



Universitat
de les Illes Balears

*Estudio de la proteína surfactante D como posible biomarcador en
pacientes SAHS pediátricos.*

CATERINA RIBOT QUETGLAS

Memoria del Trabajo de Fin de Máster

Máster Universitario en **Investigación Biomedica/Síndrome Metabólico**

UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS

Curso Académico 2017-2018

Fecha: 18/09/2018

*Nombre Tutor del Trabajo **Javier Piérola Lopetegui***

Resumen

Objetivo: El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la concentración de la proteína surfactante D (SPD) en una población de niños SAHS pediátricos para su posible uso como biomarcador.

Diseño del estudio: A todos los niños incluidos en el estudio se les realizó una polisomnografía, donde se recogían los parámetros de sueño, muestra sanguínea, recogida de datos antropométricos, sociodemográficos, hábitos de alimentación y familiares. Se realizaron determinaciones bioquímicas y se analizó mediante un *enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)* la concentración plasmática de la SPD.

Resultados: A partir de los datos de los 178 niños que fueron analizados, se observó que no hay ninguna correlación entre la concentración de SPD y el Índice apneas-hipoapneas (IAH). Además se observó que los cambios en los niveles de SPD se explicaban en gran parte por los arousals o microdespertares que acompañan frecuentemente a las hipoapneas.

Conclusión: Este estudio concluye que el IAH en niños no afecta a los cambios en la proteína SPD, pero que la fragmentación del sueño producida por los arousals podría influir en la expresión de esta proteína. Se necesita profundizar más en este campo para determinar los mecanismos por los cuáles se producen alteraciones de la SPD en el SAHS.

Introducción

El Síndrome de Apneas e Hipoapneas del Sueño (SAHS) se caracteriza por la presencia de episodios repetidos del cese del flujo aéreo total (apnea) o parcial (hipoapnea) en la vía aérea superior durante el sueño [1]. El SAHS tiene una elevada prevalencia y se considera un problema de la salud pública ya que en la población general afecta a un 4-6% de los varones, y entre un 2-4% a las mujeres [2].

En la población pediátrica, el SAHS es el principal desorden respiratorio durante el sueño y su prevalencia se encuentra entre el 2-4% [3]. Hay diferentes factores que aumentan la predisposición del SAHS en la población infantil cómo es la obesidad o la hipertrofia amigdalara [4][5][6], igual que factores genéticos que también contribuyen a la obstrucción de la vía aérea superior [7]. El ronquido es el principal síntoma nocturno del SAHS que ocasiona por la vibración que produce el pase del aire por una vía estrecha [8]. La hipersomnolencia y la falta de concentración son los mayores síntomas diurnos en el fenotipo infantil debido a la mala calidad del sueño [9]. Este sueño más superficial es debido a que el SAHS suele ir acompañado de múltiples arousals/microdespertares y desaturaciones [10]. Además se ha demostrado un efecto causal entre el SAHS en edades tempranas y problemas cognitivos y de comportamiento derivados de las alteraciones durante el sueño [9].

En el SAHS continua siendo de gran interés la búsqueda de nuevos biomarcadores que puedan ser de utilidad tanto en el diagnóstico como en la evolución de la enfermedad. Un biomarcador interesante en enfermedades respiratorias como el asma o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es la proteína surfactante D (SPD) [11][12]. La SPD es una colectina multimérica que forma parte del sistema inmunitario innato. Se secreta principalmente en las células alveolares tipo II mediante la exocitosis [12]. Además ejerce un efecto antimicrobial y antiinflamatorio ya que interacciona con los carbohidratos presentes en la superficie de las bacterias, hongos o virus [13]. Este reconocimiento permite la muerte de la célula infectada a partir de la fagocitosis [14]. Se ha descrito una relación inversa entre los niveles circulantes de SPD y la gravedad del SAHS en una población adulta [15] [16], sin embargo no se sabe cómo afecta el SAHS a los niveles de SPD circulantes en una población pediátrica. El SAHS que presentan los niños, a diferencia de los adultos, se encuentra en las primeras fases de la enfermedad y además puede sufrir variaciones en el tiempo [17]. De este modo es interesante saber cómo afecta éste síndrome a su sistema inmunitario. Así, este estudio pretende evaluar los niveles séricos de SPD en niños pediátricos con distinta gravedad del SAHS.

MATERIALES Y METODOS

Sujetos y diseño del estudio

Los pacientes pediátricos que participaron en este estudio se reclutaron en el Hospital Universitario de Son Espases a través del proyecto FAM-SAHS¹ con código PI13/02120 siguiendo los criterios de inclusión presentados a continuación: 1) Niños/as de edad comprendida entre 3 y 14 años diagnosticados de SAHS; 2) Hijos/as de entre 3 y 14 años de adultos diagnosticados de SAHS. Los padres firmaron el consentimiento informado para participar de forma voluntaria en el estudio. Por otro lado, los criterios de exclusión del proyecto fueron: retraso mental, enfermedades neuromusculares, metabopatías, síndromes malformativos, epilepsia y/o uso de fármacos.

Ciento setenta y ocho niños se incluyeron en el estudio siguiendo los criterios de inclusión y exclusión nombrados anteriormente. A todos ellos se les realizó una polisomnografía (PSG), una exploración física y la recogida de datos antropométricos, sociodemográficos, hábitos de alimentación y sueño y tratamiento farmacológico habitual mediante una entrevista. Además, se realizó una extracción de sangre para posteriores determinaciones.

Polisomnografía

A todos los pacientes se les realizó una PSG completa (Grael, Compumedics, Abbotsford, Australia) en la Unidad de sueño del Hospital Universitario Son Espases. La PSG se realizó mediante la implantación de seis canales de electroencefalograma (EEG) para determinar la actividad cerebral durante el sueño, una electromiografía en mentón y otra pretibial para evaluar la actividad eléctrica producida por los músculos, un electrooculograma bilateral que permitió explorar la actividad de los músculos oculares y sus movimientos, una pletismografía torácica y abdominal y la medición transcutánea de la SatO₂ arterial mediante pulsioximetría. Los resultados de los estudios fueron analizados por técnicos especialistas de sueño según los criterios validados en edad pediátrica.

Se consideró apnea a un descenso del flujo nasal por debajo del 90% con una duración ≥ 10 segundos y la hipoapnea se definió por un descenso del flujo nasal $\geq 50\%$ acompañado de un arousal determinado por la EEG o una caída de SatO₂ $>3\%$. El Índice de apneas-hipoapneas (IAH) se definió como la suma de apneas e hipoapneas durante el período nocturno dividido por el número total de horas de sueño. Se definió un SAHS leve a niños con un IAH entre 1-5 y

¹ FAM-SAHS: Proyecto financiado por el Instituto Carlos III el año 2013 bajo el nombre "Estudio de la asociación familiar (paterno-filial) del síndrome de apneas-hipoapneas del sueño. Implicaciones clínicas y socio-sanitarias"

un SAHS moderado-grave con un IAH superior a 5 [18]. El grupo control constaba de niños con un IAH inferior a 1.

Recolección de muestra sanguínea y determinaciones

A la mañana siguiente a la PSG, se recolectó muestra sanguínea en ayunas a todos los pacientes. Las determinaciones bioquímicas en sangre (glucosa, colesterol total, HDL, LDL) se realizaron mediante la plataforma Architect c16000 (Abbott Diagnostics, US). Los valores de referencia para la glucosa fueron de 70 a 110 mg/dL, para el colesterol total <170 mg/dL y para las LDL <110 mg/dL. La insulina se determinó a través del procesamiento de muestras séricas en la plataforma Cobas e-411 (Roche Diagnostics GmbH, Germany) con un rango de referencia de 3 a 25 μ UI/mL. El índice HOMA se calculó mediante la fórmula:
$$\frac{\text{Glucosa} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) * \text{Insulina} \left(\frac{\mu\text{UI}}{\text{mL}} \right)}{415}$$
 siendo normal valores inferiores a 3,8.

La muestra restante de sangre se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos que permitió separar y recoger el plasma. Las diferentes alícuotas de plasma se almacenaron a -80°C para posteriores determinaciones. La concentración de la proteína SPD se midió en plasma mediante *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) siguiendo el protocolo del fabricante (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

Análisis estadístico

Los datos se procesaron y analizaron con el paquete estadístico SPSS (versión 24; SPSS Inc., Chicago, IL). El análisis descriptivo de las variables continuas se llevó a cabo a través de medias \pm desviación estándar. Para las variables cualitativas (género y roncadors) se utilizaron porcentajes o frecuencias. Para la comparación de medias se utilizó el ANOVA para determinar las diferencias entre grupo y la prueba de Bonferroni para las diferencias intra grupos.

Para evaluar las asociaciones bivariantes entre variables de sueño o demográficas y las concentraciones de SPD se llevó a cabo la correlación de Pearson. El efecto de los arousals sobre la proteína SPD se evaluó mediante un modelo lineal simple ajustado por edad y Z-score. Para determinar los diferentes grupos de SPD se llevó a cabo la determinación de los terciles de las diferentes concentraciones. Para evaluar las diferencias entre cada uno de los grupos de SPD se realizó el ANOVA y la prueba de bonferroni. El nivel de significación estadística en todos los casos se estableció en 0.05 bilateral ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Se estudiaron 178 niños en edad pediátrica donde un 57,3 % pertenecían al género masculino. La edad media de la población estudiada fue de 8,37 con una desviación de 3,61 años. Ciento cuarenta y ocho niños eran roncadores lo que representó el 83,1% de todos ellos. El 61,2% de la población estudiada era obesa ($Z\text{-score} \geq 1,65$), sin embargo, el perfil lipídico y el perfil glucémico de la población estudiada se encontraban dentro de los valores de referencia (Tabla 1). El análisis descriptivo de las variables de sueño puede observarse en la Tabla 1.

Los niveles de SPD no mostraron diferencias significativas entre el grupo SAHS leve (IAH1-5), SAHS moderado-grave (IAH>5) y el grupo control (IAH<1) ($p=0,865$). Tampoco se observó una tendencia de asociación entre las concentraciones de SPD y la gravedad de la enfermedad determinada por el IAH ($p=0,982$, $r=-0,02$) (Tabla 5). Sin embargo, los niveles de PCR fueron diferentes entre el grupo control ($0,16 \pm 0,2$) y el grupo SAHS moderado-grave ($0,56 \pm 1,5$) ($p=0,022$). Aún así, no se observaron diferencias significativas para la PCR entre el grupo control y el grupo SAHS leve ($p=1,00$). Además, el estudio mostró una correlación positiva entre el IAH y los niveles de leptina ($p=0,035$, $r=0,225$) y el índice HOMA ($p=0,039$, $r=0,227$). No obstante, la asociación se perdió cuando se correlacionó por el Z-score. Sin embargo los valores de leptina e índice HOMA se encontraban dentro de los valores de referencia.

En cuanto a la relación entre las distintas variables de sueño, se observó que el índice de desaturaciones por debajo del 3% y el 4% presentaba diferencias significativas con el IAH ($p<0,001$). De la misma forma, el índice de arousals y el número total de arousals aumentaron de manera proporcional al IAH observándose también diferencias significativas en cada uno de los grupos ($p<0,001$). Además, hubo diferencias significativas entre la mínima saturación de oxígeno y la gravedad del SAHS ($p=0,001$) (Tabla 2).

El índice de arousals mostró una correlación inversa con los niveles de SPD ($r=-0,258$, $p=0,011$) (Tabla 5). Las diferencias vinieron dadas entre el tercil menor y el tercil mayor de SPD ($p=0,049$), en cambio no hubo diferencias con el segundo tercil (Tabla 4). La correlación negativa entre ambas variables se mantuvo una vez se ajustó por edad y Z-score ($r=-0,248$, $p=0,014$). Además se observó una tendencia positiva entre los arousals y los niveles de PCR, sin llegar a ser significativa ($p=0,054$, $r=0,201$).

Se observó una correlación negativa entre el SPD y variables como el Z-score, PCR y leptina; Z-score-SPD ($r=-0,155$, $p=0,043$), PCR-SPD ($r=-0,161$, $p=0,044$) y leptina-SPD ($r=-0,174$, $p=0,028$) (Tabla 4). La leptina y la PCR perdieron la correlación cuando se ajustó por edad y Z-score ($r=-0,144$, $p=0,11$ y $r=-0,159$, $p=0,069$ respectivamente).

Tabla 1: Análisis descriptivo de la población

	N	Media±Desviación estándar
EDAD (años)	171	8,37±3,61
GENERO (masculino)	178	102 (57,3 %)
Roncador (Si, n)	169	148 (83,1%)
Z-SCORE	171	1,30±2,04
PESO (kg)	173	42,36±26,34
GLUCOSA (mg/dl)	176	86,36±7,82
INSULINA (IU/ml)	155	12,46±12,02
HOMA	141	2,36±2,40
TRIG (mg/dl)	175	66,33±42,64
COLT (mg/dl)	175	155,74±24,85
HDL (mg/dl)	174	49,51±11,10
LDL (mg/dl)	172	93,01±22,06
ALT (U/l)	174	17,76±10,56
GGT (U/l)	170	13,58±5,14
PCR (mg/dl)	156	0,25±0,72
Adiponectina (µg/ml)	159	11,49±7,78
Leptina (ng/ml)	159	13,31±14,90
SPD (ng/ml)	178	16,47±9,99
IAH	169	4,22±8,81
InDes3	149	3,75±9,38
InDes4	149	2,8±7,43
ArTTS	97	73,70±45,24
InATTS	97	10,86±6,64
ArRTTS	97	13,06±21,35
MinSat(%)	130	85,96±10,95
TTSu (min)	123	428,02±67,20
TSpO2<90% (min)	144	2,25±8,00
MedSat (%)	160	96,86±2,18
RemTTS (min)	97	21,1±4,68

Análisis descriptivo de la población estudiada. Valores expresados en media ± desviación estándar.

Tabla 2: Comparación de las variables según la gravedad del SAHS

	NO SAHS (IAH≤1)		SAHS LEVE (IAH 1-5)		SAHS MODERADO-GRAVE (IAH≥5)		P-valor
SPD (ng/ml)	74	16,38±9,20	60	16,98±11,33	44	15,92±9,52	0,865
EDAD (años)	71	8,55±3,49	59	7,86±3,65	41	8,77±3,76	0,392
GENERO	74	39 (52,7%)	60	37(61,6%)	44	26 (59,1%)	0,563
Roncador (Si, n)	74	61 (82,43%)	60	49 (81,7%)	44	38 (86,36%)	0,950
Z-SCORE	71	1,29±1,97	59	1,01±2,04	41	1,71±2,12	0,242
PESO (kg)	72	42,84±25,3	60	38,59±27,06	41	47,05±26,85	0,28
GLUCOSA (mg/dl)	74	87,42±8,28	60	85,25±6,93	42	86,09±8,08	0,72
INSULINA (IU/ml)	63	12,26±11,15	53	10,8±11,19	39	15,01±14,61	0,25
HOMA	58	2,32±2,17	51	2,35±2,6	32	2,45±2,53	0,965
TRIG (mg/dl)	73	65,97±34,56	60	65,51±53,45	42	68,11±38,75	0,951
COLT (mg/dl)	73	153,23±23,56	60	156,31±23,39	42	159,26±28,87	0,448
HDL (mg/dl)	72	49,86±11,76	60	48,37±8,51	42	50,54±13,17	0,587
LDL (mg/dl)	72	89,91±20,38	58	95,47±21,7	42	94,9±25,03	0,296
ALT (U/l)	73	18,27±13,8	60	16,28±5,5	41	19±9,45	0,387
GGT (U/l)	70	13,8±5,13	60	12,43±3,21	40	14,9±6,96	0,053
PCR (mg/dl)	63	0,16±0,20	60	0,18±0,2	33	0,56±1,5	0,022*
Adiponectina (µg/ml)	62	10,73±7,4	57	12,42±8,16	40	11,36±7,88	0,496
Leptina (ng/ml)	62	12,39±13,8	57	12,52±15,7	40	15,85±15,42	0,46
IAH	74	0,4±0,3	60	2,48±1,02	35	15,31±14,75	<0.001**
InDes3	65	1,63±7,22	50	2,61±5,86	34	9,5±14,05	<0.001**
InDes4	65	0,98±4,74	50	1,6±3,33	34	8,02±12,28	<0.001**
ArTTS	40	52,65±38,15	34	75,97±39,97	23	106,96±44,54	<0.001**
InATTs	40	7,6±5,1	34	11,25±5,74	23	15,96±7,1	<0.001**
MinSat(%)	52	88,94±6,31	50	88,64±6,62	28	80,29±18,95	0,001**
TTSu (min)	52	426,83±70,54	43	435,24±71,1	28	418,16±54,59	0,611
TSpO2<90% (min)	58	3,41±11,4	52	1,06±3,81	34	2,12±5,1	0,305
MedSat (%)	68	96,89±2,37	56	97,16±1,31	36	96,33±2,8	0,213
RemTTS (min)	40	20,30±3,99	33	21,37±4,7	24	22,0±5,56	0,341

Los valores expresados en media ± desviación estándar. El nivel de significación en la prueba de ANOVA es *p< 0,05; **p<0,01

Tabla 3: Comparación de las variables antropométricas y bioquímicas entre los grupos de SPD

	SPD ≤ 10.25		SPD 10.25-20		SPD ≥ 20		P-valor
EDAD (años)	58	8,59±3,77	54	8,48±3,81	59	8,06±3,30	0,707
GENERO(masculino)	59	34 (57.6%)	60	31 (51,6%)	59	37 (62,71%)	0,480
Roncador(Si)	56	44 (58,57%)	58	53 (91,38%)	55	51 (92,72%)	0,043
Z-SCORE	58	1,62±2,19	54	1,267±1,96	59	1,02±1,94	0,281
PESO (kg)	59	45,69±28,63	55	42,29±26,55	59	39,11±23,64	0,400
GLUCOSA (mg/dl)	58	85,84±7,94	59	86,90±7,44	59	86,34±8,16	0,768
Insulina (IU/ml)	51	13,45±12,3	52	12,40±13,14	52	11,54±10,95	0,726
HOMA	45	2,72±2,78	50	2,39±2,66	46	1,97±1,56	0,331
TRIG (mg/dl)	58	67,10±37,27	58	62,90±31,77	59	68,95±55,47	0,736
COLT (mg/dl)	58	153,93±25,99	58	151,81±22,83	59	161,37±25,01	0,091
HDL (mg/dl)	57	48,21±10,06	58	49,83±11,41	59	50,46±11,81	0,536
LDL (mg/dl)	56	92,20±22,86	58	89,45±20,20	58	97,34±22,70	0,148
ALT (ul)	57	16,56±6,28	58	16,72±5,95	59	19,93±15,89	0,152
GGT (ul)	57	13,46±5,85	55	13,45±4,19	58	13,83±5,29	0,906
PCR (mg/dl)	52	0,39±1,15	51	0,25±0,46	53	0,12±0,14	0,174
Adiponectina (µg/ml)	53	11,36±8,28	52	10,86±7,38	54	12,23±7,75	0,659
Leptina (ng/ml)	53	16,68±16,56	52	13,47±15,78	54	9,84±11,38	0,059

Cada grupo fue creado a partir de los terciles de las concentraciones de SPD (ng/ml). Las variables estudiadas fueron la edad, Z-score, peso, GLUCOSA Insulina, HOMA, TRIG, COLT, HDL, LDL, ALT, GGT, ALBU, PCR, Adiponectina, Leptina. Valores expresados en media ± desviación estándar. ANOVA de un factor para comparar los grupos (p<0.05).

Tabla 4: Comparación de parámetros de sueño con los grupos de SPD.

	SPD ≤ 10.25		SPD 10.25-20		SPD ≥ 20		P-valor
IAH	56	4,93±9,95	56	4,14±7,69	57	3,61±8,76	,727
InDes3	52	3,12±5,24	49	3,35±8,78	48	4,87±12,91	,608
InDes4	52	2,20±4,69	49	2,59±7,32	48	3,65±9,70	,606
ArTTTS	32	84,81±55,18	32	76,41±44,19	33	60,30±31,35	,084
InATTS	32	12,92±8,45	32	10,84±6,06	33	8,89±4,40	,049*
MinSat	49	85,65±14,71	37	88,27±6,76	44	87,32±8,74	,532
TTSu	43	419,94±76,05	28	432,22±57,74	42	432,5±66,34	,624
tSpO2<90%	53	1,53±4,75	45	3,51±12,1	46	1,86±5,7	,442
MedSat	55	97,15±1,26	52	96,72±2,44	53	96,86±2,18	,484
RemTTS	33	21,45±4,76	32	20,38±4,55	32	20,97±4,87	,857

Las variables de sueño estudiadas fueron el IAH, InDes3, InDes4, ArTTTS, InATTS, MinSat, TTSu, tSpO2<90%, MedSat y RemTTS. Valores expresados en media±desviación estándar. ANOVA de un factor. *Significancia en p<0.05. La concentración de SPD calculada en ng/ml.

Tabla 5: Evaluación de la correlación simple entre la concentración de SPD y variables antropométricas, bioquímicas y de sueño.

Variables	SPD	
	r	P-valor
Edad	-0,064	0,408
Z-score	-0,155	0,043*
PCR	-0,161*	0,044*
Leptina	-0,174*	0,028*
Adiponectina	0,085	0,289
IAH	-0,002	0,982
InATTS	-0,258	0,011*
tSpO2<90%	0,047	0,578

Correlación de Pearson. Variable dependiente: SPD. Variable independiente: Edad, Z-score, PCR, Leptina, Adiponectina, IAH, InATTS, tSpO2<90%. *Correlación significativa en el nivel 0.05 (bilateral)

DISCUSIÓN

En el presente estudio se ha medido la concentración sérica de SPD en una población pediátrica diagnosticada de SAHS para determinar la afectación del síndrome en la expresión de la proteína y su posible implicación en la respuesta inmunitaria.

En general, los niveles plasmáticos de la SPD se utilizan como biomarcador en enfermedades pulmonares ya que la principal fuente de la proteína son las células alveolares tipo II. En pacientes adultos con SAHS se observa una disminución de la proteína a medida que aumenta la gravedad de la enfermedad determinada por el IAH [16][14]. Esto podría ser debido a un aumento de la permeabilidad de las células alveolares a causa de la hipoxia intermitente (HI) producida durante el SAHS, siendo así un factor de riesgo para el funcionamiento de dichas células [16]. Aún así, los resultados del presente estudio sugirieron que los cambios producidos en las concentraciones plasmáticas de SPD en niños no estarían determinados tanto por el IAH, sino más bien por los arousals/microdespertares que acompañan frecuentemente a las hipoapneas.

El SAHS se caracteriza por un colapso en la vía superior, de modo que hay una interrupción del paso de oxígeno, creando ciclos de HI. Muchas veces estas alteraciones van seguidas de arousals/microdespertares que alteran la continuidad del sueño [10]. Estos hechos se sustentan con los resultados obtenidos en este estudio que demuestran un aumento del índice de arousals y de desaturaciones a medida que se agrava el SAHS (*Tabla 2*). La intensidad y la frecuencia de estos arousals pueden tener diferentes efectos sobre la fisiopatología del SAHS [19].

SPD-IAH-Índice de Arousals

La gravedad del SAHS por definición viene determinada por el IAH: $IAH \leq 1$ no SAHS; $IAH 1-5$ SAHS leve; $IAH \geq 5$ SAHS moderado-grave (*Tabla 2*). Siguiendo esta clasificación parece ser que el SPD no se ve alterado según la gravedad del SAHS en niños pediátricos.

Para determinar que parámetros de sueño pueden alterar los niveles de SPD, se diseñaron tres grupos que se dividieron según los terciles de dicha proteína (tercil 1: $[SPD] \leq 10,25$; tercil 2: $10,25 - [SPD] - 20$; tercil 3: $[SPD] \geq 20$). Cuando se analizaron las variables de sueño, se observó que, aunque no había diferencias entre el IAH y los niveles de SPD, el índice de arousals/microdespertares mostraba una significación con la concentración de dicho surfactante (*Tabla 3*).

Además de contemplarse diferencias significativas entre los niveles de SPD y el índice de arousals, se observó una correlación inversa fuerte entre dichas variables que aumentan la fiabilidad de los resultados. Incluso esta correlación se mantuvo una vez ajustada por las variables confusoras del SAHS (Z-score, edad), lo que indica que, según los datos de este estudio, mayoritariamente serían los arousals los causantes de este cambio en la expresión de la proteína. Así, en el presente estudio se ha observado que cuanto mayor es el número de arousals producidos cada hora de sueño, menor es la concentración en sangre de la proteína SPD. Se sabe que la fragmentación del sueño producida por los arousals/microdespertares es el principal componente del SAHS que conlleva a la disfunción endotelial (DE) [20]. Nuestra hipótesis a los resultados obtenidos es que a causa de la DE, producida por los arousals, se produce un desequilibrio en la biodisponibilidad sanguínea del pulmón, haciendo que la proteína SPD esté menos presente en la sangre. Una disminución de ésta proteína en sangre deriva en una menor capacidad de actuación por parte del sistema inmunitario siendo así más vulnerable a otras infecciones y/o enfermedades. Se necesitan más estudios para precisar la influencia de las apneas y los arousals en niños sobre el sistema inmune de los niños.

Para evaluar con más precisión las posibles causas de los cambios producidos en los niveles de la SPD, se realizó un estudio de asociación para determinar que variables pueden alterar los niveles de dicha proteína. Se observó una correlación negativa entre las concentraciones de la SPD y el Z-score, la PCR y la leptina. Estas variables están relacionadas con un fenotipo obeso, muy característico del SAHS infantil [21]. Además, el SAHS en edades pediátricas está muy ligado al peso del niño, lo que hace que sea una variable confusora del SAHS, al igual que la edad del mismo. De este modo, se ajustó la correlación por la edad y el Z-score, observando cómo se pierde la asociación entre la concentración de SPD y las concentraciones de PCR y leptina (*Tabla 5*). Así, se confirma que la obesidad es un factor influyente en este síndrome y en los niveles de estas proteínas.

SAHS-Hipoxia intermitente (HI)

La HI inicia la producción de especies reactivas de oxígeno y la inducción de procesos inflamatorios [22]. Los marcadores inflamatorios son grandes indicadores de los niveles de hipoxia [15]. Los niveles de PCR reflejan en gran parte la inflamación presente en el organismo [23]. En este estudio se ha observado que las concentraciones de la PCR aumentan de forma significativa a medida que lo hace la gravedad del SAHS, determinada por el IAH. Además en este estudio se ha observado una clara tendencia positiva entre los arousals y los

niveles de PCR, sin llegar a ser significativa. De esta forma la HI tiene más consecuencias sobre la inflamación del organismo que la fragmentación del sueño.

SAHS-Síndrome metabólico

El SAHS está relacionado directamente con el síndrome metabólico (SM) [24]. La obesidad es una de las características más relevantes del SM. La fracción total de masa corporal, compuesta por lípidos situados en el tejido adiposo, se relaciona con parámetros como son la presión sanguínea, la sensibilidad a la insulina, los niveles de triglicéridos y las concentraciones de leptina [25]. En este estudio se ha observado cómo los arousals, que parecen ser el principal parámetro del SAHS infantil que ocasiona disfunción endotelial, se correlaciona positivamente con los niveles de leptina y el índice HOMA. No obstante, la asociación se pierde cuando se correlaciona por el Z-score lo que refleja la gran implicación de la obesidad. A pesar de esta correlación, los valores de la leptina y el índice HOMA se encuentran dentro de los valores de referencia. Estas observaciones podrían ser debidas a la corta edad de los pacientes y por tanto a la corta duración de la enfermedad, pero dichos valores aumentarían hasta llegar a unos valores patológicos si perdurara el SAHS en el tiempo sin ser tratado. Estos resultados reflejan la estrecha relación entre el SAHS y el SM.

En el presente estudio se observa como los niveles de SPD en pacientes pediátricos tienen una correlación inversa significativa con el índice de arousals, pero no con el IAH. Sin embargo, referente a los niveles séricos de marcadores inflamatorios como la PCR, el IAH tiene mayor implicación que el índice de arousals. Hasta el momento, no hay otros estudios que correlacionen los niveles plasmáticos de SPD con los arousals/microdespertares. Así, se pone de manifiesto la necesidad de estudiar la implicación de cada componente del SAHS (apneas-hipoapneas, HI, arousals/microdespertares) en la fisiopatología del síndrome.

CONCLUSIÓN

Los resultados de este trabajo concluyen que no hay diferencias significativas entre los niveles plasmáticos de SPD y la gravedad del SAHS infantil. Sin embargo, el principal componente del SAHS que explica los cambios en los niveles de SPD en sangre, en niños pediátricos, es el índice de arousals/microdespertares. Se ha propuesto que una disminución de esta proteína deriva

en una menor capacidad de actuación por parte del sistema inmunitario, siendo así los pacientes con más arousals más vulnerables a otras infecciones y/o enfermedades. Se necesita profundizar más en este campo para determinar los mecanismos por los cuáles se producen las alteraciones de SPD en el SAHS. Este trabajo pone de manifiesto la importancia de los arousals en el diagnóstico y seguimiento del SAHS igual que en sus posibles complicaciones.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Younes, "Role of respiratory control mechanisms in the pathogenesis of obstructive sleep disorders," *J. Appl. Physiol.*, vol. 105, no. 5, pp. 1389–1405, 2008.
- [2] N. S. Barashi, R. E. Ruiz, L. Marín, P. Ruiz, S. Amado, Á. J. Ruiz, and P. Hidalgo, "Síndrome de apnea/hipopnea obstructiva del sueño y su asociación con las enfermedades cardiovasculares," *Rev. Colomb. Cardiol.*, vol. 22, no. 2, pp. 81–87, 2015.
- [3] J. C. Lumeng and R. D. Chervin, "Epidemiology of Pediatric Obstructive Sleep Apnea," *Proc. Am. Thorac. Soc.*, vol. 5, no. 2, pp. 242–252, 2008.
- [4] S. L. Verhulst, N. Schrauwen, D. Haentjens, R. P. Rooman, L. Van Gaal, W. a De Backer, and K. N. Desager, "Sleep-disordered breathing and the metabolic syndrome in overweight and obese children and adolescents.," *J. Pediatr.*, vol. 150, no. 6, pp. 608–12, 2007.
- [5] S. Redline, P. V Tishler, M. Schluchter, J. Aylor, K. Clark, and G. Graham, "Risk Factors for Sleep-disordered Breathing in Children Associations with Obesity , Race , and Respiratory Problems African Americans appears to be independent of the effects of obesity or respiratory problems . Red-," *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, no. 4, 1999.
- [6] K. a Kaphingst, S. Persky, and C. Lachance, "Vitamin D levels and Obstructive Sleep apnea in Children," vol. 14, no. 4, pp. 384–399, 2010.
- [7] M. Casale, M. Pappacena, V. Rinaldi, F. Bressi, P. Baptista, and F. Salvinelli, "Obstructive Sleep Apnea Syndrome: From Phenotype to Genetic Basis," *Curr. Genomics*, vol. 10, no. 2, pp. 119–126, 2009.
- [8] J. M. Yurgaky S., A. Bastidas, J. A. Conta, J. Montaña, and A. M. Arredondo G., "Más allá del molesto ronquido : síndrome de apnea obstructiva del sueño y su peligrosa asociación con el síndrome metabólico," *Rev. Med*, vol. 19, no. 1, pp. 37–44, 2011.
- [9] T. da Silva Gusmão Cardoso, S. Pompéia, and M. C. Miranda, "Cognitive and behavioral effects of obstructive sleep apnea syndrome in children: a systematic literature review," *Sleep Med.*, vol. 46, pp. 46–55, 2018.
- [10] D. J. Eckert and M. K. Younes, "Arousal from sleep: implications for obstructive sleep apnea pathogenesis and treatment," *J. Appl. Physiol.*, vol. 116, no. 3, pp. 302–313, 2014.
- [11] C. Winkler, E. N. Atochina-Vasserman, O. Holz, M. F. Beers, V. J. Erpenbeck, N. Krug, S. Roepcke, G. Lauer, M. Elmlinger, and J. M. Hohlfeld, "Comprehensive characterisation of pulmonary and serum surfactant protein D in COPD," *Respir. Res.*, vol. 12, no. 1, p. 29, 2011.
- [12] G. L. Sorensen, "Surfactant Protein D in Respiratory and Non-Respiratory Diseases," *Front. Med.*, vol. 5, no. February, 2018.

- [13] H. L. Munk, D. Fakih, L. Christiansen, Q. Tan, A. F. Christensen, L. Ejstrup, A. G. Loft, K. Junker, K. O. Kyvik, R. Jounblat, U. Holmskov, G. L. Sorensen, and P. Junker, "Surfactant protein-D, a potential mediator of inflammation in axial spondyloarthritis," *Rheumatology*, no. July, pp. 1–5, 2018.
- [14] D. Lu, A. Abulimiti, T. Wu, A. Abudureyim, and N. Li, "Pulmonary surfactant-associated proteins and inflammatory factors in obstructive sleep apnea," *Sleep Breath.*, vol. 22, no. 1, pp. 99–107, 2018.
- [15] D. Lu, N. Li, X. Yao, and L. Zhou, "Potential inflammatory markers in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome," pp. 47–53.
- [16] S. Liang, N. Li, M. Heizhati, X. Yao, A. Abdireim, Y. Wang, Z. Abulikemu, D. Zhang, G. Chang, J. Kong, L. Zhou, J. Hong, T. Ying, and Y. Zhang, "What do changes in concentrations of serum surfactant proteins A and D in OSA mean?," *Sleep Breath.*, vol. 19, no. 3, pp. 955–962, 2015.
- [17] D. Gozal, A. Shata, M. Nakayama, and K. Spruyt, "Seasonal variability of sleep-disordered breathing in children," *Pediatr. Pulmonol.*, vol. 46, no. 6, pp. 581–586, 2011.
- [18] R. B. Berry, R. Budhiraja, D. J. Gottlieb, D. Gozal, C. Iber, V. K. Kapur, C. L. Marcus, R. Mehra, S. Parthasarathy, S. F. Quan, S. Redline, K. P. Strohl, S. L. D. Ward, and M. M. Tangredi, "Rules for scoring respiratory events in sleep: Update of the 2007 AASM manual for the scoring of sleep and associated events," *J. Clin. Sleep Med.*, vol. 8, no. 5, pp. 597–619, 2012.
- [19] P. G. Catcheside and A. S. Jordan, "Reflex Tachycardia with Airway Opening in Obstructive Sleep Apnea," *Sleep*, vol. 36, no. 6, pp. 819–821, 2013.
- [20] D. J. Gottlieb, N. M. Punjabi, R. Mehra, S. R. Patel, S. F. Quan, D. C. Babineau, R. P. Tracy, M. Rueschman, R. S. Blumenthal, E. F. Lewis, D. L. Bhatt, and S. Redline, "【S0417E文献】 CPAP versus oxygen in obstructive sleep apnea.," *N. Engl. J. Med.*, vol. 370, no. 24, pp. 2276–85, 2014.
- [21] E. Dayyat, L. Kheirandish-Gozal, and D. Gozal, "Childhood Obstructive Sleep Apnea: One or Two Distinct Disease Entities?," *Sleep Med. Clin.*, vol. 2, no. 3, pp. 433–444, 2007.
- [22] R. Iturriaga, E. a. Moya, and R. Del Rio, "Inflammation and oxidative stress during intermittent hypoxia: The impact on chemoreception," *Exp. Physiol.*, vol. 100, no. 2, pp. 149–155, 2015.
- [23] S. Black, I. Kushner, and D. Samols, "C-reactive protein," *J. Biol. Chem.*, vol. 279, no. 47, pp. 48487–48490, 2004.
- [24] L. F. Drager, S. M. Togeiro, V. Y. Polotsky, and G. Lorenzi-Filho, "Obstructive sleep apnea: a cardiometabolic risk in obesity and the metabolic syndrome.," *J Am Coll Cardiol*, vol. 62, no. 7, pp. 569–576, 2013.
- [25] E. S. Tai, T. N. Lau, H. O. Ho, a. C. K. Fok, and C. E. Tan, "Body fat distribution and cardiovascular risk in normal weight women. Associations with insulin resistance, lipids and plasma leptin," *Int. J. Obes.*, vol. 24, no. 6, pp. 751–757, 2000.

ABREVIATURAS

ALT: Alanina aminotransferase

ArTTS: Número de arousals

DE: Disfunción endotelial

EEG: electroencefalograma

GGT: Gamma glutamil transeptidasa

HDL: High density lipoprotein

HOMA: Homeostatic model assessment

IAH: Índice apneas e hipoapneas

InATTS: Índice de arousals

InDes3: Índice desaturaciones por debajo del 3%

InDes4: Índice desaturaciones por debajo del 4%

LDL: Low density lipoprotein

MedSat: Saturación media

MinSat: Mínima saturación oxígeno

PCR: Protein C Reactiva

PSG: Polisomografía

RemTTS: Tiempo en fase REM

SAHS: Síndrome de Apneas e hipoapneas del Sueño

SatO2: Saturación de oxígeno

SM: Síndrome metabólico

SPD: Surfactant protein D

TSpO2<90%: Tiempo menor al 90% de saturación

TTSu: Tiempo en supino