CPAP on sleep apnoea-associated manifestations. *Eur J Clin Invest* 2008; 38: 585–595.
- 57 Drager LF, Jun J, Polotsky VY. Obstructive sleep apnea and dyslipidemia: implications for atherosclerosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2010; 17: 161–165.
- 58 Basta M, Vgontzas AN. Metabolic abnormalities in obesity and sleep apnea are in a continuum. *Sleep Med* 2007; 8: 5–7.
- 59 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.
- 60 Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, *et al.* The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: E827–E847.
- 61 Duren DL, Sherwood RJ, Czerwinski SA, *et al.* Body composition methods: comparisons and interpretation. *J Diabetes Sci Technol* 2008; 2: 1139–1146.
- 62 Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, *et al.* Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance, and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1151–1158.
- 63 Vgontzas AN, Bixler EO, Tan TL, *et al.* Obesity without sleep apnea is associated with daytime sleepiness. *Arch Intern Med* 1998; 158: 1333–1337.
- 64 Vgontzas AN, Tan TL, Bixler EO, *et al.* Sleep apnea and sleep disruption in obese patients. *Arch Intern Med* 1994; 154: 1705–1711.
- 65 Bixler EO, Vgontzas AN, Lin HM, *et al.* Excessive daytime sleepiness in a general population sample: the role of sleep apnea, age, obesity, diabetes, and depression. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4510–4515.
- 66 Basta M, Lin HM, Pejovic S, *et al.* Lack of regular exercise, depression, and degree of apnea are predictors of excessive daytime sleepiness in patients with sleep apnea: sex differences. *J Clin Sleep Med* 2008; 4: 19–25.