

Estrés oxidativo y síndrome de apneas-hipopneas del sueño

A. Barceló^a y F. Barbé^b

^aServicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitari Son Dureta. IUNICS. Palma de Mallorca. Islas Baleares.

^bServicio de Neumología. Hospital Universitario Son Dureta. IUNICS. Palma de Mallorca. Islas Baleares. España.

Introducción

El síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS) se asocia a un aumento del riesgo de padecer enfermedad cardiovascular¹⁻⁴. Las bases patogénicas de esta asociación no se conocen, pero uno de los posibles mecanismos implicados es el estrés oxidativo⁵. Se ha apuntado que la hipoxia intermitente y los episodios de hipoxia-reoxigenación que acompañan a las apneas podrían inducir un aumento de la liberación vascular de radicales libres, favorecer el proceso de formación de la placa de ateroma y aumentar el riesgo cardiovascular en estos pacientes^{6,7}. En esta revisión se exponen algunos conceptos generales sobre la génesis del estrés oxidativo en la pared vascular y la evidencia existente sobre la implicación de este proceso en la patogenia de la enfermedad cardiovascular de los pacientes con SAHS.

Estrés oxidativo

Generalidades

Aunque los radicales libres o especies reactivas de oxígeno (RLO) tienen unas funciones fisiológicas bien definidas (p. ej., la generación de descargas oxidativas por parte de los neutrófilos o inducir la activación de vías de señalización intracelulares relacionadas con el crecimiento), son moléculas altamente reactivas que pueden dar lugar a daño celular⁸. La producción incontrolada de RLO puede ser fuente de enfermedad a través de la alteración de macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y diversos procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, inducción génica). Los RLO se producen durante las reacciones metabólicas, cuando las células del organismo transforman los alimentos en energía especialmente en situaciones de hiperoxia, ejer-

cio intenso e isquemia. También se producen por la exposición a determinados agentes externos como las radiaciones ionizantes, luz ultravioleta o humo del tabaco. Los RLO inorgánicos más importantes son el oxígeno molecular (O₂), el radical anión superóxido (O₂⁻), el radical hidroxilo (HO⁻) y su precursor inmediato el peróxido de hidrógeno (H₂O₂); de los orgánicos, el radical peróxido (ROO⁻), el hidroperóxido orgánico (ROOH) y los lípidos peroxidados⁸⁻¹⁰.

El organismo posee unos sistemas antioxidantes de defensa para la eliminación inmediata de los radicales libres. Además existen sustancias antioxidantes que el organismo no puede sintetizar y que adquirimos por medio de la dieta (tabla I). Se define como sustancia antioxidante cualquier sustancia que, cuando está presente a concentraciones bajas en relación con el sustrato oxi-

TABLA I
Tipos de antioxidantes

Internos	Externos
<i>Enzimáticos</i>	
Superóxido dismutasa	Carotenos y carotenoides (vitamina A)
Glutación peroxidasa	Tocoferoles (vitamina E)
Catalasa	Ácido ascórbico (vitamina C)
Otros sistemas enzimáticos involucrados en las reacciones redox	Flavonoides
Glutación reductasa	
Metionina reductasa	
DT diaforasa	
Fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH) deshidroascórbico reductasa	
Enzimas de reparación de daños del ADN	
<i>No enzimáticos</i>	
Ácido úrico	
Albúmina	
Bilirrubina	
Ceruloplasmina	
Glutación reducido	
Transferrina	
Ubiquinonas	

Financiado, en parte, por ABEMAR, SEPAR y Fondo de Investigaciones Sanitarias (01/0786, 02/0334) y Red Respira (RTIC C03/11).

Correspondencia: Dra. A. Barceló.
 Andrea Doria, 55. 07014 Palma de Mallorca. Islas Baleares. España.
 Correo electrónico: abarcelo@hsd.es

Recibido: 30-7-2004; aceptado para su publicación: 22-9-2004.

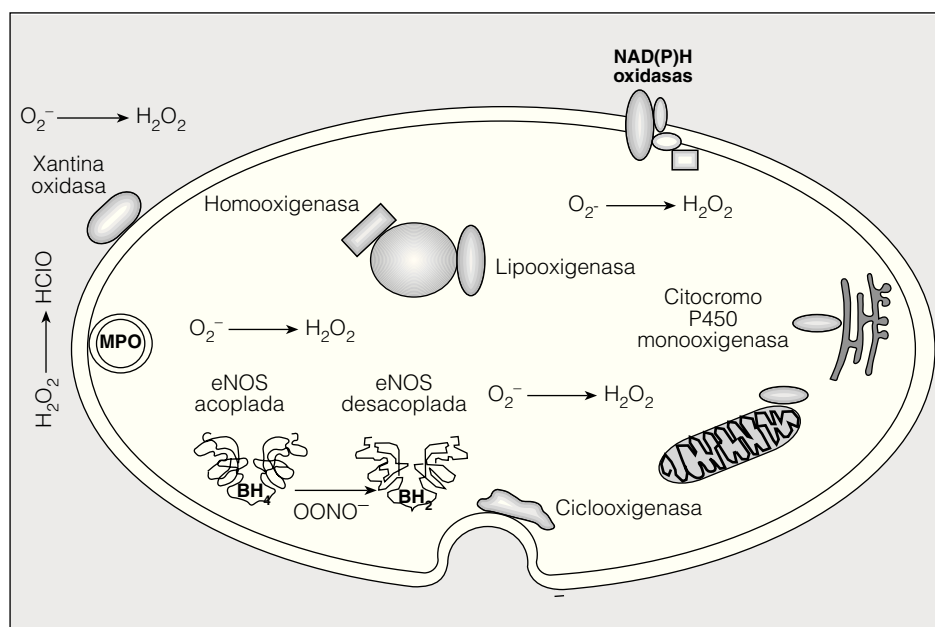


Fig. 1. Fuentes potenciales de radicales libres de oxígeno. Muchas enzimas, como las que participan en el transporte mitocondrial de electrones, xantina oxidasa, ciclooxigenasas, lipo-oxigenasas, mieloperoxidasas, citocromo P450 monooxigenasa, óxido nítrico sintetasa (eNOS) desacoplada, hemooxigenasas, peroxidasas y dinucleótido de nicotinamida y adenina o fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina -NAD(P)H- oxidasas, producen radicales libres de oxígeno. Dependiendo de su localización en la célula, estos radicales libres de oxígeno se generan intracelular, extracelularmente o en compartimientos intracelulares específicos. O_2^- : radical anión superóxido; H_2O_2 : peróxido de hidrógeno; $OONO^-$: peroxinitrito; BH_4 : tetrahydrobiopterina; BH_2 : dihidrobiopterina. (Adaptada con permiso de Griendling et al¹².)

dable, retrasa o previene significativamente la oxidación de dicho sustrato, en el que se incluyen las moléculas orgánicas e inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono o el ADN.

Si el equilibrio entre los radicales libres y los sistemas antioxidantes se rompe a favor de los primeros, se produce el denominado estrés oxidativo, que desempeña un importante papel en numerosos procesos degenerativos como el envejecimiento, la arteriosclerosis o el cáncer⁸⁻¹⁰. Los RLO cumplen un papel importante en el desarrollo de vasculopatías, entre ellas la arteriosclerosis, la hipertensión y la reestenosis postangioplastia¹¹. Actualmente está claro que muchos RLO se producen en la pared arterial y que, solos o en combinación, contribuyen a diferentes anomalías asociadas con la enfermedad vascular^{12,13}.

Especies reactivas de oxígeno y pared vascular

Existen diversos RLO que desempeñan un papel importante en la fisiología y fisiopatología vasculares. Los más importantes son el óxido nítrico (NO), el O_2^- , el H_2O_2 y el peroxinitrito ($ONOO^-$)¹². Los RLO están implicados en algunas funciones fundamentales de la pared arterial. El NO es un mediador crucial de la vasodilatación dependiente del endotelio, mientras que el O_2^- y H_2O_2 intervienen en el crecimiento, diferenciación y apoptosis de las células musculares lisas^{14,15}. Por otra parte, la peroxidación lipídica y nitración proteica inducidas por el $ONOO^-$ son acontecimientos aterogénicos tempranos¹⁶. Cada uno de los RLO deriva de reacciones químicas o enzimáticas específicas (fig. 1). El NO se produce en las células endoteliales por la activación de la enzima NO sintetasa endotelial (eNOS), pero los macrófagos y células musculares lisas pueden expresar NO

sintetasa inducible y contribuir a la producción de NO. El NO es un mediador crucial de la vasodilatación dependiente del endotelio. También participa en la agregación plaquetaria y en el mantenimiento del equilibrio entre el crecimiento y la diferenciación de las células musculares lisas. Diversas hormonas vasodilatadoras y fuerzas físicas pueden activar la enzima eNOS. La expresión de NO sintetasa inducible en macrófagos y células musculares lisas origina una elevación de las concentraciones de citocinas que da lugar a una respuesta inflamatoria local. Además, en determinadas circunstancias la eNOS está desacoplada por déficit de un cofactor esencial, la tetrahydrobiopterina, y se produce O_2^- en vez de NO. Es decir, las enzimas NO sintetasa son potenciales fuentes de NO y O_2^- dependiendo de las circunstancias ambientales^{13,17,18}.

Todas las células vasculares producen O_2^- y H_2O_2 . El O_2^- es el resultado de la reducción de un electrón del oxígeno por una variedad de oxidasas. Cuando el O_2^- se produce en concierto con NO, ambos reaccionan rápidamente para dar lugar a la molécula altamente reactiva $ONOO^-$. El $ONOO^-$ es un importante mediador de la oxidación lipídica, como la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), con importantes efectos proaterogénicos.

En ausencia de NO, el O_2^- es rápidamente dismutado hacia un RLO más estable, H_2O_2 , por la superóxido dismutasa, para luego ser convertido en H_2O por la catalasa o glutatión peroxidasa^{12,13}. Los efectos del O_2^- y H_2O_2 en la función vascular dependen de la cantidad producida. Cuando se forman intracelularmente en pequeñas cantidades, pueden actuar como segundos mensajeros modulando la función de mecanismos bioquímicos que participan en procesos como el crecimiento de células musculares lisas o fibroblastos. Una elevada producción de RLO puede causar lesiones en el ADN, toxicidad ce-

lular y apoptosis, como se ha demostrado en células endoteliales y células musculares lisas¹². Además de la fuente mitocondrial de RLO, diversas enzimas pueden sintetizar O_2^- y H_2O_2 , como la dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH) o fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH) oxidasas, cuya actividad puede verse modulada por diversos estímulos. Así, la angiotensina II, el factor de necrosis tumoral alfa, la trombina y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas incrementan la actividad oxidasa y elevan las concentraciones de O_2^- y H_2O_2 en las células musculares lisas. Fuerzas físicas como los cambios de flujo son también potentes activadores de la producción de O_2^- en las células endoteliales^{12,18}. Los macrófagos son la principal fuente vascular de O_2^- en situaciones patológicas. Oxidan las LDL a través de la activación de diversas enzimas. Los neutrófilos y monocitos pueden también secretar mieloperoxidasa, la cual es importante en el inicio de la peroxidación lipídica^{12,16}.

Los macrófagos también liberan al espacio extracelular RLO que pueden activar metaloproteinasas. Una vez activadas, las metaloproteinasas pueden degradar la matriz extracelular, debilitar la capa fibrosa de la placa de ateroma y facilitar su rotura¹⁶. Además, productos más estables de los RLO pueden influir en la función celular a través de sus acciones sobre mecanismos específicos, o bien actuando como ligandos para receptores nucleares y de membrana. Los RLO pueden modificar directamente la afinidad de ciertos factores de transcripción (factor nuclear κB o proteína activadora 1) para sus sitios de unión en el ADN. Los RLO regulan diversas clases de genes, incluyendo moléculas de adhesión, factores quimiotácticos, enzimas antioxidantes y sustancias vasoactivas. Algunas de estas acciones son claramente una respuesta adaptativa como, por ejemplo, la inducción de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa por H_2O_2 . La sobreexpresión de moléculas de adhesión y quimiotácticas por mecanismos sensibles a oxidantes es de particular relevancia en las enfermedades vasculares. Estas moléculas promueven la adhesión y migración de monocitos hacia el interior de la pared. Por otra parte, el NO inhibe la inducción transcripcional de moléculas de adhesión por citocinas. En conjunto estos mecanismos combinan la supresión de la expresión de moléculas de adhesión en la pared arterial normal y la inducción de su expresión en vasculopatías^{12,19}.

Asimismo, no puede descartarse la influencia de factores genéticos que modulen la generación de RLO en el tejido vascular. En este sentido, se ha identificado un polimorfismo en el gen *CYBA* (*C242T*), que codifica la subunidad p22phox de la enzima NADPH oxidasa y que se ha relacionado con la actividad de ésta y con la generación de O_2^- en el tejido vascular²⁰.

Monitorización de la formación de radicales libres de oxígeno

Los RLO son moléculas evanescentes y, como consecuencia, su medición es compleja y ha experimentado diversos cambios. Los índices utilizados tradicionalmente, como la medida de la susceptibilidad de la LDL a la oxi-

dación, han dado paso al desarrollo de diversos biomarcadores de estrés oxidativo. Se trata de identificar compuestos estables derivados de la acción de RLO como productos de la peroxidación lipídica (como los isoprostanos), proteínas modificadas (fibrinógeno nitrado) o índices de ADN modificado (8-oxodeoxiguanosina). También se han desarrollado anticuerpos dirigidos contra epítomos presentes en las LDL oxidadas que pueden utilizarse para medir la peroxidación lipídica. La espectrometría de masas se ha empleado asimismo para detectar aminoácidos que han sufrido modificación oxidativa.

La liberación excesiva de RLO también puede evaluarse a partir de diversos marcadores indirectos, como son la detección de una activación de genes sensibles a RLO, la reducción de la liberación de NO, la elevación de las concentraciones de homocisteína o la reducción de los valores de antioxidantes como enzimas y/o vitaminas. Estos métodos continúan perfeccionándose y probablemente surjan nuevos marcadores que nos permitirán medir la acción de los RLO de una manera más exacta y precisa²¹⁻²⁴.

Estudios en humanos

Los más recientes marcadores de estrés oxidativo indican que éste es una característica presente en diversas enfermedades cardiovasculares y se detecta en pacientes con distintos factores de riesgo cardiovascular. En pacientes con hipercolesterolemia se han encontrado concentraciones elevadas de isoprostanos, así como anticuerpos anti-LDL oxidada. El tratamiento con estatinas parece reducir las concentraciones de estos marcadores^{25,26}. En fumadores también se han detectado valores elevados de dichos marcadores, así como un incremento en la modificación oxidativa del fibrinógeno y concentraciones urinarias elevadas de 8-oxodeoxiguanosina^{27,28}. Asimismo, se han relacionado con la obesidad las concentraciones elevadas de isoprostanos, que disminuyen tras el adelgazamiento²⁹.

Hay una gran cantidad de estudios experimentales que evidencian los efectos beneficiosos de los antioxidantes. Por ejemplo, la vitamina C reduce la adhesión de los monocitos a las células endoteliales, inhibe la oxidación de LDL y estimula la actividad de eNOS. La vitamina E también inhibe *in vitro* la adhesión leucocitaria y la oxidación de LDL³⁰⁻³³. Numerosos estudios clínicos han intentado validar estas observaciones en humanos. El tratamiento con vitamina C reduce las concentraciones de isoprostanos en individuos fumadores y el efecto beneficioso de esta vitamina sobre la disfunción endotelial está demostrado en pacientes con enfermedad cardiovascular^{28,34}. Los supuestos beneficios de la vitamina E han sido más difíciles de demostrar y no existe acuerdo sobre los efectos de la suplementación con esta vitamina^{35,36}. Aunque existen estudios en los que se ha detectado una mejoría en la función endotelial y en marcadores de oxidación lipídica, así como una reducción de episodios cardiovasculares tras la administración de vitamina E, los resultados de otros estudios de intervención no apoyan estas conclusiones sobre la eficacia de esta vitamina^{35,36}.

Estrés oxidativo y síndrome de apneas-hipopneas del sueño

El papel potencial del estrés oxidativo en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares de los pacientes con SAHS deriva de las observaciones que implican, por una parte, la elevada producción de radicales libres en situaciones de hipoxia-reoxigenación y, por otra, la predisposición al desarrollo de arteriosclerosis en estos pacientes^{6,37}. Actualmente disponemos de datos que apoyan esta hipótesis y que se basan en la detección de marcadores directos de estrés oxidativo como son la elevada producción de RLO en leucocitos de pacientes con SAHS o bien en la detección de marcadores indirectos como, por ejemplo, de moléculas derivadas de la activación de genes sensibles a RLO⁵.

Incremento en la producción de radicales libres de oxígeno en leucocitos

En situaciones de hipoxia o mediante exposición a citocinas u otros factores se produce una activación de los leucocitos que da lugar a una elevada producción de RLO. En 2 estudios se ha observado, tanto tras estimulación como en condiciones basales, un aumento de la producción de RLO en leucocitos aislados de pacientes con SAHS, lo cual indicaría una producción basal constante de RLO en estos pacientes. El tratamiento con presión positiva continua de la vía aérea (CPAP) se acompañó de una reducción de la liberación de RLO en los 2 estudios^{38,39}.

Oxidación de lipoproteínas

Diversas líneas de evidencia mantienen la hipótesis de que la modificación oxidativa de las LDL cumple un papel crucial en la patogenia de la arteriosclerosis. Las LDL oxidadas alteran la respuesta vasomotora e inducen inflamación, ya que promueven la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio y la liberación de citocinas y factores de crecimiento. Las LDL oxidadas son captadas ávidamente por los macrófagos, que se transforman en células espumosas. Además, son a la vez consecuencia y mediadores de estrés oxidativo, lo que da lugar a una perpetuación de la respuesta inflamatoria y el daño oxidativo. Se cree que uno de los principales efectos beneficiosos del tratamiento con estatinas consiste en la interrupción del ciclo inflamación-oxidación independientemente de su capacidad para reducir las concentraciones plasmáticas de lípidos^{16,17,40}. Respecto al SAHS, aunque se publicó un estudio donde no se encontraron diferencias entre la susceptibilidad a la oxidación de LDL aisladas del plasma de pacientes con SAHS respecto a individuos sanos⁴¹, otros 3 estudios han demostrado un aumento en la oxidación de estas lipoproteínas en pacientes con SAHS y un efecto beneficioso del tratamiento con CPAP sobre dicha oxidación⁴²⁻⁴⁴. Estos resultados son indicativos de la importancia de este mecanismo patogénico en relación con el riesgo aterogénico atribuible al SAHS.

Homocisteína

La homocisteína es un aminoácido sulfurado altamente reactivo que causa disfunción endotelial a través de varios mecanismos, como son un aumento de la producción de RLO, menor liberación de NO y alteraciones en la expresión de diversos genes en las células endoteliales⁴⁵. Se ha demostrado una relación entre las concentraciones elevadas de homocisteína y la frecuencia de enfermedad cardiovascular^{45,46}. También se ha documentado un efecto beneficioso sobre la disfunción endotelial al disminuir los títulos de homocisteína mediante tratamiento con ácido fólico y vitaminas B₆ y B₁₂^{45,46}. Sin embargo, no se conoce el efecto que estos tratamientos pudieran tener sobre la reducción de la mortalidad cardiovascular y actualmente están en marcha estudios aleatorizados con el objetivo de conocer el alcance de estos tratamientos.

En un estudio realizado por Lavie et al⁴⁷ se encontraron concentraciones elevadas de homocisteína en pacientes con SAHS y enfermedad coronaria respecto a pacientes con SAHS e hipertensión y SAHS sin enfermedad cardiovascular. Esta diferencia se detectó también respecto a un grupo de individuos con enfermedad coronaria sin SAHS. No se encontraron diferencias en cuanto a otros factores de riesgo y concentraciones de vitaminas B₆, B₁₂ y ácido fólico relacionadas con el metabolismo de la homocisteína. Estos resultados indicarían que la homocisteína puede estar implicada en la patogenia de la enfermedad cardiovascular en pacientes con SAHS.

Oxido nítrico

El NO producido por la enzima eNOS en el endotelio modula el flujo vascular y tiene importantes efectos antiaterogénicos en las plaquetas, células musculares lisas y células endoteliales. En humanos, la función endotelial mediada por NO es deficiente en estados prearterioscleróticos, y diversos estudios consideran que la disfunción endotelial es un predictor independiente de futuros episodios cardiovasculares¹³. Los mecanismos por los cuales se produce una menor disponibilidad de NO son múltiples. Por una parte, la producción de RLO rápidamente reacciona con el NO y contribuye a su déficit. Además, el ONOO⁻ formado por la reacción NO-superóxido tiene efectos nocivos sobre la función vascular a través de la oxidación de proteínas, lípidos y toxicidad celular. Por otra parte, la eNOS puede generar superóxido en vez de NO en determinadas circunstancias, como cuando existe un déficit del cofactor tetrahidrobiopterina o en respuesta a estímulos aterogénicos como la hiperglucemia o la hipercolesterolemia^{13,17}. Diversos estudios han demostrado una mejoría de la función endotelial tras la suplementación con tetrahidrobiopterina^{48,49}.

En varios estudios se han medido, en pacientes con SAHS, los productos estables derivados del NO y se han encontrado concentraciones circulantes disminuidas que aumentaban significativamente tras tratamiento con CPAP^{50,51}. También se han detectado cifras elevadas de

dimetilarginina asimétrica, un inhibidor de la síntesis de NO, lo que indicaría que en los pacientes con SAHS diversos mecanismos podrían contribuir a una menor disponibilidad de NO y a una mayor susceptibilidad a la disfunción endotelial⁵².

Xantina oxidasa

La xantina oxidasa cataliza la degradación de hipoxantina a ácido úrico junto a la liberación de RLO. Además, la xantina oxidasa unida a las células endoteliales puede utilizar NADH y mantener junto a la NADPH oxidasa la producción endotelial de O₂⁻. La principal evidencia que implica a la xantina oxidasa en la patogenia de la disfunción endotelial deriva de estudios en los que se ha observado una mejoría en la vasodilatación dependiente del endotelio tras la administración de oxopurinol y allopurinol.

En pacientes con SAHS Sahebjamí⁵³ observó que la excreción urinaria de ácido úrico se relacionaba significativamente con el índice de apnea-hipopnea y se normalizaba con el tratamiento con CPAP. Otros estudios también han detectado un aumento de los productos de degradación de las purinas en estos pacientes⁵⁴⁻⁵⁶. Estos resultados indican que la liberación conjunta de RLO que ocurre durante el metabolismo de estas moléculas es probable que contribuya al daño oxidativo relacionado con el SAHS.

Expresión de genes sensibles

La expresión de genes sensibles a un aumento de RLO se acompaña de una activación de factores de transcripción y vías de señalización relacionados con acontecimientos proaterogénicos. Estos factores de transcripción están influidos por el estado redox y la disponibilidad de oxígeno¹⁹. El factor 1 inducible por hipoxia regula la transcripción de genes que codifican proteínas que participan en respuestas adaptativas en situaciones de hipoxia, mientras que el factor nuclear κB y la proteína activadora 1 participan en la regulación de genes relacionados con la expresión de citocinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión que están implicados en respuestas inflamatorias y en la progresión de la arteriosclerosis⁵⁷⁻⁵⁹.

Los estudios que indican una activación de estos factores de transcripción en pacientes con SAHS son indirectos y derivados de la detección en plasma de concentraciones elevadas de proteínas codificadas por estos genes, como son el factor de crecimiento vascular endotelial, la endotelina 1, la eritropoyetina, el factor de necrosis tumoral alfa, las interleucinas 1 y 6, la molécula de adhesión intracelular 1, la molécula de adhesión celular vascular 1, la L-selectina y la E-selectina⁶⁰⁻⁶⁹. La producción y liberación de citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina 6 podría contribuir a una respuesta inflamatoria sistémica que, a su vez, parece estar relacionada con otro factor de riesgo cardiovascular muy prevalente en estos pacientes como es la obesidad⁷⁰⁻⁷³. Por otra parte, también existe evidencia de un aumento de la expresión de moléculas de ad-

hesión (CD15 y CD11) en monocitos aislados de pacientes con SAHS³⁹, lo que refuerza la hipótesis de la importancia funcional de este proceso en la patogenia de las complicaciones cardiovasculares del SAHS y la necesidad de profundizar en el estudio de los mecanismos moleculares implicados en estas alteraciones.

Conclusiones

Diversas líneas de estudio mantienen la hipótesis de que el estrés oxidativo es un importante mecanismo fisiopatológico en la enfermedad cardiovascular asociada al SAHS. Sin embargo, actualmente se desconoce cuáles son las principales fuentes celulares que contribuyen a un incremento de RLO en el SAHS. Un mayor conocimiento de estos mecanismos permitirá una intervención terapéutica más efectiva y una prevención del riesgo cardiovascular atribuible al estrés oxidativo en estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Hung J, Whitford EG, Parsons RW, Hillman DR. Association of sleep apnea with myocardial infarction in men. *Lancet*. 1990; 336:261-4.
- Shahar E, Whitney CW, Redline S, Lee ET, Newman AB, Nieto J, et al. Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:19-25.
- Peppard P, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *N Engl J Med*. 2000;342:1378-84.
- Young T, Peppard P. Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: epidemiological evidence for a relationship. *Sleep*. 2000;23 Suppl 4:122-6.
- Lavie L. Obstructive sleep apnoea syndrome: an oxidative stress disorder. *Sleep Med Rev*. 2003;7:35-51.
- Dean RT, Wilcox I. Possible atherogenic effects of hypoxia during obstructive sleep apnea. *Sleep*. 1993;16:15-22.
- Hedner JA, Wilcox I, Sullivan CE. Speculations on the interaction between vascular disease and obstructive sleep apnea. *Sleep and breathing*. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1994.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human diseases: an overview. *Methods Enzymol*. 1990;186:1-88.
- Elejalde JI. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An Med Interna*. 2001;18:326-35.
- Ballester M. Antioxidantes, radicales libres y salud. Un enfoque químico-orgánico-físico. *Med Clin (Barc)*. 1996;107:509-15.
- Griendling KK, Fitzgerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part II: animal and human studies. *Circulation*. 2003; 108:2034-40.
- Griendling KK, Fitzgerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: basic mechanisms and *in vivo* monitoring of ROS. *Circulation*. 2003;108:1912-6.
- Channon KM, Guzik TJ. Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol*. 2002;53:515-24.
- Umans JG, Levi R. Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure. *Annu Rev Physiol*. 1995;57:771-90.
- Irani K. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival: a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. *Circ Res*. 2000;87:179-83.
- Heinecke JW. Oxidative stress: new approaches to diagnosis and prognosis in atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 2003;91 Suppl:12A-6A.
- Fenster BE, Tsao PS, Rockson SG. Endothelial dysfunction: clinical strategies for treating oxidant stress. *Am Heart J*. 2003;146: 218-26.
- Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 2003;91 Suppl:7A-11A.

19. Kunsch C, Medford RM. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res.* 1999;85:753-66.
20. Guzik TJ, West NEJ, Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R, et al. Functional effect of the C242T polymorphism in the NADPH oxidase p22 phox subunit on vascular superoxide production in atherosclerosis. *Circulation.* 2000;102:1744-7.
21. Lawson JA, Rokach J, Fitzgerald GA. Isoprostanes: formation, analysis and use as indices of lipid peroxidation *in vivo*. *J Biol Chem.* 1999;274:24441-4.
22. Lorch S, Lightfoot R, Ohshima H, Virag L, Chen Q, Hertkom C, et al. Detection of peroxynitrite-induced protein and DNA modifications. *Methods Mol Biol.* 2002;196:247-75.
23. Roberts LJ, Morrow JD. Products of the isoprostane pathway: unique bioactive compounds and markers of lipid peroxidation. *Cell Mol Life Sci.* 2002;59:808-20.
24. Tsimikas S, Witztum JL. Measuring circulating oxidized low-density lipoprotein to evaluate coronary risk. *Circulation.* 2001;103:1930-2.
25. Davi G, Alessandrini P, Mezzetti A, Minotti G, Bucciarelli T, Costantini F, et al. *In vivo* formation of 8-epiisoprostaglandin F2 alpha is increased in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:3230-5.
26. Reilly MP, Pratico D, Delanty N, DiMinno G, Tremoli E, Rader D, et al. Increased formation of distinct F2 isoprostanes in hypercholesterolemia. *Circulation.* 1998;98:2822-8.
27. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers: smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med.* 1995;332:1198-203.
28. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, Fitzgerald GA. Modulation of oxidant stress *in vivo* in cigarette smokers. *Circulation.* 1996;94:19-25.
29. Davi G, Guagnano MT, Ciabattini G, Basili S, Falco A, Marinopicolli M, et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA.* 2002;288:2008-14.
30. Pratico D, Tangirala RK, Rader DJ. Vitamin E suppresses isoprostane generation *in vivo* and reduces atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Nat Med.* 1998;4:1189-92.
31. Nunes GL, Robinson K, Kalynych A, King SB, Sgoutas DS, Berk BC. Vitamins C and E inhibit O₂ production in the pig coronary artery. *Circulation.* 1997;96:3593-601.
32. Freyschuss A, Stiko-Rahm A, Swedenborg J, Henrikson P, Bjorkhem I, Berglurd L, et al. Antioxidant treatment inhibits the development of intimal thickening after balloon injury of the aorta in hypercholesterolemic rabbits. *J Clin Invest.* 1993;91:1282-8.
33. Weber C, Erl W, Weber K, Weber PC. Increased adhesiveness of isolated monocytes to endothelium is prevented by vitamin C intake in smokers. *Circulation.* 1996;93:1488-92.
34. Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Greager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1996;97:22-8.
35. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet.* 1996;347:781-6.
36. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients: the Heart Outcomes Prevention Evaluation Study investigators. *N Engl J Med.* 2000;342:154-60.
37. Prabhakar NR. Sleep apneas. An oxidative stress? *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:859-60.
38. Schulz R, Mahmoudi S, Hattar K, Sibelius U, Olschewski H, Mayer K, et al. Enhanced release of superoxide from polymorphonuclear neutrophils in obstructive sleep apnea. Impact of continuous positive airway pressure therapy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:566-70.
39. Dyugovskaya L, Lavie P, Lavie L. Increased adhesion molecules expression and production of reactive oxygen species in leukocytes of sleep apnea patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:934-9.
40. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherogenesis. *JAMA.* 1990;264:3047-52.
41. Wali SO, Bahammam AS, Massaeli H, Pierce GN, Iliskovic N, Singal PK, et al. Susceptibility of LDL to oxidative stress in obstructive sleep apnea. *Sleep.* 1998;21:290-6.
42. Barcelo A, Miralles C, Barbe F, Vila M, Pons S, Agustí AGN. Abnormal lipid peroxidation in patients with sleep apnea. *Eur Respir J.* 2000;16:644-7.
43. Lavie L, Vishnevsky A, Lavie P. Evidence for lipid peroxidation in obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2004;27:123-8.
44. Saarelainen S, Lehtimäki T, Jaakkola O, Poussa T, Nikkilä M, Solakivi T, et al. Autoantibodies against oxidised low-density lipoprotein in patients with obstructive sleep apnoea. *Clin Chem Lab Med.* 1999;37:517-20.
45. Mangoni AA, Jackson SH. Homocysteine and cardiovascular disease: current evidence and future prospects. *Am J Med.* 2002;112:556-65.
46. Clarke R, Stansbie D. Assessment of homocysteine as a cardiovascular risk factor in clinical practice. *Ann Clin Biochem.* 2001;38:624-32.
47. Lavie L, Perelman A, Lavie P. Plasma homocysteine levels in obstructive sleep apnea. association with cardiovascular morbidity. *Chest.* 2001;120:900-8.
48. Stroes E, Kastelein J, Cosentino F, Erkelens W, Wever R, Koomans H, et al. Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in hypercholesterolemia. *J Clin Invest.* 1997;99:41-6.
49. Heitzer T, Brockhoff C, Mayer B, Wamholtz A, Mollnan H, Henne S, et al. Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation in chronic smokers: evidence for a dysfunctional nitric oxide synthase. *Circ Res.* 2000;86:E36-E41.
50. Ip MSM, Lam B, Chan L-Y, Zheng L, Tsang KWT, Fung PCW, et al. Circulating nitric oxide is suppressed in obstructive sleep apnea and is reversed by nasal continuous positive airway pressure. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:2166-71.
51. Schulz R, Schmidt D, Blum A, Lopes-Ribeiro X, Lücke C, Mayer K, et al. Decreased plasma levels of nitric oxide derivatives in obstructive sleep apnoea: response to CPAP therapy. *Thorax.* 2000;55:1046-51.
52. Carlson J, Hedner J, Patterson A. Increased plasma concentration of ADMA, a naturally occurring nitric oxide synthesis inhibitor in OSA patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155:A869.
53. Sahebajani H. Changes in urinary uric acid excretion in obstructive sleep apnea before and after therapy with nasal continuous positive airway pressure. *Chest.* 1998;113:1604-8.
54. Findley LJ, Boykin M, Fallon T, Belardinelli L. Plasma adenosine and hypoxaemia in patients with sleep apnea. *J Appl Physiol.* 1988;64:556-61.
55. Hasday JD, Grum CM. Nocturnal increase of urinary uric acid: creatinine ratio. A biochemical correlate of sleep-associated hypoxaemia. *Am Rev Respir Dis.* 1987;135:534-8.
56. Braghiroli A, Sacco C, Erbetta M, Ruga V, Donner CF. Overnight urinary uric acid: creatinine ratio for detection of sleep hypoxaemia. Validation study in chronic obstructive pulmonary disease and obstructive sleep apnea before and after treatment with nasal continuous positive airway pressure. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148:173-8.
57. Semenza GL. Oxygen regulated transcription factors and their role in pulmonary disease. *Respir Res.* 2000;1:159-62.
58. Piacentini L, Karlner JS. Altered gene expression during hypoxia and reoxygenation of the heart. *Pharmacol Ther.* 1999;83:21-37.
59. Neubauer J. Physiological and genomic consequences of intermittent hypoxia. Invited review: physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol.* 2001;90:1593-9.
60. Lavie L, Kraiczi H, Hefetz A, Ghandour H, Perelman A, Hedner J, et al. Plasma vascular endothelial growth factor in sleep apnea syndrome. Effects of nasal continuous positive air pressure treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:1624-8.
61. Gozal D, Lipton AJ, Jones KL. Circulating vascular endothelial growth factor levels in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2002;25:59-65.
62. 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;98:1255-7.
63. Schulz R, Hummel C, Heinemann S, Seeger W, Grimminger F. Serum levels of vascular endothelial growth factor are elevated in patients with obstructive sleep apnea and severe nighttime hypoxia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:67-70.
64. Saarelainen S, Hasan J. Circulating endothelin-1 and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J.* 2000;16:794-5.
65. Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, Hopper K, Lotsikas A, Lin HM. Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1151-8.

66. Entzian P, Linnemann k, Schlaak M, Zabel P. Obstructive sleep apnea syndrome and circadian rhythms of hormones and cytokines. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;153:1080-6.
67. Chin K, Nakamura T, Shimizu K, Mishima M, Nakamura T, Miyasaka M, et al. Effects of nasal continuous positive airway pressure on soluble cell adhesion molecules in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Med.* 2000;109:562-7.
68. Ohga E, Nagase T, Tomita T, Teramoto S, Matsuse T, Katayama H, et al. Increased levels of circulating ICAM-I, VCAM-I, and L-selectin in obstructive sleep apnea syndrome. *J Appl Physiol.* 1999;87:10-4.
69. El-Solh AA, Mador MJ, Sikka P, Dhillon RS, Amsterdam D, Grant BJ. Adhesion molecules in patients with coronary artery disease and moderate-to severe obstructive sleep apnea. *Chest.* 2002;121:1541-7.
70. Yokoe T, Minoguchi K, Matsuo H, Oda N, Minoguchi H, Yoshino G, et al. Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure. *Circulation.* 2003;107:1129-34.
71. Shamsuzzaman ASM, Winnicki M, Lanfranchi P, Wolk R, Kara T, Accurso V, et al. Elevated C-reactive protein in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation.* 2002;105:2462-4.
72. Barceló A, Barbé F, Llompert E, Mayorals 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;117:118-21.
73. Barceló A, Barbé F. Las citocinas en la patogenia del síndrome de apneas/hipopneas del sueño. *Trastornos respiratorios del sueño. Monografía de la Sociedad Madrileña de Neumología y Cirugía Torácica.* Madrid: Ergón; 2004. p. 149-16.