

**Avaliação da Influência da Síndrome da Apneia-Hipopneia Obstrutiva do Sono
nos Níveis Séricos de Pregnenolona em Adultos com Hipertensão Não
Controlada: Estudo HIPNOS.**

Camila Gosenheimer Righi

Porto Alegre

2018

Universidade Federal do Rio Grande do Sul | Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares
Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Avaliação da Influência da Síndrome da Apneia-Hipopneia Obstrutiva
do Sono nos Níveis Séricos de Pregnenolona em Adultos com
Hipertensão Não Controlada: Estudo HIPNOS.**

*Tese submetida ao Programa de Pós-graduação
em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências
Cardiovasculares da Universidade Federal
do Rio Grande do Sul para obtenção
do título de Doutora.*

Autor: Camila Gosenheimer Righi
Orientador: Professor Doutor Denis Martinez

Porto Alegre

2018

CIP - Catalogação na Publicação

Righi, Camila Gosenheimer
Avaliação da Influência da Síndrome da
Apneia-Hipopneia Obstrutiva do Sono nos Níveis Séricos
de Pregnenolona em Adultos com Hipertensão Não
Controlada: Estudo HIPNOS. / Camila Gosenheimer Righi.
-- 2018.
193 f.
Orientador: Denis Martinez.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e
Ciências Cardiovasculares, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Pregnenolona. 2. Apneia Obstrutiva do Sono. 3.
Hipertensão. 4. Homens. 5. Mulheres pós-menopausa. I.
Martinez, Denis, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

A minha família, agradeço aos meus pais Clemente Eleutério Righi e Nelcy Righi e aos meus irmãos amados Leandro, Evandro e Lessandro Righi pelo apoio geral, incentivo incondicional e entendimento pelos momentos familiares nos quais não pude estar presente, em prol do meu crescimento intelectual e desenvolvimento científico, inclusive Geni Vargas da Costa quem esteve presente em tempo integral atenta à minha criação.

Ao meu orientador, Professor Dr. Denis Martinez, sempre será lembrado por participar desta importante etapa em minha vida profissional, além do acompanhamento de todo percurso de meu desenvolvimento científico compreendendo o mestrado e períodos decisivos do doutorado. Agradeço pelo apoio diferencial, além de todos os momentos que dedicou seu conhecimento ao meu aprimoramento intelectual, eternamente grata.

Ao Professor Dr Sandro Cadaval, mentor da minha trajetória científica desde o mestrado, agradeço pela excelência profissional e acadêmica e pela disposição em partilhar seu conhecimento abrangente com a simplicidade e clareza de um sábio. “Thank you doctor Sandro. You are my professional mentor!”

Em especial aos professores Dr. Flávio Danni Fuchs, Dra. Sandra Costa Fuchs e Dr. Marino Muxfeldt Bianchin pelo apoio e tempo dedicado ao aprimoramento desta tese e por servirem de exemplos adicionais em minha atuação científica. Obrigada em especial aos professores doutores Flávio e Sandra Fuchs pelo apoio diferencial na disponibilização de recursos físicos adicionais à execução do estudo MORPHEOS.

Aos investigadores principais do estudo MORPHEOS, Dr. Luciano Drager e Dr. Geraldo Lorenzi-Filho e aos monitores Fernanda Carolina Silva Guimarães Cruz e Daniel Queiroz pelo apoio e recebimento cordial no Laboratório do Sono do Hospital das Clínicas de São Paulo, além do importante treinamento em práticas essenciais ao exercício de execução do estudo MORPHEOS no centro participante – HCPA.

Ao Doutor Antonio Fernando Furlan Pinotti pela disposição na realização dos ecocardiogramas com tanta competência e cuidado com os pacientes.

Ao Professor Dr. Álvaro Vigo pela sua disposição em auxiliar nas dúvidas estatísticas e pelo recebimento cordial em seu setor, bem como aos estatísticos Vânia Naomi Hirakata e Luciano Guimarães do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelas informações necessárias na etapa de tratamento dos dados.

A todos os coordenadores, secretaria e professores integrantes do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares/UFRGS, pela competência e auxílio que tornaram muitas vezes as dificuldades amenas.

Aos funcionários do Centro de Pesquisa Clínica, Eloisa Medeiros, Andréa Quessada e Rodrigo de Medeiros pela contribuição no direcionamento e orientações cordiais aos pacientes quando estes nos procuravam para obter informações sobre a pesquisa.

À grande colega e amiga mestre Paula Garcia Oliveira pelo profissionalismo e cordialidade no seguimento de nossos pacientes, pela retidão de caráter e compromisso com a pesquisa geradora de nossas teses.

Aos acadêmicos e bolsistas de iniciação científica pela colaboração em diversas etapas da pesquisa, Larissa Porto, Giullia Medeiros, Laís Rodrigues, Alexandre Farret Junior, Mariana Menegon de Souza, Ana Paula Feier, Jordana Walter, Ariéle Mello, Andreza Mariane de Azeredo e Max Willian Dutra Rocha, entre tantos outros alunos da FAMED/UFRGS que participaram da fase inicial do estudo aplicando seus conhecimentos clínicos no rastreamento de critérios de elegibilidade dos participantes. Sem essa equipe tudo seria mais difícil.

Aos meus amigos, os quais não poderei citar a todos por motivos de eu ser uma pessoa com a sorte em ter inúmeras amizades de retidão em meu entorno e que saberão que esta dedicatória é para cada um deles. Registro aqui o agradecimento pelo companheirismo e pelas palavras nas quais me transmitiram sua amizade, confiança e apoio na persistência dos meus objetivos, além da participação ativa nessa etapa de grandes desafios em minha vida, por vezes até no treinamento da apresentação desta tese e na leitura dos artigos.

Ao Daniel Luersen pelo apoio em toda minha formação científica, pelas sábias palavras em momentos difíceis e ouvidos atentos aos desafios que encontrei nessa trajetória, além de ser o revisor oficial da escrita em inglês.

A todos da escola de enfermagem da UFRGS que me proporcionaram uma boa base para seguir adiante na busca do conhecimento científico e, principalmente aqueles que me provocaram a curiosidade científica como a eterna orientadora professora e doutora Sônia Beatriz Cocaro de Souza, sempre bem lembrada pela sua competência e cuidado na formação de seus alunos.

Às instituições de fomento à pesquisa: Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por acreditarem e incentivarem na concretização das pesquisas.

HIPNOS

“Na mitologia grega, Hipnos é filho da Noite e da Escuridão. Seu irmão é a Morte. Rumores indicam que Hipnos vive em uma grande caverna, de onde o rio Esquecimento vem e onde a noite e o dia se encontram. Sua cama é feita de ébano, na entrada da caverna cresce uma série de papoulas e outras plantas hipnóticas. Nenhuma luz e nenhum som entra em sua gruta. Ele vive na sua própria ilha dos sonhos. Seus filhos são os deuses do sonho, Morpheus (Forma), Phobetor (Medo) e Phantasos (Imaginação). Hipnos é dito ser um deus calmo e gentil, como ele ajuda os seres humanos necessitados e, devido ao sono deles, possui a metade de suas vidas.”^{1,2}

¹ Wilhelm Vollmer: Wörterbuch der Mythologie aller Völker. Reprint-Verlag, Leipzig 2003, page 263 & Littleton C. Scott, Gods, Goddesses, and Mythology. Marshall Cavendish: New York (US) 2005. In: Wikipedia. Hypnos. Disponível: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hypnos>. Acesso: setembro, 2018.

SUMÁRIO	
INTRODUÇÃO.....	11
REVISÃO DE LITERATURA.....	12
SONO.....	12
APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO (APNEIA).....	19
Apneia e as Consequências Cardiovasculares.....	31
Apneia e o Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal.....	38
Apneia e Transtornos afetivos.....	43
Apneia e Cognição.....	47
Rastreamento e Diagnóstico da Apneia.....	51
Tratamento da Apneia.....	55
SISTEMA HIPOTÁLAMO-PITUITÁRIA-ADRENAL (Eixo HPA).....	58
Eixo HPA e o Envelhecimento.....	66
Eixo HPA, Cognição e Transtornos Afetivos.....	70
HORMÔNIOS ESTEROIDES.....	74
ESTEROIDOGÊNESE.....	77
PREGNENOLONA.....	83
Pregnenolona e Potenciais Efeitos na Saúde.....	85
Pregnenolona e Dor.....	85
Pregnenolona e Transtornos Afetivos.....	86
Pregnenolona e Cognição.....	89
Pregnenolona e o Envelhecimento.....	90
Concentração Sanguínea de Pregnenolona.....	93
CONSIDERAÇÕES SUMÁRIAS.....	96
JUSTIFICATIVAS.....	97
HIPÓTESES.....	97
Conceitual.....	97
Operacional.....	97
OBJETIVO.....	98
Principal.....	98
REFERÊNCIAS.....	99
ARTIGO.....	130
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	177
ANEXO I - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	178
ANEXO II - TCLE.....	179
APÊNDICE I – MAPA CONCEITUAL.....	184
APÊNDICE II – TABELAS E FIGURAS DO ARTIGO.....	185

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Índice de Apneia-Hipopneia.....	IAH
Intervalo de Confiança.....	IC
Razão de Chances, do inglês "Odds Ratio".....	OR
Índice de Massa Corporal.....	IMC
Pressão Arterial.....	PA
Síndrome da apneia-hipopneia obstrutiva do sono.....	Apneia
Sono com movimentos rápidos dos olhos, do inglês "rapid eyes movement".....	REM
Sono sem movimentos rápidos dos olhos, do inglês "non-rapid eyes movement".....	NREM
Pressão positiva contínua de via aérea, do inglês "Continuous positive airway pressure"	CPAP
Doença de Alzheimer.....	DA
Fator de necrose tumoral, do inglês "tumor necrosis factor".....	TNF
Hormônio adrenocorticotrófico, do inglês "adrenocorticotropic hormone".....	ACTH
Hormônio corticotrófico, do inglês "corticotropin-releasing hormone".....	CRH
Hipotálamo-Pituitária-Adrenal.....	HPA
Eletroencefalograma.....	EEG
Ácido gama-aminobutírico, do inglês "gamma-aminobutyric acid".....	GABA
Fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês "brain-derived neurotrophic factor".....	BDNF
N-metil-D-Aspartato.....	NMDA
Receptores nucleares.....	NR
Proteína de regulação aguda da esteroidogênese, do inglês "steroidogenic acute regulatory protein".....	StAR
Proteína translocadora, do inglês "translocator protein" (18kDa ou TSPO)	18kDa
Citocromo P450, do inglês "cytochrome P450".....	CYP450
Enzima P450 de clivagem da cadeia lateral do colesterol, do inglês "cholesterol side-chain cleavage enzyme" (P450scc ou CYP11A1)	P450scc

RESUMO

Introdução: A apneia obstrutiva do sono (apneia) é causa comum de hipertensão, tendo alta prevalência entre indivíduos com hipertensão resistente aos anti-hipertensivos. Ambas condições afetam a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Diversas evidências indicam alterações dos hormônios esteroides associados à atividade aumentada do eixo HPA em resposta à hipóxia intermitente. A pregnenolona é o primeiro esteroide sintetizado a partir do colesterol, sendo o hormônio precursor dos demais esteroides. Estudos em animais indicam que os níveis de pregnenolona podem ser afetados pela atividade da HPA. Seus níveis alterados são associados a condições de saúde também identificadas na apneia, por exemplo, sintomas neuropsiquiátricos, prejuízo cognitivo, disfunção do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), alterações do sono e do metabolismo lipídico. Tais manifestações clínicas permitem supor potencial relação entre apneia e pregnenolona, no entanto essa suposição ainda não foi testada. O objetivo desta pesquisa será avaliar potencial associação entre a apneia e os níveis séricos de pregnenolona. A presente tese tem como finalidade a titulação e conclusão do curso de doutorado.

Métodos: O delineamento transversal foi escolhido para testar a hipótese de potencial associação entre apneia e pregnenolona. A amostra foi selecionada consecutivamente a partir da população de indivíduos atendidos em clínica do sono com suspeita de apneia moderada a grave e pressão arterial sistólica e/ou diastólica acima de 139/89 mm Hg. Os critérios de inclusão para os homens/mulheres foram, respectivamente, idade mínima de 35/50 anos até o limite de 65 anos com índice de massa corporal (IMC) $\leq 40 \text{ kg/m}^2$. Amostras de sangue foram coletados entre as 7 e as 10 da manhã e analisados por Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Poligrafia portátil e monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) foram realizadas para confirmação dos critérios de elegibilidade. A apneia moderada/severa foi considerada pelo índice de apneia-hipopneia (IAH) maior do que 14/30 eventos por hora de sono respectivamente.

Resultados e Interpretações: Resultados e considerações finais estarão disponíveis após publicação em periódico científico indexado à base de dados online.

Palavras-chave: Apneia-Hipopneia Obstrutiva do Sono - Hipertensão - Esteroides - Pregnenolona

ABSTRACT

Background: Obstructive sleep apnea (OSA) and hypertension affect hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis activity. OSA is linked to changes in steroids which are synthesized from pregnenolone, the first hormone produced from cholesterol. HPA activity affects pregnenolone levels. We aim to evaluate this potential OSA-Pregnenolone association.

Methods: This cross-sectional study compares pregnenolone levels through severity OSA-groups with uncontrolled hypertension. Inclusion criteria for both men/women were ages, respectively, from 35/50 to 65 years old, with body mass index (BMI) ≤ 40 kg/m². Blood was collected among 7-10 a.m. and was analyzed by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Home portable polygraphy and ambulatory blood pressure monitoring were performed. Respectively, apnea-hypopnea indexes of (AHI) ≥ 15 /AHI > 30 were considered moderate/severe OSA.

Findings and Interpretation: Results and final considerations available in a scientific journal indexed to an online database after publication.

Keywords: Obstructive Sleep Apnea– OSA - Hypertension – Steroids – Pregnenolone

INTRODUÇÃO

Globalmente, a prevalência da apneia obstrutiva do sono (apneia) varia conforme a idade, em maiores de 18 anos é em média de 24%, na faixa etária de 60 e 85 anos atinge 84%, 90% em homens e 78% em mulheres.¹ No Brasil é estimado cerca de 33% da população geral tenha índices de apneia-hipopneia (IAH) maiores de cinco eventos por hora durante o sono. Na faixa etária acima de 70 anos essa prevalência aumenta atingindo cerca de 95% dos indivíduos.² Características como idade avançada, sexo masculino e índice de massa corporal elevada contribuem para maior ocorrência da apneia.¹ A doença é responsável por sequelas neurocognitivas e cardiovasculares,^{3,4,5,6} além de alterar padrões de secreção hormonal.^{7,8,9} Essas consequências são relacionadas à fragmentação do sono e à hipóxia intermitente induzida pelas apneias/hipopneias.^{7,10} A hipóxia na apneia leva à desregulação do sistema hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) demonstrada em estudos humanos¹¹ e animais,¹² interferindo na liberação de diversos hormônios.^{7,8,13}

Hormônios esteroides são originados em diferentes glândulas e tecidos celulares esteroidogênicos, inclusive no sistema nervoso a partir do substrato colesterol.^{14,15,16,17} Tais hormônios, quando exercem efeitos no sistema nervoso são chamados neuroesteroides, por exemplo a pregnenolona.²³ À medida que aumenta a idade, além da maior prevalência de apneia² ocorre comumente a diminuição de diversos hormônios, incluindo a pregnenolona.^{18,19,20} A diminuição dos níveis de pregnenolona impacta na capacidade de renovação e reparo celular,^{21,22} além de

influenciar a produção e metabolização de seus derivados e metabólitos.²³ Por outro lado, seu aumento tem demonstrado associação à cognição, memória, níveis beta-amiloide, colesterol elevado e transtornos afetivos.^{23,24} Esteroides apresentam níveis alterados em decorrência de alteração na função do eixo HPA.²⁴ Tal disfunção é identificada em muitas doenças inclusive na apneia em homens e mulheres.¹¹

Apesar da plausibilidade biológica, nenhum trabalho até o momento avaliou a associação entre a apneia e a pregnenolona. Essa lacuna do conhecimento, permite considerar a hipótese de que os níveis séricos de pregnenolona podem estar alterados em pacientes com apneia. Tal hipótese justifica a condução deste estudo, visto que a investigação das diferentes manifestações da apneia é relevante para a medicina do sono.

REVISÃO DE LITERATURA

SONO

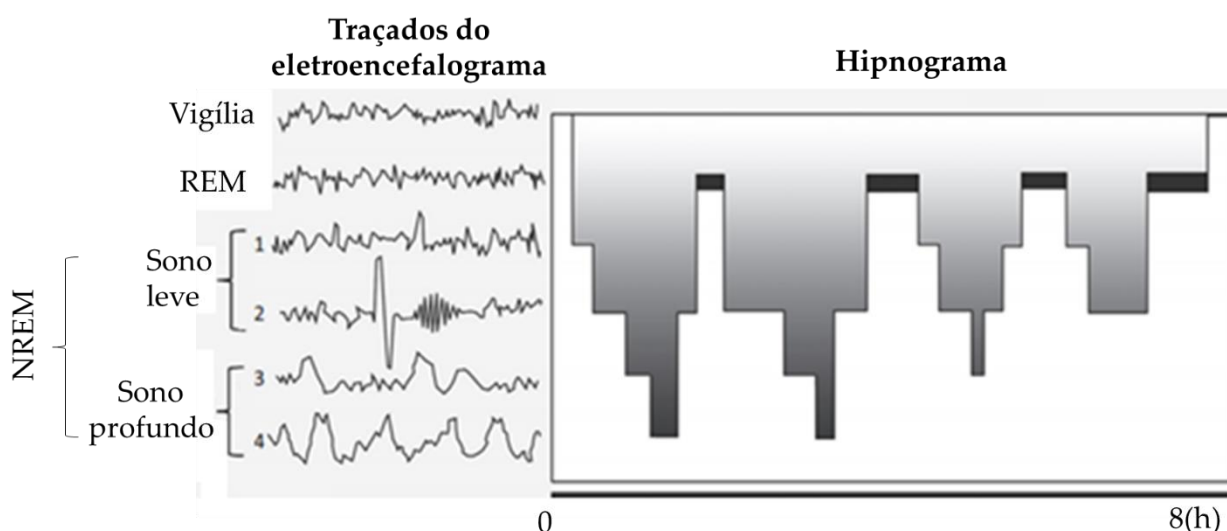
A definição de sono envolve a suspensão periódica natural da consciência durante a qual ocorrem os processos de restauração. A reparação e regeneração cognitiva ocasionada pelo sono parecem ser essenciais para a manutenção da saúde e da homeostase.²⁵ Nos mamíferos e nas aves a estrutura do sono é caracterizada por duas fases fisiológicas distintas como a fase de sono com *movimentos rápidos dos olhos* e a fase de sono *sem movimentos rápidos dos olhos*. Respectivamente, ambas as fases de sono são conhecidas pelas siglas REM e NREM do inglês *rapid eyes movement*

e *non-rapid eyes movement*. O sono REM é o estado fisiológico que inclui movimentos rápidos dos olhos e atonia muscular. Na fase de sono NREM o tônus muscular é presente e dividido em dois estados, sono leve e sono profundo chamado de ondas lentas.^{26,27} O estado de sono leve tem duas fases a NREM 1 e a NREM 2 ou N1 e N2. O estado de sono profundo ou sono de ondas lentas, também contempla duas fases a NREM3 e a NREM 4 ou N3 e N4 e é caracterizado por grandes ondas delta.^{27,28} Em 2007, a American Academy of Sleep Medicine (AASM)²⁹ desenvolveu um manual para a classificação do sono e eventos associados. Uma das principais mudanças ocorreram na classificação dos estágios de sono. Os estágios S1 a S4 passam a ser referidos como N1, N2 e N3, com N3 refletindo o sono de onda lenta englobando os estágios S3 + S4. O estágio REM é referido como o estágio R.²⁹

A mudança no ciclo sono-vigília e entre os diferentes estágios do sono não é unidirecional, oscila entre o REM-NREM e vice-versa, acompanhada de mudanças rápidas nas ondas cerebrais e despertares.³⁰ Em todas as espécies NREM e REM alternam de forma cíclica, com NREM sempre precedendo REM. Os estágios do sono NREM compreendem 75% e o REM 25% do tempo de sono. Mudanças abruptas no ciclo sono-vigília ocasionadas pelas atividades sociais como trabalho em turnos, podem afetar a qualidade de vida dependendo do ritmo biológico de cada um.^{31,28} A eletroencefalografia permite identificar os traçados típicos de cada fase do ciclo do sono representados no hipnograma da Figura 1 com uma distribuição das fases durante oito horas de sono noturno.^{27,28} Logo no início da

noite, os primeiros ciclos NREM-REM são dominados pelo sono de ondas lentas, enquanto que os ciclos posteriores contêm mais a fase REM. O sono de ondas lentas e o REM apesar de maior parte da atenção nas pesquisas, é o sono leve (N2) que compreende mais de 50% do período de sono.^{27,28}

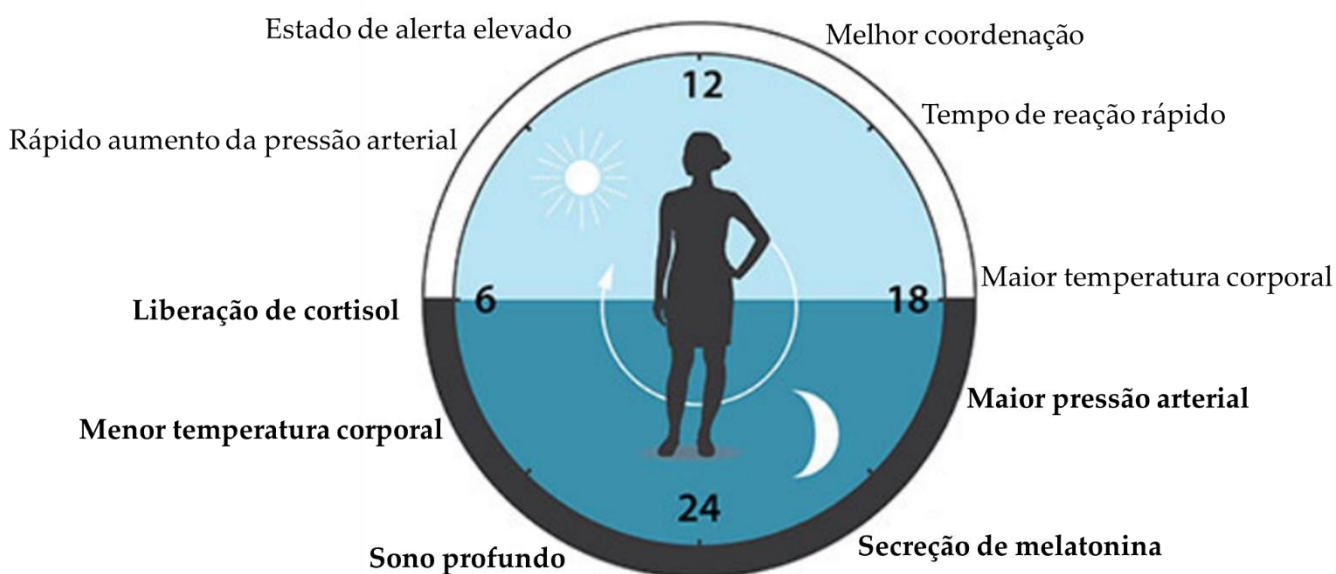
Figura 1 - Eletroencefalografia e os traçados típicos de cada fase do ciclo do sono com hipnograma e a distribuição das fases durante um episódio oito horas de sono.



Tradução e Adaptação: Genzel L. Trends in Neurosciences. 2013.²⁷

Na especial data, dois de outubro do ano de 2017, o prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina foi conquistado por três investigadores ao descobrirem os mecanismos moleculares de controle do ritmo biológico.³² A Figura 2 ilustra o ritmo circadiano e as funções corporais por ele reguladas.³²

Figura 2 - Ritmo circadiano e a fisiologia humana nas diferentes fases do dia.



Tradução e Adaptação: Nobel Prize Laureate 2017.³²

Pode-se identificar na Figura 2 o ritmo biológico e sua influência em funções como atividades comportamentais, níveis hormonais, sono, temperatura corporal e metabolismo. Esse ritmo biológico ou “relógio interno” foi estudado, inicialmente, no século 18 por meio da planta *Mimosa* pelo astrônomo Jean Jacques d’Ortous de Marian. O astrônomo identificou a abertura e fechamento das folhas da planta, conforme a presença ou não de luz solar. Ele experimentou colocar a planta na escuridão e ela continuou com seu próprio ritmo de abertura e fechamento das folhas. Tal observação dava origem ao termo relógio biológico.³²

As alterações no padrão do sono com o avançar da idade são consideradas normais, no entanto, podem afetar a saúde e a qualidade de vida. Alterações no padrão do sono englobam diferentes tipos de transtornos do sono ligados ao aumento das taxas de morbimortalidade.³³ Os distúrbios do sono estão agrupados

em oito amplas categorias: 1) insônia, 2) hipersonias de origem central, 3) parassonias, 4) transtornos relacionados ao ritmo circadiano, 5) transtorno de movimento, 6) transtornos respiratórios, 7) sintomas isolados e variantes normais e, 8) outros transtornos.^{28,34}

A interação bidirecional entre o eletroencefalograma (EEG) do sono e a atividade endócrina em humanos e em várias espécies tem sido investigada.³⁵ Hormônios como peptídeos e esteroides participam na regulação do sono por meio da interação entre hormônios promotores do sono e dos prejudiciais ao sono. Os hormônios liberadores do hormônio do crescimento são os promotores do sono e os hormônios liberadores de corticotrofina são os prejudiciais ao sono.³⁵ Alterações no equilíbrio da relação entre hormônios promotores e prejudiciais ao sono resultam em modificações da atividade sono-endócrina. Se as mudanças forem favoráveis aos hormônios liberadores de corticotrofina ocorrem alterações do sono relacionadas ao envelhecimento e à depressão. O hormônio liberador de hormônio do crescimento é responsável por promover a fase do sono de ondas lentas. Há controvérsias sobre o efeito da corticotrofina na promoção da fase REM do sono.³⁵ A terapia com antagonista de receptores-1 de corticotrofina tem aplicações clínicas benéficas identificadas na depressão na pesquisa básica.³⁵

Perturbações do ciclo sono-vigília são comuns na depressão. Também, servem como marcador biológico sensível da função cerebral e como preditores de resposta ao tratamento e recidiva da depressão.³⁶ Insônia e hipersonia são, além de

sintomas são critérios diagnósticos de depressão.³⁶ Na depressão as mudanças mais comuns na arquitetura do sono são o aumento na densidade do sono REM e a diminuição no sono de ondas lentas.³⁶ A farmacoterapia para depressão e para insônia pode piorar a qualidade do sono, além de causar ou agravar a apneia, síndrome das pernas inquietas e distúrbio comportamental de sono REM.³⁶

Fisiologia, hábitos e modificações no sono ocorrem concomitante ao avançar da idade.³⁷ No envelhecimento, porém, a necessidade reduzida e a diminuição da capacidade restaurativa do sono ainda é debatido.³⁷ Além da necessidade de melhor entendimento das alterações do sono relacionadas à idade, também permanecem necessários estudos que investiguem se características estruturais e funcionais do cérebro influenciam o sono ou se são provocadas pelo sono.³⁷

Revisão publicada em 2017³⁷ demonstrou o afinamento cortical em regiões frontais relacionado a menor qualidade do sono, à hipóxia noturna e ao tempo de sono reduzida em adultos. Essas regiões frontais estão envolvidas na geração de ondas lentas nas redes frontoparietais, implicadas no controle cognitivo e na consolidação de memória em regiões do hipocampo. Adicionalmente, a má qualidade do sono está associada a altos níveis de beta-amiloide e a reduzida conectividade na rede de modo padrão, rede interrompida no caminho para a doença de Alzheimer (DA).

O alcance de uma melhor consolidação do sono demonstrou atenuar o alelo Apolipoproteína-E, genótipo associado à diminuição de roncos e da apneia em

adultos mais velhos sem demência, declínio cognitivo e emaranhados neurofibrilares bem como ao desenvolvimento da DA.^{38,39,40}

Perturbações do sono e do ritmo circadiano são condições para o prejuízo da aprendizagem e da memória, ambos dependentes do hipocampo.⁴¹ Tais perturbações ocorrem precocemente na progressão da demência, precedendo o comprometimento cognitivo.⁴¹ O desafio no tratamento da doença neurodegenerativa é a identificação de estratégias para preveni-las ou retardá-las, porque o diagnóstico geralmente ocorre em estágio avançado.³⁸ As manifestações prodrômicas do sono nas doenças neurodegenerativas são fatores que contribuem para detecção precoce e, provavelmente, para terapêutica mais efetiva.³⁸

Restrição e desorganização do sono por mais de um dia pode exercer efeitos específicos na cognição.⁴¹ Tais efeitos ocorrem devido à supressão da neurogênese no hipocampo por meio da ação dos glicocorticoides e das citocinas inflamatórias.⁴¹

O aumento da sonolência diurna está correlacionado com comprometimento funcional⁴² e é fator de risco independente para demência mesmo controlando para a idade.^{43,44} O rastreamento de alterações do sono e do ritmo circadiano se tornará, progressivamente, necessário nas estratégias de prevenção e redução do prejuízo neurocognitivo, similarmente à prática já estabelecida em doenças como diabetes, hipertensão ou hiperlipidemia com seus exames de rotina.³⁸

APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO (APNEIA)

Os transtornos respiratórios do sono interferem no bem-estar, na autoestima e na qualidade de vida dos indivíduos.⁴⁵ São considerados como qualquer alteração respiratória durante o sono. Tais alterações podem ter origem central quando a causa é relacionada ao sistema nervoso central e origem obstrutiva quando envolve alterações no nível da faringe.³⁴

Entre os transtornos respiratórios do sono está a síndrome da apneia/hipopneia obstrutiva do sono (apneia). Devido à elevada prevalência e grave repercussão sistêmica, a apneia é reconhecida como um grave problema de saúde pública apesar de subdiagnosticada e pouco reconhecida.^{28,34}

A apneia é definida pela interrupção completa do fluxo de ar por no mínimo 10 segundos e a hipopneia pela redução parcial de 50% do fluxo acompanhada de dessaturação da hemoglobina maior que 3% e/ou de evidência de despertares no eletroencefalograma.^{46,47,48} Apneias e hipopneias são diferentes em grau de obstrução da faringe, mas apresentam a fisiopatologia e o impacto clínico de forma semelhante.^{28,46}

Globalmente, a prevalência geral da apneia em é alta, segundo resultados de meta-análise com base em 24 estudos. Para o índice de apneia/hipopneia (IAH) maior do que cinco eventos por hora, a prevalência geral na população maior de 18 anos de idade varia cerca de 9% a 38%, sendo maior nos homens. Grupos com idade entre 60 e 85 anos, a prevalência geral atinge 84%, sendo 90% em homens e 78% em

mulheres. Considerando $IAH \geq 15$, a prevalência na população geral varia entre 6% a 17%, sendo de 36% em grupos de idade mais avançadas.¹

A prevalência da apneia é mais elevada nas mulheres com obesidade quando comparadas as não obesas. Maiores proporções de apneia leve são identificadas no sexo feminino, enquanto, o grau moderado/grave predomina em homens. No entanto, em ambos os sexos a prevalência de apneia moderada/grave é mais elevada na obesidade do que nos casos de sobrepeso unicamente. Em síntese, características como idade avançada, sexo masculino e índice de massa corporal aumentado contribuem para maiores proporções da apneia na população.¹

No Brasil 33% da população geral e 95% de indivíduos com mais de 70 anos tem $IAH > 5$.² A doença é responsável por sequelas neurocognitivas e cardiovasculares.^{3,4,5,6} A apneia altera padrões de secreção hormonal e comportamento sexual.^{7,8,9} Alterações hormonais são relacionadas à fragmentação do sono e à hipóxia intermitente induzida pelas apneias/hipopneias.^{7,10} Estes episódios repetidos de hipóxia na apneia podem ocasionar a desregulação do sistema hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA).^{11,12} Tal desregulação do eixo HPA interfere na liberação de diversos hormônios, incluindo os níveis plasmáticos dos metabólitos de pregnenolona.¹³

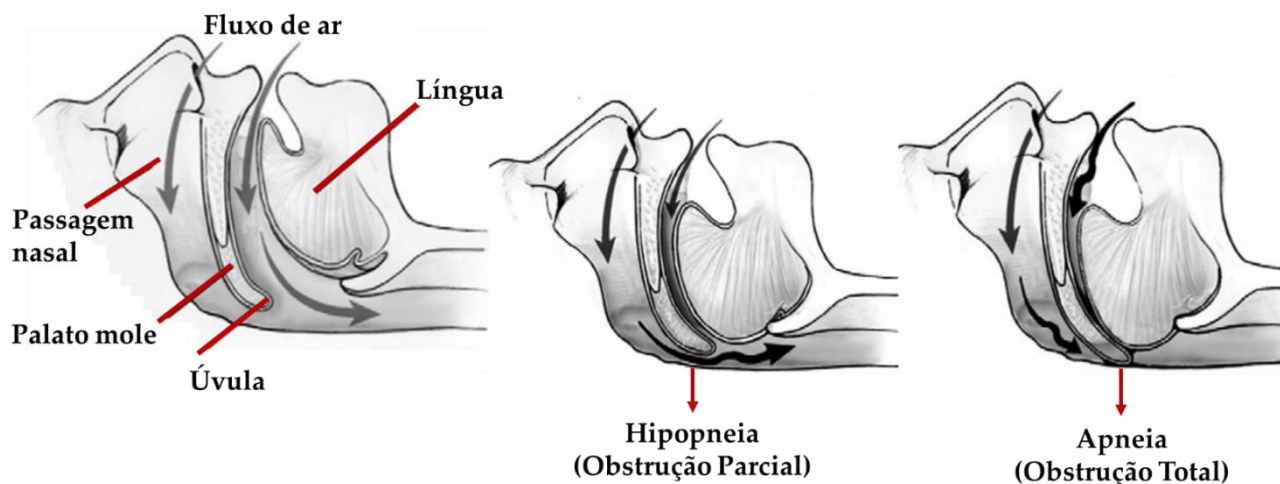
Além da alta prevalência a apneia é um relevante problema de saúde pública devido às sequelas neurocognitivas e cardiovasculares. Anormalidades na anatomia da faringe, na fisiologia do músculo dilatador das vias aéreas superiores

e na estabilidade do controle ventilatório são causas importantes de colapso repetitivo da faringe durante o sono. Esse colapso frequente na faringe provoca despertares recorrentes durante o sono, levando a sonolência e aumento do risco de acidentes automobilísticos e ocupacionais. A hipoxemia, hipercapnia e a liberação de catecolaminas condicionadas por essa desordem são fatores potenciais para o desenvolvimento da hipertensão arterial sistêmica (hipertensão).^{3,28}

A obstrução ou resistência nas vias aéreas superiores ocorrem devido à perda do tono muscular faríngeo durante sono. Adicionalmente, a obstrução total e parcial conduz aos despertares relacionados ao esforço respiratório. Os despertares relacionados ao esforço respiratório durante o sono é chamado de RERA, do inglês “Respiratory Effort-Related Arousals”. O RERA é considerado um estágio inicial podendo evoluir para a apneia. No entanto, mesmo nesse primeiro estágio causa a fragmentação do sono e alterações nos níveis da pressão arterial (PA).^{28,49,50,51}

A Figura 3, ilustra as estruturas anatômicas envolvidas na obstrução parcial e completa das vias aéreas, respectivamente, resultando em apneia e hipopneia.⁴ Os eventos de perturbação respiratória são interrompidos pelo despertar, permitindo o retorno da ventilação e a normalização da oxigenação arterial.^{4,28}

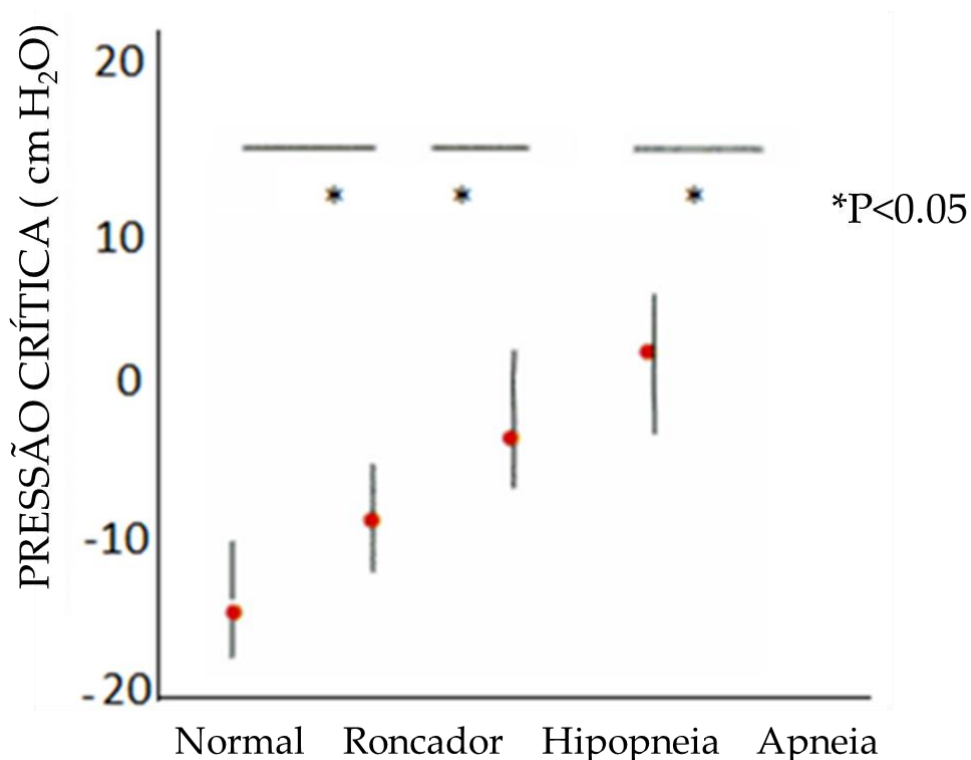
Figura 3 - Estruturas anatômicas envolvidas na obstrução parcial e completa das vias aéreas.



Tradução e Adaptação: Somers VK et al. JACC. 2008.⁴

A abertura das vias aéreas superiores é determinada pelo balanço entre a atividade dos músculos dilatadores e a pressão de sucção intraluminal negativa da faringe durante a inspiração.⁵² A pressão crítica de colapso é a pressão negativa necessária para provocar o fechamento da via aérea. A média e o desvio padrão da pressão crítica de colapso estão representados abaixo (Figura 4) para cada indivíduo pertencentes aos grupos sem transtorno respiratório, roncadores e com hipopneia/apneia.⁵²

Figura 4 - Média e o desvio padrão da pressão crítica de colapso estão representados em grupos sem transtorno respiratório, roncoadores e com hipopneia e apneia.



Adaptação: Tufik, S. Medicina e biologia do sono. 2008.⁵²

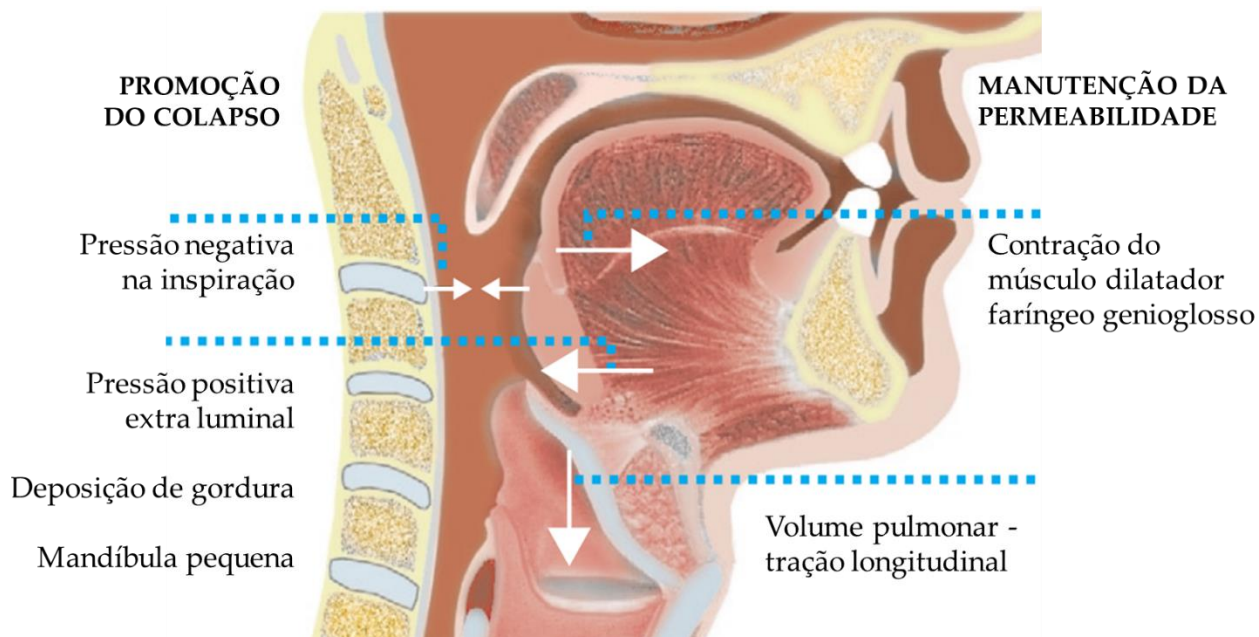
Nos indivíduos sem o transtorno, a faringe é pérvia com pressão intraluminal ao nível atmosférico. O seu fechamento ocorre apenas em valores negativos acentuados, abaixo de -10 cm H₂O. Nos pacientes com apneia o colapso da faringe ocorre mesmo quando a pressão intraluminal é acima da atmosférica.^{28,52}

Embora a maioria dos mamíferos tenha suporte esquelético rígido na via aérea superior, a região atrás da língua e do palato mole não tem muito suporte ósseo. Sem esse suporte rígido a via aérea superior nos humanos é mantida principalmente pela atividade muscular e pela estrutura dos tecidos moles.^{53,54,55} Os tecidos moles e os músculos dessa região são importantes para a motilidade da

laringe, deixando o osso hioide sem suporte rígido. Tais condições estruturais favorecem a vulnerabilidade da via aérea.^{3,28}

Ao iniciar o sono há mudança na atividade dos músculos dilatadores da faringe propiciando o episódio seminal para o colapso da faringe em indivíduos suscetíveis.⁵⁶ Esse colapso da via aérea leva aos despertares recorrentes para restauração da permeabilidade da faringe.^{57,58,59} Tais despertares frequentes favorecem à ativação do sistema nervoso simpático e à fragmentação do sono.^{28,58,59} Na Figura 5 os mecanismos envolvidos na promoção do colapso da faringe e os relacionados à manutenção de sua permeabilidade são apresentados.^{3,28} Apesar da atividade muscular dilatadora aumentar à medida que a apneia progride, esse aumento, geralmente é insuficiente para restabelecer a permeabilidade da faringe.^{60,61} A permeabilidade não restaurada impede o fluxo normal respiratório e o paciente desperta durante à noite repetidamente. O estímulo preciso para causar o despertar é questionado. Grande parte dos pesquisadores sugere a combinação do aumento do esforço respiratório em associação com hipóxia ou hipercapnia.^{28,61}

Figura 5 - Mecanismos envolvidos na promoção do colapso e na manutenção da permeabilidade da faringe.



Tradução e Adaptação: Malhotra A & White DP. Lancet. 2002.³

A síndrome da apneia-hipopneia obstrutiva do sono é definida pelo achado de mais de cinco apneias ou hipopneias por hora com sintomas de sono perturbado.³⁴ Sua gravidade é classificada de acordo com o índice de apneia e hipopneia (IAH) determinado pela divisão do número total de episódios de apneia e hipopneia pelo número de horas de sono. Classificações da gravidade da apneia podem ser visualizadas abaixo (Tabela 1).^{28,34}

Tabela 1 - Classificações da gravidade de índice de apneias e hipopneias (IAH)

Normal	Até 5
Leve	Entre 5 - 15
Moderada	16-30
Grave	>30

Adaptação e Tradução: American Academy of Sleep Medicine - AASM: International classification of sleep disorders. 2005.³⁴

Entre os sinais e sintomas sugestivos de apneia são o ronco, as apneias testemunhadas ou observadas, paciente ofegante, obesidade (especialmente a circunferência do pescoço), hipertensão, sonolência excessiva diurna, história familiar, amigdalectomia prévia e sono não restaurador.^{3,28} Os fatores de risco e mecanismos predisponentes para a apneia podem ser visualizados abaixo (Tabela 2). A obesidade predispõe o risco para apneia, provavelmente pela diminuição do tamanho da via aérea faríngea ocasionada pelo aumento do peso.^{3,28}

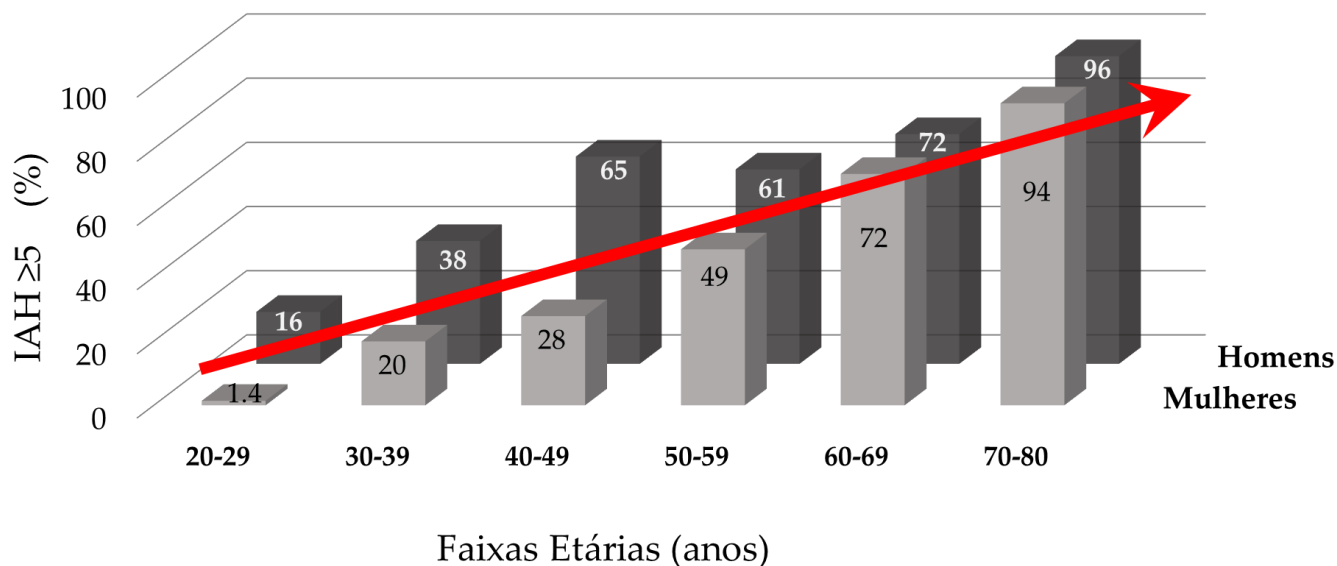
Tabela 2 - Fatores de risco e mecanismos predisponentes à apneia.

Fatores de risco	Possíveis mecanismos
Sexo masculino	Anatomia, controle ventilatório
Envelhecimento	Anatomia, prejuízo do reflexo neural
Obesidade	Anatomia, estabilidade do controle ventilatório
Menopausa	Desconhecido, possível anatomia
Raça negra	Desconhecido, possível anatomia
Álcool	Atividade do músculo dilatador prejudicada
Tabagismo	Inflamação das vias aéreas, edema ou ambos

Malhotra A, White DP. Lancet, 2002.³

O auge de prevalência da apneia está na faixa etária dos 50 aos 60 anos, podendo ocorrer em qualquer idade. A Figura 6 facilita a visualização da transcendência e da magnitude da apneia.^{28,52}

Figura 6 – Prevalência (%) de indivíduos com índice de apneia-hipopneia do sono maior do que 5 eventos por hora (IAH \geq 5).



Adaptação e Tradução: Tufik S & Bittencourt LRA. Sleep Medicine. 2010.⁵²

Os homens são acometidos cerca de duas vezes mais que as mulheres na faixa dos 40 anos.^{28,62} As mulheres apresentam mais essa condição no período pós-menopausa.⁶³ No período senil, a prevalência se iguala para ambos os sexos (Figura 6).

Apesar da alta prevalência de apneia, sua proporção pode ocorrer diferentemente em homens e mulheres.^{64,65,66,67} Suas manifestações clínicas podem se diferenciar, também, devido a sua fisiopatologia, sinais, sintomas e gravidade da doença.^{71,67} Por exemplo, a prevalência de ronco em mulheres aumenta mais tardiamente ao serem comparadas aos homens, após a menopausa.⁶⁸

Tais diferenças de sexo na apneia, apesar de pouco investigadas, são frequentemente atribuídas aos efeitos hormonais, diferenças anatômicas e fisiológicas da via aérea superior, diferentes mecanismos respiratórios e distribuição corpórea de gordura.^{66,69,67,70} Adicionalmente, o sexo feminino pode apresentar menor frequência de roncos comparadas aos homens, devido ao estigma social associado ao sintoma, desconstruindo determinado estereótipo feminino típico ou, considerando o ronco com maior gravidade nos homens.^{64,66} Esse cenário das diferentes manifestações da apneia entre sexos podem levar ao subdiagnóstico, ao diagnóstico de outras doenças e à inadequada condução da avaliação para apneia em mulheres.⁷¹

A ruptura no padrão de sono pode alterar os ritmos circadianos hormonais⁷² e o comportamento sexual.⁷ Estudo em roedores do sexo masculino submetidos à privação do sono demonstrou níveis mais baixos de testosterona e pior viabilidade de esperma ao comparar com grupo controle.^{7,73}

Em mulheres com distúrbios do sono tiveram, significativamente, maior prevalência de disfunção sexual.^{7,74} A duração e a qualidade do sono noturno, também foram associadas à função sexual feminina.^{7,75} Na apneia grave, mulheres tanto no período da pré-menopausa quanto da pós-menopausa foi associada à disfunção sexual e aos menores níveis hormonais de progesterona e estradiol.⁷⁶ A terapia com aparelho de CPAP para ambos os sexos, no entanto, não alterou o estado hormonal no longo e no curto prazo.^{7,77}

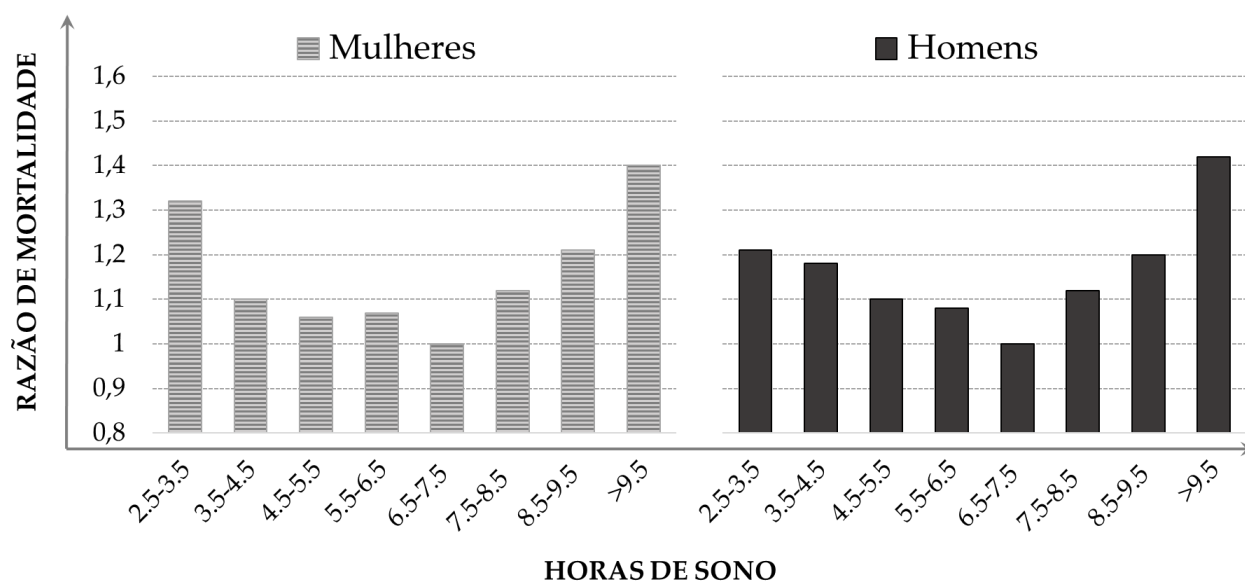
Níveis de progesterona em mulheres na pré-menopausa podem favorecer a associação entre apneia e disfunção sexual.⁷⁶ Tanto os estrógenos, quanto os progestágenos foram caracterizados, geralmente, como protetores contra o desenvolvimento da apneia em mulheres, no entanto ambos hormônios estão diminuídos nessa síndrome.⁷⁸ A progesterona estimula, diretamente, a pulsação respiratória através do aumento da resposta ventilatória tanto à hipercapnia quanto à hipóxia.⁷⁹ A progesterona pode melhorar a atividade do músculo dilatador das vias aéreas superiores⁸⁰ e reduzir a resistência das vias aéreas.⁷⁸ O aumento esperado da progesterona com a gravidez parece atenuar a gravidade da apneia preexistente.⁸¹

O sono é essencial para a reprodução humana e para a vida sexual. Quando não reparador parece reduzir o desejo sexual nas mulheres.⁷ Embora a apneia e a homeostase hormonal nas mulheres tenham sido negligenciados, a apneia influencia negativamente a função sexual, bem como os níveis de progesterona e estradiol.⁷ Na síndrome do ovário policístico a incidência de apneia parece aumentada, assim como suas consequências no longo prazo: resistência à insulina, doenças cardiovasculares e depressão.⁷ Estudos recentes sugerem que doenças do sono como a apneia podem estar relacionadas aos abortos espontâneos devido à sua coexistência com síndrome de ovário policístico e excesso de peso. Os divergentes resultados sobre os efeitos da apneia nos hormônios sexuais apontam para a necessidade de estudos adicionais.^{7,82}

A privação do sono nos distúrbios associados à sonolência diurna excessiva, como apneia, narcolepsia e hipersonia idiopática, elevam as citocinas pró-inflamatórias interleucina (IL)-6 e o fator de necrose tumoral (TNF). Porém, o cochilo diurno após uma noite de perda total do sono parece ser benéfica tanto para a supressão da secreção de IL-6 quanto para a melhora do estado de alerta.⁷ Tais resultados indicam o efeito de mediação da IL-6 e do TNF na sonolência diurna excessiva em humanos e o papel do eixo HPA na estimulação do despertar.^{7,83}

Transtornos obstrutivos do sono, além de causar aumento do trabalho respiratório, levam à fragmentação do sono. Sono fragmentado ocasiona sensação de sonolência diurna, fadiga, diminuição da libido, cefaleia e alteração de humor/ansiedade, déficit de concentração, irritabilidade e apatia.²⁸ Na Figura 7 é demonstrada a relação entre tempo de sono em horas e razão de mortalidade.

Figura 7 – Gráfico demonstrativo da relação entre tempo de sono e razão de mortalidade.



Tradução e Adaptação: Youngstedt SD & Kripke DF. Sleep Medicine Review, 2004.⁴⁵

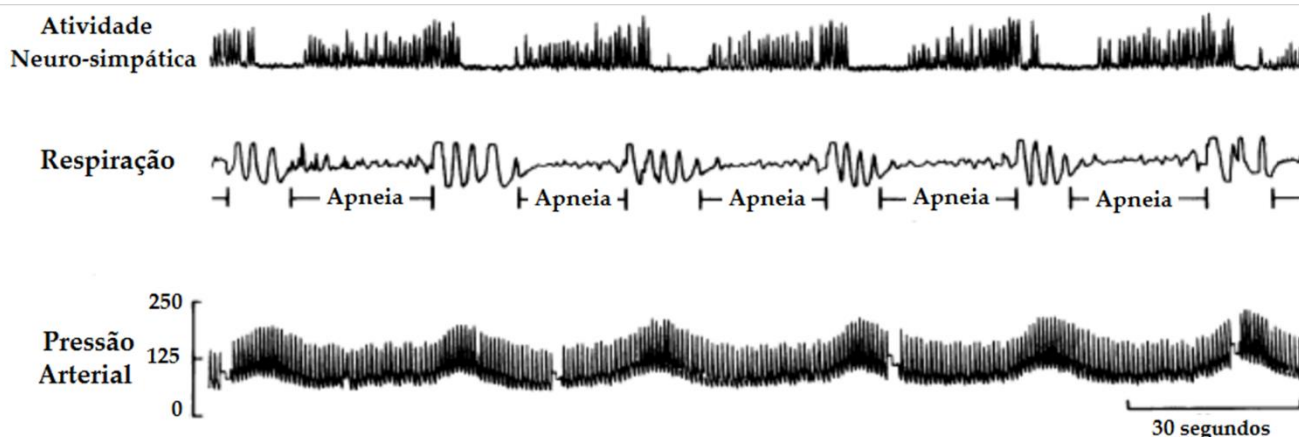
O tempo de sono em média de 7 horas ao dia indica a menor razão de mortalidade, tanto em homens quanto em mulheres (Figura 7).²⁸ Tempo de sono reduzido ou aumentado se associou ao maior risco de mortalidade, entre 30% e 40%.^{28,84}

Apneia e as Consequências Cardiovasculares

Os transtornos respiratórios do sono também podem explicar muitas alterações bioquímicas, hematológicas e fisiológicas da hipertensão.²⁸ São considerados fatores de risco para desenvolvimento da hipertensão e de desfechos cardiovasculares desfavoráveis os transtornos do sono^{28,63,85} devido ao esforço respiratório,⁵⁰ hipoxemia e aumento da atividade simpática.^{28,45,86,87} A Figura 8 demonstra o registro da atividade neuro-simpática, respiratória e da PA durante três minutos do estágio II do sono. Os traçados da PA e da atividade simpática apresentam oscilações características de resposta às apneias repetitivas. Estas oscilações ocorrem continuamente em todos os estágios do sono.^{28,58}

Os barorreceptores carotídeos são estimulados pelas variações de PA nos episódios de apneias, diminuindo a sensibilidade do estímulo barorreflexo e, conseqüentemente elevando a atividade simpática. Possível mecanismo do desenvolvimento da hipertensão em pacientes com apneia.²⁸

FIGURA 8

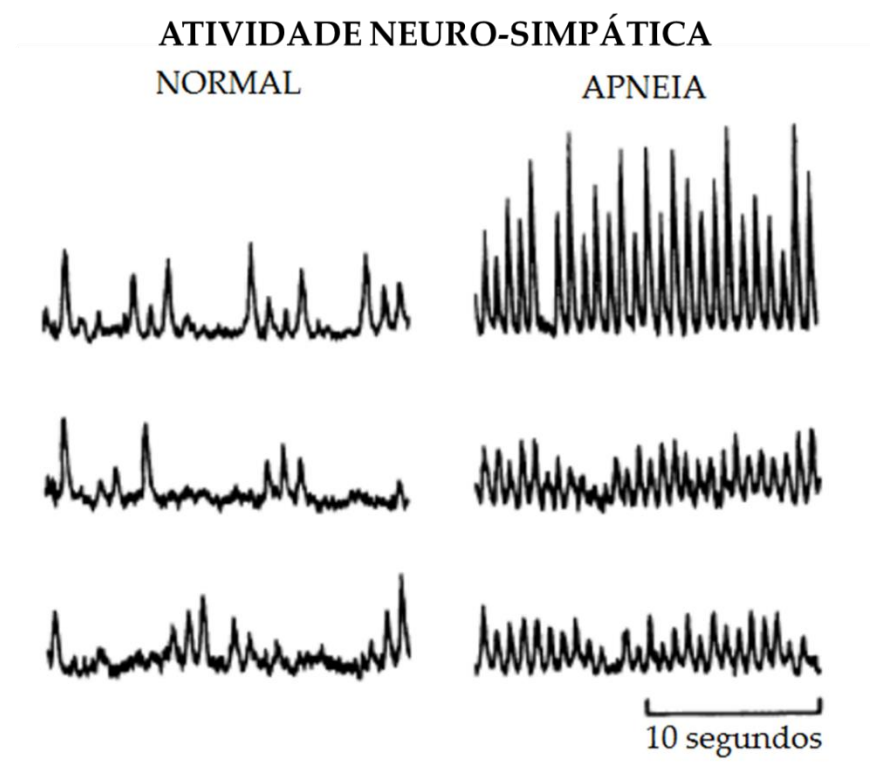


Tradução e Adaptação: Somers Vk, et al. J Clin Invest, 1995.

Indivíduos com apneia apresentam em cada episódio elevação da PA⁸⁸ devido à descarga simpática ocasionada pelo despertar e pela hipóxia.²⁸ A atividade simpática alterada durante o sono se prolonga na vigília, justificando possível manutenção da hipertensão durante o dia.⁸⁹

Altos níveis de atividade nervo simpática são apresentados pelos pacientes com apneia. A Figura 9 ilustrado a atividade neuro-simpática durante a vigília em pacientes com apneia obstrutiva do sono e em controles pareados.^{28,58} Após anos de estudos e associações entre hipertensão e apneia, a apneia obstrutiva do sono foi incluída como causa identificável de hipertensão no Joint National Committee Seven Report.^{28,63,90} No entanto, a relação fisiopatológica entre a hipertensão e a apneia não está elucidada totalmente.²⁸

FIGURA 9



Tradução e Adaptação: Somers Vk, et al. J Clin Invest, 1995.

Apneias simuladas foram analisadas em cães submetidos à oclusão da traqueostomia durante à noite por três meses. Quando a hipóxia se instalava, os animais acordavam e, a válvula se abria imediatamente. Tal intervenção resultou no desenvolvimento de hipertensão diurna e noturna. Para confirmar se a origem da hipertensão ocorreu em função das apneias ou dos repetidos despertares, seis meses depois, o grupo de cães foi submetido a despertares provocados por ruído. Somente o despertar foi suficiente para o desenvolvimento da hipertensão noturna.²⁸

Apneias relacionadas ao sono REM são tipicamente longas, com elevado tono simpático e associadas a dessaturações intensas de oxihemoglobina. Apneias na fase de sono REM são associadas a hipertensão incidente ou de início recente.^{91,92}

A associação da apneia aos desfechos cardiovasculares desfavoráveis é passível de interpretação cautelosa frente aos diferentes achados. Tal associação tem sido confirmada em estudos observacionais há aproximadamente três décadas com população geral e de clínicas do sono.⁹³ Estudos em animais e humanos sugerem que os mecanismos fisiológicos na relação da apneia e as doenças cardiovasculares são a hipoxemia e hipercapnia intermitente e os despertares recorrentes durante o sono.⁹³ O aumento da atividade nervosa simpática parece ser o mecanismo mais fortemente implicado nos efeitos da apneia com boa evidência no prejuízo da homeostase da glicose, inflamação vascular e no estresse oxidativo.^{93,94}

Modestas reduções clinicamente significativas na PA com o tratamento da apneia são identificadas durante o sono.^{95,96,97} Tal efeito pode resultar na redução do risco de infarto do miocárdio e acidentes vasculares cerebrais. No entanto ECR permanecem necessários para confirmar a redução do risco cardiovascular.

Estudos metanálise⁹⁸ e ECR⁹⁹ demonstram resultados negativos do efeito do tratamento da apneia com CPAP na redução de desfechos cardiovasculares. Por outro lado, ao analisar tais evidências com cautela há possibilidades de substancial importância clínica caso a redução de risco seja real ao alcançar uma adesão suficiente ao tratamento e ao analisar pacientes com alto risco para apneia

obstrutiva do sono. Achados atuais na literatura apontam racional forte para ECR adicionais, participantes cegados, com alto risco para apneia e adesão adequada ao CPAP.⁹³ A principal indicação para o tratamento da apneia até o momento é para o controle de sintomas como sonolência, qualidade de vida, ansiedade e depressão^{100,93}

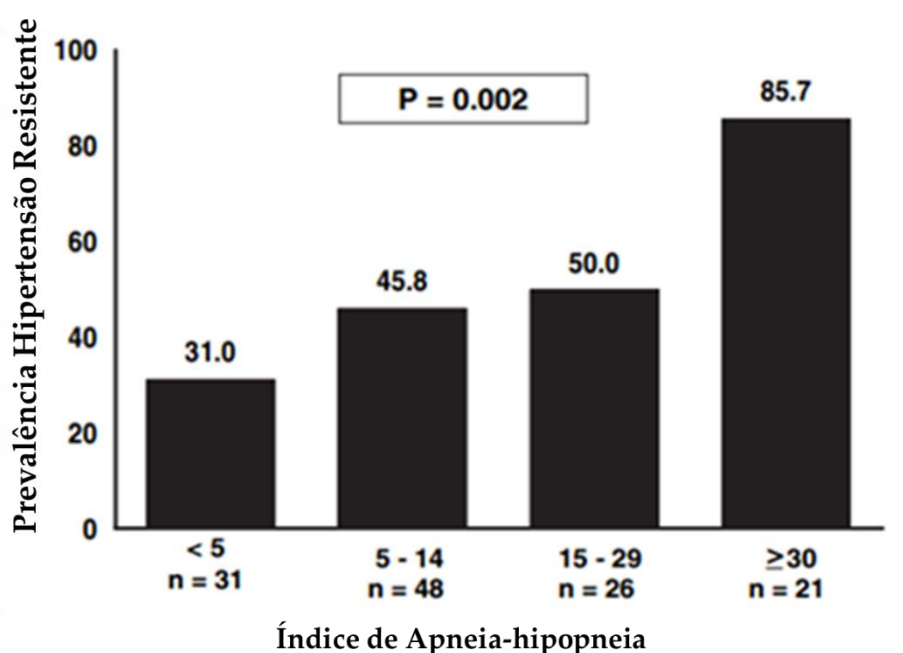
Indivíduos com hipertensão arterial resistente têm maior risco cardiovascular. Costumeiramente, aos pacientes que não respondem ao tratamento anti-hipertensivo se atribui a insuficiente adesão à terapêutica. Há evidências, no entanto, para considerar a existência de apneia do sono quando a PA for de difícil controle. A apneia pode causar um efeito contrário a eficácia do tratamento anti-hipertensivo.^{28,101}

Elevada prevalência de apneia é identificada entre pacientes com hipertensão resistente. Resultados da avaliação de 1485 pacientes com apneia do sono submetidos à polissonografia indicam que indivíduos com PA não controlada tem significativamente apneia mais grave comparados aos pacientes com bom controle pressórico, considerando fatores de confusão.¹⁰² A maior prevalência de apneia é identificada nos pacientes com hipertensão resistente (78%) comparados aqueles com pressão controlada (48%).^{28,103}

A prevalência da apneia (IAH>10 eventos por hora) entre os hipertensos resistentes tem sido identificada entre 71%¹⁰⁴ e 83%¹⁰². Nos pacientes com hipertensão controlada a prevalência foi de 38%.¹⁰⁴ Na população de hipertensos

atendidos em ambulatórios especializados a prevalência foi identificada em 78%.¹⁰⁵ A cada episódio adicional de apneia/hipopneia por hora de sono é estimado um aumento de 4% no risco da ocorrência de hipertensão¹⁰⁶ e a cada 10 pontos no IAH, um risco adicional de 11%.^{28,107} A curva de dose-resposta entre o IAH e a prevalência de hipertensão resistente é ilustrada na Figura 10.^{28,104}

FIGURA 10



Tradução e Adaptação: Gonçalves SC, et al. Chest, 2007.

Hiestand e colaboradores identificaram, em 1506 indivíduos, alto risco de apneia do sono em 31% dos homens e 21% das mulheres.⁸⁹ A apneia do sono está associada independentemente a lesões em órgãos-alvos dos pacientes com hipertensão, no entanto, ainda subdiagnosticada e subtratada.^{28,108}

A hipertensão arterial pode ser a base para as demais consequências cardiovasculares da apneia e está comprovadamente relacionada à hipóxia intermitente.⁵⁰ Entre as consequências da apneia do sono, além da hipertensão, estão a insuficiência cardíaca congestiva, a cardiopatia isquêmica, a hipertensão arterial pulmonar¹⁰⁹e as arritmias.^{28,110} O comitê do National Heart, Lung, and Blood Institute sugere que a correção dos déficits de conhecimento dos profissionais da saúde sobre as consequências dos transtornos do sono nas cardiopatias pode trazer benefícios aos indivíduos para ambas às condições.^{28,111}

Estudo realizado durante 15 anos acompanhou, em média 5.3 anos, 10.701 adultos com apneia do sono diagnosticada por polissonografia. Seus achados apontam a apneia como uma condição prevalente e como um fator de risco para a morte cardíaca súbita. A presença dessa condição prediz a incidência de morte cardíaca súbita. A magnitude desse risco é prenunciada por múltiplos parâmetros que caracterizam a gravidade da apneia.^{28,112}

Os fatores preditores da morte cardíaca súbita são a idade maior do que 60 anos (Razão de risco: 5.53), o índice de apneia-hipopneia maior do que 20 (razão de risco: 1.60), a média de saturação de oxigênio noturna menor do que 93% (Razão de risco: 2.93) e a saturação de oxigênio noturna menor do que 78% (Razão de risco: 2.60). Hipoxemia noturna é uma característica importante da apneia e fortemente prediz a morte cardíaca súbita independente dos fatores de risco bem estabelecidos como idade, hipertensão, doença arterial coronariana ou insuficiência cardíaca,

taquicardia ventricular não sustentada ou ectopia ventricular e menor saturação de oxigênio noturna.^{28,112}

Apneia e o Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

A disfunção do eixo HPA pode ser secundária aos transtornos do sono como a apneia, levando a complicações¹¹³ como alterações hormonais. Por exemplo, progestágenos como pregnenolona e glicocorticoides endógenos estão alterados pela disfunção do eixo,²⁴ apesar de seus conhecidos efeitos de inibição da secreção de TNF-alfa.¹¹⁴

A apneia afeta estruturas reguladoras do eixo HPA como hipocampo e amígdala¹¹⁵ levando a hiperativação do eixo HPA¹¹ e à má adaptação do sistema neuroendócrino.¹¹⁶ Alterações no hipocampo contribuem para o desenvolvimento da depressão, ansiedade e prejuízo cognitivo em pacientes com apneia em comparação ao grupo controle sem a síndrome.¹¹⁷

A hiperatividade do eixo HPA contribui para a expressão de algumas das manifestações clínicas da apneia como a síndrome metabólica, insônia e depressão. Estudos adicionais são necessários para explorar o papel do eixo HPA na etiologia ou nas manifestações clínicas.¹¹³ Existem alterações no eixo HPA, na regulação de feedback e no hormônio do crescimento em pacientes com apneia quando comparados ao grupo de pacientes obesos sem apneia. Essas anormalidades estão relacionadas à variação da estrutura do sono e à hipóxia noturna.¹¹⁸

Há consistência entre estudos ao apontar modificações nos níveis séricos e nos padrões de secreção de vários hormônios devido a fragmentação do sono e aos frequentes despertares promovidos pela apneia.⁹ Despertares noturnos estão associados à ativação do eixo HPA e ativação simpática.¹¹⁹ O efeito da hipóxia ocorre sobre os neurotransmissores centrais que alteram o eixo HPA aumentando os hormônios do estresse,⁹ além do efeito sobre a secreção nas glândulas endócrinas periféricas.¹²⁰ Entre os efeitos relacionados à hipercapnia está o aumento dos hormônios adrenocorticotróficos e adrenais.^{113,121}

Os achados sobre a influência da apneia na atividade do eixo HPA são conflitantes em homens adultos obesos.¹²² Apesar dessa inconsistência nos resultados sobre a associação^{11,122,123,124,125,126,127} ou não associação^{128,129} da apneia e o eixo HPA parece haver uma tendência na direção da evidência favorecendo essa relação. A direção da evidência é observada mesmo com diferentes delineamentos, tamanhos amostrais e diferentes métodos de avaliação do eixo HPA. Tal observação favorece a associação da apneia com a disfunção do eixo HPA. O reconhecimento e a compreensão das interações entre a disfunção local das vias aéreas superiores e suas consequências endócrinas são vitais.⁷

Indivíduos com apneia apresentam hiperresponsividade da adrenocorticotrofina (ACTH) em resposta a corticotrofina (CRH) devido à hipóxia intermitente e à alteração no controle neural da função corticotrófica induzidas pelo sono.²³⁴ A privação do sono está associada à ativação do eixo HPA,¹¹³ bem como

episódios repetidos de hipóxia na apneia podem ocasionar a desregulação no eixo HPA.¹² O eixo HPA hiperativado contribui para doenças secundárias como hipertensão, depressão, insônia e resistência à insulina.¹¹³

O eixo HPA ativado estimula o sistema nervoso simpático na secreção de catecolaminas endógenas. As catecolaminas levam à hipertensão e estão associadas a fatores de risco cardiovascular.¹³⁰ Esse processo também explica a relação entre a depressão e as doenças cardiovasculares.^{131,132} Disfunções neuroendócrinas na depressão são relacionadas à alta atividade do eixo HPA e ao aumento da atividade simpática. A depressão é fator de risco independente para mortalidade cardiovascular.¹³² Proporção significativa de pacientes com distúrbio depressivo maior também manifesta desregulação do eixo HPA.^{133,134,135,136}

Fatores de risco cardiovascular como colesterol e índice de massa corporal estão associados a três componentes do eixo HPA em população de 1134 adolescentes de 17 anos: 1) cortisol plasmático total, 2) adrenocorticotrofina plasmática e 3) globulina de ligação aos corticosteroides.¹³⁷ A associação do risco cardiovascular ao eixo HPA permanece significativa mesmo após ajuste para fatores de confusão potenciais como peso ao nascer, idade gestacional, IMC, sexo, uso de contraceptivos orais, tabagismo, consumo de álcool, padrões alimentares, atividade física e renda familiar.¹³⁷

O cortisol plasmático total se associa aos fatores de risco: PA sistólica, proteína C reativa de alta sensibilidade, colesterol total, HDL e triglicerídeos. O

ACTH plasmático apresentou associação aos níveis de proteína C reativa de alta sensibilidade. A globulina de ligação aos corticosteroides se associou ao marcador inflamatório proteína C reativa de alta sensibilidade, ao HDL, LDL e ao colesterol total. Nenhum dos três parâmetros do eixo HPA se associaram ao IMC ou à resistência insulina.¹³⁷

Os três parâmetros foram medidos as 10 horas da manhã após período de jejum. Tais achados, na população de adolescentes, sustentam a hipótese de que a ativação do eixo HPA pode afetar o sistema cardiovascular. O efeito do eixo HPA no sistema cardiovascular ocorre devido à alteração na função endotelial via elevação da PA, altos níveis de proteína C reativa de alta sensibilidade e à ação dos glicocorticoides nos lipídeos circulantes. Portanto a hiperativação do eixo, provavelmente, não ocorre devido a deposição de gordura visceral ou devido ao aumento da resistência à insulina.^{137,138,139}

A razão dos níveis séricos de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL) em associação aos eventos cardiovasculares tem sido matéria de grande interesse.¹⁴⁰ Esta associação foi avaliada em 30 pacientes antes e após 6 meses de terapia com CPAP comparados a 11 controles pareados por sexo e idade, ambos grupos com apneia.¹⁴⁰ A razão de colesterol LDL/HDL apresentou correlação positiva de 0.28, $P < 0.001$, com o IAH e correlação negativa de 0.30, $P < 0.001$, com a menor saturação arterial de oxihemoglobina, contribuindo em parte para risco aumentado de eventos cardiovasculares em indivíduos com

apneia.¹⁴⁰ Tanto o IAH, quanto sua gravidade e a menor saturação arterial de oxihemoglobina estão associadas de forma independente à razão de colesterol LDL/HDL.¹⁴⁰ Esta razão de lipoproteínas diminuiu no grupo experimental após seis meses do uso do CPAP, $P=0.02$, contrariamente ao grupo controle, $P=0.81$.¹⁴⁰

Em ratos, ocorre aumento na concentração de corticosterona plasmática proporcional à duração da hipóxia intermitente, entre 1 até 4 dias. A secreção elevada de corticosterona, em parte, parece ocorrer via mecanismos associados à ativação do monofosfato de adenosina (AMP) cíclico e enzimas esteroidogênicas.¹⁴¹ Hipóxia simulada em ratos neonatos¹⁴² demonstrou aumentar resposta da corticosterona, mas não de aldosterona, ao ACTH. Tal efeito pode ser mediado pelo aumento nos controladores de transporte mitocondrial de colesterol, por exemplo, a proteína reguladora aguda esteroidogênica (StAR) e a proteína receptora periférica de benzodiazepínicos. O aumento da resposta da corticosterona ao aumento agudo da ACTH nos ratos filhotes, provavelmente, é um componente importante da adaptação fisiológica geral à hipóxia.

Em cultura de células animais foi identificado que redução de oxigênio é capaz de interferir na atividade de algumas enzimas P450.¹⁴³ Podemos observar na manifestação da apneia pela hipóxia um potencial prejuízo no processo de esteroidogênese.^{141,142,143,144} Apesar de resultados divergentes sobre o aumento ou diminuição de enzimas e hormônios, há consistência em relação a existência da alteração no processo de esteroidogênese. Tais diferenças nos resultados podem

ocorrer devido às diferentes técnicas empregadas, por exemplo, cultura de células em diferentes tipos de tecidos, níveis sanguíneos, além de diferentes modelos animais e fases de desenvolvimento.

Apneia e Transtornos afetivos

A relação entre apneia, ansiedade e depressão não é totalmente conhecida. A frequência de ansiedade é maior em pacientes com apneia do que na população geral. Adicionalmente, pessoas com doença mental grave definida como transtorno depressivo maior, bipolar e distúrbio de espectro da esquizofrenia tem alta prevalência de apneia.¹⁴⁵ A apneia tem sido associada às doenças psiquiátricas,¹⁴⁵ e podem afetar a qualidade de vida e a adesão ao CPAP.¹⁴⁶ A apneia pode resultar em deterioração neurocognitiva e de humor em pessoas com problemas de saúde mental por meio da hipóxia intermitente e das interrupções do sono.^{146,147}

Revisão sistemática¹⁴⁶ de 48 estudos sobre apneia em diferentes distúrbios psiquiátricos identificou insuficientes evidências que a apneia está elevada nos indivíduos com esquizofrenia e outros distúrbios psicóticos, transtornos de humor e transtornos de ansiedade. Também considerou limitadas as evidências para maior prevalência da apneia em indivíduos com distúrbio depressivo maior e transtorno do estresse pós-traumático, todavia estudos adicionais permanecem necessários.¹⁴⁶ No entanto, a direção das evidências aponta o tratamento da apneia para alcançar desfechos psiquiátricos mais favoráveis, além da melhora das apneias.¹⁴⁶

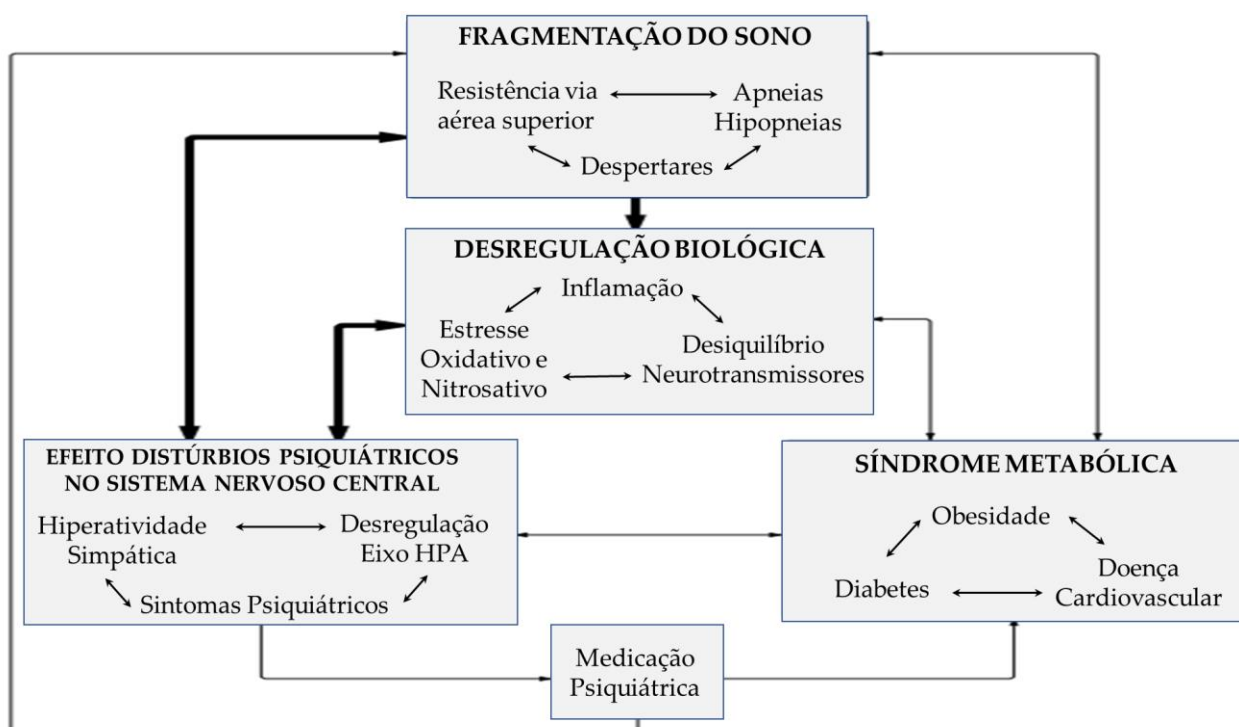
A conexão entre apneia e distúrbio depressivo é acompanhada por três fatores: obesidade, hipertensão e diminuição da qualidade de vida. Estes fatores estão associados a processos inflamatórios.¹⁴⁸ Indivíduos com apneia e transtorno depressivo maior apresentam episódios de depressão mais graves e mais longos.¹⁴⁹

Mesmo com limitadas informações sobre o efeito do CPAP nos sintomas depressivos o tratamento com CPAP deve ser indicado para apneia. Isoladamente, não parece eficaz para diminuir a gravidade dos sintomas depressivos.¹⁵⁰

Em 1327 indivíduos chineses com apneia foi identificado, além de elevada prevalência de sintomas depressivos, a associação significativa com o IAH, hipoxemia, status solteiro e reduzido suporte familiar e social.¹⁵¹

Numerosos fatores podem contribuir para a associação entre distúrbios psiquiátricos e a apneia. Na Figura 11 é apresentado um modelo com fatores contribuintes para desregulações biológicas, psiquiátricas e metabólicas que tanto originam, pioram a apneia e que também são afetados pela síndrome.¹⁴⁶

Figura 11 - Proposta de fatores somatórios para o desenvolvimento de sintomas de instabilidade das vias aéreas superiores e de apneia obstrutiva do sono.



Tradução e Adaptação: Gupta MA & Simpson FC. J Clin Sleep Med 2015.¹⁴⁶

Esse modelo é uma hipótese geral para a coevolução da apneia em transtornos psiquiátricos, e nem todos os aspectos estarão presentes em todos os pacientes.¹⁴⁶ Cada grupo de sintomas é um ponto de entrada independente para o ciclo. Se não for tratada a presença de um fator de risco ocorre o aumento da probabilidade de desenvolvimento sinérgico de mais sintomas em cada *cluster*, resultando em apneia. As setas em negrito denotam as associações mais salientes do modelo.¹⁴⁶

O estresse oxidativo e nitrosativo, a inflamação e o desequilíbrio de neurotransmissores têm papel nas desordens psiquiátricas do tipo psicótica, de humor e de ansiedade.^{146,152} Além de favorecer o surgimento dos sintomas

psiquiátricos, alteraram as funções endócrinas e neurobiológicas associando os transtornos psiquiátricos às doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade, as quais são três preditores¹⁴⁶ e desfechos de apneia.¹⁴⁶ Conforme ilustrado na Figura 11 observamos, também, a estreita relação entre a apneia e o sistema HPA e o papel da apneia na origem dos transtornos psiquiátricos.

Indivíduos com apneia apresentam hipocortisolismo ao acordar e redução significativa na concentração de testosterona à noite quando comparados aos seus controles.¹⁵³ Tratamento de uma noite com CPAP não alterou hormônios sexuais como testosterona e estradiol plasmáticos e salivares em homens e mulheres com apneia, permanecendo a necessidade de estudos que avaliem o efeito da terapia com CPAP no longo prazo.¹⁵⁴ Pacientes saudáveis, contrariamente aqueles com apneia mantém a variação fisiológica diurna de testosterona e cortisol com concentrações hormonais mais elevadas pela manhã e concentrações mais baixas durante à noite.¹⁵³ A hiperatividade crônica do eixo HPA também está associada à depressão¹⁵⁵ e a depressão tem relação causal em pacientes com apneia.^{149,156,157,158}

Os desequilíbrios no balanço anabólico-catabólico diurno sugerem que a apneia está associada à desregulação dos eixos hipotálamo-pituitária-adrenal e hipotálamo-pituitária-gonadal, potencialmente a causa subjacente de algumas das comorbidades neuropsicológicas observadas em pacientes com apneia.¹⁵³ Este estudo¹⁵³ é um dos vários que avaliaram o efeito da apneia sobre o eixo HPA.^{11,122,123,126,127,159,160,161,162,163} Apesar de diferentes delineamentos, características

populacionais, horários e frequências das coletas de sangue, no conjunto das evidências, há tendência na direção das evidências para a associação entre a apneia e o eixo HPA. Tal associação explica em parte os sintomas depressivos, de ansiedade e cognitivos, muito frequentemente fatores que levam os pacientes a procurar profissionais especializados.

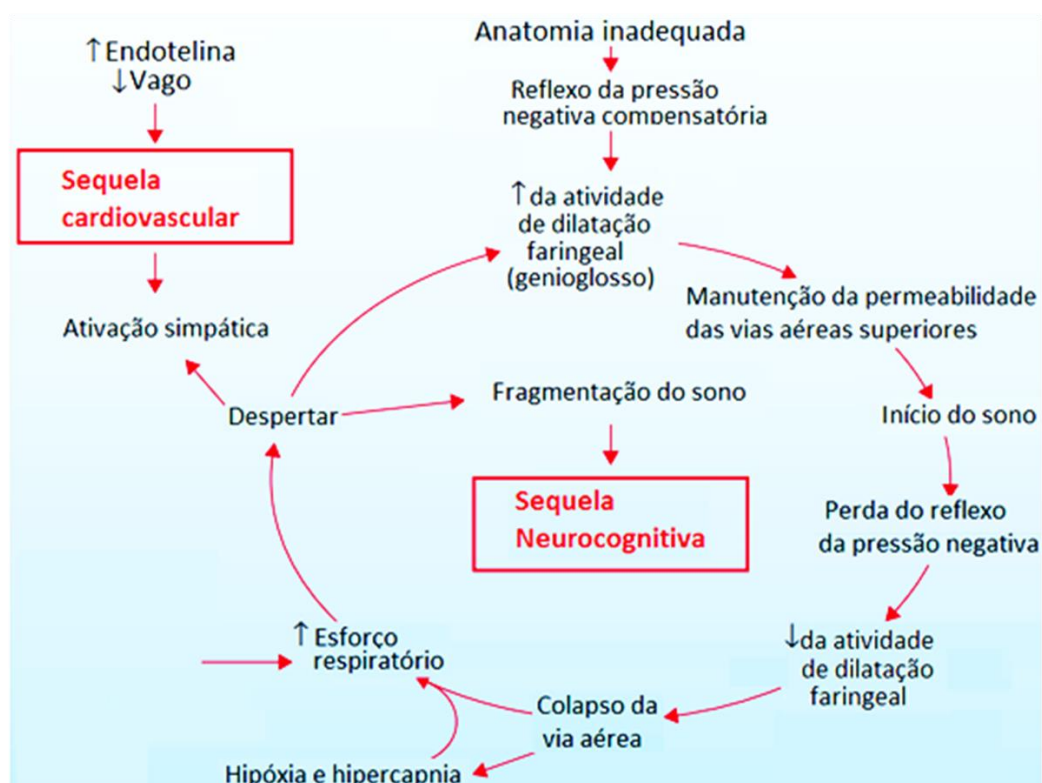
Apneia e Cognição

Apneia é bem reconhecida como fator de risco para distúrbios neurocognitivos, metabólicos e cardiovasculares.^{164,165,166,167} Ademais suas consequências implicam em altos custos aos cofres públicos e privados de saúde, tornando-se importante considerar o impacto da disfunção neurocognitiva às sequelas sociais além de econômicas.^{164,168,169,170}

Pacientes com apneia apresentam mudanças estruturais e metabólicas em regiões do cérebro responsáveis pela memória.^{171,172,173,174,175,176,177} Alguns estudos indicam que além do dano estrutural no cérebro, o prejuízo da memória pode ser causado pela sonolência,¹⁷⁸ fator considerado como principal causa de alteração neurocognitiva na apneia para alguns autores.¹⁷⁹ No entanto, com contínuas investigações científicas sabemos que muitos fatores podem contribuir para mecanismos causais da associação apneia e neurocognição.

Estudo em idosos¹⁸⁰ demonstrou correlação de escores de demência com os índices de apneia e hipopneia, no entanto não identificou o mecanismo de causalidade. Nesse contexto foi reforçada a hipótese de que apneia pode afetar as funções mentais devido à hipoxemia transitória, característica da doença. Na Figura 12 são apresentados possíveis mecanismos envolvidos nos desfechos cardiovasculares e neurocognitivos desfavoráveis atribuídos à apneia.³

Figura 12 - Possíveis mecanismos envolvidos nas consequências cardiovasculares e neurocognitivas da apneia.



Tradução e Adaptação: Malhotra A, et al. Lancet, 2002.³

O aparelho de CPAP é o tratamento tipicamente recomendado para tratar a apneia. Esse aparelho pode reverter parcial ou completamente as complicações relacionadas a apneia como o prejuízo cognitivo.^{164,181,182,183} Além disso, o uso de CPAP pode reverter alterações funcionais e estruturais do cérebro.^{184,185,164} Ensaios clínicos randomizados^{186,187} com pequeno tamanho amostral e curtos períodos de seguimento avaliaram o efeito do CPAP na cognição e nos exames de neuroimagem, obtendo resultados variáveis.¹⁶⁴ A relação entre apneia, cérebro e funções neuro-comportamentais ainda necessita de mais estudos sobre como, quando e por quanto tempo o tratamento com CPAP deve ser administrado.¹⁶⁴

Por outro lado, novos fatores que afetam as funções neurológicas são identificados como a microbiota intestinal. Ela pode estar envolvida na modulação da função nervosa central como o sistema hipotálamo-pituitária- adrenal (HPA) e associada a condições neuropsiquiátricas.^{164,188,189} Em modelos animais identificaram a alteração da microbiota intestinal devido ao feito da hipóxia intermitente e da fragmentação do sono.^{164,190,191} Tanto nas alterações neurocognitivas da apneia como na hipótese das alterações na microbiota intestinal o desequilíbrio do sistema HPA está presente.

Resultados de metanálise baseada em estudos transversais¹⁹² indicam alta taxa de apneia entre pacientes com doença de Alzheimer. O *Odds Ratio* sumário da metanálise para a ocorrência de apneia em indivíduos com a DA foi de 5.1 (95% IC 2.1 – 10.6) comparados ao grupo controle sem a doença, $P < 0.001$. Isso pode fornecer

incentivo para alertar clínicos sobre a importância do rastreamento da apneia na doença de Alzheimer, além de estimular pesquisas futuras.^{192,193}

Para testar a hipótese de associação entre a gravidade da apneia e o aumento longitudinal da carga amiloide, idosos entre idades de 55 e 90 anos, cognitivamente normais foram seguidos por dois anos.¹⁹⁴ Os indivíduos não eram deprimidos e tinham um diagnóstico clínico consensual de cognição normal. A apneia se associou a marcadores de aumento da carga amiloide ao longo dos 2 anos de seguimento.¹⁹⁴ A fragmentação do sono e a hipóxia intermitente causadas pela apneia são provavelmente mecanismos envolvidos no aumento de beta-amiloide.

Costandi em publicação na revista *Nature* no ano 2013¹⁹⁵ alertou para o fato de clínicos considerarem a íntima relação entre sono e doenças neurodegenerativas mais comuns. Também salientou que ao considerar essa relação tais profissionais poderiam ter melhor condições na detecção de condições neurológicas debilitantes em estágio inicial, talvez conseguindo evitar a progressão.

Sumariamente, intervenções clínicas para a apneia terem importância na prevenção da acumulação de amiloide em idosos cognitivamente normais após estudos confirmatórios.¹⁹⁴ Importante salientar que o esteroide pregnenolona apresentou efeitos neuroprotetores em ratos contra a neurotoxicidade de glutamato e a neuropatologia da proteína beta-amiloide.¹⁹⁶ Ambos, glutamato e proteína beta-amiloide, estão envolvidos na patogênese da DA e no declínio cognitivo de pacientes com apneia.^{192,193} Considerando este conjunto de evidências provenientes

do racional teórico apresentado até aqui é razoável supor possível relação entre apneia obstrutiva do sono, níveis de pregnenolona e desempenho neurocognitivo.

Rastreamento e Diagnóstico da Apneia

A apneia, muitas vezes, não é diagnosticada,¹⁹⁷ apesar de sua considerável magnitude e o rastreamento se faz necessário. Questionários para rastreamento da doença permitem aos profissionais de saúde a governabilidade das consequências da apneia devido à possibilidade de diagnóstico e encaminhamento ao tratamento apropriado. Tais condutas podem impactar na melhora da qualidade de vida e na diminuição dos custos futuros resultantes de suas complicações.²⁸ Para diagnóstico sintomático como grau de sonolência e o risco elevado para apneia, gradativamente, têm-se utilizado questionários.^{28,103,198,199}

Dados obtidos de 643 idosos saudáveis demonstraram que 31,4% (202) tinham critério para alto risco de apneia pelo Questionário de Berlim (QB). A sensibilidade do QB foi de 77% e especificidade de 39%, valor preditivo positivo de 63% e valor preditivo negativo de 55%. Frente aos resultados encontrados o estudo sugere que o instrumento não forneceu um alto nível de especificidade para diagnosticar e discriminar a apneia. Apesar de não ser, no entanto, suficientemente preciso, ele pode ser usado nos pacientes para avaliação e estudo do sono.^{28,198}

Estudo de revisão sistemática¹⁹⁹ avaliou questionários empregados para identificação do risco para apneia. O QB foi considerado como o método mais

comumente utilizado nos estudos avaliados, tendo sua validação em diferentes populações, tais como em pacientes de clínicas do sono, na população em geral e em pacientes de cirurgia. Quanto à validade interna dos estudos revisados todos apresentaram uso de testes válidos de referência para verificar a acurácia dos questionários. Na avaliação da capacidade diagnóstica dos questionários para risco de apneia, o estudo separou o material de análise em duas categorias, sendo uma composta de pacientes com desordens do sono e a outra sem desordens.^{28,199}

Nos pacientes sem história de desordens do sono, considerando IAH maior ou igual a cinco o QB apresentou maior especificidade e ocupou segundo lugar quanto ao nível de sensibilidade para detectar apneia. No mesmo grupo, o questionário de Wisconsin obteve a maior sensibilidade. Nos pacientes com desordens do sono e ainda com igual IAH o melhor teste de especificidade e sensibilidade nessa categoria foi demonstrando pelo questionário de Haraldsson's. No grupo de pacientes com desordens do sono, mas com IAH maior ou igual a 15, o QB tem a maior especificidade e o questionário STOP-BANG maior sensibilidade.^{28,199}

Essa revisão sistemática¹⁹⁹ relatou a impossibilidade de conclusão definitiva acerca do questionário mais preciso, devido aos resultados inconsistentes, atribuídos as diferenças de desenho dos estudos, população, tipo de questionário, validade, mesmo quando considerado diferentes análises sobre o mesmo questionário. Porém, o estudo não excluiu a possibilidade de resultados

promissores dos questionários que avaliam a apneia. Também, foi recomendado o uso dos questionários STOP e STOP-BANG devido à alta qualidade metodológica do estudo que os avaliou.²⁸

O questionário STOP-BANG (Anexo III)²⁰⁰ considera risco para apneia quando o escore é maior do que dois. Cada letra desse acrônimo é composta pelos sintomas de ronco (S=snoring), cansaço (T=tiredness), apneias observadas (O=observed apneas), PA (B= pressure), índice de massa corporal ≥ 35 kg/m² (B=body mass index), idade ≥ 50 anos (A=age), circunferência do pescoço ≥ 40 centímetros (N=neck circumference) e sexo masculino (G=gender).^{28,200}

A sonolência diurna, um dos sintomas da apneia-hipopneia obstrutiva do sono, pode ser avaliada, da mesma forma, por meio de questionário. A Escala de Sonolência de Epworth,²⁰¹ (Anexo IV), criada em 1991 por Murray W. Johns e colaboradores, é amplamente utilizada para avaliação desse sintoma. A escala pontua de zero até o máximo de 24 pontos. Avalia as chances de cochilar ou adormecer em oito diferentes situações, comumente encontradas no cotidiano dos indivíduos, fazendo distinção entre cochilo e a sensação de cansaço. Acima de 16 pontos, considera-se alto nível de sonolência.²⁸

Nos pacientes com apneia os escores da escala estão, significativamente correlacionados com o índice de distúrbio respiratório e com a saturação mínima registrada durante à noite.²⁰¹ A escala de Epworth foi traduzida e validada na língua portuguesa. Os resultados do estudo de validação consideraram-na um

instrumento válido e confiável para a avaliação da sonolência excessiva diurna, além de ser equivalente à sua versão original quando aplicada em indivíduos que falam português do Brasil.^{28,202}

Algumas características e preditores clínicos da apneia foram identificadas em pacientes hipertensos, tais como a idade avançada, obesidade, níveis elevados de PA, diabetes, dislipidemia, hipertensão resistente e síndrome metabólica quando comparados aos pacientes sem apneia. Para prever apneia a idade do paciente demonstra alta sensibilidade, no entanto baixa especificidade. Por outro lado, a obesidade e a hipertensão resistente, revelam baixa sensibilidade, mas alta especificidade. A síndrome metabólica apresentou alta sensibilidade e especificidade. Pacientes com idade entre 40 e 70 anos apresentam risco mais elevado para apneia e síndrome metabólica. A presença da síndrome metabólica foi considerada marcador relevante da apneia entre os pacientes com hipertensão, além de outras características típicas clínicas como ronco e sonolência diurna excessiva.^{3,28}

No diagnóstico dos transtornos respiratórios do sono é utilizado, principalmente, o índice de apneias-hipopneias (IAH). A apneia pode ser diagnosticada com base em achados clínicos, indicativos de distúrbios respiratórios do sono, como queixa de ronco, sono não reparador e sonolência diurna. É importante suspeitar da presença da doença, também nos hipertensos com sintomas de distúrbios do sono. Atualmente, são poucos os pacientes com o diagnóstico de apneia devidamente identificado.^{28,203} A apneia obstrutiva do sono pode ser

diagnosticada com base, além dos sintomas (ronco, sonolência diurna) no exame físico (aumento da circunferência do pescoço).³ A polissonografia é considerada para definir os diferentes estágios fisiológicos do sono e para o diagnóstico de vários tipos de distúrbios relacionados ao sono, entre eles a narcolepsia, síndrome das pernas inquietas, distúrbio de comportamento REM, parassonias e apneia.²⁰⁴

A polissonografia, porém, tem custo elevado e necessidade de laboratório específico para o cliente passar à noite e ter seu sono monitorizado.^{3,205,206} O exame revela o desempenho respiratório e quantifica o número de apneias/hipopneias durante o sono, considerando o fluxo aéreo, os movimentos torácico-abdominais e a saturação de oxigênio.²⁸ A polissonografia inclui um número mínimo de onze canais, incluindo o eletroencefalograma (EEG), eletromiograma (EMG), eletro-oculograma (EOG), a saturação de oxigênio (SpO₂) e um canal de eletrocardiograma (ECG). Dados multicanais são gravados, simultaneamente em um papel gráfico de movimento contínuo e em um sistema de computador para análise e visualização.^{28,207}

Tratamento da Apneia

O tratamento da apneia pode ser realizado pelo aparelho de pressão positiva contínua na via aérea (CPAP). O CPAP pode eliminar ou reduzir drasticamente os episódios de apneia e hipopneia, diminuindo a sonolência diurna, melhorando o humor e a qualidade de vida dos pacientes tratados quando comparados a controles

que receberam placebo ou prescrição sub-terapêutica.^{197,208,209} Resultados de pacientes tratados clinicamente com CPAP indicaram, significativamente, menos eventos de mortalidade quando comparados aos pacientes que não receberam qualquer tratamento no período.^{28,210}

A alternativa para o tratamento da apneia são os aparelhos intraorais. Sua utilização tem efeito favorável sobre a PA média, PA sistólica e diastólica.^{28,211} Estes aparelhos são presos aos dentes para realizar o avanço mandibular e para impedir durante o sono que a língua se desloque dorsalmente, evitando o colapso dos tecidos moles da orofaringe. Promove o aumento do espaço da via aérea no nível da faringe, estabilizando e avançando a língua, possivelmente, pela mudança da atividade muscular.^{28,212,213,214}

Tais aparelhos são de fácil manuseio e fabricação, não são invasivos, tem ação reversível, baixo custo e bem tolerados pelos pacientes.^{28,215,216} Estudos de metanálises identificam que o tratamento pelo CPAP e pelos aparelhos intraorais implicam em resultados favoráveis na redução dos níveis pressóricos.^{28,211,217} Apesar da alta eficácia do aparelho de CPAP na reversão da obstrução das vias aéreas superiores na apneia, a eficácia do tratamento é limitada à variável adesão à terapia prescrita. Quando a aderência é definida como maior do que 4 horas de uso noturno, 46 a 83% dos pacientes com apneia obstrutiva do sono foram relatados como não aderentes ao tratamento.²¹⁸ Tendência clínica não significativa foi observada no aumento da adesão ao CPAP durante poligrafia portátil residencial comparada ao

exame da apneia com polissonografia.²¹⁹ Fatores como gravidade da apneia, sonolência diurna subjetiva e tabagismo estão associados, independentemente, à má adesão ao CPAP.²²⁰

Avaliação geral dos resultados do tratamento da apneia deve ser realizada em todos os pacientes. Os indicadores de desfechos para monitorar durante terapia incluem a avaliação de medidas de qualidade de vida específica da apneia, da satisfação do paciente e do cônjuge, da adesão à terapia, da mitigação de fatores de agravamento da doença, da quantidade adequada de sono, da prática de adequada higiene do sono e da perda de peso para pacientes com sobrepeso/obesidade. A resolução da sonolência também deve ser avaliada por meio de escalas subjetivas, como a Escala de sonolência de Epworth ou por meio de medidas objetivas, como o teste de latência de sono múltiplo ou o teste de manutenção da vigília, se a sonolência persistir apesar do tratamento efetivo.²²¹

31 indivíduos entre 25 e 65 anos com diagnóstico recente de apneia moderada com $IMC \leq 40$ kg/m² foram randomizados para grupo controle com 3 meses de tratamento não ativo diário durante 30 minutos ou para grupo de tratamento ativo composto por conjunto de exercícios orofaríngeos.²²² Os exercícios orofaríngeos são derivados de alterações da fala e da linguagem e incluem exercícios envolvendo o palato, língua e músculos faciais e função estomatognática.²²² Indivíduos que realizaram o tratamento ativo com exercícios orofaríngeos tiveram uma diminuição significativa na circunferência do pescoço, da frequência de ronco, sonolência

diurna da gravidade da apneia e melhor qualidade do sono comparados ao tratamento inativo.²²² As alterações na circunferência do pescoço se correlacionaram, inversamente às alterações no IAHI.²²² Tais resultados representam um tratamento alternativo promissor para a apneia moderada por meio dos efeitos dos exercícios orofaríngeos na redução da gravidade da apneia e de seus sintomas.²²²

As evidências reunidas até esta etapa de revisão da literatura permitem supor possível associação da apneia com hormônios afetados devido a potenciais mecanismos alterados pela síndrome. Um dos mecanismos apontados, consistentemente, como contribuidor dessa potencial associação esteroides-apneia foi a atividade alterada do eixo HPA, sistema envolvido em sintomas de humor, ansiedade e neurocognitivos. Outros mecanismos prováveis serão abordados à medida que a matéria for descrita ao longo desta tese. O próximo capítulo abordará o eixo HPA e seus efeitos na liberação dos hormônios esteroides.

SISTEMA HIPOTÁLAMO-PITUITÁRIA-ADRENAL (Eixo HPA)

A reação do organismo ao estresse ativa um repertório complexo de respostas adaptativas fisiológicas e patológicas. Se excessivas ou prolongadas podem afetar o desenvolvimento da personalidade e o comportamento, além de

consequências adversas sobre funções de crescimento e desenvolvimento, metabolismo, circulação, reprodução e resposta imune/inflamatória.^{223,224,225} A desregulada resposta adaptativa ao estresse torna os indivíduos vulneráveis a distúrbios endócrinos, psiquiátricos, cardiovasculares, neoplásicos ou imunológicos.²²³

A resposta de adaptação ao estresse ocorre por meio de dois componentes do sistema nervoso central: os a) centrais e os b) periféricos.^{223,224,225} Os componentes a) centrais do sistema de estresse, localizado no hipotálamo e no tronco encefálico incluem: 1) *neurônios parvocelulares de CRH*; 2) neurônios de arginina vasopressina do núcleo paraventricular e do *hipotálamo*; 3) os neurônios de corticotrofina dos núcleos paragigantocelular e parabrancial da medula e do *locus ceruleus* e; 4) outros grupos de células noradrenérgicas na medula. Os componentes b) periféricos incluem: 1) estruturas periféricas do eixo HPA; 2) sistema simpático-adrenomedular compensatório eferente; e 3) elementos do sistema parassimpático.²²⁴

O hipotálamo é considerado o centro coordenador do sistema endócrino. Os núcleos paraventriculares do hipotálamo recebem o estímulo de alerta da amígdala, estrutura do sistema límbico, em resposta aos eventos estressores. O hipotálamo tem como funções a consolidação de sinais derivados de entradas corticais superiores, atividade autonômica, reconhecimento de pistas ambientais como luz e temperatura, além de feedback endócrino periférico. Tais características desta essencial estrutura fornecem sinais precisos para a glândula pituitária liberar

hormônios que influenciam a maioria do sistema endócrino, incluindo a glândula adrenal,²²⁶ formando o eixo HPA. Essas três estruturas primárias do eixo, núcleo paraventricular do hipotálamo, glândula pituitária anterior e glândula adrenal compõem o sistema neuroendócrino permitindo respostas adequadas aos eventos estressantes.

O núcleo paraventricular do hipotálamo ativa um grupo especial de células que sintetiza e secreta o CRH na vasculatura portal da pituitária. O CRH estimula a glândula pituitária anterior na síntese e liberação ACTH na corrente sanguínea, atingindo o córtex adrenal para iniciar a síntese dos glicocorticoides.²²⁷

O CRH é o principal regulador do eixo HPA e estimulador da secreção do ACTH na pituitária anterior.²²⁴ Diferentes estressores, além de fatores como a angiotensina II, várias citocinas e lipídios mediadores de inflamação são secretados e atuam no eixo HPA, potencializando sua atividade.²²⁴

A hiperativação do CRH desempenha papel fundamental na fisiopatologia dos distúrbios afetivos. Pacientes com depressão apresentam rupturas na continuidade do sono, diminuição da fase de sono NREM e desinibição na fase de sono REM identificados durante o exame de EEG do sono.^{228,229,230}

Pacientes com insônia primária apresentam níveis de cortisol noturno mais elevado, reduzindo menos em períodos esperados para redução dos seus níveis.²³¹ São encontrados, também, aumento de ACTH e cortisol ao longo de 24 horas,^{230,232} similarmente ao que ocorre em indivíduos com apneia.^{233,234} Indivíduos em geral¹⁵³

e gestantes²³⁵ diabéticas com apneia, no entanto, podem apresentar níveis de cortisol atenuados ao despertarem pela manhã.

Vários componentes da regulação neuroquímica do sono, tanto para despertar como induzi-lo, influenciam a atividade do eixo HPA.²³⁶ Tais substâncias químicas com variações dentro de 24 horas, também, tem estabelecido efeito no sistema cardiovascular como: vasopressina arginina, peptídeo intestinal vasoativo, melatonina, somatotropina, insulina, esteroides, serotonina, CRH, ACTH, hormônio liberador de tirotrófina (TSH), opioides endógenos e prostaglandina E2.²³⁷ Esses efetores neuroendócrinos do ritmo circadiano podem interferir na estrutura temporal da pressão arterial.¹³⁸ O ACTH é o estímulo principal para secreção noturna de cortisol em homens. No entanto, a secreção de ACTH e cortisol podem estar dissociados.^{230,238,239} Ambos têm perfis secretórios de 24 horas similares, apresentando picos de concentração no início da manhã antes do começo das atividades diurnas e durante as horas iniciais de sono noturno.^{237,240}

O córtex adrenal é o principal alvo do ACTH, regulando a secreção adrenal dos glicocorticoides na zona fasciculada, dos andrógenos na zona reticular e da aldosterona na zona glomerulosa.²²⁴ Glicocorticoides regulam a atividade basal do eixo HPA e o término da resposta ao estresse. Esses hormônios agem nos centros extra hipotalâmicos, no hipotálamo e na glândula pituitária.²²⁴ O feedback negativo dos glicocorticoides na secreção de CRH e ACTH limita a duração da exposição tecidual aos glicocorticoides, reduzindo os efeitos catabólicos, lipogênicos, anti-

reprodutivos e imunossupressores desses hormônios.²²⁴ Os glicocorticoides têm papel regulatório amplo na resposta ao estresse, tanto em funções periféricas como imunidade e metabolismo, quanto no sistema nervoso central.²⁴¹

Os glicocorticoides são imediatamente liberados após sua síntese nas células corticais adrenais.²⁴² Os principais glicocorticoides são o cortisol em humanos e a corticosterona em ratos. Ambos esteroides se ligam aos receptores mineralocorticoides e glicocorticoides com diferentes afinidades para promover resposta adequada aos estímulos estressores.²⁴³ Eles também realizam feedback negativo do eixo HPA, atuando em diferentes regiões cerebrais e, restabelecendo o estado homeostático basal.

O estresse é considerado um estado de desarmonia ou de homeostasia ameaçada, evocando respostas adaptativas quando a ameaça à homeostase ultrapassa determinado limiar.²²⁵ No sistema nervoso central existem sistemas de receptores responsivos a baixas concentrações de glicocorticoides: receptor de glicocorticoides do tipo I e II ou receptor de mineralocorticoides. O clássico receptor de glicocorticoides tipo II responde às concentrações basais dos glicocorticoides, às suas concentrações alteradas em decorrência do estresse, além de mediar o feedback negativo da secreção de CRH e ACTH.²²⁴

As respostas adaptativas ao estresse têm efeitos nas futuras respostas do eixo HPA.^{242,244} A desregulação nessas respostas, cuidadosamente, orquestradas pode resultar em patologias como imunodeficiência, comprometimento da memória,

obesidade e distúrbios cardiometabólicos.^{242,245,246,247,248} A especificidade dos hormônios mediadores de ACTH como o CRH, arginina-vasopressina, oxitocina e catecolaminas atuantes no eixo HPA variam dependendo do tipo de estressor. Os estressores podem ser hipoglicemia, hipotensão, hemorragia, queimadura, entre outros fatores.^{249,250} Por exemplo, durante o estresse provocado pela inflamação crônica ocorrem mudanças a partir do CRH no eixo HPA direcionadas pela arginina-vasopressina.^{250,251} A ativação crônica do eixo HPA pode levar a diversos distúrbios devido à secreção aumentada ou prolongada do CRH ou de glicocorticoides.²²⁴ Estados associados à atividade alterada do eixo HPA são apresentados na Tabela 5.²²⁴

Tabela 5- Estados associados à atividade alterada do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal.

AUMENTADA	DIMINUÍDA
Estresse crônico	Insuficiência adrenal
Depressão melancólica	Depressão Sazonal/Atípica
Anorexia nervosa	Síndrome da fadiga crônica
Má-nutrição	Fibromialgia
Distúrbio obsessivo-compulsivo	Hipotireoidismo
Distúrbio do Pânico	Abstinência à nicotina
Exercício excessivo	Descontinuação de glicocorticoides
Alcoolismo crônico ativo	Após curar síndrome de Cushing
Abstinência de álcool e narcóticos	Síndrome da tensão pré-menstrual
Diabetes mellitus	Período pós-parto
Obesidade central	Após estresse crônico
Abuso sexual infantil	Artrite Reumatoide
Distúrbio de apego da infância	Menopausa
Doença gastrointestinal funcional	
Hipertireoidismo	
Síndrome de Cushing	

Gestação (último trimestre)

Adaptação e Tradução: Charmandari E et al. *Rev Physiol*, 2005.²²⁴

Os antagonistas do CRH são úteis em estados de hiperatividade crônica do sistema de estresse, como depressão melancólica e ansiedade crônica. Os agonistas do CRH são úteis na hipoatividade crônica desse sistema, como depressão atípica, depressão pós-parto, síndrome de fibromialgia e fadiga crônica.²²⁴

A interpretação dos testes dinâmicos do eixo HPA podem alterar, significativamente, conforme variações na concentração de globulinas de ligação de corticosteroides.²⁵² Variações nas suas concentrações, no entanto, permanecem desconhecidas na população em geral.²⁵² A globulina de ligação de corticosteroides pode estar reduzida na inflamação, doença hepática e síndrome nefrótica, bem como aumentada na gravidez e após administração de estrogênio exógeno.²⁵³ O cortisol salivar pode contribuir na identificação de anormalidades comprovadas ou suspeitas em globulina de ligação de corticosteroides, embora sua aplicação no diagnóstico de insuficiência adrenal é menos estabelecida.^{252,254}

A afinidade de ligação e a concentração da globulina de ligação de corticosteroides são muito variáveis. Sua medida em resposta ao total de cortisol sérico pode aumentar erros em classificação na prática clínica.²⁵² O cortisol sérico é ligado a 80% da globulina de ligação de corticosteroides, entre 10 e 15% ligado à albumina e 5% circula na forma livre, bioativa.²⁵² Hipóteses de que o cortisol salivar pode ser medida mais precisa do eixo HPA em comparação ao cortisol total sérico permanecem investigadas.

No ano 2018²⁵² foi realizado estudo em indivíduos saudáveis entre 18 e 63 anos com suspeitas de variações na concentração de globulina de ligação ou afinidade de ligação aos corticosteroides comparados aos sujeitos com suspeita de alterações no eixo HPA e nos níveis de cortisol por insuficiência adrenal e pituitária. Os resultados estabeleceram valores de referência para níveis de cortisol sérico e salivar em resposta ao estímulo por adrenocorticotrofina de 250 microgramas(μ g) intravenosa.²⁵²

As conclusões foram, no entanto, que a medição do cortisol salivar durante ainda está em processo de avaliação, não existindo evidências suficientes para recomendar a substituição completa das medidas de cortisol séricas pela medida salivar.²⁵² Sugestões foram fornecidas para realização de estudos adicionais em grupos de pacientes com deficiência de globulina de ligação de corticosteroides.²⁵²

A atividade do eixo HPA pode ser acessada por meio de dois testes padronizados. O teste de supressão do eixo pela administração sistêmica do glicocorticoide sintético dexametasona e o teste de estimulação do eixo pela administração intravenosa do CRH. No teste de supressão por dexametasona ocorre a supressão das concentrações plasmáticas de ACTH e cortisol através do feedback negativo no nível da glândula pituitária. No teste de estimulação por CRH ocorre a elevação de concentrações plasmáticas de ACTH e cortisol, estimulando os receptores tipo I de fator liberador de corticotrofina na pituitária anterior sem atingir o sistema nervoso central.

O teste por dexametasona/CRH de supressão/estimulação da atividade do eixo HPA é considerado a medida mais sensível geralmente.²⁶² A secreção anormal de glicocorticoides ocorre em muitas doenças relacionadas ao envelhecimento como depressão, déficits cognitivos e DA.^{24,255} A compreensão e modificação dessa anormalidade podem prevenir e tratar tais doenças.^{24,256}

Eixo HPA e o Envelhecimento

O eixo HPA pode ser alterado por diversos fatores como mudanças nos níveis de citocinas, múltiplos estressores psicológicos, demência, depressão, padrões do sono alterados, apneia, obesidade, perda de peso e uso de álcool entre outros.²⁴ Durante estresse agudo prolongado, mudanças na relação pituitária-adrenal decorrentes de pequenas mudanças nos níveis de ACTH ocorrem concomitante ao aumento acentuado na sensibilidade das adrenais.²⁵⁷

Os resultados são contrastantes sobre os efeitos da idade nos hormônios associados ao eixo HPA.²³⁰ Parece existir um modesto efeito do envelhecimento nos níveis médios de cortisol de 24 horas.²⁵⁸ O envelhecimento em homens saudáveis foi associado a uma elevação do nadir do cortisol noturno, enquanto que os valores máximos de cortisol pela manhã não diferiram entre as faixas etárias. Os níveis de cortisol aumentaram após os 50 anos de idade, quando o sono é mais fragmentado e o sono REM diminui.²³⁰ Vários esteroides neuroativos exercem efeitos específicos no sono em seres humanos e ratos.

O ACTH, estimulante hipofisário de cortisol parece diminuir conforme o aumento da idade.³⁷² Níveis de cortisol e ACTH apresentaram diferente correlação comportamental em relação aos seus reguladores centrais e periféricos nos eixos hormonais reprodutivo e somatotrófico.³⁷² Essa diferença comportamental entre ACTH e cortisol, provavelmente explica nível de cortisol estável com o avançar da idade, apesar da diminuição da atividade esteroidogênica e do nível de ACTH no sangue.³⁷²

Estudo²⁵⁹ em homens saudáveis avaliou as variações diurnas de concentrações plasmáticas de ACTH e de outros onze hormônios esteroides como progesterona, pregnenolona, desoxicorticosterona, 17-hidroxi-progesterona, 17-hidroxi-pregnenolona, deoxicortisol, 18-hidroxi-deoxicorticosterona, corticosterona, aldosterona, cortisol e 18-hidroxi-corticosterona. Seus níveis foram avaliados em a cada 30 minutos nos períodos da manhã e da noite e a cada duas horas no restante do dia. Variações circadianas e episódicas mais ou menos pronunciadas foram aparentes para níveis plasmáticos de todos os esteroides e de ACTH.²⁵⁹

Três diferentes categorias de esteroides tiveram suas concentrações plasmáticas relacionadas conforme seus perfis de variação diurna.²⁵⁹ A primeira categoria composta por 17-hidroxi-pregnenolona, deoxicortisol, corticosterona, 18-hidroxi-deoxicorticosterona, desoxicorticosterona, cortisol e 18-hidroxi-corticosterona apresentou ritmo, parcialmente, sincronizado à atividade secretora

de ACTH pela pituitária. A segunda categoria composta por progesterona, pregnenolona e 17-hidroxiprogesterona exibiu perfil de variação regulado, predominantemente, pela atividade secretora testicular. Por fim, a terceira categoria com a aldosterona apresentou variação, conforme esperado, regulada pelo sistema renina-angiotensina.²⁵⁹

Hormônios liberadores de hormônio do crescimento promovem o sono enquanto os CRH aumentaram a vigilância e prejudicam o sono.²³⁰ Conforme o envelhecimento, a responsividade do sono aos níveis de CRH parece aumentar. Essa observação foi identificada em homens jovens e de meia idade com dose única de CRH ovina após 10 minutos do início do sono.^{230,260} O EEG durante o sono permaneceu inalterado nos homens mais jovens, enquanto nos participantes de meia-idade aumentou o período de vigília e diminuiu o sono de ondas lentas.²³⁰ O envelhecimento é considerado agravante da obesidade e indutor de anormalidades do eixo HPA.²⁶¹

Estudos anteriores²⁶¹ sugeriam o envolvimento da atividade do eixo HPA na obesidade, no entanto, nenhuma evidência consistente da alteração do eixo foi identificada associada à obesidade. Na tentativa de explicar tais resultados contraditórios foram investigados os níveis de cortisol periférico como indicadores da atividade HPA na obesidade durante o envelhecimento.²⁶¹ Os resultados demonstraram que obesidade ou o envelhecimento saudável não conduzem à maior atividade do eixo HPA e os níveis periféricos de cortisol parecem diminuir com o

envelhecimento.²⁶¹ Nesse estudo, no entanto, não foram avaliados os efeitos decorrentes das concentrações de globulina de ligação aos corticosteroides.

O eixo HPA é, também, regulado por estruturas do sistema límbico. A amígdala, aumentando sua atividade e o hipocampo suprimindo como mecanismo de realimentação negativa. Ambas estruturas estão alteradas na apneia, assim como o cortisol descrito previamente.¹⁸⁴ O volume e a neurogênese do hipocampo têm sido implicados na sensibilidade ao estresse e na resiliência em relação ao humor e aos transtornos de ansiedade.²⁶²

Inclusive as anormalidades na função do eixo HPA são um dos achados biológicos mais consistentes em diversos transtornos mentais como na depressão associada à apneia e, também à hipertensão.²⁶³ Inclusive, a hiperatividade do eixo não tratada na apneia pode ser fator de risco para outras condições, além da depressão como insônia e síndrome metabólica.¹¹³

Os níveis elevados de corticosterona no cérebro derivados da atividade enzimática local têm sido associados ao declínio cognitivo relacionado à idade.^{264,265} A ocorrência de estresse na meia-idade se associada à função cognitiva reduzida, aumento da ansiedade e de comportamentos depressivos na idade avançada.²⁶⁶ Esses estudos porém não controlaram para o efeito da apneia, visto sua associação às manifestações de demência.²⁶⁷

Eixo HPA, Cognição e Transtornos Afetivos

A ativação do eixo HPA ocorre em diferentes situações de vida e laboratoriais abrangendo variedades de estímulos como reações emocionais levando a respostas adrenocorticais não-específicas envolvendo esteroides neuroativos.^{268,269} Mecanismos envolvidos na anormalidade do eixo HPA e sua contribuição para fenótipos comportamentais permanecem parcialmente entendidos.²⁴¹

A relação entre hiper ou hipoativação do eixo HPA e o risco para o bem-estar mental é representada por curva em formato de U.²⁴¹ Sua desregulação, também, apresentou padrão específico em pacientes com primeiro episódio psicótico, semelhante aos distúrbios depressivos quando comparados aos controles. Ambas condições apresentaram padrão caracterizado pela hiperatividade do eixo, níveis mais elevados de cortisol basal e ao acordar pela manhã níveis mais atenuados, além de imagens de ressonância magnética indicativas de pituitária alargada, apoiando a hiperativação do eixo.^{241,270}

A ativação crônica do eixo HPA pode contribuir para doenças como depressão, ansiedade crônica, hipertensão, obesidade visceral,²⁷¹ déficits cognitivos e DA, doenças relacionadas também ao envelhecimento.²⁴ No envelhecimento há declínio na secreção de pregnenolona e dehidroepiandrosterona (DHEA), além de pequena diminuição na aldosterona, apesar de parte da população idosa ter predisposição genética para desenvolver hiperaldosteronismo pelo aumento de ACTH.²⁴

Hormônios mantêm a homeostase do eixo HPA, porém sua disfunção é uma das vias plausíveis contribuintes para o envelhecimento biológico.^{24,272} Adicionalmente, os efeitos crônicos do estresse no eixo HPA tendem a mimetizar aqueles observados em indivíduos com depressão, induzindo elevados níveis de glicocorticoides ou padrões circadianos alterados, também alterando as respostas de feedback negativo.^{273,274} Glicocorticoides são mediadores críticos na resposta ao estresse neuronal. Os mecanismos subjacentes aos seus efeitos nas células neuronais humanas, no entanto, permanecem pouco esclarecidos.

O estresse e a depressão parecem associados à atrofia e perda de células neuronais, e redução de volume das principais estruturas cerebrais. A exposição crônica ao estresse induz inflamação neuronal, degeneração neuronal e micro lesões cerebrais.²⁷⁵ A elevação crônica de corticosterona sérica é uma indicação da hiperatividade do eixo HPA,²⁷⁶ podendo levar a comportamentos depressivos.^{277,278}

Neuroesteroides e neurotrofinas como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) parecem envolvidos na depressão, além de possíveis efeitos antidepressivos.²⁷⁸ BDNF é altamente envolvido na regulação do eixo HPA.²⁷⁸ Os principais neuroesteroides dehidroepiandrosterona, pregnenolona e seus ésteres de sulfato estimulam a atividade do eixo HPA, enquanto modulam níveis de BDNF no hipocampo, amígdala e hipotálamo.²⁷⁸ A dehidroepiandrosterona e a pregnenolona sulfatadas e não sulfatadas e a alopregnanolona induzem a síntese do CRH e de vasopressina-arginina, aumentando no hipotálamo as concentrações plasmáticas de

ACTH e de corticosterona.²⁷⁸ Parte da hiperativação do eixo HPA e os efeitos antidepressivos são provavelmente mediados pelos efeitos dos neuroesteroides no BDNF ao nível da amígdala principalmente.²⁷⁸

Administração de beta-amiloide em ratos²⁷⁹ demonstrou induzir hiperreatividade do eixo HPA e aumentar sintomas relacionados à depressão e à ansiedade.^{280,281,279} Transtornos afetivos como depressão e ansiedade estão associados ao estresse e a variedades de demências, inclusive contribuindo para a progressão da DA.^{279,282,283,284,285} Transtornos afetivos em adultos com idade avançada sem demência e indivíduos com DA apresentaram alterações significativas na função do eixo HPA. Sua hiperatividade ou hipoatividade é considerada marcador biológico mais importante na depressão e na ansiedade.²⁸⁶

Condições estressantes em ratos demonstrou agravar déficits cognitivos na DA pré-clínica, acelerando a patologia beta-amiloide e reduzindo o número de sinapses.²⁸⁷ O sistema de estresse mais importante, o eixo HPA é fisiologicamente ativado frente às ameaças ambientais reais ou presumida,²⁸⁸ ativando o sistema de estresse neuroendócrino²⁸⁰ e liberando esteroides que facilmente atravessam a barreira hematoencefálica.²⁸⁹ Sua desregulação em pacientes com DA em estágio inicial elevou os níveis de cortisol^{290,291} no plasma e no líquido cefalorraquidiano e demonstrou associação a déficits cognitivos e distúrbios neuropsicológicos.^{290,292} Neurosteroides podem afetar as células nervosas através da alteração da excitabilidade neuronal, modulando a atividade de vários receptores de

neurotransmissores de ácido gama-aminobutírico (GABA) e de N-metil-D-Aspartato (NMDA), entre outros.^{17,293,294}

Na disfunção do eixo HPA, os receptores centrais de corticosteroides têm capacidade atenuada para reduzir níveis de corticosteroides liberados espontaneamente ou em situações de estresse.²⁹⁵ A ativação do eixo HPA inibe a resposta imune/inflamatória por meio dos glicocorticoides.²²⁴ A ativação inadequada ou prolongada do eixo HPA em resposta aos estressores pode resultar em uma variedade de distúrbios endócrinos, metabólicos, autoimunes e psiquiátricos.²²⁴ O desenvolvimento e a gravidade desses distúrbios dependem de fatores ambientais, genéticos e de desenvolvimento.²²⁴

Devido à compartimentalização de disciplinas que moldaram o cenário acadêmico da biologia e das ciências biomédicas no passado, os sistemas fisiológicos têm sido estudados de forma isolada.²⁹⁶ Por exemplo, o sistema imunológico em consequência de sua ligação à patologia e microbiologia cresceu como disciplina independentemente da fisiologia. Muito tempo foi necessário para a aceitação de que o sistema imunológico não é autorregulado e que funciona em estreita associação ao sistema nervoso em diferentes níveis de organização e alcances.

A organização no nível do sistema nervoso central ocorre produção e uso local de fatores imunes e no nível do sistema imunológico ocorre produção e uso local de mediadores neuroendócrinos.²⁹⁶

As interações de curto alcance entre células imunes e terminações nervosas periféricas em órgãos imunológicos permitem recrutar elementos neuronais locais para o ajuste fino da resposta imune. Reciprocamente, as células imunológicas e os mediadores neuroendócrinos desempenham papel regulador no sistema nervoso e participam da eliminação e plasticidade das sinapses durante o desenvolvimento e plasticidade na idade adulta.²⁹⁶

As interações de longo alcance entre as células imunes e o sistema nervoso central permitem ao sistema imunológico envolver todo o organismo na luta contra infecções por micro-organismos patogênicos. Permitem, também, ao sistema nervoso controlar o funcionamento imune. Alterações na relação entre ambos sistemas podem explicar condições patológica, inicialmente, atribuídas aos graves distúrbios psiquiátricos e às doenças imunomediadas.²⁹⁶

A detalhada revisão até esta etapa da tese pretende apresentar ao leitor no racional teórico implicado na possível relação associativa entre apneia-sistema endócrino. O próximo capítulo abordará o assunto hormônios esteroides.

HORMÔNIOS ESTEROIDES

Conforme descrito anteriormente, os hormônios esteroides desempenham papel multifatorial na fisiologia humana.²⁹⁷ Facilitam processos de regulação, permitindo aos sistemas neural, endócrino, imune e metabólico atuarem em

conjunto ou, separadamente, na resolução de problemas relativos à sobrevivência e à reprodução.²⁹⁷

Os hormônios esteroides são sintetizados a partir do colesterol nas células esteroidogênicas da glândula adrenal, ovário, testículo, placenta, cérebro, células gliais e pele influenciando um espectro de processos fisiológicos e de desenvolvimento.^{14,15, 23,298} Suas taxas estão em elevadas concentrações em algumas áreas cerebrais.²⁹⁹

Esteroides ao se originarem em locais do sistema nervoso são chamados neuroesteroides.^{16,17} Estudos em ratos demonstrou a capacidade do tecido cerebral em sintetizar, localmente, vários hormônios esteroides como a pregnenolona a partir do colesterol,^{300,301,302} independentemente, das fontes de esteroides periféricos.²³⁰

Há quatro classes principais de hormônios esteroides: progestágenos, corticosteroides, andrógenos e estrógenos sintetizados em diferentes tecidos in vivo. Suas sínteses podem ser interrompidas pelas enzimas do processo da esteroidogênese, resultando no desenvolvimento de uma ampla gama de distúrbios: hiperplasia adrenal congênita, virilização, esterilidade, retenção de sal e hipertensão.^{303,304}

Os esteroides se apresentam na forma livre ou não conjugados, ésteres de sulfato ou ésteres de ácidos graxos.¹⁷ As formas conjugadas de esteroides

frequentemente excedem as formas livres, diferindo em seus efeitos metabólicos, comportamentais e psicológicos como estresse, ansiedade, cognição e sono.^{17,300}

Os esteroides conjugados se originam por processos de sulfonação. A sulfonação e o processo oposto de dessulfonação representam importante regulação na atividade dos esteroides.³⁰⁵ Por exemplo, o estrógeno sulfotransferase e o esteroide sulfatase representam, respectivamente, regulação negativa e positiva da atividade do estrogênio.³⁰⁵

O primeiro esteroide formado, a pregnenolona, também pode ser convertida em derivados sulfatados como o sulfato de pregnenolona por meio de esteroide sulfotransferase e essa conversão pode ser revertida por esteroide sulfatase.³⁰⁶ Pregnenolona é principalmente convertida em seu derivado sulfatado e progesterona em ratos, enquanto em humanos é convertida, adicionalmente, em 17-hidroxi-pregnenolona.²³ Níveis de pregnenolona sulfatada podem ser utilizados como biomarcadores em vários distúrbios adrenais, além de auxiliar na avaliação da resposta adrenal aguda à estimulação de ACTH.³⁰⁶ Sulfato de dehidroepiandrosterona é o esteroide mais abundante na circulação humana, tendo como precursor a pregnenolona.

Atividades enzimáticas das famílias de sulfotransferases e de sulfatases levam a alterações estruturais e funcionais dos esteroides e neurotransmissores, entre outros.³⁰⁵ Sua distribuição nos tecidos e sua regulação transcricional são específicos por sexo e espécie.³⁰⁵ Dessa forma, sulfatases tem como principal função

a regulação do equilíbrio entre esteroides sulfatados e os esteroides livres ou não conjugados, ambos muitas vezes tem ação oposta no mesmo receptor.¹⁷ O desequilíbrio na proporção entre esteroides conjugados e livres demonstrou efeitos na memória de longo prazo no hipocampo em ratos.^{17,307}

ESTEROIDOGÊNESE

Nos mamíferos, todos os esteroides são formados a partir do colesterol via pregnenolona por meio de reações sequenciais na mitocôndria ou retículo endoplasmático da célula produtora.¹⁴⁴ Tal biossíntese dos hormônios esteroides ocorre pelo processo chamado esteroidogênese,¹⁴⁴ implicando na conversão de colesterol em hormônios esteroides biologicamente ativos. Alguns autores consideram que a esteroidogênese pode ser melhor entendida como um processo único repetido em cada glândula com variações específicas do tipo celular. Assim, a compreensão da esteroidogênese é baseada na bioquímica de várias enzimas esteroidogênicas, cofatores e seus genes codificadores. Diferentemente, da maioria dos textos endócrinos que abordam os a esteroidogênese de uma forma específica a cada glândula ou outros processos esteroidogênicos.³⁰³

O início da esteroidogênese ocorre quando o ACTH estimula a glândula adrenal, ativando uma esterase e o colesterol livre é formado e transportado para a mitocôndria, onde uma das enzimas do citocromo P450, especificamente a enzima CYP11A ou P450_{scc} de clivagem de cadeia lateral do colesterol o converte em

pregnenolona.²³ Esse é o passo inicial e limitador da velocidade da esteroidogênese.^{13,144,308}

A enzima P450_{scc} localizada nas mitocôndrias²³ é controlada pelo ACTH via pituitária anterior,¹⁴¹ pelos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) da glândula suprarrenal e gônadas.¹⁴⁴ Dependente do estímulo do ACTH, a proteína reguladora aguda esteroidogênica (StAR) é essencial no transporte do colesterol em conjunto à proteína translocadora (18kDa ou TSPO) para o interior mitocondrial.¹⁴⁴

A regulação aguda do processo de esteroidogênese é determinada pela disponibilidade de substrato colesterol para a ação da StAR. A regulação crônica da esteroidogênese é determinada de forma quantitativa pela expressão do gene P450 e de forma qualitativa pela expressão de enzimas e cofatores do processo de conversão dos esteroides, determinando o tipo de esteroide a ser produzido.^{23,309,303}

Sulfatases tem efeitos na atividade da proteína de regulação aguda esteroidogênica (StAR).¹⁷ Sulfatases mantém os níveis dos neuromoduladores mais comuns como a pregnenolona e a sua forma sulfatada, igualmente, a dehidroepiandrosterona e a dehidroepiandrosterona sulfatada.¹⁷ Inclusive o sulfato de colesterol tem efeito inibitório da esteroidogênese adrenal em mitocôndrias de ratos, inibindo o transporte de colesterol para o interior da mitocôndria.^{17,310,311}

As enzimas esteroidogênicas são classificadas em dois grupos: citocromo P450 e enzimas não-P450. Enzimas esteroidogênicas P450 são encontradas como genes únicos e podem mediar múltiplas etapas enzimáticas.³¹² Enzimas não-P450

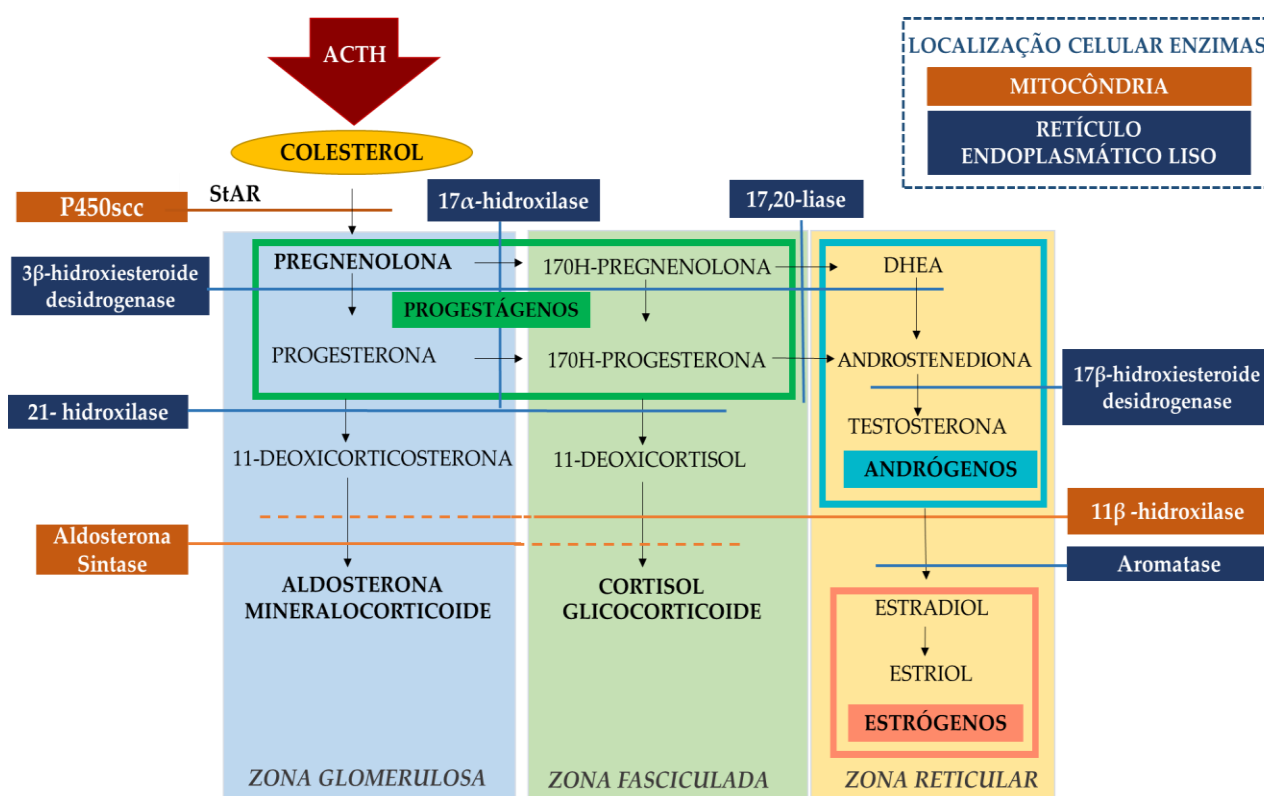
como 3beta-hidroxiesteroide desidrogenase (3β -HSD), 17beta-hidroxiesteroide desidrogenase (17β -HSD) e 3alfa-hidroxiesteroide desidrogenase (3α -HSD) são encontradas como genes múltiplos codificadores de diferentes proteínas. Cada codificação proteica media reações específicas.

Anteriormente, conhecida como receptor de benzodiazepinas periféricas,³¹³ a 18kDa é uma proteína localizada na membrana interna/externa mitocondrial de alta afinidade de ligação ao colesterol com área citoplasmática contendo unidades de aminoácidos (CRAC) para reconhecimento de colesterol.³¹⁹ A enzima P450 recebe o colesterol entregue pelas proteínas translocadoras StAR e 18kDa do exterior para o interior da membrana mitocondrial,¹⁴⁴ realizando transformação enzimática do colesterol no primeiro esteroide, a pregnenolona.²³

Estudos com técnica de co-transfecção, ou seja, a introdução intencional de proteína StAR em sistema celular heterólogo plasmídeo demonstrou produção várias vezes maior de pregnenolona em comparação a introdução da fusão de proteínas do complexo P450sc.^{319,314,315} Em humanos a StAR demonstra aumentar a esteroidogênese.³¹⁵ Adicionalmente, as hidroxilases são essenciais para a esteroidogênese e requerem oxigênio molecular e fosfato de dinucleotídeo de adenina nicotinamida (NADPH). Além das hidroxilases, as desidrogenases, compostas de uma isomerase e uma reação de liase, são necessárias para certas etapas da formação dos esteroides.¹⁴⁴

As hidroxilases e desidrogenases apresentam especificidade celular na adrenal para o processo esteroidogênese.¹⁴⁴ Por exemplo, a 18-hidroxilase e a 19-hidroxiesteroide desidrogenase são necessárias para a síntese de aldosterona e são encontradas apenas nas células da zona glomerulosa, região externa do córtex adrenal. A biossíntese desse mineralocorticoide é confinada a essa região.¹⁴⁴ A figura 13 representa as vias envolvidas na síntese de cinco principais classes de esteroides adrenais.³¹⁹

Figura 13 - Vias envolvidas na síntese de cinco principais classes de esteroides adrenais.



Modificação: Hu et al. Nutrition & Metabolism 2010.³²⁸

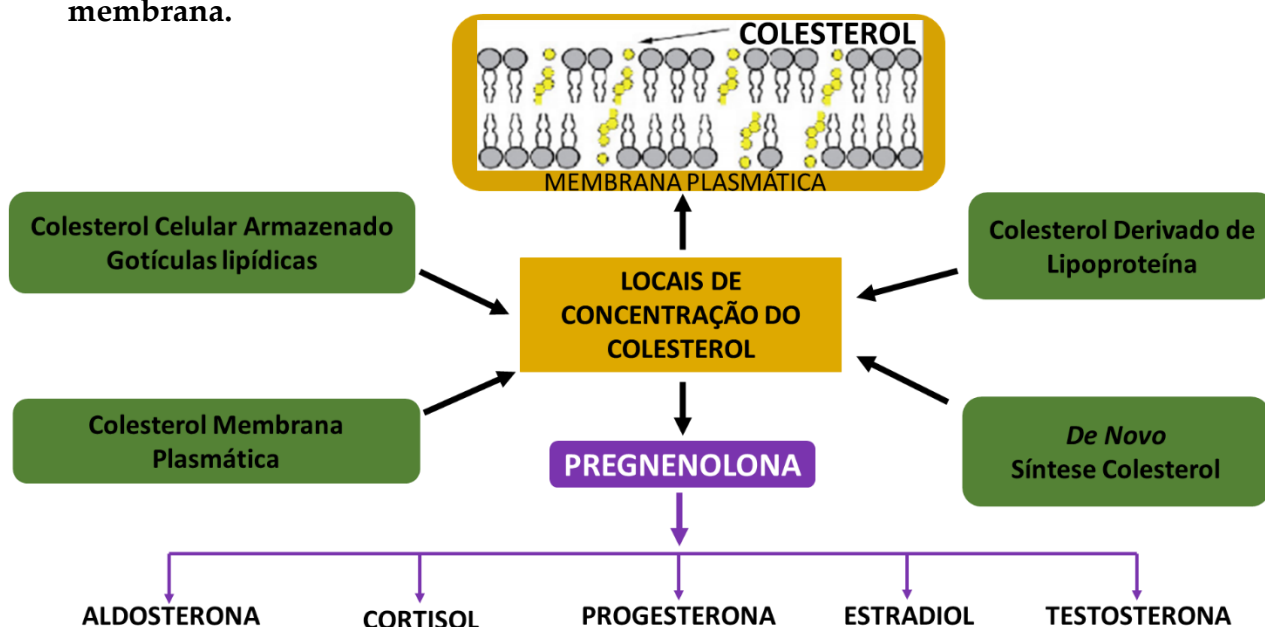
A 17α -hidroxilase é responsável pela conversão da pregnenolona em 17-hidroxi-pregnenolona (17OH-pregnenolona) e da progesterona em 17-hidroxiprogesterona. Essas etapas são cruciais para a síntese de cortisol na zona fasciculada e de esteroides sexuais na zona reticular. A deficiência de 17α -hidroxilase pode estar associada à deficiência de cortisol, de esteroides sexuais e aos baixos níveis de aldosterona.³¹⁶ A enzima 17,20-liase converte 17-hidroxipregnenolona em dehidroepiandrosterona e 17-hidroxiprogesterona em androstenediona, principais precursores dos esteroides sexuais, testosterona e estrogênio.³¹⁷

Sumariamente, a importação e transformação do colesterol ocorre nas seguintes etapas: 1) via proteína translocadora 18kDa/TSPO dependente da proteína de regulação aguda esteroidogênica (StAR) nas mitocôndrias, 2) interação da proteína StAR com canais ânions dependentes de voltagem-1, 3) proteína carreadora de fosfato (PCP) para membrana externa mitocondrial, 4) associação da proteína translocadora 18kDa com locais de contato da membrana interna/externa mitocondrial, 5) transferência de colesterol para o interior mitocondrial e 6) posterior formação de esteroides.^{319,318}

O substrato colesterol para formação de pregnenolona pode ser obtido por meio de quatro fontes potenciais, Figura 14.^{23,319} A fonte de colesterol é derivada do plasma principalmente e, outra pequena porção é sintetizada localmente.¹⁴⁴ Grande

parte do colesterol na adrenal é esterificada e armazenada em gotículas lipídicas citoplasmáticas.¹⁴⁴ Para sua produção normal prosseguir, suficientes quantidades de colesterol deverão estar disponíveis e serem fornecidas às mitocôndrias.³¹⁹ O suprimento de colesterol não é limitante da taxa de esteroidogênese na maioria das condições fisiológicas, porque existem caminhos múltiplos para suprir as necessidades celulares de colesterol.³¹⁹

Figura 14 - Fontes potenciais de colesterol para a formação de esteroides e de membrana.



Adaptação: Gupta e Morley. Compr Physiol, 2014.²⁴

O processo de esteroidogênese utiliza colesterol derivado de lipoproteínas plasmáticas preferencialmente. Embora, quantidades adequadas do substrato colesterol podem ser sintetizadas nas células pelo processo endógeno chamado *de novo* e pelos ésteres de colesterol armazenados nas gotículas lipídicas.³¹⁹

Todas as células esteroideogênicas, independentemente de espécies, têm capacidade de adquirir colesterol a partir do LDL plasmático ou outras Apolipoproteínas tipo -B ou -E via mecanismo endocítico mediado por receptores de LDL (B/E).³¹⁹ No entanto, sua eficiência funcional é determinada pelo estado fisiológico celular, pelo tipo, composição e espécies das lipoproteínas circulantes.³¹⁹

PREGNENOLONA

A desregulação do eixo HPA e a posterior alteração dos níveis plasmáticos de esteroides descritas, anteriormente, afetam o hormônio pregnenolona e seus metabólitos.¹³ A pregnenolona é conhecida como “mãe dos hormônios” devido a sua ação de precursor dos demais esteroides, sendo o primeiro esteroide formado a partir do colesterol por meio da ação da enzima P450_{sc}.²⁹⁷

Pregnenolona, após ser sintetizada pelo processo da esteroideogênese é convertida em vários outros esteroides das classes de glicocorticoides, mineralocorticoides e os esteroides sexuais.³¹⁹ Por exemplo, a pregnenolona sintetiza esteroides como testosterona, estrógeno, progesterona, dehidroepiandrosterona, cortisol, aldosterona, alopregnanolona, pregnanolona, alopregnanolona, entre outros, além de seus derivados sulfatados (detalhes na Figura 13).^{13,308}

No final da Segunda Guerra Mundial, a pregnenolona foi identificada como um hormônio capaz de melhorar a qualidade do sono e a atenção entre pilotos da Força Aérea³²⁰ e entre trabalhadores de fábrica de baionetas.^{321,322}

Várias experiências em humanos foram realizadas examinando os efeitos da administração de pregnenolona no desempenho psicomotor no início da década de 1940.²⁹⁷ Cerca de 300 trabalhadores de fábricas que receberam até 70 mg de pregnenolona por até 3 meses melhoraram a eficiência de produção em grupos considerados sob condições estressantes.^{297,320,321}

Efeitos no desempenho psicomotor em pilotos após administração de pregnenolona levou à diminuição da fadiga.³²³ Dose de um miligrama(mg) de pregnenolona alterou padrões de EEG durante o sono, além de melhorar a eficiência do sono e diminuir a vigília intermitente.³³²

Estudos iniciais sobre efeitos da pregnenolona foram investigados em humanos saudáveis,^{324,325} ambos os sexos, entre 20 e 88 anos. A dose de pregnenolona de 500 mg ao dia durante 12 semanas não apresentou efeito na força, no equilíbrio ou na memória,³²⁴ porém, demonstrou melhor capacidade de atenção e de desempenho.³²⁵

Em humanos, foi utilizada pela primeira vez na prática clínica como agente anti-inflamatório na década de 1940.³²¹ Nas décadas de 1940 e 1950, a pregnenolona

foi usada com segurança como tratamento para artrite reumatoide e outras condições inflamatórias. Os resultados, apesar de variáveis, melhoraram sintomas na maioria dos estudos.^{326,327,297}

Pregnenolona e Potenciais Efeitos na Saúde

A pregnenolona tem sido associada mais consistentemente a condições de saúde como dor severa,³²⁸ distúrbios afetivos^{329,330} e demência.³³¹ Também, são demonstradas potenciais implicações da pregnenolona no sono. Por exemplo, a administração de pregnenolona em homens ocasionou alteração no EEG durante o sono semelhantes aos efeitos de um agonista inverso parcial de receptores da classe A dos neurotransmissores de ácido gama-aminobutírico (GABA). O hormônio aumentou o sono de ondas lentas e a diminuição da potência do EEG na faixa de frequência do fuso.³³²

Pregnenolona e Dor

A dor crônica tem profundos efeitos fisiológicos no sistema endócrino, bem como alterações nos níveis de esteroides podem servir como biomarcadores de dor intensa. A homeostase nos níveis de esteroides é imprescindível para alcançar o controle da dor.³³³

A dor severa, inicialmente, hiper estimula o eixo HPA, resultando em níveis séricos elevados de pregnenolona, adrenocorticotrofina e cortisol. Se a dor severa persistir, o eixo HPA pode manter a produção hormonal normal e os níveis séricos de alguns hormônios podem cair abaixo do intervalo normal.³³³ A depleção de esteroides ocorre, após a ativação do eixo HPA, reduzindo seus níveis séricos abaixo da normalidade.³³⁴ Estudo em ambos os sexos identificou redução plasmática da pregnenolona após diminuição e controle da dor severa.³³⁵

Indivíduos tratados sem sucesso frente à terapêutica padrão da dor de alta intensidade e crônica têm um perfil hormonal sérico anormal.²³ A síntese local de neuroesteroides próximo de seus locais de ação como centros neuronais da dor são demonstrados.³³⁶

Pregnenolona e Transtornos Afetivos

Neuroesteroides podem ser influenciados por fatores fisiológicos ou patológicos.³³⁷ Por exemplo, a testosterona sérica³³⁸ foi identificada como variável preditora independente de depressão, demonstrando correlação inversa significativa em indivíduos com apneia em comparação aos indivíduos sem a doença.³³⁸

Visto a apresentação frequente de baixos níveis de testosterona, disfunção sexual e depressão na apneia é pertinente avaliar os mecanismos dessa associação.³³⁸

A identificação, também, de possíveis efeitos de outros hormônios precursores da testosterona como pregnenolona podem ser pertinentes.³³⁹

Níveis de pregnenolona a partir do líquido cefalorraquidiano foram obtidos por punção lombar em indivíduos com doença afetiva livres de medicação e em voluntários saudáveis.³⁴⁰ Indivíduos clinicamente deprimidos no momento da punção lombar tinham pregnenolona inferior (n=9, 0.16 ng/ml) aos voluntários (n=10, 0.35 ng/ml; $p < 0.01$). Além disso, independentemente do estado de humor no dia da punção a pregnenolona foi menor em todos os indivíduos afetivamente doentes (n = 26, 0.21 ng/ml) em comparação aos voluntários, $p < 0.05$. Nesse mesmo estudo a pregnenolona não se correlacionou com escores de ansiedade. Efeitos antidepressivos de pregnenolona e seu sulfato podem estar ligados à atividade do eixo HPA e a fatores neurotróficos.³³⁹

Em pacientes após tratamento com finasterida, medicamento antiandrógeno utilizado no tratamento para calvície, 8 entre 16 homens tiveram transtorno depressivo maior e apresentaram aumento significativo nos níveis plasmáticos de pregnenolona comparado aos pacientes não tratados com finasterida. Porém a pregnenolona medida no líquido cefalorraquidiano diminuiu significativamente.³⁴¹ Alguns autores sugerem que alterações identificadas no plasma podem não refletir exatamente o que ocorre no líquido e no sistema nervoso.³⁴²

Casos de depressão associada à hipercortisolemia apresentam melhoras, concomitante ao aumento de pregnenolona induzida pelo fármaco cetoconazol, inibidor da síntese de esteroides.³⁴³ Essas modificações em seus níveis podem contribuir nos efeitos antidepressivos.^{23,343}

Estudo randomizado³⁴⁴ avaliou o efeito do tratamento com pregnenolona na dose de até 100 mg/dl ou placebo durante 8 semanas em 70 indivíduos com transtorno bipolar ou transtorno depressivo maior recorrente. A terapia demonstrou segurança e tolerabilidade, além de tendência no alívio de sintomas depressivos e maníacos.³⁴⁴

O tratamento do transtorno depressivo bipolar é desafiador, sendo necessárias opções medicamentosas adicionais.³⁴⁵ Tal contexto justificou a realização do ensaio clínico randomizado e cegado em 80 adultos com depressão bipolar e estado de humor deprimido. Participantes foram alocados para grupos controle ou intervenção com pregnenolona na dose 500 mg durante 12 semanas.³⁴⁵ Mudanças acentuadas nos níveis de neuroesteroides ocorreram após tratamento com pregnenolona.³⁴⁵ Taxas de remissão da depressão avaliada pelo *Inventário de Sintomatologia Depressiva Auto Relatada* foram, significativamente, maiores no grupo pregnenolona, 61%, em comparação ao grupo controle, 37%. A escala de avaliação da depressão de Hamilton se correlacionou, negativamente, -0.48 à pregnenolona, $P=0.019$.³⁴⁵ O tratamento via pregnenolona foi bem tolerada, indicando segurança

na sua administração com resultados favoráveis nos sintomas depressivos em indivíduos com distúrbio depressivo bipolar.³⁴⁵

Estudos em humanos indicam associação entre pregnenolona e distúrbios de ansiedade somente em população de pacientes com esquizofrenia,³⁴⁶ nas demais populações os resultados sugerem não associação entre ansiedade e pregnenolona.^{347,348,349}

Pregnenolona e Cognição

Níveis elevados de pregnenolona (22.24 ng/g) foram identificados em córtex temporal de pacientes *Postmortem* com demência por DA em comparação aos controles (10.24ng/g), $P=0.022$.³⁵⁰ Níveis de pregnenolona não diferiram, significativamente, entre o sexo feminino e o masculino tanto no grupo com demência quanto no grupo controle cognitivamente intacto.³⁵⁰

Estudo em homens e mulheres entre 18 e 65 anos identificaram correlação positiva entre os níveis de pregnenolona e os domínios cognitivos de memória de trabalho ($P = 0.041$), e de fluência verbal ($P = 0.0027$) e no escore global do instrumento de Avaliação Breve da Cognição na Esquizofrenia ($P = 0.020$).³⁵¹ Estudo em população com distúrbio bipolar II³⁵² e em pacientes com depressão e histórico

de uso de substâncias³⁵³ a pregnenolona não se associou à cognição. Nos próximos parágrafos seguem evidências em estudos animais.

Vários estudos em ratos indicam que os astrócitos, classe principal de células gliais, podem sofrer diferenciação e organização morfológica influenciada pela redução de esteroides^{354,355,356,357} e pelo envelhecimento.³⁵⁸ A pregnenolona e alguns de seus derivados apresentaram função na diferenciação e na morfologia dos astrócitos *in vitro*.^{359,360} Pregnenolona foi indicada como um potente hormônio para melhorar a memória em estudo animal.³⁰⁷ A administração crônica de pregnenolona, no entanto, foi capaz de reverter o aumento nas proteínas ácidas fibrilares gliais em tálamo e córtex de ratos idosos, sugerindo ação compensatória decorrente da síntese de neuroesteroides deficiente pelas células gliais durante a senescência.³⁵⁴

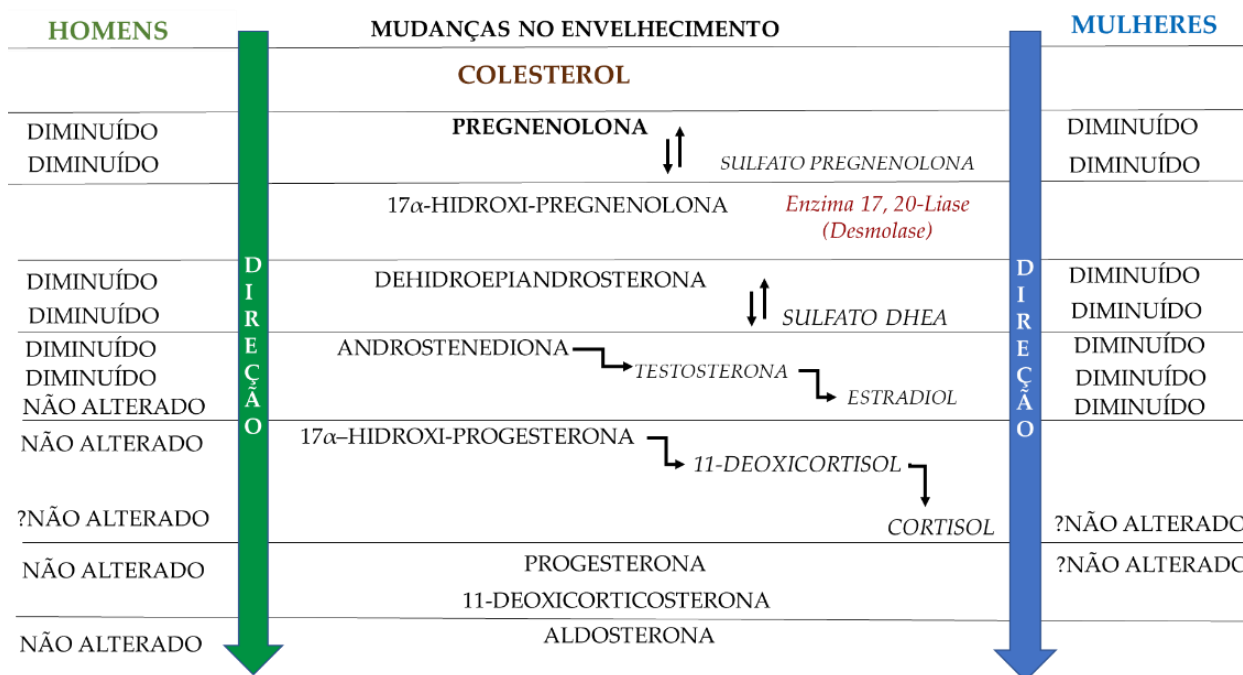
Pregnenolona e o Envelhecimento

Desde que o filósofo grego Pitágoras descreveu a inevitável perda de funções cognitivas com o avanço da idade, várias teorias sobre potenciais responsáveis surgiram.³⁶¹ Tais teorias incluem desde a posse demoníaca, o endurecimento dos vasos sanguíneos até a doença de Alzheimer.³⁶¹ Atrofia no córtex e no hipocampo por causas como DA, inflamação, corpos de Lewy e lesões vasculares são determinantes de declínio cognitivo com o envelhecimento.³⁶¹

Outras hipóteses foram testadas para essa associação, por exemplo, efeito dos hormônios esteroides.¹⁸ Mudanças na produção de esteroides durante envelhecimento parecem não estar associadas a defeitos em sua síntese ou à redução de sinalização de receptores de hormônio trófico.^{18,362} Provavelmente, no envelhecimento essas mudanças são decorrentes da capacidade alterada dos tecidos mobilizarem colesterol intracelular necessário para a produção de esteroides.

Apesar da acumulação em quantidades excessivas de ésteres de colesterol na forma de gotículas lipídicas, parece não ocorrer transporte adequado do colesterol livre para os locais mitocondriais da enzima P450, onde é convertido em pregnenolona por meio da clivagem de sua cadeia lateral.¹⁸ De fato, há aumento no armazenamento de ésteres de colesterol nas células adrenais no envelhecimento, sugerindo comprometimento na transformação do colesterol em pregnenolona no interior da mitocôndria.²⁴ Tal comprometimento na absorção de lipídios no envelhecimento tem sido associado aos níveis de pregnenolona reduzidos.²⁴ Na apneia, no entanto, ocorre modificação do metabolismo lipídico,³⁶³ além do efeito sobre alguns esteroides já estudados.^{8,9} A Figura 15 de Gupta e Morley²⁴ ilustra conjunto de resultados de quatro estudos^{364,365,366,367} sobre os efeitos do envelhecimento nos níveis de esteroides circulantes.

Figura 15 - Efeito do envelhecimento em esteroides basais da adrenal.



Adaptação: Gupta e Morley. Compr Physiol, 2014.²⁴

Pequeno declínio nos níveis de pregnenolona com a idade são identificados em homens e mulheres, porém níveis de cortisol e progesterona permanecem intactos, sugerindo que a enzima 17,20-liase é sensível à idade.²⁴ Resultados em relação à capacidade de resposta adrenal à estimulação com ACTH são conflitantes.²⁴ Estudos em animais^{368,369} apontam aumento da secreção de ACTH na tentativa de superar o declínio na produção de corticosterona adrenal.²⁴ Outra investigação³⁷⁰ identificou resposta adrenal dos esteroides pregnenolona, dehidroepiandrosterona e 17-hidroxipregnenolona ao ACTH, significativamente, diminuída no envelhecimento.²⁴

Tais resultados conflitantes em relação aos níveis de pregnenolona, em parte, podem ser explicados pelas diferenças entre os estudos, sabidamente, população, intervenção, comparadores ou ausência destes e delineamento. Outra possibilidade pode ser devido aos diferentes estados fisiológicos ou condições de saúde com influência ainda desconhecida nos níveis de pregnenolona. Esse cenário dificulta o controle para possíveis efeitos de tais condições de saúde em seus níveis, afastando interpretações mais sólidas, fato que pode conduzir aos resultados conflitantes.

Concentração Sanguínea de Pregnenolona

Níveis plasmáticos de pregnenolona diminuem com o avanço da idade progressivamente.²⁹⁷ A secreção da pregnenolona na adrenal reduz cerca de 60% até os 75 anos comparada aos valores médios observados aos 35 anos.²⁹⁷ Tal diminuição reduz a capacidade de renovação e reparo celular.^{21,22}

Reduções significativas, após 35 anos de idade foram verificadas na concentração sanguínea de pregnenolona, progesterona, dehidroepiandrosterona e sulfatos e não sulfatados. Similarmente, foram identificadas reduções na testosterona não ligada, no seu metabólito inativo a androstenediona e no seu metabólito ativo 5-dihidrotestosterona.¹⁹

Pregnenolona plasmática foi verificada em indivíduos com esteroidogênese normal e anormal, resultando em níveis de pregnenolona diminuídos após

supressão adrenal nos indivíduos com esteroidogênese normal e, após supressão gonadal em mulheres pré-menopausa e homens, mas não em mulheres pós-menopausa.³⁷¹ Ambos testes de supressão reduziram os níveis plasmáticos de pregnenolona abaixo da sensibilidade do teste, <0.1 ng/ml.³⁷¹

A pregnenolona plasmática parece mais elevada em mulheres na *pré*-menopausa comparadas aos homens e mais elevada nos homens comparados às mulheres na *pós*-menopausa.³⁷¹ O estudo também demonstrou níveis semelhantes durante as fases folicular e lútea de quatro ciclos menstruais e níveis aumentados em resposta à administração de grandes doses de ACTH em cinco indivíduos com esteroidogênese normal.³⁷¹ Outro estudo demonstrou níveis mais altos na fase folicular em mulheres com transtorno depressivo-ansioso tratadas com fluoxetina comparadas ao grupo controle, $P < 0,001$.³³⁷

O ritmo diurno pregnenolona plasmática foi observado apenas em mulheres na *pós*-menopausa.³⁷¹ A pregnenolona apresentou tendência não significativa de menores níveis à noite do que pela manhã em indivíduos com função gonadal intacta. Para avaliar se a pregnenolona de origem gonadal obscurece o ritmo diurno adrenal, foram testados seus níveis em indivíduos com função gonadal suprimida, demonstrando a possibilidade de um ritmo diurno subjacente da pregnenolona adrenal.³⁷¹ Os níveis de pregnenolona da manhã em pacientes com síndrome de

Cushing foram diminuídos, no entanto, os níveis noturnos foram maiores significativamente.³⁷¹

No entanto, apesar da quantidade de estudos sobre os níveis de pregnenolona, investigações permanecem necessárias em estudos sobre seus níveis em diferentes condições fisiológicas e patologias.²³ Tal conclusão incentiva o desenvolvimento desta tese para avaliação desse hormônio na condição da apneia.

Estudo em homens saudáveis entre 18 e 72 anos³⁷² demonstrou diminuição significativa nas concentrações sanguíneas de pregnenolona e progesterona relacionadas à idade, concomitante à manutenção nos níveis de cortisol total e livre.

Efeitos dos níveis plasmáticos de pregnenolona na síntese de esteroides foram investigados em macacos *Cynomolgus*.¹³ Estimulação do eixo HPA por naloxona aumentaram os níveis de pregnenolona. A estimulação por ACTH e pelo fator liberador de corticotrofina aumentaram os níveis de cortisol, não afetaram os níveis de pregnenolona, mas diminuíram a proporção plasmática da razão de pregnenolona/ desoxicorticosterona, sugerindo aumento no metabolismo da pregnenolona.¹³

O metabolismo rápido da pregnenolona para outros esteroides como desoxicorticosterona sugere menor propensão de sua acumulação no plasma após a ativação do eixo HPA.¹³ A administração de 1,0-1,5 g/kg de etanol não alterou os

níveis de pregnenolona, demonstrando que a regulação de sua síntese em macacos difere de roedores.

Níveis de neuroesteroides periféricos podem ter utilidade como marcador substituto da regulação de seus níveis no sistema nervoso central, por exemplo, níveis séricos de pregnenolona se correlacionam aos seus níveis no hipocampo em roedores.³⁷³ Níveis de pregnenolona no líquido cefalorraquidiano humano são correlacionados aos níveis no córtex temporal.³⁷⁴ No entanto outros autores divergem, demonstrando não correlação entre os níveis plasmáticos de pregnenolona e os níveis no líquido cefalorraquidiano.³⁴²

CONSIDERAÇÕES SUMÁRIAS

O prévio racional teórico aborda a apneia obstrutiva do sono e seus mecanismos biológicos de estresse crônico, os quais afetam estruturas reguladoras do eixo HPA como hipocampo e amígdala levando a hiperativação do eixo HPA e posterior desequilíbrio hormonal.^{11,115,116,117,118}

A diversidade de fatores clínicos envolvidos na apneia como a alteração do eixo HPA e seus demais efeitos metabólicos, neurocognitivos,^{11,82,83} além da alteração do sono e de sintomas afetivos são, também, associados à alteração nos níveis de pregnenolona. Tais fatores comuns, podem explicar potencial link entre apneia-pregnenolona. A desregulação do eixo HPA foi, consistentemente,

identificado pelos estudos como condição relacionada tanto à apneia quanto à pregnenolona.

JUSTIFICATIVAS

O critério da plausibilidade biológica pode ser atribuído à relação apneia-pregnenolona justificando a realização do presente estudo. A hipótese a ser testada tem relevância científica, considerando a provável adição ao conhecimento de outros fatores potenciais envolvidos na patogênese da apneia e nas suas diferentes manifestações.

HIPÓTESES

Conceitual

Níveis séricos de pregnenolona podem estar alterados em pacientes com apneia-hipopneia obstrutiva do sono em comparação ao grupo controle.

Operacional

$H_0 = H_1$: Os níveis de pregnenolona são iguais em pacientes com e sem apneia.

$H_0 \neq H_1$: Os níveis de pregnenolona são diferentes em pacientes com e sem apneia.

OBJETIVO

Principal

Avaliar se há associação entre os níveis séricos de pregnenolona e a apneia-hipopneia obstrutiva do sono.

REFERÊNCIAS

- ¹ Senaratna CV, Perret JL, Lodge CJ, Lowe AJ, Campbell BE, Matheson MC, Hamilton GS, Dharmage SC. Prevalence of obstructive sleep apnea in the general population: A systematic review. *Sleep Med Rev.* 2017; 34:70-81.
- ² Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LRA. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Medicine.* 2010; 11(5):441–446.
- ³ Malhotra A and White DP. Obstructive sleep apnoea. *Lancet.* 2002; 360(9328):237-45.
- ⁴ Somers VK, White DP, Amin R, Abraham WT, Costa F, Culebras A, Daniels S, Floras JS, Hunt CE, Olson LJ, Pickering TG, Russell R, Woo M, Young T. Sleep apnea and cardiovascular disease: an American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Scientific Statement from the American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology, Stroke Council, and Council on Cardiovascular Nursing. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 52(8):686-717. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.05.002.
- ⁵ Young T, Palta M, Dempsey J, et al. Burden of sleep apnea: rationale, design, and major findings of the Wisconsin Sleep Cohort study. *WMJ.* 2009; 108: 246-9.
- ⁶ Edwards KM, Kamat R, Tomfohr LM, Ancoli-Israel S, Dimsdale JE. Obstructive sleep apnea and neurocognitive performance: the role of cortisol. *Sleep Med.* 2014; 15(1):27-32.
- ⁷ Ruchała M, Bromińska B, Cyrańska-Chyrek E, Kuźnar-Kamińska B, Kostrzewska M, Batura-Gabryel H. Obstructive sleep apnea and hormones - a novel insight. *Arch Med Sci.* 2017; 13(4):875-884.
- ⁸ Viana A Jr, Daflon AC, Couto A, Neves D, de Araujo-Melo MH, Capasso R. Nocturnal Hypoxemia is Associated with Low Testosterone Levels in Overweight Males and Older Men with Normal Weight. *J Clin Sleep Med.* 2017.
- ⁹ Ekstedt M, Åkerstedt T, Söderström M. Microarousals during sleep are associated with increased levels of lipids, cortisol, and blood pressure. *Psychosomatic Medicine.* 2004; 66(6):925–931.
- ¹⁰ Crawford-Achour E, Saint Martin M, Roche F. Stress hormones in obstructive sleep apnea complications: the role of cortisol. *Sleep Med.* 2014; 15(1):3-4.
- ¹¹ Kritikou I, Basta M, Vgontzas AN, Pejovic S, Fernandez-Mendoza J, Liao D, Bixler EO, Gaines J, Chrousos GP. Sleep apnoea and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in men and women: effects of continuous positive airway pressure. *Eur Respir J.* 2016; 47(2):531-40.

-
- ¹² Ma S, Mifflin SW, Cunningham JT, Morilak DA. Chronic intermittent hypoxia sensitizes acute hypothalamic-pituitary-adrenal stress reactivity and Fos induction in the rat locus coeruleus in response to subsequent immobilization stress. *Neuroscience*. 2008; 154(4):1639-47.
- ¹³ Porcu P, Rogers LS, Morrow AL, Grant KA. Plasma pregnenolone levels in cynomolgus monkeys following pharmacological challenges of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006; 84(4):618-27.
- ¹⁴ Terán-Pérez G, Arana-Lechuga Y, Esqueda-León E, Santana-Miranda R, Rojas-Zamorano JÁ, Velázquez Moctezuma J. Steroid hormones and sleep regulation. *Mini Rev Med Chem*. 2012; 12(11):1040-8.
- ¹⁵ Baulieu E. Neurosteroids: of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system. *Recent Prog Horm Res*. 1997; 52:1-32.
- ¹⁶ Robel P and Baulieu EE. Neurosteroids: biosynthesis and function. *Crit Rev Neurobiol*. 1995; 9:383-394.
- ¹⁷ Kríz L, Bicíková M, Hampl R. Roles of steroid sulfatase in brain and other tissues. *Physiol Res*. 2008; 57(5):657-68.
- ¹⁸ SK Zaidi, WJ Shen, S Azhar. Impact of aging on steroid hormone biosynthesis and secretion *Open Longev Sci*. 2012; 6:1-30.
- ¹⁹ Petrov RV, Kuzina IN, Kilikovskii VV, Smirnova OV. Age-dependent changes in the concentration of active sex steroids, their precursors, metabolites, and regulating agents in male blood. *Ontogenez*. 2009; 40(6):456-65.
- ²⁰ Havlíková H, Hill M, Hampl R, Stárka L. Sex- and age-related changes in epitestosterone in relation to pregnenolone sulfate and testosterone in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87(5):2225-31.
- ²¹ Brinton RD. Neurosteroids as regenerative agents in the brain: therapeutic implications. *Nat Ver Endocrinol*. 2013; 9(4):241-50. DOI: 10.1038/nrendo.2013.31.
- ²² Meieran SE, Reus VI, Webster R, Shafton R, Wolkowitz OM. Chronic pregnenolone effects in normal humans: attenuation of benzodiazepine-induced sedation. *Psychoneuroendocrinology*. 2004; 29(4):486-500.
- ²³ Vallée M. Neurosteroids and potential therapeutics: Focus on pregnenolone. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*. 2016; 160:78–7.
- ²⁴ Gupta D, Morley JE. Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and aging. *Compr Physiol*. 2014; 4(4):1495-510.

-
- ²⁵Murali NS, Svatikova A, Somers VK. Cardiovascular physiology and sleep. *Front Biosci.* 2003; 8: s636-52.
- ²⁶Tobaldini E, Nobili L, Strada S, Casali KR, Braghiroli A, Montano N. Heart rate variability in normal and pathological sleep. *Front Physiol.* 2013; 4:294.
- ²⁷Genzel L, Kroes MC, Dresler M, Battaglia FP. Light sleep versus slow wave sleep in memory consolidation: a question of global versus local processes? *Trends Neurosci.* 2013.
- ²⁸ Fletcher EC. Sympathetic over activity in the etiology of hypertension of obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2003; 26:15-9.
- ²⁹ Iber C, Ancoli-Israel S, Chessonn A, Quan SF. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications. 1st ed. Westchester, Illinois: American Academy of Sleep Medicine, 2007.
- ³⁰ Saper CB, Fuller PM, Pedersen NP, Lu J, Scammell TE. Sleep State Switching. *Neuron.* 2010; 68(6):1023–1042.
- ³¹de Souza SB, Tavares JP, Macedo AB, Moreira PW, Lautert L. Influence of work shift and chronotype on the quality of life of nursing professionals. *Rev Gaucha Enferm.* 2012; 33(4):79-85.
- ³² MLA style: Press release. NobelPrize.org. Nobel Media AB 2018. Mon. 22 Oct 2018. <<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2017/press-release/>>
- ³³ Saccomano SJ. Sleep Disorders in Older Adults. *J Gerontol Nurs.* 2013; 7:1-8.
- ³⁴ American Academy of Sleep Medicine: International classification of sleep disorders. 2nd ed.: Diagnostic and coding manual (ICSD-2). Westchester, Illinois: American Academy of Sleep Medicine, 2005.
- ³⁵ Steiger A. Neurochemical regulation of sleep. *J Psychiatr Res.* 2007; 41(7):537-52.
- ³⁶ Kang SG, Lee HJ, Kim L, Winkelman JW. Sleep and Sleep Disorders in Depression. In: Kim YK. *Understanding Depression.* Springer, Singapore. 2018; 113-121. DOI: 10.1007/978-981-10-6577-4_8. Online ISBN: 978-981-10-6577-4.
- ³⁷ Scullin MK. Do Older Adults Need Sleep? A Review of Neuroimaging, Sleep, and Aging Studies. *Curr Sleep Med Rep.* 2017; 3(3):204-214.
- ³⁸ Mattis J and Sehgal A. Circadian Rhythms, Sleep, and Disorders of Aging. *Trends Endocrinol Metab.* 2016; 27(4):192-203.
- ³⁹ Lim ASP et al. Sleep modifies the relationship of APOE to the risk of Alzheimer disease and neurofibrillary tangle pathology. *JAMA Neurol.* 2013; 70, 1544–1551.

-
- ⁴⁰ Tsapanou A, Scarmeas N, Gu Y, Manly J, Schupf N, Stern Y, Barral S. Examining the association between Apolipoprotein E (APOE) and self-reported sleep disturbances in non-demented older adults. *Neurosci Lett*. 2015; 8:606:72-6. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.08.037.
- ⁴¹ Kent BA and Mistlberger RE. Sleep and hippocampal neurogenesis: Implications for Alzheimer's disease. *Front Neuroendocrinol*. 2017; 45:35-52.
- ⁴² Lee JH et al. Daytime sleepiness and functional impairment in Alzheimer disease. *Am J Geriatr. Psychiatry*. 2007; 15:620–626.
- ⁴³ Lee JH et al. Daytime sleepiness and functional impairment in Alzheimer disease. *Am J Geriatr. Psychiatry*. 2007; 15:620–626.
- ⁴⁴ Merlino G et al. Daytime sleepiness is associated with dementia and cognitive decline in older Italian adults: a population-based study. *Sleep Med*. 2010; 11, 372–377.
- ⁴⁵ Youngstedt SD, Kripke DF. Long sleep and mortality: rationale for sleep restriction. *Sleep Med Rev*. 2004; 8(3):159-74.
- ⁴⁶ American Academy of Sleep Medicine Task Force. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep*. 1999; 22:667-89.
- ⁴⁷ Gupta RK, Chandra A, Verm AK, Kumar S. Obstructive sleep apnoea: a clinical review. *J Assoc Physicians India*. 2010; 58:438-41.
- ⁴⁸ Tsai WH, Flemons WW, Whitelaw WA, Remmers JE. A comparison of apnea-hypopnea indices derived from different definitions of hypopnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 159(1):43–48.
- ⁴⁹ Calhoun DA. Obstructive sleep apnea and hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2010; 12(3):189-95.
- ⁵⁰ Guilleminault C, Stoohs R, Shiomi T, Kushida C, Schnittger I. Upper airway resistance syndrome, nocturnal blood pressure monitoring, and borderline hypertension. *Chest*. 1996; 109(4):901-8.
- ⁵¹ Guilleminault C, Robinson A. Sleep-disordered breathing and hypertension: past lessons, future directions. *Sleep*. 1997; 20(9):806-11.
- ⁵² Tufik, Sergio. *Medicina e Biologia do Sono*. Ed. Manole. Barueri, SP. 2008; (1°Ed):242.
- ⁵³ Haponik E, Smith P, Bohlman M, Allan R, Goldman S, Bleecker E. Computerized tomography in obstructive sleep apnoea: correlation of airway size with physiology during sleep and wakefulness. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127: 221–26.

-
- ⁵⁴ Suratt PM, Dee P, Atkinson RL, Armstrong P, Wilhoit SC. Fluoroscopic and computed tomographic features of the pharyngeal airway in obstructive sleep apnoea. *Am Rev Respir Dis.* 1983; 127:487–92.
- ⁵⁵ Schwab RJ, Gupta KB, Geftter WB, Metzger LJ, Hoffman EA, Pack AI. Upper airway and soft tissue anatomy in normal subjects and patients with sleep-disordered breathing: significance of the lateral pharyngeal walls. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152:1673–89.
- ⁵⁶ Mezzanotte WS, Tangel DJ, White DP. Waking and sleeping upper airway muscle activity in apnoea patients versus normal control. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 153:1880–87.
- ⁵⁷ Kimoff R, Sforza E, Champagne V, Ofiara L, Gendron D. Upper airway sensation in snoring and obstructive sleep apnoea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 160:250–55.
- ⁵⁸ Somers VK, Dyken ME, Clary MP, Abboud FM. Sympathetic neural mechanisms in obstructive sleep apnoea. *J Clin Invest.* 1995; 96(4):1897–904.
- ⁵⁹ Somers VK, Mark AL, Abboud FM. Sympathetic activation by hypoxia and hypercapnia: implications for sleep apnoea. *Clin Exp Hypertens A.* 1988; 10(suppl):413–22.
- ⁶⁰ Berry R, McNellis M, Kouchi K, Light R. Upper airway anesthesia reduces phasic genioglossus activity during sleep apnoea. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 156: 127–32.
- ⁶¹ Gleeson K, Zwillich CW, White DP. The influence of increasing ventilatory effort on arousal from sleep. *Am Rev Respir Dis.* 1990; 142:295–300.
- ⁶² Bixler EO, Vgontzas AN, Ten Have T, Tyson K, Kales A. Effects of age on Sleep apnea in men: Prevalence and severity. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157:144-8.
- ⁶³ Lavie L. Obstructive sleep apnoea syndrome: an oxidative stress disorder, *Sleep Med Rev.* 2003; 7:35–51.
- ⁶⁴ Boccabella A and Malouf J. How Do Sleep-Related Health Problems Affect Functional Status According to Sex? *J Clin Sleep Med.* 2017; 13(5):685-692.
- ⁶⁵ Drager LF, Genta PR, Pedrosa RP, Nerbass FB, Gonzaga CC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Characteristics and predictors of obstructive sleep apnea in patients with systemic hypertension. *Am J Cardiol.* 2010; 105(8):1135-9.
- ⁶⁶ Lin CM, Davidson TM, Ancoli-Israel S. Gender differences in obstructive sleep apnea and treatment implications. *Sleep Med Rev.* 2008; 12(6):481–496.
- ⁶⁷ Subramanian S, Jayaraman G, Majid H, Aguilar R, Surani S. Influence of gender and anthropometric measures on severity of obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2012; 16(4):1091–1095.

-
- ⁶⁸ Larsson LG, Lindberg A, Franklin KA, Lundback B. Gender differences in symptoms related to sleep apnea in a general population and in relation to referral to sleep clinic. *Chest*. 2003; 124(1):204–211.
- ⁶⁹ Jehan S, Auguste E, Zizi F, Pandi-Perumal SR, Gupta R, Attarian H, Jean-Louis G, McFarlane SI. Obstructive Sleep Apnea: Women's Perspective. *J Sleep Med Disord*. 2016; 3(6).
- ⁷⁰ Trinder J, Kay A, Kleiman J, Dunai J. Gender differences in airway resistance during sleep. *J Appl Physiol*. 1997; 83(6):1986–1997.
- ⁷¹ Ye L, Pien GW, Weaver TE. Gender differences in the clinical manifestation of obstructive sleep apnea. *Sleep Med*. 2009; 10(10):1075–1084.
- ⁷² Lanfranco F, Motta G, Minetto MA, Baldi M, Balbo M, Ghigo E, Arvat E, Maccario M. Neuroendocrine alterations in obese patients with sleep apnea syndrome. *Int J Endocrinol*. 2010; 2010:474-518.
- ⁷³ Alvarenga TA, Hirotsu C, Mazaro-Costa R, Tufik S, Andersen ML. Impairment of male reproductive function after sleep deprivation. *Fertil Steril*. 2015; 103(5):1355-62. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.02.002.
- ⁷⁴ Subramanian S, Bopparaju S, Desai A, Wiggins T, Rambaud C, Surani S. Sexual dysfunction in women with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2010; 14: 59-62.
- ⁷⁵ Kalmbach DA, Arnedt JT, Pillai V, Ciesla JA. The impact of sleep on female sexual response and behavior: a pilot study. *J Sex Med*. 2015; 12:1221-32.
- ⁷⁶ Stavaras C, Pastaka C, Papala M, et al. Sexual function in pre- and post-menopausal women with obstructive sleep apnea syndrome. *Int J Impot Res*. 2012; 24: 228-33.
- ⁷⁷ Celec P, Mucska I, Ostatnikova D, Hodosy J. Testosterone and estradiol are not affected in male and female patients with obstructive sleep apnea treated with continuous positive airway pressure. *J Endocrinol Invest*. 2014;37: 9-12.
- ⁷⁸ Nitsche K, Ehrmann DA. Obstructive sleep apnea and metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010; 24(5):717-30.
- ⁷⁹ Regensteiner JG, Woodard WD, Hagerman DD, et al. Combined effects of female hormones and metabolic rate on ventilatory drives in women. *J Appl Physiol*. 1989; 66:808–13.
- ⁸⁰ Popovic RM, White DP. Upper airway muscle activity in normal women: influence of hormonal status. *J Appl Physiol*. 1998; 84:1055–62.

-
- ⁸¹ Maasilta P, Bachour A, Teramo K, Polo O, Laitinen LA. Sleep-related disordered breathing during pregnancy in obese women. *Chest*. 2001; 120:1448–54.
- ⁸² Lee EK, Gutcher ST, Douglass AB. Is sleep-disordered breathing associated with miscarriages? An emerging hypothesis. *Med Hypoth*. 2014; 82: 481-5.
- ⁸³ Vgontzas AN and Chrousos GP. Sleep, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and cytokines: multiple interactions and disturbances in sleep disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2002; 31: 15-36.
- ⁸⁴ Kripke DF, Garfinkel L, Wingard DL, et al. Mortality associated with sleep duration and insomnia. *Arch Gen Psychiatry*. 2002; 59:131-6.
- ⁸⁵Shahar E, Whitney CW, Redline S, Lee ET, Newman AB, Javier Nieto F, O'Connor GT, Boland LL, Schwartz JE, Samet JM. Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: cross-sectional results of the Sleep Heart Health Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163: 19–25.
- ⁸⁶ VIDT DG. Pathogenesis and treatment of resistant hypertension. *Minerva Med*. 2003;94: 201–214.
- ⁸⁷ Vicki L. Burt, Jeffrey A. Cutler, Millicent Higgins, Michael J. Horan, Darwin Labarthe, Paul Whelton, Clarice Brown, Edward J. Roccella. Trends in the Prevalence, Awareness, Treatment, and Control of Hypertension in the Adult US Population: Data from the Health Examination Surveys, 1960 to 1991. *Hypertension*.1995;26:60-69
- ⁸⁸Netzer NC, Stoohs RA, Netzer CM, et al. Using the Berlin questionnaire to identify patients at risk for the sleep apnea syndrome. *Ann Intern Med*. 1999; 131:485-491.
- ⁸⁹Hiestand DM, Britz P, Goldman M, Phillips B. Prevalence of Symptoms and Risk of Sleep Apnea in the US Population: Results from the National Sleep Foundation Sleep in America 2005 Poll. *Chest*. 2006;130(3):780-6.
- ⁹⁰ Chobanian A, Bakris G, Black H, et al. Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. The JNC 7 Report. *JAMA*. 2003;289(19):2560-2572
- ⁹¹ Mokhlesi B, Finn LA, Hagen EW, Young T, Hla KM, Van Cauter E, Peppard PE. Obstructive sleep apnea during REM sleep and hypertension: results of the Wisconsin Sleep Cohort. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190:1158– 1167. doi: 10.1164/rccm.201406-1136OC
- ⁹² Appleton SL, Vakulin A, Martin SA, Lang CJ, Wittert GA, Taylor AW, McEvoy RD, Antic NA, Catcheside PG, Adams RJ. Hypertension is associated with undiagnosed OSA during rapid eye movement sleep. *Chest*. 2016;150:495–505. doi: 10.1016/j.chest.2016.03.010
- ⁹³ Gottlieb DJ. Does Obstructive Sleep Apnea Treatment Reduce Cardiovascular Risk? It Is Far Too Soon to Say. *JAMA*. 2017;318(2):128-130.

⁹⁴ Somers VK, White DP, Amin R, Abraham WT, Costa F, Culebras A, Daniels S, Floras JS, Hunt CE, Olson LJ, Pickering TG, Russell R, Woo M, Young T; American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology; American Heart Association Stroke Council; American Heart Association Council on Cardiovascular Nursing; American College of Cardiology Foundation. Sleep apnea and cardiovascular disease: an American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Scientific Statement from the American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology, Stroke Council, and Council On Cardiovascular Nursing. In collaboration with the National Heart, Lung, and Blood Institute National Center on Sleep Disorders Research (National Institutes of Health). *Circulation*. 2008;118(10):1080-111. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.189375.

⁹⁵ Durán-Cantolla J, Aizpuru F, Montserrat JM, et al; Spanish Sleep and Breathing Group. Continuous positive airway pressure as treatment for systemic hypertension in people with obstructive sleep apnoea. *BMJ*. 2010;341:c5991.

⁹⁶ Martínez-García MA, Capote F, Campos-Rodríguez F, et al; Spanish Sleep Network. Effect of CPAP on blood pressure in patients with obstructive Sleep apnea and resistant hypertension. *JAMA*. 2013;310(22):2407-2415.

⁹⁷ Gottlieb DJ, Punjabi NM, Mehra R, et al. CPAP versus oxygen in obstructive sleep apnea. *N Engl J Med*. 2014;370(24):2276-2285.

⁹⁸ Yu J, Zhou Z, McEvoy RD, Anderson CS, Rodgers A, Perkovic V, Neal B. Association of Positive Airway Pressure with Cardiovascular Events and Death in Adults with Sleep Apnea: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2017 Jul 11;318(2):156-166.

⁹⁹ McEvoy RD, Antic NA, Heeley E, et al; SAVE Investigators and Coordinators. CPAP for prevention of cardiovascular events in obstructive sleep apnea. *N Engl J Med*. 2016;375(10):919-931.

¹⁰⁰ Lewis EF, Wang R, Punjabi N, Gottlieb DJ, Quan SF, Bhatt DL, Patel SR, Mehra R, Blumenthal RS, Weng J, Rueschman M, Redline S. Impact of continuous positive airway pressure and oxygen on health status in patients with coronary heart disease, cardiovascular risk factors, and obstructive sleep apnea: A Heart Biomarker Evaluation in Apnea Treatment (HEARTBEAT) analysis. *Am Heart J*. 2017; 189:59-67.

¹⁰¹ Stoohs RA, Gingold J, Cohrs S, Harter R, Finlayson E, Guilleminault C. Sleep-Disordered Breathing and Systemic Hypertension in the Older Male. *J Am Geriatr Soc*. 1996; 44:1295-300.

¹⁰² Logan AG, Perlikowski SM, Mente A, et al. High prevalence of unrecognized Sleep apnoea in drug-resistant hypertension. *J Hypertens*. 2001; 19:2271-7.

-
- ¹⁰³Gus, M., Martinez, D., Silva, E. O. D. A., Moreira, L. B., & Fuchs, S. C. Risk for Obstructive Sleep Apnea by Berlin Questionnaire, But Not Daytime Sleepiness, Is Associated with Resistant Hypertension: A Case-control Study. *Am J Hypertens.* 2008;21(0895-7061):832-835.
- ¹⁰⁴ Gonçalves SC, Martinez D, Gus M, et al. Obstructive sleep apnea and resistant hypertension: a case-control study. *Chest.* 2007;132(6):1858–1862.
- ¹⁰⁵ Righi CG, Martinez D, Gonçalves SC, Gus M, Moreira LB, Fuchs SC, Fuchs FD. Influence of high risk of obstructive sleep apnea on adherence to antihypertensive treatment in outpatients. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2017 May;19(5):534-539.
- ¹⁰⁶Worsnop CJ, Naughton MT, Barter CE, Morgan TO, Anderson AI, Pierce RJ. The Prevalence of Obstrutive Sleep Apnea in Hypertensives. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157:111-5.
- ¹⁰⁷Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between Sleep-disordered breathing and hypertension. *N Eng J Med* 2000; 342:1378-84.
- ¹⁰⁸Drager LF, Genta PR, Pedrosa RP, Nerbass FB, Gonzaga CC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Characteristics and predictors of obstructive sleep apnea in patients with systemic hypertension. *Am J Cardiol.* 2010 Apr 15;105(8):1135-9.
- ¹⁰⁹Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LRA. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Medicine.* 2010;11(5):441–446.
- ¹¹⁰ Brodsky M, Wu D, Denes P, Kanakis C, Rosen KM. Arrhythmias documented by 24-hour continuous electrocardiographic monitoring in 50 male medical students without apparent heart disease. *Am J Cardiol.* 1977; 39:390-5.
- ¹¹¹Quan SF, Bersh BJ. Cardiovascular consequences of Sleep-disordered breathing: past, present and future. Report of a workshop from the National Center on Sleep Disorders Research and the National Heart, Lung Blood Institute. *Circulation.* 2004; 109:951–957.
- ¹¹²Gami AS, Olson EJ, Shen WK, Wright RS, Ballman KV, Hodge DO, Herges RM, Howard DE, Somers VK. Obstructive sleep apnea and the risk of sudden cardiac death: a longitudinal study of 10,701 adults. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(7):610-6.
- ¹¹³ Buckley TM and Schatzberg AF. On the interactions of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and sleep: normal HPA axis activity and circadian rhythm, exemplary sleep disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(5):3106-14.
- ¹¹⁴ Di Santo E, Sironi M, Mennini T, Zinetti M, Savoldi G, Di Lorenzo D, Ghezzi P. A glucocorticoid receptor-independent mechanism for neurosteroid inhibition of tumor necrosis factor production. *Eur J Pharmacol.* 1996; 299:179-186.

-
- ¹¹⁵ Tahmasian M, Rosenzweig I, Eickhoff SB, et al. Structural and functional neural adaptations in obstructive sleep apnea: An activation likelihood estimation meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016;65:142-56.
- ¹¹⁶ Madaeva IM, Berdina ON, Sholokhov LF, Semenova NV, Kolesnikova LI. [Pathophysiological aspects of neuro-endocrine regulation system in patients with obstructive sleep apnea syndrome]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2018;118(4. Vyp. 2):55-59.
- ¹¹⁷ Song X, Roy B, Kang DW, et al. Altered resting-state hippocampal and caudate functional networks in patients with obstructive sleep apnea. *Brain Behav.* 2018; 8:e00994. DOI: 10.1002/BRB3.994
- ¹¹⁸ Feng XW, Kang J, Wang ZF, Wang QY, Yu RJ. Regulation of hypothalamus-pituitary-adrenal axis and growth hormone axis in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome patients. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* 2006; 29(4):230-2.
- ¹¹⁹ Späth-Schwalbe E, Gofferje M, Kern W, Born J, Fehm HL. Sleep disruption alters nocturnal ACTH and cortisol secretory patterns. *Biol Psychiatry.* 1991; 29(6):575-84.
- ¹²⁰ Semple PD, Beastall GH, Watson WS, Hume R. Hypothalamic-pituitary dysfunction in respiratory hypoxia. *Thorax.* 1981; 36(8):605-9.
- ¹²¹ Raff H, Shinsako J, Keil LC, Dallman MF. "Vasopressin, ACTH, and corticosteroids during hypercapnia and graded hypoxia in dogs." *The American Journal of Physiology.* 1983; 244(5): E453–E458.
- ¹²² Ghiciuc CM, Dima Cozma LC, Bercea RM, Lupusoru CE, Mihaescu T, Szalontay A, Gianfreda A, Patacchioli FR. Restoring the salivary cortisol awakening response through nasal continuous positive airway pressure therapy in obstructive Sleep apnea. *Chronobiol Int.* 2013; 30(8):1024-31.
- ¹²³ Vgontzas AN, Bixler EO, Lin HM, Prolo P, Mastorakos G, Vela-Bueno A, Kales A, Chrousos GP. Chronic insomnia is associated with nyctohemeral activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: Clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:3787-3794.
- ¹²⁴ Karaca Z, Ismailogullari S, Korkmaz S, Cakir I, Aksu M, Baydemir R, Tanriverdi F, Bayram F. Obstructive sleep apnoea syndrome is associated with relative hypocortisolemia and decreased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response to 1 and 250µg ACTH and glucagon stimulation tests. *Sleep Medicine.* 2013; 14(2):160-164.
- ¹²⁵ Carneiro G, Togeiro SM, Hayashi LF, Ribeiro-Filho FF, Ribeiro AB, Tufik S, Zanella MT. Effect of continuous positive airway pressure therapy on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and 24-h blood pressure profile in obese men with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 295(2): E380-4.

-
- ¹²⁶ Bratel T, Wennlund A, Carlström K. Pituitary reactivity, androgens and catecholamines in obstructive sleep apnoea. Effects of continuous positive airway pressure treatment (CPAP). *Respir Med.* 1999; 93(1):1-7.
- ¹²⁷ Vgontzas AN, Pejovic S, Zoumakis E, Lin HM, Bentley CM, Bixler EO, Sarrigiannidis A, Basta M, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in obese men with and without sleep apnea: effects of continuous positive airway pressure therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(11):4199-207.
- ¹²⁸ Dadoun F, Darmon P, Achard V, Boullu-Ciocca S, Philip-Joet F, Alessi MC, Rey M, Grino M, Dutour A. Effect of sleep apnea syndrome on the circadian profile of cortisol in obese men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 293(2): E466-74.
- ¹²⁹ Lattova Z, Keckeis M, Maurovich-Horvat E, Wetter TC, Wilde-Frenz J, Schuld A, Pollmächer T. The stress hormone system in various sleep disorders. *J Psychiatr Res.* 2011; 45(9):1223-8.
- ¹³⁰ Rosmond R. Role of stress in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Psychoneuroendocrinology.* 2005; 30(1):1-10.
- ¹³¹ Maes M, Ruckoanich P, Chang YS, Mahanonda N, Berk M. Multiple aberrations in shared inflammatory and oxidative & nitrosative stress (IO&NS) pathways explain the co-association of depression and cardiovascular disorder (CVD), and the increased risk for CVD and due mortality in depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011; 35(3):769-83.
- ¹³² Sampaio LA, Fraguas R, Lotufo PA, Benseñor IM, Brunoni AR. A systematic review of non-invasive brain stimulation therapies and cardiovascular risk: implications for the treatment of major depressive disorder. *Front Psychiatry.* 2012; 10(3):87.
- ¹³³ Carroll BJ, Feinberg M, Greden J, Tarika J, Albaala A, Haskett R, James N, et al. A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia. *Arch Gen Psychiatry.* 1981; 38: 15-22.
- ¹³⁴ Kalin NH, Dawson G, Tariot P, Shelton S, Barksdale C, Weiler S, Thienemann M. Function of the adrenal cortex in patients with major depression. *Psychiatry Res.* 1986; 22: 117-25.
- ¹³⁵ Evans DL, Burnett G, Nemeroff CB. The dexamethasone suppression test in the clinical setting. *Am J Psychiatry.* 1983; 140:586-9.
- ¹³⁶ Stokes PE, Stoll P, Koslow S, Maas J, Davis JM, Swann A, Robins E. Pretreatment DST and hypothalamic-pituitary-adrenocortical function in depressed patients and comparison groups. *Arch Gen Psychiatry.* 1984; 41:257-67.

-
- ¹³⁷ Le-Ha C, Herbison CE, Beilin LJ, Burrows S, Henley DE, Lye SJ, Matthews SG, Pennell CE, Mori TA. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity under resting conditions and cardiovascular risk factors in adolescents. *Psychoneuroendocrinology*. 2016; 66:118-24.
- ¹³⁸ Girod JP and Brotman DJ. Does altered glucocorticoid homeostasis increase cardiovascular risk? *Cardiovas Res*. 2004; 64:217–226.
- ¹³⁹ Pajer, K.A. Cardiovascular disease risk factors in adolescents: do negative emotions and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function play a role? *Curr. Opin. Pediatr*. 2007; 19:559–564.
- ¹⁴⁰ Kawano Y, Tamura A, Kadota J. Association between the severity of obstructive sleep apnea and the ratio of low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol. *Metabolism*. 2012; 61(2):186-92.
- ¹⁴¹ Hwang GS, Chen CC, Chou JC, Chang LL, Kan SF, Lai WH, Lieu FK, Hu S, Wang PS, Wang SW. Stimulatory Effect of Intermittent Hypoxia on the Production of Corticosterone by Zona Fasciculata-Reticularis Cells in Rats. *Sci Rep*. 2017; 7(1):9035. DOI: 10.1038/s41598-017-07054-6.
- ¹⁴² Raf H, Hong JJ, Oaks MK, Widmaier EP. Adrenocortical responses to ACTH in neonatal rats: effect of hypoxia from birth on corticosterone, StAR, and PBR. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003; 284: R78–85.
- ¹⁴³ Nishimura, R., Sakumoto, R., Tatsukawa, Y., Acosta, T. J. & Okuda, K. Oxygen concentration is an important factor for modulating progesterone synthesis in bovine corpus luteum. *Endocrinology* 2006; 147, 4273–80.
- ¹⁴⁴ Robert K. Murray, Victor W. Rodwell, David Bender, Kathleen M. Botham, P. Anthony Weil, Peter J. Kennelly. *Harper's Illustrated Biochemistry*. McGraw-Hill Lange book. 2009; 28th ed. ISBN: 978-0-07-162591-3, MHID: 0-07-162591-7.
- ¹⁴⁵ Rezaeitalab F, Moharrari F, Saberi S, Asadpour H, Rezaeitalab F. The correlation of anxiety and depression with obstructive sleep apnea syndrome. *J Res Med Sci*. 2014; 19(3):205-10.
- ¹⁴⁶ Gupta MA, Simpson FC. Obstructive sleep apnea and psychiatric disorders: a systematic review. *J Clin Sleep Med*. 2015; 11(2):165-75.
- ¹⁴⁷ Bucks, R. S., Olaithe, M., & Eastwood, P. Neurocognitive function in obstructive sleep apnoea: A meta-review. *Respirology*. 2013; 18(1): 61-70.
- ¹⁴⁸ Gaines J, Vgontzas AN, Fernandez-Mendoza J, Kritikou I, Basta M, Bixler EO. Gender differences in the association of sleep apnea and inflammation. *Brain Behav Immun*. 2015; 47:211-7. DOI: 10.1016/j.bbi.2014.11.013.

-
- ¹⁴⁹ Hobzova M, Prasko J, Vanek J, Ociskova M, Genzor S, Holubova M, Grambal A, Latalova K. Depression and obstructive sleep apnea. *Neuro Endocrinol Lett.* 2017; 38(5):343-352.
- ¹⁵⁰ Carissimi A, Martinez D, Kim LJ, Fiori CZ. Factors influencing the response of psychological symptoms to continuous positive airway pressure therapy. *Sleep Breath.* 2014; 18(3):499-507. DOI: 10.1007/s11325-013-0911-7.
- ¹⁵¹ Dai Y, Li X, Zhang X, Wang S, Sang J, Tian X, Cao H. Prevalence and Predisposing Factors for Depressive Status in Chinese Patients with Obstructive Sleep Apnoea: A Large-Sample Survey. *PLoS One.* 2016; 11(3): e0149939.
- ¹⁵² Lopresti AL, Drummond PD. Obesity and psychiatric disorders: commonalities in dysregulated biological pathways and their implications for treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013; 45:92–9.
- ¹⁵³ Ghiciuc CM, Dima-Cozma LC, Bercea RM, Lupusoru CE, Mihaescu T, Cozma S Patacchioli FR. Imbalance in the diurnal salivary testosterone/cortisol ratio in men with severe obstructive sleep apnea: an observational study. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2016; 82(5):529-35.
- ¹⁵⁴ Vlková B, Mucska I, Hodosy J, Celec P. Short-term effects of continuous positive airway pressure on sex hormones in men and women with sleep apnoea syndrome. *Andrologia.* 2014; 46(4):386-90. DOI: 10.1111/and.12092.
- ¹⁵⁵ Kunugi H, Hori H, Numakawa T, Ota M. [The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and depressive disorder: recent progress]. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi.* 2012; 32(4):203-9.
- ¹⁵⁶ Alcántara C, Biggs ML, Davidson KW, Delaney JA, Jackson CL, Zee PC, Shea SJ, Redline S. Sleep Disturbances and Depression in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Sleep.* 2016; 39(4):915-25.
- ¹⁵⁷ Lang CJ, Appleton SL, Vakulin A, McEvoy RD, Vincent AD, Wittert GA, Martin SA, Grant JF, Taylor AW, Antic N, Catcheside PG, Adams RJ. Associations of undiagnosed obstructive sleep apnea and excessive daytime sleepiness with depression: an Australian population study. *J Clin Sleep Med.* 2017; 13(4):575–582.
- ¹⁵⁸ Chirinos DA, Gurubhagavatula I, Broderick P, Chirinos JA, Teff K, Wadden T, Maislin G, Saif H, Chittams J, Cassidy C, Hanlon AL, Pack AI. Depressive symptoms in patients with obstructive sleep apnea: biological mechanistic pathways. *J Behav Med.* 2017; 40(6):955-963.
- ¹⁵⁹ Lanfranco F, Gianotti L, Pivetti S, Navone F, Rossetto R, Tassone F, Gai V, Ghigo E, Maccario M. Obese patients with obstructive sleep apnoea syndrome show a peculiar alteration of the corticotroph but not of the thyrotroph and lactotroph function. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2004; 60(1):41-8.

-
- ¹⁶⁰ Schmoller A, Eberhardt F, Jauch-Chara K, Schweiger U, Zabel P, Peters A, Schultes B, Oltmanns KM. Continuous positive airway pressure therapy decreases evening cortisol concentrations in patients with severe obstructive sleep apnea. *Metabolism*. 2009; 58(6):848-53.
- ¹⁶¹ Carneiro G, Togeiro SM, Hayashi LF, Ribeiro-Filho FF, Ribeiro AB, Tufik S, Zanella MT. Effect of continuous positive airway pressure therapy on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and 24-h blood pressure profile in obese men with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008; 295(2): E380-4.
- ¹⁶² Polonis K, Somers VK, Becari C, Covassin N, Schulte PJ, Druliner BR, Johnson RA, Narkiewicz K, Boardman LA, Singh P. Moderate-to-severe obstructive Sleep apnea is associated with telomere lengthening. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017; 313(5):H1022-H1030.
- ¹⁶³ Tamada D, Otsuki M, Kashine S, Hirata A, Onodera T, Kitamura T, Shimomura I. Obstructive sleep apnea syndrome causes a pseudo-Cushing's state in Japanese obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr J*. 2013; 60(12):1289-94.
- ¹⁶⁴ Xu H, Wang H, Guan J, Yi H, Qian Y, Zou J, Xia Y, Fu Y, Li X, Jiao X, Huang H, Dong P, Yu Z, Yang J, Xiang M, Li J, Chen Y, Wang P, Sun Y, Li Y, Zheng X, Jia W, Yin S. Effects of continuous positive airway pressure on neurocognitive architecture and function in patients with obstructive sleep apnoea: study protocol for a multicentre randomised controlled trial. *BMJ Open*. 2017; 7(5): e014932. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-014932.
- ¹⁶⁵ Sánchez-de-la-Torre M, Campos-Rodriguez F, Barbé F. Obstructive sleep apnoea and cardiovascular disease. *Lancet Respir Med*. 2013; 1:61–72.
- ¹⁶⁶ Aurora RN, Punjabi NM. Obstructive sleep apnoea and type 2 diabetes mellitus: a bidirectional association. *Lancet Respir Med*. 2013; 1:329–38.
- ¹⁶⁷ Rosenzweig I, Glasser M, Polsek D, et al. Sleep apnoea and the brain: a complex relationship. *Lancet Respir Med*. 2015; 3:404–14.
- ¹⁶⁸ Sales LV, Bruin VM, D'Almeida V, et al. Cognition and biomarkers of oxidative stress in obstructive sleep apnea. *Clinics*. 2013; 68:449–55.
- ¹⁶⁹ Quera Salva MA, Barbot F, Hartley S, et al. Sleep disorders, sleepiness, and near-miss accidents among long-distance highway drivers in the summertime. *Sleep Med*. 2014; 15:23–6.
- ¹⁷⁰ Stevenson MR, Elkington J, Sharwood L, et al. The role of sleepiness, sleep disorders, and the work environment on heavy-vehicle crashes in 2 Australian states. *Am J Epidemiol*. 2014; 179:594–601.

-
- ¹⁷¹ Macey PM, Kumar R, Woo MA, Valladares EM, Yan-Go FL, Harper RM. Brain structural changes in obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2008; 31(7):967–977.
- ¹⁷² Kamba M, Inoue Y, Higami S, Suto Y, Ogawa T, Chen W. Cerebral metabolic impairment in patients with obstructive sleep apnoea: an independent association of obstructive sleep apnoea with white matter change. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001; 71(3):334–9.
- ¹⁷³ Tonon C, Vetrugno R, Lodi R, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy study of brain metabolism in obstructive sleep apnoea syndrome before and after continuous positive airway pressure. *Sleep*. 2007; 30(3):305-311
- ¹⁷⁴ Bartlett DJ, Rae C, Thompson CH, et al. Hippocampal area metabolites relate to severity and cognitive function in obstructive sleep apnea. *Sleep Med*. 2004; 5(6):593–6.
- ¹⁷⁵ Morrell MJ, McRobbie DW, Quest RA, Cummin ARC, Ghiassi R, Corfield DR. Changes in brain morphology associated with obstructive sleep apnea. *Sleep Med*. 2003; 4(5):451–454.
- ¹⁷⁶ 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.
- ¹⁷⁷ Torelli F, Moscufo N, Garreffa G, et al. Cognitive profile and brain morphological changes in obstructive sleep apnea. *Neuroimage*. 2011; 54(2):787–793.
- ¹⁷⁸ Jaussent I, Bouyer J, Ancelin M-L, et al. Excessive sleepiness is predictive of cognitive decline in the elderly. *Sleep*. 2012; 35(9):1201–7.
- ¹⁷⁹ Verstraeten E, Cluydts R, Pevernagie D, Hoffmann G. Executive function in sleep apnea: controlling for attentional capacity in assessing executive attention. *Sleep*. 2004; 27(4):685–93.
- ¹⁸⁰ Ancoli-Israel S, Klauber MR, Butters N, Parker L, Kripke DF. Dementia in institutionalized elderly: relation to sleep apnea. *J Am Geriatr Soc*. 1991; 39(3):258-63.
- ¹⁸¹ Crawford-Achour E, Dauphinot V, Martin MS, 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; 11:519–24.
- ¹⁸² Zhou J, Camacho M, Tang X, et al. A review of neurocognitive function and obstructive sleep apnea with or without daytime sleepiness. *Sleep Med*. 2016; 23:99–108.
- ¹⁸³ Ancoli-Israel S, Palmer BW, Cooke JR, Corey-Bloom J, Fiorentino L, Natarajan L, Liu L, Ayalon L, He F, Loredó JS. Cognitive effects of treating obstructive sleep apnea in Alzheimer's disease: a randomized controlled study. *J Am Geriatr Soc*. 2008; 56(11):2076-81.

-
- ¹⁸⁴ Tahmasian M, Rosenzweig I, Eickhoff SB, et al. Structural and functional neural adaptations in obstructive sleep apnea: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016; 65:142–56.
- ¹⁸⁵ Henderson LA, Fatouleh RH, Lundblad LC, et al. Effects of 12 months continuous positive airway pressure on sympathetic activity related brainstem function and structure in obstructive sleep apnea. *Front Neurosci.* 2016; 10:90.
- ¹⁸⁶ Dalmases M, Solé-Padullés C, Torres M, et al. Effect of CPAP on cognition, brain function, and structure among elderly patients with OSA: a randomized pilot study. *Chest.* 2015; 148:1214–23.
- ¹⁸⁷ Rosenzweig I, Glasser M, Crum WR, et al. Changes in neurocognitive architecture in patients with obstructive sleep apnea treated with continuous positive airway pressure. *EBioMedicine.* 2016; 7:221–9.
- ¹⁸⁸ Rogers GB, Keating DJ, Young RL, et al. From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Mol Psychiatry.* 2016; 21:738–48.
- ¹⁸⁹ Forsythe P, Sudo N, Dinan T, et al. Mood and gut feelings. *Brain Behav Immun.* 2010; 24:9–16
- ¹⁹⁰ Moreno-Indias I, Torres M, Montserrat JM, et al. Intermittent hypoxia alters gut microbiota diversity in a mouse model of sleep apnoea. *Eur Respir J.* 2015; 45:1055–65.
- ¹⁹¹ Durgan DJ, Ganesh BP, Cope JL, et al. Role of the gut microbiome in obstructive sleep apnea-induced hypertension. *Hypertension.* 2016; 67:469–74.
- ¹⁹² Emamian F, Khazaie H, Tahmasian M, Leschziner GD, Morrell MJ, Hsiung GY, Rosenzweig I, Sepehry AA. The Association Between Obstructive Sleep Apnea and Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis Perspective. *Front Aging Neurosci.* 2016; 12(8):78. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00078.
- ¹⁹³ Pan W and Kastin AJ. Can sleep apnea cause Alzheimer's disease? *Neurosci Biobehav Rev.* 2014; 47:656-69.
- ¹⁹⁴ Sharma RA, Varga AW, Bubu OM, Pirraglia E, Kam K, Parekh A, Wohlleber M, Miller MD, Andrade A, Lewis C, Twardy S, Buj M, Yau PL, Sadda R, Mosconi L, Li Y, Butler T, Glodzik L, Fieremans E, Babb JS, Blennow K, Zetterberg H, Lu SE, Badia SG, Romero S, Rosenzweig I, Gosselin N, Jean-Louis G, Rapoport DM, de Leon MJ, Ayappa I, Osorio RS. Obstructive Sleep Apnea Severity Affects Amyloid Burden in Cognitively Normal Elderly: A Longitudinal Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017. DOI: 10.1164/rccm.201704-0704OC.
- ¹⁹⁵ Costandi M. Neurodegeneration: amyloid awakenings. *Nature.* 2013; 23-497(7450): S19-20. DOI: 10.1038/497S19a.

-
- ¹⁹⁶ Gursoy E, Cardounel A, Kalimi M. Pregnenolone protects mouse hippocampal (HT-22) cells against glutamate and amyloid beta protein toxicity. *Neurochem Res.* 2001; 26(1):15-21. PubMed PMID: 11358277.
- ¹⁹⁷ Fletcher EC, DeBehnke RD, Lovoi MS, Gorin AB - Undiagnosed Sleep apnea in patients with essential hypertension. *An Intern Med.* 1985; 103:190-95.
- ¹⁹⁸ Sforza E, Chouchou F, Pichot V, Herrmann F, Barthélémy JC, Roche F. Is the Berlin questionnaire a useful tool to diagnose obstructive sleep apnea in the elderly? *Sleep Med.* 2011; 12(2):142-6.
- ¹⁹⁹ Abrishami A, Khajehdehi A, Chung F. A systematic review of screening questionnaires for obstructive sleep apnea. *Can J Anesth.* 2010; 57:423–438.
- ²⁰⁰ Farney RJ, Walker BS, Farney RM, Snow GL, Walker JM. The STOP-Bang equivalent model and prediction of severity of obstructive sleep apnea: relation to polysomnographic measurements of the apnea/hypopnea index. *J Clin Sleep Med.* 2011; 7(5):459–65B.
- ²⁰¹ Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep.* 1991; 14(6):540-5.
- ²⁰² Bertolazi AN, Fagondes SC, Hoff LS, Pedro VD, Menna Barreto SS, Johns MW. Portuguese-language version of the Epworth sleepiness scale: validation for use in Brazil. *J Bras Pneumologia.* 2009 Set;35(9):877-83.
- ²⁰³ Silverberg DS, Oksenberg A, Iaina A - Sleep related breathing disorders are common contributing factors to the production of essential hypertension but are neglected, under diagnosed, and undertreated. *Am J Hypertens.* 1997; 10:1319-25.
- ²⁰⁴ Šušmáková K. "Human sleep and sleep EEG". *Measurement Science Review.* 2004; 4(2):59-74.
- ²⁰⁵ Flemons WW. Obstructive Sleep Apnea. *N Engl J Med.* 2002; 347:498-504.
- ²⁰⁶ Stoohs R, Guilleminault C - MESAM 4: An Ambulatory device for the detection of patients at risk for obstructive sleep apnea syndrome. *Chest.* 1992; 101:1221-7
- ²⁰⁷ Kushida CA, Littner MR, Morgenthaler TM, et al. "Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: An update for 2005". *Sleep.* 2005; 28:499-519.
- ²⁰⁸ Hla KM, Young TB, Bidwell T, Palta M, Skatrud JB, Dempsey J. Sleep Apnea and Hypertension, A Population-based Study. *Ann Intern Med* 1994; 120:382-88.
- ²⁰⁹ Strohl KP, Redline S - Recognition of Obstrutive Sleep Apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 154:279-89.

-
- ²¹⁰ Martinez D, Knorst M, Reali JA. Outcome of treated and untreated obstructive Sleep apnea syndrome. *Chest*. 1992; 102:129S.
- ²¹¹ Iftikhar IH, Hays ER, Iverson MA, Magalang UJ, Maas AK. Effect of oral appliances on blood pressure in obstructive sleep apnea: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Sleep Med*. 2013; 9(2):165-174.
- ²¹² Hoffstein V. Review of oral appliance for treatment of Sleep – disordered breathing Sleep breathe. 2007; 11(1):1-22.
- ²¹³ Schmidt-Novara W, Lowe A, WiegandL, Cartwright R, Perez-Guerra F, Menn S. Oral appliances for the treatment of snoring obstructive Sleep apnea: A review. *Sleep*. 1995; 18(6):501-510.
- ²¹⁴ Rose EC, Bartlen GM, Staats R, Jonas IE. Therapeutic efficacy of an oral appliance in the treatment of obstructive Sleep apnea: a 2-year follow-up. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2002; 121(3):273-279.
- ²¹⁵ Hoekema A, Stegenga B, De Bont LG. Efficacy and co-morbidity of oral appliances in the treatment of obstructive Sleep apnea-hypopnea: a systematic review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004; 15(3):137-55.
- ²¹⁶ Lim J, Lasserson TJ, Fleetham J, Wright J. Oral appliances for obstructive sleep apnoea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006; (1):CD004435.
- ²¹⁷ Montesi SB, Edwards BA, Malhotra A, Bakker JP. The effect of continuous positive airway pressure treatment on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Sleep Med*. 2012; 8(5):587-596
- ²¹⁸ Weaver TE, Grunstein RR. Adherence to continuous positive airway pressure therapy: the challenge to effective treatment. *Proc Am Thorac Soc*. 2008; 5(2):173-8. DOI: 10.1513/pats.200708-119MG.
- ²¹⁹ Kapur VK, Auckley DH, Chowdhuri S, Kuhlmann DC, Mehra R, Ramar K, Harrod CG. Clinical Practice Guideline for Diagnostic Testing for Adult Obstructive Sleep Apnea: An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *J Clin Sleep Med*. 2017; 13(3):479-504. DOI: 10.5664/jcsm.6506
- ²²⁰ Jacobsen AR, Eriksen F, Hansen RW, Erlandsen M, Thorup L, Damgård MB, Kirkegaard MG, Hansen KW. Determinants for adherence to continuous positive airway pressure therapy in obstructive sleep apnea. *PLoS One*. 2017; 12(12):e0189614. DOI:10.1371/journal.pone.0189614.

-
- ²²¹ Epstein LJ, Kristo D, Strollo PJ Jr, Friedman N, Malhotra A, Patil SP, Ramar K, Rogers R, Schwab RJ, Weaver EM, Weinstein MD. Adult Obstructive Sleep Apnea Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *J Clin Sleep Med*. 2009; 5(3):263-76.
- ²²² Guimarães KC, Drager LF, Genta PR, Marcondes BF, Lorenzi-Filho G. Effects of oropharyngeal exercises on patients with moderate obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009; 179(10):962-6. DOI: 10.1164/rccm.200806-981OC
- ²²³ Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am*. 2001; 30:695– 728
- ²²⁴ Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol*. 2005; 67:259-84.
- ²²⁵ Chrousos GP and Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*. 1992; 267(9):1244-52. Review. Erratum in: *JAMA* 1992; 268(2):200.
- ²²⁶ Corrine K Welt, MD. Up to date Hypothalamic-pituitary axis. Last updated: Apr 24, 2017. Available: www.uptodate.com/contents/hypothalamic-pituitary-axis?source=search_result&search=hypothalamic-pituitary-adrenal+SYSTEM&selectedTitle=1%7E150
- ²²⁷ Ulrich-Lai, Y.M., Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci*. 2009; 10(6):397-409. DOI: 10.1038/nrn2647
- ²²⁸ Benca RM, Obermeyer WH, Thisted RA, Gillin JC. Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*. 1992; 49(8):651-68; discussion 669-70.
- ²²⁹ Reynolds CF 3rd, Kupfer DJ. Sleep research in affective illness: state of the art circa 1987. *Sleep*. 1987; 10(3):199-215.
- ²³⁰ Steiger A. Sleep and endocrinology. *J Intern Med*. 2003; 254(1):13-22.
- ²³¹ Rodenbeck A, Huether G, Rütger E, Hajak G. Interactions between evening and nocturnal cortisol secretion and sleep parameters in patients with severe chronic primary insomnia. *Neurosci*. 2002; Lett 324:159-163.
- ²³² Vgontzas AN, Bixler EO, Lin HM, Prolo P, Mastorakos G, Vela-Bueno A, Kales A, Chrousos GP. Chronic insomnia is associated with nyctohemeral activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: Clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86:3787-3794.

-
- ²³³ Karaca Z, Ismailogullari S, Korkmaz S, Cakir I, Aksu M, Baydemir R, Tanriverdi F, Bayram F. Obstructive sleep apnoea syndrome is associated with relative hypocortisolemia and decreased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response to 1 and 250µg ACTH and glucagon stimulation tests. *Sleep Medicine*. 2013; 14(2):160-164.
- ²³⁴ Lanfranco F, Gianotti L, Pivetti S, Navone F, Rossetto R, Tassone F, Gai V, Ghigo E, Maccario M. Obese patients with obstructive sleep apnoea syndrome show a peculiar alteration of the corticotroph but not of the thyrotroph and lactotroph function. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004; 60(1):41-8.
- ²³⁵ Bublitz MH, Monteiro JF, Caraganis A, Martin S, Parker J, Larson L, Miller MA, Bourjeily G. Obstructive Sleep Apnea in Gestational Diabetes: A Pilot Study of the Role of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *J Clin Sleep Med*. 2017. pii: jc-17-00124.
- ²³⁶ Steiger A. Regulação neuroquímica do sono. *J Psychiatr Res* 2007; 41: 537-52
- ²³⁷ Fabbian F, Smolensky MH, Tiseo R, Pala M, Manfredini R, Portaluppi F. Dipper and non-dipper blood pressure 24-hour patterns: circadian rhythm-dependent physiologic and pathophysiologic mechanisms. *Chronobiol Int*. 2013;30(1-2):17-30.
- ²³⁸ Fehm HL, Klein E, Holl R & Voigt KH. Evidence for extrapituitary mechanisms mediating the morning peak of cortisol secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1984; 58:410-414.
- ²³⁹ K. R. R. Krishnan, J. C. Ritchie, W. Saunders, W. Wilson, C. B. Nemeroff & B. J. Carroll: Nocturnal and early morning secretion of ACTH and cortisol in humans. *Biol Psychiatry* 1990; 28:47-57.
- ²⁴⁰ Zelinka T, Strauch B, Pecen L, Widimský J Jr. Diurnal blood pressure variation in pheochromocytoma, primary aldosteronism and Cushing's syndrome. *J Hum Hypertens*. 2004; 18(2):107-11.
- ²⁴¹ Baumeister D, Lightman SL, Pariante CM. The Interface of Stress and the HPA Axis in Behavioural Phenotypes of Mental Illness. *Curr Top Behav Neurosci*. 2014; 18:13-24. DOI: 10.1007/7854_2014_304.
- ²⁴² Oyola MG, Handa RJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. *Stress*. 2017; 20(5):476-494.
- ²⁴³ de Kloet ER, Joels M & Holsboer F. Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005; 6:463–475. DOI:10.1038/nrn1683
- ²⁴⁴ McEwen BS and Gianaros PJ. Central role of the brain in stress and adaptation: Links to socioeconomic status, health, and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010; 1186:190–222. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05331.x

-
- ²⁴⁵ Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews*. 1984; 5:25–44. DOI: 10.1210/edrv-5-1-25
- ²⁴⁶ Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*. 2000; 21:55–89.
- ²⁴⁷ Smith SM and Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 2006; 8:383–395.
- ²⁴⁸ Levine AB, Levine LM, Levine TB. Posttraumatic stress disorder and cardiometabolic disease. *Cardiology*. 2014; 127:1–19. DOI: 10.1159/000354910
- ²⁴⁹ Paka'k K & Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress related disorders. *Endocr. Rev.* 2001; 22:425–450.
- ²⁵⁰ Dubrovsky BO. Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005; 29(2):169-92.
- ²⁵¹ Lephart ED, Baxter CR, Parker CR. Effect of burn trauma on adrenal and testicular steroid hormone production. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1987; 64:842–848.
- ²⁵² Nolan BJ, Sorbello J, Brown N, et al. Characterization of the serum and salivary cortisol response to the intravenous 250 µg ACTH₁₋₂₄ stimulation test. *Endocrine*. 2018:1-9. DOI: 10.1007/s12020-017-1505-0
- ²⁵³ Gagliardi L, Ho JT, Torpy DJ. Corticosteroid-binding globulin: the clinical significance of altered levels and heritable mutations. *Mol Cell Endocrinol*. 2010; 316(1):24-34.
- ²⁵⁴ Inder WJ, Dimeski G, Russell A. Measurement of salivary cortisol in 2012-laboratory techniques and clinical indications. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012; 77(5):645-51.
- ²⁵⁵ Martignoni E, Costa A, Sinforiani E, Liuzzi A, Chiodini P, Mauri M, Bono G, Nappi G. The brain as a target for adrenocortical steroids: Cognitive implications. *Psychoneuroendocrinology* 1992; 17:343-354.
- ²⁵⁶ Mizoguchi K, Ikeda R, Shoji H, Tanaka Y, Maruyama W, Tabira T. Aging attenuates glucocorticoid negative feedback in rat brain. *Neuroscience* 2009; 159:259-270.
- ²⁵⁷ Lightman S. Rhythms Within Rhythms: The Importance of Oscillations for Glucocorticoid Hormones. 2016 Apr 5. In: Sassone-Corsi P, Christen Y, editors. *A Time for Metabolism and Hormones* [Internet]. Cham (CH): Springer; 2016. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453178/>

-
- ²⁵⁸ E. Van Cauter, R. Leproult & L. Plat: Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA* 2000; 284:861-868.
- ²⁵⁹ Kage A, Fenner A, Weber B, Schöneshöfer M. Diurnal and ultradian variations of plasma concentrations of eleven adrenal steroid hormones in human males. *Klin Wochenschr.* 1982; 60(13):659-66.
- ²⁶⁰ Vgontzas AN, Bixler EO, Wittman AM, Zachman K, Lin HM, Vela-Bueno A, Kales A & Chrousos GP. Middle-aged men show higher sensitivity of sleep to the arousing effects of corticotropin-releasing hormone than young men: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1489-1495.
- ²⁶¹ Tenk J, Mátrai P, Hegyi P, Rostás I, Garami A, Szabó I, Solymár M, Pétervári E, Czimmer J, Márta K, Mikó A, Füredi N, Párniczky A, Zsiborás C, Balaskó M. In Obesity, HPA Axis Activity Does Not Increase with BMI, but Declines with Aging: A Meta-Analysis of Clinical Studies. *PLoS One.* 2016; 11(11):e0166842. DOI: 10.1371/journal.pone.0166842.
- ²⁶² Martin EI, Ressler KJ, Binder E, Nemeroff CB. The Neurobiology of Anxiety Disorders: Brain Imaging, Genetics, and Psychoneuroendocrinology. *The Psychiatric clinics of North America.* 2009;32(3):549-575. DOI: 10.1016/j.psc.2009.05.004.
- ²⁶³ Murck H, Held K, Ziegenbein M, Kunzel H, Koch K, Steiger A. The renin-angiotensin-aldosterone system in patients with depression compared to controls: a sleep endocrine study. *BMC Psychiatry.* 2003; 3:15.
- ²⁶⁴ Yau JL, Seckl JR. Local amplification of glucocorticoids in the aging brain and impaired spatial memory. *Front Aging Neurosci.* 2012; 4, 24.
- ²⁶⁵ Yau JL, Wheelan N, Noble J, Walker BR, Webster SP, Kenyon CJ, Ludwig M, Seckl JR. Intrahippocampal glucocorticoids generated by 11beta-HSD1 affect memory in aged mice. *Neurobiology of Aging.* 2015; 36, 334-343.
- ²⁶⁶ Wheelan N, Kenyon CJ, Harris AP, Cairns C, Al Dujaili E, Seckl JR, Yau JLW. Midlife stress alters memory and mood-related behaviors in old age: Role of locally activated glucocorticoids. *Psychoneuroendocrinology.* 2018; 89:13-22. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.12.018.
- ²⁶⁷ Lutsey PL, Misialek JR, Mosley TH, Gottesman RF, Punjabi NM, Shahar E, MacLehose R, Ogilvie RP, Knopman D, Alonso A. Sleep characteristics and risk of dementia and Alzheimer's disease: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Alzheimers Dement.* 2017. DOI: 10.1016/j.jalz.2017.06.2269.
- ²⁶⁸ Dubrovsky, B. The specificity of stress responses to different nocuous stimuli: neurosteroids and depression. *Brain Res. Bull.* 2000; 51:443 – 455.

-
- ²⁶⁹ Girdler, S.S, Straneva, P.A., Light, K.C., Pedersen, C.A., Morrow, A.L. Allo-pregnanolone levels and mental stress in pré-menstrual dysphoric disorder. *Biol. Psychiatry* 2001; 49:788–797.
- ²⁷⁰ Borges S, Gayer-Anderson C, Mondelli V. A systematic review of the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in first episode psychosis. *Psychoneuroendocrinology*. 2013 May;38(5):603-11. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2012.12.025.
- ²⁷¹ Vgontzas AN, Liao D, Bixler EO, Chrousos GP and Vela-Bueno A. Insomnia with objective short sleep duration is associated with a high risk of hypertension. *Sleep*. 2009; 32:491–497.
- ²⁷² Gardner MP, Lightman S, Sayer AA, Coopoe C, Cooper R, Deeg D, Ebrahim S, Gallacher J, Kivimaki M, Kumari M, Kuh D, Martin Rm, Peeters G, en-Schlomo Y. Halcyon Study Team. Dysregulation of the hypothalamic pituitary adrenal (HPA) axis and physical performance at older ages: An individual participant meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 2013; 38:40-49.
- ²⁷³ Raone A, Cassanelli A, Scheggi S, Rauggi R, Danielli B, De Montis MG. Hypothalamus–pituitary–adrenal modifications consequent to chronic stress exposure in an experimental model of depression in rats. *Neuroscience* 2007; 146:1734–42.
- ²⁷⁴ Pereira VH, Cerqueira JJ, Palha JA, Sousa N. Stressed brain, diseased heart: a review on the pathophysiologic mechanisms of neurocardiology. *Int J Cardiol*. 2013; 166(1):30-7.
- ²⁷⁵ Chovatiya R, Medzhitov R. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. *Mol Cel*. 2014; 54:281–8.
- ²⁷⁶ De Kloet ER, Karst HM, Joëls M. Corticosteroid hormones in the central stress response: quick-and-slow. *Front Neuroendocrinol*. 2008; 29:268–72.
- ²⁷⁷ Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005; 29:571–625.
- ²⁷⁸ Naert G, Maurice T, Tapia-Arancibia L, Givalois L. Neuroactive steroids modulate HPA axis activity and cerebral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in adult male rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2007; 32(8-10):1062-78.
- ²⁷⁹ Mohammad Hossein Esmailia, Behnam Baharib, Ali-Akbar Salari. ATP-sensitive potassium-channel inhibitor glibenclamide attenuates HPA axis hyperactivity, depression- and anxiety-related symptoms in a rat model of Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*. 2018; 137:265–276

-
- ²⁸⁰ Brureau A, Zussy C, Delair B, Ogier C, Ixart G, Maurice T, Givalois L. Deregulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis functions in an Alzheimer's disease rat model. *Neurobiol. Aging* 2013; 34:1426–1439.
- ²⁸¹ Pineau F, Canet G, Desrumaux C, Hunt H, Chevallier N, Ollivier M, Belanoff JK, Givalois L. New selective glucocorticoid receptor modulators reverse amyloid- β peptide-induced hippocampus toxicity. *Neurobiol Aging*. 2016; 45:109-122.
- ²⁸² Caraci F, Copani A, Nicoletti F, Drago F. Depression and Alzheimer's disease: neurobiological links and common pharmacological targets. *Eur. J. Pharmacol.* 2010; 626:64–71.
- ²⁸³ Chi, S., Wang, C., Jiang, T., Zhu, X.-C., Yu, J.-T., Tan, L. The prevalence of depression in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Curr. Alzheimer Res.* 2015; 12:189–198.
- ²⁸⁴ Khundakar AA, Thomas AJ. Neuropathology of depression in Alzheimer's disease: current knowledge and the potential for new treatments. *J Alzheimers Dis.* 2015; 44(1):27-41.
- ²⁸⁵ Pietrzak, R.H., Lim, Y.Y., Neumeister, A., Ames, D., Ellis, K.A., Harrington, K., Lautenschlager, N.T., Restrepo, C., Martins, R.N., Masters, C.L. Amyloid- β , anxiety, and cognitive decline in preclinical Alzheimer disease: a multicenter, prospective cohort study. *Jama Psychiatry* 2015; 72:284–291
- ²⁸⁶ Stetler C, Miller GE. Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a quantitative summary of four decades of research. *Psychosom Med.* 2011; 73(2):114-26.
- ²⁸⁷ Baglietto-Vargas D, Chen Y, Suh D, Ager RR, Rodriguez-Ortiz CJ, Medeiros R, Myczek K, Green KN, Baram TZ, LaFerla FM. Short-term modern life-like stress exacerbates A β -pathology and synapse loss in 3xTg-AD mice. *J Neurochem.* 2015; 134(5):915-26.
- ²⁸⁸ Noschang C, Krolow R, Arcego DM, Toniazzo AP, Huffell AP, Dalmaz C. Neonatal handling affects learning, reversal learning and antioxidant enzymes activities in a sex-specific manner in rats. *Int J Dev Neurosci.* 2012; 30(4):285-91.
- ²⁸⁹ Reul J, Kloet Ed. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology.* 1985; 117:2505–2511.
- ²⁹⁰ Hoogendijk WJ, Meynen G, Endert E, Hofman MA, Swaab DF. Increased cerebrospinal fluid cortisol level in Alzheimer's disease is not related to depression. *Neurobiol. Aging.* 2006; 27(780): e781–780 (e782).
- ²⁹¹ Morgese, M.G., Schiavone, S., Trabace, L. Emerging role of amyloid beta in stress response: implication for depression and diabetes. *Eur. J. Pharmacol.* 2017; 817:22–29.

-
- ²⁹² Csernansky, J.G., Dong, H., Fagan, A.M., Wang, L., Xiong, C., Holtzman, D.M., Morris, J.C. Plasma cortisol and progression of dementia in subjects with Alzheimer-type dementia. *Am. J. Psychiatry* 2006; 163:2164–2169.
- ²⁹³ Wu FS, Gibbs TT, Farb DH. Pregnenolone sulfate: a positive allosteric modulator at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Mol Pharmacol.* 1991; 40:333-336.
- ²⁹⁴ Monnet FP, Mahe V, Robel P, Baulieu EE. Neurosteroids, via sigma receptors, modulate the [3H] norepinephrine release evoked by N-methyl-D-aspartate in the rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci.* 1995; 92:3774-3778.
- ²⁹⁵ Holsboer F, Grasser A, Friess E, Wiedemann K. Steroid effects on central neurons and implications for psychiatric and neurological disorders. *Ann N Y Acad Sci.* 1994; 30(746):345-59; discussion 359-61.
- ²⁹⁶ Dantzer R. Neuroimmune Interactions: From the Brain to the Immune System and Vice-Versa. *Physiological Reviews.* 2017;98(1). DOI:10.1152/physrev.00039.2016
- ²⁹⁷ Sih R, Kamel H, Horani M, Morley JE. Dehydroepiandrosterone and Pregnenolone. In: Meikle AW. *Hormone Replacement Therapy. Contemporary Endocrinology.* 1999; 13(15):241-259. Humana Press, Totowa, NJ. DOI: 10.1007/978-1-59259-700-0_15
- ²⁹⁸ Manna PR, Stetson CL, Slominski AT, Pruitt K. Role of the steroidogenic acute regulatory protein in health and disease. *Endocrine.*2016; 51(1):7-21.
- ²⁹⁹ Wong P, Chang CC, Marx CE, Caron MG, Wetsel WC, Zhang X. Pregnenolone rescues schizophrenia-like behavior in dopamine transporter knockout mice. *PLoS One.* 2012;7(12): e51455.
- ³⁰⁰ Baulieu EE and Robel P. Neurosteroids: a new brain function? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1990; 37: 395-403.
- ³⁰¹ Jung-Testas I, Hu ZY, Baulieu EE, Robel P. Neurosteroids: biosynthesis of pregnenolone and progesterone in primary cultures of rat glial cells. *Endocrinology.* 1989; 125:2083-2091.
- ³⁰² Schumacher M, Akwa Y, Guennoun R, Robert F, Labombarda F, Desarnaud F, Robel P, De Nicola AF, Baulieu EE. Steroid synthesis and metabolism in the nervous system: trophic and protective effects. *J Neurocytol.* 2000; 29:307–326.
- ³⁰³ Miller WL and Auchus RJ. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocr Rev.* 2011;32(1:81-151. DOI:10.1210/er.2010-0013. Erratum in: *Endocr Rev.* 2011;32(4):579.
- ³⁰⁴ Haggard DE, Karmaus AL, Martin MT, Judson RS, Setzer RW, Paul Friedman K. High-throughput H295R steroidogenesis assay: utility as an alternative and a statistical approach to characterize effects on steroidogenesis. *Toxicol Sci.* 2017. DOI: 10.1093/toxsci/kfx274.

-
- ³⁰⁵ Garbacz WG, Jiang M, Xie W. Sex-Dependent Role of Estrogen Sulfotransferase and Steroid Sulfatase in Metabolic Homeostasis. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 1043:455-469. DOI: 10.1007/978-3-319-70178-3_21.
- ³⁰⁶ Iida S, Kakinuma H, Miki Y, Abe K, Sakurai M, Suzuki S, Niikawa H, Akahira J, Suzuki T, Sasano H. Steroid sulphatase and oestrogen sulphotransferase in human non-small-cell lung carcinoma. *Br J Cancer*. 2013; 108(7):1415-24. DOI:10.1038/bjc.2013.84.
- ³⁰⁷ Flood JF, Morley JE, Roberts E. Memory-enhancing effects in male mice of pregnenolone and steroids metabolically derived from it. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992; 89 (5):1567–1571.
- ³⁰⁸ Morley JE. Androgens and aging. *Maturitas*. 2001; 38:61–73. DOI: 10.1016/S0378-5122(00)00192-4.
- ³⁰⁹ Miller WL, Bose HS. Early steps in steroidogenesis: intracellular cholesterol trafficking. *J. Lipid Res*. 2011; 52:2111–2135.
- ³¹⁰ Lambeth JD, Xu XX, Glover M. Cholesterol sulfate inhibits adrenal mitochondrial cholesterol side chain cleavage at a site distinct from cytochrome P-450_{scc}. Evidence for an intramitochondrial cholesterol translocator. *J Biol Chem*. 1987; 262:9181-9188.
- ³¹¹ Xu XX and Lambeth JD. Cholesterol sulfate is a naturally occurring inhibitor of steroidogenesis in isolated rat adrenal mitochondria. *J Biol Chem*. 1989; 264:7222-7227.
- ³¹² Stoffel-Wagner B. Neurosteroid biosynthesis in the human brain and its clinical implications. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2003,1007:64–78.
- ³¹³ Barron AM, Frye CA, Walf AA, Yang SY, He XY, Morrow AL, Panzica GC, Melcangi RC. Neurosteroidogenesis Today: Novel Targets for Neuroactive Steroid Synthesis and Action and Their Relevance for Translational Research. *J Neuroendocrinol*. 2016; 28(2):12351.
- ³¹⁴ Lin D, Sugawara T, Strauss JF, Clark BJ, Stocco DM, Saenger P, Rogol A, Miller WL. Role of steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis. *Science*. 1995; 267:1828-1831.
- ³¹⁵ Sugawara T, Holt JA, Driscoll D, Strauss JF, Lin D, Miller WL, Patterson D, Clancy KP, Hart IM, Clark BJ, Stocco DM. Human steroidogenic acute regulatory protein (StAR): Functional activity in COS-1 cells, tissue specific expression, and mapping of the structural gene to 8p11.2 and an expressed pseudogene to chromosome 13. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92:4778-4782.
- ³¹⁶ Yamakita N, Murase J, Yasuda K, Noritake N, Mercado-Asis L, Miura K. Possible Hyperaldosteronism and Discrepancy in Enzyme Activity Deficiency in Adrenal and Gonadal Glands in Japanese Patients with 17 α -Hydroxylase Deficiency. *Endocrinol Jpn*. 1989; 36:515–36

-
- ³¹⁷ Hinz L, Pacaud D, Kline G. Congenital adrenal hyperplasia causing hypertension: an illustrative review. *J Hum Hypertens*. 2018; 32(2):150-157. DOI: 10.1038/s41371-017-0002-5.
- ³¹⁸ Rone MB, Fan J, Papadopoulos V. Cholesterol transport in steroid biosynthesis: Role of protein-protein interactions in disease states. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1791:646-658.
- ³¹⁹ Hu J, Zhang Z, Shen WJ, Azhar S. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutr Metab (Lond)*. 2010;1(7):47.
- ³²⁰ Pincus G and Hoagland H. Effects on industrial production of the administration of 5 pregnenolone to factory workers, I. *Psychosom Med*. 1945; 7:342-6.
- ³²¹ Pincus G, Hoagland H, Wilson CH, Fay NJ. Effects on industrial production of the administration of 5 pregnenolone to factory workers, II. *Psychosom Med*. 1945; 7:347-52.
- ³²² Darnaudery M, Bouyer JJ, Pallares M, Le Moal M, Mayo W. The promnesic neurosteroid pregnenolone sulfate increases paradoxical sleep in rats. *Brain Res*. 1999; 818(2):492-8
- ³²³ Pincus G, Hoagland H. Effects of administered pregnenolone on fatiguing psychomotor performance. *I Aviat Med*. 1944; 15:98-115,135.
- ³²⁴ Sih R, Morley IE, Kaiser FE, Heming M. Effects of pregnenolone on aging. *J Investig Med*. 1997; 45(7):348^a.
- ³²⁵ Morley IE, Kaiser F, Raum WJ, Perry HM, III, Flood JF, et al. Potentially predictive and manipulable blood serum correlates of aging in the healthy human male: progressive decreases in bioavailable testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94(14):7537-7542.
- ³²⁶ McGavack TH, Chevalley J, Weissberg J. The use of delta-5-pregnenolone in various clinical disorders. *J Clin Endocrinol*. 1951; 11 :559-577.
- ³²⁷ Brugsh HG and Manning RA. A comprehensive study of pregnenolone, 21 acetoxypregnenolone and ACTH. *N Eng J Med*. 1951; d244:628-632.
- ³²⁸ Tennant F. Hormone abnormalities in patients with severe and chronic pain who fail standard treatments. *Postgrad. Med*. 2015; 127:1-4.
- ³²⁹ George MS, Guidotti A, Rubinow D, Pan B, Mikalauskas K, Post RM. CSF neuroactive steroids in affective disorders: pregnenolone, progesterone and DBI. *Biol Psychiatry*. 1994; 35:775-80.
- ³³⁰ Wang M, Seippel L, Purdy RH, Backstrom T. Relationship between symptom severity and steroid variation in women with premenstrual syndrome: study on serum pregnenolone, pregnenolone sulfate, 5 α -pregnane-3,20-dione and 3 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-one. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996; 81:1076-82

-
- ³³¹ Weill-Engerer S, David JP, Sazdovitch V, Liere P, Eychenne B, Pianos A, Schumacher M, Delacourte A, Baulieu EE, Akwa Y. Neurosteroid quantification in human brain regions: comparison between Alzheimer's and nondemented patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(11):5138-43
- ³³² Steiger A, Trachsel L, Guldner J, Hemmeter U, Rothe B, Rupprecht R, Vedder H & Holsboer F. Neurosteroid pregnenolone induces sleep-EEG changes in man compatible with inverse agonistic GABAA receptor modulation. *Brain Res* 1993; 615:267-274.
- ³³³ Tennant F. The physiologic effects of pain on the endocrine system. *Pain Ther.* 2013; 2:75–86.
- ³³⁴ Khoromi S, Muniyappa R, Nackers L, Gray N, Baldwin H, Wong KA, Matheny LA, Moquin B, Rainer A, Hill S, Remaley A, Johnson LL, Max MB, Blackman MR. Effects of chronic osteoarthritis pain on neuroendocrine function in men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; 91:4313–4318.
- ³³⁵ Tennant F. Hormone abnormalities in patients with severe and chronic pain who fail standard treatments. *Postgrad Med.* 2015; 127(1):1-4.
- ³³⁶ Mensah-Nyagan AG, Kibaly C, Schaeffer V, Venard C, Meyer L, PatteMensah C. Endogenous steroid production in the spinal cord and potential involvement in neuropathic pain modulation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2008; 109:286–293.
- ³³⁷ Bicičková M, Tallová J, Hill M, Krausová Z, Hampl R. Serum concentrations of some neuroactive steroids in women suffering from mixed anxiety-depressive disorder. *Neurochem Res.* 2000;25(12):1623-7.
- ³³⁸ Bercea RM, Patacchioli FR, Ghiciuc CM, Cojocaru E, Mihaescu T. Serum testosterone and depressive symptoms in severe OSA patients. *Andrologia.* 2013; 45(5):345-50. DOI: 10.1111/and.12022.
- ³³⁹ Schüle C, Eser D, Baghai TC, Nothdurfter C, Kessler JS, Rupprecht R. Neuroactive steroids in affective disorders: target for novel antidepressant or anxiolytic drugs? *Neuroscience.* 2011; 191:55-77.
- ³⁴⁰ George MS, Guidotti A, Rubinow D, Pan B, Mikalaukas K, Post RM. CSF neuroactive steroids in affective disorders: pregnenolone, progesterone, and DBI. *Biol Psychiatry* 1994; 35:775–780.
- ³⁴¹ Melcangi RC, Santi D, Spezzano R, Grimoldi M, Tabacchi T, Fusco ML, Diviccaro S, Giatti S, Carrà G, Caruso D, Simoni M, Cavaletti G. Neuroactive steroid levels and psychiatric and andrological features in post-finasteride patients. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017; 171:229-235.

-
- ³⁴² D. Caruso, M. Pesaresi, F. Abbiati, D. Calabrese, S. Giatti, L.M. GarciaSegura, R.C. Melcangi, Comparison of plasma and cerebrospinal fluid levels of neuroactive steroids with their brain, spinal cord and peripheral nerve levels in male and female rats, *Psychoneuroendocrinology* 2013; 38(10):2278-2290.
- ³⁴³ Wolkowitz OM, Reus VI, Chan T, Manfredi F, Raum W, Johnson R, Canick J, Antiglucocorticoid treatment of depression: doubleblind ketoconazole. *Biol. Psychiatry*. 1999; 45:1070–1074.
- ³⁴⁴ Osuji IJ, Vera-Bolaños E, Carmody TJ, Brown ES. Pregnenolone for cognition and mood in dual diagnosis patients. *Psychiatry Res*. 2010; 178(2):309-12. DOI: 10.1016/j.psychres.2009.09.006.
- ³⁴⁵ Brown ES, Park J, Marx CE, Hynan LS, Gardner C, Davila D, Nakamura A, Sunderajan P, Lo A, Holmes T. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of pregnenolone for bipolar depression. *Neuropsychopharmacology*. 2014; 39(12):2867-73.
- ³⁴⁶ Ritsner M, Maayan R, Gibel A, Weizman A. Differences in blood pregnenolone and dehydroepiandrosterone levels between schizophrenia patients and healthy subjects. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2007; 17(5):358-65.
- ³⁴⁷ Laufer N, Maayan R, Hermesh H, Marom S, Gilad R, Strous R, Weizman A. Involvement of GABAA receptor modulating neuroactive steroids in patients with social phobia. *Psychiatry Res*. 2005; 137(1-2):131-6. Erratum in: *Psychiatry Res*. 2006 Sep 30;144(1):95.
- ³⁴⁸ Brambilla F, Biggio G, Pisu MG, Purdy RH, Gerra G, Zaimovich A, Serra M. Plasma concentrations of anxiolytic neurosteroids in men with normal anxiety scores: a correlation analysis. *Neuropsychobiology*. 2004;50(1):6-9.
- ³⁴⁹ Brown ES, Park J, Marx CE, Hynan LS, Gardner C, Davila D, Nakamura A, Sunderajan P, Lo A, Holmes T. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of pregnenolone for bipolar depression. *Neuropsychopharmacology*. 2014; 39(12):2867-73. DOI: 10.1038/npp.2014.138.
- ³⁵⁰ Naylor JC, Kilts JD, Hulette CM, Steffens DC, Blazer DG, Ervin JF, Strauss JL, Allen TB, Massing MW, Payne VM, Youssef NA, Shampine LJ, Marx CE. Allopregnanolone levels are reduced in temporal cortex in patients with Alzheimer's disease compared to cognitively intact control subjects. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1801(8):951-9.
- ³⁵¹ Chen CY, Wu CC, Huang YC, Hung CF, Wang LJ. Gender differences in the relationships among neurosteroid serum levels, cognitive function, and quality of life. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2018; 19(14):2389-2399. DOI:10.2147/NDT.S176047.
- ³⁵² Lee SY, Wang LJ, Chang CH, Wu CC, Chen HL, Lin SH, Chu CL, Lu T, Lu RB. Serum DHEA-S concentration correlates with clinical symptoms and neurocognitive function in patients with bipolar II disorder: A case-controlled study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2017, 6;74:31-35. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2016.11.006.

-
- ³⁵³ Osuji IJ, Vera-Bolaños E, Carmody TJ, Brown ES. Pregnenolone for cognition and mood in dual diagnosis patients. *Psychiatry Res.* 2010; 178(2):309-12. DOI: 10.1016/j.psychres.2009.09.006.
- ³⁵⁴ Legrand A and Alonso G. Pregnenolone reverses the age-dependent accumulation of glial fibrillary acidic protein within astrocytes of specific regions of the rat brain. *Brain Res.* 1998; 802(1-2):125-33.
- ³⁵⁵ Beyer C, Epp B, Fassberg J, Reisert I, Pilgrim C. Region and sex-related differences in maturation of astrocytes in dissociated cell cultures of embryonic rat brain. *Glia.* 1990; 3:55–64.
- ³⁵⁶ Garcia-Segura LM, Suarez I, Segovia S, Tranque PA, Cales JM, Aguilera P, Olmos G, Guillamon A. The distribution of glial fibrillary acidic protein in the adult rat brain is influenced by the neonatal levels of sex steroids. *Brain Res.* 1988; 456:357–363.
- ³⁵⁷ Chou YC, Luttge WG, Sumners C. Expression of mineralocorticoid Type I and glucocorticoid Type II receptors in astrocyte glia as a function of time in culture. *Developmental Brain Research.* 1991; 61:55–61.
- ³⁵⁸ Issa AM, Rowe W, Gauthier S, Meaney MJ. Hypothalamic–pituitary–adrenal activity in aged, cognitively impaired and cognitively unimpaired rats. *J. Neurosci.* 1990; 10:3247–3254.
- ³⁵⁹ Del Cerro S, Garcia-Estrada J, Garcia-Segura LM. Neuroactive steroids regulate astroglia morphology in hippocampal cultures from adult rats. *Glia.* 1995; 14:65–71.
- ³⁶⁰ Bologna L, Sharma J, Roberts E. Dehydroepiandrosterone and its sulfated derivative reduce neuronal death and enhance astrocytic differentiation in brain cell cultures. *J. Neurosci. Res.* 1987; 17:225-234.
- ³⁶¹ Fotuhi M, Hachinski V, Whitehouse PJ. Changing perspectives regarding late-life dementia. *Nat Rev Neurol.* 2009; 5(12):649-58. DOI:10.1038/nrneurol.2009.175.
- ³⁶² Purves WK, Sadava D, Orians GH, Heller HC. *Life: The Science of Biology.* Massachusetts: Sinauer Associates. 2001; 6:719. ISBN 0-7167-3873-2.
- ³⁶³ Li J, Savransky V, Nanayakkara A, Smith PL, O'Donnell CP, Polotsky VY. Hyperlipidemia and lipid peroxidation are dependent on the severity of chronic intermittent hypoxia. *J Appl Physiol.* 2007;102(2):557-63.
- ³⁶⁴ Belanger A, Candas B, Dupont A, Cusan L, Diamond P, Gomez JL, Labrie F. Changes in serum concentrations of conjugated and unconjugated steroids in 40- to 80-year-old men. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1086-1090.
- ³⁶⁵ Labrie F, Belanger A, Cusan L, Gomez JL, Candas B. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:2396-2402.

-
- ³⁶⁶ Morley JE, Kaiser F, Raum WJ, Perry HM III, Flood JF, Jensen J, Silver AJ, Roberts E. Potentially predictive and manipulable blood sérum correlates of aging in the healthy human male: Progressive decreases in bioavailable testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and the ratio of insulin-like growth factor 1 to growth hormone. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94:7537-7542.
- ³⁶⁷ Havlikova H, Hill M, Hampl R, Starka L. Sex- and age-related changes in epitestosterone in relation to pregnenolone sulfate and testosterone in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:2225-2231.
- ³⁶⁸ Labrie F. Intracrinology. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 78:C113-C118.
- ³⁶⁹ Ait-Chaoui A, Rakotondrazafy J, Brudieux R. Age-related changes in plasma corticosterone and aldosterone responses to exogenous ACTH in the rat. *Horm Res*. 1995; 43:181-187.
- ³⁷⁰ Maki T. Age-related changes in secretion of adrenocortical steroid hormones in normal healthy men. *Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi*. 1986; 62:672-682.
- ³⁷¹ Terence J. Mckenna, and Ronald D. Brown. Pregnenolone in Man: Plasma Levels in States of Normal and Abnormal Steroidogenesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1974; 38(3):480–485. DOI: 10.1210/jcem-38-3-480
- ³⁷² Kuzina IN, Kilikovskii VV, Smirnova OV. Age-related changes in blood concentration of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones, their central and peripheral regulators in healthy men. *Fiziol Cheloveka*. 2010; 36(5):101-9.
- ³⁷³ Bicikova M, Hill M, Ripova D, Mohr P, Hampl R. Determination of steroid metabolome as a possible tool for laboratory diagnosis of schizophrenia. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*. 2013; 133:77–83.
- ³⁷⁴ Naylor JC, Hulette CM, Steffens DC, Shampine LJ, Ervin JF, Payne VM, Massing MW, Kilts JD, Strauss JL, Calhoun PS, Calnaido RP, Blazer DG, Lieberman JA, Madison RD, Marx CE. Cerebrospinal fluid dehydroepiandrosterone levels are correlated with brain dehydroepiandrosterone levels, elevated in Alzheimer's disease, and related to neuropathological disease stage. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:3173–3178.

ARTIGO

**Influence of Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Sndrome on the Serum
Levels of Pregnenolone in Adults with Uncontrolled Hypertension:
HYPNOS Cross-sectional Study.**

Camila Gosenheimer Righi PhD^{1*}, Denis Martinez, MD, PhD²

¹ Graduate Program in Cardiology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

² Division of Cardiology, Hypertension and Sleep Clinics, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazi

*Corresponding Author: Camila Gosenheimer Righi. ORCID: 0000-0002-2441-3438. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Division of Cardiology; Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, RS. Zip code: 90035-903. Phone number: +55(51)30222282. E-mail: righicg@gmail.com

Authors declare no conflicts of interest regarding this paper.

Source of Financial: This paper was supported by the Research Incentive Fund of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA-FIPE) and the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

ABSTRACT

Background: Obstructive sleep apnea (OSA) and hypertension affect hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis activity. OSA is linked to changes in steroids which are synthesized from pregnenolone, the first hormone produced from cholesterol. HPA activity affects pregnenolone levels. We aim to evaluate this potential OSA-Pregnenolone association.

Methods: This cross-sectional study compares pregnenolone levels through severity OSA-groups with uncontrolled hypertension. Inclusion criteria for both men/women were ages, respectively, from 35/50 to 65 years old, with body mass index (BMI) ≤ 40 kg/m². Blood was collected among 7-10 a.m. and was analyzed by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Home portable polygraphy and ambulatory blood pressure monitoring were performed. Respectively, apnea-hypopnea indexes of (AHI) ≥ 15 /AHI > 30 were considered moderate/severe OSA.

Findings: Consecutively, were selected 30 participants from the sampling frame, who 8(27%) showed resistant hypertension, 25(83%) were males, 10(33%) had moderate-OSA and 20(67%), severe-OSA. The whole sample was aged around 54 ± 7 years and presented mean AHI around 39 ± 16 events per hour, mean pregnenolone of 6.1 ± 3.2 nmol/l, and mean BMI roughly 31.7 ± 3.9 kg/m². Pregnenolone levels showed a difference of 2.1 ± 2.0 nmol/l between groups with moderate (4.7 ± 1.4) and severe OSA (6.8 ± 1.4), $P=0.024$. Pregnenolone retains the same difference between OSA-groups in the final backward stepwise analysis, $P=0.031$. Similarly, both variables, depression diagnosis and anxiety retained significance at final multivariate analysis. Variables excluded from the backward stepwise model were diabetes mellitus, licit drugs, the cognition aspect of recall, altered prospective memory, age, BMI, sex, and drugs that changes pregnenolone.

Interpretation: Pregnenolone levels increase concurrently with OSA-severity in individuals with uncontrolled hypertension. This association remains significance after adjustment. These findings warrant interventional studies to confirm them.

Keywords: Obstructive Sleep Apnea– OSA - Hypertension – Steroids – Pregnenolone

RATIONALE

OSA preceding¹or exacerbating hypertension,² and is the most common secondary cause of hypertension.^{3,4,5} OSA may potentiate the adverse cardiovascular effects on hypertensives individuals but not normotensives.⁶ Prevalence of obstructive sleep apnea (OSA) is roughly 30% in general population aged between 30 and 75 years^{7,8} with even higher estimates in the presence of hypertension.⁹ In individuals with resistant hypertension, considering all OSA-severity degrees the prevalence are approximately 70%^{3,12} varying from 56%^{10,11} to 90%,^{13,12,13,13,14} and around 83% have unrecognized OSA.¹⁵ Optimal CPAP therapy reduced aldosterone excretion in patients with uncontrolled resistant hypertension may suggesting possible improvement in cardiovascular outcomes in these in OSA-resistant hypertension.¹⁶ Taken together these evidences, hypertension and OSA co-exists just by chance.¹⁷

Both hypertension^{18,19,20,21,22}and OSA^{23,24,25} are linked to altered activity of the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis. Untreated OSA is a risk factor for HPA axis hyperactivity compared to treated individuals.²⁶ Hippocampus is essential for regulation of the HPA axis, although is structurally altered in individuals with OSA.^{27,28} HPA directly affect endocrine system,²⁹ and are linked to lipid metabolism changes in humans^{30,31,32} and animal models.^{33,34} Similarly to the HPA axis, OSA is consistently linked to altered steroid levels,^{35,36,37,38,39,40,41,42,35} as estrogens,⁴³ progestogens⁴⁴ and androgens,^{45,46,47,48} and independently associated with dysregulated lipid profiles.^{51,49,50,51,52,53} even in the absence of obesity⁵⁴ by the severity hypoxia mechanism.^{54,55} Even though the mechanisms of OSA are studied in various steroid hormones, remain knowledge gaps related to clinical consequences of OSA on the steroid pregnenolone.

Pregnenolone is the first steroid synthesized from different sources of cholesterol and sequentially converted in all other steroids.^{59,56,57} The

metabolism of pregnenolone are changed^{58,59} with HPA axis activation.⁶⁰ Equally HPA axis and OSA, pregnenolone are related to lipid metabolism showing high levels in excessive cholesterol amounts,^{61,62} and low levels in impaired lipid absorption.¹⁸³ Its micromolar concentrations activate specific mechanisms avoiding cholesterol oxidation products.^{61,63,64} In addition, pregnenolone imbalance are linked to brain-related disorders,^{59,65} which is a consequence of OSA.⁶⁶ Animal studies shows that intermittent hypoxia leads to an increase in pregnenolone levels.^{67,68} However, studies on its levels among different physiological and pathological conditions remain insufficient.⁵⁹ It is biologically plausible, therefore, that OSA exerts an effect on pregnenolone levels or, at least an incremental effect. This scenario raises the aim of this study that is to evaluate potential association between OSA severity and pregnenolone levels.

METHODS

This manuscript follows the *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement* recommendations (STROBE).

Study Design and Setting

This cross-sectional study selected consecutively participants from the sleep clinic sampling frame.

Participants

All individuals who consented with the anonymous use of their clinical data were screened for eligibility in the electronic database. In this stage, the evaluated criteria were the presence of obstructive sleep apnea (OSA) with non-controlled hypertension in use at list one antihypertensive agent and, body mass index lower than 40 kg/m². Additionally, male sex aged between 35-65 years and, female sex aged between 50-65 years. Afterward, individuals were invited by telephone to participate in consultation for informed consent procedure. All

participants that accept to participate in the study were evaluated for exclusion criteria as heart failure, ejection fraction lower than 45%, secondary hypertension, chronic kidney disease or creatinine greater than 2 mg/dl, acute myocardial infarction, OSA treatment and, current hormonal therapy.

Thereafter, participants returned to the clinical research center of the hospital for orientations to perform a home sleep apnea testing and ambulatory blood pressure monitoring (ABPM). If confirmed eligibility of a moderate apnea-hypopnea index ($AHI \geq 15$ events per hour) and non-controlled systolic or diastolic BP in the ABPM of 24 hours or day or night the blood sample were collected. In addition, results in the home sleep apnea testing as central apnea and, a pattern of Cheyne–Stokes respiration were excluded.

Variables

Outcome

The dependent variable, pregnenolone is presented in units of nanomoles per liter (nmol/L). Blood sample, after an overnight fast, was obtained at a single time point between 7-10 hours a.m. The analysis of serum pregnenolone was carried out at the hospital lab by professionals with expertise independent of the study, using standard lab techniques. The blood samples were centrifuged in plastic tubes for 10 minutes at 4500 rotations per minute at four degrees Celsius ($^{\circ}\text{C}$) and stored at -80°C until the sampling completion. All stored blood samples were analyzed simultaneously using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kit of pregnenolone-specific monoclonal antibodies (ABNOVA-KA1912). The lowest limit of hormone detection was 0.1 nanogram per milliliter.

Exposition

The independent variable was the apnea-hypopnea index (AHI) evaluated by validated portable respiratory polygraphy (Embletta Gold; ResMed, Kanata, Ontario, Canada)⁶⁹. The home sleep apnea testing included nasal airflow, pulse oximetry, and inductive plethysmography for assessment of abdominal and thoracic effort. The sleep records were manually analyzed based on the American Academy of Sleep Medicine guideline⁷⁰ by a single sleep technician independent of the study. The portable polygraphy was repeated if a technical problem occurred. The AHI was calculated dividing the total number of apnea-hypopnea events by the artefact-free recording time, expressed in events per hour. The participants were divided in two AHI groups, categorized as below (non-OSA group) and above 10 events per hour (OSA group).

Ambulatory BP monitoring is recommended as the diagnostic strategy of choice for most adults in primary care settings regardless of initial screening results and was performed in all subjects.⁷¹ According European Society of Cardiology and Hypertension⁷² definitions uncontrolled BP was detected by systolic and diastolic BP above recommended targets, ≥ 140 mmHg and/or ≥ 90 mmHg during BP-office measurements. These inadequate BP-control when confirmed by ABPM define sustained uncontrolled-BP.⁷² Sustained uncontrolled-BP in addition to a prescription of at least three drugs at adequate doses, including a diuretic,¹² with good adherence to drugs define resistant hypertension.⁷² ABPM altered was identified by one or more BP-parameters of the following time periods: 24 hours: $\geq 130/80$ mm Hg, daytime: $\geq 135/85$ mm Hg or/and, during the night: $\geq 120/70$ mm Hg.^{72,73} Masked uncontrolled hypertension was considered when the office BP was controlled, but elevated according to ABPM measurements.^{72,74} Ambulatory BP monitoring results were considered invalid and excluded if the percentage of unsuccessful readings were more than 30%.⁷²

Pill-counting of the BP-lowering agents were made to assess adherence before performing the ambulatory blood pressure monitoring (ABPM). Pill-

counting was based on measures of the number of pills that patients brought to the consultation and the number of pills that should be returned after combining the interval between consultations, usually every 7 days. This pill-counting taking into account any surplus medication from previous prescriptions in order to determine the baseline number of pills. Thus, adherence to BP-lowering drugs >80% was considered as the threshold of good adherence.⁷⁵

Confounders

Mini-Mental State Examination (MMSE)⁷⁶ scale was used to screen cognitive difficulties suggestive of dementia. Score higher than 23 points was considered a decrease in overall cognitive function. In a meta-analysis study was suggest a cutoff score of 23 points as the optimal level to detect dementia for the overall sample with a sensitivity of 86% and specificity of 83%.⁷⁷

The Hospital Anxiety and Depression (HAD)⁷⁸ scale is composed of a total of 14 questions with multiple choice and four response alternatives ranging from zero, no symptoms, up to three for the severe symptom. The scale is separated in two subscales with seven questions each ranging from zero to 21 points to detect symptoms of depression and anxiety during the last week. The original work⁷⁸ recommends a score of 11 or more for each subscale (HAD \geq 11 points) indicating definite cases of depression or anxiety.

Prospective and Retrospective Memory Questionnaire (PRMQ)⁷⁹ was used to assess the frequency that happen prospective and retrospective memory failures reflecting aspects of short and long-term memory. PRMQ scale was composed by sixteen items rating on a Likert scale from very often (5) to never (1) that considers together prospective and retrospective aspects of memory resulting in total scores ranging from 16 to 80 points.

PRMQ subscales consists by separately aspects of the prospective and retrospective memory, each one with eight items scored from 8 to 40 points. Higher scores in the PRMQ scale or in the subscales indicate a higher incidence of memory failures. Cutoffs suggestive of memory problems in the global PRMQ scale, and in the retrospective and prospective memory subscales were considered, respectively, ≥ 32 , ≥ 19 and ≥ 17 based on work of Hsu and colleagues.⁸⁰

The *CAGE* questionnaire was used to diagnosis of alcoholism from detection of excessive alcohol consumption or dependence.⁸¹ *CAGE* is an acronym focused in the four simple questions about 1) Cutting down, 2) Annoyance by criticism, 3) Guilty feelings, and 4) Eye-openers. The correspond questions are ⁸² "Have you ever 1) felt the need to *cut down* your drinking; 2) felt *annoyed by criticism* of your drinking; 3) had *guilty feelings* about drinking; and 4) had a *drink first thing in the morning* for calm down or to get rid of a hangover?" Dependence of alcohol was defined as those scoring higher than 1 point on the questionnaire ($CAGE \geq 2$).

One observer carried out all anthropometry measurements, in the morning taken directly over the skin with the subject standing. Body mass index (BMI) was calculated as the weight (kg) divided by the square of the height (m). Waist circumference (cm) was taken with a tape measure under the midline of the participant's armpit, at the midpoint between the inferior margin the last rib and the crest of the ilium (top of the hip bone).⁸³ Hip circumference (cm) was measured at the maximum circumference over the buttocks. Waist-to-hip ratio was calculated from the measurements of the waist divided by the hip.

Menopause period including peri and post menopause were confirmed by criteria of self-report of amenorrhea for at least 60 days without hormonal contraception.⁸⁴ Other confounders as skin color, current smoking, diagnoses of diabetes mellitus and depression were self-reported by participants, in addition to checking medications during the clinical interview.

Sample Size

The sample size calculation was computed using G*Power software version 3.1⁸⁵ by t-test for independent groups with a P alpha of 5% and power of 80%. The suitable number of participants to detect a pregnenolone difference of 1.0 nmol/l \pm 1.0 standard deviation between individuals with moderate and severe obstructive sleep apnea was a total sample of 34 participants, 17 in each group.

Statistical Methods

The data were computed and analyzed using SPSS software (PASW Statistics for Windows, Version 18.0, Chicago: SPSS Inc.). Continuous variables were presented by mean number plus or minus standard deviation (\pm SD) with mean and minimum to maximum values or 95% confidence intervals (CI). The categorical variables were showed in number and percentage. Statistical tests as chi-square, Student's t, Mann-Whitney U test was used based on variable type. Binary Logistic and Linear Regression was used by Generalized Linear Model (GzLM) for univariate and multivariate analysis. Assumptions of the residual normality and suitable goodness of fit were observed. Significant results are considered with Bonferroni P-values <0.05 .

Regressors of the multivariate model were selected based on theory-driven and on potential confounders associated with pregnenolone with $P < 0.10$ assessed by univariate analysis⁸⁶ Theory-driven allow anticipate the variables that was included in multivariate model as age,⁸⁷ BMI⁸⁸ and gender⁸⁹ which were reported as important variables for plasma steroid reference intervals. Secondarily, were included variables that mediate variability^{88,90,91,92} on the pregnenolone levels consistently reported as those health-related lifestyle factors⁸⁸ including alcohol consumption,⁹³ use of tobacco^{94,95} and chronic illness as diabetes

mellitus.^{96,97} Lastly, was included the waist/hip circumference ratio as a predictor of dysregulated HPA activity.⁹⁸

Variance inflation factor (VIF) test was applied to identify collinearity between regressors, if there are collinear variables, they were withdrawals until to obtain a suitable model with $VIF < 2$. Thereafter, was used the backward stepwise model to arrive at final model. Estimates of the effect size were performed by G*Power software⁸⁵ and by an Excel-based effect size calculator⁹⁹, which provide additionally the confidence intervals.

RESULTS

Patients

A total of 414 patients from clinic sampling frame were consecutively assessed for eligibility through an electronic database. Two hundred and seventy-nine participants with initial eligibility criteria were invited, and among them 188 accepted the invitation. At clinical interview were identified 158 participants without criteria and 32 individuals without ambulatorial BP monitoring. Sample included was composed of 30 individuals (Figure 1), who 10 (33%) subjects show moderate-OSA and 20 (67%) show severe-OSA (Table 1).

Table 1 provides characteristics of the whole sample, who 5 (17%) were females equally distributed between OSA-groups with a higher proportion of white skin color, 4 (13%) had black skin color, and one person declares to have brown skin color. All subjects were aged around 54 ± 7 years with a mean of BMI 31.7 ± 3.9 kg/m² and mean of AHI 39 ± 16 events per hour. Pregnenolone shows a total mean of 6.1 ± 3.2 nmol/l. Neck circumference shows significant high measures in severe OSA than in moderate OSA. Although the variables current use of tobacco, excessive alcohol use, beta blockers, and skin color did not present significance they were unequally distributed between groups and potentially

assumes importance because these variables according to theory-driven⁸⁶ changes pregnenolone levels, then they were considered confounders.

Clinical Data and Variables of Interest

Table 2 presents clinical data related to sleep study and ambulatorial BP monitoring. In summary, Table 2 presents variables similarly distributed between groups, except those variables strictly associated with OSA-severity. For example, the mean of oxygen saturation and awake diastolic BP, which were significantly lower in severe than moderate OSA-group. Table 3 shows variables of interest due to potential confounder between OSA-Pregnenolone. For example, anxiety, depression, memory and cognition show balanced distribution between OSA-groups.

Pregnenolone

Table 4 present variables significantly associated with pregnenolone. Pregnenolone showed significantly higher levels in severe OSA compared to moderate OSA, an effect that remained significant with the apnea-hypopnea index variable.

A significant association was identified for the predictors of OSA, BMI>30 Kg/m² and neck circumference>43 cm with pregnenolone which increased its levels. Beta blockers and current smoking increased pregnenolone levels in severe OSA respectively, (B coefficients (B) ± Standard Deviation), 0.51±0.47; P=0.026 and 0.58±0.41; P=0.004). Contrarily, antiepileptic agents and noradrenaline/dopamine reuptake inhibitors significantly decrease pregnenolone levels, P=0.011. Patients that used antiepileptics also used the antidepressant noradrenaline/dopamine reuptake inhibitors and both subjects had depression diagnosed. Depression diagnosed marginally showed a trend

to decrease pregnenolone levels, $P=0.055$. Selective serotonin reuptake inhibitors were used by six subjects and present a non-significant trend to decrease pregnenolone level, $P=0.180$. Buspirone a serotonin receptor agonist agent presented a tendency to decrease pregnenolone levels, $P=0.056$. The total of two participants used buspirone, one had depression and concomitantly used antiepileptics and noradrenaline/dopamine.

In the univariate analysis a tendency to increase pregnenolone levels with $P<0.10$ was present by both variables, prospective memory subscale ≥ 17 points from PRMQ scale and waist ≥ 88 cm for women and ≥ 102 cm for men. A similar trend with $P<0.15$ was demonstrated by the recall aspect of the cognition from scale mini-mental state examination and by the waist-to-hip ratio ≥ 0.95 for women and ≥ 1.0 for men. Inversely, a trend to decrease pregnenolone was presented by the use of medication allopurinol, $P<0.10$ by three individuals, among them, two had depression diagnoses and one under the use of beta-blockers. In addition, pregnenolone levels were not different between male (6.2 ± 3.4) and female sex (5.6 ± 1.4), $P=0.639$. Other variables recognized by affect hormones not associated with pregnenolone. Age, diabetes mellitus, metformin, and CAGE ≥ 2 presented β coefficients \pm SD (95% CI), respectively, -0.01 ± 0.02 (-0.03 to 0.02 , $P=0.560$); -0.1 ± 0.4 (-0.5 to 0.3 , $P=0.577$); -0.1 ± 0.4 (-0.4 to 0.3 , $P=0.794$) and -0.2 ± 0.5 (-0.7 to 0.3 , $P=0.348$).

Table 5 provides the results from three multivariate analysis to evaluate the effect of OSA-severity on pregnenolone levels. All model (A, B and C) were included the variables sex, skin color, diabetes mellitus, licit drugs, prospective memory (PRMQ- $P \geq 17$), depression diagnosis, anxiety subscale (HAD > 11), and medications that potentially changes pregnenolone. Differences among models were the variables age and BMI, included only in model A, which were replaced in the model B by the variable waist-to-hip ratio avoiding collinearity diagnoses among them. Model C segregated the variable licit drugs in two others, alcohol

misuse (CAGE \geq 2) and use of tobacco, in order to evaluate the specific effects of these variables, besides the replacement of age/BMI by waist-to-hip ratio.

Remarks on collinearity diagnosis are relevant for the understanding of multivariate models. Analysis of variance inflation factor (VIF) identifies collinearity by VIF estimates >2 among the variables age, BMI and waist/hip-ratio, between age and alcohol misuse, and between anxiety and depression subscales. Collinearity disappears when age and BMI were replaced by Waist-to-hip ratio leading to a sequential non-collinearity between age and alcohol misuse. Both collinearities justified our two additional multivariate models. In order to remove collinearity diagnosed between HAD subscales was chosen the anxiety subscale >11 because of its greater case detections compared to the depression subscale >11 points which will be discussed furthermore in the Discussion Section.

Since all patients with depression used antiepileptics, allopurinol, and noradrenaline/dopamine reuptake inhibitors, the variable depression diagnosis encompasses these agents. In order to avoid collinearity with the variable depression diagnoses, the variable medications that potentially changes pregnenolone includes particularly beta-blocker, serotonin receptor agonists and selective serotonin reuptake inhibitors which were used by participants without depression diagnosed. Participants with anxiety subscale >11 not used antiepileptics, allopurinol, beta-blockers, and antidepressant agents, except one subject that used buspirone a serotonin receptor agonist and self-reported depression diagnosis.

At the final backward stepwise method, for all models were withdrawals the same variables without significance counting, sex, skin color, diabetes mellitus, prospective memory (PRMQ-P \geq 17), and

medications that potentially changes pregnenolone. Additionally, were withdrawals the variables age, BMI and licit drugs from model A, the variable licit drugs from model B and the variable alcohol misuse (CAGE \geq 2) from model C.

Figure 2 presents the variables that retain significance until the final backward stepwise method with mean and 95% of the confidence intervals. Three variables were significant for all models including OSA severity, depression diagnosis and anxiety subscale >11 points. Additional variables also presented significance in model B, waist-to-hip ratio, and in model C, the use of tobacco besides the waist-to-hip ratio. Figure 3 provides the Hedges g effect size with 95% of the confidence intervals regarding the influence of the OSA and other significant variables on pregnenolone levels comparatively through the three multivariate models.

DISCUSSION

The present study is the first to explore the OSA-Pregnenolone association. OSA severity significant increases the pregnenolone levels in both non-adjusted and adjusted analysis. In all multivariate models, severe OSA effects increased of pregnenolone levels in an average of 0.34 nmol/l ranging from 0.03 to 0.6 nmol/l. This result means that pregnenolone levels significantly increase 0.1 nmol/l with each additional 10 events per hour in the AHI, ranging from 0.01 to 0.20 nmol/l also showed in the univariate analysis with P=0.032 (Table 4).

Severe OSA presented a high mean effect size of 1.0 on pregnenolone levels with lower 95% of CI limits around 0.2, and the higher limits oscillating narrowly within higher effect sizes of 1.7 to 1.8 (Figure 3). Post-hoc statistical power calculated for non-adjusted and adjusted analysis were 0.96 and 0.70 respectively. Although this study is hypothesis-generating may contribute to the knowledge leading future studies to confirm these findings. The three models

presented in Figures 2 and 3 may reflect some robustness grade to the findings regarding OSA-Pregnenolone association because results were consistently similar.

The absence of studies evaluating pregnenolone in humans with OSA limits comparisons. However, our findings on the effect of increased pregnenolone levels were found in response to simulated intermittent hypoxia are in agreement with animal studies.^{67,68} Hwang and co-authors⁶⁷ assessed in rats the influence of hypoxia on the early step of enzyme activity of steroidogenesis by zona fasciculata reticular cells incubated for 1 hour during four days. Steroidogenesis was stimulated by two substrates, 25-hydroxycholesterol, and trilostane, respectively, a membrane permeable cholesterol and an inhibitor of 3 β -hydroxysteroid-dehydrogenase. This experiment showed effects of intermittent hypoxia linked to the increased pregnenolone production compared with the normoxia group with both substrates, alone or combined. High pregnenolone levels reflected an increased activity of the steroidogenic cytochrome P450 side-chain-cleavage (P450scc) enzyme.⁶⁷ This result suggested that expressions of the *steroidogenic acute regulatory protein* (StAR) and of the enzyme P450scc were not affected by intermittent hypoxia.⁶⁷

Pimephales promelas, species of fathead fish adult females⁶⁸ were exposed to intermittent hypoxia during 7 days to evaluate the hypoxic effects *in vivo* on steroid production in ovaries. Afterward, was observed *in-silico* model the hypoxic effects on steroidogenesis. This *in-silico* model was used to computational analyses highlighted the model's ability to simulate and predict hypoxic effects on essential genes and pathways for steroid productions. They reported a comprehensive coverage network changes in genes required for steroid productions in response to hypoxia. These included genes: StAR involved with cholesterol import whit subsequent conversion to pregnenolone by P450scc gene, following conversion to 17 β -hydroxypregnenolone by P45017a1, and conversion to progesterone by 3 β -hydroxysteroid-dehydrogenases.⁶⁸

These steroid hormones were selected because represent: a) androgens as testosterone and 11-ketotestosterone, b) estrogens as 17 β -estradiol and estrone, c) corticosteroid as 11-deoxycortisol and d) progestogen as 17 α ,20 β -dihydroxypregnenone.⁶⁸ The majority of these steroids already was found altered in patients with OSA.^{35,36,39,41,42} Hypoxia effects, in day 1 lowered the steroids estrone, 17 β -hydroxy-pregnenolone, pregnenolone, 11-deoxycortisol, progesterone, 11-ketotestosterone. In days 3 and 7 these hormones increased under hypoxia, except 17 β -estradiol. In silico, day 3 under hypoxia, predicted no production for 17 β -estradiol and estrone, with no changes in production for the other steroids. Additionally, from days 1 to 7 hypoxia decreased testosterone production and increased 11-ketotestosterone, suggestion a physiological compensation trend.

Additionally, other indirect evidence supports our hypothesis. Experiment¹⁰⁰ identified that the hypoxemia was as a potent stimulant of adrenal steroidogenesis in fetal sheep during late gestation increasing the encoders of P450_{scc}, *messenger ribonucleic acids* (mRNAs).¹⁰⁰ Similar, in immortalized mouse granulosa cells¹⁰¹ exposed to hypoxic incubator at 10% oxygen (O₂) concentration increased StAR expression. This physiological responses to hypoxia was involved by the hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF1 α).¹⁰² This factor is normally rapidly degraded, binding to the hypoxia response element of target genes, initiating their expression.¹⁰² For example, adaptive responses to hypoxia potentialized the association of HIF1 α with the proximal StAR promoter region compared to the normoxic control in rats.¹⁰¹ Kowalewski and co-authors in 2010,¹⁰³ observed that StAR expression was dependent of the phosphorylation of protein kinase-A (PKA). Jiang et. al. in 2011, however identified that PKA was inhibited by very severely hypoxia conditions, contrarily to hypoxia at 10% O₂ levels in bovine corpus luteum.¹⁰⁴

In addition, five gene and steroidogenic enzymes were increased as StAR, P450_{scc}, and hydroxysteroid-dehydrogenases, subtypes 3b, 20b and 11b. Both

StAR and P450scc expressions, involved in cholesterol conversion to pregnenolone,⁶⁸ were upregulated by hypoxia which potentially explained the trend of high median and interquartile interval of the pregnenolone levels compared to normoxic controls.⁶⁸ Another study¹⁰⁵ contrarily showed downregulation also for P450scc. Additionally, only the P45019a1a gene expression, essential for the testosterone conversion to estrogens, was downregulated concomitant to lowered estrogen levels.⁶⁸ Ex vivo analysis demonstrated a dependence of reaction between 17 β ,20 β -dihydroxypregnenolone and 20 β -hydroxysteroid-dehydrogenase, evident by augmented 20 β -hydroxysteroid-dehydrogenase expression and reduced production of 17 β ,20 β -dihydroxypregnenolone. Another study¹⁰⁶ investigates a specific hippocampal area after mice underwent to simulate hypoxic through repeated exposure to carbon monoxide gas. Such experiment showed augmented neurodegeneration by pregnenolone and blocked by dehydroepiandrosterone.

Depression Diagnosis

Presence of depression diagnosis showed decreased pregnenolone levels around -0.5 ± 0.4 nmol/l with a higher effect size of -1.2 (95% CI: -0.3 to -2.3), Figure 2 and 3. The potential effect of antiepileptics and antidepressant agents may not be ruled out in subjects with a depression diagnosis. Rats exposed to a recognized model of depression induced by the forced swim test showed a significant increase of the pregnenolone levels in both plasma and brain tissue compared to the non-exposed animals, respectively, from 10.4 ± 1.9 to 14.9 ± 4.7 nmol/l, and from ng/ml to 22.1 ± 5.1 to 30.7 ± 16.4 nmol/l.¹⁰⁷ These result also was showed in women in the follicular phase suffering from the anxiety-depressive disorder and treated with fluoxetine significantly higher values of the pregnenolone levels suggesting a potential negative role in origin and course of psychiatric and neurological disorders compared to the control group.¹⁰⁸ Other study complements that

patients with unipolar major depression showed unaltered pregnenolone levels in cerebrospinal fluid after 8 to 10 weeks of treatment with fluoxetine or fluvoxamine failing to correlate with the SSRI.¹⁰⁹ Pregnenolone significantly increased in women at risk of postpartum depression compared to healthy controls showing concomitantly augmented cases of depressive and anxiety disorders with high scores in the Hamilton Depression and Anxiety Scale, Edinburgh Postnatal Depression Scale, Spielberger State-Trait Anxiety Inventory, and Sheehan Disability Scale.¹¹⁰ These findings, are in agreement with our findings because patients under drug treatment for depression showed decreased pregnenolone levels while the HAD scale and subscale showed an increase, which will be discussed in the following subsection.

Hospital Anxiety and Depression Scale

In order to remove collinearity diagnosed between HAD subscales was chosen the anxiety subscale >11 because of its greater case detections compared to the depression subscale >11 points which also showed collinearity with a depression diagnosis in patients already under antidepressants agents. Our study detected a correlation between the anxiety and depression subscales of 0.60; $P=0.001$ similarly the correlation reported by Burns and colleagues,¹¹⁵ 0.625. Based on next describe reports we used the anxiety subscale as a better screening for depression and global HAD scale to test the robustness of our findings.

Five important works investigate the HAD performance, two studies are metanalysis designs,^{111,112} one was based on ten years of systematic review¹¹³ and two are primary studies in clinical settings with samples affected by diabetes mellitus¹¹⁴ and by ischemic heart disease.¹¹⁵ All studies conclude the same about psychometric performance of HAD, presence of a strong general factor regard which means little ability to provide a good separation between anxiety and depression symptoms. Erro! Indicador não definido.,112,113,114,115 These publications consistently indicated the global HAD scale Erro! Indicador não definido.,112,114,115 and the

anxiety subscale^{Erro! Indicador não definido.,114,115} to detect clinical depression because better performed compared to the depression subscale which performed poorly.¹¹⁴ In addition chronic illnesses such as diabetes was confirmed the important idea that symptoms of anxiety may constitute a central aspect of clinical depression in serious chronic illness.¹¹¹

In this regard, should not be ignored that the HAD scale is frequently recommended to suitable detection of a unique component defined by general psychological distress.^{Erro! Indicador não definido.,112,112,114,115} General distress is the detection of the HAD scale of the shared variance between anxiety and depression symptoms. Such conditions are constantly pointed out as comorbid conditions,^{116,117} strongly connected^{118,119,120} through shared symptoms usually associated with distress among other disrupted psychological and behavioral processes.^{121,122} Thus, not only but in particular for the HAD scale is a hard task the distinction between anxiety and depression.¹¹² Clinically-relevant anxiety and depression phenotypes¹²⁸ were predicted by sleep deprivation and insomnia effects. Etiology of anxiety and depression disorders¹²³ and other several psychiatric disorders¹²⁴ were linked to abnormalities in the right amygdala¹²⁵ one of the structures affected by the chronic process of OSA reported by several studies,^{126,127} and in cases of sleep deprivations and insomnia.¹²⁸ In animals was demonstrated that corticotropin-releasing factor in the basolateral amygdala was involved in regulating sleep alterations stress-induced.¹²⁹ Altogether, previous works potentially contribute to the understanding in part the difficult to distinguish both syndromes inclusively in patients with OSA, suggesting a dual relationship.¹²⁵

In particular, highlighting the study in cardiology setting¹¹⁵ which better represent our sample and presented suggestions for the use of HAD based on an international sample of more than 6 thousand subjects of both sexes. Particularly, OSA is associated with acute and long-term consequences for heart and circulatory function³ afflicting a substantial proportion of adult men and women

but is more prevalent in those with established cardiovascular diseases. Thus, based on the sample with ischemic heart disease of Burns and coauthors¹¹⁵ we applied their recommendations for testing the robustness of our find. Remarks from such work reported that the global HAD scale, despite being a possible effective clinical tool there is lacking sufficient information about its validity. In order to confirm the measure of general psychological distress and the better detection of depression, we used, respectively, the global HAD scale and the anxiety subscale with continuous data treatment equally used in their study.

Results were maintained with the replacement of the anxiety subscale^{>11} for the global HAD scale under continuous form but now for each additional point in the score, pregnenolone levels increase 0.03 nmol/l ranging from 0.0006 to 0.05 in all models A, B and C, respectively, $P=0.046$, $P=0.013$, and $P=0.010$. Similar, when the anxiety subscale scale under continuous form was used rather than the categorical form, results were kept increasing pregnenolone levels 0.03 nmol/l at additional one point in its score ranging from 0.001 to 0.1. The results after replacement of these variables maintained not only for HAD but for variables including, mean, B coefficients and SD. Finally, activation of HPA axis plays an essential causative role in the pathogenesis of mood disorders that are often also associated with sleep disorders.^{130,131}

Tobacco Use

Patients with co-occurring depressive disorders and nicotine dependence in clinical practice are common. This observation has clinical relevance because both disorders worsen the prognosis and could be regarded as neurodegenerative disorders¹³² and present association with pregnenolone levels according to our findings which are in agreement with other studies in humans and animals. Animal studies presented that nicotine, the principal psychoactive component of tobacco, modulates the activity of the HPA axis by stimulating corticotropin-releasing hormone from the hypothalamic paraventricular

nucleus¹³³ followed by adrenocorticotrophic secretion from the pituitary and cortisol secretion by the adrenal glands.¹³⁴ Females rats, however, appear to be more sensitive to nicotine effects presenting higher hormone levels than males.¹³⁴

Similar, in humans of both sexes nicotine, modulates HPA responses.^{135,136} In men was suggested only high nicotine cigarette smoking produced dose-related effects on HPA plasma adrenocorticotrophic compared before smoking and compared to low nicotine cigarette smoking which did not differ from baseline.¹³⁵ In women, data showed a more sensitive to nicotine effects.¹³⁷

Systemic administration of nicotine doses at 0.5 to 2 mg/kg in rats were able to induce anxiogenic effects at leading a dose-time-dependent increased in the cerebral cortex and plasma concentrations of the pregnenolone.¹³⁸ The increased pregnenolone levels were probably due to the consequence of HPA axis activation in response to increased plasma corticosterone levels,¹³⁸ exactly the same factor affected in hypoxia conditions.⁶⁷ Similar dose-time-dependent were observed in the cerebral cortex and plasma concentrations of pregnenolone in rats after acute intraperitoneal administration of nicotine at doses of 0.3–2 mg/kg.¹³⁹ Chronic cigarette smoking showed in premenopausal women of both menstrual cycle increased serum pregnenolone levels compared to nonsmokers.¹⁴⁰ Several other steroids were also increased in the female's serum as androgens and progestogens but significantly estradiol levels and blunted cortisol response.¹⁴⁰ Data study clearly demonstrated a trend to hyperandrogenism with higher values of total testosterone and free testosterone among other forms and metabolites consistent.

Another study found in both sexes¹⁴¹ 40% increased levels of the conjugated pregnenolone among smokers versus nonsmokers. In males, a trend of positive correlation was found between levels of the pregnenolone and cotinine, an alkaloid found in tobacco leaves and the main metabolite of nicotine.¹⁴² Similarly,⁹⁴ were described among current smokers the increased

concentrations of conjugated pregnenolone through different pathways versus non-current smokers.^{95,143} Such findings, however, agreed with our study that was found an effect of cigarette on pregnenolone. Dependently of the BMI, a gene variant associated with increased cigarette consumption was associated with increased waist circumference. Smoking in an effort to control weight may lead to accumulation of central adiposity¹⁴⁴

Waist-to-Hip Ratio

Higher waist-to-hip ratio was associated with an increased risk of both mortality and cardiovascular disease and waist-to-hip ratio appeared to have the best predictive value among other indices as BMI and fat percentage.¹⁴⁵ Increased waist- hip ratio was an independent predictor of blood pressure levels, hyperglycemia, raised total cholesterol,¹⁴⁶ hypertension,⁶ and OSA.¹⁴⁷ AHI increased progressively with BMI ($P = 0.02$) and waist-to-hip ratio ($P = 0.03$).¹⁴⁸ High waist-to-hip ratio was associated with increased pregnenolone levels in our study and was in agreement with indirect findings that showed an association between waist-to-hip ratio and stimulation of the HPA axis activity, which may alter pregnenolone levels.

Waist-to-hip ratio present correlation with other cardiovascular risk indices as 0.6 for BMI, 0.5 for fat percentage, 0.4 for triglycerides, and -0.3 high-density lipoproteins.¹⁴⁹ These correlations have been explained by loci, a spot on a chromosome at which a gene for such characteristics is located.¹⁵⁰ Our data showed a correlation of 0.44 between waist-to-hip and BMI, $P=0.015$. Waist-to-hip ratio was independently associated with elevated total cholesterol and elevated values of the combined ratio of total cholesterol by HDL cholesterol.¹⁵¹ Such, combining to a ratio was pointed out as the most informative predictor of deaths from ischemic heart disease in both sexes.¹⁵²

Studies showing no association between waist-to-hip and OSA exists, however, this relation was not linear. Although, the relation between the risk of

dyslipidemia and OSA severity was mapped as nonlinear dose-effect in 2983 individuals presenting that the risk factors for dyslipidemia including waist-hip ratio were associated with different OSA indices.¹⁵³ Waist-hip ratio was suggested as the most reliable correlate of with apnea-hypopnea index in both sexes¹⁵⁴ and indicated as positively correlated with concentrations of multiple oxidative stress and negatively correlated with antioxidant status markers in patients with OSA.¹⁵⁵ Another study in a population of 1744 patients showed that OSA-severity were significantly correlated with higher levels of gamma glutamyl transferase (≥ 40 IU/l). Nevertheless, this association was mediated mainly by the central obesity identified by the waist-to-hip among other factors which was able to predict those altered levels.¹⁵⁶

In Spanish adolescents,¹⁵⁷ waist-to-hip ratio was able to predict the greatest number of metabolic syndrome components with an area under the curve >0.94 and correlated significantly interleukin-6 and tumor necrosis factor- α , C-reactive protein, and ceruloplasmin. In postmenopausal women, insulin resistance as well as altered blood lipids and cytokines are observed when circulating estrogen levels are high explained by concomitant variation in total adiposity.¹⁵⁸ In men waist-to-hip ratio was indicative of testosterone deficiency showed a trend of positive correlation with estradiol, $P=0.051$.¹⁵⁹ Studies including metaanalyses indicated the existence of mutual relationships between low levels of testosterone and obesity.^{160,161,162,163} The content of adipose tissue is related to the concentration of androgen in men and affects the balance between androgens and estrogens.¹⁵⁹

According to that concept, testosterone is aromatized in adipose tissue to 17- β estradiol. High expression of aromatase in adipocytes leads to a reduction in circulating testosterone, which in turn leads to an increase in the number of adipocytes and the accumulation of adipose tissue, and so a further decrease in testosterone levels. The excess aromatase activity from increased adipocyte numbers in obese men results in the suppression of gonadotrophin-mediated

testosterone secretion.^{161,162,164} Pituitary gland, reacting to an increase in estradiol concentration, inhibits the formation of testosterone in the testes. A decreased testosterone concentration leads to the accumulation of triacylglycerols in abdominal fat tissue and to visceral obesity.^{165,166} The estrogen levels in OSAHS patients were positively correlated with the patients' AHI ($r = 0.76$, $P < 0.01$), showed positively correlated trends with BMI ($r = 0.43$, $P < 0.01$), ESS ($r = 0.34$, $P < 0.01$), neck circumference ($r = 0.31$, $P = 0.01$), abdominal circumference ($r = 0.32$, $P < 0.01$).¹⁶⁷ Similar research was conducted by Seyfart T et al.,¹⁶⁸ who evaluated the association between sex hormones and anthropometry in a large population-based cohort, and found that testosterone levels were inversely associated with all relevant anthropometric parameters in men. On the other hand, a significant positive relationship between obesity and sulfated dehydroepiandrosterone was demonstrated by Turkish researchers,¹⁶⁹ similar to happened in frequent wake after sleep onset.¹⁷⁰

Disturbance of HPA axis functioning under basal and challenging conditions is related to visceral fat accumulation occurring with elevated waist-hip ratio independent of the BMI.^{171,171} Men with a high waist-to-hip ratio, in comparisons with men with a low waist-to-hip ratio, had higher insulin, glucose, and triglyceride values in the basal state and higher glucose and insulin after an oral glucose tolerance test.⁹⁸ Men with high waist-to-hip ratio had elevated diurnal adrenocorticotrophic hormone values but similar cortisol values, except lower cortisol values in the morning. They also had increased urinary excretion of catecholamine metabolites.⁹⁸ These results suggest a mild dysregulation of the HPA axis, occurring with elevated waist-to-hip ratio independent of the BMI. The results also indicate a central activation of the sympathetic nervous system, such as in the early phases of hypertension, correlating with insulin resistance.⁹⁸

Cortisol reactivity and dexamethasone suppression results were often significantly related to waist-hip ratio but not BMI. However, most studies treat BMI and abdominal adiposity similarly and do not control for one when

analyzing the relationship between HPA axis activity and the other, and the two types are often highly correlated.¹⁷² Waist-to-hip ratio was identified as a predictor of altered HPA axis functioning linked to increased cortisol levels.¹⁷³ Cortisol was independently associated with dyslipidemia ($\beta = .3$, $P = .02$) but not in controls. Elevated basal cortisol concentrations and lower circadian cortisol variability were independently associated with a less favorable lipoprotein profile in depressive and/or anxiety disorders. In part, potentially explaining the link between affective disorders and cardiovascular disease by the mediator effect of the altered activity of the HPA-axis.¹⁷⁴ Untreated OSA may result in a progressive inflammatory state,¹⁷⁵ which may be one of the mechanisms implicated in the vascular damage varying with the obesity grade.^{176,177} Estradiol may be associated with increased OSA risk in depressed women during the peri- and post-menopause, raising the possibility that estradiol withdrawal associated with menopause influences upper-airway patency in women.¹⁷⁸ OSA alters the autonomic nervous system concomitantly to the increase catecholamines.^{176,179}

Other Remarks

Diabetes mellitus

Diabetes mellitus is reported as decreasing pregnenolone levels.^{96,97} Additionally, the oral hypoglycemic agent metformin used by virtually all of the patients with diabetes has the potential to inhibit the StAR expression in human.¹⁸⁰ In our sample, with 23% of the patients having diabetes mellitus, the pregnenolone levels of these individuals showed a non-significant trend to reduced pregnenolone levels, and metformin was not associated with lower pregnenolone. Summarily, individuals with diabetes in our sample presented characteristics that previous studies or results from our own study demonstrated significantly associated with reduced pregnenolone levels. For example, among the total participants with diabetes, the majority proportion of 88% used antiepileptics, had more than 50 years of age, and anxiety less than <11 points,

and not used beta-blockers. Additionally, a higher proportion of 75% did not use tobacco with 63% showing a BMI less than 30 kg/m². All participant with diabetes presented scores in the mini-mental state examination higher than 23 and showed less than 2 points in the CAGE questionnaire. Lastly, individuals with diabetes showed a less mean AHI of 34±7 versus 41±11 events per hour compared to individuals without diabetes.

Alcohol

Pregnenolone levels in monkey plasma following administration of saline as baseline measurements were significantly decreased while cortisol levels were unaffected. Administration of Naloxone which stimulated HPA activity significantly increased pregnenolone plasma levels. The corticotropin-releasing factor which stimulates pituitary activity unchanged pregnenolone while cortisol levels were increased. Administration of dexamethasone which partial suppress the HPA axis activity showed unchanged pregnenolone plasma levels despite an 83% decrease in cortisol levels. Exogenous adrenocorticotrophic administration afterward dexamethasone HPA-suppression, reduced 43% the adrenocortical secretion of pregnenolone levels compared to the isolated effect of the dexamethasone partial HPA-suppression. Acute intragastric administration of ethanol unchanged plasma pregnenolone levels. Thus, pregnenolone and deoxycorticosterone were significant positive correlated following tests with naloxone and corticotropin-releasing factor tests, or HPA and pituitary stimulating activities. In contrast, pregnenolone and deoxycorticosterone were significantly negatively correlated after dexamethasone test, or HPA suppressed activity. These variations in correlation may be explained due to the compensatory physiological effects which under higher deoxycorticosterone lead a negative feedback on HPA diminishing or suppressing its activity with consequently increased of pregnenolone levels.

Acute alcohol administration not affected pregnenolone plasma levels, only the degree of suppression in the HPA activity in response to dexamethasone while suppressing deoxycorticosterone levels formation increased pregnenolone levels presenting correlation with subsequent increased alcohol intake. Inversely relationship between pregnenolone and deoxycorticosterone responses to dexamethasone leading to subsequently self-administration alcohol intake levels. The effect observed between pregnenolone responses and subsequent alcohol intake was unique to the dexamethasone test since no correlation was under the other challenges of the HPA axis.

In conclusion, we have shown that pregnenolone levels are increased activation of HPA axis by naloxone, but not by corticotropin-releasing factor and adrenocorticotrophic pharmacological challenges that elevate cortisol plasma levels. Corticotropin-releasing factor and adrenocorticotrophic administration decrease the ratio of plasma pregnenolone/deoxycorticosterone suggesting that these hormones increase pregnenolone metabolism.⁵⁸ Such finding, however, agreed with our study that was not found the effect of alcohol on pregnenolone and agree with the study that showed stimulated corticotropin releasing factor secretion in response to OSA effects.

Responsiveness of adrenocorticotrophic to corticotropin releasing factor administration has been shown to be higher in obese patients without OSA compared with lean subjects and to be even higher in obese patients with OSA,¹⁸¹ probably as the result of an alteration in the central control of ACTH secretion, as well as of an impaired sensitivity to the negative feedback action of glucocorticoids. In a recent study the existence of a mild hypercortisolism in OSA patients has been suggested by the finding of a blunted response of cortisol to the dexamethasone suppression test.¹⁸²

Age

Age was not associated with pregnenolone levels in any analysis model. The control for other variables, probably explaining the significant loss. For example, the effect of increased values in this steroid in response to other health conditions, as OSA. OSA increases¹⁹³ with the advancing age and pregnenolone decreases.^{183,184} The prevalence of OSA continuously increased with age in men and women with, however, later onset for women. Gender, age, body mass index, waist-to-hip ratio, snoring, alcohol consumption (for women only) and self-reported cardiovascular diseases were reported as significantly positively associated with OSA, whereas daytime sleepiness was not.¹⁸⁵ Conflicting results indicate that aging is an aggravating factor for obesity and for HPA axis abnormalities.¹⁸⁶ OSA prevalence increases with advancing age¹⁸⁷ in consonance with abnormalities of the HPA¹⁸⁸ axis and with related-aging reduction of some steroid levels.¹⁸⁹ However, the results are contrasting on the effects of age on hormones associated with the HPA axis.¹⁹⁰ In this setting, the effects of OSA may be unrecognized until now due to its effects being uncontrolled in previous works.¹⁹¹

Conflicting results indicate that aging is an aggravating factor for HPA axis abnormalities.¹⁹² However, healthy aging does not lead to increased HPA axis activity although peripheral cortisol levels attenuate with aging.¹⁹² In this context, the higher prevalence of OSA with advancing age¹⁹³ deserve scientific interest because of this condition OSA impact health quality and increases costs for the public health system.¹⁹⁴

Contrasting results demonstrate that lower pregnenolone⁶⁴ levels are a prognostic risk to dementia processes and others report that significant increases in pregnenolone¹⁹⁵ are compatible with neurodegeneration. Lower or higher pregnenolone levels may impact health, according to some results,^{183,55} but did not exist sufficient evidence until this moment in humans and in animal studies about this issue. Our work contributes with another piece in knowledge regarding possible additional effects of OSA on endocrine balance and may help

to understand from changes on steroid levels the potential disruptor effects of OSA in cardiometabolic and neurocognitive health.

Because the study population was recruited from a sleep laboratory sample, with specific clinical features, its external validity is limited. Our study achieves a reduced number of subjects, and reach a power of only 70% to suggest a significant OSA-pregnenolone association in the multivariate model and 96% in univariate analysis. The other variables that are knowingly associated with pregnenolone were significant in our sample vouching for sufficient power when the effect size is large. Due to a large number of confounders identified, future investigations should include larger samples and optimize age, sex, and OSA severity stratification including mild OSA and no-OSA subgroups. The work, however, is hypothesis-generating and provides an experimental background for confirmatory studies. Efforts to avoid potential bias were made during the conduction of the study through assessment of the outcome pregnenolone and the exposition OSA by different collaborators who were not involved with any other phase of the study. The statistical analysis was performed by another professional.

FINAL CONSIDERATIONS

The present findings provide preliminary support to the hypothesis that OSA may be associated with changes of the neurosteroid pregnenolone levels which increase concurrently with OSA-severity in men and postmenopausal women with uncontrolled hypertension. This association remains significance after adjustment. Present examination of circulating pregnenolone levels might aid our understanding of others disruption in biological processes of the OSA syndrome and how such condition contributes to another health consequences.

ADDITIONAL INFORMATION

Source of Financial support: This paper was supported by the Research Incentive Fund of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA-FIPE) and the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES). Both Institutions contributes with this work solely in a financing role.

REFERENCES

-
- ¹ Mokhlesi B, Finn LA, Hagen EW, Young T, Hla KM, Van Cauter E, Peppard PE. Obstructive sleep apnea during REM sleep and hypertension: results of the Wisconsin Sleep Cohort. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190:1158–1167. doi: 10.1164/rccm.201406-1136OC
- ² Kasai T, Floras JS, Bradley TD. Sleep apnea and cardiovascular disease: a bidirectional relationship. *Circulation*. 2012;126:1495–1510. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.070813
- ³ Floras JS. Hypertension and Sleep Apnea. *Can J Cardiol*. 2015;31(7):889-97. doi: 10.1016/j.cjca.2015.05.003.
- ⁴ Pedrosa RP, Drager LF, Gonzaga CC, et al. Obstructive sleep apnea: the most common secondary cause of hypertension associated with resistant hypertension. *Hypertension* 2011;58:811-7. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.179788.
- ⁵ Floras JS. Sleep Apnea and Cardiovascular Disease: An Enigmatic Risk Factor. *Circ Res*. 2018;122(12):1741-1764. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.310783.
- ⁶ Wang L, Cai A, Zhang J, Zhong Q, Wang R, Chen J, Zhou Y. Association of obstructive sleep apnea plus hypertension and prevalent cardiovascular diseases: A cross-sectional study. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(39):e4691. doi: 10.1097/MD.0000000000004691.
- ⁷ Heinzer R, Vat S, Marques-Vidal P, Marti-Soler H, Andries D, Tobback N, Mooser V, Preisig M, Malhotra A, Waeber G, Vollenweider P, Tafti M, Haba-Rubio J. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med*. 2015;3(4):310-8. doi:10.1016/S2213-2600(15)00043-0.
- ⁸ Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LRA. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Medicine*. 2010; 11(5):441-446.
- ⁹ Appleton SL, Vakulin A, Martin SA, Lang CJ, Wittert GA, Taylor AW, McEvoy RD, Antic NA, Catcheside PG, Adams RJ. Hypertension is associated with undiagnosed OSA during rapid eye movement sleep. *Chest*. 2016;150:495–505. doi: 10.1016/j.chest.2016.03.010
- ¹⁰ Muxfeldt ES, Margallo VS, Guimarães GM, Salles GF. Prevalence and associated factors of obstructive sleep apnea in patients with resistant hypertension. *Am J Hypertens*. 2014;27(8):1069-78. doi: 10.1093/ajh/hpu023.
- ¹¹ Drager LF, Lopes HF, Maki-Nunes C, et al. The impact of obstructive sleep apnea on metabolic and inflammatory markers in consecutive patients with metabolic syndrome. *PLoS One* 2010;5:e12065.

-
- ¹² Lloberes P, Lozano L, Sampol G, Romero O, Jurado MJ, Ríos J, Untoria MD, Tovar JL. Obstructive sleep apnoea and 24-h blood pressure in patients with resistant hypertension. *J Sleep Res.* 2010 Dec;19(4):597-602. doi: 10.1111/j.1365-2869.2010.00839.x.
- ¹³ Pratt-Ubunama MN, Nishizaka MK, Boedefeld RL, Cofield SS, Harding SM, Calhoun DA. Plasma aldosterone is related to severity of obstructive sleep apnea in subjects with resistant hypertension. *Chest.* 2007; 131(2):453-9.
- ¹⁴ Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *N Engl J Med.* 2000;342:1378–1384. doi: 10.1056/NEJM200005113421901.
- ¹⁵ Logan AG, Perlikowski SM, Mente A, Tisler A, Tkacova R, Niroumand M, Leung RS, Bradley TD. High prevalence of unrecognized sleep apnoea in drug-resistant hypertension. *J Hypertens.* 2001;19(12):2271-7.
- ¹⁶ de Souza F, Muxfeldt ES, Margallo V, Cortez AF, Cavalcanti AH, Salles GF. Effects of continuous positive airway pressure treatment on aldosterone excretion in patients with obstructive sleep apnoea and resistant hypertension: a randomized controlled trial. *J Hypertens.* 2017; 35(4):837-844. doi: 10.1097/HJH.0000000000001254.
- ¹⁷ Fuchs FD, Fuchs SC, Martinez D. Obstructive sleep apnea—Hypertension link: almost there? *J Thorac Dis* 2017;9(10):3537-3540. doi: 10.21037/jtd.2017.08.162
- ¹⁸ Malan L, Schutte CE, Alkerwi A, Stranges S, Malan NT. Hypothalamic-pituitary-adrenal-axis dysregulation and double product increases potentiate ischemic heart disease risk in a Black male cohort: the SABPA study. *Hypertens Res.* 2017 Jun;40(6):590-597. doi: 10.1038/hr.2017.5.
- ¹⁹ Daimon M, Kamba A, Murakami H, Takahashi K, Otaka H, Makita K, Yanagimachi M, Terui K, Kageyama K, Nigawara T, Sawada K, Takahashi I, Nakaji S. Association Between Pituitary-Adrenal Axis Dominance Over the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Hypertension. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(3):889-97. doi: 10.1210/jc.2015-3568.
- ²⁰ Li-Tempel T, Larra MF, Sandt E, Mériaux SB, Schote AB, Schächinger H, Muller CP, Turner JD. The cardiovascular and hypothalamus-pituitary-adrenal axis response to stress is controlled by glucocorticoid receptor sequence variants and promoter methylation. *Clin Epigenetics.* 2016;28;8:12. doi: 10.1186/s13148-016-0180-y.
- ²¹ Baudrand R, Campino C, Carvajal CA, Olivieri O, Guidi G, Faccini G, Sateler J, Cornejo J, Martin BS, Dominguez JM, Cerda J, Mosso LM, Owen GI, Kalergis AM, Fardella CE. Increased urinary glucocorticoid metabolites are associated with metabolic syndrome, hypoadiponectinemia, insulin resistance and β cell dysfunction. *Steroids.* 2011;76(14):1575-81. doi: 10.1016/j.steroids.2011.09.010.

-
- ²² Gold SM, Dziobek I, Rogers K, Bayoumy A, McHugh PF, Convit A. Hypertension and hypothalamo-pituitary-adrenal axis hyperactivity affect frontal lobe integrity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3262-7.
- ²³ Zhang Y, Xing Y, Yuan H, Gang X, Guo W, Li Z, Wang G. Impaired Glucose Metabolisms of Patients with Obstructive Sleep Apnea and Type 2 Diabetes. *J Diabetes Res.* 2018;2018:6714392. doi: 10.1155/2018/6714392.
- ²⁴ Wirtz PH, von Känel R, Emini L, Ruedisueli K, Groessbauer S, Maercker A, Ehlert U. Evidence for altered hypothalamus-pituitary-adrenal axis functioning in systemic hypertension: blunted cortisol response to awakening and lower negative feedback sensitivity. *Psychoneuroendocrinology.* 2007;32(5):430-6.
- ²⁵ Kritikou I, Basta M, Vgontzas AN, Pejovic S, Fernandez-Mendoza J, Liao D, Bixler EO, Gaines J, Chrousos GP. Sleep apnoea and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in men and women: effects of continuous positive airway pressure. *Eur Respir J.* 2016 Feb;47(2):531-40. doi: 10.1183/13993003.00319-2015.
- ²⁶ Henley DE, Russell GM, Douthwaite JA, Wood SA, Buchanan F, Gibson R, Woltersdorf WW, Catterall JR, Lightman SL. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in obstructive sleep apnea: the effect of continuous positive airway pressure therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(11):4234-42.
- ²⁷ Lourenço CF, Ledo A, Caetano M, Barbosa RM, Laranjinha J. Age-Dependent Impairment of Neurovascular and Neurometabolic Coupling in the Hippocampus. *Front Physiol.* 2018 Jul 17; 9:913.
- ²⁸ Song X, Roy B, Kang DW, et al. Altered resting-state hippocampal and caudate functional networks in patients with obstructive sleep apnea. *Brain Behav.* 2018;8:e00994
- ²⁹ Cozma S, Ghiciuc CM, Damian L, Pasquali V, Saponaro A, Lupusoru EC, Patacchioli FR, Dima-Cozma LC. Distinct activation of the sympathetic adreno-medullar system and hypothalamus pituitary adrenal axis following the caloric vestibular test in healthy subjects. *PLoS One.* 2018;13(3):e0193963. doi: 10.1371/journal.pone.0193963.
- ³⁰ Bach E, Møller AB, Jørgensen JO, Vendelbo MH, Jessen N, Pedersen SB, Nielsen TS, Møller N. Stress hormone release is a key component of the metabolic response to lipopolysaccharide: studies in hypopituitary and healthy subjects. *Eur J Endocrinol.* 2016;175(5):455-65. doi: 10.1530/EJE-16-0444.
- ³¹ Mocking RJ, Ruhé HG, Assies J, Lok A, Koeter MW, Visser I, Bockting CL, Schene AH. Relationship between the hypothalamic-pituitary-adrenal-axis and fatty acid metabolism in recurrent depression. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(9):1607-17. doi: 10.1016/j.psyneuen.2013.01.013.
- ³² Lamers F, Vogelzangs N, Merikangas KR, de Jonge P, Beekman AT, Penninx BW. Evidence for a differential role of HPA-axis function, inflammation and metabolic

syndrome in melancholic versus atypical depression. *Mol Psychiatry*. 2013;18(6):692-9. doi: 10.1038/mp.2012.144.

³³ Librán-Pérez M, Velasco C, López-Patiño MA, Míguez JM, Soengas JL. Counter-regulatory response to a fall in circulating fatty acid levels in rainbow trout. Possible involvement of the hypothalamus-pituitary-interrenal axis. *PLoS One*. 2014;9(11):e113291. doi: 10.1371/journal.pone.0113291.

³⁴ Tanaka M, Yasuoka A, Yoshinuma H, Saito Y, Asakura T, Tanabe S. Seasoning ingredients in a medium-fat diet regulate lipid metabolism in peripheral tissues via the hypothalamic-pituitary axis in growing rats. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2018;82(3):497-506. doi: 10.1080/09168451.2018.1427551.

³⁵ Balbo M, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep and its disturbances on hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity. *Int J Endocrinol*. 2010;2010:759234.

³⁶ Bozic J, Galic T, Supe-Domic D, Ivkovic N, Ticinovic Kurir T, Valic Z, Lesko J, Dogas Z. Morning cortisol levels and glucose metabolism parameters in moderate and severe obstructive sleep apnea patients. *Endocrine*. 2016;53(3):730-9. doi: 10.1007/s12020-016-0925-6.

³⁷ Kische H, Ewert R, Fietze I, Gross S, Wallaschofski H, Völzke H, Dörr M, Nauck M, Obst A, Stubbe B, Penzel T, Haring R. Sex Hormones and Sleep in Men and Women from the General Population: A Cross-Sectional Observational Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(11):3968-3977.

³⁸ Pack A.I. *Sleep Apnea: Pathogenesis, Diagnosis and Treatment*. New York, USA: Informa Healthcare; 2012.

³⁹ Bercea RM, Patacchioli FR, Ghiciuc CM, Cojocaru E, Mihaescu T. Serum testosterone and depressive symptoms in severe OSA patients. *Andrologia*. 2013;45(5):345-50. doi: 10.1111/and.12022.

⁴⁰ Kische H, Ewert R, Fietze I, Gross S, Wallaschofski H, Völzke H, Dörr M, Nauck M, Obst A, Stubbe B, Penzel T, Haring R. Sex Hormones and Sleep in Men and Women from the General Population: A Cross-Sectional Observational Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(11):3968-3977.

⁴¹ Ghiciuc CM, Dima-Cozma LC, Bercea RM, Lupusoru CE, Mihaescu T, Cozma S, Patacchioli FR. Imbalance in the diurnal salivary testosterone/cortisol ratio in men with severe obstructive sleep apnea: an observational study. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2016 Sep-Oct;82(5):529-35.

⁴² Stavaras C, Pastaka C, Papala M, et al. Sexual function in pre- and post-menopausal women with obstructive sleep apnea syndrome. *Int J Impot Res* 2012; 24: 228-33.

-
- ⁴³ Galvan T, Camuso J, Sullivan K, Kim S, White D, Redline S, Joffe H. Association of estradiol with sleep apnea in depressed perimenopausal and postmenopausal women: a preliminary study. *Menopause*. 2017;24(1):112-117. doi: 10.1097/GME.0000000000000737.
- ⁴⁴ Stavaras C, Pastaka C, Papala M, et al. Sexual function in pre- and post-menopausal women with obstructive sleep apnea syndrome. *Int J Impot Res* 2012; 24: 228-33.
- ⁴⁵ Snyder B, Cunningham RL. Sex differences in sleep apnea and comorbid neurodegenerative diseases. *Steroids*. 2017. DOI: 10.1016/j.steroids.2017.12.006.
- ⁴⁶ Pack A.I. *Sleep Apnea: Pathogenesis, Diagnosis and Treatment*. New York, USA: Informa Healthcare; 2012.
- ⁴⁷ Wittert G. The relationship between sleep disorders and testosterone in men. *Asian Journal of Andrology*. 2014;16(2):262-265. DOI:10.4103/1008-682X.122586.
- ⁴⁸ Tock L, Carneiro G, Togeiro SM, Hachul H, Pereira AZ, Tufik S, Zanella MT. Obstructive sleep apnea predisposes to nonalcoholic Fatty liver disease in patients with polycystic ovary syndrome. *Endocr Pract*. 2014;20(3):244-51. doi: 10.4158/EP12366.OR.
- ⁴⁹ Silva LOE, Guimarães TM, Luz GP, Coelho G, Badke L, Almeida IR, Millani-Carneiro A, Tufik S, Bittencourt L, Togeiro SM. Metabolic Profile in Patients with Mild Obstructive Sleep Apnea. *Metab Syndr Relat Disord*. 2018;16(1):6-12. doi: 10.1089/met.2017.0075.
- ⁵⁰ Zhu H, Xu H, Chen R, Liu S, Xia Y, Fu Y, Li X, Qian Y, Zou J, Yi H, Guan J. Smoking, obstructive sleep apnea syndrome and their combined effects on metabolic parameters: Evidence from a large cross-sectional study. *Sci Rep*. 2017;7(1):8851. doi: 10.1038/s41598-017-08930-x.
- ⁵¹ Mesarwi OA, Malhotra A. Putting It Together: Sleep Apnea, the Integrated Stress Response, and Metabolic Dysfunction. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2017;57(4):391-392. doi: 10.1165/rcmb.2017-0204ED.
- ⁵² Gu C, Younas H, Jun JC. Sleep apnea: An overlooked cause of lipotoxicity? *Med Hypotheses*. 2017; 108:161-165.
- ⁵³ Gündüz C, Basoglu OK, Hedner J, Zou D, Bonsignore MR, Hein H, Staats R, Pataka A, Barbe F, Sliwinski P, Kent BD, Pepin JL, Grote L; European Sleep Apnea Database Collaborators. Obstructive sleep apnoea independently predicts lipid levels: Data from the European Sleep Apnea Database. *Respirology*. 2018. DOI: 10.1111/resp.13372.
- ⁵⁴ Li J, Savransky V, Nanayakkara A, Smith PL, O'Donnell CP, Polotsky VY. Hyperlipidemia and lipid peroxidation are dependent on the severity of chronic intermittent hypoxia. *J Appl Physiol*. 2007; 102(2):557-63.

-
- ⁵⁵ Hwang GS, Chen CC, Chou JC, Chang LL, Kan SF, Lai WH, Lieu FK, Hu S, Wang PS, Wang SW. Stimulatory Effect of Intermittent Hypoxia on the Production of Corticosterone by Zona Fasciculata-Reticularis Cells in Rats. *Sci Rep.* 2017; 7(1):9035. DOI: 10.1038/s41598-017-07054-6.
- ⁵⁶ Giatti S, Garcia-Segura LM, Barreto GE, Melcangi RC. Neuroactive steroids, neurosteroidogenesis and sex. *Prog Neurobiol.* 2018 Jul 4. pii: S0301-0082(18)30008-X. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2018.06.007.
- ⁵⁷ Hu J, Zhang Z, Shen WJ, Azhar S. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutr Metab (Lond).* 2010;1(7):47.
- ⁵⁸ Porcu P, Rogers LS, Morrow AL, Grant KA. Plasma pregnenolone levels in cynomolgus monkeys following pharmacological challenges of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006 Aug;84(4):618-27.
- ⁵⁹ Vallée M. Neurosteroids and potential therapeutics: Focus on pregnenolone. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016; 160:78-87. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2015.09.030.
- ⁶⁰ Harno E, Gali Ramamoorthy T, Coll AP, White A. POMC: The Physiological Power of Hormone Processing. *Physiol Rev.* 2018; 98(4):2381-2430. DOI:10.1152/physrev.00024.2017.
- ⁶¹ Brinton RD. Neurosteroids as regenerative agents in the brain: therapeutic implications. *Nat Ver Endocrinol.* 2013; 9(4):241-50. DOI: 10.1038/nrendo.2013.31.
- ⁶² Brinton RD. Neurosteroids as regenerative agents in the brain: therapeutic implications. *Nat Ver Endocrinol.* 2013; 9(4):241-50. DOI: 10.1038/nrendo.2013.31.
- ⁶³ Bengtsson SK, Johansson M, Bäckström T, Wang M. Chronic allopregnanolone treatment accelerates Alzheimer's disease development in A β PP(Swe)PSEN1(Δ E9) mice. *J Alzheimers Dis.* 2012; 31(1):71-84. DOI: 10.3233/JAD-2012-120268.
- ⁶⁴ Chen, S. et al. Allopregnanolone promotes regeneration and reduces beta-amyloid burden in a preclinical model of Alzheimer's disease. *PLoS ONE.* 2011; 6, e24293.
- ⁶⁵ Moraga-Amaro R, van Waarde A, Doorduyn J, de Vries EFJ. Sex steroid hormones and brain function: PET imaging as a tool for research. *J Neuroendocrinol.* 2018;30(2). DOI: 10.1111/jne.12565.
- ⁶⁶ Pack A.I. *Sleep Apnea: Pathogenesis, Diagnosis and Treatment.* New York, USA: Informa Healthcare; 2012.
- ⁶⁷ Hwang GS, Chen CC, Chou JC, Chang LL, Kan SF, Lai WH, Lieu FK, Hu S, Wang PS, Wang SW. Stimulatory Effect of Intermittent Hypoxia on the Production of Corticosterone by Zona Fasciculata-Reticularis Cells in Rats. *Sci Rep.* 2017; 7(1):9035. DOI: 10.1038/s41598-017-07054-6.

-
- ⁶⁸ Hala D, Petersen LH, Martinovic D, Huggett DB. Constraints-based stoichiometric analysis of hypoxic stress on steroidogenesis in fathead minnows, *Pimephales promelas*. *J Exp Biol*. 2012; 215(10):1753-65. DOI: 10.1242/jeb.066027
- ⁶⁹ Ng SS, Chan TO, To KW, Ngai J, Tung A, Ko FW, Hui DS. Validation of Embletta portable diagnosis system for identifying patients with suspected obstructive sleep apnoea syndrome (OSAS). *Respirology* 2010; 15: 336–42.
- ⁷⁰ Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE, Harding SM, Marcus CL, Vaughn BV, Tangredi MM; for the American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications, Version 2.0. American Academy of Sleep Medicine, Darien, IL, 2012. Available from URL: www.aasmnet.org.
- ⁷¹ Beyhaghi H, Viera AJ. Comparative Cost-Effectiveness of Clinic, Home, or Ambulatory Blood Pressure Measurement for Hypertension Diagnosis in US Adults. *Hypertension*. 2019;73(1):121-131. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11715.
- ⁷² Bryan Williams, Giuseppe Mancia, Wilko Spiering, Enrico Agabiti Rosei, Michel Azizi, Michel Burnier, Denis L Clement, Antonio Coca, Giovanni de Simone, Anna Dominiczak, Thomas Kahan, Felix Mahfoud, Josep Redon, Luis Ruilope, Alberto Zanchetti, Mary Kerins, Sverre E Kjeldsen, Reinhold Kreutz, Stephane Laurent, Gregory Y H Lip, Richard McManus, Krzysztof Narkiewicz, Frank Ruschitzka, Roland E Schmieder, Evgeny Shlyakhto, Costas Tsioufis, Victor Aboyans, Ileana Desormais, ESC Scientific Document Group; 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension, *European Heart Journal*, 2018;39(33):3021–3104. doi:10.1093/eurheartj/ehy339
- ⁷³ O'Brien E, Parati G, Stergiou G, Asmar R, Beilin L, Bilo G, et al. European Society of Hypertension position paper on ambulatory blood pressure monitoring. *J Hypertens*. 2013;31(9):1731-68. DOI: 10.1097/HJH.0b013e328363e964.
- ⁷⁴ Banegas JR, Ruilope LM, de la Sierra A, de la Cruz JJ, Gorostidi M, Segura J, Martell N, Garcia-Puig J, Deanfield J, Williams B. High prevalence of masked uncontrolled hypertension in people with treated hypertension. *Eur Heart J* 2014;35:3304–3312.
- ⁷⁵ Karve S, Cleves MA, Helm M, Hudson TJ, West DS, Martin BC. Good and poor adherence: optimal cut-point for adherence measures using administrative claims data. *Curr Med Res Opin*. 2009;25:2303–10.
- ⁷⁶ Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975 Nov;12(3):189-98.
- ⁷⁷ Kochhann R, Varela JS, Lisboa CSM, Chaves MLF. The Mini Mental State Examination: Review of cutoff points adjusted for schooling in a large Southern Brazilian sample. *Dement Neuropsychol*. 2010;4(1):35-41. doi: 10.1590/S1980-57642010DN40100006.

-
- ⁷⁸ Zigmund, A. S. & Snaith, R. P. The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 1983;67:361 -370.
- ⁷⁹ Smith G, Della Sala S, Logie RH, Maylor EA. Prospective and retrospective memory in normal ageing and dementia: a questionnaire study. *Memory*. 2000; 8(5):311-21.
- ⁸⁰ Hsu YH, Huang CF, Tu MC, Hua MS. The clinical utility of informants' appraisals on prospective and retrospective memory in patients with early Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2014; 9(11):e112210. doi: 10.1371/journal.pone.0112210.
- ⁸¹ Ewing JA. Detecting alcoholism. The CAGE questionnaire. *JAMA*. 1984; 252(14):1905-7.
- ⁸² Mayfield D, McLeod G, Hall P. The CAGE questionnaire: validation of a new alcoholism screening instrument. *Am J Psychiatry* 1974;131:1121-3
- ⁸³ WHO STEPS Surveillance. Part 3: Data Collection. Section 5: Collecting Step 2 data: Physical Measurements, 2017. Accessed: February 2019. Available at: <https://www.who.int/ncds/surveillance/steps/manual/en/index3.html>
- ⁸⁴ Harlow SD, Gass M, Hall JE, et al. Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging. *Menopause*. 2012;19(4):387-95.
- ⁸⁵ Faul F, Erdfelder E, Lang A-G, Buchner A. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*. 2007;39:175-191.
- ⁸⁶ Ukkola O, Gagnon J, Rankinen T, Thompson PA, Hong Y, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Bouchard C. Age, body mass index, race and other determinants of steroid hormone variability: the HERITAGE Family Study. *Eur J Endocrinol*. 2001; 145(1):1-9
- ⁸⁷ Hill M, Lukác D, Lapcík O, Sulcová J, Hampl R, Pouzar V, Stárka L. Age relationships and sex differences in serum levels of pregnenolone and 17-hydroxypregnenolone in healthy subjects. *Clin Chem Lab Med*. 1999;37(4):439-47.
- ⁸⁸ Ukkola O, Gagnon J, Rankinen T, Thompson PA, Hong Y, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Bouchard C. Age, body mass index, race and other determinants of steroid hormone variability: the HERITAGE Family Study. *Eur J Endocrinol*. 2001; 145(1):1-9.
- ⁸⁹ Eisenhofer G, Peitzsch M, Kaden D, Langton K, Pamporaki C, Masjkur J, Tsatsaronis G, Mangelis A, Williams TA, Reincke M, Lenders JWM, Bornstein SR. Reference intervals for plasma concentrations of adrenal steroids measured by LC-MS/MS: Impact of

gender, age, oral contraceptives, body mass index and blood pressure status. *Clin Chim Acta*. 2017; 470:115-124. DOI: 10.1016/j.cca.2017.05.002.

⁹⁰ Meston N, Davies RJ, Mullins R, Jenkinson C, Wass JA, Stradling JR. Endocrine effects of nasal continuous positive airway pressure in male patients with obstructive sleep apnoea. *J Intern Med*. 2003; 254(5):447-54.

⁹¹ Wittert G. The relationship between sleep disorders and testosterone in men. *Asian Journal of Andrology*. 2014;16(2):262-265. DOI:10.4103/1008-682X.122586.

⁹² Barrett-Connor E, Dam TT, Stone K, Harrison SL, Redline S, Orwoll E; Osteoporotic Fractures in Men Study Group. The association of testosterone levels with overall sleep quality, sleep architecture, and sleep-disordered breathing. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93(7):2602-9. DOI: 10.1210/jc.2007-2622.

⁹³ Erol A, Ho AM, Winham SJ, Karpyak VM. Sex hormones in alcohol consumption: a systematic review of evidence. *Addict Biol*. 2017 Dec 27. DOI: 10.1111/adb.12589.

⁹⁴ Gu F, Derkach A, Freedman ND, et al. Cigarette smoking behaviour and blood metabolomics. *International Journal of Epidemiology*. 2016; 45(5):1421-1432. DOI: 10.1093/ije/dyv330.

⁹⁵ Dušková M, Simůnková K, Hill M, Velíková M, Kubátová J, Kancheva L, Kazihnitková H, Hruškovičová H, Pospíšilová H, Rác B, Salátová M, Cirmanová V, Králíková E, Stárka L, Pařízek A. Chronic cigarette smoking alters circulating sex hormones and neuroactive steroids in premenopausal women. *Physiol Res*. 2012; 61(1):97-111.

⁹⁶ Caruso D, Scurati S, Maschi O, De Angelis L, Roglio I, Giatti S, Garcia-Segura LM, Melcangi RC. Evaluation of neuroactive steroid levels by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in central and peripheral nervous system: effect of diabetes. *Neurochem Int*. 2008; 52(4-5):560-8.

⁹⁷ Romano S, Mitro N, Diviccaro S, Spezzano R, Audano M, Garcia-Segura LM, Caruso D, Melcangi RC. Short-term effects of diabetes on neurosteroidogenesis in the rat hippocampus. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017; 167:135-143. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2016.11.019.

⁹⁸ Ljung T, Holm G, Friberg P, Andersson B, Bengtsson BA, Svensson J, Dallman M, McEwen B, Björntorp P. The activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in relation to waist/hip circumference ratio in men. *Obes Res*. 2000; 8(7):487-95.

⁹⁹ DeFife, J. Effect size calculator and conversions. 2009. Emory University. Available at: <http://web.cs.dal.ca/~anwar/ds/Excel4.xlsx>

-
- ¹⁰⁰ Braems, G. A., Han, V. K. & Challis, J. R. Gestational age-dependent changes in the levels of mRNAs encoding cortisol biosynthetic enzymes and IGF-II in the adrenal gland of fetal sheep during prolonged hypoxemia. *J Endocrinol* **159**, 257–64 (1998).
- ¹⁰¹ Kowalewski MP, Gram A, Boos A. The role of hypoxia and HIF1 α in the regulation of STAR-mediated steroidogenesis in granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2015; 401:35-44. doi: 10.1016/j.mce.2014.11.023.
- ¹⁰² Semenza, G.L., 1998. Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O₂ homeostasis. *Curr. Opin. Genet.* 1998; 8:588–594.
- ¹⁰³ Kowalewski MP, Dyson MT, Boos A, Stocco DM. Vasoactive intestinal peptide (VIP)-mediated expression and function of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2010 ;328(1-2):93-103.
- ¹⁰⁴ Jiang YF, Tsui KH, Wang PH, Lin CW, Wang JY, Hsu MC, Chen YC, Chiu CH. Hypoxia regulates cell proliferation and steroidogenesis through protein kinase A signaling in bovine corpus luteum. *Anim Reprod Sci*. 2011; 129(3-4):152-61. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.12.004.
- ¹⁰⁵ Myers DA, Hyatt K, Mlynarczyk M, Bird IM, Ducsay CA. Long-term hypoxia represses the expression of key genes regulating cortisol biosynthesis in the near-term ovine fetus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005; 289(6):R1707-14.
- ¹⁰⁶ Maurice T, Phan V, Sandillon F, Urani A. Differential effect of dehydroepiandrosterone and its steroid precursor pregnenolone against the behavioural deficits in CO-exposed mice. *Eur J Pharmacol*. 2000; 390(1-2):145-55.
- ¹⁰⁷ Wang Y, Tang L, Yin W, Chen J, Leng T, Zheng X, Zhu W, Zhang H, Qiu P, Yang X, Yan G, Hu H. Simultaneous Determination of Seven Neuroactive Steroids Associated with Depression in Rat Plasma and Brain by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Anal Sci*. 2016; 32(9):981-8. doi: 10.2116/analsci.32.981.
- ¹⁰⁸ Bícíková M, Tallová J, Hill M, Krausová Z, Hampl R. Serum concentrations of some neuroactive steroids in women suffering from mixed anxiety-depressive disorder. *Neurochem Res*. 2000; 25(12):1623-7.
- ¹⁰⁹ Uzunova V, Sheline Y, Davis JM, et al. Increase in the cerebrospinal fluid content of neurosteroids in patients with unipolar major depression who are receiving fluoxetine or fluvoxamine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(6):3239-44.
- ¹¹⁰ Deligiannidis KM, Kroll-Desrosiers AR, Mo S, et al. Peripartum neuroactive steroid and γ -aminobutyric acid profiles in women at-risk for postpartum depression. *Psychoneuroendocrinology*. 2016; 70:98-107.

-
- ¹¹¹ Mitchell AJ, Meader N, Symonds P. Diagnostic validity of the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) in cancer and palliative settings: A meta-analysis. *J Affect Disord.* 2010;126(3):335-48.
- ¹¹² Norton S, Cosco T, Doyle F, Done J, Sacker A. The Hospital Anxiety and Depression Scale: A meta confirmatory factor analysis. *J Psychosom Res.* 2013;74(1):74-81.
- ¹¹³ Cosco TD, Doyle F, Ward M, McGee H. Latent structure of the Hospital Anxiety And Depression Scale: A 10-year systematic review. *J Psychosom Res.* 2012; 72(3):180-4.
- ¹¹⁴ Sultan S, Luminet O, Hartemann A. Cognitive and anxiety symptoms in screening for clinical depression in diabetes: a systematic examination of diagnostic performances of the HADS and BDI-SF. *J Affect Disord.* 2010; 123(1-3):332-6. doi: 10.1016/j.jad.2009.09.022.
- ¹¹⁵ Burns A, Höfer S, Curry P, Sexton E, Doyle F. Revisiting the dimensionality of the Hospital Anxiety and Depression Scale in an international sample of patients with ischaemic heart disease. *J Psychosom Res.* 2014; 77(2):116-21. doi: 10.1016/j.jpsychores.2014.05.005.
- ¹¹⁶ Schoevers RA, Beekman ATF, Deeg DJH, Jonker C, van Tilburg W. Comorbidity and risk-patterns of depression, generalised anxiety disorder and mixed anxiety-depression in later life: results from the AMSTEL study. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003;18:994–1001.
- ¹¹⁷ Byers AL, Yaffe K, Covinsky KE, Friedman MB, Bruce ML. High occurrence of mood and anxiety disorders among older adults: The National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 2010; 67:489-96.
- ¹¹⁸ Cramer AO, Waldorp LJ, van der Maas HL, Borsboom D. Comorbidity: a network perspective. *Behav Brain Sci.* 2010;33(2-3):137-50.
- ¹¹⁹ Price M, Legrand AC, Brier ZMF, Hébert-Dufresne L. The symptoms at the center: Examining the comorbidity of posttraumatic stress disorder, generalized anxiety disorder, and depression with network analysis. *J Psychiatr Res.* 2019; 109:52-58. doi: 10.1016/j.jpsychires.2018.11.016
- ¹²⁰ Watson D. Rethinking the mood and anxiety disorders: a quantitative hierarchical model for DSM-V. *J Abnorm Psychol* 2005;114:522-36.
- ¹²¹ Gaebel W, Zielasek J, Reed GM. Mental and behavioural disorders in the ICD-11: concepts, methodologies, and current status. *Psychiatr Pol.* 2017; 51(2):169-195. doi: 10.12740/PP/69660.
- ¹²² CID-11 for Mortality and Morbidity Statistics (ICD- 11 MMS). Mental, behavioural or neurodevelopmental disorders. 2018 version. Accessed: February, 2019. Available at: <https://icd.who.int/browse11/l-m/en#/http://id.who.int/icd/entity/334423054>

-
- ¹²³ Tahmasian M, Knight DC, Manoliu A, et al. Aberrant intrinsic connectivity of hippocampus and amygdala overlap in the fronto-insular and dorsomedial-prefrontal cortex in major depressive disorder. *Front Hum Neurosci.* 2013; 7:639. doi:10.3389/fnhum.2013.00639
- ¹²⁴ Langevin JP. The amygdala as a target for behavior surgery. *Surg Neurol Int.* 2012; 3(1):S40-6.
- ¹²⁵ Tahmasian M, Rosenzweig I, Eickhoff SB, et al. Structural and functional neural adaptations in obstructive sleep apnea: An activation likelihood estimation meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016;65:142-56.
- ¹²⁶ Fatouleh RH, Hammam E, Lundblad LC, et al. Functional and structural changes in the brain associated with the increase in muscle sympathetic nerve activity in obstructive sleep apnoea. *Neuroimage Clin.* 2014; 6:275-83. doi:10.1016/j.nicl.2014.08.021.
- ¹²⁷ Mukai T, Nagao Y, Nishioka S, Hayashi T, Shimizu S, Ono A, Sakagami Y, Watanabe S, Ueda Y, Hara M, Tokudome K, Kato R, Matsumura Y, Ohno Y. Preferential suppression of limbic Fos expression by intermittent hypoxia in obese diabetic mice. *Neurosci Res.* 2013; 77(4):202-7. doi: 10.1016/j.neures.2013.09.013.
- ¹²⁸ Klumpp H, Hosseini B, Phan KL. Self-Reported Sleep Quality Modulates Amygdala Resting-State Functional Connectivity in Anxiety and Depression. *Front Psychiatry.* 2018; 9:220. doi: 10.3389/fpsy.2018.00220.
- ¹²⁹ Wellman, L.L., Yang, L.H., Ambrozewicz, M.A., Machida, M., Sanford, L.D. Basolateral amygdala and the regulation of fear-conditioned changes in sleep: role of corticotropin-releasing factor. *Sleep* 2013; 36:471–480.
- ¹³⁰ Marcella Balbo, Rachel Leproult, and Eve Van Cauter, "Impact of Sleep and Its Disturbances on Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis Activity," *International Journal of Endocrinology*, vol. 2010, Article ID 759234, 16 pages, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/759234>.
- ¹³¹ Tomfohr LM, Edwards KM, Dimsdale JE. Is obstructive sleep apnea associated with cortisol levels? A systematic review of the research evidence. *Sleep Med Rev.* 2011;16(3):243-9.
- ¹³² Nunes SO, Vargas HO, Prado E, Barbosa DS, de Melo LP, Moylan S, Dodd S, Berk M. The shared role of oxidative stress and inflammation in major depressive disorder and nicotine dependence. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013; 37(8):1336-45. doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.04.014.
- ¹³³ Cui BR, Zhang BB, Chu CP, Cui X, Qiu DL. Nicotine excites corticotropin-releasing hormone mRNA-expressing neuron in the hypothalamic paraventricular nucleus in vitro in rats. *Neuroreport.* 2016; 27(8):580-6. doi: 10.1097/WNR.0000000000000573.

-
- ¹³⁴ Gentile NE, Andrekanić JD, Karwoski TE, Czambel RK, Rubin RT, Rhodes ME. Sexually dimorphic hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) responses to single-dose nicotine, continuous nicotine infusion, and nicotine withdrawal by mecamylamine in rats. *Brain Res Bull.* 2011; 85(3-4):145-52.
- ¹³⁵ Mendelson JH, Sholar MB, Goletiani N, Siegel AJ, Mello NK. Effects of low- and high-nicotine cigarette smoking on mood states and the HPA axis in men. *Neuropsychopharmacology.* 2005; 30(9):1751-63.
- ¹³⁶ Koopmann A, Bez J, Lemenager T, Hermann D, Dinter C, Reinhard I, Schuster R, Wiedemann K, Winterer G, Kiefer F. The Effect of Nicotine on HPA Axis Activity in Females is Modulated by the FKBP5 Genotype. *Ann Hum Genet.* 2016; 80(3):154-61. doi: 10.1111/ahg.12153.
- ¹³⁷ Chatziioannou A, Georgiadis P, Hebels DG, Liampa I, Valavanis I, Bergdahl IA, Johansson A, Palli D, Chadeau-Hyam M, Siskos AP, Keun H, Botsivali M, de Kok TM, Pérez AE, Kleinjans JC, Vineis P, Kyrtopoulos SA; EnviroGenomarkers project consortium. Blood-based omic profiling supports female susceptibility to tobacco smoke-induced cardiovascular diseases. *Sci Rep.* 2017; 7:42870. doi:10.1038/srep42870.
- ¹³⁸ Porcu P, Sogliano C, Cinus M, Purdy RH, Biggio G, Concas A. Nicotine-induced changes in cerebrocortical neuroactive steroids and plasma corticosterone concentrations in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003; 74(3):683-90.
- ¹³⁹ Concas A, Sogliano C, Porcu P, Marra C, Brundu A, Biggio G. Neurosteroids in nicotine and morphine dependence. *Psychopharmacology (Berl).* 2006; 186(3):281-92.
- ¹⁴⁰ Dušková M, Šimůnková K, Hill M, Velíková M, Kubátová J, Kancheva L, Kazihnitková H, Hruškovičová H, Pospíšilová H, Rác B, Salátová M, Cirmanová V, Králíková E, Stárka L, Pařízek A. Chronic cigarette smoking alters circulating sex hormones and neuroactive steroids in premenopausal women. *Physiol Res.* 2012; 61(1):97-111.
- ¹⁴¹ Gu F, Derkach A, Freedman ND, et al. Cigarette smoking behaviour and blood metabolomics. *Int J Epidemiol.* 2015; 45(5):1421-1432.
- ¹⁴² Marx CE, Trost WT, Shampine L, Behm FM, Giordano LA, Massing MW, Rose JE. Neuroactive steroids, negative affect, and nicotine dependence severity in male smokers. *Psychopharmacology (Berl).* 2006; 186(3):462-72.
- ¹⁴³ Neunzig J, Sanchez-Guijo A, Mosa A et al. A steroidogenic pathway for sulfonated steroids: the metabolism of pregnenolone sulfate. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 144 Pt B:324–33.
- ¹⁴⁴ Morris RW, Taylor AE, Fluharty ME, et al. Heavier smoking may lead to a relative increase in waist circumference: evidence for a causal relationship from a Mendelian

randomisation meta-analysis. The CARTA consortium. *BMJ Open*. 2015; 5(8):e008808. doi:10.1136/bmjopen-2015-008808

¹⁴⁵ Myint PK, Kwok CS, Luben RN, Wareham NJ, Khaw KT. Body fat percentage, body mass index and waist-to-hip ratio as predictors of mortality and cardiovascular disease. *Heart*. 2014; 100(20):1613-9

¹⁴⁶ Gebreyes YF, Goshu DY, Geletew TK, Argefa TG, Zemedu TG, Lemu KA, Waka FC, Mengesha AB, Degefu FS, Deghebo AD, Wubie HT, Negeri MG, Tesema TT, Tessema YG, Regassa MG, Eba GG, Beyene MG, Yesu KM, Zeleke GT, Mengistu YT, Belayneh AB. Prevalence of high bloodpressure, hyperglycemia, dyslipidemia, metabolic syndrome and their determinants in Ethiopia: Evidences from the National NCDs STEPS Survey, 2015. *PLoS One*. 2018; 13(5):e0194819.

¹⁴⁷ Kim J, Lee SJ, Choi KM, et al. Obstructive Sleep Apnea Is Associated with Elevated High Sensitivity C-Reactive Protein Levels Independent of Obesity: Korean Genome and Epidemiology Study. *PLoS One*. 2016; 11(9):e0163017. doi:10.1371/journal.pone.0163017

¹⁴⁸ Bozkurt NC, Beysel S, Karbek B, Unsal İO, Cakir E, Delibasi T. Visceral Obesity Mediates the Association Between Metabolic Syndrome and Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2016; 14(4):217-21. doi: 10.1089/met.2015.0086.

¹⁴⁹ Yeung EW, Place R, Gordish-Dressman H, Visich P, Hoffman E, Walker SO, Granger DA. Salivary latent trait cortisol (LTC): Relation to lipids, blood pressure, and body composition in middle childhood. *Psychoneuroendocrinology*. 2016; 71:110-8. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.05.013.

¹⁵⁰ Willer CJ, Schmidt EM, Sengupta S, et al. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat Genet*. 2013; 45(11):1274-1283.

¹⁵¹ Amberbir A, Singano V, Matengeni A, Ismail Z, Kawalazira G, Chan AK, Sodhi SD, van Oosterhout JJ. Dyslipidemia among rural and urban HIV patients in south-east Malawi. *PLoS One*. 2018; 13(5):e0197728.

¹⁵² Mørkedal B, Romundstad PR, Vatten LJ. Informativeness of indices of blood pressure, obesity and serum lipids in relation to ischaemic heart disease mortality: the HUNT-II study. *Eur J Epidemiol*. 2011;26(6):457-61.

¹⁵³ Guan J, Yi H, Zou J, et al. Distinct severity stages of obstructive sleep apnoea are correlated with unique dyslipidaemia: large-scale observational study. *Thorax*. 2016;71(4):347-55.

¹⁵⁴ Lim YH, Choi J, Kim KR, Shin J, Hwang KG, Ryu S, Cho SH. Sex-specific characteristics of anthropometry in patients with obstructive sleep apnea: neck circumference and waist-hip ratio. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2014; 123(7):517-23.

-
- ¹⁵⁵ Lee SD, Ju G, Choi JA, Kim JW, Yoon IY. The association of oxidative stress with central obesity in obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2012; 16(2):511-7. doi: 10.1007/s11325-011-0536-7.
- ¹⁵⁶ Sánchez-Armengol A, Villalobos-López P, Caballero-Eraso C, Carmona-Bernal C, Asensio-Cruz M, Barbé F, Capote F. Gamma glutamyl transferase and oxidative stress in obstructive sleep apnea: a study in 1744 patients. *Sleep Breath*. 2015; 19(3):883-90. doi: 10.1007/s11325-014-1115-5.
- ¹⁵⁷ Perona JS, Schmidt-RioValle J, Rueda-Medina B, Correa-Rodríguez M, González-Jiménez E. Waist circumference shows the highest predictive value for metabolic syndrome, and waist-to-hip ratio for its components, in Spanish adolescents. *Nutr Res*. 2017; 45:38-45.
- ¹⁵⁸ Marchand GB, Carreau AM, Weisnagel SJ, Bergeron J, Labrie F, Lemieux S, Tchernof A. Increased body fat mass explains the positive association between circulating estradiol and insulin resistance in postmenopausal women. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2018; 314(5):E448-E456.
- ¹⁵⁹ Rotter I, Rył A, Grzesiak K, et al. Cross-Sectional Inverse Associations of Obesity and Fat Accumulation Indicators with Testosterone in Non-Diabetic Aging Men. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(6):1207. Published 2018 Jun 8. doi:10.3390/ijerph15061207
- ¹⁶⁰ Corona, G.; Vignozzi, L.; Sforza, A.; Mannucci, E.; Maggi, M. Obesity and late-onset hypogonadism. *Mol. Cell. Endocrinol*. 2015, 418, 120–133.
- ¹⁶¹ Kelly, D.M.; Jones, T.H. Testosterone: A vascular hormone in health and disease. *J. Endocrinol*. 2013, 217, R47–R71.
- ¹⁶² Corona, G.; Monami, M.; Rastrelli, G.; Aversa, A.; Tishova, Y.; Saad, F.; Lenzi, A.; Forti, G.; Mannicci, E.; Maggi, M. Testosterone and metabolic syndrome: A meta-analysis study. *J. Sex. Med*. 2011, 8, 272–283.
- ¹⁶³ Brand, J.S.; van der Tweel, I.; Grobbee, D.E.; Emmelot-Vonk, M.H.; van der Schouw, Y.T. Testosterone, sex hormone-binding globulin and the metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int. J. Epidemiol*. 2010, 40, 189–207.
- ¹⁶⁴ Jones, T.H. Effects of testosterone on type 2 diabetes and components of the metabolic syndrome. *J. Diabetes* 2010, 2, 146–156.
- ¹⁶⁵ Kelly, D.M.; Jones, T.H. Testosterone and obesity. *Obes. Rev*. 2015, 16, 581–606.
- ¹⁶⁶ Blaya, R.; Thomaz, L.D.; Guilhermano, F.; Paludo Ade, O.; Rhoden, L.; Halmenschlager, G.; Rhoden, E.L. Total testosterone levels are correlated to metabolic syndrome components. *Aging Male* 2016, 19, 85–89.

-
- ¹⁶⁷ Liu X, Liu J, Yang X, Zhang L, Wang G. [Plasma estrogen level and estrogen receptors expression in palatine tonsils in male patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2014; 49(11):920-4.
- ¹⁶⁸ Seyfart, T.; Friedrich, N.; Kische, H.; Bülow, R.; Wallaschofski, H.; Völzke, H.; Nauck, M.; Keevil, B.G.; Haring, R. Association of sex hormones with physical, laboratory, and imaging markers of anthropometry in men and women from the general population. *PLoS ONE* 2018, 13, e0189042.
- ¹⁶⁹ Topsakal, S.; Akin, F.; Yerlikaya, E.; Erurker, T.; Dogu, H. Dehydroepiandrosterone sulfate levels in Turkish obese patients. *Eat. Weight Disord*. 2014, 19, 261–265.
- ¹⁷⁰ Hanna Kische, Ralf Ewert, Ingo Fietze, Stefan Gross, Henri Wallaschofski, Henry Völzke, Marcus Dörr, Matthias Nauck, Anne Obst, Beate Stubbe, Thomas Penzel, Robin Haring; Sex Hormones and Sleep in Men and Women From the General Population: A Cross-Sectional Observational Study, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2016; 101(11):3968–3977. doi:10.1210/jc.2016-1832
- ¹⁷¹ Rutters F, Nieuwenhuizen AG, Lemmens SG, Born JM, Westerterp-Plantenga MS. Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis functioning in relation to body fat distribution. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010; 72(6):738-43. doi: 10.1111/j.1365-2265.2009.03712.x.
- ¹⁷² Incollingo Rodriguez AC, Epel ES, White ML, Standen EC, Seckl JR, Tomiyama AJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology*. 2015; 62:301-18. doi: 10.1016/j.psyneuen.2015.08.014.
- ¹⁷³ Rutters F, Nieuwenhuizen AG, Lemmens SG, Bouwman F, Mariman E, Westerterp-Plantenga MS. Associations between anthropometrical measurements, body composition, single-nucleotide polymorphisms of the hypothalamus/pituitary/adrenal (HPA) axis and HPA axis functioning. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011; 74(6):679-86. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.03985.x.
- ¹⁷⁴ Veen G, Giltay EJ, DeRijk RH, van Vliet IM, van Pelt J, Zitman FG. Salivary cortisol, serum lipids, and adiposity in patients with depressive and anxiety disorders. *Metabolism*. 2009; 58(6):821-7. doi: 10.1016/j.metabol.2009.02.009.
- ¹⁷⁵ Baessler A, Nadeem R, Harvey M, et al. Treatment for sleep apnea by continuous positive airway pressure improves levels of inflammatory markers—a meta-analysis. *J Inflamm (Lond)*. 2013; 10:13
- ¹⁷⁶ Javaheri S, Barbe F, Campos-Rodriguez F, Dempsey JA, Khayat R, Javaheri S, Malhotra A, Martinez-Garcia MA, Mehra R, Pack AI, Polotsky VY, Redline S, Somers VK. Sleep Apnea: Types, Mechanisms, and Clinical Cardiovascular Consequences. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Feb 21;69(7):841-858. doi:10.1016/j.jacc.2016.11.069.

-
- ¹⁷⁷ Pak VM, Keenan BT, Jackson N, et al. Adhesion molecule increases in sleep apnea: beneficial effect of positive airway pressure and moderation by obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2015; 39:472–9.
- ¹⁷⁸ Galvan T, Camuso J, Sullivan K, Kim S, White D, Redline S, Joffe H. Association of estradiol with sleep apnea in depressed perimenopausal and postmenopausal women: a preliminary study. *Menopause*. 2017;24(1):112-117. doi: 10.1097/GME.0000000000000737.
- ¹⁷⁹ Kohler M, Stoewhas AC, Ayers L, et al. Effects of continuous positive airway pressure therapy withdrawal in patients with obstructive sleep apnea: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011; 184:1192–9
- ¹⁸⁰ Xu JN, Zeng C, Zhou Y, Peng C, Zhou YF, Xue Q. Metformin inhibits StAR expression in human endometriotic stromal cells via AMPK-mediated disruption of CREB-CRTC2 complex formation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Aug;99(8):2795-803. DOI: 10.1210/jc.2014-1593.
- ¹⁸¹ Carneiro G, Togeiro SM, Hayashi LF, Ribeiro-Filho FF, Ribeiro AB, Tufik S, Zanella MT. Effect of continuous positive airway pressure therapy on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and 24-h blood pressure profile in obese men with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008; 295(2):E380-4. doi: 10.1152/ajpendo.00780.2007.
- ¹⁸² Lanfranco F, Gianotti L, Pivetti S, Navone F, Rossetto R, Tassone F, Gai V, Ghigo E, Maccario M. Obese patients with obstructive sleep apnoea syndrome show a peculiar alteration of the corticotroph but not of the thyrotroph and lactotroph function. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004; 60(1):41-8.
- ¹⁸³ Vallée M. Neurosteroids and potential therapeutics: Focus on pregnenolone. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016; 160:78-87. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2015.09.030.
- ¹⁸⁴ Petrov RV, Kuzina IN, Kilikovskii VV, Smirnova OV. Age-dependent changes in the concentration of active sex steroids, their precursors, metabolites, and regulating agents in male blood. *Ontogenez*. 2009; 40(6):456-65.
- ¹⁸⁵ Fietze I, Laharnar N, Obst A, Ewert R, Felix SB, Garcia C, Gläser S, Glos M, Schmidt CO, Stubbe B, Völzke H, Zimmermann S, Penzel T. Prevalence and association analysis of obstructive sleep apnea with gender and age differences - Results of SHIP-Trend. *J Sleep Res*. 2018:e12770. doi: 10.1111/jsr.12770.
- ¹⁸⁶ Tenk J, Mátrai P, Hegyi P, Rostás I, Garami A, Szabó I, Solymár M, Pétervári E, Czimmer J, Márta K, Mikó A, Füredi N, Párniczky A, Zsiborás C, Balaskó M. In Obesity, HPA Axis Activity Does Not Increase with BMI, but Declines with Aging: A Meta-Analysis of Clinical Studies. *PLoS One*. 2016; 11(11):e0166842. DOI: 10.1371/journal.pone.0166842.

-
- ¹⁸⁷ Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LRA. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Medicine*. 2010; 11(5):441-446.
- ¹⁸⁸ Tenk J, Mátrai P, Hegyi P, Rostás I, Garami A, Szabó I, Solymár M, Pétervári E, Czimmer J, Márta K, Mikó A, Füredi N, Párniczky A, Zsiborás C, Balaskó M. In Obesity, HPA Axis Activity Does Not Increase with BMI, but Declines with Aging: A Meta-Analysis of Clinical Studies. *PLoS One*. 2016; 11(11): e0166842. DOI: 10.1371/journal.pone.0166842.
- ¹⁸⁹ Gupta D, Morley JE. Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and aging. *Compr Physiol*. 2014 Oct;4(4):1495-510. DOI: 10.1002/cphy.c130049.
- ¹⁹⁰ Steiger A. Sleep and endocrinology. *J Intern Med*. 2003;254(1):13-22.
- ¹⁹¹ SK Zaidi, WJ Shen, S Azhar. Impact of aging on steroid hormone biosynthesis and secretion *Open Longev Sci* 2012; 6:1-30
- ¹⁹² Tenk J, Mátrai P, Hegyi P, Rostás I, Garami A, Szabó I, Solymár M, Pétervári E, Czimmer J, Márta K, Mikó A, Füredi N, Párniczky A, Zsiborás C, Balaskó M. In Obesity, HPA Axis Activity Does Not Increase with BMI, but Declines with Aging: A Meta-Analysis of Clinical Studies. *PLoS One*. 2016; 11(11):e0166842. DOI: 10.1371/journal.pone.0166842.
- ¹⁹³ Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LRA. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Medicine*. 2010; 11(5):441-446.
- ¹⁹⁴ Weinstock TG, Redline S. Comparative effectiveness research in obstructive sleep apnea: bridging gaps between efficacy studies and clinical practice. *J Comp Eff Res*. 2012; 1(1):83-105. doi: 10.2217/ce.11.12.
- ¹⁹⁵ Mayo W, Le Moal M, Abrous DN. Pregnenolone sulfate and aging of cognitive functions: behavioral, neurochemical, and morphological investigations. *Horm Behav*. 2001; 40(2):215-7.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese não rejeita a hipótese de associação possível entre apneia-pregnenolona em indivíduos com hipertensão não controlada. A gravidade da apneia apresentou correlação positiva significativa com níveis séricos mais elevados de pregnenolona. A ampla busca de evidências demonstrou a ausência de informações sobre os níveis de pregnenolona e potenciais consequências para a saúde, não somente na condição da apneia obstrutiva do sono, mas para diversas outras condições. Tal lacuna do conhecimento refletiu no contexto social e de saúde populacional. Por exemplo, o uso terapêutico indevido da pregnenolona e a comercialização nacional e internacional frente às insuficientes evidências científicas sobre seus efeitos e seus níveis séricos e/ou plasmáticos em diferentes condições fisiopatológicas.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) responsável pela promoção e proteção da saúde da população, determinou por meio da Resolução 685 na data de 21 de março de 2018 a proibição da importação, fabricação, distribuição, comercialização, manipulação e uso do insumo farmacêutico, além da apreensão e inutilização de insumos e produtos que contenham pregnenolona por não ter sua eficácia terapêutica avaliada e aprovada pela agência. Finalmente, a elevada prevalência da apneia obstrutiva do sono entre indivíduos com hipertensão arterial sistêmica e resistente a anti-hipertensivos, somada ao considerável número de indivíduos com apneia subdiagnosticada demonstramos a relevância científica e social dessa pesquisa. A contribuição intelectual desse estudo, apesar de gerador de hipótese sugere a necessidade de estudos confirmatórios dos nossos achados observacionais.

ANEXO I - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

Projeto: 09-361

Pesquisador Responsável
FLAVIO DANNI FUCHS

Título: MORPHEUS - MORBIDADE EM PACIENTES HIPERTENSOS E APNÉIA OBSTRUTIVA DO SONO

	Data da Versão:
EMENDA 1	15/06/2015
TCLE	15/06/2015

Este documento referente ao projeto acima foi **APROVADO** em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 17 de julho de 2015.


 Prof. José Roberto Goldim
 Coordenador CEP/HCPA

ANEXO II - TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO: BAIRRO:

..... CIDADE CEP:

..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE:.....SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO: Morbidade em pacientes com hipertensão e apneia obstrutiva do sono – Estudo MORPHEOS.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Doutor Denis Martinez.....CRM 7262-RS

PESQUISADOR CO-RESPONSÁVEL: Doutor Flávio Danni Fuchs.....CRM 6575-RS

PESQUISADORA: Doutoranda Camila Gosenheimer Righi

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO

RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO

RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 3 anos

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

28/11/2014
nº 0936183



Rubrica do participante ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

1 – Você é portador de hipertensão arterial (pressão alta) que precisa de várias medicações. A apneia do sono é comum em pacientes com pressão alta e é mais comum nas pessoas que roncam à noite. O objetivo é pesquisar, identificar e tratar a apneia do sono em pacientes com pressão alta não controlada e verificar os efeitos do tratamento da apneia na pressão.

2 – Convido você a participar voluntariamente dessa pesquisa. Se você concordar em participar, faremos um acompanhamento mensal para verificar se você está tomando os remédios corretamente. Faremos também um exame para verificar se você tem pressão alta com um aparelho que ficará no seu braço um dia e uma noite inteira (24 horas) medindo a sua pressão. E, para verificar o seu sono, faremos 2 monitorizações do sono na mesma noite. A monitorização do sono é um exame de rotina e não dói, mas pode atrapalhar um pouco o seu sono, pois são colocados eletrodos (semelhante ao quando se faz um eletrocardiograma) para saber como é o seu sono. Esta monitorização do sono será essencial para saber se você tem a apneia do sono. Caso tiver apneia do sono faremos um “sorteio” entre dois tratamentos que vamos comparar. Um dos tratamentos é uma máscara e outro é um dilatador nasal. A máscara fica no rosto (chamada CPAP) e é ligada através de uma mangueira a um compressor de ar. O CPAP é o tratamento mais conhecido e usado para tratar a apneia do sono. O dilatador nasal parece um esparadrapo grudado no nariz que aumenta a passagem de ar pelo nariz. O tratamento sorteado terá que ser feito todas as noites durante os seis meses do estudo e terá um acompanhamento uma vez por semana no primeiro mês e depois uma vez por mês até completar 6 meses para verificar suas medicações e o seu tratamento da apneia do sono que vai ser com a máscara ou com o dilatador nasal;

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA
VERSÃO APROVADA
28/11/2014
nº 0936183



Rubrica do participante ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

3 – Para o acompanhamento faremos também 2 outros exames. O primeiro é chamado Ecocardiograma, que é um ultrassom do coração. O segundo exame é a avaliação da pressão dentro da artéria (pressão central). Você ficará sentado (a), confortavelmente, e será colocado um sensor semelhante a uma caneta no seu pulso esquerdo. A duração do exame é de aproximadamente 5 minutos. Esses exames não doem, não precisam de nenhum preparo e serão realizados no local onde você está sendo acompanhado (a);

4 – O maior desconforto será a necessidade de voltar várias vezes para fazer as monitorizações do sono e acompanhamento da pressão arterial. Não há qualquer obrigatoriedade na participação neste estudo, a qualquer momento você poderá deixar de participar, sem causar qualquer prejuízo à continuidade do seu atendimento. Os riscos dos estudos do sono são praticamente inexistentes, já que o exame do sono é amplamente utilizado e testado. Você contará com a ajuda de uma equipe médica do estudo para quaisquer esclarecimentos;

5 – Acreditamos que o tratamento da apneia do sono pode melhorar o controle da pressão arterial. Todos os pacientes terão direito de receber o melhor tratamento da apneia do sono sem qualquer custo no final dos 6 meses do estudo;

6 – No começo do estudo será necessário acessar os resultados de seus exames de sangue, que estão em prontuário e foram realizados em menos de 01 ano. Caso não tenha esse exame de sangue em menos de um ano teremos de realizá-lo. Solicitamos a sua autorização para guardar o seu sangue para que no futuro nós possamos fazer mais estudos e mais exames. Não faremos nenhum tipo de exame genético ou com DNA. Para realização deste exame serão utilizadas uma agulha e uma seringa, o que vai causar um pequeno desconforto na hora da picada. Serão retirados 20 ml de sangue do seu braço e, no final do estudo, esse exame será realizado de novo. Não divulgaremos o seu nome ou qualquer informação sobre você;

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA
VERSÃO APROVADA
28/11/2014
nº 0936183



Rubrica do participante ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

7- Você tem garantia de acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa em qualquer etapa do estudo para esclarecimento de eventuais dúvidas. O investigador principal é o Dr. Denis Martinez, que pode ser encontrado no Hospital das Clínicas de Porto Alegre, 2º andar, sala 2060, na rua Ramiro Barcelos, 2350, Bairro Bom Fim, telefone: (51)3359-8289. Também poderá entrar em contato com a pesquisadora Camila Gosenheimer Righi para sanar possíveis dúvidas, ligando para o laboratório interdisciplinar de pesquisa em sono situado na Unidade de Métodos Não-Invasivos por meio do número: (51)3359-8289. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – rua Ramiro Barcelos, 2350, sala 2227-F, telefone: (51)3359-7640 – E-mail: cephcpa@hcpa.ufrgs.br

8 – É garantida a liberdade da retirada de seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

9 – Todas as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum participante;

10 – Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Não há despesas pessoais para você em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa;

12 – O pesquisador se compromete a utilizar os dados e materiais coletados somente para fins científicos.

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA
VERSÃO APROVADA
28/11/2014
nº 0936183



Rubrica do participante ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

ASSINATURAS

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, sobre o estudo MORPHEOS – Morbidade em pacientes com hipertensão e apneia do sono. Concordo com a realização dos exames e procedimentos.

Eu discuti com os pesquisadores sobre a minha decisão em participar desse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro, também, que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo, voluntariamente, em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Data ____/____/____

Nome do participante/representante legal

Assinatura do participante/representante legal

Em casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Nome legível da testemunha

Assinatura da testemunha

Data ____/____/____

Eu expliquei o objetivo deste estudo, respondi a todas as dúvidas e fiquei segura de que o paciente entendeu o que foi explicado.

Nome do Pesquisador

Assinatura do Pesquisador

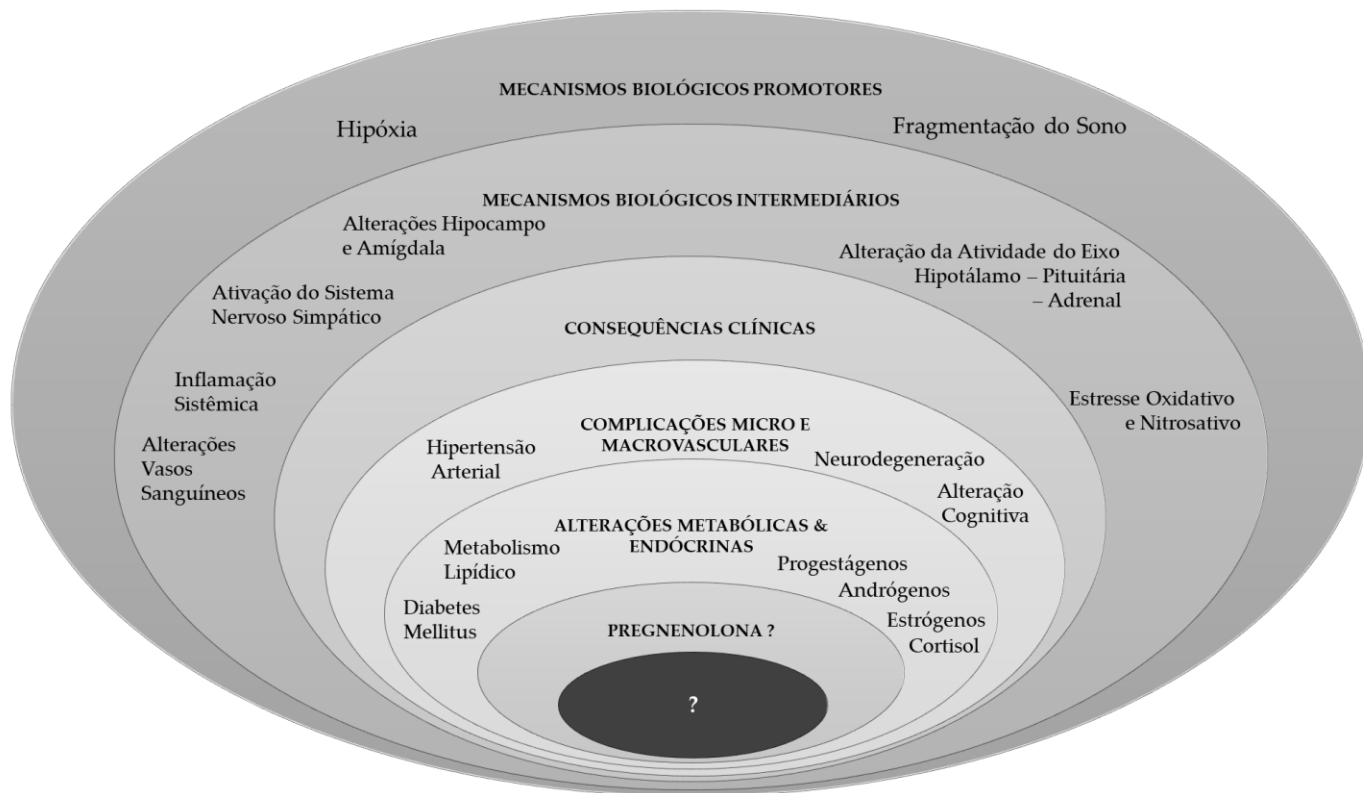
Data ____/____/____

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA
VERSÃO APROVADA
28/11/2014
nº 0936183

APÊNDICE I – MAPA CONCEITUAL

MAPA CONCEITUAL ILUSTRATIVO DA POTENCIAL ASSOCIAÇÃO APNEIA-PREGNENOLONA

Síndrome da Apneia-Hipopneia Obstrutiva do Sono



APÊNDICE II – TABELAS E FIGURAS DO ARTIGO

Table 1

Variables	Total (n=30)	Obstructive Sleep Apnea		P
		Moderate§ (n=10)	Severe§ (n=20)	
Male Sex	25 (83)	7 (70)	18 (90)	0.300
Age (years)	54± 7 [36 to 63]	54± 7 [41 to 62]	54± 8 [36 to 63]	0.865
Body Mass Index (Kg/m ²)	31.7± 3.9 [24.1 to 40.0]	31.0± 3.9 [26.4 to 38.2]	31.9± 4.0 [24.1 to 40.0]	0.581
Waist/hip ratio (cm)	1.0± 0.1 [0.9 to 1.2]	0.99± 0.05 [0.91 to 1.05]	0.99± 0.06 [0.91 to 1.17]	0.853
White Skin Color	25 (83)	9 (90)	16 (80)	0.640
Neck circumference (cm)	46± 4 [38 to 55]	44± 4 [39 to 51]	47± 4 [38 to 55]	0.034
Physical activity**	14 (47)	4 (40)	10 (50)	0.709
Excessive alcohol use (CAGE≥2)	4 (13)	3 (30)	1 (5)	0.095
Current use of tobacco	4 (13)	1 (10)	3 (15)	0.999
Diabetes Mellitus	8 (27)	4 (40)	4 (20)	0.384
Depression diagnosis	5 (17)	3 (30)	2 (10)	0.300
<i>Current Medications</i>				
Antidepressants	7 (23)	4 (40)	4 (20)	0.384
Antiepileptics	2 (7)	1 (10)	1 (5)	0.999
Metformin	7 (23)	4 (40)	3 (15)	0.181
Insulin	2 (7)	1 (10)	1 (5)	0.999
Statins	11 (37)	5 (50)	6 (30)	0.425
Allopurinol	3 (10)	2 (20)	1 (5)	0.532
Other Medications	12 (40)	5 (50)	7 (35)	0.694
Beta Blockers	5 (17)	0 (0)	5 (20)	0.140
Thiazide Diuretics	13 (43)	4 (40)	9 (45)	0.495
Other BP-lowering classes	27 (90)	8 (80)	19 (95)	0.532

Characteristics of the sample. Data are presented as number and percentage [n (%)] with mean plus-minus (±) standard deviation (SD) and minimum to maximum values [min to max]. P-values with significance are in bold type. (§) Moderate and severe obstructive sleep apnea means, respectively, apnea-hypopnea index ≥15 and >30 events per hour. (**) Physical activity at least twice a week.

Table 2

Variables	Total (n=30)	Obstructive Sleep Apnea		P
		Moderate§ (n=10)	Severe§ (n=20)	
<i>Sleep Study</i>				
Apnea-Hypopnea Index (events/hour)	39± 16 [15 to 74]	22± 5 [15 to 30]	48± 11 [36 to 74]	< 0.001
Mean Oxygen Saturation (%)	94± 2 [88 to 96]	95± 1 [93 to 97]	93± 2 [88 to 96]	0.022
Excessive Daytime Sleepiness	9 (30)	2 (20)	7 (35)	0.675
<i>Ambulatorial Blood Pressure Monitoring (mm Hg)</i>				
Adherence before ABPM	100± 7 [82 to 120]	98± 6 [82 to 101]	101± 7 [89 to 120]	0.152
<i>24 hours</i>				
Systolic	130± 11 [112 to 158]	131± 9 [112 to 142]	129± 12 [113 to 158]	0.551
Diastolic	79± 7 [66 to 92]	82± 6 [71 to 91]	78± 7 [66 to 92]	0.133
<i>Day</i>				
Systolic	133± 10 [112 to 160]	136± 8 [124 to 150]	131± 11 [112 to 160]	0.216
Diastolic	81± 7 [67 to 93]	85± 5 [78 to 91]	79± 8 [67 to 93]	0.033
<i>Night</i>				
Systolic	125± 12 [108 to 150]	124± 9 [113 to 139]	126± 13 [108 to 150]	0.628
Diastolic	73± 8 [56 to 95]	73± 10 [56 to 90]	73± 8 [61 to 95]	0.922
Resistant Hypertension	2 (7)	1 (10)	1 (5)	0.682
Masked Hypertension	12 (40)	3 (30)	9 (45)	0.694

Clinical data regard to the sleep study and ambulatory blood pressure monitoring. Data are presented as number and percentage [n (%)] with mean plus-minus (\pm) standard deviation (SD) and minimum to maximum values [min to max]. P-values with significance are in bold type. (§) Moderate and severe obstructive sleep apnea means, respectively, apnea-hypopnea index ≥ 15 and >30 events per hour.

Table 3

Variables	Total (n=30)	Obstructive Sleep Apnea		P
		Moderate§ (n=10)	Severe§ (n=20)	
<i>Mini-Mental State Examination</i>				
Global Score	26± 3 [19 to 30]	26± 2 [24 to 29]	26± 3 [19 to 30]	0.606
<i>Domains</i>				
1-Orientation	8± 3 [0 to 10]	8± 3 [0 to 10]	9± 3 [0 to 10]	0.924
2-Registration	3± 1 [1 to 9]	4± 2 [3 to 9]	3± 1 [1 to 7]	0.370
3-Attention and calculation	4± 1 [1 to 5]	4± 1 [1 to 5]	4± 1 [1 to 5]	0.199
4-Recall	2± 1 [0 to 5]	2± 1 [1 to 3]	2± 1 [1 to 5]	0.988
5-Language/ Visual construction	8± 2 [1 to 9]	8± 2 [3 to 9]	8± 2 [1 to 9]	0.910
<i>Hospital Anxiety and Depression Scale</i>				
Depression Score	6± 3 [0 to 13]	6± 3 [1 to 9]	6± 3 [0 to 13]	0.972
Depression>11	1 (3)	0 (0)	1 (5)	0.999
Anxiety Score	7± 4 [1 to 17]	8± 4 [2 to 15]	7± 4 [1 to 17]	0.479
Anxiety>11	2 (7)	1 (10)	1 (5)	0.999
Global Score	13± 6 [2 to 30]	14± 6 [4 to 24]	13± 7 [2 to 30]	0.564
Total>21	2 (7)	1 (10)	1 (5)	0.999
<i>Prospective and Retrospective Memory Questionnaire</i>				
Global Score	37± 11 [18 to 63]	39± 11 [27 to 63]	36± 11 [18 to 60]	0.427
Impaired (score ≥32)	20 (67)	7 (70)	13 (65)	0.999
Prospective Memory Score	20± 6 [10 to 33]	20± 5 [15 to 32]	19± 6 [10 to 33]	0.602
Impaired (score ≥17)	20 (67)	8 (80)	12 (60)	0.419
Retrospective Memory Score	17± 6 [8 to 31]	19± 7 [11 to 31]	17± 6 [8 to 27]	0.332
Impaired (score ≥19)	10 (33)	3 (30)	7 (35)	0.999

Variables of interest evaluated in the whole sample. Data are presented as number and percentage [n (%)] with mean plus-minus (\pm) standard deviation (SD) and minimum to maximum values [min to max]. P-values with significance are in bold type. (§) Moderate and severe obstructive sleep apnea means, respectively, apnea-hypopnea index ≥ 15 and >30 events per hour.

Table 4

Variables	n (%)	Mean± SD	Mean Diff ± SE	B coefficient ± SD	P-value
Apnea-Hypopnea Index (events/hour)				0.011± 0.01	0.032
<i>Obstructive Sleep Apnea</i>					
Moderate [§]	10 (33)	4.7± 1.4	-2.1± 1.8	-0.4± 0.3	0.024
Severe [§]	20 (67)	6.8± 1.4			
<i>Neck circumference (cm)</i>					
>43	22 (73)	6.7± 1.3	2.1± 1.8	0.4± 0.35	0.032
≤43	8 (27)	4.5± 1.6			
<i>Body Mass Index (Kg/m²)</i>					
>30	17 (57)	7.1± 1.5	2.2± 1.8	0.4± 0.3	0.017
≤30	13 (43)	4.8± 1.2			
<i>Beta Blockers- β1</i>					
Use	5 (17)	9.6± 4.5	4.2± 3.5	0.6± 0.4	0.004
Not use	25 (83)	5.4± 0.9			
<i>Current Smoking</i>					
Smokers	4 (13)	9.3± 5.5	3.7± 3.7	0.5± 0.45	0.026
Nonsmokers	26 (87)	5.6± 1.0			
<i>Antiepileptics</i>					
Use	2 (7)	2.9± 3.7	-3.5± 2.0	-0.8± 0.6	0.011
Not use	28 (93)	6.3± 1.1			
<i>Noradrenaline/Dopamine Reuptake Inhibitors</i>					
Use	2 (7)	2.9± 1.3	-3.5± 2.0	-0.8± 0.6	0.011
Not use	28 (93)	6.3± 1.1			

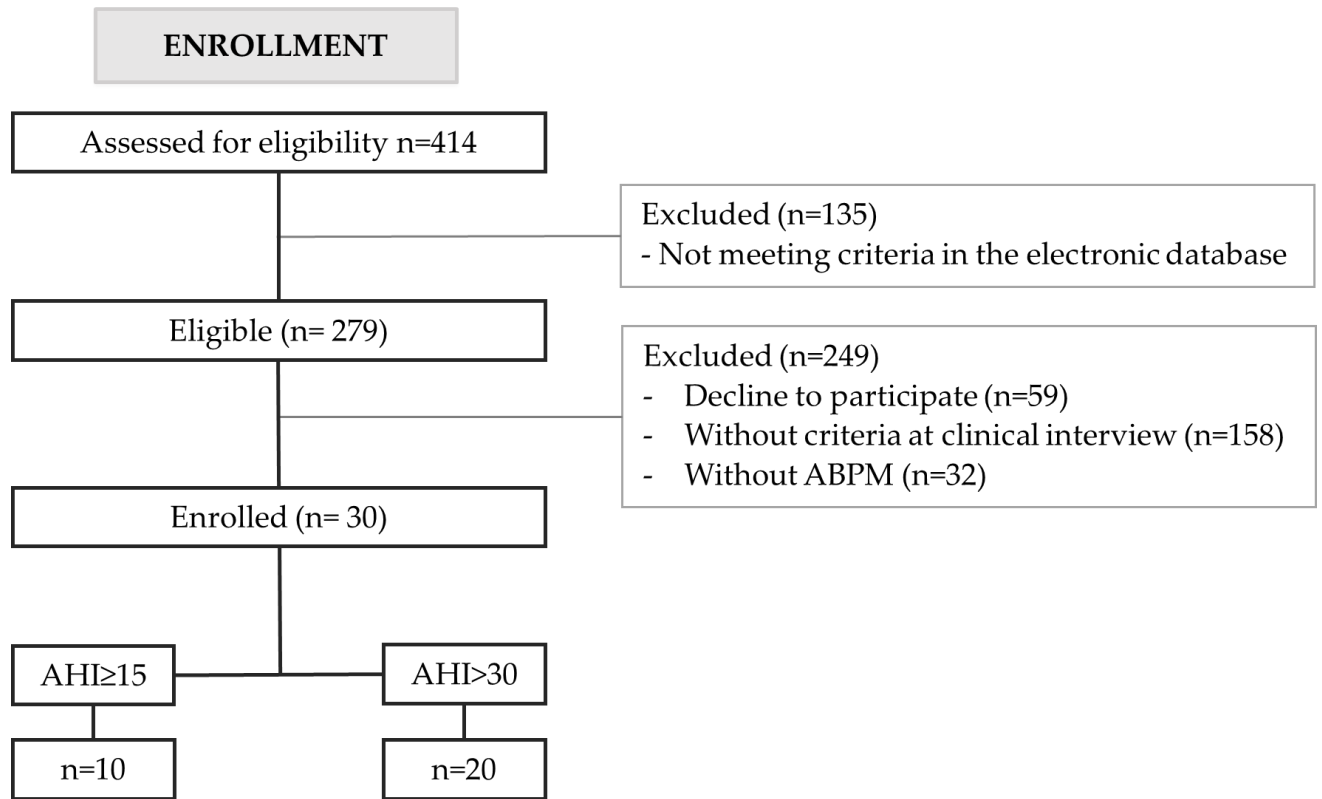
Results presented the significant variables associated with pregnenolone by univariate analysis. Data are presented as number and percentage [n (%)] and mean plus-minus (±) standard deviation (SD) with significant P-values in bold type (P<0.05). (§) Moderate and severe obstructive sleep apnea means, respectively, apnea-hypopnea index ≥15 and >30 events per hour.

Table 5

Independent Variables	Model A			Model B			Model C		
	B coefficient ± SD	Wald Chi ²	P-value	B coefficient ± SD	Wald Chi ²	P-value	B coefficient ± SD	Wald Chi ²	P-value
(Intercept)	1.6± 0.3	135.5	<0.001	1.4±0.3	88.3	<0.001	1.4± 0.3	113.4	<0.001
Obstructive Sleep Apnea§	0.34± 0.3	4.7	0.031	0.4± 0.3	6.4	0.012	0.3± 0.3	5.8	0.016
Depression Diagnosis	-0.5± 0.4	5.1	0.024	-0.5± 0.4	6.9	0.009	-0.6± 0.3	10.7	0.001
Anxiety*	0.62± 0.6	4.2	0.039	0.6± 0.5	5.4	0.020	0.7± 0.5	9.0	0.003
Waist/Hip-Ratio (cm) ≥0.95women/ ≥1.0men	-	-	-	0.3± 0.26	5.3	0.022	0.24± 0.2	4.3	0.039
Use of Tobacco	-	-	-	-	-	-	0.5± 0.3	7.9	0.005
<i>Goodness of Fit</i>	<i>0.178</i>			<i>0.158</i>			<i>0.128</i>		
<i>Significance (Omnibus Test)</i>	0.011			0.003			<0.0001		

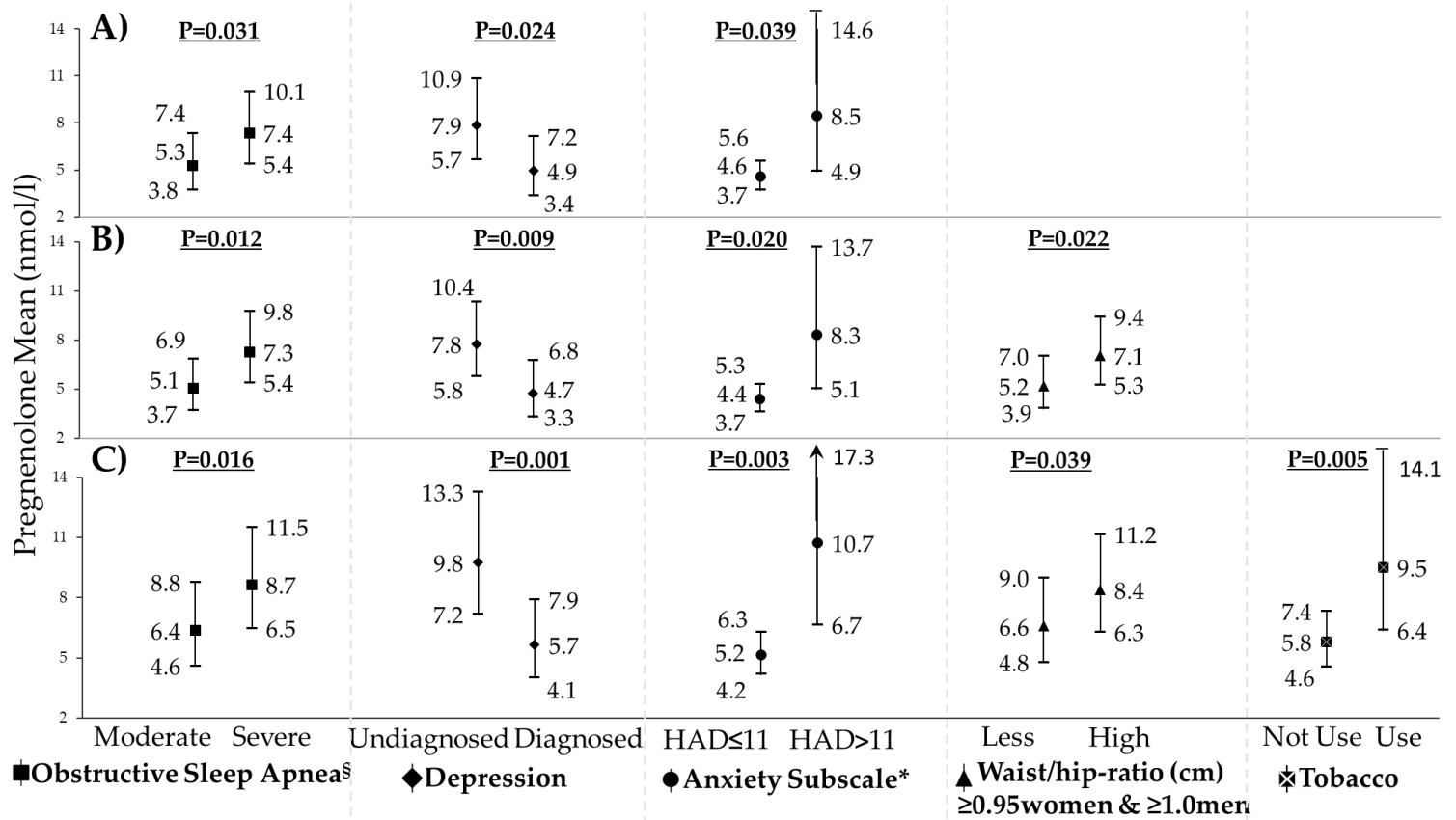
Results are given regard to the association between pregnenolone levels (nmol/L) and obstructive sleep apnea severity adjusted for covariables from three multivariate models. Data are presented as regression coefficient (B) plus-minus (±) standard deviation (SD) with significant P-values in bold type (P<0.05). Model information: Generalized Linear Model used the backward stepwise method with a gamma distribution and the log link function. Models differences: variables without significance were withdrawals from all models by the backward stepwise method counting, sex, skin color, diabetes mellitus, licit drugs, prospective memory (PRMQ-P≥17), medications that potentially changes pregnenolone, age (years), and body mass index (Kg/m²). Exceptions: Model B) is similar to the model A, however, were replaced age and BMI for waist/hip-ratio because the collinearity diagnoses and the model C) age and BMI were replaced for waist/hip-ratio and the variable licit drugs was segregated in two others: alcohol misuse (CAGE≥2) and use of tobacco. (§) Severe OSA was the reference variable compared to moderate OSA, respectively, apnea-hypopnea index ≥15 and >30 events per hour. (*) Anxiety was considered with subscale scores higher than 11 from the scale *Hospital Anxiety and Depression*.

Figure 1



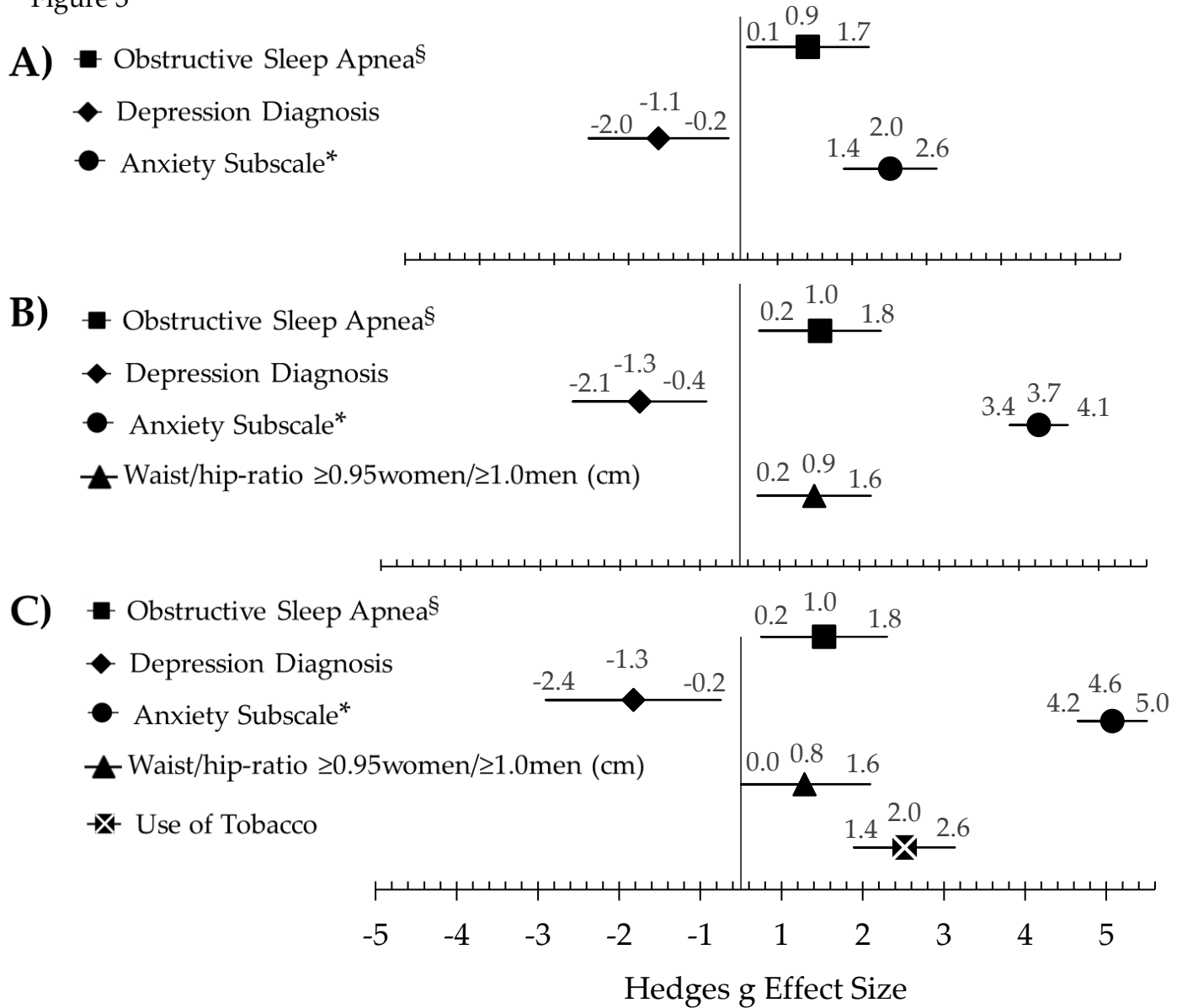
Flow diagram of the recruitment participants.

Figure 2



Results are given regard to the association between pregnenolone levels (nmol/L) and obstructive sleep apnea severity adjusted for covariables from three multivariate models. Data are presented as mean and 95% of the confidence interval with significant P-values in bold type ($P < 0.05$). Model information: Generalized Linear Model used the backward stepwise method with a gamma distribution and the log link function. Models differences: variables without significance were withdrawals from all models by the backward stepwise method counting, sex, skin color, diabetes mellitus, licit drugs, prospective memory (PRMQ- $P \geq 17$), medications that potentially changes pregnenolone, age (years), and body mass index (Kg/m^2). Exceptions: Model B) is similar to the model A, however, were replaced age and BMI for waist/hip-ratio because the collinearity diagnoses and the model C) age and BMI were replaced for waist/hip-ratio and the variable licit drugs was segregated in two others: alcohol misuse (CAGE ≥ 2) and use of tobacco. (§) Severe OSA was the reference variable compared to moderate OSA, respectively, apnea-hypopnea index ≥ 15 and > 30 events per hour. (*) Anxiety was considered with subscale scores higher than 11 from the scale *Hospital Anxiety and Depression*.

Figure 3



The effect size of the obstructive sleep apnea severity on the pregnenolone levels is given by the Hedges g estimates. Data are presented as mean of the Hedges g effect size and 95% of confidence interval. Estimates of the effect size were similar by both tests of Cohen's d and Hedges g.