

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS EM MODELO ANIMAL DE APNEIA DO SONO:
EFEITO DA MELATONINA E N-ACETILCISTEÍNA**

Dissertação de Mestrado

RENATA SCHENKEL R. KAMINSKI

Porto Alegre, 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS EM MODELO ANIMAL DE APNEIA DO SONO:
EFEITO DA MELATONINA E N-ACETILCISTEÍNA**

Dissertação de mestrado submetida ao Curso de Pós-Graduação Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Autora: Renata Schenkel R. Kaminski

Orientador: Prof. Dr. Denis Martinez

Colaborador: Prof. Darlan Pase Rosa.

Porto Alegre, 2011

K15a **Kaminski, Renata Schenkel Rivera**

Alterações metabólicas em modelo animal de apneia do sono: efeito da melatonina e n-acetilcisteína / Renata Schenkel R. Kaminski ; orient. Denis Martinez. – 2011.

52 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. Síndromes da apneia do sono 2. Acetilcisteína 3. Melatonina 4.

Anóxia 5. Metabolismo I. Martinez, Denis II. Título.

NLM: WF 143

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Apneia obstrutiva	10
Figura 2. Apneia central	10
Figura 3. Apneia mista	10
Figura 4. Critérios diagnósticos para Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono	12
Figura 5 – Ressonância magnética - imagem sagital de indivíduo normal e com SAOS	13
Figura 6 – Esquematização da polissonografia mostrando evento de apneia obstrutiva	16
Figura 7 - Mecanismos agudos e intermediários na apneia obstrutiva do sono que contribuem para o risco de doença cardiovascular	17
Figura 8 - Mecanismos possíveis entre apneia, síndrome metabólica e diabetes tipo II	20
Figura 9 – Esquematização da formação de EROS durante a hipóxia	22

LISTA DE ABREVIATURAS

SAHOS - síndrome da apneia-hipopneia obstrutiva do sono

SAOS – síndrome da apneia obstrutiva do sono

HI - hipóxia intermitente

EO - estresse oxidativo

MEL - melatonina

NAC - N-acetilcisteína

HIS – hipóxia intermitente simulada

AOS - apneia obstrutiva do sono

DM2 - diabetes melito tipo 2

SMet - síndrome metabólica

DRS - distúrbio respiratório do sono

ACS - apneia central do sono

SDE - sonolência diurna excessiva

IAH - índice de apneia e hipopneia

AH - apneia-hipopneia

VAS - obstrução da via aérea superior

RL - radicais livres

TNF- α - fator de necrose tumoral α

IL-6 - interleucina 6

CPAP - terapia de pressão positiva contínua em vias aéreas

EAO - espécies ativas de oxigênio

ERO - espécies reativas de oxigênio

SOD - superóxido dismutase

CAT - catalase

GPx - glutathiona peroxidase

NADPH – nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato

SNC – sistema nervoso central

FIO₂ – fração inspirada de oxigênio

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	4
LISTA DE ABREVIATURAS	5
RESUMO	7
1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	10
2.1 Distúrbios respiratórios do sono.....	10
2.2 Síndrome da apneia-hipopneia obstrutiva do sono.....	12
2.2.1 Fisiopatologia da hipóxia	14
2.2.2 Diagnóstico	16
2.2.3 Repercussões clínicas.....	17
2.2.4 AOS e alterações metabólicas	19
2.2.5 AOS, resistência à insulina e diabetes	21
2.2.6 AOS e estresse oxidativo.....	22
2.3 Antioxidantes	24
2.3.1 Melatonina.....	24
2.3.2 N-acetilcisteína.....	25
2.4 Modelos de hipóxia intermitente.....	25
3 JUSTIFICATIVA.....	26
4 OBJETIVOS	27
4.1 Geral.....	27
4.2 Específicos	27
REFERÊNCIAS	28
ARTIGO CIENTÍFICO.....	39
ABSTRACT.....	40
INTRODUCTION.....	42
METHODS.....	43
RESULTS.....	45
DISCUSSION.....	46
CONCLUSION.....	46
ACKNOWLEDGMENTS.....	47
BIBLIOGRAPHY.....	48

RESUMO

A síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS) é a condição mais comum dentre os transtornos do sono e caracteriza-se por paradas respiratórias de curta duração com completa ou parcial obstrução da via aérea superior. Os episódios repetidos de apneia causam hipóxia intermitente (HI) e os efeitos fisiopatológicos, do tipo hipóxia/reperfusão, que ocorrem na SAOS estão associados a alterações glicolípídicas, formação de radicais livres e estresse oxidativo (EO). Estudos experimentais demonstram alterações funcionais como dislipidemia, resistência à insulina e intolerância à glicose, assim como, envolvimento do EO nessas alterações. O uso de antioxidantes como fatores de proteção contra o comprometimento metabólico causado pela hipóxia intermitente foi encontrado em poucos estudos.

Este estudo investigou o papel da hipóxia intermitente isocápnica, simulando apneia do sono, no metabolismo glicolípídico. O efeito dos antioxidantes melatonina (MEL) e N-acetilcisteína (NAC) para reverter as alterações metabólicas foi testado. Foram utilizados setenta e dois camundongos Balb/c divididos em seis grupos. Durante 35 dias, metade dos grupos foi exposto a HI (n = 36) e a outra metade a HI simulada (HIS; n= 36). Após o 21º dia, cada animal foi injetado por via intraperitoneal com veículo (VEH; n=24), melatonina (n = 24) ou N-acetilcisteína (n=24). Durante oito horas, os roedores foram submetidos a um total de 480 ciclos de hipóxia/reoxigenação, alternando 30 segundos de hipóxia progressiva para uma FIO₂ nadir de 6%, seguido por 30 segundos de normóxia, o equivalente a um índice de apneia de 60 episódios por hora. Ao término do experimento foram dosados glicose, colesterol total e triglicerídeos pelo método colorimétrico enzimático.

Os níveis de glicose foram maiores no grupo exposto a HI (141 ± 38 mg/dL) do que na HIS (75 ± 17 mg/dL). A administração da melatonina impediu o aumento dos níveis de glicose no grupo submetido à HI (74 ± 13 mg/dL), entretanto, com a NAC não se observou esse efeito. Colesterol total e triglicerídeos não apresentaram alterações significativas na HI. Estes resultados sugerem que a exposição crônica a HI simulando apneia do sono eleva os níveis de glicose e a melatonina impede esse efeito, supostamente através de um mecanismo protetor contra as influências deletérias da HI.

1 INTRODUÇÃO

Considerada a condição mais comum dentre os transtornos do sono, apneia obstrutiva do sono (AOS) tem elevada prevalência, atingindo até 32% dos adultos.¹ Caracteriza-se pelo fechamento repetitivo parcial ou total da via aérea superior durante o sono, causa hipóxia intermitente (IH), despertares recorrentes e fragmentação do sono², levando ao aumento do tona simpático.³ Apneia do sono é fator de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina⁴, intolerância à glicose⁵, diabetes melito tipo 2 (DM2)⁶ e síndrome metabólica (SMet)^{7, 8}. Maior gravidade da AOS associa-se a pior controle da diabetes, independente de fatores de confusão como a obesidade. A Federação Internacional de Diabetes recomendou em 2008, conscientização das equipes de saúde sobre a necessidade de incluir na prática clínica investigação de AOS em pacientes com DM2 e vice-versa.⁹ Tratar apneia do sono reverteu em alguns estudos as alterações metabólicas, sugerindo relação causa-efeito.^{10, 11, 12 13}

Durante a apneia ocorrem episódios recorrentes de hipóxia/reoxigenação¹⁴ que parecem promover o estresse oxidativo, também relacionado com a gênese de distúrbios metabólicos^{15,16} e observa-se desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em pacientes com AOS.¹⁷ A melatonina, potente antioxidante, atenua danos moleculares e celulares decorrentes da isquemia e reperfusão.^{18,19} A proteção induzida pela melatonina contra o comprometimento funcional e metabólico na IH está relacionado com a regulação das espécies reativas de oxigênio e estímulo à regulação da transcrição de enzimas antioxidantes.²⁰ Estudos recentes mostram a influência da melatonina sob a secreção de insulina, atenuando desordens metabólicas e o estresse oxidativo na diabetes^{18,21,22, 23} A NAC também mostra efeitos na inibição das espécies reativas de oxigênio e diminuição dos radicais livres.^{24,25} Estudo mostra que o estresse oxidativo induzido pela HI pode ser parcialmente inibido pela NAC.²⁶

Realizou-se estudo de caráter experimental comparativo. Avaliaram-se níveis glicolipídicos de camundongos submetidos ao modelo de apneia do sono por hipóxia intermitente ou hipóxia intermitente simulada por 35 dias, tratados com os antioxidantes melatonina e N-acetilcisteína. Investigou-se o efeito da hipóxia intermitente isocápnica no metabolismo glicolipídico e o efeito dos antioxidantes melatonina e N-acetilcisteína para reverter tais alterações metabólicas foi testado.

Foi usada a base de dados eletrônica Pubmed com a seguinte estratégia: buscando-se por “intermittent hypoxia” se obteve 1022 referências; quando acrescentada a expressão “metabolic disorder” encontraram-se 99 referências;

acrescentando-se à “intermittent hypoxia” a palavra “glucose” o número foi de 51; quando se acrescentou à “intermittent hypoxia” a palavra N-acetilcisteína foram encontradas 2 referências e com “melatonin” foi encontrada apenas 1 referência.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Distúrbios respiratórios do sono

Distúrbio respiratório do sono (DRS) é o termo usado para descrever distúrbios respiratórios ocorridos durante o sono²⁷ que englobam apneias, hipopneias, hipoventilação e respiração periódica.²⁸ Apneias são cessações no ritmo da respiração e hipopneias, reduções momentâneas ou sustentadas na amplitude da respiração, suficientes para causar asfixia, ou seja, hipoxemia e hipercapnia arterial.²⁹ Apneias e hipopneias diferem quanto ao grau de obstrução da faringe, entretanto, apresentam fisiopatologia e impactos clínicos semelhantes. Os eventos estão associados tanto com dessaturação > 3% e/ou episódios de despertares breves recorrentes.³⁰

Durante a apneia ocorre a redução do volume corrente abaixo de 10% por mais de 10 segundos³¹ e a saturação de oxigênio cai até ocorrer o despertar que encerrará o evento, atingindo por alguns segundos valores que, se fossem sustentados seriam incompatíveis com a vida.³² Cada apneia termina com despertar transitório e a repetição desses episódios leva à fragmentação do sono. O sono interrompido perde sua arquitetura normal, além de alterar os estágios e provocar respostas exacerbadas do sistema nervoso autônomo.³³ Nas hipopneias as reduções no volume corrente de oxigênio são momentâneas ou sustentadas e acima de 50% da amplitude da respiração.

As apneias e hipopneias podem ser classificadas como centrais e obstrutivas. A principal diferença entre apneias do sono centrais e obstrutivas é a presença ou ausência de esforço respiratório, respectivamente.³⁴ O mecanismo fisiopatológico que promove a AOS é o colapso da faringe que pode ser causado por anormalidade anatômica ou por controle anormal dos músculos que mantêm a permeabilidade das vias aéreas superiores.^{35, 36} Ocorrem oclusões repetitivas da via aérea (Figura 1), apesar da manutenção dos esforços inspiratórios e observa-se que a complacência da faringe está alterada nos pacientes com AOS..

A apneia central do sono (ACS) pode ocorrer fisiologicamente após períodos de hiperventilação durante o sono quando a pressão parcial arterial de dióxido de carbono (PaCO₂) cai abaixo do limiar de apneia. Nas apneias centrais não ocorre obstrução das vias aéreas e a ventilação cessa por ausência de impulsos dos centros respiratórios com consequente imobilidade do fole torácico (Figura 2).^{37, 38} Acomete de 25 a 40% de indivíduos com insuficiência cardíaca³⁹ por hiperventilação crônica causada por congestão pulmonar que estimula os receptores intrapulmonares.⁴⁰ Também acomete

pacientes com distúrbios neurológicos que apresentam disfunção dos centros reguladores da respiração ou dos motoneurônios, causando inativação do diafragma e músculos respiratórios.⁴¹

A associação dos dois eventos, em que ocorre apneia central inicial seguida pelo componente obstrutivo, caracteriza as apneias mistas (Figura 3).⁴² Ocorrem quando apneias inicialmente centrais, sem movimento respiratório, tornam-se obstrutivas, devido ao reinício dos movimentos de tórax e abdômen, indicando permanecer a via aérea ocluída.⁴³

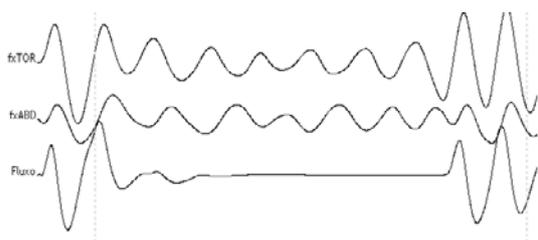


Figura 1 - Apneia obstrutiva mostrada por polissonografia.

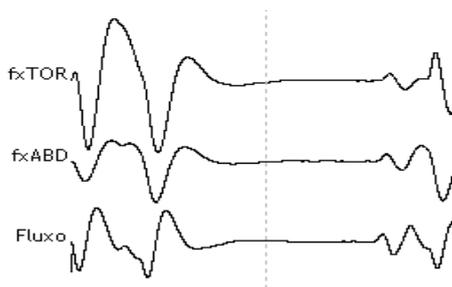


Figura 2 - Apneia central mostrada por polissonografia.

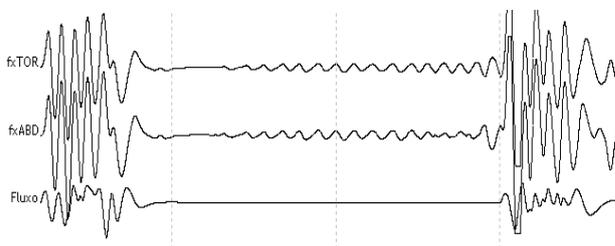


Figura 3 - Apneia mista mostrada por polissonografia.

2.2 Síndrome da apneia-hipopneia obstrutiva do sono

As apneias e hipopneias obstrutivas do sono quando ultrapassam o limite de 5 episódios por hora de sono e estão associadas a sintomas como sonolência diurna excessiva (SDE), roncos, além de pausas respiratórias testemunhadas durante o sono, permitem o diagnóstico da síndrome da apneia-hipopneia obstrutiva do sono (SAHOS).

⁴⁴ O achado de mais de 15 eventos/hora também caracteriza diagnóstico de SAHOS, mesmo na ausência de sintomas. ⁴⁵ A figura 4 mostra possíveis associações de sintomas com a presença de eventos.

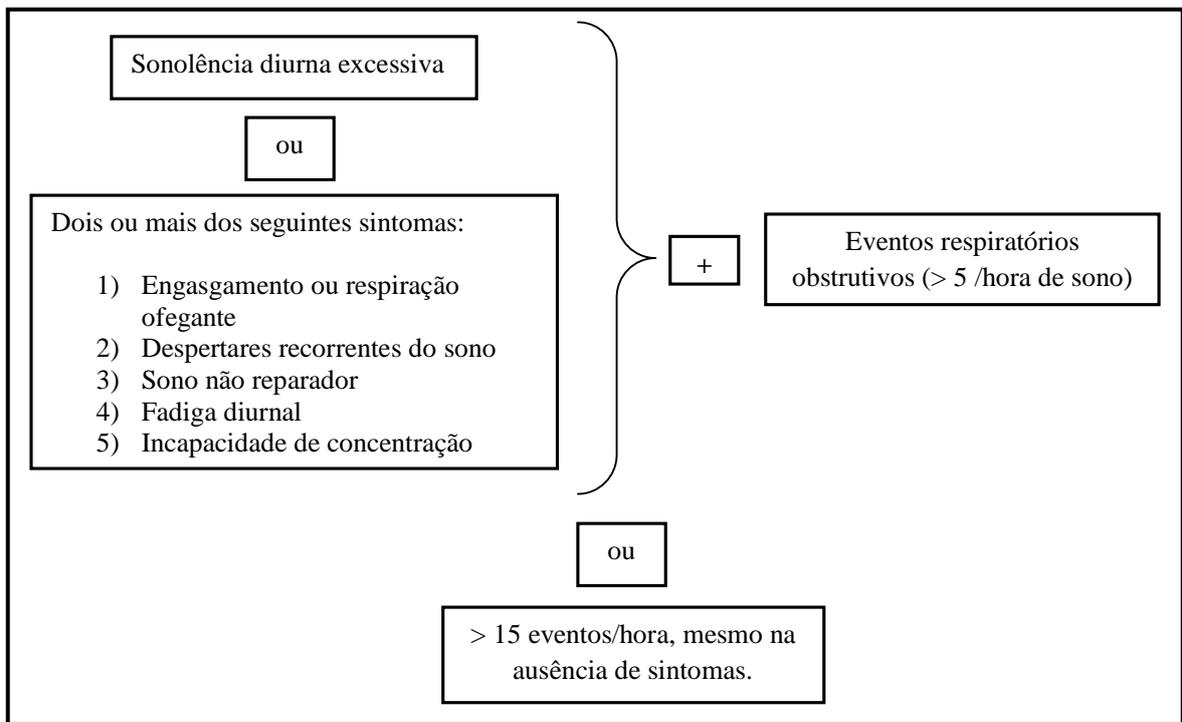


Figura 4. Critérios diagnósticos para SAOS.⁴⁵

A SAHOS pode ocorrer em qualquer faixa etária, com incidência crescente desde os 20 anos de idade. No total da população, o sexo masculino é duas vezes mais acometido que o feminino e na faixa de 20-29 anos, a proporção feminino:masculino é de aproximadamente 1:10. O sexo masculino é mais acometido, provavelmente por razões anatómicas e funcionais, principalmente relacionadas à distribuição da gordura corporal.⁴⁶ Em mulheres no período pós-menopausa, as proporções se igualam, sugerindo influência hormonal na fisiopatologia do colapso da faringe durante o sono.

A gravidade da SAOS é medida pelo índice de apneia e hipopneia (IAH), calculado como total de apneias e hipopneias pelo número de horas de sono. Considera-se o IAH normal até 5 AH/hora. Se o IAH estiver entre 5 e 15 AH/hora o caso será considerado leve; IAH entre 16 e 30 AH/hora, moderado; e acima de 30 AH/hora, acentuado.⁴⁵

Estudo citado mais de 1600 vezes na literatura, mostrou que 2% das mulheres e 4% dos homens apresentavam, além de 5 apneia-hipopneia (AH) por hora, sonolência excessiva diurna, preenchendo o critério para diagnóstico da SAHOS e evidenciou que em populações de meia-idade, a prevalência de IAH > 5/hora é de 9% em mulheres e 24% em homens.⁴⁷

2.2.1 Fisiopatologia da hipóxia

A obstrução da via aérea superior (VAS) durante o sono é mais frequente nos humanos, em parte, porque o osso hióide, um apoio para os músculos dilatadores da faringe, não está firmemente ligado a estruturas esqueléticas. Em outros mamíferos, o osso hióide se fixa ao processo estilóide do crânio.^{48,49} Assim, a faringe humana não tem suporte rígido, exceto nos extremos superior e inferior, onde está ancorada à rinofaringe, e à laringe.

A região oral da faringe se divide em nasofaringe, retropalatal, retroglossal e hipofaringe (Figura 5 A). O bloqueio da passagem de ar pode ocorrer em uma ou mais regiões da faringe em indivíduos que apresentam SAOS e essas regiões podem apresentar estreitamento também na vigília.⁵⁰ O estreitamento da via aérea é um processo dinâmico, variado e inclui as regiões retroglossal e hipofaringe⁵¹, embora a região retropalatal da orofaringe seja o local mais comum do bloqueio de ar (Figura 5 B). Em obesos com SAOS, o fechamento da VAS ocorre principalmente na velofaringe e quando acompanhado de recesso na mandíbula, o colapso ocorre na velofaringe e orofaringe.⁵²

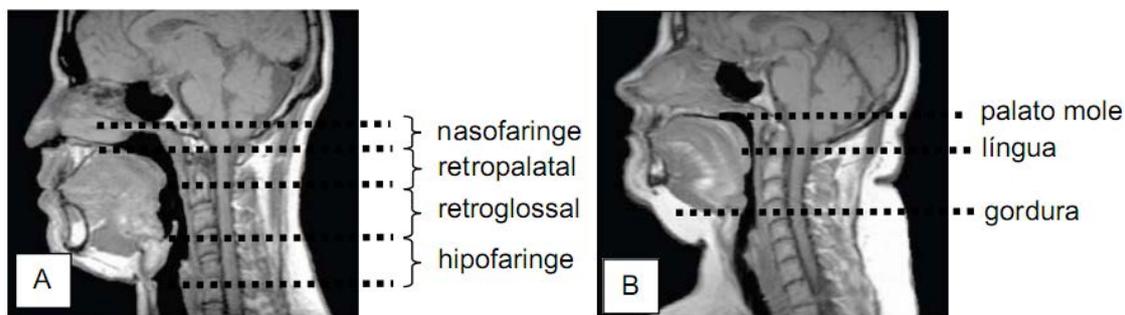


Figura 5 – Ressonância magnética mostrando imagem sagital de indivíduo normal e com SAOS. A: imagem sagital de ressonância magnética de indivíduo normal. B: imagem sagital de ressonância magnética de indivíduo com SAOS grave. Destacadas as quatro regiões da VAS (nasofaringe, região retro-palatal, retroglossal, hipofaringe) e tecidos moles (palato mole, língua e gordura) e estruturas crânio-faciais (mandíbula). Observa-se que o paciente em apneia apresenta regiões das VAS menores, como a retropalatal e retroglossal, enquanto o palato mole, língua e gordura subcutânea são maiores (adaptado de Schwab, 1995).⁵⁷

Além do arco hióide, Lieberman *et al.*^{53, 54} e Davidson⁵⁵ também apontam como contribuinte potencial para SAHOS as características anatômicas das vias respiratórias superiores humanas favoráveis à evolução da fala. Especificamente, o descenso gradual

da laringe para posição inferior na orofaringe afastou o palato mole da epiglote, originando ampla área susceptível ao colapso. Estudos utilizando faringoscopia nasal, tomografia computadorizada e ressonância magnética, ou monitoramento da pressão faríngea mostraram os sítios na região orofaríngea onde ocorre oclusão na maioria dos pacientes com SAHOS. Esta região é também menor em pacientes com SAHOS quando comparados aos controles, mesmo durante a vigília.^{50,56,57,51}

Embora a região retropalatal da orofaringe seja o local mais comum de colapso, o estreitamento das vias aéreas é dinâmico, variando significativamente e frequentemente entre os espaços retropalatal, retrolingual e a hipofaringe.^{58,59,60} Por exemplo, Watanabee *et al.* mostraram que o colapso da via aérea em indivíduos obesos com SAHOS ocorre principalmente na velofaringe, enquanto em pacientes não obesos com mandíbula recuada, o fechamento ocorre na velofaringe e orofaringe. O uso recente de técnicas de imagem quantitativas revela importantes diferenças tanto das estruturas craniofaciais quanto dos tecidos moles em pacientes com SAHOS. Alterações dos ossos da face em pacientes com SAHOS incluem a redução do comprimento do corpo mandibular, a posição inferior do osso hióide e retro posição do maxilar, os quais comprometem o espaço aéreo da faringe.^{61,62,63} O trecho colapsável da via aérea, de aproximadamente 10 cm, do fim do palato duro à base da epiglote, é em torno de um centímetro mais longo em pacientes com SAHOS, aumentando a colapsabilidade da via aérea quando exposta a pressões negativas.^{64,65} O aumento das partes moles em torno da via aérea contribui significativamente para o estreitamento da faringe em muitos casos de SAHOS. O aumento do palato mole e da língua diminui o diâmetro ântero posterior,^{66,67} enquanto o acúmulo de gordura lateralmente às paredes da faringe diminui o espaço no plano lateral. Em exames de ressonância magnética e tomografia computadorizada realizados para análise do comprometimento das vias aéreas em pacientes com SAHOS, mostrou-se que a dimensão lateral da parede da faringe é um importante redutor no espaço da via aérea.

Em seres humanos e modelos de roedores⁶⁸, a obesidade contribui para a compressão da via aérea, aumentando o volume dos depósitos de gordura na faringe.⁶⁹ ⁷⁰ Esse excesso de gordura também foi observado sob mandíbula, língua, palato mole ou úvula.⁷¹ Em crianças com SAHOS, os principais fatores anatômicos para o estreitamento da via aérea são a hipertrofia de tonsilas e de adenóides.⁷²

A hipóxia intermitente, apesar de possíveis efeitos benéficos, pode ter consequências, sem papel adaptativo aparente, sobre vários tecidos. A oscilação na concentração de oxigênio causada pelas apneias expõe os pacientes com SAHOS a

processos semelhantes ao de isquemia/reperfusão, ensejando a produção de radicais livres, estresse oxidativo⁷³ e alterações metabólicas.

Durante episódios de hipóxia, a ativação dos quimiorreceptores ativa o componente simpático do sistema nervoso autônomo^{74,75} ocasionando aumento da frequência e débito cardíaco, da resistência vascular periférica e da pressão arterial sistêmica.⁷⁶

Os episódios de HI observados durante o sono de pacientes portadores de AOS foram reproduzidos em modelo animal (ratos) de hipóxia crônica intermitente por Fletcher e colaboradores.⁷⁷ Nesse modelo houve aumento na pressão arterial média diurna em 10-14 mmHg quando comparados com ratos controles mantidos sem hipóxia.^{78, 79} A HI normalmente vem acompanhada de fragmentação do sono em pacientes portadores de AOS e vários estudos sugerem que tanto a hipóxia como a fragmentação do sono estão relacionadas às alterações cardiovasculares observadas nesse grupo.⁸⁰

2.2.2 Diagnóstico

O diagnóstico pode ser feito com base nos achados clínicos. As queixas mais comuns dos pacientes são sonolência, sono não-reparador e despertares.⁸¹ Os familiares que convivem com o paciente queixam-se do roncar noturno e percebem as pausas respiratórias. A entrevista clínica estruturada é ferramenta útil e pode ser utilizada por qualquer profissional, visando identificar pacientes que devam ser investigados por meio de polissonografia.⁸²

A polissonografia é o padrão áureo para o diagnóstico de SAHOS^{83, 34} pode ser realizada no laboratório do sono ou domicílio.⁸⁴ Nesse exame, se registra eletroencefalograma, eletrooculograma e eletromiograma, permitindo assim, estagiar o sono. Adicionalmente, se armazenam os dados de eletrocardiograma, fluxo aéreo e movimentos torácicos e abdominais, que, juntamente com a saturação de oxigênio, revelam o desempenho respiratório e quantificam o número de apneias e hipopneias durante o sono (Figura 6).³⁰

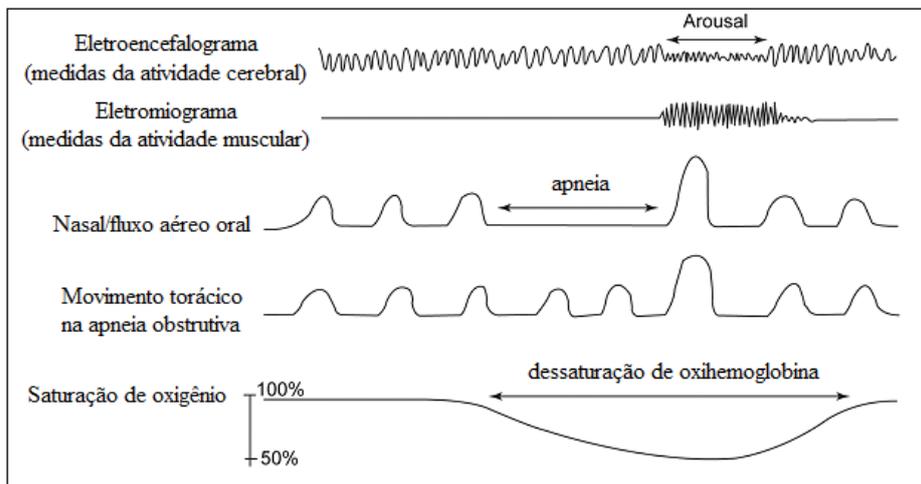


Figura 6 – Esquemática da polissonografia mostrando evento de apneia obstrutiva (adaptado de Kapur *et al.*, 2010).

Alguns questionários têm sido testados, inclusive em nosso grupo de pesquisa.⁸⁵ A escala de sonolência de Epworth foi validada e mostrou relação entre o escore aferido pelo questionário e o distúrbio do sono diagnosticado.^{86, 87, 88} A escala alcança valor máximo de 24 pontos, sendo considerados anormais valores acima de 10. Outro instrumento comumente utilizado para a identificação de pacientes com probabilidade elevada de apresentarem apneia do sono é o Questionário de Berlim, onde são avaliados o grau de ronco, sonolência diurna ou fadiga, presença de obesidade e de hipertensão.⁸⁹ Sua sensibilidade na identificação de casos, em nível primário, é de 86% para detectar SAHOS definida por IAH maior do que cinco AH por hora.⁹⁰

Em todo o mundo, apenas pequena parcela dos pacientes com SAHOS têm sido devidamente diagnosticada.⁹¹ Entre as razões arroladas para justificar a baixa taxa de diagnóstico está a dificuldade em realizar polissonografia.

2.2.3 Repercussões clínicas

A apneia do sono, por seu impacto sobre o sistema nervoso central, causa alterações psicossociais, distúrbios de memória, de comunicação e aprendizado. As causas do prejuízo mental podem ser tanto pela fragmentação do sono, devido aos despertares breves, quanto pelos episódios repetitivos de HI durante as apneias; ou ambos.⁹² O sono fragmentado pela SAHOS resulta em privação crônica do sono e sensação de sonolência diurna excessiva.⁹³ Fadiga, diminuição da libido, cefaleia, distúrbios de humor ou de ansiedade, dificuldade de concentração, irritabilidade e apatia, também estão entre as queixas dos pacientes.⁹⁴

Mesmo tratadas as apneias, os pacientes podem continuar se sentindo sonolentos, evidência demonstrada em estudo onde a irreversibilidade da sonolência, em camundongos, foi atribuída à lesão no sistema nervoso central, envolvendo reações de oxidação e nitração nas áreas responsáveis pela manutenção da vigília⁹⁵, assim como, morte dos neurônios corticais por apoptose.⁹⁶ Também ocorrem hipercapnia, aumento da frequência cardíaca e arritmias, sintomas resultantes principalmente da ativação simpática.⁹⁷ Ocorre depressão da contratilidade do miocárdio e da atividade parassimpática, ativação do sistema nervoso simpático, aumento da pressão sanguínea e da frequência cardíaca.⁹⁸

Essas alterações, além de causar aumento no risco de acidentes de trabalho e automobilísticos,^{99, 100, 101, 102} também resultam em prejuízos no desempenho intelectual, nas relações familiares e sociais dos pacientes com AOS.^{103, 104, 105}

As consequências mais temidas da AOS são as cardiovasculares, destacando-se a hipertensão arterial sistêmica¹⁰⁶ e pulmonar, arritmias, acidentes vasculares encefálicos^{107, 108} e cardiopatia isquêmica.^{109, 110} O estresse fisiológico repetitivo resulta em sintomas e disfunções cardiovasculares através de mecanismos agudos e intermediários (Figura 7).¹¹¹

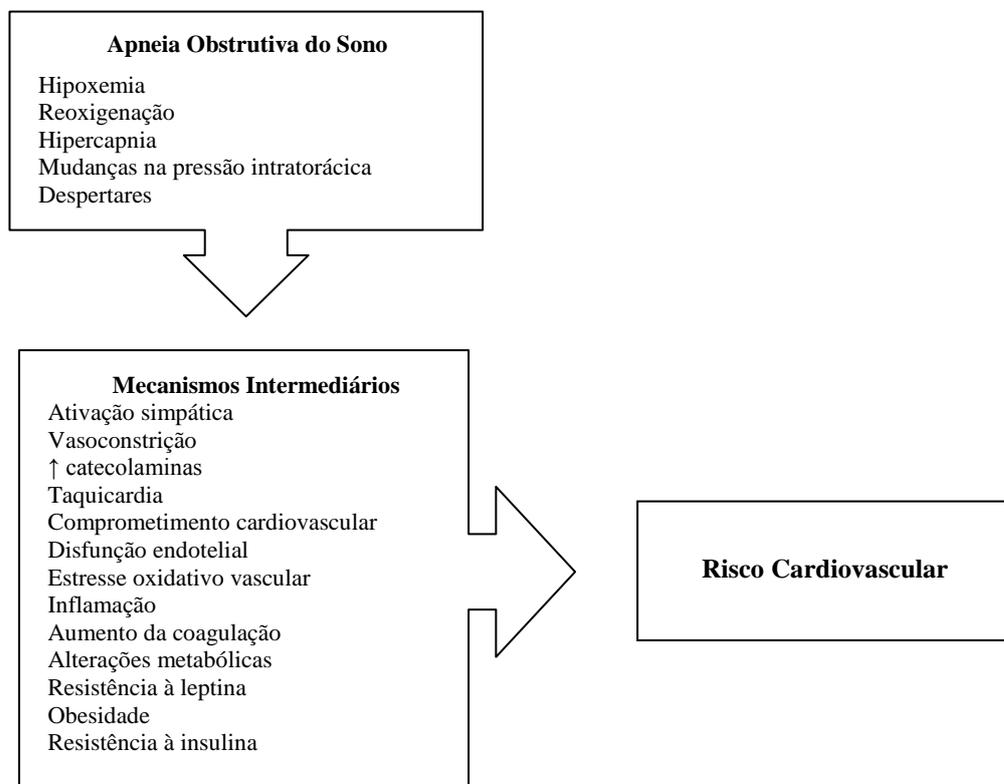


Figura 7 - Mecanismos agudos e intermediários na apneia obstrutiva do sono que contribuem para o risco de doença cardiovascular (adaptado de Shamsuzzaman *et al.*, 2003).¹¹¹

Um dos fenômenos mais graves na SAHOS é a redução da SaO₂ durante a apneia. Episódios repetidos de hipóxia e reoxigenação levam ao aumento da presença de radicais livres com conseqüente dano oxidativo de biomoléculas.¹¹² O retorno da oxigenação ao normal no fim da apneia pode ser ainda mais prejudicial pela formação de radicais livres (RL). A gravidade da SAHOS está independentemente relacionada com o estresse oxidativo, sendo o índice de dessaturação de oxigênio o melhor parâmetro relacionado.¹¹³

A gravidade da dessaturação de oxigênio durante os eventos respiratórios obstrutivos predizem morbidade cardiovascular em pacientes com transtornos respiratórios do sono, independente da frequência dos eventos respiratórios.^{114,115} A rápida depleção alveolar explica a dessaturação que ocorre durante apneias recorrentes.¹¹⁶ Segundo Sands e colaboradores,¹¹⁶ esse mecanismo pode explicar a gravidade da hipoxemia intermitente, que é associado com morbidades neurocognitivas e cardiovasculares.

2.2.4 AOS e alterações metabólicas

A hipóxia intermitente e a fragmentação do sono ocorrida em indivíduos com AOS pode iniciar mecanismos intermediários envolvidos nas alterações metabólicas, como alterações neuro-humorais, inflamação e estresse oxidativo¹²⁰ e talvez agrave fenótipos associados à síndrome metabólica, como a resistência à insulina.^{117, 130} O tecido adiposo libera muitos fatores humorais, incluindo citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6), aumentados em pacientes com SAOS¹¹⁸ e reduzidos pós terapia de pressão positiva contínua em vias aéreas (CPAP), ou seja, a liberação de citocinas pró-inflamatórias pode ter relação direta com a falta de oxigenação adequada.¹¹⁹

Pacientes com AOS apresentam de 6 a 9 vezes mais probabilidade de ter SMet do que indivíduos sem AOS^{120, 121} e indivíduos não obesos com SAOS desenvolvem SMet, independente da gordura visceral. Embora os mecanismos fisiopatológicos da SMet ainda não estejam completamente esclarecidos, devido ao efeito de confusão com a obesidade,^{122, 123} tudo indica a existência de elo comum entre SAHOS e SMet^{124, 125, 136, 126, 127} e sua gravidade tem forte associação com hipertensão^{106, 128, 129} e diabete.^{130, 131} A concomitância da SAOS e síndrome metabólica foi chamada “Síndrome Z”,^{132,133} caracterizada pela associação entre apneia do sono e SMet (Figura 8).

Estudos mostram que AOS causa alterações glicolípídicas,^{126, 4, 134} como aumento sérico de triglicerídeos e redução do HDL colesterol¹³⁵ e também correlação com inflamação, resistência à insulina e a contribuição destas condições para a aterosclerose e a doença cardiovascular. **Erro! Indicador não definido.**¹³⁶ Apesar de sua importante associação com obesidade e problemas cardiovasculares, a apneia do sono tem sido tratada como anormalidade respiratória e não como doença sistêmica.

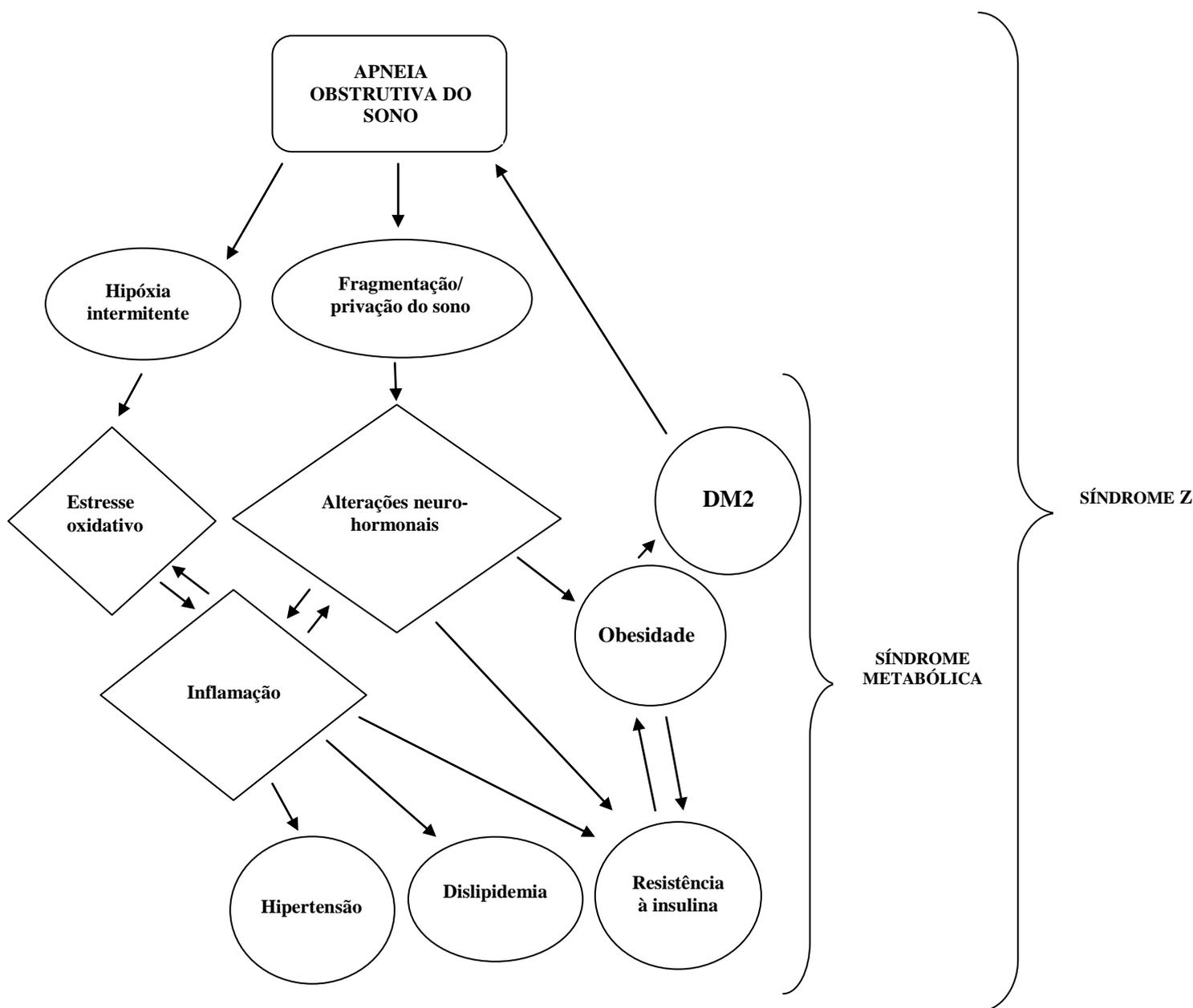


Figura 8 - Mecanismos possíveis entre apneia, síndrome metabólica e diabetes tipo II.

2.2.5 AOS, resistência à insulina e diabetes

Evidências epidemiológicas apóiam a associação entre a privação parcial crônica do sono e risco de obesidade, resistência à insulina e diabetes. O Sleep Heart Health Study¹³⁷ e o Wisconsin Sleep Study¹³⁸ relataram correlação entre SAOS e alterações no metabolismo da glicose. Por outro lado, diabetes mellitus pode ser uma causa da OSA, mediada pela neuropatia autonômica que pode alterar os mecanismos do controle ventilatório.¹³⁹ Não obstante, as estimativas indicam que cerca de 40% das pessoas com OSA tem diabetes^{140, 141} e a existência da associação entre o DM2 e AOS, independe da obesidade.¹⁴²

É provável que a hipóxia intermitente crônica e a fragmentação do sono sejam os dois gatilhos primários que levam a cascata de múltiplos fatores patogênicos interrelacionados, tais como aumento da atividade simpática, desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, alterações nos perfis de adipocina e ativação de vias inflamatórias, que podem contribuir para as interações entre OSA, obesidade e metabolismo da glicose.^{5,143} A possibilidade de que a diabetes instabilize o controle da respiração por neuropatia autônoma causando apneias, também foi analisada, como demonstrado pioneiramente por nosso grupo, em 1995.¹⁴⁴ Estudo de base populacional demonstra que apneia de moderada a grave é importante fator de risco para incidência da diabetes.¹⁴⁵

2.2.6 AOS e estresse oxidativo

O oxigênio é vital e também potencialmente nocivo para as células, e, em certas condições é responsável por reações químicas tóxicas.¹⁴⁶ Os efeitos deletérios do oxigênio sobre os organismos aeróbios variam, consideravelmente, de acordo com a espécie do organismo, idade, estado fisiológico, dieta, assim como, diferentes tecidos do mesmo animal podem ser afetados de formas diferentes.¹⁴⁷ Esses efeitos ocorrem devido à elevada produção de radicais livres ou de espécies ativas de oxigênio.

Episódios de hipóxia-reoxigenação sofridos por indivíduos com distúrbios respiratórios do sono estão associados a processos de oxidação-redução de compostos que ocasionam aumento de EROS, especialmente ânions superóxido.¹⁴⁸ EROS podem ser radiculares ou não radiculares e são formadas continuamente em quantidades pequenas durante os processos metabólicos. Radicais livres de oxigênio são resultantes da redução de um ou dois elétrons de oxigênio. A adição de um elétron ao oxigênio gera o superóxido, uma ERO radicalar. A adição de dois elétrons ao íon superóxido leva a formação de peróxido de hidrogênio, uma ERO não radicalar.¹⁴⁹ As ERO são responsáveis por atividades vitais como produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular e sinalização intercelular.^{150, 151}

A principal fonte de geração de RL nas células durante a hipóxia foi relatada como semelhante à isquemia e a reperfusão, quando ocorre diminuição do potencial redox mitocondrial, causando uma produção de ERO a partir da cadeia de transporte de elétrons, principalmente no nível III do citocromo.¹⁵²

Em pacientes diabéticos, as espécies reativas de oxigênio prejudicam a captação de glicose no músculo e gordura^{153, 154} e levam a diminuição da secreção de insulina pelas células β pancreáticas.¹⁵⁵ O aumento do estresse oxidativo também é subjacente a fisiopatologia da hipertensão¹⁵⁶ e aterosclerose que afetam as paredes vasculares das células.¹⁵⁷

Radicais livres são definidos como qualquer espécie química capaz de existir independentemente e que contenha um ou mais elétrons desemparelhados, sendo espécies paramagnéticas e altamente reativas, capazes de atacar qualquer biomolécula.¹⁵⁸ Tais radicais podem ser formados em situações fisiológicas ou patológicas e são danosos às células e ao organismo quando produzidos em grandes quantidades.^{158,159}

Os RL reagem através de ligações covalentes ou reações bioquímicas em cadeia. Na primeira situação, uma união covalente ocorre quando dois radicais formam um par, combinando os seus elétrons desemparelhados. As reações bioquímicas em cadeia ocorrem quando reagem com outro não-radical, e, ao final dessa reação, produzir-se-á outro radical. Além dessas duas vias, existem outras formas de obtenção de radicais livres, através da fagocitose na resposta inflamatória, em situações de exposição do organismo a radiações ionizantes, nas contaminações, poluição, excesso de exercício, hiperóxia e isquemia.^{159,160}

Embora diversos estudos demonstrem aumento de ERO durante a hipóxia,^{161,162} ainda permanece incerta a fonte precisa de ERO. Geralmente são geradas pelo sistema NADPH oxidase ou pela cadeia transportadora de elétrons. Na mitocôndria, em condições de normóxia, os elétrons fluem através da cadeia transportadora de elétrons do complexo I para o complexo II, via complexo III, para a citocromo oxidase, transferindo quatro elétrons para o oxigênio. Entretanto, durante a hipóxia, a ubisemiquinona que intermedia o complexo III, potencialmente gera superóxido por transferência univalente de elétron para o oxigênio molecular. O superóxido gerado pode migrar para o citosol através de canais aniônicos (Figura 9).¹⁶³

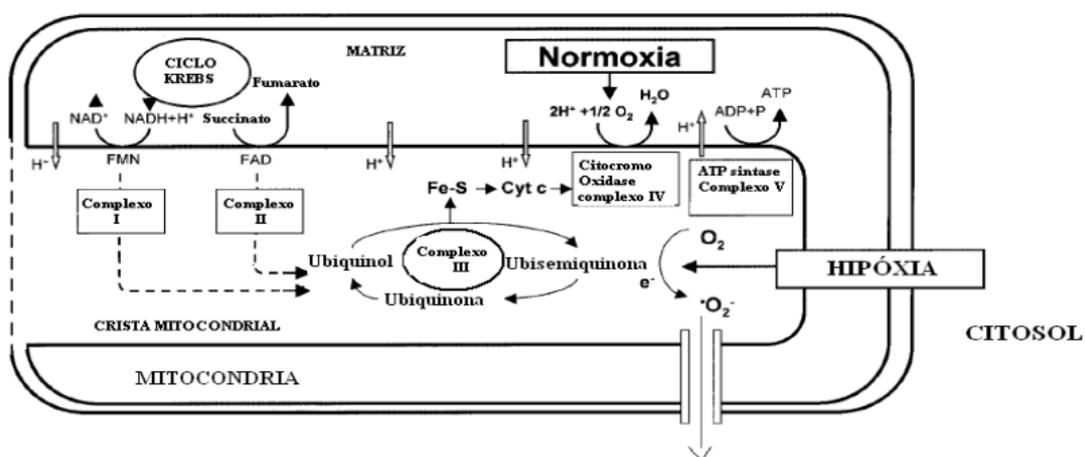


Figura 9 – Esquematização da formação de EROS durante a hipóxia (adaptado de Warnholtz *et al.*, 2002).

O desequilíbrio entre ERO e antioxidantes caracteriza o estresse oxidativo. O excesso de espécies reativas de oxigênio ou defesas antioxidantes ineficientes pode levar ao dano de biomoléculas como proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos.

164

2.3 Antioxidantes

Existem defesas contra os processos mediados pelas ERO que incluem os sistemas de defesas antioxidantes. Antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, comparada ao substrato oxidável, retarda ou inibe significativamente a oxidação deste substrato de maneira enzimática ou não enzimática.

165

A defesa do organismo contra as ERO funciona desde a prevenção da formação das ERO e interceptação de radicais formados até o reparo das células quando danificadas. Os sistemas que previnem a formação de ERO são considerados biomoléculas ligantes de metais (Fe^{2+} e Cu^+), ou seja, quelantes. As proteínas quelantes são de vital importância, pois previnem processos oxidativos catalisados por íons metálicos. As enzimas que controlam os níveis de ERO fazem parte do sistema endógeno e constituem-se pela superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx).¹⁶⁶

No mecanismo de isquemia/reperfusão, observa-se a formação de superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A falta de oxigênio ocorrida na hipóxia é lesiva, mas seguida de reperfusão é mais lesiva ainda, pois levará à formação de ERO, desencadeando, então, o processo conhecido como “paradoxo do oxigênio”, descrito em 1973, onde foi constatado que a reoxigenação abrupta do coração, após episódio isquêmico, produzia alterações substanciais no músculo cardíaco.

2.3.1 Melatonina

A Melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) é produzida na glândula pineal, e é conhecida como “hormônio da escuridão”. Sua produção máxima ocorre no escuro.¹⁶⁷ Estudos experimentais e clínicos mostram que a melatonina tem papel antioxidante, sendo, possivelmente, neuroprotetora, cardioprotetora e anticarcinogênica.¹⁶⁸ Entretanto, o mecanismo exato da ação da melatonina não é compreendido ainda claramente.¹⁶⁹

A melatonina parece proteger experimentalmente ratos induzidos a dano oxidativo ¹⁷⁰ e uma molécula de melatonina estabiliza membranas expostas aos radicais livres ¹⁷¹ e tem a capacidade de cruzar membranas biológicas e assim alcançar todos os compartimentos subcelulares, protegendo-os dos radicais livres, sem causar nenhuma toxicidade. ¹⁷²

2.3.2 N-acetilcisteína

A N-acetilcisteína é um composto tiólico que contém um grupo sulfidril formado pela seguinte fórmula química: $C_5H_9NO_3S$. Era amplamente usado na clínica médica como mucolítico expectorante ¹⁷³ com suas primeiras aplicações no tratamento de doenças congestivas e obstrutivas pulmonares associadas à hipersecreção. A NAC também é usada no tratamento da síndrome da angústia respiratória no adulto e em casos de imunodeficiência adquirida na infecção por HIV. ¹⁷⁴

Sua atividade antioxidante é dada principalmente por dois mecanismos: a) reduz diretamente o H_2O_2 e o $O_2\bullet-$ a espécies menos reativas formando radicais sulfúricos ou cisteína; b) promove a biossíntese de GSH que funciona como “scavenger” de radicais livres ou como substrato no ciclo redox da glutathiona. ¹⁷⁵

2.4 Modelos de hipóxia intermitente

Modelos de HI são utilizados com cães, coelhos e camundongos ou mesmo em culturas de células para simular os danos potenciais de pacientes com síndrome das apneias obstrutivas do sono. Estes experimentos, em sua totalidade, demonstraram alterações anatômicas e funcionais, em: reatividade simpática e vascular à hipóxia e hipercapnia; ¹⁷⁶ regulação do fator de crescimento endotelial vascular; ¹⁷⁷ dislipidemia ^{178, 179}, resistência a insulina e intolerância a glicose; ¹⁸⁰ pressão arterial sistêmica; ¹⁸¹ pressão arterial pulmonar; ¹⁸² eritropoese e massa do ventrículo direito; ¹⁸³ crescimento fetal; ¹⁸⁴ comportamento de crias de ratas expostas a hipóxia intermitente pré-natal. ¹⁸⁵ De interesse especial são aspectos como: sonolência; aprendizado espacial; ¹⁸⁶ neurônios do hipocampo; ^{187,188} metabolismo lipídico cerebral; ¹⁸⁹ serotonina ¹⁹⁰, pois indicam envolvimento do SNC na fisiopatogenia das consequências das apneias. Não existe modelo definitivo de s síndrome metabólica em animais. ¹⁹¹

A maioria dos modelos não acrescenta CO_2 ao N_2 inalado na câmara de HI. Com isso, os animais hiperventilam por causa da hipóxia e sofrem hipocapnia

intermitente. Nas apneias obstrutivas do sono, ocorre hipercapnia e hipóxia, ou seja, asfixia. Modelos de hipóxia intermitente isocápnica ou hipóxia intermitente asfíxica, por acrescentar CO₂ à mistura, obtêm alterações mais rapidamente.

3 JUSTIFICATIVA

A apneia do sono é doença grave e potencialmente fatal. As alterações metabólicas e seus mecanismos fisiopatológicos em pacientes com apneia do sono ainda não estão completamente esclarecidos, devido, principalmente, ao efeito de confusão com a obesidade. Evidências indicam a existência de elo comum entre SAHOS e SMet. O estudo das alterações metabólicas em modelos animais contribui significativamente para compreensão da fisiopatologia de alterações glicolípídicas por minimizar variações na genética, na dieta e no ambiente, incontornáveis no ser humano. A avaliação do efeito de antioxidantes permite inferir sobre o papel do estresse oxidativo na gênese de alterações metabólicas. Este estudo investiga o papel da hipóxia intermitente isocápnica, simulando apneia do sono, no metabolismo glicolípídico e o efeito da melatonina e N-acetilcisteína sobre esses parâmetros.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Investigar o efeito da hipóxia intermitente isocápnica e dos antioxidantes melatonina e N-acetilcisteína sobre o metabolismo glicolipídico.

4.2 Específicos

- Investigar o efeito da hipóxia intermitente isocápnica sobre o peso;
- Investigar o efeito da hipóxia intermitente isocápnica sobre os níveis séricos da glicose em jejum;
- Investigar o efeito da hipóxia intermitente isocápnica sobre os níveis séricos do colesterol total;
- Investigar o efeito da hipóxia intermitente isocápnica sobre os níveis séricos do HDL-colesterol;
- Investigar o efeito da hipóxia intermitente isocápnica sobre os níveis séricos dos triglicerídeos;
- Investigar o efeito dos antioxidantes melatonina e N-acetilcisteína sobre os níveis séricos da glicose, colesterol total, triglicerídeos e peso corporal após hipóxia intermitente isocápnica.

REFERÊNCIAS

-
- ¹ Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LR. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Med.* 2010; 11(5):441-6.
- ² Patil SP, Schneider H, Schwartz AR, Smith PL. Adult obstructive sleep apnea: pathophysiology and diagnosis. *Chest.* 2007;132(1):325-37.
- ³ Fletcher EC. Sympathetic over activity in the etiology of hypertension of obstructive Sleep apnea. *Sleep* 2003; 26: 15-9.
- ⁴ Ip MS, Lam B, Ng MM, Lam WK, Tsang KW, Lam KS. Obstructive sleep apnea is independently associated with insulin resistance. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165(5):670-6.
- ⁵ Polotsky VY, Li J, Punjabi NM, Rubin AE, Smith PL, Schwartz AR, O'Donnell CP. Intermittent hypoxia increases insulin resistance in genetically obese mice. *J Physiol.* 2003;552(Pt 1):253-64.
- ⁶ Aronsohn RS, Whitmore H, Van Cauter E, Tasali E. Impact of untreated obstructive sleep apnea on glucose control in type 2 diabetes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;181(5):507-13.
- ⁷ Schulz R, Eisele HJ, Reichenberger F, Seeger W. Obstructive sleep apnoea and metabolic syndrome. *Pneumologie.* 2008 Feb;62(2):88-91.
- ⁸ Lam JC, Ip MS. Sleep & the metabolic syndrome. *Indian J Med Res.* 2010;131:206-16.
- ⁹ Shaw JE, Punjabi NM, Wilding JP, Alberti KG, Zimmet PZ, International Diabetes Federation Taskforce on Epidemiology and Prevention. Sleep-disordered breathing and type 2 diabetes: a report from the International Diabetes Federation Taskforce on Epidemiology and Prevention. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 81: 2–12.
- ¹⁰ Punjabi NM, Brown WD, Walsh J, Erman M, Slade G, Neubauer D, Ferri R, Hong SC, Partinen M, Hines M, Weitz M. Do sleep disorders and associated treatments impact glucose metabolism? *Drugs.* 2009;69 2):13-27.
- ¹¹ Oktay B, Akbal E, Firat H, Ardiç S, Kizilgun M. CPAP treatment in the coexistence of obstructive sleep apnea syndrome and metabolic syndrome, results of one year follow up. *Acta Clin Belg.* 2009;64(4):329-34.
- ¹² de Lima AM, Franco CM, de Castro CM, Bezerra Ade A, Ataíde L Jr, Halpern A. Effects of nasal continuous positive airway pressure treatment on oxidative stress and adiponectin levels in obese patients with obstructive sleep apnea. *Respiration.* 2010;79(5):370-6.
- ¹³ Murri M, Alcázar-Ramírez J, Garrido-Sánchez L, Linde F, Alcaide J, Cardona F, Tinahones FJ. Oxidative stress and metabolic changes after continuous positive airway pressure treatment according to previous metabolic disorders in sleep apnea-hypopnea syndrome patients. *Transl Res.* 2009 ;154(3):111-21.
- ¹⁴ L Lavie, Obstructive Sleep apnoea syndrome—an oxidative stress disorder, *Sleep Med Rev* 2003; 7:35–51.
- ¹⁵ Grebe M, Eisele HJ, Weissmann N, Schaefer C, Tillmanns H, Seeger W, Schulz R. Antioxidant vitamin C improves endothelial function in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173(8):897-901.
- ¹⁶ Singh TD, Patial K, Vijayan VK, Ravi K. Oxidative stress and obstructive sleep apnoea syndrome. *Indian J Chest Dis Allied Sci.* 2009;51(4):217-24.

-
- ¹⁷ Wysocka E, Cofta S, Cymerys M, Gozdzik J, Torlinski L, Batura-Gabryel H. The impact of the sleep apnea syndrome on oxidant-antioxidant balance in the blood of overweight and obese patients. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59: 761-769.
- ¹⁸ Bertuglia S, Reiter RJ. Melatonin reduces microvascular damage and insulin resistance in hamsters due to chronic intermittent hypoxia. *J Pineal Res.* 2009;46(3):307-13.
- ¹⁹ Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemic/reperfused heart. *Cardiovasc Res.* 2003; 58:10-19.
- ²⁰ Hung MW, Tipoe GL, Poon AM, Reiter RJ, Fung ML. Protective effect of melatonin against hippocampal injury of rats with intermittent hypoxia. *J Pineal Res* 2008; 44: 214-221.
- ²¹ Winiarska K, Fraczyk T, Malinska D, Drozak J, Bryla J. Melatonin attenuates diabetes-induced oxidative stress in rabbits. *J Pineal Res.* 2006;40(2):168-76.
- ²² Koziróg M, Poliwczyk AR, Duchnowicz P, Koter-Michalak M, Sikora J, Broncel M. Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *J Pineal Res.* 2010.
- ²³ Nishida S. Metabolic effects of melatonin on oxidative stress and diabetes mellitus. *Endocrine.* 2005 ;27(2):131-6.
- ²⁴ Kamboj SS, Vasishtha RK, Sandhir R. N-acetylcysteine inhibits hyperglycemia-induced oxidative stress and apoptosis markers in diabetic neuropathy. *J Neurochem.* 2010;112(1):77-91.
- ²⁵ Cuzzocrea S, Mazzon E, Costantino G, Serraino I, De Sarro A, Caputi AP. Effects of N-acetylcysteine in a rat model of ischemia and reperfusion injury. *Cardiovascular Res.* 2000;47:537-48
- ²⁶ Liu JN, Zhang JX, Lu G, Qiu Y, Yang D, Yin GY, Zhang XL. The effect of oxidative stress in myocardial cell injury in mice exposed to chronic intermittent hypoxia.
- ²⁷ Banno K, Kryger MH. Sleep apnea: clinical investigations in humans. *Sleep Med.* 2007;8:400-426.
- ²⁸ Stephen GA, Eichling PS, SF Quan. Treatment of sleep disordered breathing and obstructive sleep apnea. *Minerva Med.* 2004; 95 (4):323-36.
- ²⁹ Dempsey JA, Veasey SC, Morgan B and O'Donnell C. Pathophysiology of sleep apnea. *Physiol Rev.* 2010; 90:47-112.
- ³⁰ Gupta RK, Chandra A, Verm AK, Kumar S. Obstructive sleep apnoea: a clinical review. *J Assoc Physicians India.* 2010;58:438-41.
- ³¹ Ruehland WR, Rochford PD, O'Donoghue FJ, Pierce RJ, Singh P, Thornton AT. Sleep. The new AASM criteria for scoring hypopneas: impact on the apnea hypopnea index. 2009; 1;32: 150-7.
- ³² Bradley TD, Brown I, Grossman R, Zamel N, Martinez, D, Phillipson EA, Hoffstein V. Pharyngeal Size In Snorers, Non-Snorers And Patients With Obstructive Sleep Apnea. *N England J Med* 1986;315:1327-1331.
- ³³ Leung RS. Sleep-disordered breathing: autonomic mechanisms and arrhythmias. *Prog Cardiovasc Dis.* 2009;51(4):324-38.
- ³⁴ Flemons WW. Obstructive sleep apnea. *N England J Med.* 2002;347(7):498-504.
- ³⁵ Drazen JM. Sleep apnea syndrome. *N England Med.* 2002;346(6):390.
- ³⁶ Shivalkar B, Van de Heyning C, Kerremans M, Rinkevich D, Verbraecken J, De Backer W, Vrints C. Obstructive sleep apnea syndrome: more insights on structural and functional cardiac alterations, and the effects of treatment with continuous positive airway pressure. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(7):1433-1439.

-
- ³⁷ Eckert DJ, Jordan AS, Merchia P, Malhotra A. Central sleep apnea: Pathophysiology and treatment. *Chest*. 2007;131:595-607.
- ³⁸ Olson LJ, Somers VK. Sleep apnea: implications for heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2007;4:63-69.
- ³⁹ Javaheri S. Heart failure and sleep apnea: emphasis on practical therapeutic options. *Clin Chest Med*. 2003;24:207-222.
- ⁴⁰ Bhadriraju S, Kemp CR Jr, Cheruvu M, Bhadriraju S. Sleep apnea syndrome: implications on cardiovascular diseases. *Crit Pathw Cardiol*. 2008;7(4):248-253.
- ⁴¹ Rochester CL, Mohsenin V. Respiratory complications of stroke. *Semin Respir Crit Care Med* 2002; 23:248-60.
- ⁴² Khayat R, Patt B, Hayes D Jr. Obstructive sleep apnea: the new cardiovascular disease. Part I: Obstructive sleep apnea and the pathogenesis of vascular disease. *Heart Fail Rev*. 2009;14(3):143-153.
- ⁴³ Bradley TD, Floras JS. Sleep apnea and heart failure: part II: central sleep apnea. *Circulation*. 2003;107:1822-1826.
- ⁴⁴ Strollo PJ, Rogers RM. Obstructive sleep apnea. *N England J Med*. 1996;334(2):99-104.
- ⁴⁵ 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;22:667-689.
- ⁴⁶ Whittle AT, Marshall I, Mortimore IL, Wraith PK, Sellar RJ, Douglas NJ. Neck soft tissue and fat distribution: comparison between normal men and women by magnetic resonance imaging. *Thorax* 1999; 54: 323-8.
- ⁴⁷ Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The occurrence of Sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Eng J Med* 1993; 328: 1230-1235.
- ⁴⁸ Morgan TD, Remmers JE. Phylogeny and animal models: An Uninhibited Survey. In: *Obstructive Sleep Apnea*, edited by Kushida CA. New York: Informa Healthcare USA, 2007.
- ⁴⁹ Young JW, McDonald JP. An investigation into the relationship between the severity of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome and the vertical position of the hyoid bone. *Surgeon* 2:145-151, 2004.
- ⁵⁰ Horner RL, Shea SA, McIvor J, Guz A. Pharyngeal size and shape during wakefulness and sleep in patients with obstructive sleep apnoea. *Q J Med*. 1989;72(268):719-35.
- ⁵¹ Schwab RJ, Pasirstein M, Pierson R, Mackley A, Hachadoorian R, Arens R, Maislin G, Pack AI. Identification of upper airway anatomic risk factors for obstructive sleep apnea with volumetric magnetic resonance imaging. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(5):522-30.
- ⁵² Watanabe T, Isono S, Tanaka A, Tanzawa H, Nishino T. Contribution of body habitus and craniofacial characteristics to segmental closing pressures of the passive pharynx in patients with sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(2):260-5.
- ⁵³ Lieberman DE, McCarthy RC. The ontogeny of cranial base angulation in humans and chimpanzees and its implications for reconstructing pharyngeal dimensions. *J Hum Evol* 36: 487-517,1999.
- ⁵⁴ Lieberman DE, McCarthy RC, Hiimae KM, Palmer JB. Ontogeny of postnatal hyoid and larynx descent in humans. *Arch Oral Biol* 46: 117-128, 2001.
- ⁵⁵ Davidson TM. The Great Leap Forward: the anatomic basis for the acquisition of speech and obstructive sleep apnea. *Sleep Med* 4:185-194, 2003.
- ⁵⁶ Morrell MJ, Arabi Y, Zahn B, Badr MS. Progressive retropalatal narrowing preceding obstructive apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 158: 1974-1981, 1998.

-
- ⁵⁷ Schwab RJ, Gupta KB, Geffter 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* 152: 1673–1689, 1995. In: Darlan Pase Rosa. *Estresse Oxidativo Hepático no modelo animal de apneia do sono: efeitos de diferentes tempos de exposição à hipóxia intermitente*. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas: Porto Alegre, BR-RS, 2010.
- ⁵⁸ Hudgel DW. Variable site of airway narrowing among obstructive sleep apnea patients. *J Appl Physiol* 61: 1403–1409, 1986.
- ⁵⁹ Morrison DL, Launois SH, Isono S, Feroah TR, Whitelaw WA, Remmers JE. Pharyngeal narrowing and closing pressures in patients with obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis* 148: 606–611, 1993.
- ⁶⁰ Nguyen ATD, Yim S, Malhotra Pathogenesis A. In: *Obstructive Sleep Apnea*, edited by Kushida CA. New York: Informa Healthcare USA, 2007.
- ⁶¹ Bacon WH, Turlot JC, Krieger J, Stierle JL. Cephalometric evaluation of pharyngeal obstructive factors in patients with sleep apneas syndrome. *Angle Orthod* 60: 115–122, 1990.
- ⁶² Riley R, Guilleminault C, Herran J, Powell N. Cephalometric analyses and flow-volume loops in obstructive sleep apnea patients. *Sleep* 6: 303–311, 1983.
- ⁶³ Rivlin J, Hoffstein V, Kalbfleisch J, McNicholas W, Zamel N, Bryan AC. Upper airway morphology in patients with idiopathic obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis* 129: 355–360, 1984.
- ⁶⁴ Malhotra A, Huang Y, Fogel RB, Pillar G, Edwards JK, Kikinis R, Loring SH, White DP. The male predisposition to pharyngeal collapse: importance of airway length. *Am J Respir Crit Care Med* 166: 1388–1395, 2002.
- ⁶⁵ Pae EK, Lowe AA, Fleetham JA. A role of pharyngeal length in obstructive sleep apnea patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 111: 12–17, 1997.
- ⁶⁶ Ciscar MA, Juan G, Martinez V, Ramon M, Lloret T, Minguez J, Armengot M, Marin J, Basterra J. Magnetic resonance imaging of the pharynx in SAHOS patients and healthy subjects. *Eur Respir J* 17: 79–86, 2001.
- ⁶⁷ Huang Y, White DP, Malhotra A. The impact of anatomic manipulations on pharyngeal collapse: results from a computational model of the normal human upper airway. *Chest* 128: 1324–1330, 2005.
- ⁶⁸ Brennick MJ, Pack AI, Ko K, Kim E, Pickup S, Maislin G, Schwab RJ. Altered upper airway and soft tissue structures in the New Zealand Obese mouse. *Am J Respir Crit Care Med* 179: 158–169, 2009.
- ⁶⁹ Series F, Cote C, Simoneau JA, Gelinias Y, St Pierre S, Leclerc J, Ferland R, Marc I. Physiologic, metabolic, and muscle fiber type characteristics of musculus uvulae in sleep apnea hypopnea syndrome and in snorers. *J Clin Invest* 95: 20–25, 1995.
- ⁷⁰ Shelton KE, Woodson H, Gay S, Suratt PM. Pharyngeal fat in obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis* 148: 462–466, 1993.
- ⁷¹ Stauffer JL, Buick MK, Bixler EO, Sharkey FE, Abt AB, Manders EK, Kales A, Cadieux RJ, Barry JD, Zwillich CW. Morphology of the uvula in obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis* 140: 724–728, 1989.
- ⁷² Marcus CL. Sleep-disordered breathing in children. *Am J Respir Crit Care Med* 164: 16–30, 2001.
- ⁷³ Carpagnano GE, Kharitonov SA, Resta O, Foschino-Barbaro MP, Gramiccioni E, Barnes PJ. Increased 8-isoprostane and interleukin-6 in breath condensate of obstructive sleep apnea patients. *Chest* 2002;122:1162–1167.
- ⁷⁴ Somers, V.K.; Mark, A.L.; Zavala, D.C.; Abboud, F.M. Contrasting effects of hypoxia and hypercapnia on ventilation and sympathetic activity in humans. *J. Appl. Physiol.*, 1989; 67: 2101–2106.

-
- ⁷⁵ Narkiewicz, K.; Montano, N.; Cogliati, C.; Van de Borne, P.J.; Dyken, M.E.; Somers, V.K. Altered cardiovascular variability in obstructive sleep apnea. *Circulation*, 1998; 98 (11): 1071–1077.
- ⁷⁶ Serebrovskaya, T.V.; Manukhina, E.B.; Smith, M.L.; Downey, H.F.; Mallet, R.T. Intermittent hypoxia: cause of or therapy for systemic hypertension? *Exp. Biol. Med.* v. 233, n. 6, p. 627-650, 2008.
- ⁷⁷ Fletcher, E.C.; Bao, G. The rat as a model of chronic recurrent episodic hypoxia and effect upon systemic blood pressure. *Sleep*, v. 19, p. S210–212, 1996.
- ⁷⁸ Fletcher, E.C. Effect of episodic hypoxia on sympathetic activity and blood pressure. *Respir. Physiol.*, v. 119, p. 189-197, 2000.
- ⁷⁹ Fletcher, E.C. Physiological consequences of intermittent hypoxia: systemic blood pressure. *J. Appl. Physiol.*, v. 90, p. 1600-1605, 2001.
- ⁸⁰ Perry, J.C.; D’Almeida, V.; Souza, F.G.; Schoorlemmer, G.H.; Colombari, E.; Tufik, S. Consequences of subchronic and chronic exposure to intermittent hypoxia and sleep deprivation on cardiovascular risk factors in rats. *Respir. Physiol. Neurobiol.*, v. 156, n. 3, p. 250-258, 2007.
- ⁸¹ Kapur VK. Obstructive sleep apnea: diagnosis, epidemiology, and economics. *Respir Care*. 2010;55(9):1155-67.
- ⁸² Ross SD, Sheinait IA, Harrison KJ, et al. Systematic review and meta-analysis of the literature regarding the diagnosis of Sleep apnea. *Sleep*. 2000; 23: 519-32.
- ⁸³ Malhotra A, White DP. Obstructive Sleep apnoea. *Lancet* 2002; 360(9328): 237- 45.
- ⁸⁴ Kushida CA, Littner MR, Morgenthaler T, Alessi CA, Bailey D, Coleman J JR, Friedman L, Hirshkowitz M, Kapen S, Kramer M, Lee-Chiong T, Loube DL, Owens J, Pancer JP, Wise M. Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: an update for 2005. *Sleep*. 2005; 28:499-521.
- ⁸⁵ Gus M, Nunes DS, Fernandes J, Cunha CP, Sant’Anna GD. Escala de Sonolência de Epworth em pacientes com diferentes valores na Monitorização Ambulatorial de Pressão Arterial. *Arq Bras Cardiol* 2002; 78: 21-4.
- ⁸⁶ Miletin MS, Hanly PJ. Measurement properties of the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep Med* 2003;4:195–199.
- ⁸⁷ Johns MW - A new method for measuring daytime Sleepiness: The Epworth Sleepiness Scale. *Sleep* 1991; 14: 540-45.
- ⁸⁸ Johns MW - Reliability and factor analysis of the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep* 1992; 15: 376-81.
- ⁸⁹ Abrishami A, Khajehdehi A, Chung F. A systematic review of screening questionnaires for obstructive sleep apnea. *Can J Anaesth*. 2010;57(5):423-38.
- ⁹⁰ Netzer 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.
- ⁹¹ Silverberg DS, Oksenberg A, Iaina A - Sleep related breathing disorders are common contributing factors to the production of essential hypertension but are neglected, underdiagnosed, and undertreated. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1319-25.
- ⁹² Redline S, Strauss ME, Adams N, Winters M, Roebuck T, Spry K, Rosenberg C, and Adams K. Neuropsychological function in mild sleep-disordered breathing. *Sleep* 20: 160–167,1997.
- ⁹³ Leung RS, Bradley TD. Sleep apnea and cardiovascular disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(12):2147-2165.
- ⁹⁴ Caples SM, Gami AS, Somers VK. Obstructive Sleep apnea. *Ann Intern Med* 2005; 142: 187-97.

-
- ⁹⁵ Veasey SC, Davis CW, Fenik P, Zhan G, Hsu YJ, Pratico D, Gow A. Long-term intermittent hypoxia in mice: protracted hypersomnolence with oxidative injury to sleep-wake brain regions. *Sleep*. 2004;27:194-201.
- ⁹⁶ Xu W, Chi L, Row BW, Xu R, Ke Y, Xu B, Luo C, Kheirandish L, Gozal D, Liu R. Increased oxidative stress is associated with chronic intermittent hypoxia-mediated brain cortical neuronal cell apoptosis in a mouse model of sleep apnea. *Neuroscience* 2004;126:313–323.
- ⁹⁷ Mehran R, Benjamin EJ, Shahar E, Gottlieb DJ, Nawabit R, Kirchner HL, Sahadevan J, Redline S. Association of Nocturnal Arrhythmias with Sleep-disordered Breathing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 173: 910-916.
- ⁹⁸ Bradley, TD, Floras, JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *Lancet* 2009; 3;373(9657):82-93.
- ⁹⁹ Ellen RL, Marshall SC, Palayew M, Molnar FJ, Wilson KG, Man-Son-Hing M. Systematic review of motor vehicle crash risk in persons with sleep apnea. *J Clin Sleep Med*. 2006;2(2):193-200.
- ¹⁰⁰ Tregear S, Reston J, Schoelles K, Phillips B. Obstructive sleep apnea and risk of motor vehicle crash: systematic review and meta-analysis. *J Clin Sleep Med*. 2009;5(6):573-581.
- ¹⁰¹ Noce F, Tufik S, Mello MT. Professional drivers and working time: journey span, rest, and accidents. *Sleep Science* 2008; 1: 20-26.
- ¹⁰² Horstmann S, Hess CW, Bassetti C, Gugger M, Mathis J. Sleepiness-related accidents in Sleep apnea patients. *Sleep* 2000 (1); 23 (3): 383-9.
- ¹⁰³ Mulgrew AT, Ryan CF, Feetham JÁ, Cheema R, Fox N, Koehoorn M, Fitzgerald JM, Marra C, Ayas NT. The impact of obstructive sleep apnea and daytime sleepiness on work limitation. *Sleep Med*. 2007;9:42-53.
- ¹⁰⁴ Canani SF, John AB, Raymundi MG, Schönwald S, Menna Barreto SS. Prevalence of sleepiness in a group of Brazilian lorry drivers. *Public Health*. 2005;119:925-929.
- ¹⁰⁵ Martinez D. In: PALOMBINI, Bruno C. et al. *Doenças das vias aéreas: Uma Visão Clínica Integradora (Viaerologia)*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2001. 435-438p.
- ¹⁰⁶ Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between sleep disordered breathing and hypertension. *N England J Med*. 2000;342:1378-1384.
- ¹⁰⁷ Yaggi HK, Concato J, Kernan WN, Lichtman JH, Brass LM, Mohsenin V. Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death. *N Engl J Med*. 2005;10;353(19):2034-41.
- ¹⁰⁸ Dyken ME, Somers VK, Yamada T, Ren ZY, Zimmerman MB. Investigating the relationship between stroke and obstructive sleep apnea. *Stroke*. 1996;27:401-407.
- ¹⁰⁹ Hayashi M, Fujimoto K, Urushibata K, Uchikawa S, Imamura H, Kubo K. Nocturnal oxygen desaturation correlates with the severity of coronary atherosclerosis in coronary artery disease. *Chest*. 2003;124(3):936-41.
- ¹¹⁰ Shahar E, Whitney CW, Redline S, et al. 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.
- ¹¹¹ Shamsuzzaman AS, Gersh BJ, Somers VK. Obstructive sleep apnea: implications for cardiac and vascular disease. *JAMA* 2003;290(14): 1906-1914.
- ¹¹² Klein C, Martinez D, Hackenhaar FS, Medeiros TM, Marcolin ML, Silveira FS, Wainstein MV, Gonçalves SC, Benfato MS. Carbonyl groups: Bridging the gap between sleep disordered breathing and coronary artery disease. *Free Radic. Res* 2010;44(8):907-912.

-
- ¹¹³ Yamauchi M, Nakano H, Maekawa J, Okamoto Y, Ohnishi Y, Suzuki T, Kimura H. Oxidative stress in obstructive sleep apnea. *Chest* 2005;127(5):1674-1679.
- ¹¹⁴ Baguet J, Hammer L, Lévy P, Pierre H, Launois S, Mallion J, Pépin J. The severity of oxygen desaturation is predictive of carotid wall thickening and plaque occurrence. *Chest* 2005;128(5):3407-3412.
- ¹¹⁵ Punjabi NM, Newman AB, Young TB, Resnick HE, Sanders MH. Sleep-disordered Breathing and Cardiovascular Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177(10):1150-1155.
- ¹¹⁶ Sands SA, Edwards BA, Kelly VJ, Skuza EM, Davidson MR, Wilkinson MH, Berger PJ. Mechanism underlying accelerated arterial oxygen desaturation during recurrent apnea. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2010;182(7):961-969.
- ¹¹⁷ Tassone F, Lanfranco F, Gianotti L, et al. Obstructive sleep apnoea syndrome impairs insulin sensitivity independently of anthropometric variables. *Clin Endocrinol.*2003;59:374-9.
- ¹¹⁸ Minoguchi K, Tazaki T, Yokoe T, Minoguchi H, Watanabe Y, Yamamoto M, Adachi M. Elevated production of tumor necrosis factor-alpha by monocytes in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Chest.* 2004;126(5):1473-9.
- ¹¹⁹ Yokoe T, Minoguchi K, Matsuo H, Oda N, Minoguchi H, Yoshino G, Hirano T, Adachi M. Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure. *Circulation.* 2003;107(8):1129-34.
- ¹²⁰ Mugnai G. Pathophysiological links between obstructive sleep apnea syndrome and metabolic syndrome. *G Ital Cardiol (Rome).* 2010;11(6):453-9.
- ¹²¹ Gruber A, Horwood F, Sithole J, Ali NJ, Idris I. Obstructive Sleep apnoea is independently associated with the metabolic syndrome but not insulin resistance state. *Cardiovasc Diabetol* 2006; 5:22.
- ¹²² Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; 365:1415–1428.
- ¹²³ Grundy,SM, Brewer,B, Cleeman,SD. Definition of metabolic syndrome:report of the national Heart, Lung and blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation* 2004; 27: 433-438.
- ¹²⁴ Kono M, Tatsumi K, Saibara T, Nakamura A, Tanabe N, Takiguchi Y, Kuriyama T. Obstructive Sleep Apnea Syndrome Is Associated With Some Components of Metabolic Syndrome. *CHEST* 2007; vol. 131 no. 5: 1387-1392.
- ¹²⁵ Tasali E, Ip MS. Obstructive Sleep apnea and metabolic syndrome: alterations in glucose metabolism and inflammation. *Proc Am Thorac Soc.* 2008 15;5(2):207-17.
- ¹²⁶ Lam JC, Ip MS. An update on obstructive sleep apnea and the metabolic syndrome. *Curr Opin Pulm Med.* 2007 ;13(6):484-9.
- ¹²⁷ Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, Calverley PM, Wilding JP.Obstructive Sleep apnoea is independently associated with an increase and prevalence of metabolic syndrome. *Eur Heart J* 2004;25:735–741.
- ¹²⁸ Nieto FJ, Young TB, Lind BK, Shahar E, Samet JM, Redline S, D'Agostino RB, Newman AB, Lebowitz MD, Pickering TG. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. *JAMA.* 2000;283(14):1829-36.
- ¹²⁹ Chin K, Shimizu K, Nakamura T, Narai N, Masuzaki H, Ogawa Y, Mishima M, Nakamura T, Nakao K, Ohi M. Changes in intra-abdominal visceral fat and serum leptin levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome following nasal continuous positive airway pressure therapy. *Circulation.* 1999;17;100(7):706-12.

-
- ¹³⁰ Punjabi NM, Shahar E, Redline S, Gottlieb DJ, Givelber R, Resnick HE; Sleep Heart Health Study Investigators. Sleep-disordered breathing, glucose intolerance, and insulin resistance: the Sleep Heart Health Study. *Am J Epidemiol*. 2004;160(6):521-30.
- ¹³¹ Resnick HE, Redline S, Shahar E, Gilpin A, Newman A, Walter R, Ewy GA, Howard BV, Punjabi NM; Sleep Heart Health Study. Diabete and sleep disturbances: findings from the Sleep Heart Health Study. *Diabete Care*. 2003;26(3):702-9.
- ¹³² Venkateswaran S, Shankar P. The prevalence of syndrome Z (the interaction of obstructive sleep apnoea with the metabolic syndrome) in a teaching hospital in Singapore. *Postgrad Med J*. 2007;83(979):329-31.
- ¹³³ Wilcox I, McNamara SG, Collins FL, Grunstein RR, Sullivan CE. "Syndrome Z": the interaction of sleep apnoea, vascular risk factors and heart disease. *Thorax* 1998;53:S25-S28.
- ¹³⁴ Sasanabe R, Banno K, Otake K, Hasegawa R, Usui K, Morita M, Shiomi T. Metabolic syndrome in Japanese patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Hypertens Res*. 2006;29(5):315-22.
- ¹³⁵ Cuhadaroglu C, Utkusavas A, Oztürk L, Salman S, Ece T. Effects of nasal CPAP treatment on insulin resistance, lipid profile, and plasma leptin in sleep apnea. *Lung*. 2009;187(2):75-81.
- ¹³⁶ Vgontzas AN, Bixler EO, Chrousos GP. Sleep apnea is a manifestation of the metabolic syndrome. *Sleep Med Rev*. 2005;9(3):211-24.
- ¹³⁷ Gottlieb DJ, Punjabi NM, Newman AB et al. Association of sleep time with diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Arch Intern Med* 2005; 165: 863-867.
- ¹³⁸ Reichmuth KJ, Austin D, Skatrud JB, Young T. Association of sleep apnea and type II diabetes: a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 1590-1595.
- ¹³⁹ Sanders MH, Givelber R. Sleep disordered breathing may not be an independent risk factor for diabetes, but diabetes may contribute to the occurrence of periodic breathing in sleep. *Sleep Med*. 2003;4(4):349-50.
- ¹⁴⁰ Meslier N, Gagnadoux F, Giraud P, Person C, Oukel H, Urban T, Racineux JL. Impaired glucose-insulin metabolism in males with obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir J*. 2003 Jul;22(1):156-60.
- ¹⁴¹ A Elmasry, E Lindberg, Berna C, et al. Distúrbios respiratórios do sono e do metabolismo de glicose em homens hipertensos: um estudo de base populacional. *J Intern Med* 2001; 249: 153-161.
- ¹⁴² West SD, Nicoll DJ, Stradling JR. Prevalência da apnéia obstrutiva do sono em homens com diabetes tipo 2. *Tórax* 2006; 61: 945-950.
- ¹⁴³ Liyori N, Alonso LC, Li J et al. Intermittent hypoxia causes insulin resistance in lean mice independent of autonomic activity. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 15: 851-857.
- ¹⁴⁴ Neumann C, Martinez D, Schmid H. Nocturnal oxygen desaturation in diabetic patients with severe autonomic neuropathy. *Diabete Res Clin Pract*. 1995;28(2):97-102.
- ¹⁴⁵ Marshall NS, Wong KK, Phillips CL, Liu PY, Knuiman MW, Grunstein RR. Is sleep apnea an independent risk factor for prevalent and incident diabete in the Busselton Health Study? *J Clin Sleep Med*. 2009;15;5(1):15-20.
- ¹⁴⁶ Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*. 1973;134(3):707-16.
- ¹⁴⁷ Farber JL, Kyle ME, Coleman JB. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest*. 1990; 62(6):670-9.
- ¹⁴⁸ Suzuki YJ, Ah-Mee p, Jain V, Day RM. Oxidative stress in obstructive sleep apnea: Need for continuous monitoring. *Free Rad Biol Med*. 2007; 42:895.

-
- ¹⁴⁹ Halliwell B, Gutteridge JMC. Antioxidant defences: endogenous and diet derived. Free radicals in biology and Medicine. 2007; 3rd ed. New York: Oxford University Press, 79-186.
- ¹⁵⁰ Genestra M. Oxy radicals, redox-sensitive signaling cascades and antioxidants. *Cel Sig.* 2007; 19: 1807-1819.
- ¹⁵¹ Hensley K, Robinson KA, Gabbaita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive Oxygen Species, Cell Signaling, and Cell Injury. *Free Rad Biol Med.* 2000; 28: 1456-1462.
- ¹⁵² Guzy RD, Schumacker PT. Oxygen sensing by mitochondria at complex III: the paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Exp Physiol.* 2006;91(5):807-19.
- ¹⁵³ Rudich A, Tirosh A, Potashnik R, Hemi R, Kanety H, Bashan N. Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes.* 1998;47(10):1562-9.
- ¹⁵⁴ Maddux BA, See W, Lawrence JC Jr, Goldfine AL, Goldfine ID, Evans JL. Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of alpha-lipoic acid. *Diabetes.* 2001;50(2):404-10.
- ¹⁵⁵ Matsuoka T, Kajimoto Y, Watada H, Kaneto H, Kishimoto M, Umayahara Y, Fujitani Y, Kamada T, Kawamori R, Yamasaki Y. Glycation-dependent, reactive oxygen species-mediated suppression of the insulin gene promoter activity in HIT cells. *J Clin Invest.* 1997;99(1):144-50.
- ¹⁵⁶ Nakazono K, Watanabe N, Matsuno K, Sasaki J, Sato T, Inoue M. Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(22):10045-8.
- ¹⁵⁷ Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest.* 1993;91(6):2546-51.
- ¹⁵⁸ Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994; 10;344 (8924):721-4.
- ¹⁵⁹ Peres W, Tunon MJ, Collado PS, Herrmann S, Marroni N, Gonzalez-Gallego J. The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. *J Hepatol.* 2000;33(5):742-50.
- ¹⁶⁰ Afanas'ev IB, Ostrachovitch EA, Abramova NE, Korkina LG. Different antioxidant activities of bioflavonoid rutin in normal and iron-overloading rats. *Biochem Pharmacol.* 1995; 25;50(5):627-35.
- ¹⁶¹ Park AM, Suzuki YJ. Effects of Intermittent hypoxia on oxidative stress-induced myocardial damage in mice. *Appl Physiol.* 2007; 102: 1806-1814.
- ¹⁶² Prabhakar NR, Kumar GK, Nanduri J. Intermittent hypoxia-mediate plasticity of acute O₂ sensing requires altered red-ox regulation by HIF-1 and HIF-2. *Ann NY Acad Sci.* 2009; 1177: 162-8.
- ¹⁶³ Warnholtz A, Wendt M, Münzel T. When sleeping beauty turns ugly: mitochondria in hypoxia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(4):525-7.
- ¹⁶⁴ Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
- ¹⁶⁵ Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *J R Soc Med.* 1989;82(12):747-52.
- ¹⁶⁶ Cimen MY. Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin Chim Acta.* 2008;390(1-2):1-11.
- ¹⁶⁷ Arendt J. Melatonin: characteristics, concerns, and prospects. *J Biol Rhythms.* 2005;20(4):291-303.
- ¹⁶⁸ Escames G, López LC, Ortiz F, López A, García JA, Ros E, Acuña-Castroviejo D. Attenuation of cardiac mitochondrial dysfunction by melatonin in septic mice. *FEBS J.* 2007;274(8):2135-47.

-
- ¹⁶⁹ Raza H, John A, Brown EM, Benedict S, Kambal A. Alterations in mitochondrial respiratory functions, redox metabolism and apoptosis by oxidant 4-hydroxynonenal and antioxidants curcumin and melatonin in PC12 cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;226(2):161-8.
- ¹⁷⁰ El-Missiry MA, Fayed TA, El-Sawy MR, El-Sayed AA. Ameliorative effect of melatonin against gamma-irradiation-induced oxidative stress and tissue injury. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2007;66(2):278-86.
- ¹⁷¹ Reiter RJ, Guerrero JM, Garcia JJ, Acuña-Castroviejo D. Reactive oxygen intermediates, molecular damage, and aging. Relation to melatonin. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;854:410-24.
- ¹⁷² Millán-Plano S, García JJ, Martínez-Ballarín E, Reiter RJ, Ortega-Gutiérrez S, Lázaro RM, Escanero JF. Melatonin and pinoline prevent aluminium-induced lipid peroxidation in rat synaptosomes. *J Trace Elem Med Biol.* 2003;17(1):39-44.
- ¹⁷³ Ziment I. Acetylcysteine: a drug that is much more than a mucokinetic. *Biomed Pharmacother.* 1988;42(8):513-9.
- ¹⁷⁴ Särnstrand B, Tunek A, Sjödin K, Hallberg A. Effects of N-acetylcysteine stereoisomers on oxygen-induced lung injury in rats. *Chem Biol Interact.* 1995;94(2):157-64.
- ¹⁷⁵ Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med.* 1989;6(6):593-7.
- ¹⁷⁶ Greenberg HE, Sica A, Batson D, and Scharf SM. Chronic intermittent hypoxia increases sympathetic responsiveness to hypoxia and hypercapnia. *J Appl Physiol* 1999; 86: 298–305.
- ¹⁷⁷ Patt S, Danner S, Theallier-Janko A, Breier G, Hottenrott G, Plate KH, Cervos-Navarro J. Upregulation of vascular endothelial growth factor in severe chronic brain hypoxia of the rat. *Neurosci Lett.* 1998; 252: 199–202.
- ¹⁷⁸ Li J, Grigoryev DN, Ye SQ, Thorne L, Schwartz AR, Smith PL, O'Donnell CP, Polotsky VY. Chronic intermittent hypoxia upregulates genes of lipid biosynthesis in obese mice. *J Appl Physiol.* 2005; 99(5):1643-8.
- ¹⁷⁹ Li J, Thorne LN, Punjabi NM, Sun CK, Schwartz AR, Smith PL, Marino RL, Rodriguez A, Hubbard WC, O'Donnell CP, Polotsky VY. Intermittent hypoxia induces hyperlipidemia in lean mice. *Circ Res.* 2005; 30;97(7):698-706.
- ¹⁸⁰ Jun J, Polotsky VY. Sleep disordered breathing and metabolic effects: evidence from animal models. *Sleep Med Clin.* 2007 Jun;2(2):263-277.
- ¹⁸¹ Brooks D, Horner RL, Kozar LG, Render-Teixeira CL, Phillipson EA. Obstructive sleep apnea as a cause of systemic hypertension. Evidence from a canine model. *J Clin Invest* 99:106–109, 1997.
- ¹⁸² Fagan KA. Selected Contribution: Pulmonary hypertension in mice following intermittent hypoxia. *J Appl Physiol.* 2001;90:2502-7.
- ¹⁸³ McGuire M and Bradford A. Chronic intermittent hypoxia increases haematocrit and causes right ventricular hypertrophy in the rat. *Respir Physiol* 117: 53–58, 1999.
- ¹⁸⁴ Schwartz JE, Kovach A, Meyer J, McConnell C, Iwamoto HS. Brief, intermittent hypoxia restricts fetal growth in Sprague-Dawley rats. *Biol Neonate* 73: 313–319, 1998.
- ¹⁸⁵ Hermans RH, Hunter DE, McGivern RF, Cain CD, Longo LD. Behavioral sequelae in young rats of acute intermittent antenatal hypoxia. *Neurotoxicol Tecamundongol* 14: 119–129, 1992.
- ¹⁸⁶ Row BW, Liu R, Xu W, Kheirandish L, Gozal D. Intermittent hypoxia is associated with oxidative stress and spatial learning deficits in the rat. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:1548-53.

-
- ¹⁸⁷ Goldbart A, Cheng ZJ, Brittian KR, Gozal D. Intermittent hypoxia induces time-dependent changes in the protein kinase B signaling pathway in the hippocampal CA1 region of the rat. *Neurobiol Dis.* 2003;14:440-6.
- ¹⁸⁸ Goldbart A, Row BW, Kheirandish L, Schurr A, Gozal E, Guo SZ, Payne RS, Cheng Z, Brittian KR, Gozal D. Intermittent hypoxic exposure during light phase induces changes in cAMP response element binding protein activity in the rat CA1 hippocampal region: water maze performance correlates. *Neuroscience* 2003;122:585-90.
- ¹⁸⁹ Alberghina M and Giuffrida AM. Effect of hypoxia on the incorporation of [2-3H]glycerol and [1-14C] palmitate into lipids of various brain regions. *J Neurosci Res* 6: 403–419, 1981.
- ¹⁹⁰ McNamara MC, Gingras-Leatherman JL, and Lawson EE Effect of hypoxia on brainstem concentration of biogenic amines in postnatal rabbits. *Brain Res* 390: 253–258, 1986.
- ¹⁹¹ Polotsky VY. Mouse model of the metabolic syndrome: the quest. *J Appl Physiol.* 2007;102(6):2088-9.