



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Efectos del envejecimiento en las alteraciones neurocognitivas en la apnea obstructiva del sueño: mecanismos y tratamiento con CPAP

Mireia Dalmases Cleries

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

EFFECTO DEL ENVEJECIMIENTO EN LAS
ALTERACIONES NEUROCOGNITIVAS
EN LA APNEA OBSTRUCTIVA
DEL SUEÑO: MECANISMOS Y
TRATAMIENTO CON CPAP

TESIS PRESENTADA POR
MIREIA DALMASES CLERIES

TESIS CODIRIGIDA POR
DR. JOSEP M. MONTSERRAT CANAL
DR. RAMON FARRÉ VENTURA

PROGRAMA DE DOCTORADO MEDICINA
UNIVERSITAT DE BARCELONA 2016



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

EFECTO DEL ENVEJECIMIENTO EN LAS ALTERACIONES NEUROCOGNITIVAS EN LA APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO: MECANISMOS Y TRATAMIENTO CON CPAP

Tesis presentada por

Mireia Dalmases Cleries

Para obtener el título de doctora por la Universidad de Barcelona

Codirigida por:

Dr. Josep M. Montserrat Canal

Dr. Ramon Farré Ventura

Programa de doctorado Medicina

Universitat de Barcelona

2016

A mis padres, Jaume y Maria.

A mi hermana, Eva.

A Andreu.

A toda mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Para comenzar me gustaría agradecer la ayuda a todas las personas que han hecho realidad estos trabajos. Probablemente no sea posible hacerlo como se merecerían ni incluir a todos, pero es una oportunidad para agradecer otra vez la colaboración y ayuda recibida.

En primer lugar me gustaría agradecer a mis directores de tesis, el Dr. Montserrat y el Dr. Farré, que me dieran la oportunidad de poder iniciarme en la investigación en apnea del sueño. Merci per compartir amb mi els vostres coneixements, idees i creativitat, però sobretot gràcies per la confiança i per tot el que he après al vostre costat. Ha sigut molt enriquidor i he disfrutat molt treballant amb vosaltres. M'heu transmés la passió per un món en el que m'agradaria continuar treballant més enllà d'aquesta tesis.

Durante la realización de esta tesis he podido trabajar con personas de distintos ámbitos y aprender de todas ellas. Por un lado, el personal de la Unidad de Biofísica y Bioingeniería. Muchas gracias a todos, especialmente a Isaac y a Marta. Isaac, gracias por animarme a iniciarme en este campo, por tu ayuda y por intentar, sin éxito, que mejorase mi acento almeriense. Marta, hem passat moltes hores plegades i has estat una excepcional mestra en experimentació animal i companya en tot moment. Vull agrair-te la ajuda, però sobretot la generositat. Ha estat un gran plaer treballar amb tu.

Por otro lado, quiero agradecer a todo el personal de la Unidad del Sueño y el Hospital de Día de Neumología su colaboración y el buen ambiente de trabajo, agradable y divertido, que hace que todo sea más sencillo. En especial, gracias a Cristina y Arturo: Merci per les estones compartides, pels bons consells i per ser, quan calia, encara més tossuts que jo. Us estic molt agraïda.

Quería también dar las gracias a todos los maestros que han contribuido a mi formación como neumóloga y a los compañeros que en más de una ocasión han hecho de maestros, en especial a mis amigos, amigas y compañeras de residencia. Gràcies per tots els bons moments que han fet que la meva estada aquí hagi estat inoblidable. No deixeu que es perdi l'essència. Espero que ben aviat defenseu les vostres tesis. Gracias también a mis nuevos compañeros de trabajo por hacer que la adaptación fuese más fácil.

Agradecer también a todos los coautores su colaboración, en especial a David y Cristina del Departamento de Psiquiatría y Psicobiología Clínica, así como a todos los pacientes que de forma desinteresada participaron en este estudio.

Finalmente, me gustaría dar las gracias de una forma muy especial a mi familia. A mis padres: moltíssimes gracies per tot el que m'heu donat i per fer posible que aquest somni d'estudiar Medicina pugués fer-se realitat. Crec que mai us podré tornar el que he rebut. Sense el vostre esforç aquesta tesis mai hagués estat possible. Eva, gràcies pel teu sentit de l'humor que tant em fa riure, per ser tan pragmàtica i per la fe cega depositada en mí, sovint no justificada. Andreu, la teva paciència, comprensió i suport durant aquests anys han estat indispensables. Gràcies per cada dia i per ser-hi sempre.

Gràcies a tots els que m'han ajudat en el transcurs d'aquesta tesis i merci pels moments viscuts durant aquests anys, que van molt més enllà d'unes paraules en paper. Moltes gràcies.

ESTA TESIS SE BASA EN LOS SIGUIENTES ARTÍCULOS:

1. **Dalmases M**, Torres M, Márquez-Kisinousky L, Almendros I, Planas AM, Embid C, Martínez-García MA, Navajas D, Farré R, Montserrat JM. Brain tissue hypoxia and oxidative stress induced by obstructive apneas is different in young and aged rats. *Sleep*. 2014; 37(7):1249-56. Factor de impacto: 5.062 (2013). Primer cuartil ISI.

Editorial glosando el artículo: *Sleep*. 2014; 37(7):1161-2.

2. **Dalmases M**, Solé-Padullés C, Torres M, Embid C, Nuñez MD, Martínez-García MA, Farré R, Bargalló N, Bartrés-Faz D, Montserrat JM. Effect of CPAP on Cognition, Brain Function and Structure among Elderly Patients with Obstructive Sleep Apnea: a Randomized Pilot Study. *Chest*. 2015; 148(5):1214-23. Factor de impacto: 7.483 (2014). Primer decil ISI.

ÍNDICE

1.	GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	17
2.	INTRODUCCIÓN.....	21
2.1.	SÍNDROME DE APNEAS-HIPOPNEAS DEL SUEÑO.....	23
2.1.1.	Definición, epidemiología y patogénesis.....	23
2.1.2.	Clínica.....	23
2.1.3.	Consecuencias fisiológicas y patología clínica asociada.....	24
2.1.4.	Diagnóstico.....	24
2.1.5.	Consecuencias.....	25
2.1.6.	Tratamiento.....	26
2.2.	EL SÍNDROME DE APNEAS-HIPOPNEAS DEL SUEÑO EN LA EDAD AVANZADA.....	28
2.2.1.	Prevalencia.....	28
2.2.2.	Fisiopatología.....	28
2.2.3.	Presentación clínica.....	28
2.2.4.	Diagnóstico.....	29
2.2.5.	Consecuencias.....	29
2.2.6.	Tratamiento.....	31
2.2.7.	Comparación de las características del SAHS por grupos de edad.....	32
2.3.	DETERIORO COGNITIVO EN EL ANCIANO CON SAHS.....	33
2.3.1.	Afectación.....	33
2.3.2.	Influencia de la edad.....	33
2.3.3.	Tratamiento.....	33
2.4.	MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DE AFECTACIÓN COGNITIVA.....	34
2.4.1.	Hipoxia intermitente: inflamación y estrés oxidativo.....	34
2.4.2.	Disfunción endotelial, hipertensión y perfusión cerebral.....	34
2.4.3.	Homeostasis de la glucosa y obesidad.....	35
2.4.4.	Fragmentación del sueño.....	35
2.4.5.	Otras variables.....	35
2.5.	TÉCNICAS DE NEUROIMAGEN PARA EVALUAR LAS ALTERACIONES CEREBRALES INDUCIDAS POR EL SAHS.....	36
2.5.1.	Estudios estructurales.....	37
2.5.2.	Estudios funcionales.....	38
2.6.	CONTEXTO DE ESTA TESIS DOCTORAL.....	38
3.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	41

4. BRAIN TISSUE HYPOXIA AND OXIDATIVE STRESS INDUCED BY OBSTRUCTIVE APNEAS IS DIFFERENT IN YOUNG AND AGED RATS.	45
5. EFFECT OF CPAP ON COGNITION, BRAIN FUNCTION AND STRUCTURE AMONG ELDERLY PATIENTS WITH OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA: A RANDOMIZED PILOT STUDY.....	55
6. DISCUSIÓN.....	71
7. CONCLUSIONES	81
8. REFERENCIAS.....	85
9. CONTRIBUCIÓN A OTROS PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.....	97

1. GLOSARIO DE ABREVIATURAS

- BOLD: Blood-oxygen level dependent
- CPAP: Presión positiva continua en vía aérea
- DAM: Dispositivo de avance mandibular
- DMN: Default mode network (en español, red neuronal por defecto)
- HAD: Hospital Anxiety and Depression
- HIF-1: Factor inducible por hipoxia
- IAH: Índice de apneas-hipopneas
- IMC: Índice de masa corporal
- NF- κ B: Factor nuclear κ B
- PCO₂: Presión parcial de dióxido de carbono
- PET: Tomografía de emisión de positrones
- PO₂: Presión parcial de oxígeno
- PR: Poligrafía respiratoria
- PSG: Polisomnografía convencional
- PtO₂: Presión parcial de oxígeno tisular
- QSQ: Quebec Sleep Questionnaire
- RMf: Resonancia magnética funcional
- SAHS: Síndrome de apneas e hipopneas del sueño
- TPN: Task positive network (en español, red relacionada con la tarea)
- VAS: Vía aérea superior
- VBM: Voxel-Based Morphometry

2. INTRODUCCIÓN

2.1. SÍNDROME DE APNEAS-HIPOPNEAS DEL SUEÑO

2.1.1. Definición, epidemiología y patogénesis

El síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS) se caracteriza por episodios repetidos de colapso completo o parcial de la vía aérea superior (VAS) durante el sueño dando lugar a apneas e hipopneas, respectivamente. Esta entidad presenta una elevada prevalencia, entre un 6-13% en población general de mediana edad (1), pudiendo ser creciente en los próximos años en relación con el aumento de sobrepeso y obesidad a nivel mundial.

El mecanismo por el que se produce el colapso de la VAS no está bien definido y probablemente es multifactorial. A grandes rasgos, intervienen factores que tienden a mantener permeable la VAS (musculatura dilatadora de la faringe, en especial el músculo geniogloso) y factores que favorecen la reducción en su diámetro, ya sea por causa anatómica (anomalías maxilofaciales, excesivos tejidos blandos en cavidad oral o en región faríngea, edema) o funcional (aumento del umbral de despertar, inestabilidad del centro respiratorio y alteraciones neuromusculares o en los reflejos protectores de la VAS). Cuando se produce un desequilibrio a favor de los factores que favorecen el cierre, aumenta la colapsabilidad de la VAS y se producen episodios recurrentes de colapso de la misma durante el sueño (2).

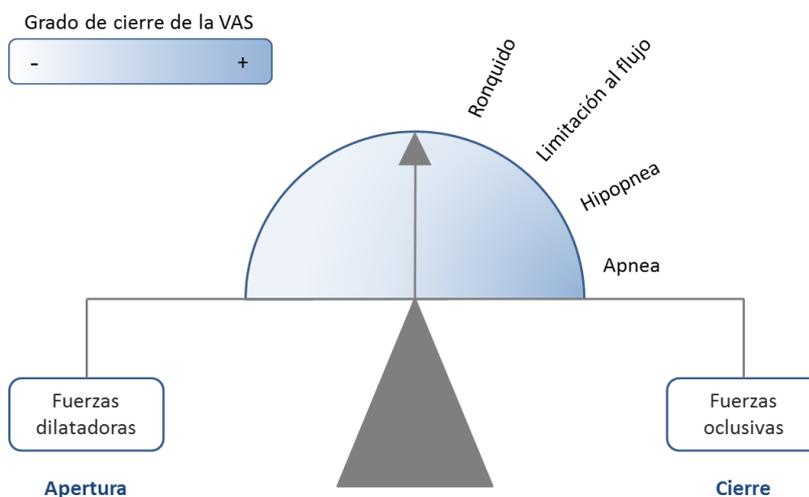


Figura 1. Balance de fuerzas en la VAS y diferentes situaciones según el grado de desequilibrio. Modificado de Montserrat et al. (3)

2.1.2. Clínica

Los pacientes con SAHS presentan una sintomatología característica, diurna y nocturna. Entre los síntomas nocturnos se encuentran el ronquido, las apneas observadas, crisis asfícticas, despertares frecuentes, nocturia o reflujo gastroesofágico. Los síntomas diurnos son somnolencia, cansancio, sueño no reparador, cefalea matutina, irritabilidad o apatía, dificultad para concentrarse, pérdida de memoria e incluso disminución de la libido.

Esta sintomatología deteriora la calidad de vida del paciente además de ser un factor que conlleva un mayor riesgo de accidentes domésticos, laborales e incluso de tráfico (4).

2.1.3. Consecuencias fisiológicas y patología clínica asociada

Tal y como se muestra en la figura 2, los eventos respiratorios dan lugar a ciclos repetidos de hipoxia e hipercapnia intermitente, mayor presión intratorácica negativa y microdespertares, que a su vez provocan la activación del sistema nervioso simpático y de factores de transcripción (HIF-1 y NF- κ B) e inducen cambios hemodinámicos. Esta respuesta fisiológica desencadena una respuesta biológica compleja e intensa en que la inflamación, la generación de estrés oxidativo, la angiogénesis y la disfunción endotelial son los mecanismos intermedios fundamentales para explicar la asociación del SAHS con muchas de sus comorbilidades. La intensidad de dichos cambios biológicos y la presencia o ausencia de mecanismos adaptativos adecuados, determinará la presentación clínica, consecuencias y comorbilidades asociadas al SAHS.

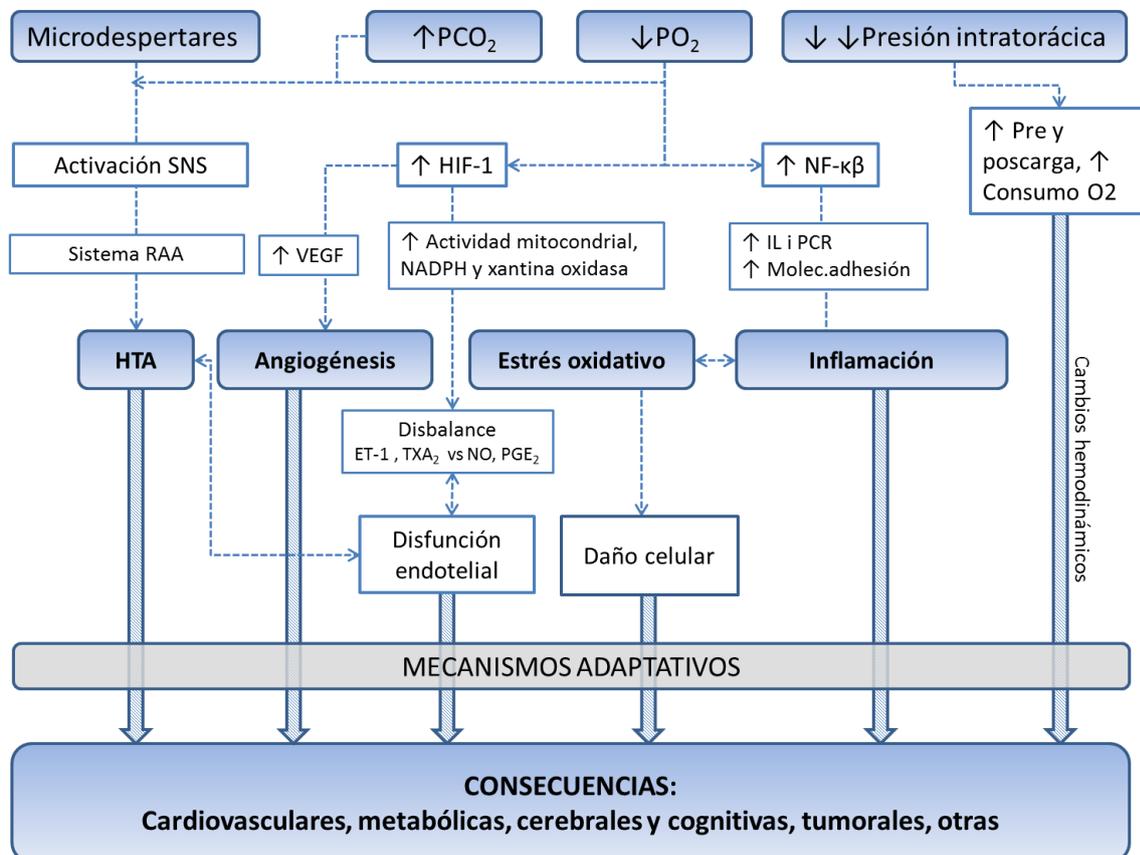


Figura 2. Resumen de los mecanismos fisiopatogénicos implicados, principales respuestas sistémicas, mecanismos intermedios y consecuencias asociadas al SAHS. Abreviaturas: SNS: sistema nervioso simpático, RAA: renina angiotensina aldosterona, HTA: hipertensión arterial, ET-1: endotelina-1, TXA₂: tromboxano A₂, NO: Óxido nítrico, PGE₂: prostaglandina E₂, NADPH: Nicotinamida- Adenina- Dinucleótido- Fosfato reducida, O₂: oxígeno, PCR: proteína C reactiva, VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular.

2.1.4. Diagnóstico

La polisomnografía convencional (PSG) es el método diagnóstico de referencia (5). Consiste en un registro continuo de variables neurológicas (electroencefalograma, electrooculograma, electromiograma), cardíacas (electrocardiograma), respiratorias (flujo respiratorio, saturación

arterial de oxígeno, esfuerzo torácico y abdominal, ronquido) y posición corporal. Es cara y técnicamente compleja, por lo que se han desarrollado pruebas diagnósticas más sencillas como la poligrafía respiratoria, en que únicamente se recogen variables respiratorias. Actualmente se acepta que puede realizarse, habitualmente en domicilio, en pacientes con sospecha clínica de SAHS moderada o alta, sin comorbilidades importantes asociadas ni sospecha de otros trastornos del sueño (6).

Una vez obtenido el registro, se procede a la codificación o recuento del número de eventos respiratorios obteniendo el índice de apneas-hipopneas (IAH) por hora de sueño (horas de cama si se utiliza poligrafía respiratoria). El diagnóstico se establece ante la presencia de un IAH > 5/hora y síntomas clínicos asociados. Según su gravedad, el SAHS se clasifica en tres grupos: leve (IAH entre 5-15/h), moderado (IAH entre 15-29/h) y grave (IAH \geq 30/h).



Figura 3. Ejemplo de registro polisomnográfico. Arriba, variables neurológicas (electrooculograma, electroencefalograma, electromiograma submentoniano) y electrocardiograma. Abajo, variables respiratorias: flujo respiratorio nasal y nasobucal, movimiento torácico y abdominal y saturación arterial de oxígeno. Puede observarse que los eventos respiratorios, en este caso hipopneas, se acompañan de desaturación y en algunos casos de microdespertares.

2.1.5. Consecuencias

El SAHS, tal y como se ha comentado anteriormente, induce una serie de cambios fisiológicos que activan mecanismos intermedios que provocan una cascada biológica produciendo efectos sistémicos en diferentes órganos y sistemas. A continuación se hace un breve resumen de las consecuencias del SAHS en pacientes de mediana edad a nivel cardiovascular, cerebrovascular y cognitivo entre otros, para posteriormente centrarse en los pacientes de edad avanzada (sección 2.2).

2.1.5.1. Morbilidad y mortalidad cardiovascular

El SAHS se ha asociado a un aumento de morbilidad y mortalidad cardiovascular. Así, múltiples estudios han concluido que padecer SAHS es un factor de riesgo independiente para tener

hipertensión arterial (7,8) y presentar un patrón tensional nocturno non-dipper (9). Además, se ha descrito que el SAHS puede asociarse a un mayor riesgo de eventos cardiovasculares fatales y no fatales (10), insuficiencia cardíaca (11), cardiopatía isquémica (12), arritmias (13) y muerte súbita (14).

La evidencia obtenida de estudios con base poblacional o cohortes clínicas sugiere que el SAHS grave se asocia a un aumento de mortalidad (15,16), siendo producida principalmente por causa cardiovascular.

2.1.5.2. Enfermedad cerebrovascular

La literatura existente indica que el SAHS es un factor de riesgo para ictus (17) y un reciente metanálisis muestra que a medida que aumenta el IAH lo hace también el riesgo de padecer un evento cerebrovascular (18). Hay que tener presente, que dado que la mayor incidencia de enfermedad cerebrovascular se produce a partir de la sexta década de la vida, en estos estudios se incluyen con frecuencia pacientes de mediana edad pero también pacientes ancianos, motivo por el que la evidencia existente se comentará con mayor detalle más adelante (sección 2.2.5.3).

2.1.5.3. Deterioro cognitivo

El SAHS ha sido relacionado con efectos negativos a nivel cognitivo tanto en estudios experimentales como clínicos en pacientes de mediana edad. Los estudios en modelos animales han relacionado la presencia de deterioro cognitivo con estrés oxidativo cerebral y muerte neuronal (19). Los estudios clínicos han permitido determinar que los déficits cognitivos más frecuentes se encuentran en los dominios de atención y funciones ejecutivas, mientras que los efectos observados en memoria han sido menores (20). Además, en la última década, el uso de técnicas de neuroimagen ha permitido correlacionar dichos déficits con anomalías estructurales y funcionales cerebrales específicas.

2.1.5.4. Otras

El SAHS se ha relacionado con mayor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 y síndrome metabólico (21). Recientemente se ha asociado también a patología ocular (22), enfermedad renal crónica (23), ciertas hepatopatías (24) y cáncer (25).

2.1.6. Tratamiento

Las opciones terapéuticas de que se dispone en la actualidad se engloban en cuatro grandes grupos: 1) Tratamiento conservador (medidas higiénico-dietéticas y posturales), 2) Presión positiva continua en vía aérea (CPAP), 3) Dispositivos de avance mandibular (DAM) y 4) Cirugía (maxilofacial, otorrinolaringológica o bariátrica). Las dos primeras opciones constituyen los pilares fundamentales del tratamiento, mientras que las opciones 3 y 4 tienen unas indicaciones más limitadas; útiles en casos seleccionados. Así, los DAM han demostrado ser eficaces en pacientes con SAHS leve-moderado y bajo índice de masa corporal (IMC). Los tratamientos quirúrgicos se reservan para casos con anomalías craneofaciales específicas y la cirugía bariátrica para grandes obesos.

A continuación, se comentan brevemente las recomendaciones en las dos principales opciones terapéuticas.

Medidas higiénico-dietéticas y posturales: Consisten en dormir horas suficientes, mantener un horario regular de sueño, realizar ejercicio físico, abstinencia de alcohol y tabaco y evitar fármacos que puedan afectar el control ventilatorio o el tono de la VAS (hipnóticos, opiáceos, benzodiazepinas). Se recomienda también perder peso si $IMC >25 \text{ kg/m}^2$, evitar dormir en decúbito supino y tratar el reflujo gastroesofágico si procede.

CPAP: El equipo de CPAP proporciona un flujo de aire constante a presión positiva que evita el colapso de la vía aérea superior y por lo tanto corrige los eventos obstructivos, mejora la clínica y potencialmente mejora/evita la aparición de patología asociada. Es importante destacar que precisa de una titulación para determinar la presión óptima de tratamiento que puede realizarse mediante PSG o un equipo de CPAP automática (26).

La elección de una opción terapéutica u otra dependerá de la gravedad del SAHS, de la sintomatología (valorándose principalmente somnolencia diurna) y la presencia o no de comorbilidades asociadas. La figura 4 recoge de forma esquemática las principales indicaciones de tratamiento. Es importante destacar que para conseguir un correcto cumplimiento es esencial la información y participación del paciente en la elección de la terapia.

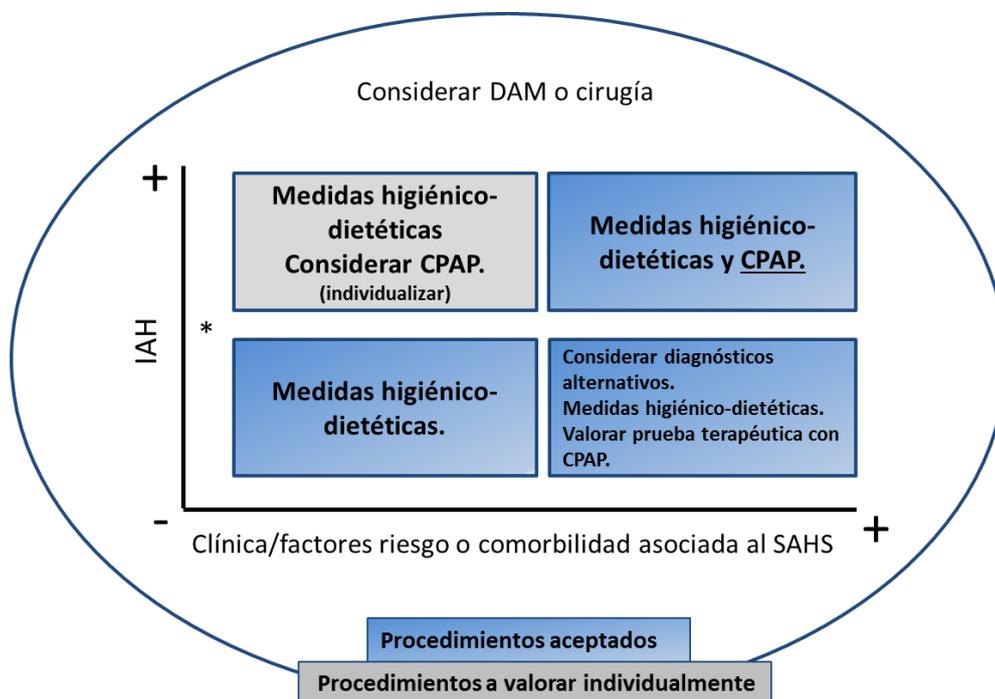


Figura 4. Resumen de las indicaciones de las principales opciones terapéuticas según gravedad, sintomatología y comorbilidad asociada. El * representa el punto de corte para un $IAH \geq 30$, por encima del cual se suele recomendar el tratamiento con CPAP. Las indicaciones no están claras en sujetos ancianos sin clínica ni patología asociada. En pacientes con IAH entre 5-29, la recomendación terapéutica dependerá de la presencia o no de síntomas y/o de la comorbilidad asociada (4).

2.2. EL SÍNDROME DE APNEAS-HIPOPNEAS DEL SUEÑO EN LA EDAD AVANZADA

2.2.1. Prevalencia

La pirámide poblacional está cambiando debido a una mayor longevidad y por lo tanto nos encontramos con una población cada vez más envejecida (se prevé que en las próximas décadas un 17-20% de la población será mayor de 80 años) y, lo que es más importante, con menores limitaciones funcionales (27). Además, el número de eventos respiratorios durante el sueño aumenta con la edad (28); presentando un 43% de los hombres de entre 50-70 años más de 5 eventos por hora y un 18% más de 15. Si además tenemos en cuenta la presencia de síntomas, en este caso somnolencia (Puntuación en la Escala de Epworth > 10), las prevalencias son del 18% y el 7%, respectivamente para los IAH indicados (1). Incluso, un estudio epidemiológico posterior describía que hasta un 32% de los sujetos mayores de 60 años padecía SAHS moderado-grave (IAH > 15)(29).

La distribución por género también varía con la edad, así mientras que en edades medias la prevalencia en hombres es el doble que en mujeres (29,30), después de la menopausia estas diferencias disminuyen.

Por otro lado, hay que tener presente que actualmente más de un 24% de los estudios realizados en las unidades de sueño españolas corresponde a individuos mayores de 65 años (31). Por lo tanto, nos encontramos ante una enfermedad con elevada prevalencia y demanda asistencial en la edad avanzada pero sin embargo, con escaso conocimiento de la misma en este grupo poblacional y que sin duda supone un reto de primera magnitud.

2.2.2. Fisiopatología

La vía aérea superior soporta presiones negativas menores con el paso de los años y por lo tanto es más colapsable (32), hecho que podría explicar este incremento en el número de trastornos respiratorios durante el sueño a medida que aumenta la edad. Entre los factores que podrían ocasionar esta mayor colapsabilidad se han propuesto factores anatómicos (33) (mayor depósito de grasa en VAS y pérdida de piezas dentarias), neuromusculares (34) (disfunción muscular faríngea) y neuroventilatorios (35) (mayor inestabilidad respiratoria por presentar mayor tiempo en fase I y II). También se ha descrito que factores hormonales o la presencia de comorbilidades asociadas podrían favorecer el cierre de la VAS (ictus, edemas en extremidades inferiores e insuficiencia cardíaca, etc). Sin embargo, ninguna de las causas propuestas presenta una evidencia científica robusta y posiblemente el grado final de colapso depende de la interacción de varios de estos factores; pudiendo ser las causas anatómicas más relevantes que las funcionales en pacientes de edad avanzada (36).

2.2.3. Presentación clínica

La presentación clínica típica del SAHS puede existir en la edad avanzada. Sin embargo, a diferencia del paciente de mediana edad en el que el ronquido y/o la presencia de apneas observadas suelen ser quejas frecuentes, esto es menos común en el anciano, posiblemente por la ausencia o avanzada edad del compañero de cama que puede contribuir a que se preste

menos atención a estos síntomas guía. Además, la hipersomnia en la senectud es menos específica y en ocasiones es percibida como propia de la edad. Todo ello hace que, en general, la presentación clínica del SAHS en el anciano sea más paucisintomática (37). No obstante, hay que tener presente que en el anciano el SAHS puede presentarse con síntomas no típicamente atribuidos al mismo como son la nocturia (38) o el deterioro funcional con caídas frecuentes (39). Por lo cual, estos aspectos tienen que tenerse en cuenta y ser correctamente evaluados en la entrevista clínica. En cuanto a la exploración física, la obesidad y las variables antropométricas parecen tener un valor predictivo menor en el anciano (28).

2.2.4. Diagnóstico

Las técnicas diagnósticas usadas en el paciente anciano son las mismas que en población de mediana edad. Sin embargo, el uso de poligrafía respiratoria queda más restringido en este grupo poblacional debido a la mayor frecuencia de patología asociada, otros trastornos del sueño (39) (ej. insomnio, síndrome de piernas inquietas) y factores que pueden modificar el tiempo total o la arquitectura del sueño (cambios fisiológicos del sueño o toma de psicotropos).

Un aspecto controvertido en el diagnóstico, dado el elevado número de trastornos respiratorios observados en ancianos, es establecer cuál es el punto de corte en el IAH para este grupo poblacional. Este punto de corte debería permitir discernir entre los eventos respiratorios propios de la edad, y, por lo tanto, en cierta medida fisiológicos, y aquellos que acarrearán consecuencias dañinas para el paciente. En este sentido Bliwise et al. (40) sugirió un modelo heurístico de SAHS. Por una parte existiría el SAHS de aparición en edades medias y que debería considerarse patológico. Por otra, el SAHS dependiente de la edad que estaría en relación con el aumento de trastornos respiratorios del sueño asociado al envejecimiento y que podría no ser tan dañino. Sin embargo, a pesar de que este hecho ha sido fuente de discusión en los últimos años, no se dispone de criterios diagnósticos específicos para este grupo poblacional. Tampoco se conocen con exactitud las consecuencias del SAHS en la edad avanzada, aspecto fundamental para determinar el impacto e importancia pronóstica de esta entidad.

2.2.5. Consecuencias

Dada la elevada prevalencia de apneas del sueño en ancianos, conocer si el SAHS en la edad avanzada se asocia o no a un aumento de morbimortalidad, tal y como sea descrito en pacientes más jóvenes, es de especial trascendencia. Esto podría tener importantes implicaciones diagnósticas y terapéuticas que podrían cambiar la práctica clínica, ya que actualmente se siguen las mismas recomendaciones que en pacientes de mediana edad. A continuación se repasa la evidencia existente respecto a la mortalidad y morbilidad inducida por el SAHS en la edad avanzada.

2.2.5.1. Mortalidad

Existen escasos estudios en los que se evalúe la mortalidad del SAHS específicamente en la edad avanzada y los resultados son dispares. Mientras algunos autores no han encontrado asociación entre apnea obstructiva del sueño y mortalidad en ancianos (41,42), otros sí lo han hecho (43,44). Además, algunos estudios han señalado la enfermedad cerebrovascular, la

insuficiencia cardíaca y la diabetes como principales causas de mortalidad en estos pacientes, con una reducción e incluso desaparición del exceso de mortalidad con el tratamiento con CPAP (44,45).

Si nos fijamos en los grandes estudios sobre mortalidad que no excluyen sujetos mayores de 65 años, el de mayor impacto es el de Lavie et al. (15). En este estudio los autores concluyeron que padecer SAHS grave se asociaba a un exceso de mortalidad en pacientes menores de 50 años, pero sin embargo, éste no se observaba en pacientes de mayor edad. Estos resultados fueron replicados posteriormente, con otros estudios que concluían que el exceso de mortalidad existía únicamente en aquellos pacientes más jóvenes (46). Incluso se describió que sujetos ancianos con SAHS moderado presentaban menor mortalidad de la esperada en población general de la misma edad; hecho que los autores atribuyeron a la presencia de mecanismos adaptativos (47).

Sin embargo, no se puede descartar que las diferencias en mortalidad puedan explicarse por limitaciones metodológicas de estos estudios o por un cierto efecto supervivencia en los pacientes con SAHS que llegan a edades avanzadas.

2.2.5.2. *Morbilidad cardiovascular*

A diferencia de en pacientes de mediana edad, existe escasa evidencia que relacione el SAHS en la edad avanzada con enfermedad cardiovascular y en los pocos estudios realizados exclusivamente en ancianos los resultados son contradictorios. El SAHS ha sido relacionado con disfunción endotelial (48), extrasístolia ventricular (49) e hipertensión (50) en algunos estudios, mientras que otros no encuentran asociación con enfermedad cardiovascular (42) (51). Incluso un estudio en modelo animal ha propuesto que podría existir cierta resistencia a los efectos del estrés oxidativo a nivel del tejido miocárdico en animales viejos (52).

Por otro lado, hay que tener en cuenta que un porcentaje no despreciable de los pacientes incluidos en los grandes estudios que muestran la relación del SAHS con hipertensión y eventos cardiovasculares son mayores de 60 años (7,10). Cabe destacar que en algunos estudios la asociación parece ser mayor en pacientes de menor edad (53,54).

Por lo tanto, en este sentido la literatura existente sugiere que el SAHS podría inducir menores consecuencias cardiovasculares que en pacientes más jóvenes, no obstante, de nuevo la evidencia es escasa y no concluyente.

2.2.5.3. *Morbilidad cerebrovascular*

Dada la creciente incidencia de ictus a medida que avanza la edad, se dispone de mayor evidencia científica sobre SAHS en la vejez y enfermedad cerebrovascular. Estudios clínicos sugieren una relación bidireccional entre enfermedad cerebrovascular y SAHS; de tal manera que padecer un ictus haría más frecuente la presencia de trastornos respiratorios durante el sueño (55) y tener un SAHS podría influir en el riesgo y evolución de la enfermedad vascular cerebral (56). El SAHS se ha asociado a mayor prevalencia de infartos lacunares o silentes (57) y se ha identificado como un factor de riesgo para ictus en pacientes ancianos (17,58) pudiendo afectar a la extensión y al pronóstico del mismo.

Sin embargo, cuando miramos cuál es el efecto del tratamiento con CPAP en pacientes con ictus y SAHS, los resultados no son tan claros. La mayoría de estudios señalan mejorías en la recuperación funcional y menor recurrencia de eventos, pero los resultados referentes a mortalidad son dispares. Así, algunos estudios observacionales han mostrado menor recurrencia y muerte en pacientes con buen cumplimiento de CPAP (44,59), mientras que estudios aleatorizados, a pesar de observar una recuperación neurológica más rápida y menores recurrencias, no han observado diferencias significativas en mortalidad (60).

La disparidad en los resultados podría explicarse por limitaciones en el diseño de los estudios. Es decir, los pacientes no cumplidores podrían ser aquellos con ictus más graves o con mayor comorbilidad asociada en los estudios observacionales. Por otro lado, otro aspecto importante son las diferencias en el tiempo de seguimiento (menor en el estudio aleatorizado) que tal vez pudiese comprometer el detectar diferencias en mortalidad.

2.2.5.4. Morbilidad neurocognitiva

Los efectos inducidos por el SAHS sobre funciones cognitivas en el anciano han sido motivo de interés en los últimos años dado el aumento de prevalencia de apneas del sueño y deterioro cognitivo a medida que aumenta la edad. Algunos estudios sugieren que el SAHS podría favorecer o agravar el deterioro cognitivo y la demencia e incluso algunos autores han documentado mejorías cognitivas con el tratamiento con CPAP en estos pacientes. Sin embargo, existe poca evidencia sobre las consecuencias cognitivas y efectos del tratamiento con CPAP en pacientes ancianos con función cognitiva global conservada y los resultados son en ocasiones contradictorios. Dado que esta tesis se centrará en evaluar las consecuencias cognitivas en pacientes ancianos, la evidencia existente se detallará más extensamente en secciones posteriores (sección 2.3).

2.2.6. Tratamiento

La evidencia científica disponible sobre los efectos del tratamiento con CPAP en pacientes ancianos es nuevamente escasa. Hasta hace muy poco provenía únicamente de estudios observacionales (comentados brevemente en cada uno de los apartados anteriores) o de pequeños estudios controlados en pacientes con patología previa notoria (por ejemplo: Enfermedad de Alzheimer) y, por lo tanto, poco representativos del perfil habitual de pacientes visitados en las unidades del sueño.

No obstante, durante el desarrollo de la presente tesis, se han publicado dos grandes ensayos clínicos aleatorizados realizados en pacientes ancianos con SAHS. El primero, el PREDICT trial (61) que concluyó que el tratamiento con CPAP reducía de forma significativa la somnolencia y era discretamente más coste-efectivo que el tratamiento conservador. Sin embargo, no se observaron diferencias en estado de ánimo, función cognitiva ni eventos cardiovasculares; aunque hay que destacar la baja adherencia y cumplimiento en este estudio (<2horas). Posteriormente, un estudio del grupo español de sueño (62) mostraba que el tratamiento con CPAP es efectivo para mejorar síntomas y calidad de vida, así como ansiedad-depresión y algunos aspectos cognitivos (funciones ejecutivas) en pacientes con un correcto cumplimiento de la terapia.

2.2.7. Comparación de las características del SAHS por grupos de edad

Repasada la evidencia disponible en pacientes adultos y ancianos, a continuación se adjunta una tabla comparativa resumen de las principales características del SAHS en ambos grupos de edad. Los datos se presentan de manera simplificada para facilitar su lectura y comprensión. Si bien, hay que tener en cuenta que en ocasiones la evidencia científica no es del todo concluyente, sobretodo referente a la morbi-mortalidad asociada al SAHS y a los efectos del tratamiento. Se indica, entre paréntesis, el grado de recomendación basado en el nivel de evidencia de los estudios disponibles según la escala del *Centre for Evidence-based Medicine de Oxford (CEBM)*.

Tabla 1. Comparativa de las características del SAHS por grupos de edad		
	Edad adulta	Anciano
Prevalencia (29)	IAH \geq 15: 13-25%	Aumenta con la edad IAH \geq 15: 22-35%
Fisiopatología	Multifactorial. Funcional > Anatómico	Multifactorial. Funcional < Anatómico
Clínica	Tríada típica: Ronquidos, apneas observadas, somnolencia diurna	Paucisintomático
Mortalidad	Evidencia no concluyente Aumentada (e. cardiovascular) (B)	Pocos datos Controversia (ictus) (B)
Morbilidad cardiovascular	Asociación (B)	Controversia (B)
Morbilidad cerebrovascular	Asociación (B)	Asociación (B)
Deterioro cognitivo	Asociación (B)	Asociación (B)*
Diagnóstico	PSG o PR	Uso de PR más limitado.
Evidencia del efecto del tratamiento con CPAP	Mejoría de: Síntomas, calidad de vida e hipertensión refractaria (A). E. cardiovascular, cerebrovascular y cognición (B)	Pocos datos. Mejoría de: Síntomas y calidad de vida (A) Controversia en cognición*, e. cardíaca y cerebrovascular (B)
Recomendaciones de tratamiento	CPAP si IAH>30 o IAH 5-29 si síntomas / comorbilidad asociada	Similares a las de pacientes adultos, aunque recomendaciones más laxas y menos definidas

*En general, se ha descrito asociación del SAHS con el desarrollo y/o progresión del deterioro cognitivo. No obstante, hay que destacar que estos estudios se han realizado principalmente en pacientes con deterioro cognitivo y/o demencia previa. Poco evaluado en pacientes sin alteraciones cognitivas previas y los escasos estudios disponibles muestran resultados contradictorios.

2.3. DETERIORO COGNITIVO EN EL ANCIANO CON SAHS

Como se ha citado anteriormente, el SAHS se ha asociado a la presencia de déficits cognitivos en pacientes de mediana edad, afectando sobretodo funciones ejecutivas y atención, con menores efectos sobre memoria (20). Estas alteraciones cognitivas se han relacionado con anomalías estructurales y/o funcionales cerebrales. Con el tratamiento con CPAP se ha descrito mejoría tanto de los déficits cognitivos como de las alteraciones cerebrales. No obstante, los pacientes ancianos han sido habitualmente excluidos de estos estudios y, por lo tanto, nuevamente la evidencia científica en este grupo de pacientes es menor. A continuación se detallan los hallazgos en estudios realizados exclusivamente en pacientes de edad avanzada.

2.3.1. Afectación

Los estudios transversales, ya sea con base poblacional o con sujetos reclutados en unidades del sueño, muestran resultados dispares; con algunos autores que describen asociación entre SAHS y deterioro cognitivo (63–65) y otros que no encuentran dicha relación (66,67).

Los estudios longitudinales muestran resultados más coherentes entre sí, que sugieren que padecer un SAHS aumenta el riesgo de desarrollar deterioro cognitivo o demencia (68,69).

Estos estudios han permitido determinar que en sujetos ancianos los déficits cognitivos difieren discretamente de los observados en sujetos más jóvenes. El dominio de funciones ejecutivas continúa siendo el más afectado pero se observan mayores efectos en el dominio de memoria; afectando principalmente la memoria verbal (70).

2.3.2. Influencia de la edad

Los estudios que han evaluado si la edad es un factor que podría modular las consecuencias cognitivas del SAHS han mostrado resultados discordantes. Algunos autores concluyen que los pacientes ancianos presentan mayor susceptibilidad a padecer estos déficits (71), mientras que otros describen menores consecuencias cognitivas (72). Estos últimos sugieren que podrían existir mecanismos adaptativos o de protección.

2.3.3. Tratamiento

Se dispone de pocos estudios que evalúen los efectos del tratamiento con CPAP sobre funciones cognitivas en pacientes de edad avanzada.

La mayoría de estudios se han realizado en pacientes con deterioro cognitivo y/o demencia previa, con resultados que sugieren que el tratamiento con CPAP podría mejorar las funciones cognitivas en estos pacientes (73,74). Incluso hay un estudio reciente cuyos resultados indican que podría retrasar el declive cognitivo en pacientes con demencia en fase inicial (75).

La evidencia proveniente de estudios realizados en pacientes ancianos con función cognitiva global conservada es mucho más limitada. En este sentido, algunos estudios observacionales sugieren que los déficits cognitivos podrían mejorar con el tratamiento con CPAP (76) y que podría contribuir al mantenimiento del rendimiento cognitivo a lo largo del tiempo (77). Sin embargo, los dos únicos estudios aleatorizados, que han sido publicados durante el desarrollo de la presente tesis doctoral, muestran resultados contradictorios (61,62).

Esta disparidad en los resultados podría ser debida a diferencias metodológicas, en cumplimiento de la terapia o a la presencia de comorbilidad asociada que podrían actuar como factor de confusión y dificultar la obtención de conclusiones. Por este motivo, es necesario el desarrollo de nuevos estudios controlados que evalúen esta área usando determinaciones objetivas que permitan obtener resultados más sólidos.

2.4. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DE AFECTACIÓN COGNITIVA

El SAHS puede producir atrofia, disfunción, degeneración y pérdida de células gliales y neuronas que pueden conducir a deterioro cognitivo y/o demencia. Aunque los mecanismos exactos que conducen a dichas alteraciones no se conocen completamente, a continuación se repasan los potenciales factores que podrían tener un impacto sinérgico para causar neurotoxicidad.

2.4.1. Hipoxia intermitente: inflamación y estrés oxidativo

Los ciclos repetidos de hipoxia-reoxigenación que se producen en los pacientes con SAHS inducen una respuesta inflamatoria sistémica con aumento de proteína C reactiva, interleucinas y fibrinógeno. Esta respuesta inflamatoria produce cambios hematológicos (aumento del hematocrito y viscosidad, incremento de factores de la coagulación y activación plaquetaria) generando un estado procoagulante que podría favorecer el estasis sanguíneo, la formación de coágulos y la oclusión vascular (78). Este daño vascular cerebral (microangiopatía) podría explicar, al menos en parte, la asociación del SAHS con el deterioro cognitivo.

La hipoxia intermitente provoca daño mitocondrial, aumento de la actividad de la NADPH oxidasa y la generación de especies reactivas de oxígeno y ha sido asociada a disfunción sináptica, activación de caspasas y muerte neuronal (79). Se ha descrito mayor susceptibilidad en áreas cerebrales concretas, cuyas alteraciones se han asociado a dificultades cognitivas tanto en modelos murinos (80) como en estudios clínicos.

También se ha descrito que podría aumentar la generación de proteína β -amiloide mediante la activación de HIF-1 α (81) y favorecer la fosforilación de la proteína tau (82); ambas proteínas involucradas en la fisiopatología de la Enfermedad de Alzheimer.

2.4.2. Disfunción endotelial, hipertensión y perfusión cerebral

La asociación entre SAHS e hipertensión arterial ha sido ampliamente descrita tanto en estudios clínicos como experimentales. La fragmentación del sueño, los cambios en la presión intratorácica, la hipercapnia y la hipoxia intermitente son factores que pueden poner en marcha mecanismos intermedios, como la activación simpática, la generación de estrés oxidativo vascular y la disfunción endotelial. Estos mecanismos intermedios clásicamente se han descrito como causantes de hipertensión arterial.

La hipertensión arterial a su vez se asocia a rigidez arterial y alteraciones en la reactividad cerebrovascular que podrían empeorar la autorregulación cerebral (83), causando hipoperfusión cerebral que podría conducir a neurodegeneración, muerte neuronal y deterioro cognitivo o demencia. Cabe destacar que la hipoperfusión cerebral tiene además un efecto

directo en el aumento de la cantidad de proteína β -amiloide; ya que aumenta la expresión de la proteína precursora y disminuye su aclaramiento (84).

2.4.3. Homeostasis de la glucosa y obesidad

La fragmentación del sueño, la activación simpática, la hipoxia intermitente, la inflamación y el estrés oxidativo que se producen en el SAHS se han asociado a alteraciones del metabolismo de la glucosa; empeorando la capacidad secretora de las células β pancreáticas o produciendo resistencia a la insulina (85). Dado que la homeostasis de la glucosa es imprescindible para mantener la viabilidad neuronal, estas alteraciones pueden producir daño y/o pérdida neuronal y contribuir al deterioro cognitivo. La hiperglicemia y la resistencia a la insulina se han relacionado además con la aceleración en la fosforilación de la proteína tau (86).

Por otro lado, el SAHS se ha asociado a obesidad, dislipemia y síndrome metabólico; que a su vez podrían tener un efecto sinérgico ya que pueden inducir inflamación, estrés oxidativo y disfunción endotelial implicados en el daño neuronal.

2.4.4. Fragmentación del sueño

Algunos autores han indicado que la fragmentación del sueño podría ser un factor importante en la afectación cognitiva y el número de microdespertares (arousals) se ha postulado como un predictor de deterioro cognitivo (87). Estudios en modelos animales han demostrado que la fragmentación del sueño se asocia a reducción de la neurogénesis (88). Estudios clínicos han descrito un aumento de la cantidad de proteína β -amiloide en personas que refieren un sueño fragmentado y de mala calidad (89).

2.4.5. Otras variables

A continuación se recogen otros factores que pueden influir en el desarrollo de deterioro cognitivo. Destacar que algunas de estas variables son factores de riesgo para demencia y también para SAHS.

2.4.5.1. Edad

El envejecimiento se ha asociado a cierto grado de inflamación, estrés oxidativo y activación de caspasas e inducción de apoptosis (90) que podrían explicar, en parte, la relación con el declive cognitivo. Además, envejecer aumenta la susceptibilidad de padecer alteraciones en la arquitectura del sueño, alteración de ritmos circadianos (91) y otras condiciones médicas que han sido asociadas con déficits cognitivos (92).

2.4.5.2. Comorbilidades

El SAHS se asocia con frecuencia a la presencia de morbilidad cardíaca, cerebrovascular y endocrinológica. El síndrome metabólico, la diabetes, la obesidad, la hipertensión o el ictus son entidades que pueden afectar el lecho vascular cerebral y ocasionar daño neuronal que conduzca a deterioro cognitivo. Cabe destacar que la presencia de comorbilidades en el momento del diagnóstico del SAHS aumenta a medida que avanza la edad.

2.4.5.3. Somnolencia

La hipersomnolia se ha propuesto como una causa de deterioro cognitivo, afectando especialmente los dominios de atención y función ejecutiva, y se ha asociado a mayor riesgo de declive cognitivo y demencia en múltiples estudios (93).

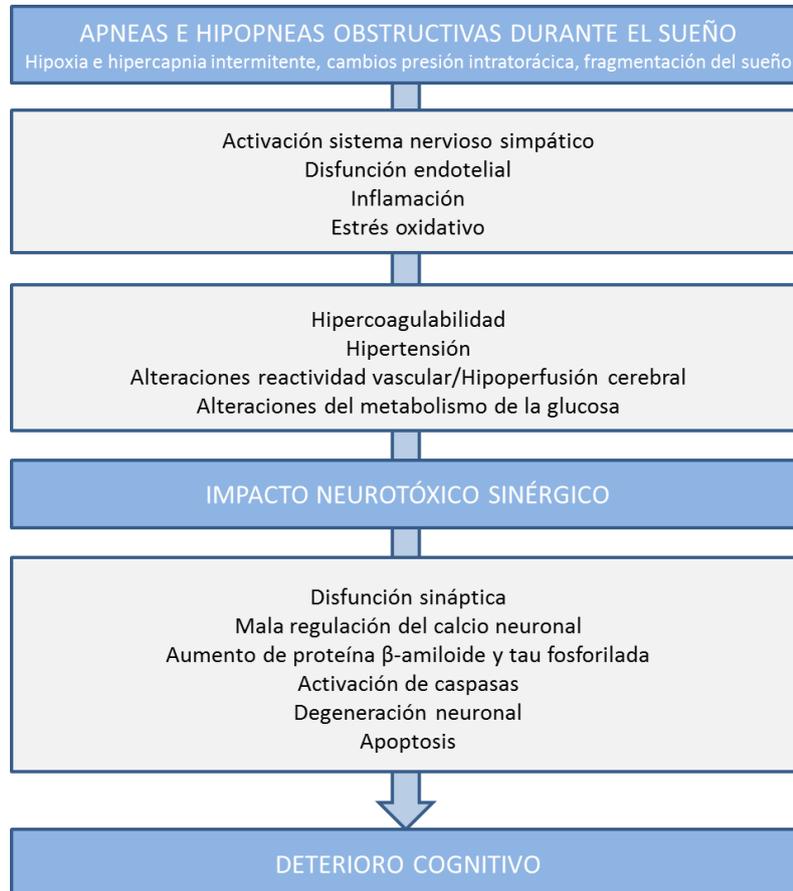


Figura 5. Potenciales mecanismos por los que el SAHS podría producir deterioro cognitivo. (Modificado de Daulatzai) (94).

A parte de los factores enumerados, postulados en la literatura como los principales factores implicados en el desarrollo de deterioro cognitivo en el SAHS, posiblemente la aparición de declive cognitivo en estos pacientes está también influida por la susceptibilidad genética individual, la reserva cognitiva y el desarrollo de mecanismos adaptativos.

2.5. TÉCNICAS DE NEUROIMAGEN PARA EVALUAR LAS ALTERACIONES CEREBRALES INDUCIDAS POR EL SAHS.

El estudio de los mecanismos fisiopatogénicos y factores implicados en el desarrollo de deterioro cognitivo se ha realizado principalmente con trabajos experimentales en modelos animales. Sin embargo, en la última década, el uso de técnicas de neuroimagen ha permitido realizar estudios *in vivo* en pacientes, que aportan información de cuáles podrían ser las alteraciones cerebrales subyacentes a los déficits cognitivos encontrados. Estos trabajos han evaluado las modificaciones cerebrales, estructurales y funcionales, asociadas al SAHS y su

reversibilidad con el tratamiento con CPAP en pacientes de mediana edad. Los pacientes de edad avanzada han sido clásicamente excluidos y no se dispone de datos en este grupo poblacional. A continuación se recoge una breve descripción de los hallazgos descritos y de las técnicas utilizadas en los estudios en pacientes de mediana edad.

2.5.1. Estudios estructurales

Los estudios estructurales consisten mayoritariamente en la evaluación de la cantidad e integridad de sustancia blanca y gris.

2.5.1.1. Sustancia blanca.

El SAHS se ha asociado a daño axonal y en materia blanca. Estudios de resonancia magnética, con la técnica de imagen por tensor de difusión, han mostrado reducciones en materia blanca en múltiples áreas cerebrales en pacientes con SAHS comparado con controles. Se ha descrito que estas anomalías en sustancia blanca podrían revertirse con el tratamiento con CPAP (95).

2.5.1.2. Sustancia gris

Desde la aparición del primer estudio que describía cambios morfológicos cerebrales en pacientes con SAHS en 2002, varios autores han evaluado la presencia de cambios en sustancia gris mediante resonancia magnética cerebral. El análisis se ha realizado mayoritariamente con la técnica de Voxel-Based Morphometry (VBM), aunque en los últimos años, algunos autores han empleado análisis del grosor cortical (Cortical Thickness).

En pacientes con SAHS, comparado con controles, se ha descrito disminución focal de materia gris en múltiples áreas cerebrales implicadas en funciones cognitivas; afectando hipocampo, córtex prefrontal, temporal inferior, occipital, parietal inferior, cerebelo, giro parahipocampal, ínsula y región paracentral entre otras (96–99). Además, algunos autores han descrito reversibilidad de las alteraciones observadas con el tratamiento con CPAP (100,101). Sin embargo, estos resultados no han sido encontrados en otros estudios (102,103).

La literatura existente es dispar, posiblemente por diferencias metodológicas, en criterios de inclusión o en la comorbilidad asociada, aunque sugiere que las alteraciones estructurales en el SAHS podrían ser variables y en general de poca magnitud. Estos estudios han permitido identificar áreas cerebrales afectadas con mayor frecuencia, sin embargo, la disparidad en las alteraciones descritas no ha permitido, hasta el momento, obtener una idea clara de la afectación cerebral inducida por el SAHS en pacientes de mediana edad.

Por lo que a la edad avanzada se refiere, existe únicamente un estudio que incluye pacientes mayores de 65 años e indica que la presencia de un SAHS no diagnosticado se asocia a una reducción de sustancia gris en áreas implicadas en la respiración, sugiriendo una relación causal entre estas alteraciones y el origen del SAHS (104).

Por otro lado, existe un estudio que sugiere que el SAHS podría aumentar la susceptibilidad cerebral a los efectos del envejecimiento; sin embargo se trata de un estudio realizado en sujetos con edades entorno los 55 años (105).

Actualmente no existen estudios que evalúen la presencia de deterioro cognitivo y daños en sustancia gris en pacientes ancianos ni su reversibilidad con el tratamiento con CPAP.

2.5.2. Estudios funcionales.

Varias técnicas de imagen se han utilizado para el estudio funcional cerebral, siendo las más destacadas la tomografía de emisión de positrones (PET) y la resonancia magnética funcional (RMf). La PET y la RMf investigan la función neuronal indirectamente midiendo cambios en el flujo sanguíneo. La técnica de PET presenta limitaciones, como es la necesidad de inyectar contraste marcado radioactivamente o su relativamente modesta resolución espacial y temporal. En cambio, la RMf mediante el método BOLD (blood-oxygen level dependent) no requiere de la inyección de ninguna sustancia de contraste y posee una resolución temporal y espacial superior, motivo por el que se ha extendido su uso en los últimos años.

Algunos estudios, usando PET y/o espectroscopia, han mostrado cambios regionales en metabolismo (97) y disminución en determinados metabolitos cerebrales como indicadores indirectos de daño y pérdida neuronal (106).

Estudios con RMf han evaluado la actividad cerebral durante la realización de procesos cognitivos, indicando que anomalías en el correcto funcionamiento de determinadas redes cerebrales podrían relacionarse con las alteraciones cognitivas. Se han evaluado mayoritariamente redes, como por ejemplo la red relacionada con la tarea (TPN, del inglés task positive network), cuya actividad aumenta al realizar tareas cognitivas. No obstante, recientemente se han estudiado también redes más activas en reposo y que se desactivan al realizar éstas tareas, como por ejemplo la red neuronal por defecto (DMN, del inglés default mode network). Los déficits cognitivos se han relacionado con menor activación en la TPN y/o menor desactivación de la DMN durante la realización de procesos cognitivos concretos (107).

Además se ha descrito el reclutamiento de áreas cerebrales adicionales en pacientes que mantienen una cognición correcta, sugiriendo que podría tratarse de una respuesta compensatoria adaptativa en fases iniciales de declive cognitivo (108).

Por lo que al efecto del tratamiento se refiere, algunos estudios han evaluado la reversibilidad de estos cambios cerebrales con el tratamiento con CPAP; observado mejorías funcionales objetivadas como mayor activación de la TPN o desactivación de la DMN durante la realización de tareas cognitivas (109). No obstante, existen también estudios que no muestran cambios funcionales tras tratamiento (106).

2.6. CONTEXTO DE ESTA TESIS DOCTORAL

En nuestra sociedad, el número de pacientes con SAHS y morbilidad neurocognitiva aumentará en los próximos años debido al envejecimiento poblacional y la elevada prevalencia de ambas patologías en la población anciana. Diversos estudios muestran mecanismos fisiopatológicos comunes en ambas entidades que podrían producir alteración sináptica, disfunción neuronal y ocasionar deterioro cognitivo. Sin embargo, la evidencia científica disponible no muestra claramente un efecto sinérgico de la edad y el SAHS para causar déficits cognitivos. Incluso los

resultados de algunos estudios clínicos sugieren que los efectos deletéreos del SAHS podrían ser menores en este grupo poblacional.

Por lo tanto, dada la limitada evidencia y la controversia existente, son de especial trascendencia estudios encaminados a conocer las consecuencias del SAHS en la edad avanzada y determinar su implicación pronóstica. Todo ello con el objetivo de ampliar el conocimiento y establecer nuevos estándares de diagnóstico y tratamiento específicos para este grupo de pacientes, por las importantes implicaciones sanitarias, sociales y económicas que esto podría conllevar.

En este contexto, la presente tesis se centra en evaluar las consecuencias cerebrales y cognitivas del SAHS en la edad avanzada con una voluntad de medicina traslacional; mediante estudios en modelos animales y estudios clínicos. Los trabajos que se recogen en esta memoria evalúan los efectos del SAHS a nivel cognitivo y los posibles mecanismos subyacentes. Por otro lado, se valora la eficacia del tratamiento con CPAP para atenuar/revertir los déficits cognitivos así como las posibles alteraciones cerebrales, funcionales y estructurales, asociadas.

Dado que la comorbilidad asociada puede ser un factor de confusión y dificultar la evaluación de los efectos inducidos por el SAHS *per se*, en esta tesis los estudios se realizaron en un modelo animal y en pacientes sin deterioro cognitivo global ni comorbilidad significativa asociada.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En esta tesis doctoral se plantean dos hipótesis, cada una con sus objetivos correspondientes:

Hipótesis 1: En un modelo murino las apneas obstructivas pueden producir cambios dinámicos en la presión parcial de oxígeno y estrés oxidativo en el tejido cerebral que podrían ser modulados por la edad.

Objetivos específicos:

1. Caracterizar la presión parcial de oxígeno en córtex cerebral en ratas jóvenes y viejas sometidas a apneas obstructivas.
2. Determinar la presencia de estrés oxidativo cerebral en ratas jóvenes y viejas tras la aplicación de apneas obstructivas recurrentes.
3. Analizar la expresión de enzimas antioxidantes en ratas jóvenes y viejas sometidas a apneas obstructivas recurrentes.
4. Evaluar si la edad modula los cambios en la presión parcial de oxígeno, el estrés oxidativo y la respuesta antioxidante en tejido cerebral de ratas sometidas a apneas obstructivas recurrentes.

Hipótesis 2: Los pacientes ancianos con SAHS pueden presentar déficits cognitivos y alteraciones funcionales y/o estructurales cerebrales que podrían ser reversibles con el tratamiento con CPAP.

Objetivos principales:

1. Determinar si los pacientes ancianos con SAHS grave presentan déficits cognitivos y evaluar en qué dominios se producen.
2. Estudiar la conectividad en la red neuronal por defecto y el grosor cortical en pacientes ancianos con SAHS grave.
3. Examinar el efecto del tratamiento con CPAP para mejorar déficits cognitivos en pacientes ancianos con SAHS grave.
4. Analizar si el tratamiento con CPAP en estos pacientes puede revertir o atenuar los cambios funcionales y/o estructurales asociados al SAHS.

Objetivos secundarios:

1. Evaluar síntomas, calidad de vida y estado de ánimo en pacientes ancianos con SAHS grave.
2. Determinar los efectos del tratamiento con CPAP sobre síntomas, calidad de vida y estado de ánimo en estos pacientes.

4. BRAIN TISSUE HYPOXIA AND OXIDATIVE STRESS INDUCED BY OBSTRUCTIVE APNEAS IS DIFFERENT IN YOUNG AND AGED RATS.

Dalmases M, Torres M, Márquez-Kisinousky L, Almendros I, Planas AM, Embid C, Martínez-García MA, Navajas D, Farré R, Montserrat JM.

Sleep. 2014; 37(7):1249-56.

Factor de impacto: 5.062 (2013). Q1.

A este artículo se le ha dedicado una editorial en el mismo número de la revista.
Sleep. 2014; 37(7):1161-2.

BRAIN HYPOXIA AND OXIDATIVE STRESS FROM OSA DIFFER IN YOUNG AND AGED RATS

<http://dx.doi.org/10.5665/sleep.3848>

Brain Tissue Hypoxia and Oxidative Stress Induced by Obstructive Apneas is Different in Young and Aged Rats

Mireia Dalmases, MD^{1,2}; Marta Torres, MSc^{1,2}; Leonardo Márquez-Kisinousky, BSc³; Isaac Almendros, PhD^{1,2}; Anna M. Planas, PhD³; Cristina Embid, MD, PhD^{1,2}; Miguel Ángel Martínez-García, MD⁴; Daniel Navajas, PhD^{2,5,6}; Ramon Farré, PhD^{2,5}; Josep Maria Montserrat, MD, PhD^{1,2}¹Laboratori de la Son, Pneumologia, Hospital Clinic-Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain; ²CIBER Enfermedades Respiratorias, Bunyola, Spain; ³Departament d'Isquemia cerebral y neurodegeneració, IIBB-CSIC-IDIBAPS, Barcelona, Spain; ⁴Servicio de Neumología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain; ⁵Unitat de Biofísica i Bioenginyeria, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona-IDIBAPS, Barcelona, Spain; ⁶Institut de Bioenginyeria de Catalunya, Barcelona, Spain**Study Objectives:** To test the hypotheses that brain oxygen partial pressure (PtO₂) in response to obstructive apneas changes with age and that it might lead to different levels of cerebral tissue oxidative stress.**Design:** Prospective controlled animal study.**Setting:** University laboratory.**Participants:** Sixty-four male Wistar rats: 32 young (3 mo old) and 32 aged (18 mo).**Interventions:** Protocol 1: Twenty-four animals were subjected to obstructive apneas (50 apneas/h, lasting 15 sec each) or to sham procedure for 50 min. Protocol 2: Forty rats were subjected to obstructive apneas or sham procedure for 4 h.**Measurements and Results:** Protocol 1: Real-time PtO₂ measurements were performed using a fast-response oxygen microelectrode. During successive apneas cerebral cortex PtO₂ presented a different pattern in the two age groups; there was a fast increase in young rats, whereas it remained without significant changes between the beginning and the end of the protocol in the aged group. Protocol 2: Brain oxidative stress assessed by lipid peroxidation increased after apneas in young rats (1.34 ± 0.17 nmol/mg of protein) compared to old ones (0.63 ± 0.03 nmol/mg), where a higher expression of antioxidant enzymes was observed.**Conclusions:** The results suggest that brain oxidative stress in aged rats is lower than in young rats in response to recurrent apneas, mimicking obstructive sleep apnea. This could be due to the different PtO₂ response observed between age groups and the increased antioxidant expression in aged rats.**Keywords:** aging, animal model, obstructive apnea, oxidative stress, tissue oxygenation**Citation:** Dalmases M, Torres M, Márquez-Kisinousky L, Almendros I, Planas AM, Embid C, Martínez-García MA, Navajas D, Farré R, Montserrat JM. Brain tissue hypoxia and oxidative stress induced by obstructive apneas is different in young and aged rats. *SLEEP* 2014;37(7):1249-1256.

INTRODUCTION

Obstructive sleep apnea (OSA) is a highly prevalent respiratory disorder that affects 5% to 14% of the middle-aged population.¹ It is characterized by recurrent episodes of partial or complete obstruction of the upper airway that result in intermittent hypoxia, hypercapnia, increased respiratory effort, sympathetic activation, and disruption of sleep architecture. OSA has been associated with a decrease in quality of life and an increase in morbidity and mortality from metabolic,² neural, and cardiovascular³ alterations.

One of the well-known consequences of OSA in middle-aged patients is neurocognitive impairment,⁴ which has been related in animal models to oxidative stress and neuronal death (apoptosis and/or necrosis) induced by cyclical hypoxia.⁵⁻⁷ Recent data from a young rat model of OSA have reported an increase in average cerebral oxygen partial pressure (PtO₂) and its cyclic oscillations in response to obstructive apneas as a mechanism

responsible, at least in part, for reactive oxygen species production in brain tissue.⁸

There is little evidence, however, about the brain effects of OSA in elderly patients. The population pyramid is changing because of increasing longevity and it is expected that in the next decades 20% of the Western population will be elderly.⁹ Moreover, OSA and cognitive impairment¹⁰ both increase dramatically with aging, with published studies reporting OSA prevalence of 30% and as high as 50%.^{11,12} Although the effects of this chronic disease are expected to increase further in our aging society, few studies have focused on this topic. Consequently, better knowledge of the effects of OSA at an advanced age is required to evaluate its clinical significance, which is still unclear. It is noticeable that the available data from studies addressing the cognitive impairment in elderly patients with OSA have provided conflicting results. Whereas some authors have reported a relationship between cognitive impairment and sleep disordered breathing,^{13,14} others have not,^{15,16} possibly because of the presence of comorbidities and declining brain functions with age. To avoid these comorbidities, the use of animal models could enhance our understanding of how OSA consequences observed mainly in middle-aged patients interact with the functional decline associated with the natural history of aging and shed light on the mechanisms underlying cognitive impairment.

The current study was therefore designed to test the following hypotheses: first, that the dynamic changes in brain PtO₂ in response to obstructive apneas might depend on age;

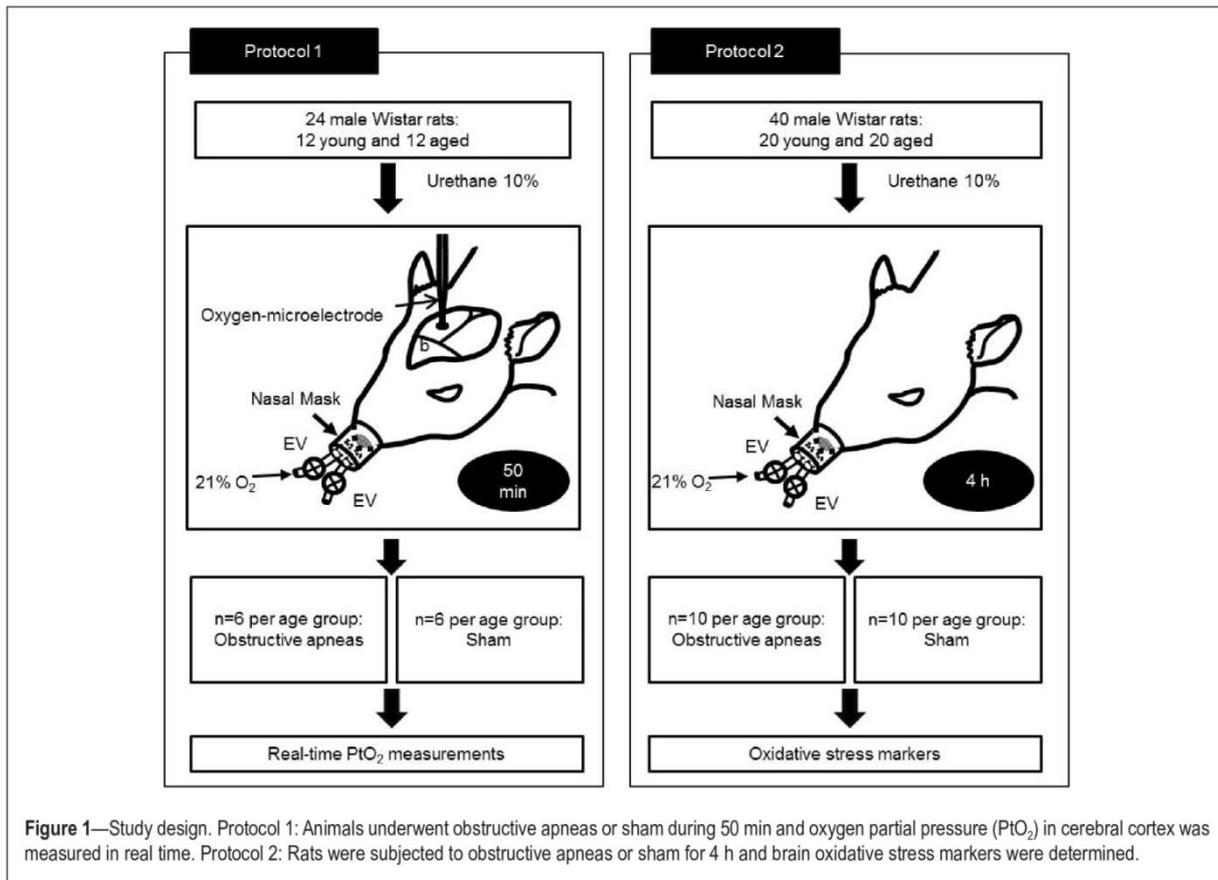
A commentary on this article appears in this issue on page 1161.

Submitted for publication August, 2013

Submitted in final revised form January, 2014

Accepted for publication February, 2014

Address correspondence to: Josep M. Montserrat, MD, PhD, Servei de Pneumologia, Laboratori de la Son, Hospital Clinic de Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain; Tel/Fax: +34 93 227 57 46; E-mail: jcanal@clinic.ub.es



and second, that the age-dependent PtO₂ response would cause different levels of brain oxidative stress in young and aged rats.

We measured PtO₂ in the cerebral cortex of young and old rats subjected to recurrent obstructive apneas. To assess the potential oxidative stress induced by apneas and the underlying mechanisms, we also analyzed lipid peroxidation in brain tissue and assessed the response in antioxidant systems in both age groups.

MATERIALS AND METHODS

Animals

The study, which was approved by the Ethics Committee of Animal Experimentation of the University of Barcelona, was carried out on 64 male Wistar rats. Thirty-two rats were 3 mo old and the other 32 rats were 18 mo old. As shown in Figure 1, there were two different protocols. In the first, 24 rats (12 young and 12 aged) were subjected to obstructive apneas or sham for 50 min to measure real-time PtO₂. In the second, another set of 20 rats per age group were subjected to obstructive apneas (n = 10) or sham (n = 10) for 4 h and used to determine brain oxidative stress.

The animals were housed in standard cages, maintained on a 12-h light–dark cycle within a constant temperature range (22–24°C) and fed with standard rodent chow (Panlab, Barcelona, Spain) and tap water *ad libitum*. Before starting the corresponding protocol, the rats were anesthetized intraperitoneally

with urethane 10% (1 g/kg) and at the end of the experiment they were sacrificed by exsanguination.

Application of Obstructive Apneas

A previously described noninvasive experimental setting was used for this study.¹⁷ The system mimicked the cyclical airway obstructions and the decrease in oxygen saturation observed in patients with OSA. This model was based on a nasal mask with one tube open to the atmosphere and another connected to an airflow source to prevent rebreathing. To allow the controlled application of airway obstructions or spontaneous breathing, two electronically synchronized electrovalves were closed or opened, respectively.

The animals were subjected to recurrent obstructive apneas with a pattern of 50 apneas/h lasting 15 sec each for 50 min or 4 h, depending on the protocol, as described previously. The sham group was identically instrumented, but the valve system of the nasal mask was always open and did not apply any airway obstructions.

Measurements of PtO₂ in Brain Tissue

Real-time PtO₂ measurements were made in brain tissue using a modified Clark's polarographic fast-response oxygen microelectrode pipette (OX-50, Unisense A/S, Denmark; 50 μm diameter, 90% response time < 2 sec) connected to an amplified picoamperimeter (Unisense A/S). The oxygen

microelectrode was calibrated before each experiment in water at 100% O₂, 21% O₂, and in an oxygen-free solution (sodium hydroxide 0.1 M, sodium ascorbate 0.1 M) (MicOX software, Unisense A/S).

To insert the microelectrode, a small orifice was carefully made in the dura mater to expose the cerebral cortex and then the oxygen sensor was inserted to a depth of 2 mm from the cortex surface by a micrometric positioner; it was then retracted 0.5 mm to a point with a stable PtO₂ value between 30-50 mmHg.

Arterial oxygen saturation (SaO₂) was measured by a pulse-oximeter (504; Critical Care Systems, Inc, Waukesha, WI, USA). PtO₂ and SaO₂ signals were sampled at 60 Hz and data were stored for subsequent analysis.

Determination of Oxidative Stress Markers

After 4 h of recurrent apneas or sham, the animals were sacrificed and cerebral cortex samples were excised and immediately stored at -80°C to determine lipid peroxidation, oxidized glutathione (GSSG) and antioxidant enzymes (Cu-Zn superoxide dismutase-1 (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase-1 (GPx), and glutathione reductase (GPr)).

1. Lipid Peroxidation Measurements

Lipid peroxidation in brain tissue was assessed by measuring the content of lipid hydroperoxide (LPO) using an assay kit (#705002, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Michigan, USA) that measures hydroperoxides using the redox reactions with ferrous ions after lipid hydroperoxide extraction into chloroform. The assay was carried out following the manufacturer's instructions.

2. Measurement of Glutathione

The cerebral cortex was homogenized, sonicated in 3.3% 5-sulfosalicylic acid (1 mL per 200 mg of tissue) and centrifuged at 12,000 xg for 30 min at 4°C. The supernatant was used to determine GSSG and the pellet was used to determine total protein concentration (Bradford Method, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). The reaction is based on the oxidation of DTNB (5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)) followed by measurement at 405-412 nm in a spectrophotometer. The formation of GSSG was determined in 100 µL of the supernatant after the addition of 2 µL of 2-vinylpyridine.

3. Measurement of Superoxide Dismutase-1, Catalase, Glutathione Peroxidase-1, and Glutathione Reductase

Total protein was extracted using radioimmunoassay buffer (RIPA) containing 0.01 M phosphate buffered saline, sodium dodecyl sulfate, sodium deoxycholate, the nonionic detergent Igepal, and the complete protease inhibitor cocktail (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany). The protein concentration of samples was determined with the Bradford assay (Bio-Rad). Twenty-five µg of protein extract were resolved by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel, and proteins were transferred to a polyvinylidene difluoride membrane (Immobilon-P, Millipore, Bedford, MA, USA). Rabbit polyclonal and monoclonal antibodies were used against the following proteins: catalase (#ab1877, Abcam) diluted 1:1,000, glutathione peroxidase (#ab22604, Abcam) diluted 1:1,000, and glutathione reductase (#ab124995, Abcam) diluted 1:1,000, and a goat

polyclonal antibody was used against superoxide dismutase-1 (#sc-8637, Santa Cruz) diluted 1:1,000. A mouse monoclonal antibody against β-actin (Clone AC-15, Sigma-Aldrich) diluted 1:500,000 was used as the loading control. Antibodies were diluted in Tris-buffered saline containing 0.5% Tween 20 and were incubated overnight at 4°C. The following day, the membranes were incubated with horseradish peroxidase-conjugated mouse antigoat immunoglobulin G (IgG) (Sigma-Aldrich) or goat antirabbit IgG (Amersham Biosciences) diluted 1:2,000 for 2 h at room temperature. The blots were developed with the use of a chemiluminescent substrate (ECL Western blotting Analysis System; Amersham Biosciences). The optical density of the bands was measured by densitometric analysis (Molecular Imager GS800, Bio-Rad). Band intensity was divided by the intensity of β-actin to correct for differences in the amount of protein loaded on each gel. Samples with rats from the different experimental groups were run in each gel and values were expressed as fold versus mean sham young.

Data Processing and Statistical Analysis

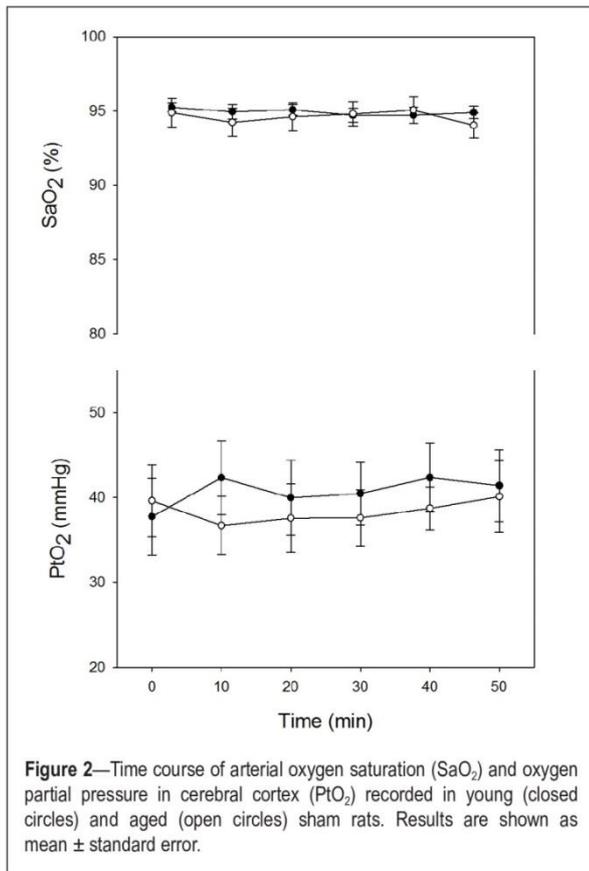
In rats subjected to obstructive apneas, SaO₂ and cerebral PtO₂ were measured at baseline and at the maximum and minimum values attained during the obstructive apnea period. The time and age dependence of SaO₂ and brain PtO₂ were carried out by two-way repeated-measures analysis of variance (ANOVA) with one repeated factor (time) by comparing the sample points at the first apnea and every 10 min with respect to either the baseline value in the maximum or the first apnea value in the minimum. *Post hoc* pairwise comparisons were undertaken by means of the Student-Newman-Keuls method. In rats subjected to sham treatment, SaO₂ and cerebral PtO₂ were recorded at the same time points as in the apneic rats and the same statistical analysis was performed. The differences in LPO, GSSG, and antioxidant enzymes were assessed by two-way ANOVA by age (young versus aged) and treatment (sham versus apnea), followed by the Bonferroni *post hoc* analysis to determine the statistical significance of group differences, which was set at a level of P < 0.05. All data are presented as mean ± standard error. Statistical analyses were performed with SigmaPlot (Systat Software, Inc).

RESULTS

Oxygen Partial Pressure in Brain Tissue

In rats subjected to sham procedure, young and aged groups presented similar SaO₂ values at baseline (young: 95.2 ± 0.3%; aged: 94.9 ± 0.9%), which remained without significant differences during 50 min of spontaneous breathing (Figure 2). Moreover, both groups showed similar PtO₂ values at baseline (young: 37.7 ± 4.4 mmHg; aged: 39.6 ± 4.2 mmHg) without significant differences during measurements.

In the apnea groups, SaO₂ showed a fast decrease in each apnea followed by a recovery, with maximum and minimum values typical of patients with OSA (values ranging from 93.0 ± 0.6% to 81.6 ± 0.5% in young rats and from 95.3 ± 0.4% to 84.6 ± 0.6% in aged rats). Remarkably, the SaO₂ showed a stable cyclical pattern during the entire duration of the experiment and no significant differences were observed in the SaO₂ values between age groups.



When comparing young and old rats, PtO₂ in the cerebral cortex showed a different temporal response (interaction between age and time $P < 0.05$) (Figure 3). In young rats, according to the results we previously reported,⁸ the maximum and minimum PtO₂ values experienced a fast increase during recurrent apneas. The maximum values showed a significant rise from 39.7 ± 4.3 mmHg at baseline to 47.1 ± 4.2 mmHg after 50 min of apneas ($P < 0.05$). The minimum values attained at the end of the protocol also increased from 29.8 ± 4.2 mmHg at the first apnea to 35.6 ± 3.7 mmHg at 50 min ($P < 0.05$).

Interestingly, this type of increase did not occur in aged rats, where PtO₂ in the cerebral cortex presented a stable pattern, without significant differences in the maximum and minimum values between the beginning and the end of the experiment (maximum: 41.0 ± 2.0 mmHg versus 39.2 ± 3.0 mmHg, minimum: 30.4 ± 1.5 mmHg versus 31.6 ± 2.9 mmHg). However, PtO₂ showed significant fluctuations during the apnea period.

Oxidative Stress Markers

Lipid Peroxidation

LPO levels in cerebral cortex were significantly increased ($P < 0.01$) after obstructive apneas in young rats (1.34 ± 0.17 nmol/mg of protein) compared with both their controls (0.86 ± 0.08 nmol/mg of protein) and aged rats subjected to apneas (0.63 ± 0.03 nmol/mg) (Figure 4).

Oxidized Glutathione

GSSG significantly increased ($P < 0.05$) in brain tissue from young rats subjected to obstructive apneas (0.108 ± 0.009 nmol/mg of protein) compared with their controls (0.084 ± 0.004 nmol/mg of protein). In contrast, brain GSSG levels after apneas in aged rats were not significantly different from those of aged sham rats (Figure 5).

Antioxidant Enzymes

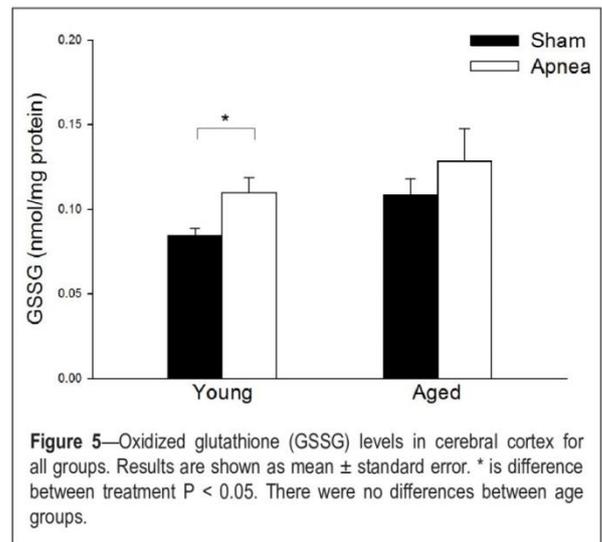
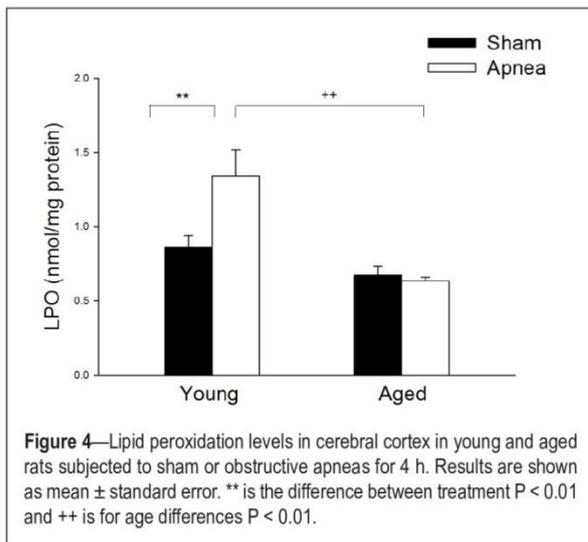
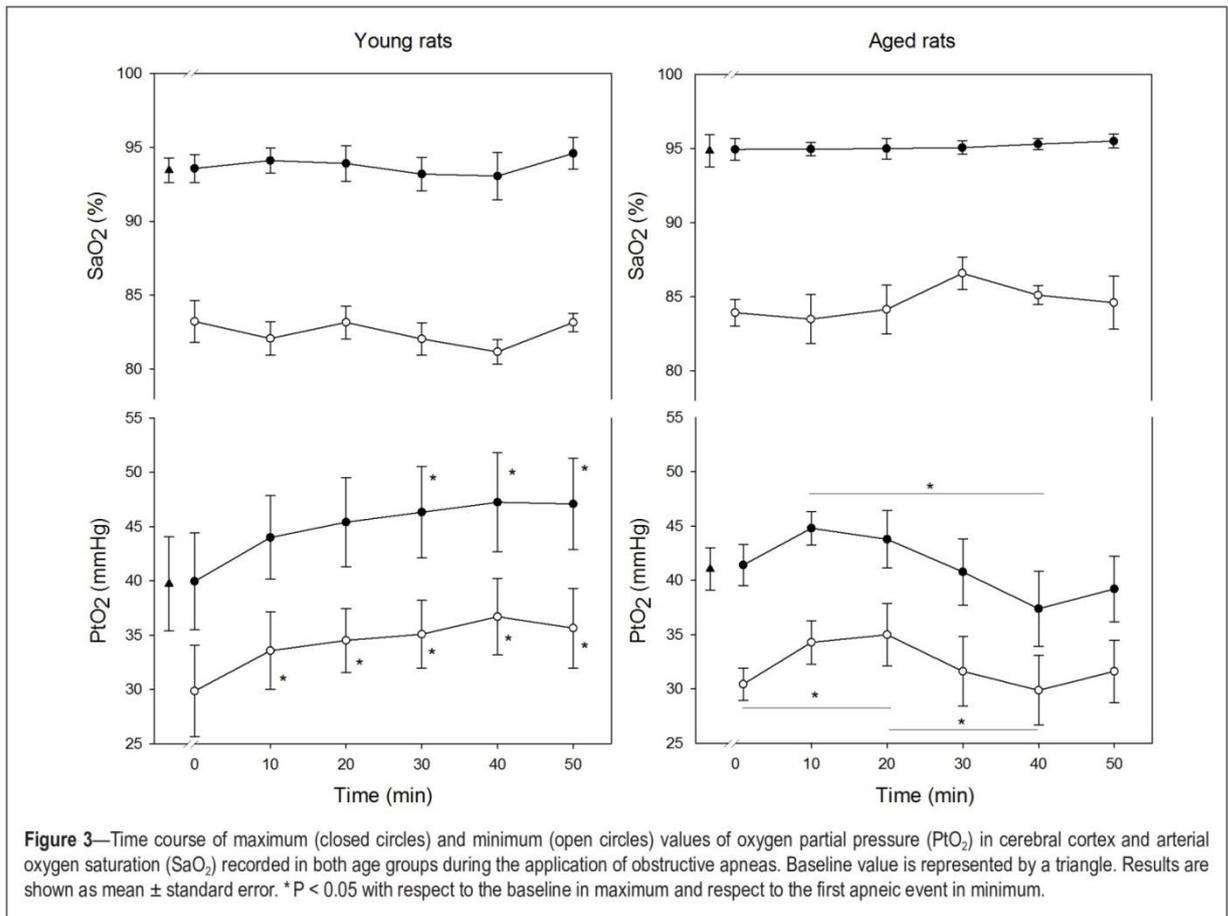
The expression of SOD, GPx, and GPr was significantly higher after apnea mainly in aged rats, showing percentages of increase over young sham rats of 227%, 286%, and 213%, respectively (Figure 6). No significant differences were observed in CAT expression in either young or aged rats after apneas.

DISCUSSION

Our study shows that the brain effects of obstructive apneas mimicking OSA change with aging, leading to substantially different responses in both oxygen partial pressure as well as in levels of oxidative stress markers in tissue. We found that brain PtO₂ in young rats increased during apnea whereas, in contrast, it remained without significant changes between the beginning and the end of the protocol in aged rats. This increase in PtO₂ values was accompanied by higher cerebral oxidative stress in young animals compared to old animals, in which we also observed increased expression of antioxidant enzymes. The lower oxidative stress in aged rats is therefore attributable to a better balance between the presence of oxidative stress generated by apneas (mainly induced by changing PtO₂ values) and an adequate response of antioxidant systems.

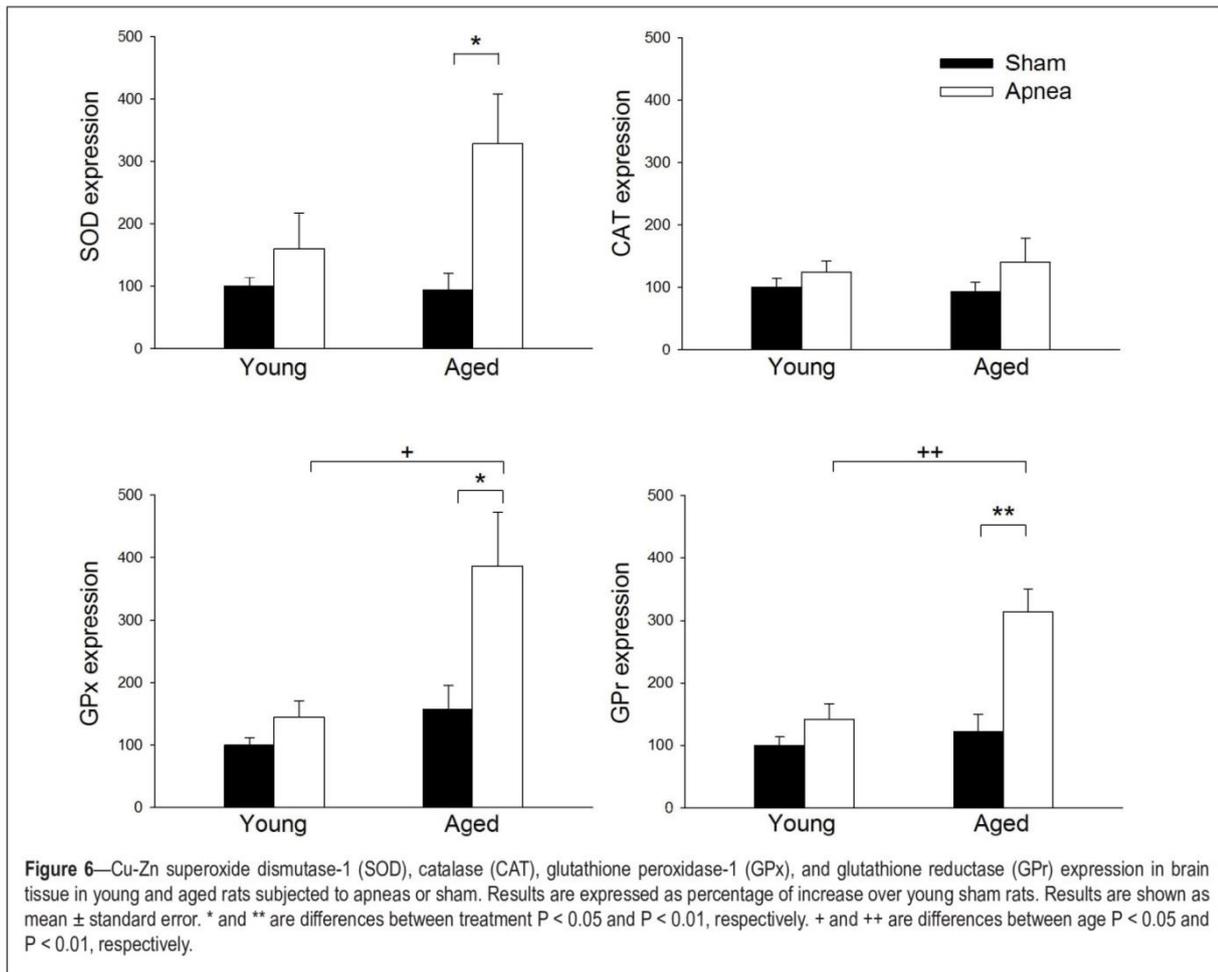
To carry out this work we used a validated experimental setting to apply recurrent obstructive apneas in a noninvasive and controlled manner.¹⁷ This model was able to mimic the respiratory events of patients with OSA and so, in addition to intermittent hypoxia, rats also experienced recurrent hypercapnia and inspiratory effort. For the PtO₂ measurements we used a Clark's polarographic microelectrode pipette, which is especially suited to measuring PtO₂ in tissues and is commonly used for this purpose.^{18,19} Its small size induces minimal tissue trauma and allows measurements at a microregional level, in contrast to imaging techniques that explore a greater volume of tissue and might include large blood vessels. However, because of differences in regional blood flow between brain areas, our results could not be representative of other parts of the brain.

Animals were anesthetized with urethane and this could have limitations in terms of effects on the cardiovascular system as well as in inducing a sleeplike state. Unlike other anesthetics, urethane promotes spontaneous and cyclical alternations of brain state that resemble sleep state alternations and promotes a condition of unconsciousness that closely mimics the full spectrum of natural sleep²⁰; although is not fully equal and results should be cautiously extrapolated. Regarding cardiovascular effects, it is described that with urethane anesthesia (1 g/kg) blood gas values are very similar to those of nonanesthetized animals. Moreover, despite anesthesia, SaO₂ values recorded in both age groups concur to a reasonable extent with the values observed in patients with OSA. Furthermore, we assessed whether anesthesia affected age groups in a different manner by measuring PtO₂ and SaO₂ in young and aged sham rats. The



results showed that PtO₂ and SaO₂ remained stable over time and without significant differences among age groups, demonstrating that the results found after apnea were not attributable to age differences in anesthetic response.

Despite the fact that no differences in SaO₂ values were observed, either between the apnea groups or during the experiment, cerebral PtO₂ in response to apneas showed a markedly different behavior in each age group. In young rats, in line with



the results previously published,⁸ the maximum and minimum PtO_2 values gradually increase over the course of the 50 min, being significantly higher at the end of the experiment relative to the baseline and to the first apnea decrease, respectively. In contrast, this particular cerebral response was not observed in aged animals, where this rise did not occur and PtO_2 only presented oscillations around the mean baseline value but without differences between the beginning and the end of the experiment. Considering that cerebral metabolism decreases with age,²¹ lower values of PtO_2 do not appear to be caused by increased oxygen consumption but are instead attributable to reduced supply. These data suggest that compensatory mechanisms increasing the oxygen availability in brain tissue in response to apneas might be altered or less efficient with aging. The oxygen supply to the brain is mainly regulated by changes in cerebral blood flow, which in turn are regulated by multiple stimuli (hypoxia, blood pressure, and hypercapnia).

According to previous studies,²² the vasodilator response induced by hypoxia is preserved in aged animals (even older than those used in our study) except in severe hypoxia (PaO_2 values approximately 25 mmHg), with lower values than those achieved in our apnea experiments. Another mechanism involved in maintaining blood flow is dynamic cerebral

autoregulation (the capacity to maintain cerebral flow despite changes in blood pressure), and it has been reported that this mechanism is not affected by aging, even when negative pressures are applied to the circulatory system.²³ Hypercapnia is another factor regulating the oxygen supply in two ways: increasing the release of oxygen in tissue by a right shift in the oxyhemoglobin dissociation curve²⁴ and inducing vasodilatation (in addition to the hypoxia-induced vasodilatory effect).²⁵ In this respect, the vasodilator response to hypercapnia decreases with age both in animal studies²⁶ and in healthy elderly subjects, as assessed by either functional magnetic resonance imaging²⁷ or a frequency domain tissue oximeter.²⁸ This deterioration could be related to arteriosclerosis, which is common in the elderly, and some authors have attributed this lack of response to a loss of prostaglandin-mediated vasodilatation.²⁹ Taking into account previous studies by our group,³⁰ we observed that the PtO_2 pattern in aged rats is similar to that obtained in animals subjected to intermittent hypoxia alone, endorsing the hypothesis that the mechanisms involved could be related to hypercapnia. Therefore, although hypercapnia was not the main cause of apnea-induced blood flow changes, the different results in PtO_2 observed among age groups could be explained, at least in part, by age differences in the response to hypercapnia.

This study also shows differences in brain oxidative stress assessed by lipid peroxidation; this is higher in young rats subjected to obstructive apneas than in old ones, for which there were no changes in LPO levels after recurrent airway obstructions. In support of this notion, GSSG significantly increased after apneas in young rats, providing evidence of a higher degree of oxidative stress and higher consumption of GSH. We also assessed the antioxidant system by analyzing enzymes such as SOD, CAT, GPx, and GPr. All of these are antioxidant enzymes responsible for preventing the spread of oxidative damage by catalyzing reactions that convert free radicals and oxygen reactive species into less harmful substances. SOD scavenges superoxide, converting it to H₂O₂ which is catabolized to water mainly by catalase preventing the formation of hydroxyl radical. GPx might also convert H₂O₂ to water in the oxidative reaction of glutathione and GPr reduces GSSG to keep up intracellular levels of GSH. We found that the expression of antioxidant enzymes was higher after apnea mainly in aged rats. These results are in agreement with previous studies showing that enzymatic antioxidant response to hypoxia/reoxygenation in aging rats did not diminish or even increase³¹ and that a good level of inducibility is maintained in old animals.³² This finding is probably the result of the presence of a low degree of oxidative stress at baseline in aged rats, as suggested by the higher GSSG in the aged sham group, which could act as an adaptive mechanism preventing reactive oxygen species increase. Accordingly, this lower oxidative stress observed in old rats, compared to young rats, may be caused by increased expression of antioxidants as well as a decreased reactive oxygen species production in brain tissue during apneas. In a previous work³⁰ on young rats, our group described lower oxidative stress, in an intermittent hypoxia model, when PtO₂ did not increase during the experiment, as observed here in aged rats. Moreover, the pattern of a progressive increase in PtO₂ values, as found in young rats subjected to apneas, was associated with high levels of oxidative stress. Our results agree with several studies that described an increase in brain oxidative stress in murine models of sleep apnea or intermittent hypoxia using young rats, which in turn has been associated with behavioral impairments and learning deficits,³³ and even apoptosis in brain tissue.³⁴

Despite the high prevalence of sleep apnea in the elderly population, we could locate only one study in the literature of the effects of this disease in aged brain substrate. In that study, an increased susceptibility to chronic intermittent hypoxia, evaluated as changes in proteasomal activity and neuronal apoptosis, was described in old rats.³⁵ The difference in the results can be explained by the fact that during intermittent hypoxia the PtO₂ pattern in young rats is different from that observed when applying apneas, as previously explained. Therefore, subjecting young and old rats to intermittent hypoxia probably reduces the actual differences between the age groups in terms of PtO₂ in brain tissue and could result in a higher susceptibility in the old group. The obstructive apnea experimental setting there seems more suitable, because it closely mimics OSA events, than intermittent hypoxia for studying brain changes associated with obstructive apneas, especially when comparing different age groups.

To our knowledge there are no data describing either the changes in brain oxygenation or in oxidative stress after apnea

in advanced age. Our findings are free from confounding factors caused by comorbidities and show for the first time how OSA interacts with aging. However, the current results were obtained in an acute model and therefore the chronic responses remain unknown. In a chronic phase, the observed vascular response as well as the brain oxidative stress could vary according to the balance between any damage induced by chronic apneas and the ability of the adaptive mechanisms to protect from or repair such damage.

In conclusion, our study, which shows a differential age-dependent effect of OSA on brain tissue, helps to shed light on the effect of OSA in the elderly population and the underlying mechanisms. The current study points the way to future experimental studies, adding some of the comorbidities typical of OSA to the aging paradigm.

ABBREVIATIONS

CAT, catalase
 DTNB, 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)
 GPr, glutathione reductase
 GPx, glutathione peroxidase-1
 GSSG, oxidized glutathione
 LPO, lipid peroxidation
 OSA, obstructive sleep apnea
 PtO₂, oxygen partial pressure
 RIPA, radioimmunoassay buffer
 SaO₂, arterial oxygen saturation
 SOD, Cu-Zn superoxide dismutase-1

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Miguel A. Rodríguez for his help with the laboratory procedures.

DISCLOSURE STATEMENT

This was not an industry supported study. This work was supported in part by SEPAR and Spanish Ministry of Science and Innovation (PI11/01892 and SAF2011-22576). Work was performed at Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. The authors have indicated no financial conflicts of interest.

REFERENCES

1. Peppard PE, Young T, Barnett JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol* 2013; 177:1006-14.
2. Trzepizur W, Le Vaillant M, Meslier N, et al. Independent association between nocturnal intermittent hypoxemia and metabolic dyslipidemia. *Chest* 2013;143:1584-9.
3. Bradley TD, Floras JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *Lancet*. 2009;373:82-93.
4. Torelli F, Moscufo N, Garreffa G, et al. Cognitive profile and brain morphological changes in obstructive sleep apnea. *Neuroimage* 2011;54:787-93.
5. Veasey S. Insights from animal models into the cognitive consequences of adult sleep-disordered breathing. *ILAR J* 2009;50:307-11.
6. Gozal D, Daniel JM, Dohanich GP. Behavioral and anatomical correlates of chronic episodic hypoxia during sleep in the rat. *J Neurosci* 2001; 21: 2442-50.
7. Rapino C, Bianchi G, Di Giulio C, et al. HIF-1alpha cytoplasmic accumulation is associated with cell death in old rat cerebral cortex exposed to intermittent hypoxia. *Aging Cell* 2005;4:177-85.
8. Almendros I, Montserrat JM, Torres M, González C, Navajas D, Farré R. Changes in oxygen partial pressure of brain tissue in an animal model of obstructive apnea. *Respir Res* 2010;11:3.

9. Christensen K, Doblhammer G, Rau R, Vaupel JW. Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet* 2009;374:1196–208.
10. Lopez OL, Jagust WJ, DeKosky ST, et al. Prevalence and classification of mild cognitive impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study: part 1. *Arch Neurol* 2003;60:1385–9.
11. Young T, Shahar E, Nieto FJ, et al. Sleep Heart Health Study Research Group. Predictors of sleep-disordered breathing in community-dwelling adults: the Sleep Heart Health Study. *Arch Intern Med* 2002;162:893–900.
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;163:685–9.
13. Cohen-Zion M, Stepnowsky C, Johnson S, Marler M, Dimsdale JE, Ancoli-Israel S. Cognitive changes and sleep disordered breathing in elderly: differences in race. *J Psychosom Res* 2004;56:549–53.
14. Kim HC, Young T, Mathews CG, et al. Sleep-disordered breathing and neurophysiological deficits: a population-based study. *Am J Crit Care Med* 1997;156:1813–9.
15. Sforza E, Roche F, Thomas-Anterion C, et al. Cognitive function and sleep related breathing disorders in a healthy elderly population: the SYNAPSE study. *Sleep* 2010;33:515–21.
16. Phillips BA, Berry D,TR, Schmitt FA, Magan LK, Gerhardtstein D, Cook YR. Sleep-disordered breathing in the healthy elderly. Clinically significant? *Chest* 1992;101:345–9.
17. Carreras A, Almendros I, Acerbi I, Montserrat JM, Navajas D, Farré R. Obstructive apneas induce early release of mesenchymal stem cells into circulating blood. *Sleep* 2009;32:117–9.
18. Offenhauser N, Thomsen K, Caesar K, Lauritzen M. Activity-induced tissue oxygenation changes in rat cerebellar cortex: interplay of postsynaptic activation and blood flow. *J Physiol* 2005;565:279–94.
19. Takano T, Tian GF, Peng W, et al. Cortical spreading depression causes and coincides with tissue hypoxia. *Nat Neurosci* 2007;10:754–62.
20. Clement EA, Richard A, Thwaites M, Ailon J, Peters S, Dickson CT. Cyclic and sleep-like spontaneous alternations of brain state under urethane anaesthesia. *PLoS One* 2008;3:e2004.
21. Hoffman WE, Pelligrino D, Miletich DJ, Albrecht RF. Brain metabolic changes in young vs aged rats during hypoxia. *Stroke* 1985;16:860–3.
22. Hoffman WE, Albrecht RF, Miletich DJ. Cerebrovascular response to hypoxia in young vs aged rats. *Stroke* 1984;15:129–33.
23. Carey BJ, Eames PJ, Blake MJ, Panerai RB, Potter JF. Dynamic cerebral autoregulation is unaffected by aging. *Stroke* 2000;31:2895–900.
24. Jensen FB. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: oxygen carriers and regulators of local blood flow. *J Exp Biol* 2009;212:3387–93.
25. Hare GM, Kavanagh BP, Mazer CD, et al. Hypercapnia increases cerebral tissue oxygen tension in anesthetized rats. *Can J Anaesth* 2003;50:1061–8.
26. Lartaud I, Bray-des-Boscès L, Chillon JM, Atkinson J, Capdeville-Atkinson C. In vivo cerebrovascular reactivity in Wistar and Fischer 344 rat strains during aging. *Am J Physiol* 1993;264:H851–8.
27. Riecker A, Grodd W, Klose U, et al. Relation between regional functional MRI activation and vascular reactivity to carbon dioxide during normal aging. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:565–73.
28. Gatto R, Hoffman WE, Mueller M, Paisansathan C, Charbel F. Age effects on brain oxygenation during hypercapnia. *J Biomed Op* 2007;12:062113.
29. Barnes JN, Schmidt JE, Nicholson WT, Joyner MJ. Cyclooxygenase inhibition abolishes age-related differences in cerebral vasodilator responses to hypercapnia. *J Appl Physiol* 2012;112:1884–90.
30. Almendros I, Farré R, Planas AM, et al. Tissue oxygenation in brain, muscle, and fat in a rat model of sleep apnea: differential effect of obstructive apneas and intermittent hypoxia. *Sleep* 2011;34:1127–33.
31. Martínez-Romero R, Cañuelo A, Martínez-Lara E, et al. Aging affects but does not eliminate the enzymatic antioxidative response to hypoxia/reoxygenation in cerebral cortex. *Exp Gerontol* 2006;41:25–31.
32. Amicarelli F, Ragnelli AM, Aimola P, et al. Age-dependent ultrastructural alterations and biochemical response of rat skeletal muscle after hypoxic or hyperoxic treatments. *Biochim Biophys Acta* 1999;1453:105–14.
33. Row BW, Liu R, Xu W, Kheirandish L, Gozal D. Intermittent hypoxia is associated with oxidative stress and spatial learning deficits in the rat. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:1548–53.
34. Xu W, Chi L, Row BW, et al. Increased oxidative stress is associated with chronic intermittent hypoxia-mediated brain cortical neuronal cell apoptosis in a mouse model of sleep apnea. *Neuroscience* 2004;126:313–23.
35. Gozal D, Row BW, Kheirandish L, et al. Increased susceptibility to intermittent hypoxia in aging rats: changes in proteasomal activity, neuronal apoptosis and spatial function. *J Neurochem* 2003;86:1545–52.

5. EFFECT OF CPAP ON COGNITION, BRAIN FUNCTION AND STRUCTURE AMONG ELDERLY PATIENTS WITH OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA: A RANDOMIZED PILOT STUDY.

Dalmases M, Solé-Padullés C, Torres M, Embid C, Nuñez MD, Martínez-Garcia MA, Farré R, Bargalló N, Bartrés-Faz D, Montserrat JM.

Chest. 2015; 148(5):1214-23.

Factor de impacto: 7.483 (2014). D1.

Effect of CPAP on Cognition, Brain Function, and Structure Among Elderly Patients With OSA

A Randomized Pilot Study

Mireia Dalmasas, MD; Cristina Solé-Padullés, PhD; Marta Torres, MSc; Cristina Embid, MD, PhD; Maria Dolores Nuñez, RN; Miguel Ángel Martínez-García, MD; Ramon Farré, PhD; Nuria Bargalló, MD, PhD; David Bartrés-Faz, PhD; and Josep M. Montserrat, MD, PhD

BACKGROUND: Despite the increasing aging population and the high prevalence of OSA in elderly adults, little is known about cognitive effects of OSA and the effectiveness of CPAP treatment. Therefore, this study investigated whether elderly patients with OSA present cognitive deficits and functional and structural alterations of the brain that could be improved by CPAP treatment.

METHODS: This randomized, evaluator-blinded, parallel-group, single-center pilot study involved patients aged ≥ 65 years with newly-diagnosed severe OSA syndrome. Thirty-three patients were assigned to receive either conservative care (CC) or CPAP plus CC for 3 months. At baseline and 3 months after treatment, patients underwent a neuropsychologic evaluation and a functional and structural MRI study of connectivity within the default mode network (DMN) and of cortical thickness.

RESULTS: Neuropsychologic evaluation revealed no differences in cognitive performance between OSA groups at baseline. By contrast, after CPAP treatment, patients showed a significant improvement in episodic (between-group difference in change, 7.60; 95% CI, 1.66-13.55; $P = .014$) and short-term memory (between-group difference in change, 1.06; 95% CI, 0.10-2.01; $P = .032$) and in executive function (speed of mental processing, 5.74; 95% CI, 1.69-9.79; $P = .007$; mental flexibility, -47.64 ; 95% CI, -81.83 to -13.45 ; $P = .008$), whereas no changes were observed in the CC group. Neuroimaging revealed an increase in the connectivity in the right middle frontal gyrus after 3 months of CPAP treatment and a higher percentage of cortical thinning in the CC group. No association was seen between cognition and brain functional connectivity changes within the DMN.

CONCLUSIONS: Elderly patients with severe OSA who present with cognitive difficulties could benefit from CPAP treatment. Moreover, CPAP treatment increases the connectivity of the DMN and attenuates cortical thinning.

TRIAL REGISTRY: ClinicalTrials.gov; No.: NCT01826032; URL: www.clinicaltrials.gov

CHEST 2015; 148(5):1214-1223

Manuscript received January 23, 2015; revision accepted May 11, 2015; originally published Online First June 11, 2015.

ABBREVIATIONS: CC = conservative care; CTh = cortical thickness; DMN = default mode network; EF = executive function; EM = episodic memory; ESS = Epworth Sleepiness Scale; HADS = Hospital Anxiety and Depression Scale; MMSE = Mini Mental State Examination; QSQ = Quebec Sleep Questionnaire; rMFG = right middle frontal gyrus; STM = short-term memory

AFFILIATIONS: From the Sleep Unit (Drs Dalmasas, Embid, and Montserrat and Mss Torres and Nuñez), Pneumology Department, Hospital Clínic de Barcelona-Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona; CIBERES (Drs Dalmasas, Embid, Farré, and Montserrat and Ms Torres), Madrid; Psychiatry and Clinical Psychobiology Department (Drs Solé-Padullés and Bartrés-Faz), Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona; Pneumology Department (Dr Martínez-García), Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia; Biophysics

Cognitive impairments have been described in middle-aged patients with OSA, affecting attention, psychomotor performance, and executive function (EF), with smaller effects on learning and memory.¹ Furthermore, research has revealed an association between cognitive performance and alterations in various brain areas using structural^{2,3} and functional⁴⁻⁶ neuroimaging studies. Moreover, CPAP could be effective at improving cognitive difficulties and reversing brain changes.⁷⁻⁹

Despite the increasing aging population in whom the prevalence of OSA is high,¹⁰ little is known about the effects of OSA at an advanced age. However, a report found that cerebral responses to apnea differ between young and aged rats.¹¹ The cognitive deficits described in middle-aged patients with OSA are quite similar to those observed in the healthy aging population.¹² Therefore, OSA and age could independently produce

similar effects on cognition, suggesting that OSA could add to age-related functional decline.¹³ Nevertheless, studies among elderly patients are conflicting, with some authors reporting a relationship between cognitive impairment and OSA¹⁴ and others not.¹⁵ Furthermore, data on the effectiveness of CPAP treatment are limited, with studies suggesting that CPAP may improve cognitive deficits¹⁶ and others finding no such effect.¹⁷

Given the limited evidence, we designed this study to assess the effect of CPAP treatment on cognition, focusing on the underlying cerebral mechanisms. We aimed to evaluate the following hypotheses:

(1) Elderly patients with OSA may present cognitive difficulties that could be improved with CPAP treatment, and (2) CPAP treatment could reverse or attenuate functional and structural brain changes associated with OSA.

Materials and Methods

Study Design, Participants, and Randomization

This open-label, randomized pilot study with parallel groups and blinded evaluation recruited patients between November 2011 and July 2013 (Fig 1). Eligible patients were aged ≥ 65 years, with newly-diagnosed severe OSA by polysomnography (see details in e-Appendix 1), and had an Epworth Sleepiness Scale (ESS) score ≤ 12 .¹⁸ Exclusion criteria were Mini Mental State Examination (MMSE) score < 24 , respiratory failure, neurologic or psychiatric disorders, chronic heart failure, unstable illnesses, other sleep disorders, contraindications for MRI, and inability to respond to questionnaires. The study was approved by the ethics committee (Project-CEIC 2011/6274) in accordance with the Declaration of Helsinki. Patients provided written informed consent.

Patients were randomized one to one to conservative care (CC) or CPAP plus CC by a computer-generated list. The allocation group was only revealed after baseline data were collected. Procedures were assessed by blinded personnel.

CC consisted of sleep hygiene and dietary counseling. CPAP titration was performed using polysomnography or auto-CPAP.¹⁹ Both groups had the same number of visits and continued their usual medical care.

and Bioengineering Department (Dr Farré), Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona - The August Pi Sunyer Biomedical Research Institute (IDIBAPS), Barcelona; Image Diagnostic Center (Dr Bargalló), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona; and Magnetic Resonance Image Core Facility (Dr Bargalló), IDIBAPS, Barcelona, Spain.

Part of this article has been presented at the 2014 ATS International Conference, May 16-21, 2014, San Diego, CA, and the ERS International Congress 2014, September 6-10, 2014, Munich, Germany.

FUNDING/SUPPORT: This work was supported in part by the Catalan Society of Pneumology (SOCAP) and the Spanish Ministry of Science and Innovation [PI11/01892].

CORRESPONDENCE TO: Josep M. Montserrat, MD, PhD, Sleep Unit, Pneumology Department, Hospital Clínic de Barcelona, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain; e-mail: jcanal@clinic.ub.es

© 2015 AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS. Reproduction of this article is prohibited without written permission from the American College of Chest Physicians. See online for more details.

DOI: 10.1378/chest.15-0171

Procedure

At baseline and after 3 months of treatment, patients underwent neuropsychologic evaluations, MRI, and questionnaires about sleepiness (ESS), sleep-related quality of life (Quebec Sleep Questionnaire [QSQ]), and mood (Hospital Anxiety and Depression Scale [HADS]). Additionally, to assess for differences in cognitive performance between patients and the general elderly population, cognitive function at baseline was compared with a historical control group (participants in a previous study²⁰) matched by age and educational background. This group was not suspected of having sleep disorders and did not have a sleep study.

Neuropsychologic Evaluation: The following cognitive tests covering the main cognitive domains were administered at the same time of day by the same examiner:

- Episodic memory (EM): Rey Auditory Verbal Learning Test
- Short-term memory (STM): digit span forward
- EF: working memory (digit span backward), speed of mental processing (digit symbol), visuomotor speed (Trail Making Test A), mental shifting (Trail Making Test B), and verbal fluency (semantic and phonemic)

Significant practice effects were unlikely, except for the Rey Auditory Verbal Learning Test and the verbal fluency tests for which we used two comparable versions of the task (A/B) that were counterbalanced.

MRI Acquisition and Analysis: High-resolution T1 MRI and 5-min resting-state functional MRI scans were obtained with a 3T Siemens MAGNETOM Trio Tim. Resting-state images were preprocessed and spatial independent component analysis conducted using GIFT (Group Independent Component Analysis fMRI Toolbox) software (<http://icatb.sourceforge.net>). The statistical threshold was set at $P < .001$, uncorrected for voxel level.

Cortical structures were processed using the longitudinal stream in FreeSurfer version 4.3.1 software (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>) and the QDEC toolbox, measuring the percent change. Results were interpreted with a z minimum threshold of 2.3 uncorrected ($P < .005$) (see details in e-Appendix 2).

Statistical Analysis

Results are expressed as mean \pm SD or median (first-third quartile) for continuous variables and number of patients (%) for categorical variables.

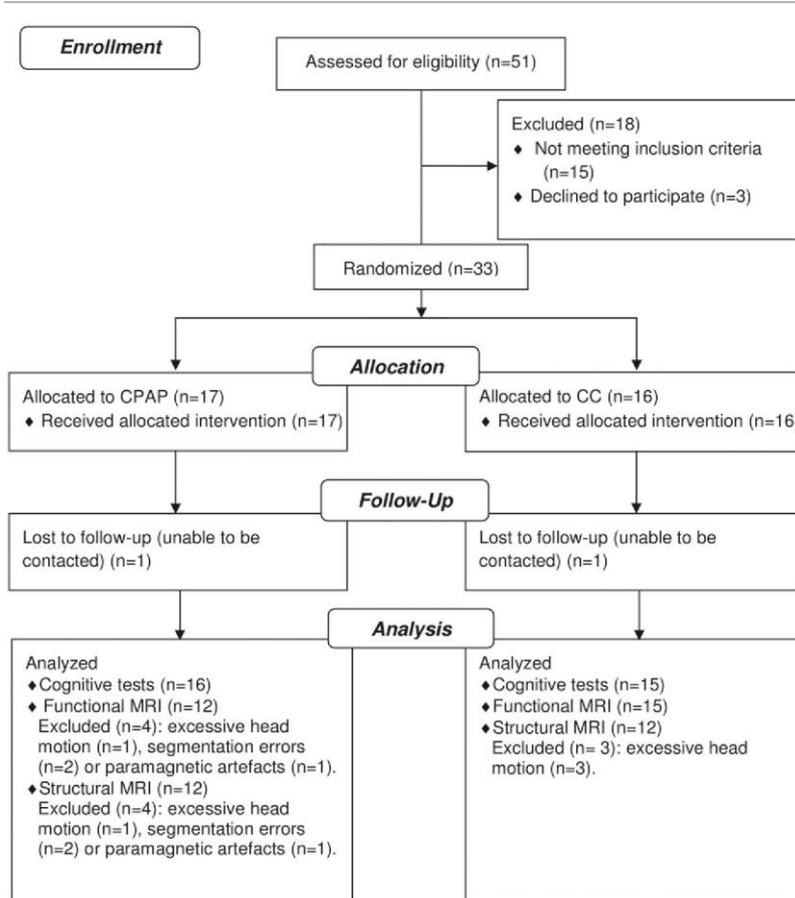


Figure 1 – Trial profile. Population screened and included in the study. CC = conservative care.

A prior test for normal data distribution was performed (Kolmogorov-Smirnov test). Continuous variables were compared using Student *t* test or Mann-Whitney *U* test, and categorical variables were compared using χ^2 or Fisher exact tests. We performed an analysis of covariance to

examine between-group differences on the neurocognitive tests and questionnaires (ESS, QSQ, HADS), with adjustment for baseline values. All tests were two-tailed, and significance was set at .05. Analyses were performed with SPSS Statistics software (IBM Corporation).

Results

Thirty-three patients were randomized (17 in the CPAP group and 16 in the CC group) (Fig 1). Baseline characteristics were comparable between treatment groups (Table 1). Data for the matched control group are shown in Table 2.

Neuropsychologic Findings

No differences were observed in global cognitive function (MMSE) between the OSA and control groups. However, patients with OSA performed worse than control subjects in STM and EF tasks. EM was also reduced, although this was not significantly different from that in control subjects (Table 2).

There were no significant differences in cognitive performance between OSA groups at the baseline neuropsychologic evaluation. However, between-group changes in cognitive variables during the study period showed that the CPAP group achieved improvements in STM (between-group difference in change, 1.06; 95% CI, 0.10-2.01; $P = .032$) and EM (between-group difference in change, 7.60; 95% CI, 1.66-13.55; $P = .014$) compared with the CC group. Additionally, the CPAP group exhibited ameliorations in speed of mental processing (between-group difference in change, 5.74; 95% CI, 1.69-9.79; $P = .007$) and mental flexibility (between-group difference in change, -47.64 ; 95% CI, -81.83 to -13.45 ; $P = .008$) (Table 3).

TABLE 1 | Baseline Characteristics

Characteristic	OSA (n = 33)	CPAP (n = 17)	CC (n = 16)	P Value
Age, y	71.30 ± 5.51	70.76 ± 5.13	71.88 ± 6.00	.57
Education, y	8.00 (8.00; 10.00)	10.00 (8.00; 10.00)	8.00 (8.00; 10.00)	.22
Male sex	23 (69.7)	11 (64.7)	12 (75)	.52
BMI, kg/m ²	31.39 ± 4.26	32.76 ± 3.92	29.94 ± 4.24	.06
Past cardiovascular events	4 (12.1)	2 (11.8)	2 (12.5)	>.99
Systemic hypertension	28 (84.8)	15 (88.2)	13 (81.3)	.66
Diabetes	4 (12.5)	1 (6.3)	3 (18.8)	.60
Dyslipidemia	11 (34.4)	4 (25.0)	7 (43.8)	.26
AHI, events/h	55.49 ± 17.63	61.16 ± 17.86	49.46 ± 15.75	.06
ODI 3%, events/h	41.85 (27.00; 57.50)	41.85 (28.45; 61.00)	36.95 (23.35; 57.50)	.34
ODI 4%, events/h	25.40 (12.60; 47.40)	26.65 (15.20; 65.40)	18.10 (5.90; 47.40)	.25
Arousal index, events/h	46.49 ± 17.70	49.90 ± 21.19	43.72 ± 14.39	.36
CT90, %	6.90 (3.70; 25.00)	16.50 (5.60; 27.10)	5.35 (2.30; 13.35)	.10
Sleep efficiency, %	72.94 ± 13.46	77.42 ± 13.78	69.31 ± 12.44	.11
Stage 1, %	9.80 (6.70; 14.20)	10.70 (6.30; 15.30)	9.00 (6.70; 11.70)	.47
Stage 2, %	55.65 (50.60; 61.30)	55.70 (45.60; 61.30)	55.60 (50.90; 62.10)	.72
Stage 3, %	16.25 ± 10.05	15.44 ± 9.38	17.05 ± 11.08	.72
REM, %	17.60 ± 6.73	19.59 ± 4.27	15.62 ± 8.25	.18
MMSE score	27.09 ± 1.70	27.53 ± 1.66	26.63 ± 1.67	.13
CPAP, cm H ₂ O	...	9.9 (1.7)
CPAP compliance, h/night	...	6.0 (1.6)
Residual AHI	...	7.2 (6.7)

Data are presented as mean ± SD, No. (%), or median (first quartile; third quartile). Percentages are calculated for nonmissing data. AHI = apnea-hypopnea index; CC = conservative care; CT90 = percentage of time spent at oxygen saturation < 90%; MMSE = Mini Mental State Examination; ODI = oxygen desaturation index; REM = rapid eye movement.

A nonsignificant trend toward improvement in all other cognitive tests was also found (Fig 2).

Resting-State Connectivity and Cortical Thickness

The principal component found to present a higher correlation ($r = 0.454$) with the default mode network (DMN) template²¹ involved the bilateral posterior cingulate cortex and precuneus, the left parahippocampal gyrus, and the right middle frontal gyrus (rMFG) and medial frontal gyrus. At baseline, no differences in DMN connectivity between OSA groups were found. At follow-up, a full factorial analysis showed a difference in the connectivity of the rMFG between the treatment groups ($t = 4.26$, $P = .013$) (Fig 3A). To clarify this finding, we conducted a voxel-of-interest analysis in the rMFG (Montreal Neurological Institute and Hospital x , y , z coordinates, 27, 33, 30). Only the CPAP group presented a significant increase in the intensity of connectivity ($F = 7.28$, $P = .012$) (Fig 3B).

Concerning cortical thickness (CTh), there were no differences between groups at baseline. The comparison of

CTh maps between the two time points revealed different clusters where percent thinning change was increased for the CC group, mainly in the frontal and parietal regions of the right hemisphere (Fig 4). Significant regions (mean value, vertex, size [in mm²]) included the frontal (pars opercularis, 4, 30,781, 105.53), paracentral (3.73, 140,140, 75.83), and parietal (inferior parietal, 4.04, 17,208, 266.87; postcentral, 3.12, 11,482, 45.93; precuneus, 3.07, 17,004, 40.93). The involved regions of the left hemisphere were the rostral middle frontal (3.33, 102,519, 41.24) and lingual (3.24, 56,055, 40.63). No significant changes in CTh were observed in the CPAP group.

Questionnaires

At baseline, there were no differences between the groups in ESS, QSQ, or HADS scores. In a between-group comparison of changes in sleep-related quality of life during the study period, the CPAP group showed improvement (greater increases in QSQ total ratings, nocturnal symptoms, and social interaction domains)

TABLE 2] Demographic, Clinical, and Neurocognitive Data for the Matched Control Group

Variable	Control Group (n = 17)	OSA (n = 33)	P Value
Age, y	70.63 ± 5.12	71.30 ± 5.51	.68
Education, y	10.00 (9.0; 12.0)	8.00 (8.0; 10.0)	.06
Male sex	10 (62.5)	23 (69.7)	.61
Past cardiovascular events	1 (6.3)	4 (12.1)	>.99
Systemic hypertension	10 (62.5)	28 (84.8)	.08
Diabetes	2 (13.3)	4 (12.5)	>.99
Dyslipidemia	6 (40.0)	11 (34.4)	.71
HADS-anxiety	3.00 (1.5; 5.0)	5.00 (2.0; 7.0)	.06
HADS-depression	4.75 ± 2.84	3.61 ± 2.91	.20
MMSE	28.00 (27.0; 29.0)	27.00 (26.0; 29.0)	.09
RAVLT	43.69 ± 5.87	38.52 ± 10.70	.07
Digit span forward	8.50 (7.0; 10.0)	6.00 (6.0; 8.0)	.001
Digit span backward	5.50 (5.0; 7.0)	4.00 (3.0; 5.0)	.002
TMT-A	48.13 ± 13.61	77.03 ± 30.20	<.001
TMT-B	114.75 ± 42.93	185.18 ± 79.99	<.001
Semantic fluency	23.00 ± 5.27	15.68 ± 4.50	<.001
Phonemic fluency	43.63 ± 13.01	29.86 ± 13.16	.002

Data are presented as mean ± SD, No. (%), or median (first quartile; third quartile). HADS = Hospital Anxiety and Depression Scale; RAVLT = Rey Auditory Verbal Learning Test; TMT = Trail Making Test. See Table 1 legend for expansion of other abbreviation.

compared with the CC group. No significant changes were observed for ESS and HADS scores (Table 4).

Discussion

This study shows that elderly patients with severe OSA present cognitive difficulties that could be improved by CPAP treatment. Furthermore, it indicates that CPAP treatment increases DMN connectivity and attenuates cortical thinning. Study patients treated with CPAP achieved improvements in sleep-related quality of life, particularly nocturnal symptoms.

Cognitive Performance

The results indicate that elderly patients with OSA presented cognitive difficulties compared with matched control subjects, which are consistent with studies indicating that OSA induces cognitive impairment at an advanced age,^{14,22} overwhelming the brain's capacity to maintain performance.²³ Although all cognitive domains were not assessed, the tests mainly affected were those reflecting frontal lobe-related functions as previously described in aging²⁴ and compatible with a cerebrovascular component contributing to cognitive profile.⁷ Furthermore, attentional tasks were compromised, suggesting an involvement of frontoparietal networks in elderly patients with OSA. In contrast, patients performed poorer but not significantly different than con-

trols in EM. Because of the relatively limited sample sizes, we cannot exclude the possibility that an effect on EM would have been observed if larger groups had been compared.

The study also demonstrates that cognitive difficulties could be at least partially reversed by CPAP. After CPAP, we observed improvements in STM, EM, and EF, whereas no significant changes were observed for the CC group. Hence, CPAP ameliorates performance in tasks closely related to frontal lobe functioning, which were significantly decreased compared with those in the matched control subjects, and in EM, which were marginally affected in the patients.

We observed cognitive improvements without changes in sleepiness. Although the ESS has limitations in elderly patients,²⁵ these findings suggest that hypoxemia could be the main factor through which cognition is affected, as suggested in previous studies²⁶⁻²⁸; however, we do not have data to confirm this.

The findings are consistent with a study conducted in older adults showing improvements in cognition with CPAP treatment,¹⁶ but they differ from those of the Continuous Positive Airway Pressure in Older People With Obstructive Sleep Apnea Syndrome (PREDICT) trial.¹⁷ However, given that neurobehavioral responses

TABLE 3 | Effect of Treatment on Change From Baseline in Neurocognitive Tests

Test	CC Group		CPAP Group		LS Means ^{a,b} Difference (SE) (CPAP – CC)	95% CI for the Difference		P Value
	Baseline (n = 16)	Follow-up (n = 15)	Baseline (n = 17)	Follow-up (n = 16)		Lower	Upper	
Digit span forward	6.75 ± 1.57	6.47 ± 1.25	6.53 ± 1.37	7.44 ± 1.67	1.06 (0.47)	0.10	2.01	.032
RAVLT (learning)	40.62 ± 12.44	38.07 ± 7.81	36.53 ± 8.68	44.69 ± 8.75	7.60 (2.90)	1.66	13.55	.014
Digit span backward	3.81 ± 1.60	3.80 ± 1.47	4.47 ± 1.55	5.25 ± 1.91	0.79 (0.53)	-0.30	1.88	.15
Digit symbol	35.50 ± 15.47	36.93 ± 16.19	39.12 ± 13.47	46.13 ± 13.03	5.74 (1.98)	1.69	9.79	.007
TMT-A	84.94 ± 28.37	76.80 ± 23.55	69.59 ± 30.79	63.25 ± 21.84	-2.68 (6.50)	-15.99	10.63	.68
TMT-B	186.19 ± 76.92	200.47 ± 80.81	184.24 ± 85.12	148.88 ± 71.06	-47.64 (16.69)	-81.83	-13.45	.008
Semantic fluency	15.31 ± 5.34	14.45 ± 3.86	16.00 ± 3.78	17.64 ± 5.09	2.01 (1.33)	-0.75	4.76	.15
Phonemic fluency	27.71 ± 13.02	27.17 ± 12.11	31.87 ± 13.41	41.50 ± 13.07	7.02 (3.49)	-0.20	14.23	.056

Data are presented as mean ± SD unless otherwise indicated. LS = least squares. See Table 1 and 2 legends for expansion of other abbreviations.

^aBased on analysis of covariance model for change from baseline in the neurocognitive variables as response and with treatment group as factor along with baseline values in the tests as covariate.

^bLS mean for the change from baseline in the neurocognitive variables in the analysis of covariance model.

are related to treatment compliance,^{29,30} the low adherence and CPAP usage (< 2 h) in the PREDICT trial might have diluted the treatment effect. Additionally, comorbidities that affect cognition were included and might have influenced the results.^{31,32}

Neuroimaging

To our knowledge, this study is the first to report resting-state connectivity changes associated with CPAP treatment in elderly patients, although frontoparietal, sensorimotor, and DMN alterations have been reported in middle-aged patients.³³ Unlike in most studies reporting task-related activity findings, we investigated the DMN at rest because it is highly informative of functional integrity, not constrained by the capacity to perform tasks, and sensitive for the effects of aging.³⁴

We found no differences in the DMN connectivity between OSA groups at baseline. However, after CPAP, patients showed a significant increase in the intensity of connectivity in the rMFG. Increases in at-rest DMN connectivity have been associated with better cognitive performance in elderly patients^{35,36} and reported following treatment.³⁷ The present results complement findings reporting normalization of DMN integrity evidenced as deactivations during task performance following treatment in middle-aged patients.⁸

However, the rMFG is not a region traditionally observed within the DMN³⁸; rather, it may be part of the dorsoattentional network. It is possible that an increase in functional integrity of this region within the DMN induced by CPAP reflects the engagement of additional brain resources not typically part of this network. This is consistent with findings that several regions of the frontal lobes, including this area, of elderly people may show resting-state activity that is not apparent in younger individuals.³⁹

Although cognitive changes were accompanied by functional changes in the CPAP group, no association was seen between cognition and increased connectivity within the rMFG. This finding is not unexpected because cognitive functions undergoing amelioration are more related to the left hemisphere and connectivity changes are contralateral. Furthermore, attention and EF might be more related to other resting-state networks (the salient and the executive control networks). Thus, only exploring the DMN could partially explain why cognitive and functional changes are not related.

We observed that the percent thinning change following treatment was increased mainly in the frontal and parietal

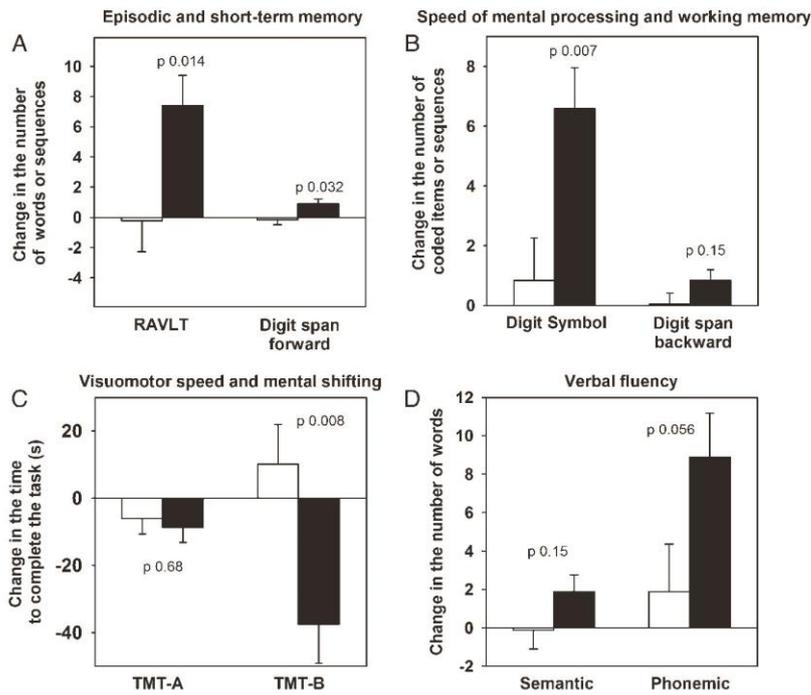


Figure 2 – Estimate of the treatment effect for the change between baseline and follow-up on neurocognitive tests in both randomized groups. A, Episodic and short-term memory. B, Speed of mental processing and working memory. C, Visuomotor speed and mental shifting. D, Verbal fluency. Based on the analysis of covariance model. Results are expressed as least squares mean ± SE. The CC group is represented in white and the CPAP group in black. RAVLT = Rey Auditory Verbal Learning Test; TMT = Trail Making Test. See Figure 1 legend for expansion of other abbreviation.

regions of the right hemisphere and the rostral middle frontal and the lingual areas of the left hemisphere in the CC group compared with the CPAP group. A study reported cortical thinning in the frontal, parietal, and temporal lobes of 0.005 to 0.01 mm loss/y.⁴⁰ At 3 months, the mean percent cortical thinning for the CC group was -0.00225 mm at the left rostral middle frontal and -0.007 mm at the left lingual parcellation. Assuming linearity of such changes, the estimated thinning would be of -0.009 and -0.028 mm/y, respectively, which is slightly greater than that reported in healthy aging. Nonetheless, these data must be inter-

preted cautiously because the measures used were not exactly the same.

Frontal and parietal regions are reported to be atrophic by voxel-based morphometry^{4,7,41} and CTh⁴² in middle-aged patients with OSA. The present results are consistent with a study⁴² in which most regions with the greatest cortical thinning (prefrontal, paracentral, inferior parietal, precuneus, and basal lateral temporal) coincide with those exhibiting changes at the follow-up assessment. Other regions affected as indicated in other studies^{2,4,43,44} did not exhibit significant changes in the present study (ie, frontal regions, lateral temporal

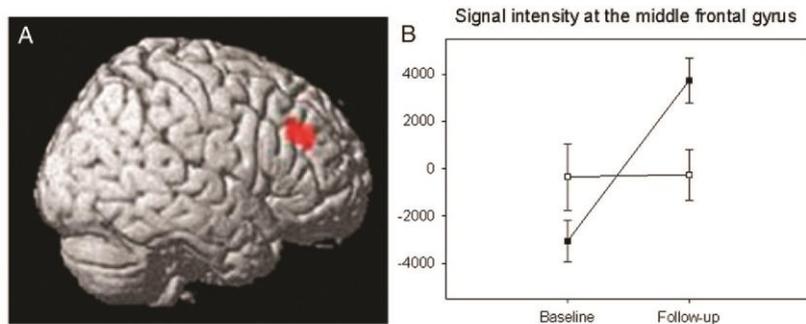


Figure 3 – A, Image contrasting the CPAP and CC groups at follow-up (full factorial design). The CPAP group shows increased connectivity of the right middle frontal gyrus (rMFG). B, Mean ± SEs for connectivity intensity at baseline and follow-up in the voxel of global maxima connectivity within the rMFG are shown. □ = CC group; ■ = CPAP group. See Figure 1 legend for expansion of other abbreviation.

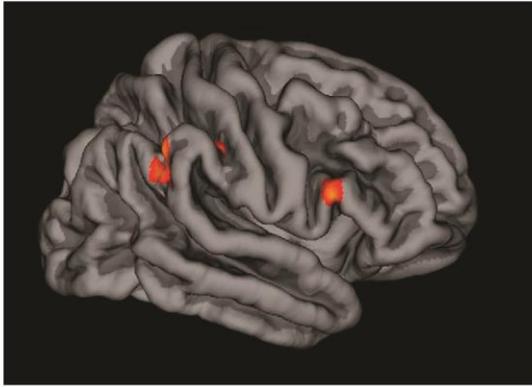


Figure 4 – Results from the percent change analysis revealed increased cortical thinning for the CC group compared with the CPAP group. Lateral view of the right hemisphere showing the frontal and parietal areas where changes in cortical thinning were most extensive (see text for a more precise anatomic description). See Figure 1 legend for expansion of abbreviation.

cortex, thalamus, hippocampus, cerebellum, parahippocampal gyrus). Despite not being directly comparable with previous literature because we did not perform a baseline comparison with the control group, the data suggest that changes in lateral frontal, parietal, and basal temporal cortices may be the most sensitive measures reflecting progressive atrophy in patients with OSA.

The present findings differ from those of a voxel-based morphometry study showing increases in frontal and hippocampal volumes with CPAP treatment.⁷ Nevertheless, we studied effects on CTh over regional gray matter volume because measuring cortical thinning represents a methodologic alternative to volumetric measurements, particularly during aging.⁴⁵ Although with a comparable number of patients and treatment duration hypoxemia rates reported in the previous study⁷ were higher than in the present study, suggesting that CPAP may induce more evident brain changes when hypoxemia is more severe. However, the most plausible explanation is that elderly patients probably had OSA for longer, making structural alterations more difficult to reverse. Although the aging brain can increase regional volumes in response to interventions,⁴⁶⁻⁴⁸ at 3 months, it remained relatively impermeable to CPAP effects at the morphologic level, even when benefits were observed at the functional and cognitive levels; thus, effects could have been found with longer treatment periods.

Quebec Sleep Questionnaire

We observed improvements in QSQ total scores, nocturnal symptoms, and social interaction domains after CPAP. However, only the nocturnal symptoms

TABLE 4] Effect of Treatment on Change From Baseline in Sleepiness, Sleep-Related Quality of Life, and Anxiety-Depression Scores Between Randomized Groups

Test	CC Group		CPAP Group		LS Mean ^{a,b} Difference (SE) (CPAP – CC)	95% CI for the Difference		P Value
	Baseline (n = 16)	Follow-up (n = 15)	Baseline (n = 17)	Follow-up (n = 16)		Lower	Upper	
ESS	5.75 ± 3.62	6.13 ± 2.77	7.94 ± 2.99	6.44 ± 3.81	-0.63 (1.12)	-2.93	1.67	.58
QSQ	29.63 ± 2.89	30.46 ± 2.44	26.54 ± 5.54	32.80 ± 5.43	3.25 (1.53)	0.13	6.38	.042
Sleepiness	6.33 ± 0.76	6.40 ± 0.75	5.44 ± 1.60	6.45 ± 0.69	0.35 (0.23)	-0.13	0.82	.15
Diurnal symptoms	5.87 ± 1.27	5.95 ± 0.81	5.09 ± 1.46	6.01 ± 0.84	0.36 (0.20)	-0.04	0.76	.078
Nocturnal symptoms	5.50 ± 1.04	5.78 ± 0.77	4.70 ± 1.34	6.19 ± 0.71	0.63 (0.26)	0.10	1.15	.022
Emotions	6.08 ± 0.63	6.20 ± 0.59	5.79 ± 1.11	6.27 ± 0.67	0.11 (0.21)	-0.33	0.54	.63
Social interaction	5.84 ± 0.98	6.13 ± 1.02	5.52 ± 1.37	6.72 ± 0.37	0.62 (0.27)	0.06	1.18	.032
HADS- depression	2.94 ± 2.82	2.40 ± 3.0	4.24 ± 2.95	2.75 ± 2.70	-0.42 (0.69)	-1.84	0.99	.55
HADS-anxiety	3.69 ± 3.28	3.00 ± 2.85	5.35 ± 2.76	4.44 ± 2.90	0.43 (0.71)	-1.03	1.88	.55

Data are presented as mean ± SD unless otherwise indicated. ESS = Epworth Sleepiness Scale; QSQ = Quebec Sleep Questionnaire. See Table 1-3 legends for expansion of other abbreviations.

^aBased on analysis of covariance model for change from baseline in the ESS, QSQ, and HADS variables as response and with treatment group as factor along with baseline values in the questionnaires as covariate.

^bLS mean for the change from baseline in the ESS, QSQ, and HADS variables in the analysis of covariance model.

domain reached clinical significance⁴⁹; albeit, the test's validation was conducted in a younger population.

Limitations and Strengths

Some limitations must be stressed. First, included patients had severe OSA, were living in the community, and had an MMSE score ≥ 24 . Elderly patients with milder OSA and with disabilities were excluded; thus, results should be extrapolated cautiously. Second, sham CPAP was not used, although there is no consensus on an optimal comparator⁵⁰ and objective measurements support a real effect. Third, although the control sample was matched by age and educational background, raters assessing the neuropsychologic tests in the two samples were different. Finally, spontaneous cognition may predict a small portion of variability during resting-state measurements,⁵¹ although we could not control for this.

The main strength of the study is its focus on older patients, which to our knowledge, is the first to assess

the treatment effect on cognition through neurocognitive tests and objective structural MRI and functional MRI. Techniques particularly reliable in elderly patients were used; resting-state DMN and CTh, which provides an index of cortical morphology,^{52,53} unaffected by how convoluted the brain is,⁵⁴ which is important when atrophy is expected. Moreover, other sleep disorders often entangled with OSA were excluded by formal evaluation by a sleep specialist.

Conclusions

This study shows that cognitive difficulties could be improved by CPAP treatment in elderly patients and demonstrates that CPAP could effectively improve cerebral function by increasing DMN connectivity and attenuating cortical thinning. On the basis of these findings, we suggest that CPAP treatment should be considered in elderly patients with severe OSA, even without having high ESS scores. Further research is needed to confirm these results and to assess the effectiveness of CPAP treatment in patients with milder OSA and more disabilities.

Acknowledgments

Author contributions: M. D. and J. M. M. had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis, including and especially any adverse effects. M. D. contributed to the study concept and design, coordination of the data acquisition, data analysis and interpretation, and writing of the manuscript; C. S.-P. contributed to the study design, data analysis and interpretation, and writing and revision of the manuscript; M. T. and M. D. N. contributed to the study design, data acquisition, and writing of the manuscript; C. E. contributed to the study design, data acquisition, data interpretation, and writing of the manuscript; M. A. M.-G. contributed to the study design and revision of the manuscript; R. F. contributed to the study concept and design, data interpretation, and critical revision of the manuscript; N. B. contributed to the data acquisition, data analysis, and revision of the manuscript; D. B.-F. contributed to the study design, data analysis and interpretation, and writing and revision of the manuscript; and J. M. M. contributed to the study concept and design, data interpretation, and writing and critical revision of the manuscript.

Conflict of interest: None declared.

Role of sponsors: The sponsor had no role in the design, collection, and analysis of the data or the preparation of the manuscript.

Other contributions: The study was performed at Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

Additional information: The e-Appendixes can be found in the Supplemental Materials section of the online article.

References

- Sforza E, Roche F. Sleep apnea syndrome and cognition. *Front Neurol*. 2012;3:87.
- Morrell MJ, Jackson ML, Twigg GL, et al. Changes in brain morphology in patients with obstructive sleep apnoea. *Thorax*. 2010;65(10):908-914.
- Joo EY, Tae WS, Lee MJ, et al. Reduced brain gray matter concentration in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep*. 2010;33(2):235-241.
- Yaouhi K, Bertran F, Clochon P, et al. A combined neuropsychological and brain imaging study of obstructive sleep apnea. *J Sleep Res*. 2009;18(1):36-48.
- Prilipko O, Huynh N, Schwartz S, et al. Task positive and default mode networks during a parametric working memory task in obstructive sleep apnea patients and healthy controls. *Sleep*. 2011;34(3):293-301A.
- O'Donoghue FJ, Wellard RM, Rochford PD, et al. Magnetic resonance spectroscopy and neurocognitive dysfunction in obstructive sleep apnea before and after CPAP treatment. *Sleep*. 2012;35(1):41-48.
- Canessa N, Castronovo V, Cappa SF, et al. Obstructive sleep apnea: brain structural changes and neurocognitive function before and after treatment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(10):1419-1426.
- Prilipko O, Huynh N, Schwartz S, et al. The effects of CPAP treatment on task positive and default mode networks in obstructive sleep apnea patients: an fMRI study. *PLoS One*. 2012;7(12):e47433.
- Castronovo V, Canessa N, Strambi LF, et al. Brain activation changes before and after PAP treatment in obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2009;32(9):1161-1172.
- Peppard PE, Young T, Barnett JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol*. 2013;177(9):1006-1014.
- Dalmases M, Torres M, Márquez-Kisinousky L, et al. Brain tissue hypoxia and oxidative stress induced by obstructive apneas is different in young and aged rats. *Sleep*. 2014;37(7):1249-1256.
- Hedden T, Gabrieli JD. Insights into the ageing mind: a view from cognitive neuroscience. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5(2):87-96.
- Ayalon L, Ancoli-Israel S, Drummond SP. Obstructive sleep apnea and age: a double insult to brain function? *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182(3):413-419.
- Kim H, Dinges DF, Young T. Sleep-disordered breathing and psychomotor vigilance in a community-based sample. *Sleep*. 2007;30(10):1309-1316.
- Sforza E, Roche F, Thomas-Anterion C, et al. Cognitive function and sleep related breathing disorders in a healthy elderly population: the SYNAPSE study. *Sleep*. 2010;33(4):515-521.
- Aloia MS, Illiczky N, Di Dio P, Perlis ML, Greenblatt DW, Giles DE. Neuropsychological changes and

- treatment compliance in older adults with sleep apnea. *J Psychosom Res.* 2003;54(1):71-76.
17. McMillan A, Bratton DJ, Faria R, et al; PREDICT Investigators. Continuous positive airway pressure in older people with obstructive sleep apnoea syndrome (PREDICT): a 12-month, multicentre, randomised trial. *Lancet Respir Med.* 2014;2(10):804-812.
 18. Lloberes P, Durán-Cantolla J, Martínez-García MA, et al; Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery. Diagnosis and treatment of sleep apnea-hypopnea syndrome. *Arch Bronconeumol.* 2011;47(3):143-156.
 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(11):1218-1224.
 20. Sala-Llonch R, Junqué C, Arenaza-Urquijo EM, et al. Changes in whole-brain functional networks and memory performance in aging. *Neurobiol Aging.* 2014;35(10):2193-2202.
 21. Franco AR, Pritchard A, Calhoun VD, Mayer AR. Interrater and intermethod reliability of default mode network selection. *Hum Brain Mapp.* 2009;30(7):2293-2303.
 22. Ju G, Yoon IY, Lee SD, Kim TH, Choe JY, Kim KW. Effects of sleep apnea syndrome on delayed memory and executive function in elderly adults. *J Am Geriatr Soc.* 2012;60(6):1099-1103.
 23. Alchanatis M, Zias N, Deligiorgis N, et al. Comparison of cognitive performance among different age groups in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2008;12(1):17-24.
 24. Park DC, Reuter-Lorenz P. The adaptive brain: aging and neurocognitive scaffolding. *Annu Rev Psychol.* 2009;60:173-196.
 25. Onen F, Moreau T, Gooneratne NS, Petit C, Falissard B, Onen SH. Limits of the Epworth Sleepiness Scale in older adults. *Sleep Breath.* 2013;17(1):343-350.
 26. Blackwell T, Yaffe K, Ancoli-Israel S, et al; Osteoporotic Fractures in Men Study Group. Associations between sleep architecture and sleep-disordered breathing and cognition in older community-dwelling men: the Osteoporotic Fractures in Men Sleep Study. *J Am Geriatr Soc.* 2011;59(12):2217-2225.
 27. Spira AP, Blackwell T, Stone KL, et al. Sleep-disordered breathing and cognition in older women. *J Am Geriatr Soc.* 2008;56(1):45-50.
 28. Yaffe K, Laffan AM, Harrison SL, et al. Sleep-disordered breathing, hypoxia, and risk of mild cognitive impairment and dementia in older women. *JAMA.* 2011;306(6):613-619.
 29. Antic NA, Catcheside P, Buchan C, et al. The effect of CPAP in normalizing daytime sleepiness, quality of life, and neurocognitive function in patients with moderate to severe OSA. *Sleep.* 2011;34(1):111-119.
 30. Zimmerman ME, Arnedt JT, Stanchina M, Millman RP, Aloia MS. Normalization of memory performance and positive airway pressure adherence in memory-impaired patients with obstructive sleep apnea. *Chest.* 2006;130(6):1772-1778.
 31. Kilander L, Andrén B, Nyman H, Lind L, Boberg M, Lithell H. Atrial fibrillation is an independent determinant of low cognitive function: a cross-sectional study in elderly men. *Stroke.* 1998;29(9):1816-1820.
 32. Dardiotis E, Giomouzis G, Mastrogiannis D, et al. Cognitive impairment in heart failure. *Cardiol Res Pract.* 2012;2012:595821.
 33. Zhang Q, Wang D, Qin W, et al. Altered resting-state brain activity in obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2013;36(5):651-659B.
 34. Ferreira LK, Busatto GF. Resting-state functional connectivity in normal brain aging. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013;37(3):384-400.
 35. Andrews-Hanna JR, Snyder AZ, Vincent JL, et al. Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron.* 2007;56(5):924-935.
 36. Vidal-Piñeiro D, Valls-Pedret C, Fernández-Cabello S, et al. Decreased Default Mode Network connectivity correlates with age-associated structural and cognitive changes. *Front Aging Neurosci.* 2014;6:256.
 37. Solé-Padullés C, Bartrés-Faz D, Lladó A, et al. Donepezil treatment stabilizes functional connectivity during resting state and brain activity during memory encoding in Alzheimer's disease. *J Clin Psychopharmacol.* 2013;33(2):199-205.
 38. Smith SM, Fox PT, Miller KL, et al. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(31):13040-13045.
 39. Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: evidence from functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(13):4637-4642.
 40. Pacheco J, Goh JO, Kraut MA, Ferrucci L, Resnick SM. Greater cortical thinning in normal older adults predicts later cognitive impairment. *Neurobiol Aging.* 2015;36(2):903-908.
 41. Macey PM, Henderson LA, Macey KE, et al. Brain morphology associated with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(10):1382-1387.
 42. Joo EY, Jeon S, Kim ST, Lee JM, Hong SB. Localized cortical thinning in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep.* 2013;36(8):1153-1162.
 43. Torelli F, Moscufo N, Garreffa G, et al. Cognitive profile and brain morphological changes in obstructive sleep apnea. *Neuroimage.* 2011;54(2):787-793.
 44. Weng HH, Tsai YH, Chen CF, et al. Mapping gray matter reductions in obstructive sleep apnea: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Sleep.* 2014;37(1):167-175.
 45. Hutton C, Draganski B, Ashburner J, Weiskopf N. A comparison between voxel-based cortical thickness and voxel-based morphometry in normal aging. *Neuroimage.* 2009;48(2):371-380.
 46. Colcombe SJ, Kramer AF, McAuley E, Erickson KI, Scalf P. Neurocognitive aging and cardiovascular fitness: recent findings and future directions. *J Mol Neurosci.* 2004;24(1):9-14.
 47. Colcombe SJ, Erickson KI, Scalf PE, et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006;61(11):1166-1170.
 48. Engvig A, Fjell AM, Westlye LT, et al. Effects of memory training on cortical thickness in the elderly. *Neuroimage.* 2010;52(4):1667-1676.
 49. Lacasse Y, Bureau MP, Sériès F. A new standardised and self-administered quality of life questionnaire specific to obstructive sleep apnoea. *Thorax.* 2004;59(6):494-499.
 50. McDaid C, Griffin S, Weatherly H, et al. Continuous positive airway pressure devices for the treatment of obstructive sleep apnoea-hypopnoea syndrome: a systematic review and economic analysis. *Health Technol Assess.* 2009;13(4).
 51. Andrews-Hanna JR, Reidler JS, Huang C, Buckner RL. Evidence for the default network's role in spontaneous cognition. *J Neurophysiol.* 2010;104(1):322-335.
 52. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(20):11050-11055.
 53. Lerch JP, Evans AC. Cortical thickness analysis examined through power analysis and a population simulation. *Neuroimage.* 2005;24(1):163-173.
 54. Hutton C, De Vita E, Ashburner J, Deichmann R, Turner R. Voxel-based cortical thickness measurements in MRI. *Neuroimage.* 2008;40(4):1701-1710.

CHEST™ Online Supplement

Effect of CPAP on Cognition, Brain Function, and Structure Among Elderly Patients With OSA

A Randomized Pilot Study

Mireia Dalmasas, MD; Cristina Solé-Padullés, PhD; Marta Torres, MSc; Cristina Embid, MD, PhD; Maria Dolores Nuñez, RN; Miguel Ángel Martínez-García, MD; Ramon Farré, PhD; Nuria Bargalló, MD, PhD; David Bartrés-Faz, PhD; and Josep M. Montserrat, MD, PhD

CHEST 2015; 148(5):1214-1223

e-Appendix 1.

Sleep study.

All patients underwent a standard laboratory polysomnography (Somté PSG, Compumedics Limited 2006, Abbotsford, Victoria, Australia) which was performed according to the technical specifications of the American Academy of Sleep Medicine (AASM)¹. The recorded variables were electroencephalogram, electrooculogram, chin and leg electromyogram; and electrocardiogram. The respiratory variables analyzed were linearized nasal pressure prongs and oronasal thermal flow waveform, respiratory effort signals measured by inductive bands that recorded ribcage and abdominal movements, oxygen saturation, body position and snoring.

Results from all sleep studies were analyzed by trained personnel using standard criteria. Apnea events were defined as an interruption of oronasal airflow lasting more than 10s; hypopneas were defined as a 30%-90% drop of respiratory amplitude lasting more than 10s associated to greater than 3% desaturation or to arousal. The apnea-hypopnea index (AHI) was calculated based on the average number of apnea plus hypopnea episodes per hour of sleep. Severe obstructive sleep apnea (OSA) was defined as an AHI \geq 30 events/hour.

e-Appendix 2.

MRI acquisition

A high resolution T1-weighted 3-dimensional magnetization prepared rapid gradient sequence was obtained using the following parameters: 240 sagittal slices; repetition time (TR) = 2300 ms; echo time (TE) = 2.98 ms; slice thickness = 1 mm; inversion time (TI) = 900; field of view (FOV) = 100 × 100 cm; matrix size = 256 × 256; and flip angle = 9°.

Following structural imaging, a five-minute resting-state fMRI scanning was acquired. T2-weighted volumes were obtained using these parameters: 150 volumes, TR = 2000 ms, TE = 16 ms, 40 slices per

Online supplements are not copyedited prior to posting.

CHEST™ Online Supplement

volume, slice thickness = 3 mm, voxel size = 1.7 x 1.7 mm, distance factor = 25%, FOV = 220 mm, matrix size = 128 x 128.

Before starting the resting-state acquisition, subjects were instructed to keep their eyes closed, try not to sleep and not think of anything in particular, which is a standard procedure widely reported in the literature and employed in resting-state fMRI reports from our group²⁻⁴. At the end of the acquisition subjects were asked how they felt, to make sure that they had not fallen asleep.

MRI analysis

A certified neuroradiologist examined all images to exclude any major evidences of brain damage such as tumors or brain infarcts. Specifically, to rule out patients with a high load of ischemic damage, a T2-weighted volume or a 3-dimensional FLAIR image sequence was also included and the Fazekas score was determined. All patients presented scores less than 3 in this scale.

fMRI:

For the resting-state fMRI analyses we focused on the Default Mode Network (DMN), which is a core brain network comprising a group of interconnected brain regions (medial frontal, posterior cingulate/precuneus, and medial temporal areas) that are activated during internal mentation tasks and deactivated not only during memory encoding but also in other cognitive tasks requiring attention to external stimuli⁵. The DMN is highly susceptible to major conditions affecting brain integrity, such as initial phases of dementia⁶ and is also more sensitive to the effects of age than other resting-state networks⁷.

Processing: Scans were realigned to remove the effects of head movement and co-registered with the structural image. Following this, spatial normalization of the images was carried out into a standardized coordinate system (Montreal Neurological Institute, MNI). Normalized images were smoothed with an 8 mm full-width at half-maximum isotropic Gaussian kernel.

Spatial independent component analysis (ICA) was next conducted using the GIFT software. Data from all subjects and sessions, as previously reported⁸, were concatenated and ICA was performed in three stages: 1) a two-step data reduction was applied using a subject specific standard principal component analysis, where the first step estimated a number of 30 components and after the second reduction step 20 components were obtained; 2) the infomax algorithm was applied, and 3) components were back reconstructed using a GICA tool. Components were sorted by correlation with a template of the DMN in the GIFT software. The component with higher correlation with this target network was selected for each subject and session and imported to second-level analyses using SPM5 running in Matlab 6.5. Brain regions conforming to the main component were defined by importing images from each subject and session to a group statistical parametric map.

Online supplements are not copyedited prior to posting.

CHEST™ Online Supplement

Analysis: A full factorial approach was conducted for the functional analyses to test for differences in functional connectivity within the DMN as a function of treatment (CPAP vs CC groups) and time sessions (baseline vs follow-up).

Structural MRI:

As a structural measure of the cortical mantle we used cortical thickness (CTh) analyses⁹, that along with other methods such as voxel based morphometry (VBM)¹⁰, allow examining regional differences in gray matter at the voxel-by-voxel level or by mapping the cortical gray matter on a surface-based representation of the brain. Nonetheless, measures of CTh have been suggested to be more sensitive than VBM, for its higher signal-to-noise ratio, particularly during aging¹¹.

Processing (longitudinal stream in FreeSurfer): To extract reliable thickness estimates, images were automatically processed. First, all data were run independently for all time points and subjects, second, the unbiased within-subject templates were created using robust, inverse consistent registration¹² and finally, we obtained the longitudinal using the subject template. Processing steps, including skull stripping, Talairach transforms, atlas registration, spherical surface maps, and parcellations were conducted with common information from the within-subject template, significantly increasing reliability and statistical power¹³. Based on gyral and sulcal anatomy, the cortex was segmented into 34 different gyral regions per hemisphere (13 frontal, 9 temporal, 4 occipital, 7 parietal, and the insula), using the Desikan–Killiany atlas¹⁴. For each of these regions, the mean cortical thickness was calculated as the distance (in mm) between the pial and gray/white matter surfaces. Longitudinal data was checked for segmentation and registration accuracy using FreeSurfer's Tkmedit viewer. No image needed manual editing.

Analysis (QDEC toolbox in FreeSurfer (www.surfer.nmr.mgh.harvard.edu)): Changes in bilateral subcortical and cortical structures at three months were investigated using vertex-based paired t-tests obtained with general linear models, using the number of days between the scanning sessions as a nuisance variable. Normalized maps of each subject were smoothed with a full-width at half-maximum kernel of 10 mm. The percent change was the measure we took into account for the second-level analysis with the QDEC. This measure is the rate with respect to the thickness at the first time point, and it informs us about the percent thinning present at a given cortical location.

Online supplements are not copyedited prior to posting.



CHEST™ Online Supplement

REFERENCES

1. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ et al. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. Deliberations of the Sleep Apnea Definitions Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med*. 2012;8(5):597-619.
2. Vidal-Piñeiro D, Valls-Pedret C, Fernández-Cabello S et al. Decreased Default Mode Network connectivity correlates with age-associated structural and cognitive changes. *Front Aging Neurosci*. 2014;6:256.
3. Solé-Padullés C, Bartrés-Faz D, Lladó A et al. Donepezil treatment stabilizes functional connectivity during resting state and brain activity during memory encoding in Alzheimer's disease. *J Clin Psychopharmacol*. 2013;33(2):199-205
4. Sala-Llonch R, Junqué C, Arenaza-Urquijo EM et al. Changes in whole-brain functional networks and memory performance in aging. *Neurobiology of Aging*. 2014; 35(10):2193-202.
5. Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1124:1-38.
6. Sheline YI, Raichle ME. Resting state functional connectivity in preclinical Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 2013;74(5):340-7.
7. Damoiseaux JS, Beckmann CF, Arigita EJ et al. Reduced resting-state brain activity in the "default network" in normal aging. *Cereb Cortex*. 2008;18(8):1856-1864.
8. Calhoun VD, Adali T, Pearlson GD et al. A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis. *Hum Brain Mapp*. 2001;14(3):140-151.
9. Fischl B and Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad of Sci USA*. 2000;97(20):11050-5.
10. Ashburner J and Friston KJ. Voxel-based morphometry—the methods. *Neuroimage*. 2000;11:805–21
11. Hutton C, Draganski B, Ashburner J, Weiskopf N. A comparison between voxel-based cortical thickness and voxel-based morphometry in normal aging. *Neuroimage*. 2009;48(2):371-80.
12. Reuter, M, Rosas, H.D, Fischl, B. Highly accurate inverse consistent registration: a robust approach. *Neuroimage*. 2010;53(4):1181–1196.
13. Reuter, M, Schmansky, N.J, Rosas, H.D, Fischl, B. Within-subject Template estimation for unbiased longitudinal image analysis. *Neuroimage*. 2012;61(4):1402-1418.
14. Desikan RS, Ségonne F, Fischl B et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*. 2006;31(3):968-80.

Online supplements are not copyedited prior to posting.

6. DISCUSIÓN

Los estudios que componen esta tesis doctoral investigaron cuáles son las consecuencias cerebrales y cognitivas de las apneas del sueño en la edad avanzada, así como los mecanismos subyacentes que podrían explicar, al menos en parte, dichos efectos. Dado que se trataba de una primera aproximación al tema, sin estudios precedentes, se quiso evitar la presencia de patología asociada que pudiera actuar como factor de confusión y dificultar la valoración de la interacción SAHS-edad, por este motivo los trabajos aquí presentados se realizaron en un modelo murino y en pacientes sin comorbilidad notoria asociada.

En un primer estudio experimental se investigó si la edad modulaba la respuesta cerebral a las apneas obstructivas y, por lo tanto, podían existir distintos efectos en animales jóvenes y viejos sometidos a apneas recurrentes. En continuidad con éste y con una voluntad traslacional, se planteó un segundo estudio, esta vez clínico, dónde se evaluó si los pacientes ancianos con SAHS presentaban deterioro cognitivo, si éste se asociaba a la presencia de anomalías funcionales o estructurales cerebrales y cuáles eran los efectos del tratamiento con CPAP en estos pacientes.

Evaluación de la presión parcial de oxígeno, estrés oxidativo y enzimas antioxidantes en tejido cerebral en un modelo murino de apneas obstructivas. Estudio del efecto de la edad.

En el primer estudio, y de acuerdo con la literatura existente que relaciona el deterioro cognitivo en el SAHS con la presencia de estrés oxidativo cerebral, se planteó un trabajo experimental con el fin de evaluar los efectos cerebrales inducidos por las apneas obstructivas en distintos grupos de edad así como los posibles mecanismos implicados. Para ello se diseñó un protocolo en un modelo murino con ratas jóvenes y viejas sometidas a apneas recurrentes. Este estudio estaba dividido en dos subproyectos con objetivos concretos; el primero determinar si los cambios dinámicos en presión parcial de oxígeno tisular (PtO_2) en córtex cerebral durante las apneas obstructivas eran diferentes según la edad (protocolo 1), y el segundo evaluar los niveles de estrés oxidativo y expresión de enzimas antioxidantes en los diferentes grupos de edad (protocolo 2).

Para la aplicación de las apneas obstructivas se utilizó un sistema no invasivo validado previamente (110). El sistema consta de una mascarilla nasal con dos tubos; uno abierto a la atmósfera y otro conectado a una fuente de aire para evitar la reinhalación. Para aplicar oclusiones o permitir respiración espontánea, dos válvulas electrónicamente sincronizadas situadas en los tubos se cierran o abren, respectivamente. Este sistema imita las obstrucciones cíclicas en vía aérea que se producen en el SAHS, y a diferencia de los sistemas de hipoxia intermitente habitualmente utilizados, produce hipoxia e hipercapnia intermitente así como esfuerzo respiratorio, siendo por lo tanto más próximo a lo que ocurre en los pacientes con apneas obstructivas del sueño. El patrón que se aplicó fue de 50 apneas por hora, con una duración de la apnea de 15 segundos; correspondiendo a un SAHS grave. Los animales se sometieron a apneas durante 50 minutos en el protocolo 1 y 4 horas en el protocolo 2. El grupo control fue igualmente instrumentado y durante el mismo período de tiempo pero con las válvulas siempre abiertas; sin aplicar obstrucciones en vía aérea. Para medir los cambios en la PtO_2 en el córtex cerebral se utilizó un microelectrodo de oxígeno tipo Clark, previamente usado en otros modelos animales de SAHS (111). Este sensor tiene un tiempo de respuesta

menor a 2 segundos que permite analizar los rápidos cambios en presión parcial que se producen durante las apneas. Además, su reducido tamaño (punta de 50 μ m) garantiza un traumatismo mínimo en los tejidos en que se introduce. Para la aplicación de apneas y para realizar las mediciones de PtO₂ los animales tienen que estar anestesiados para asegurar su inmovilidad. En este caso, se utilizó uretano por ser un tipo de anestesia irreversible e inducir un estado de inconsciencia con alternancias cíclicas en la actividad cerebral que se asemeja al observado durante el sueño (112).

Los resultados de este estudio indican que los efectos cerebrales inducidos por las apneas obstructivas recurrentes están modulados por la edad, produciéndose diferentes respuestas en PtO₂, estrés oxidativo cerebral y expresión de enzimas antioxidantes en animales jóvenes y viejos.

Las medidas de presión parcial de oxígeno en córtex cerebral mostraron diferentes patrones en los dos grupos de edad a pesar de no existir diferencias significativas en los valores de saturación arterial de oxígeno entre grupos ni a lo largo del experimento. En animales jóvenes los valores mínimos y máximos de PtO₂ aumentaron gradualmente a medida que se sucedían las apneas, siendo significativamente más altos al final del experimento (concordante con resultados de estudios previos) (113); sin embargo, en animales viejos los valores al final del experimento no diferían de los valores iniciales.

Teniendo en cuenta que el metabolismo cerebral disminuye con la edad, los valores más bajos de PtO₂ en ratas viejas no parecen relacionados con un mayor consumo de oxígeno sino más bien con un menor aporte. Estos resultados sugieren que los mecanismos que permitirían aumentar el aporte de oxígeno al cerebro durante las apneas, principalmente mediante cambios en el flujo sanguíneo cerebral, podrían estar alterados en los animales de mayor edad y determinar las diferencias observadas. De acuerdo con la literatura existente, las respuestas vasodilatadoras a la hipoxia (114) y la autorregulación cerebral (115) no están afectadas en el envejecimiento, a diferencia de la respuesta a la hipercapnia que sí se ha descrito alterada en la edad avanzada (116). Por lo tanto, las diferencias en el patrón de presión parcial de oxígeno podrían explicarse, al menos en parte, por una defectuosa respuesta vasodilatadora a la hipercapnia. Además, el patrón de PtO₂ observado en animales viejos es superponible al descrito en animales jóvenes sometidos únicamente a hipoxia intermitente, hecho que refuerza la hipótesis de la hipercapnia como mecanismo implicado (111).

Este estudio también muestra diferencias en los niveles de estrés oxidativo y expresión de enzimas antioxidantes en los diferentes grupos de edad. En animales jóvenes se observó un aumento en peroxidación lipídica y glutatión oxidado tras apneas; por el contrario, no se observaron diferencias significativas en animales viejos. Además, se evidenció una mayor expresión de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa) en los animales viejos sometidos a apneas. Este resultado sugiere una mayor capacidad para convertir las especies reactivas de oxígeno en sustancias menos dañinas, combatiendo la propagación de daños inducidos por estrés oxidativo. Esta menor peroxidación lipídica en ratas viejas podría explicarse por una mayor capacidad antioxidante y, de acuerdo

con trabajos publicados previamente (111), por un patrón de PtO_2 que generaría menos especies reactivas de oxígeno.

Estos resultados son concordantes con estudios previos en animales jóvenes, sometidos a apneas o hipoxia intermitente (117), que describen un aumento en el estrés oxidativo cerebral que ha sido asociado con déficits cognitivos. Sin embargo, son discordantes con los de un estudio previo que describe mayor susceptibilidad a los efectos de la hipoxia intermitente en animales viejos (118). Tal y como se ha descrito previamente (111), los animales jóvenes sometidos a hipoxia intermitente no presentan el incremento en la PtO_2 que sí se observa durante la aplicación de apneas obstructivas. Por lo tanto, utilizar un modelo de hipoxia intermitente probablemente reduce o anula las diferencias existentes entre los distintos grupos de edad en términos de PtO_2 cerebral; y podría resultar en una mayor susceptibilidad en animales de más edad. Por este motivo, el sistema de inducción de apneas recurrentes, más próximo a lo que ocurre en los pacientes con SAHS, parece más adecuado que el de hipoxia intermitente aislada, especialmente para comparar grupos de edad.

Este trabajo es pionero en el estudio de las consecuencias cerebrales en animales viejos sometidos a apneas obstructivas y muestra diferentes efectos del SAHS en tejido cerebral dependiendo de la edad. Al tratarse de un protocolo experimental controlado en un modelo animal, estos hallazgos están libres de factores de confusión que puedan dificultar el estudio de la interacción SAHS-edad. Este trabajo abre una línea en la investigación de las consecuencias cerebrales de las apneas del sueño en la edad avanzada.

Hay que tener en cuenta que este es un estudio en fase aguda y que, por lo tanto, se desconocen los efectos en fases más crónicas. No se puede descartar que la presencia de estrés oxidativo en fase aguda pueda no ser deletéreo sino que podría estar implicado en el desarrollo de mecanismos adaptativos. Estudios en fase crónica serán importantes para discernir si el estrés oxidativo representa daño neuronal, y por lo tanto los animales jóvenes presentarían mayor daño en fases más crónicas, o por el contrario, pueden iniciar una respuesta adaptativa con menores daños a lo largo del tiempo.

Por lo tanto, futuros estudios deberán esclarecer cuáles son los efectos en fases más crónicas o en modelos experimentales que añadan comorbilidades típicamente asociadas al SAHS.

Estudio de la presencia de déficits cognitivos y alteraciones funcionales/estructurales cerebrales en pacientes ancianos con SAHS. Evaluación del efecto del tratamiento con CPAP.

En continuidad con el trabajo anterior y con una perspectiva traslacional, se diseñó el segundo trabajo que compone esta tesis. Este es un estudio aleatorizado piloto para evaluar si los pacientes ancianos con SAHS grave presentan déficits cognitivos y alteraciones cerebrales asociadas (funcionales y/o estructurales) que puedan mejorar con el tratamiento con CPAP.

En este estudio se incluyeron pacientes con una edad mínima de 65 años diagnosticados recientemente de SAHS grave. Estos pacientes fueron aleatorizados a recibir tratamiento conservador o tratamiento conservador y CPAP durante 3 meses. Al inicio del estudio y a los tres meses de tratamiento, se realizaron evaluaciones cognitivas y resonancia magnética para

analizar la conectividad en la red neuronal por defecto (funcional) y el grosor cortical (estructural). También se realizaron evaluaciones de síntomas, calidad de vida y estado de ánimo. De forma adicional, para determinar si existían diferencias cognitivas entre estos pacientes y la población general, los resultados de función cognitiva inicial se compararon con un grupo control histórico apareado por edad y nivel de estudios.

Este estudio demuestra que los pacientes ancianos con SAHS grave presentan déficits cognitivos que podrían mejorar con el tratamiento con CPAP. Además, indica que el tratamiento con CPAP aumenta la conectividad en la red neuronal por defecto y atenúa el adelgazamiento cortical. Adicionalmente, se observaron mejorías en calidad de vida y síntomas relacionados con el SAHS en el grupo de pacientes tratados con CPAP.

A continuación se pasará a discutir cada uno de estos resultados con más profundidad.

Deterioro cognitivo

Los resultados muestran que los pacientes ancianos con SAHS grave presentan déficits cognitivos comparado con el grupo control; siendo estos resultados concordantes con estudios que indican que el SAHS induce deterioro cognitivo en la edad avanzada (65,68).

A pesar de que no se evaluaron todos los dominios cognitivos, los tests más afectados en nuestro estudio fueron aquellos que reflejan funciones relacionadas con el lóbulo frontal, tal y como se han descrito previamente en el envejecimiento (119). Estos déficits cognitivos se observaron mayoritariamente en aquellos dominios que se ha descrito que declinan en la senectud (afectando principalmente flexibilidad mental, velocidad de procesamiento, funciones visuoespaciales y otras funciones ejecutivas). Este hecho sugiere que el SAHS podría acentuar los déficits propios del declive cognitivo asociado al envejecimiento.

Por otro lado, a pesar de que el perfil cognitivo del envejecimiento incluye también declive en la memoria, se observaron peores resultados en el test de memoria episódica y aprendizaje verbal aunque sin diferencias significativas respecto al grupo control. Sin embargo, debido al relativamente limitado tamaño muestral, no se puede excluir la posibilidad de que se hubiese observado un efecto sobre memoria episódica comparando grupos con mayor número de sujetos.

El estudio demuestra también que las dificultades cognitivas pueden mejorar con el tratamiento con CPAP. Tras tratamiento con CPAP se observaron mejorías en funciones ejecutivas así como en memoria episódica y a corto plazo, sin observarse cambios significativos en el grupo de pacientes en tratamiento conservador. Estos datos muestran que el tratamiento con CPAP puede mejorar las tareas íntimamente relacionadas con el funcionamiento del lóbulo frontal (significativamente afectadas en la evaluación inicial) y la memoria episódica (afectada de forma más marginal en la evaluación basal).

Estos resultados son consistentes con un estudio observacional previo (76) y un estudio aleatorizado publicado recientemente (62), sin embargo, difieren de los resultados reportados en el PREDICT trial (61). Esta discordancia podría explicarse por la baja adherencia al

tratamiento en el PREDICT trial comparado con el cumplimiento obtenido en el estudio aquí presentado y los otros trabajos referenciados.

Tal y como se ha comentado en la introducción, múltiples factores que acontecen durante el SAHS podrían producir deterioro cognitivo; entre ellos la somnolencia, la fragmentación del sueño y la hipoxia intermitente. Un resultado interesante de este estudio es que se observaron mejorías cognitivas sin cambios en la Escala de Somnolencia de Epworth. Aunque dicha escala tiene limitaciones en la edad avanzada, teniendo en cuenta este resultado y conociéndose que los pacientes ancianos son menos sensibles a los efectos de la fragmentación del sueño (120), la hipoxia intermitente podría ser el principal mecanismo implicado en causar deterioro cognitivo en estos pacientes, tal y como se ha descrito en estudios previos (63) (64).

No todos los déficits cognitivos mejoran significativamente con el tratamiento con CPAP a pesar de un buen cumplimiento de la terapia. Aunque no se puede excluir que se alcanzara la significación estadística con un tamaño muestral mayor, este resultado es concordante con lo descrito en pacientes de mediana edad (121). Este hallazgo podría estar relacionado con la presencia de daño estructural o microvascular no totalmente reversible, probablemente inducido por la hipoxia intermitente (70) más que por la somnolencia o la fragmentación del sueño. Sin embargo, no se dispone de datos para confirmarlo.

Neuroimagen

Conectividad en la red neuronal por defecto

Este es el primer estudio que reporta cambios en la conectividad de la red neuronal por defecto (DMN) asociados al tratamiento con CPAP en sujetos ancianos, aunque previamente se han descrito alteraciones en esta red, así como frontoparietales o sensitivomotoras en pacientes de mediana edad (122).

Las técnicas de neuroimagen funcional permiten estudiar cambios hemodinámicos asociados con el funcionamiento cerebral, bien en reposo o mientras se está realizando una tarea cognitiva. La mayoría de estudios existentes evalúan la conectividad cerebral durante la realización de tareas cognitivas. Sin embargo, en este trabajo se analizó la condición cerebral en reposo, en la que se mide la actividad cerebral mientras los pacientes se encuentran dentro de la resonancia magnética sin ningún tipo de estimulación cognitiva. El estudio de la condición cerebral en reposo es altamente informativo de la integridad funcional cerebral sin verse limitado por la capacidad del sujeto a realizar una tarea específica. Uno de los patrones cerebrales en reposo que ha recibido más atención en el estudio del envejecimiento es el denominado patrón de actividad cerebral de la DMN. La DMN es un sistema funcional que está compuesto por una serie de regiones cerebrales interconectadas funcionalmente que muestran fluctuaciones espontáneas coherentes en estado de reposo. Se ha descrito que esta red es especialmente sensible a los efectos del envejecimiento (123), motivo por el que se seleccionó para estudio en el presente trabajo.

En la evaluación inicial no se encontraron diferencias en la conectividad de la DMN entre los diferentes grupos de pacientes con SAHS. No obstante, tras el tratamiento con CPAP se observó

un aumento significativo en la intensidad de conectividad en el giro frontal medio derecho. No se evidenciaron diferencias en el grupo de tratamiento conservador. Estudios previos en otras patologías han descrito aumentos en la conectividad en reposo de la DMN tras tratamiento farmacológico (por ejemplo en E. Alzheimer) que han sido asociados a mejor rendimiento cognitivo en ancianos (124). Además, nuestros resultados son también coherentes con estudios en pacientes de mediana edad con SAHS que reportan normalización de la integridad de la DMN tras tratamiento con CPAP (109).

El giro frontal medio derecho no es una región que tradicionalmente forme parte de la DMN (125), sino que más bien formaría parte de la red dorsal de atención. Es posible que el aumento en la integridad funcional en esta región cerebral dentro de la DMN refleje el reclutamiento de áreas adicionales que no son típicamente parte de esta red. Este resultado es consistente con estudios previos de conectividad cerebral en reposo que describen activación de varias regiones frontales, incluida esta área, en sujetos ancianos mientras que no sucede en sujetos más jóvenes (126).

Aunque los cambios cognitivos se acompañaron de cambios funcionales, no se observó asociación entre los cambios cognitivos y el aumento de conectividad en el giro frontal medio derecho. Este resultado podría explicarse por el hecho que las funciones cognitivas que mejoraron están más relacionadas con el hemisferio izquierdo, mientras que los cambios en conectividad son contralaterales. También hay que destacar que las funciones que mejoran con el tratamiento podrían estar más relacionadas con otras redes cerebrales como son la red *salient* o la de control ejecutivo, no evaluadas en el presente trabajo.

Grosor cortical

Inicialmente no se observaron diferencias en grosor cortical entre los distintos grupos de pacientes con SAHS. Tras el periodo de tratamiento, se observaron diferentes regiones con un mayor adelgazamiento cortical en el grupo de tratamiento conservador comparado en el grupo tratado con CPAP que no mostraba cambios significativos en el grosor cortical. Este mayor adelgazamiento cortical se observó principalmente en regiones frontales y parietales del hemisferio derecho, con cambios menores en hemisferio izquierdo.

Estudios previos han descrito medias de adelgazamiento cortical en lóbulos frontal, parietal y temporal de entre 0.005 y 0.01 mm/año (127). Asumiendo linealidad en los cambios observados en nuestro estudio, el adelgazamiento estimado sería de 0.009 a 0.028 mm/año en las zonas con menor adelgazamiento (hemisferio izquierdo) y por lo tanto sería discretamente mayor al reportado en envejecimiento sano. Sin embargo, las mediciones utilizadas en el estudio previo no son exactamente las mismas y la interpretación debe ser cautelosa.

A pesar de que se precisará de futuras investigaciones confirmatorias, el hecho de poder detectar cambios en tan sólo 3 meses utilizando análisis del grosor cortical no tendría que ser sorprendente dada la alta precisión de esta técnica incluso en tamaños muestrales relativamente reducidos (128). En este caso se eligió análisis del grosor cortical en vez de Voxel-Based Morphometry (VBM) por ser una técnica más adecuada al no verse afectada por la presencia de atrofia cerebral, esperada en sujetos de edad avanzada (129).

Otros estudios de resonancia magnética estructural con técnica de VBM (97,100,130) o análisis del grosor cortical (98) han mostrado disminución de sustancia gris en regiones frontales y parietales en pacientes de mediana edad con SAHS. Nuestros resultados también son consistentes con un estudio reciente en el que las áreas que mostraban mayor adelgazamiento cortical coinciden con las que presentaron cambios en nuestro estudio (98). Sin embargo, otras regiones descritas en otras publicaciones no presentaron cambios en nuestro trabajo (96,99,105). Aunque nuestros resultados no son directamente comparables con la literatura existente por no tener comparación basal con un grupo control, los datos obtenidos sugieren que los cambios en el córtex frontal lateral, parietal y temporal basal podrían ser las medidas más sensibles para reflejar atrofia progresiva en pacientes con SAHS.

Nuestros resultados difieren de los de un estudio previo usando VBM que muestra incrementos en el volumen del hipocampo y región frontal con el tratamiento con CPAP (100). Las diferencias en los resultados podrían deberse a mayor tiempo de evolución del SAHS hasta el diagnóstico en los pacientes ancianos, lo que podría hacer que las alteraciones estructurales fuesen más difíciles de revertir. A pesar de que se han descrito aumentos regionales en volumen de sustancia gris en respuesta a intervenciones en sujetos ancianos (131,132), en nuestro estudio no se observaron aumentos en grosor cortical. Este resultado sugiere que a pesar de observarse efectos a nivel cognitivo y funcional, el cerebro del anciano sería en cierta forma impermeable a efectos a nivel estructural. Sin embargo, no se puede excluir que se encontraran incrementos en grosor cortical con periodos de tratamiento más largos.

Los resultados que muestran mejoría funcional y menor adelgazamiento cortical en el grupo tratado con CPAP son coherentes, y podrían explicar, al menos en parte, los hallazgos en estudios publicados recientemente que indican que el tratamiento con CPAP podría ayudar a mantener el rendimiento cognitivo y retrasar el declive neurocognitivo en pacientes ancianos con SAHS; con o sin deterioro cognitivo o demencia previa (75,77).

Síntomas, calidad de vida y estado de ánimo

En la evaluación inicial no se observaron diferencias en las puntuaciones del cuestionario de Quebec (QSQ), la Escala de Somnolencia de Epworth ni la escala HAD entre los diferentes grupos de pacientes con SAHS.

Tras el período de tratamiento, se observaron mejorías en la puntuación total del QSQ, así como en los dominios de síntomas nocturnos e interacción social en el grupo de tratamiento con CPAP comparado con el grupo de tratamiento conservador. Hay que destacar que únicamente el dominio de síntomas nocturnos alcanzó la diferencia considerada clínicamente significativa publicada por los autores (133). Sin embargo, la validación de este cuestionario se realizó en pacientes más jóvenes, con edades entorno a los 55 años (más de 15 años de diferencia con los pacientes incluidos en nuestro trabajo), por lo que las diferencias mínimas podrían no ser aplicables al presente estudio. No se observaron cambios significativos tras tratamiento en las puntuaciones en la escala de somnolencia de Epworth ni en la escala HAD.

Este estudio es el primero que evalúa en sujetos ancianos el efecto del tratamiento con CPAP en cognición mediante tests neurocognitivos y técnicas de imagen que aportan datos objetivos

sobre estructura y función cerebral. Los datos obtenidos muestran que los pacientes ancianos con SAHS grave presentan dificultades cognitivas que pueden mejorar con el tratamiento con CPAP. Además demuestra que el tratamiento con CPAP puede mejorar la función cerebral aumentando la conectividad de la DMN y atenuando el adelgazamiento cortical. Adicionalmente, el tratamiento con CPAP puede mejorar la calidad de vida en pacientes ancianos con SAHS grave.

Estos resultados sugieren que el tratamiento con CPAP debería considerarse en pacientes ancianos con IAH elevados, incluso si no presentan puntuaciones altas en la Escala de Somnolencia de Epworth. Futuros estudios serán necesarios para confirmar estos resultados así como para evaluar la efectividad del tratamiento con CPAP en pacientes con SAHS de menor gravedad o con mayores comorbilidades.

7. CONCLUSIONES

Hipótesis 1: En un modelo murino las apneas obstructivas pueden producir cambios dinámicos en la presión parcial de oxígeno y estrés oxidativo en el tejido cerebral que podrían ser modulados por la edad.

1. La presión parcial de oxígeno en tejido cerebral presenta una diferente respuesta temporal en ratas jóvenes y viejas sometidas a apneas obstructivas.
2. El estrés oxidativo cerebral en ratas viejas sometidas a apneas recurrentes es menor que en ratas jóvenes.
3. La expresión de enzimas antioxidantes es mayor en ratas viejas sometidas a apneas recurrentes que en ratas jóvenes.
4. Los efectos cerebrales de las apneas obstructivas recurrentes, imitando SAHS, son diferentes dependiendo de la edad.

Hipótesis 2: Los pacientes ancianos con SAHS pueden presentar déficits cognitivos y alteraciones funcionales y/o estructurales cerebrales que podrían ser reversibles con el tratamiento con CPAP.

1. Los pacientes ancianos con SAHS grave presentan déficits cognitivos comparado con población general de la misma edad. Estos déficits se observan sobretodo en funciones relacionadas con el lóbulo frontal.
2. Las dificultades cognitivas observadas en pacientes ancianos con SAHS grave mejoran con el tratamiento con CPAP.
3. El tratamiento con CPAP aumenta la conectividad en la red neuronal por defecto en pacientes ancianos con SAHS grave.
4. El tratamiento con CPAP atenúa el adelgazamiento cortical en pacientes ancianos con SAHS grave.
5. El tratamiento con CPAP mejora la calidad de vida de pacientes ancianos con SAHS grave, especialmente con disminución de los síntomas nocturnos, sin observarse cambios en somnolencia ni estado de ánimo.

8. REFERENCIAS

1. Peppard PE, Young T, Barnet JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol*. 2013 May 1;177(9):1006–14.
2. White DP. Pathogenesis of obstructive and central sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Dec 1;172(11):1363–70.
3. Montserrat JM. Trastornos ventilatorios. In: Rozman C, editor. *Medicina Interna*. 17^a ed. Barcelona: Elsevier; 2012. p. 748–53.
4. Lloberes P, Durán-Cantolla J, Martínez-García MÁ, Marín JM, Ferrer A, Corral J, et al. Diagnosis and treatment of sleep apnea-hypopnea syndrome. Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery. *Arch Bronconeumol*. 2011 Mar;47(3):143–56.
5. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, Gozal D, Iber C, Kapur VK, et al. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. Deliberations of the Sleep Apnea Definitions Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med*. 2012 Oct 15;8(5):597–619.
6. Collop NA, Anderson WM, Boehlecke B, Claman D, Goldberg R, Gottlieb DJ, et al. Clinical guidelines for the use of unattended portable monitors in the diagnosis of obstructive sleep apnea in adult patients. Portable Monitoring Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med*. 2007 Dec 15;3(7):737–47.
7. Nieto FJ, Young TB, Lind BK, Shahar E, Samet JM, Redline S, et al. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. Sleep Heart Health Study. *JAMA*. 2000 Apr 12;283(14):1829–36.
8. Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *N Engl J Med*. 2000 May 11;342(19):1378–84.
9. Hla KM, Young T, Finn L, Peppard PE, Szklo-Coxe M, Stubbs M. Longitudinal association of sleep-disordered breathing and nondipping of nocturnal blood pressure in the Wisconsin Sleep Cohort Study. *Sleep*. 2008 Jun;31(6):795–800.
10. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agusti AGN. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet (London, England)*. Jan;365(9464):1046–53.
11. Gottlieb DJ, Yenokyan G, Newman AB, O'Connor GT, Punjabi NM, Quan SF, et al. Prospective study of obstructive sleep apnea and incident coronary heart disease and heart failure: the sleep heart health study. *Circulation*. 2010 Jul 27;122(4):352–60.
12. Peker Y, Carlson J, Hedner J. Increased incidence of coronary artery disease in sleep apnoea: a long-term follow-up. *Eur Respir J*. 2006 Sep;28(3):596–602.
13. Mehra R, Benjamin EJ, Shahar E, Gottlieb DJ, Nawabit R, Kirchner HL, et al. Association of nocturnal arrhythmias with sleep-disordered breathing: The Sleep Heart Health Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Apr 15;173(8):910–6.
14. Gami AS, Howard DE, Olson EJ, Somers VK. Day-night pattern of sudden death in obstructive sleep apnea. *N Engl J Med*. 2005 Mar 24;352(12):1206–14.

15. Lavie P, Lavie L, Herer P. All-cause mortality in males with sleep apnoea syndrome: declining mortality rates with age. *Eur Respir J*. 2005 Mar;25(3):514–20.
16. Young T, Finn L, Peppard PE, Szklo-Coxe M, Austin D, Nieto FJ, et al. Sleep disordered breathing and mortality: eighteen-year follow-up of the Wisconsin sleep cohort. *Sleep*. 2008 Aug;31(8):1071–8.
17. Redline S, Yenokyan G, Gottlieb DJ, Shahar E, O'Connor GT, Resnick HE, et al. Obstructive sleep apnea-hypopnea and incident stroke: the sleep heart health study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Jul 15;182(2):269–77.
18. Loke YK, Brown JWL, Kwok CS, Niruban A, Myint PK. Association of obstructive sleep apnea with risk of serious cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2012 Sep 1;5(5):720–8.
19. Veasey S. Insight from animal models into the cognitive consequences of adult sleep-disordered breathing. *ILAR J*. 2009 Jan;50(3):307–11.
20. Sforza E, Roche F. Sleep apnea syndrome and cognition. *Front Neurol*. 2012 Jan;3:87.
21. Lévy P, Bonsignore MR, Eckel J. Sleep, sleep-disordered breathing and metabolic consequences. *Eur Respir J*. 2009 Jul;34(1):243–60.
22. Liu S, Lin Y, Liu X. Meta-Analysis of Association of Obstructive Sleep Apnea With Glaucoma. *J Glaucoma*. 2016 Jan;25(1):1–7.
23. Adeseun GA, Rosas SE. The impact of obstructive sleep apnea on chronic kidney disease. *Curr Hypertens Rep*. 2010 Oct;12(5):378–83.
24. Corey KE, Misdraji J, Gelrud L, King LY, Zheng H, Malhotra A, et al. Obstructive Sleep Apnea Is Associated with Nonalcoholic Steatohepatitis and Advanced Liver Histology. *Dig Dis Sci*. 2015 Aug;60(8):2523–8.
25. Nieto FJ, Peppard PE, Young T, Finn L, Hla KM, Farré R. Sleep-disordered breathing and cancer mortality: results from the Wisconsin Sleep Cohort Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Jul 15;186(2):190–4.
26. Masa JF, Jiménez A, Durán J, Capote F, Monasterio C, Mayos M, et al. Alternative methods of titrating continuous positive airway pressure: a large multicenter study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Dec 1;170(11):1218–24.
27. Christensen K, Doblhammer G, Rau R, Vaupel JW. Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet*. 2009 Oct 3;374(9696):1196–208.
28. Young T, Shahar E, Nieto FJ, Redline S, Newman AB, Gottlieb DJ, et al. Predictors of sleep-disordered breathing in community-dwelling adults: the Sleep Heart Health Study. *Arch Intern Med*. 2002 Apr 22;162(8):893–900.
29. Heinzer R, Vat S, Marques-Vidal P, Marti-Soler H, Andries D, Tobback N, et al. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med*. 2015 Apr;3(4):310–8.
30. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 May 1;165(9):1217–39.

31. Martínez-García MÁ, Amilibia J, Chiner E, Queipo C, Díaz de Atauri MJ, Carmona-Bernal C, et al. [Sleep apnoea in patients of elderly: care activity in Spain (2002-2008)]. *Arch Bronconeumol*. 2010 Oct;46(10):502–7.
32. Eikermann M, Jordan AS, Chamberlin NL, Gautam S, Wellman A, Lo Y-L, et al. The influence of aging on pharyngeal collapsibility during sleep. *Chest*. 2007 Jun;131(6):1702–9.
33. 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 Jan;119(1):72.e9–14.
34. Worsnop C, Kay A, Kim Y, Trinder J, Pierce R. Effect of age on sleep onset-related changes in respiratory pump and upper airway muscle function. *J Appl Physiol*. 2000 May;88(5):1831–9.
35. Ohayon MM, Carskadon MA, Guilleminault C, Vitiello M V. Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep*. 2004 Nov 1;27(7):1255–73.
36. Edwards BA, Wellman A, Sands SA, Owens RL, Eckert DJ, White DP, et al. Obstructive sleep apnea in older adults is a distinctly different physiological phenotype. *Sleep*. 2014 Jul;37(7):1227–36.
37. Kobayashi M, Namba K, Tsuiki S, Matsuo A, Sugiura T, Inoue Y. Clinical characteristics in two subgroups of obstructive sleep apnea syndrome in the elderly: comparison between cases with elderly and middle-age onset. *Chest*. 2010 Jun;137(6):1310–5.
38. Endeshaw YW, Johnson TM, Kutner MH, Ouslander JG, Bliwise DL. Sleep-disordered breathing and nocturia in older adults. *J Am Geriatr Soc*. 2004 Jun;52(6):957–60.
39. Brassington GS, King AC, Bliwise DL. Sleep problems as a risk factor for falls in a sample of community-dwelling adults aged 64-99 years. *J Am Geriatr Soc*. 2000 Oct;48(10):1234–40.
40. Bliwise DL. Epidemiology of age-dependence in sleep disordered breathing (SDB) in old age: THE BAY AREA SLEEP COHORT (BASC). *Sleep Med Clin*. 2009 Mar 1;4(1):57–64.
41. Mant A, King M, Saunders NA, Pond CD, Goode E, Hewitt H. Four-year follow-up of mortality and sleep-related respiratory disturbance in non-demented seniors. *Sleep*. 1995 Jul;18(6):433–8.
42. Johansson P, Alehagen U, Svanborg E, Dahlström U, Broström A. Clinical characteristics and mortality risk in relation to obstructive and central sleep apnoea in community-dwelling elderly individuals: a 7-year follow-up. *Age Ageing*. 2012 Jul;41(4):468–74.
43. Morimoto S, Takahashi T, Okaishi K, Okuro M, Nakahashi T, Sakamoto D, et al. Sleep apnoea syndrome as a risk for mortality in elderly inpatients. *J Int Med Res*. 2012 Jan;40(2):601–11.
44. Martínez-García M-A, Campos-Rodríguez F, Catalán-Serra P, Soler-Cataluña J-J, Almeida-Gonzalez C, De la Cruz Morón I, et al. Cardiovascular mortality in obstructive sleep apnea in the elderly: role of long-term continuous positive airway pressure treatment: a prospective observational study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Nov 1;186(9):909–16.

45. Ou Q, Chen Y-C, Zhuo S-Q, Tian X-T, He C-H, Lu X-L, et al. Continuous Positive Airway Pressure Treatment Reduces Mortality in Elderly Patients with Moderate to Severe Obstructive Severe Sleep Apnea: A Cohort Study. *PLoS One*. 2015 Jan;10(6):e0127775.
46. Punjabi NM, Caffo BS, Goodwin JL, Gottlieb DJ, Newman AB, O'Connor GT, et al. Sleep-disordered breathing and mortality: a prospective cohort study. *PLoS Med*. 2009 Aug;6(8):e1000132.
47. Lavie P, Lavie L. Unexpected survival advantage in elderly people with moderate sleep apnoea. *J Sleep Res*. 2009 Dec;18(4):397–403.
48. Nieto FJ, Herrington DM, Redline S, Benjamin EJ, Robbins JA. Sleep apnea and markers of vascular endothelial function in a large community sample of older adults. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Feb 1;169(3):354–60.
49. Mehra R, Stone KL, Varosy PD, Hoffman AR, Marcus GM, Blackwell T, et al. Nocturnal Arrhythmias across a spectrum of obstructive and central sleep-disordered breathing in older men: outcomes of sleep disorders in older men (MrOS sleep) study. *Arch Intern Med*. 2009 Jun 22;169(12):1147–55.
50. Endeshaw YW, White WB, Kutner M, Ouslander JG, Bliwise DL. Sleep-disordered breathing and 24-hour blood pressure pattern among older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009 Feb;64(2):280–5.
51. Haas DC, Foster GL, Nieto FJ, Redline S, Resnick HE, Robbins JA, et al. Age-dependent associations between sleep-disordered breathing and hypertension: importance of discriminating between systolic/diastolic hypertension and isolated systolic hypertension in the Sleep Heart Health Study. *Circulation*. 2005 Feb 8;111(5):614–21.
52. Bianchi G, Di Giulio C, Rapino C, Rapino M, Antonucci A, Cataldi A. p53 and p66 proteins compete for hypoxia-inducible factor 1 alpha stabilization in young and old rat hearts exposed to intermittent hypoxia. *Gerontology*. 2006 Jan;52(1):17–23.
53. Hua-Huy T, Rouhani S, Nguyen X-Y, Luchon L, Meurice J-C, Dinh-Xuan AT. Cardiovascular comorbidities in obstructive sleep apnoea according to age: a sleep clinic population study. *Aging Clin Exp Res*. 2015 Oct;27(5):611–9.
54. Launois SH, Pépin J-L, Lévy P. Sleep apnea in the elderly: a specific entity? *Sleep Med Rev*. 2007 Apr;11(2):87–97.
55. Johnson KG, Johnson DC. Frequency of sleep apnea in stroke and TIA patients: a meta-analysis. *J Clin Sleep Med*. 2010 Apr 15;6(2):131–7.
56. Yaggi HK, Concato J, Kernan WN, Lichtman JH, Brass LM, Mohsenin V. Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death. *N Engl J Med*. 2005 Nov 10;353(19):2034–41.
57. Cho ER, Kim H, Seo HS, Suh S, Lee SK, Shin C. Obstructive sleep apnea as a risk factor for silent cerebral infarction. *J Sleep Res*. 2013 Aug;22(4):452–8.
58. Munoz R, Duran-Cantolla J, Martínez-Vila E, Gallego J, Rubio R, Aizpuru F, et al. Severe sleep apnea and risk of ischemic stroke in the elderly. *Stroke*. 2006 Sep;37(9):2317–21.
59. Martínez-García MA, Galiano-Blancart R, Román-Sánchez P, Soler-Cataluña J-J, Cabero-Salt L, Salcedo-Maiques E. Continuous positive airway pressure treatment in sleep apnea

- prevents new vascular events after ischemic stroke. *Chest*. 2005 Oct;128(4):2123–9.
60. Parra O, Sánchez-Armengol A, Bonnin M, Arboix A, Campos-Rodríguez F, Pérez-Ronchel J, et al. Early treatment of obstructive apnoea and stroke outcome: a randomised controlled trial. *Eur Respir J*. 2011 May;37(5):1128–36.
 61. McMillan A, Bratton DJ, Faria R, Laskawiec-Szkonter M, Griffin S, Davies RJ, et al. Continuous positive airway pressure in older people with obstructive sleep apnoea syndrome (PREDICT): a 12-month, multicentre, randomised trial. *Lancet Respir Med*. 2014 Oct;2(10):804–12.
 62. Martínez-García MÁ, Chiner E, Hernández L, Cortes JP, Catalán P, Ponce S, et al. Obstructive sleep apnoea in the elderly: role of continuous positive airway pressure treatment. *Eur Respir J*. 2015 Jul;46(1):142–51.
 63. Blackwell T, Yaffe K, Ancoli-Israel S, Redline S, Ensrud KE, Stefanick ML, et al. Associations between sleep architecture and sleep-disordered breathing and cognition in older community-dwelling men: the Osteoporotic Fractures in Men Sleep Study. *J Am Geriatr Soc*. 2011 Dec;59(12):2217–25.
 64. Spira AP, Blackwell T, Stone KL, Redline S, Cauley JA, Ancoli-Israel S, et al. Sleep-disordered breathing and cognition in older women. *J Am Geriatr Soc*. 2008 Jan;56(1):45–50.
 65. Ju G, Yoon I-Y, Lee SD, Kim TH, Choe JY, Kim KW. Effects of sleep apnea syndrome on delayed memory and executive function in elderly adults. *J Am Geriatr Soc*. 2012 Jun;60(6):1099–103.
 66. Sforza E, Roche F, Thomas-Anterion C, Kerleroux J, Beauchet O, Celle S, et al. Cognitive function and sleep related breathing disorders in a healthy elderly population: the SYNAPSE study. *Sleep*. 2010 Apr;33(4):515–21.
 67. Foley DJ, Masaki K, White L, Larkin EK, Monjan A, Redline S. Sleep-disordered breathing and cognitive impairment in elderly Japanese-American men. *Sleep*. 2003 Aug 1;26(5):596–9.
 68. Yaffe K, Laffan AM, Harrison SL, Redline S, Spira AP, Ensrud KE, et al. Sleep-disordered breathing, hypoxia, and risk of mild cognitive impairment and dementia in older women. *JAMA*. 2011 Aug 10;306(6):613–9.
 69. Martin M Saint, Sforza E, Roche F, Barthélémy JC, Thomas-Anterion C. Sleep breathing disorders and cognitive function in the elderly: an 8-year follow-up study. the proof-synapse cohort. *Sleep*. 2015 Jan;38(2):179–87.
 70. Zimmerman ME, Aloia MS. Sleep-disordered breathing and cognition in older adults. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2012 Oct;12(5):537–46.
 71. Alchanatis M, Zias N, Deligiorgis N, Liappas I, Chroneou A, Soldatos C, et al. Comparison of cognitive performance among different age groups in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2008 Mar;12(1):17–24.
 72. Mathieu A, Mazza S, Décary A, Massicotte-Marquez J, Petit D, Gosselin N, et al. Effects of obstructive sleep apnea on cognitive function: a comparison between younger and older OSAS patients. *Sleep Med*. 2008 Jan;9(2):112–20.

73. Ancoli-Israel S, Palmer BW, Cooke JR, Corey-Bloom J, Fiorentino L, Natarajan L, et al. Cognitive Effects of Treating Obstructive Sleep Apnea in Alzheimer's Disease: A Randomized Controlled Study. *J Am Geriatr Soc*. 2008 Nov;56(11):2076–81.
74. Cooke JR, Ayalon L, Palmer BW, Loreda JS, Corey-Bloom J, Natarajan L, et al. Sustained use of CPAP slows deterioration of cognition, sleep, and mood in patients with Alzheimer's disease and obstructive sleep apnea: a preliminary study. *J Clin Sleep Med*. 2009 Aug 15;5(4):305–9.
75. Osorio RS, Gumb T, Pirraglia E, Varga AW, Lu S-E, Lim J, et al. Sleep-disordered breathing advances cognitive decline in the elderly. *Neurology*. 2015 May 12;84(19):1964–71.
76. Aloia MS, Illiczky N, Di Dio P, Perlis ML, Greenblatt DW, Giles DE. Neuropsychological changes and treatment compliance in older adults with sleep apnea. *J Psychosom Res*. 2003 Jan;54(1):71–6.
77. Crawford-Achour E, Dauphinot V, Martin M Saint, Tardy M, Gonthier R, Barthelemy JC, et al. Protective Effect of Long-Term CPAP Therapy on Cognitive Performance in Elderly Patients with Severe OSA: The PROOF Study. *J Clin Sleep Med*. 2015 May;11(5):519–24.
78. Liak C, Fitzpatrick M. Coagulability in obstructive sleep apnea. *Can Respir J*. Jan;18(6):338–48.
79. Zhang SXL, Wang Y, Gozal D. Pathological consequences of intermittent hypoxia in the central nervous system. *Compr Physiol*. 2012 Jul;2(3):1767–77.
80. Gozal D, Daniel JM, Dohanich GP. Behavioral and anatomical correlates of chronic episodic hypoxia during sleep in the rat. *J Neurosci*. 2001 Apr 1;21(7):2442–50.
81. Ogunshola OO, Antoniou X. Contribution of hypoxia to Alzheimer's disease: is HIF-1alpha a mediator of neurodegeneration? *Cell Mol Life Sci*. 2009 Nov;66(22):3555–63.
82. Fang H, Zhang L-F, Meng F-T, Du X, Zhou J-N. Acute hypoxia promote the phosphorylation of tau via ERK pathway. *Neurosci Lett*. 2010 May 3;474(3):173–7.
83. Furtner M, Staudacher M, Frauscher B, Brandauer E, Esnaola y Rojas MM, Gschliesser V, et al. Cerebral vasoreactivity decreases overnight in severe obstructive sleep apnea syndrome: a study of cerebral hemodynamics. *Sleep Med*. 2009 Sep;10(8):875–81.
84. Austin BP, Nair VA, Meier TB, Xu G, Rowley HA, Carlsson CM, et al. Effects of hypoperfusion in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2011 Jan;26 Suppl 3:123–33.
85. Reutrakul S, Van Cauter E. Interactions between sleep, circadian function, and glucose metabolism: implications for risk and severity of diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2014 Apr;1311:151–73.
86. Neumann KF, Rojo L, Navarrete LP, Farías G, Reyes P, Maccioni RB. Insulin resistance and Alzheimer's disease: molecular links & clinical implications. *Curr Alzheimer Res*. 2008 Oct;5(5):438–47.
87. Daurat A, Foret J, Bret-Dibat J-L, Fureix C, Tiberge M. Spatial and temporal memories are affected by sleep fragmentation in obstructive sleep apnea syndrome. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2008 Jan;30(1):91–101.

88. Sportiche N, Suntsova N, Methippara M, Bashir T, Mitrani B, Szymusiak R, et al. Sustained sleep fragmentation results in delayed changes in hippocampal-dependent cognitive function associated with reduced dentate gyrus neurogenesis. *Neuroscience*. 2010 Sep 29;170(1):247–58.
89. Spira AP, Gamaldo AA, An Y, Wu MN, Simonsick EM, Bilgel M, et al. Self-reported sleep and β -amyloid deposition in community-dwelling older adults. *JAMA Neurol*. 2013 Dec;70(12):1537–43.
90. MacNee W, Rabinovich RA, Choudhury G. Ageing and the border between health and disease. *Eur Respir J*. 2014 Nov;44(5):1332–52.
91. Tranah GJ, Blackwell T, Stone KL, Ancoli-Israel S, Paudel ML, Ensrud KE, et al. Circadian activity rhythms and risk of incident dementia and mild cognitive impairment in older women. *Ann Neurol*. 2011 Nov;70(5):722–32.
92. Ancoli-Israel S, Cooke JR. Prevalence and comorbidity of insomnia and effect on functioning in elderly populations. *J Am Geriatr Soc*. 2005 Jul;53(7 Suppl):S264–71.
93. Jaussent I, Bouyer J, Ancelin M-L, Berr C, Foubert-Samier A, Ritchie K, et al. Excessive sleepiness is predictive of cognitive decline in the elderly. *Sleep*. 2012 Sep;35(9):1201–7.
94. Daulatzai MA. Evidence of neurodegeneration in obstructive sleep apnea: Relationship between obstructive sleep apnea and cognitive dysfunction in the elderly. *J Neurosci Res*. 2015 Dec;93(12):1778–94.
95. Castronovo V, Scifo P, Castellano A, Aloia MS, Iadanza A, Marelli S, et al. White matter integrity in obstructive sleep apnea before and after treatment. *Sleep*. 2014 Sep;37(9):1465–75.
96. Morrell MJ, Jackson ML, Twigg GL, Ghiassi R, McRobbie DW, Quest RA, et al. Changes in brain morphology in patients with obstructive sleep apnoea. *Thorax*. 2010 Oct;65(10):908–14.
97. Yaouhi K, Bertran F, Clochon P, Mézenge F, Denise P, Foret J, et al. A combined neuropsychological and brain imaging study of obstructive sleep apnea. *J Sleep Res*. 2009 Mar;18(1):36–48.
98. Joo EY, Jeon S, Kim ST, Lee J-M, Hong SB. Localized cortical thinning in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep*. 2013 Aug;36(8):1153–62.
99. Weng H-H, Tsai Y-H, Chen C-F, Lin Y-C, Yang C-T, Tsai Y-H, et al. Mapping gray matter reductions in obstructive sleep apnea: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Sleep*. 2014 Jan;37(1):167–75.
100. Canessa N, Castronovo V, Cappa SF, Aloia MS, Marelli S, Falini A, et al. Obstructive sleep apnea: brain structural changes and neurocognitive function before and after treatment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 May 15;183(10):1419–26.
101. Kim H, Joo E, Suh S, Kim J-H, Kim ST, Hong SB. Effects of long-term treatment on brain volume in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Hum Brain Mapp*. 2015 Oct 27;37(1):395–409.
102. Huynh NT, Prilipko O, Kushida CA, Guilleminault C. Volumetric Brain Morphometry

- Changes in Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome: Effects of CPAP Treatment and Literature Review. *Front Neurol*. 2014 Jan;5:58.
103. O'Donoghue FJ, Briellmann RS, Rochford PD, Abbott DF, Pell GS, Chan CHP, et al. Cerebral structural changes in severe obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 May 15;171(10):1185–90.
 104. Celle S, Peyron R, Faillenot I, Pichot V, Alabdullah M, Gaspoz J-M, et al. Undiagnosed sleep-related breathing disorders are associated with focal brainstem atrophy in the elderly. *Hum Brain Mapp*. 2009 Jul;30(7):2090–7.
 105. Torelli F, Moscufo N, Garreffa G, Placidi F, Romigi A, Zannino S, et al. Cognitive profile and brain morphological changes in obstructive sleep apnea. *Neuroimage*. 2011 Jan 15;54(2):787–93.
 106. O'Donoghue FJ, Wellard RM, Rochford PD, Dawson A, Barnes M, Ruehland WR, et al. Magnetic resonance spectroscopy and neurocognitive dysfunction in obstructive sleep apnea before and after CPAP treatment. *Sleep*. 2012 Jan;35(1):41–8.
 107. Prilipko O, Huynh N, Schwartz S, Tantrakul V, Kim JH, Peralta AR, et al. Task positive and default mode networks during a parametric working memory task in obstructive sleep apnea patients and healthy controls. *Sleep*. 2011 Mar;34(3):293–301A.
 108. Castronovo V, Canessa N, Strambi LF, Aloia MS, Consonni M, Marelli S, et al. Brain activation changes before and after PAP treatment in obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2009 Sep;32(9):1161–72.
 109. Prilipko O, Huynh N, Schwartz S, Tantrakul V, Kushida C, Paiva T, et al. The effects of CPAP treatment on task positive and default mode networks in obstructive sleep apnea patients: an fMRI study. *PLoS One*. 2012 Jan;7(12):e47433.
 110. Carreras A, Almendros I, Acerbi I, Montserrat JM, Navajas D, Farré R. Obstructive apneas induce early release of mesenchymal stem cells into circulating blood. *Sleep*. 2009 Jan;32(1):117–9.
 111. Almendros I, Farré R, Planas AM, Torres M, Bonsignore MR, Navajas D, et al. Tissue oxygenation in brain, muscle, and fat in a rat model of sleep apnea: differential effect of obstructive apneas and intermittent hypoxia. *Sleep*. 2011 Aug;34(8):1127–33.
 112. Clement EA, Richard A, Thwaites M, Ailon J, Peters S, Dickson CT. Cyclic and sleep-like spontaneous alternations of brain state under urethane anaesthesia. *PLoS One*. 2008 Jan;3(4):e2004.
 113. Almendros I, Montserrat JM, Torres M, González C, Navajas D, Farré R. Changes in oxygen partial pressure of brain tissue in an animal model of obstructive apnea. *Respir Res*. 2010 Jan;11:3.
 114. Hoffman WE, Albrecht RF, Miletich DJ. Cerebrovascular response to hypoxia in young vs aged rats. *Stroke*. Jan;15(1):129–33.
 115. Carey BJ, Eames PJ, Blake MJ, Panerai RB, Potter JF. Dynamic cerebral autoregulation is unaffected by aging. *Stroke*. 2000 Dec;31(12):2895–900.
 116. Gatto R, Hoffman WE, Mueller M, Paisansathan C, Charbel F. Age effects on brain

- oxygenation during hypercapnia. *J Biomed Opt.* Jan;12(6):062113.
117. Row BW, Liu R, Xu W, Kheirandish L, Gozal D. Intermittent hypoxia is associated with oxidative stress and spatial learning deficits in the rat. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Jun 1;167(11):1548–53.
 118. Gozal D, Row BW, Kheirandish L, Liu R, Guo SZ, Qiang F, et al. Increased susceptibility to intermittent hypoxia in aging rats: changes in proteasomal activity, neuronal apoptosis and spatial function. *J Neurochem.* 2003 Sep;86(6):1545–52.
 119. Park DC, Reuter-Lorenz P. The Adaptive Brain: Aging and Neurocognitive Scaffolding. *Annu Rev Psychol.* 2009 Jan;60(1):173–96.
 120. Bonnet MH. The effect of sleep fragmentation on sleep and performance in younger and older subjects. *Neurobiol Aging.* Jan;10(1):21–5.
 121. Ferini-Strambi L, Baietto C, Di Gioia MR, Castaldi P, Castronovo C, Zucconi M, et al. Cognitive dysfunction in patients with obstructive sleep apnea (OSA): partial reversibility after continuous positive airway pressure (CPAP). *Brain Res Bull.* 2003 Jun 30;61(1):87–92.
 122. Zhang Q, Wang D, Qin W, Li Q, Chen B, Zhang Y, et al. Altered resting-state brain activity in obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2013 May;36(5):651–9B.
 123. Ferreira LK, Busatto GF. Resting-state functional connectivity in normal brain aging. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013 Mar;37(3):384–400.
 124. Solé-Padullés C, Bartrés-Faz D, Lladó A, Bosch B, Peña-Gómez C, Castellví M, et al. Donepezil treatment stabilizes functional connectivity during resting state and brain activity during memory encoding in Alzheimer’s disease. *J Clin Psychopharmacol.* 2013 Apr;33(2):199–205.
 125. Smith SM, Fox PT, Miller KL, Glahn DC, Fox PM, Mackay CE, et al. Correspondence of the brain’s functional architecture during activation and rest. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Aug 4;106(31):13040–5.
 126. Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer’s disease from healthy aging: evidence from functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Mar 30;101(13):4637–42.
 127. Pacheco J, Goh JO, Kraut MA, Ferrucci L, Resnick SM. Greater cortical thinning in normal older adults predicts later cognitive impairment. *Neurobiol Aging.* 2015 Feb;36(2):903–8.
 128. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Sep 26;97(20):11050–5.
 129. Hutton C, Draganski B, Ashburner J, Weiskopf N. A comparison between voxel-based cortical thickness and voxel-based morphometry in normal aging. *Neuroimage.* 2009 Nov 1;48(2):371–80.
 130. Macey PM, Henderson LA, Macey KE, Alger JR, Frysinger RC, Woo MA, et al. Brain morphology associated with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Nov 15;166(10):1382–7.

131. Engvig A, Fjell AM, Westlye LT, Moberget T, Sundseth Ø, Larsen VA, et al. Effects of memory training on cortical thickness in the elderly. *Neuroimage*. 2010 Oct 1;52(4):1667–76.
132. Colcombe SJ, Erickson KI, Scalf PE, Kim JS, Prakash R, McAuley E, et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006 Nov;61(11):1166–70.
133. Lacasse Y, Bureau M-P, Sériès F. A new standardised and self-administered quality of life questionnaire specific to obstructive sleep apnoea. *Thorax*. 2004 Jun;59(6):494–9.

9. CONTRIBUCIÓN A OTROS PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Con anterioridad y durante la investigación realizada para el desarrollo de esta tesis, la doctoranda ha participado en otros proyectos científicos en el campo de la apnea obstructiva del sueño, siendo coautora de las siguientes publicaciones:

1. Almendros I, Farré R, Torres M, **Dalmases M**, Bonsignore MR, Ramírez J, Navajas D, Montserrat JM. Early and mid-term effects of obstructive apneas in myocardial injury and inflammation. *Sleep Med* 2011;12(10):1037-40.
2. Almendros I, Montserrat JM, Torres M, **Dalmases M**, Cabañas ML, Campos-Rodríguez F, Navajas D, Farré R. Intermittent hypoxia increases melanoma metastasis to the lung in a mouse model of sleep apnea. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013;186(3):303-7.
3. Torres M, Montserrat JM, Pavia J, **Dalmases M**, Ros D, Fernández Y, Barbé F, Navajas D, Farré R. Chronic intermittent hypoxia preserves bone density in a mouse model of sleep apnea. *Respir Physiol Neurobiol* 2013;189(3):646-8.
4. Torres M, Laguna-Barraza R, **Dalmases M**, Calle A, Pericuesta E, Montserrat JM, Navajas D, Gutierrez-Adan A, Farré R. Male fertility is reduced by chronic intermittent hypoxia mimicking sleep apnea in mice. *Sleep* 2014;37(11):1757-65.
5. Martínez-García MA, Chiner E, Hernández L, Cortes JP, Catalán P, Ponce S, Diaz JR, Pastor E, Vigil L, Carmona C, Montserrat JM, Aizpuru F, Lloberes P, Mayos M, Selma MJ, Cifuentes JF and Muñoz A on behalf of the Spanish Sleep Network (The members of the Spanish Sleep Network are as follows: Sancho JN and Landete P, Ferré A, Masdeu MJ, **Dalmases M**, Zamora L, Miranda-Serrano E). Obstructive sleep apnoea in the elderly: role of continuous positive airway pressure treatment. *Eur Respir J*. 2015; 46(1):142-51.
6. Isetta V, Negrín MA, Monasterio C, Masa JF, Feu N, Álvarez A, Campos-Rodríguez F, Ruiz C, Abad J, Vázquez-Polo FJ, Farré R, Galdeano M, Lloberes P, Embid C, De la Peña M, Puertas J, **Dalmases M**, Salord N, Corral J, Jurado B, León C, Egea C, Muñoz A, Parra O, Cambrodi R, Martel-Escobar M, Arqué M, Montserrat JM on behalf of the Spanish Sleep Network (The members of the Spanish Sleep Network are as follows: López E, Gasa M, García-Ledesma E, Rosco-Due MI, Durán J, Reyes-Nuñez N, Pou S, Campo FD, Sampol G, Romero O, Torres M). A Bayesian cost-effectiveness analysis of a telemedicine-based strategy for the management of sleep apnoea: a multicentre randomised controlled trial. *Thorax* 2015; 70(11):1054-61.
7. Isetta V, Torres M, González K, Ruiz C, **Dalmases M**, Embid C, Navajas D, Farré R, Montserrat JM. A new mHealth application to support treatment of sleep apnea patients. *J Telemed Telecare* 2015 (en prensa).
8. Castro-Grattoni A, Alvarez-Buvé R, Torres M, Farré R, Montserrat JM, **Dalmases M**, Almendros I, Barbe F, Sanchez-de-la-Torre M. Intermittent hypoxia-induced cardiovascular remodeling is reversed by normoxia in a mouse model of sleep apnea. *Chest* 2016 (en prensa).

