### Anna Myrna Jaguaribe de Lima

# Efeito do CPAP sobre o stress oxidativo e níveis de adiponectina em pacientes obesos com apnéia obstrutiva do sono

Tese apresentada a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Endocrinologia

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Halpern

SÃO PAULO

2007

### Anna Myrna Jaguaribe de Lima

# Efeito do CPAP sobre o stress oxidativo e níveis de adiponectina em pacientes obesos com apnéia obstrutiva do sono

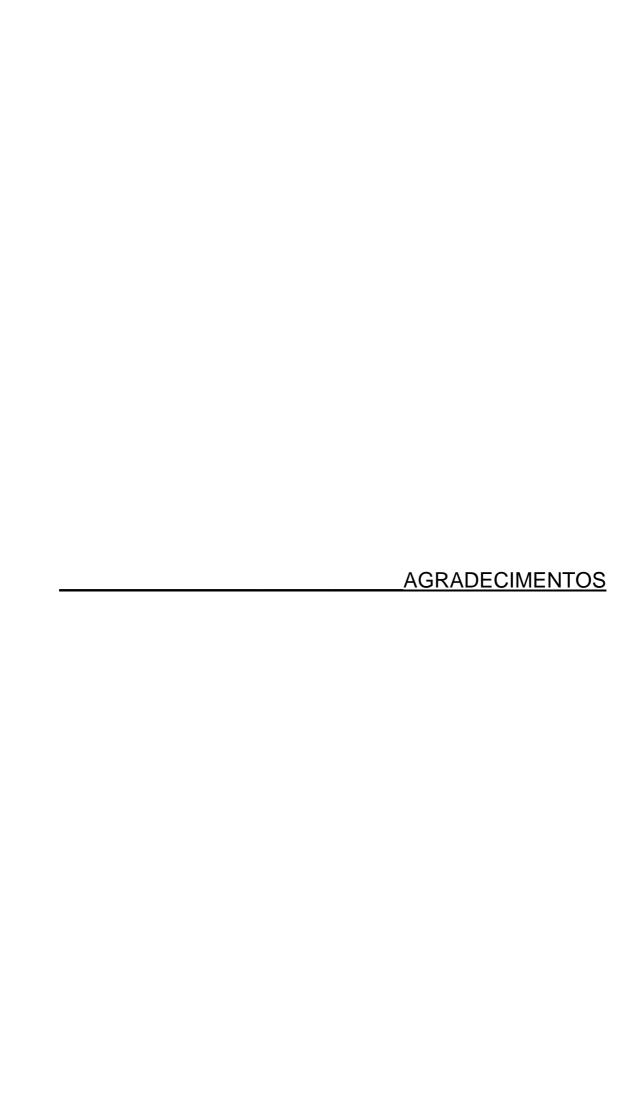
Tese apresentada a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Endocrinologia

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Halpern

SÃO PAULO

2007



Ao concluir esta tese de Doutorado, sinto que mais uma etapa que tracei para minha vida foi cumprida. Mas, para que esse momento tão desejado chegasse, não caminhei sozinha e gostaria de agradecer, em especial:

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Alfredo Halpern, pela oportunidade que me foi dada e pela confiança que depositou em mim;

A Profa. D<sup>ra</sup>. Célia Castro, por abrir as portas de seu laboratório para realização deste trabalho, sem ela, teria sido inviável a realização do mesmo;

Aos meus pais, pela base familiar que me proporcionaram, pelos exemplos de honestidade e perseverança, pela torcida constante e pela presença firme, que me possibilitou ter forças pra chegar até aqui;

Às minhas irmãs, Oscar, meus tios, em especial a minha Tia Vicência, sempre motivadora, e um exemplo de dedicação e competência profissional;

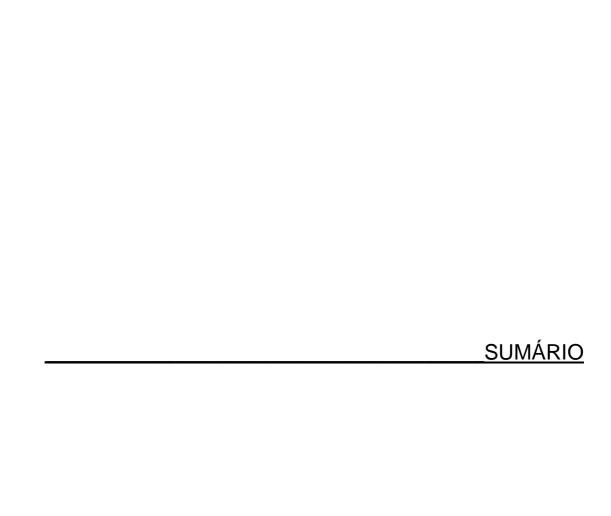
A Cida, pela ajuda via e-mail e telefone, que tantas vezes precisei;

Aos meus amigos da Faculdade Integrada do Recife, sempre torcendo, em especial, a Profa. Dayse Amorim, ao Prof. Evandro Duarte e a Profa. Carmem Monteiro, pois, cada um ao seu jeito, viabilizou a minha vinda a São Paulo e a concretização dessa tese de Doutorado;

Aos amigos Carla Fabiana da Silva Toscano, Mallison Vasconcelos, Alexandre Motta Bittencourt, Susan Lewis, Michele Kovacs, pelo apoio incondicional;

A Deus, por me fazer forte, nos momentos em que eu quis fraquejar, por me fazer ver além das possibilidades, quando as dificuldades surgiram e por me fazer capaz de correr atrás e alcançar minhas metas;

Àqueles que tiveram participação direta ou indireta na conclusão deste trabalho e que, porventura, tenham sido omitidos.



## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

**LISTA DE TABELAS** 

**LISTA DE FIGURAS** 

**RESUMO** 

**SUMMARY** 

1.	INTRODUÇÃO	1
	1.1 Apnéia Obstrutiva do Sono e Obesidade:	
	Considerações Gerais	2
	1.2 Fisiopatologia da Apnéia Obstrutiva do	
	Sono	3
	1.3 Uso Terapêutico da Pressão Positiva das Vias Aéreas	
	(Continuous Positive Airway Pressure-CPAP) na Apnéia	
	Obstrutiva do Sono	6
	1.4 Apnéia Obstrutiva do Sono, Resistência à Insulina e	
	Stress Oxidativo	8
2.	OBJETIVOS	12
3.	MATERIAL E MÉTODOS	14
	3.1 Amostra e Critérios de Inclusão	15
	3.2 Critérios de Exclusão	15
	3.3 Medidas Antropométricas	16
	3.4 Polissonografia	16

3.5 Uso do CPAP	17
3.6 Determinação dos Parâmetros Bioquímicos	17
3.7 Resistência à Insulina	18
3.8 Dosagem para Adiponectina	18
3.9 Dosagem para Superóxido	19
3.9.1 Obtenção de Monócitos a Partir do Sangue	
Periférico	19
3.9.2 Produção do Ãnion Superóxido	20
3.9.3 Determinação Espectrofotométrica	21
3.10 Dosagem para Óxido Nítrico	22
3.11 Análise Estatística	22
4. RESULTADOS	23
4.1 Correlação entre o Índice Apnéia-Hipopnéia e a	
Produção de Superóxido em Pacientes Obesos Portadores	
de Apnéia Obstrutiva do Sono	31
4.2 Correlação entre o Índice Apnéia-Hipopnéia e os Níveis	
de Nitritos e Nitratos Séricos em Pacientes Obesos	
Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono	32
4.3 Correlação entre a Produção de Superóxido e os	
Níveis de Nitrito e Nitratos Séricos em Pacientes Obesos	
Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono	33
4.4 Correlação entre a Produção de Superóxido e os Níveis	
de Adiponectina em Pacientes Obesos Portadores de	
Apnéia Obstrutiva do Sono	34

	4.5 Correlação entre a Produção de Nitritos e Nitratos	
	Séricos e os Níveis de Adiponectina em Pacientes Obesos	
	Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.	35
	4.6 Correlação entre o Índice Apnéia-Hipopnéia e os Níveis	
	de Adiponectina em Pacientes Obesos Portadores de	
	Apnéia Obstrutiva do Sono	36
	4.7 Correlação entre o Índice Apnéia-Hipopnéia e o HOMA-	
	IR em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva	
	do Sono	37
	4.8 Correlação entre a Produção de Superóxido e o HOMA-	
	IR em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva	
	do Sono.	38
	4.9 Correlação entre a Produção de Nitritos e Nitratos	
	Séricos e o HOMA-IR em Pacientes Obesos Portadores de	
	Apnéia Obstrutiva do Sono	39
5.	DISCUSSÃO	40
6.	CONCLUSÕES	51
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53



#### LISTA DE ABREVIATURAS

AGLs- Ácidos Graxos Livres

AOS- Apnéia Obstrutiva do Sono

CPAP- Pressão Positiva Contínua das Vias Aéreas

DO- Densidade Ótica

eNOS- NO sintase endotelial

ET-1- Endotelina-1

FC- Freqüência Cardíaca

GH- Hormônio do Crescimento

GLUT-4- Transportador de Glicose-4

HDL- Lipoproteína de Alto Peso Molecular

HIF-1- Fator-1 Hipóxia Induzido

HOMA-IR- Homeostasis Model Assessment of Insulin

IAH- Índice Apnéia-Hipopnéia

IKKβ- Complexo  $\beta$  IκB Kinase

IL-6- Interleucina-6

IMC- Índice de Massa Corpórea

IOTF- International Obesity Task Force

IP3-kinase- Inositol 1,4,5-trisfosfato 3-kinase

IRS-1- Substrato 1 do Receptor de Insulina

K- Constante Calculada para o Volume Final em Cada Poço.

LDL- Lipoproteína de Baixo Peso Molecular

NF-κB- Fator Nuclear Kappa Beta

ON- Óxido Nítrico

NREM- Não REM (Non Rapid Eyes Movement)

PA- Pressão Arterial

PaCO<sub>2</sub> – Pressão Parcial de Gás Carbônico

PaO<sub>2</sub> - Pressão Parcial de Oxigênio

PKC- Proteína Kinase C

PMA- Acetato Miristato de Forbol

**REM- Rapid Eyes Movement** 

RPMI- Meio de Cultura Roswell Park Memorial Institute

SER- Serina

SNS- Sistema Nervoso Simpático

SO- Radical Superóxido

SOD- Superóxido Desmutase

SpO<sub>2</sub>- Saturação Periférica de Oxigênio

TG- Triglicerídeos

TNF- $\alpha$ - Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$ 

V- Volume da Amostra

VRE- Volume de Reserva Expiratório

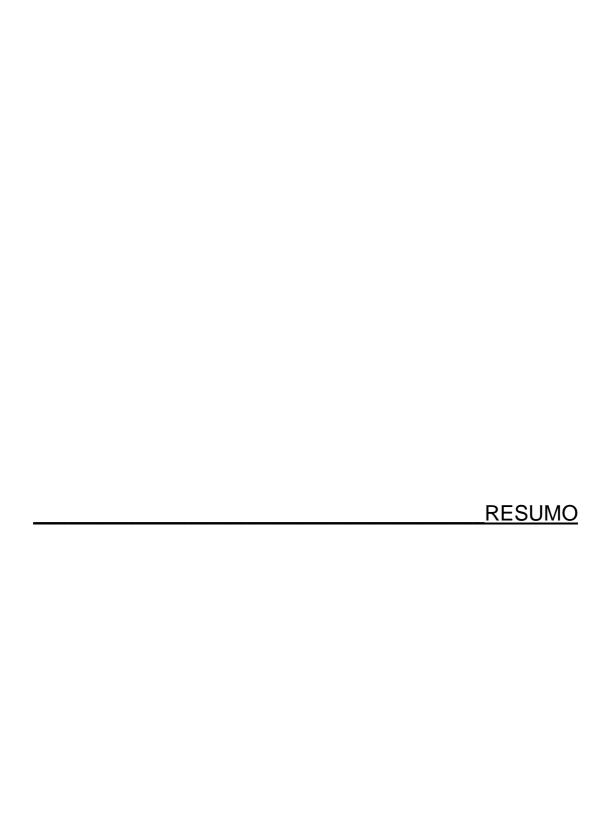
#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos três grupos experimentais	24
Tabela 2. Perfil metabólico e lípidico dos indivíduos obesos com e sem AOS, antes e dois meses após o uso do CPAP	25
<b>Tabela 3.</b> Produção de superóxido, níveis de nitritos e nitratos séricos e adiponectina dos indivíduos obesos com e sem AOS, antes e dois Meses após o Uso do CPAP	26

#### **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Diagrama esquemático da fisiopatologia da apnéia obstrutiva do sono
Figura 2. Uso noturno do CPAP <u>www.apprhs.org/arhs/sleep.html</u> 6
Figura 3. (a) Pressão negativa nas vias aéreas superiores, durante a inspiração, em indivíduos saudáveis; (b) Pressão negativa nas vias aéreas superiores, durante a inspiração, em indivíduos com apnéia obstrutiva do sono; (c) Efeito do CPAP nas vias aéreas superiores, durante a inspiração.  www.somnolab-berlin.de/html/cpaphtml
Figura 4. Efeitos gerais das vias de tradução do sinal da insulina. O ramo Pl3-Kinase da sinalização da insulina regula a captação de glicose de a liberação do óxido nítrico. O ramo MAP-Kinase da sinalização da insulina regula o crescimento celular e a liberação de ET-1 pelo endotélio
Figura 5. À esquerda, vias de sinalização da insulina PI 3-kinase dependente, nos tecidos muscular e vascular, em indivíduos saudáveis. À direita, inibição das vias insulino-dependentes em condições patológicas, que contribuem para a associação entre a resistência à insulina e a disfunção endotelial
<b>Figura 6.</b> Produção de superóxido em indivíduos obesos sem AOS (Grupo 1), obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) e obesos com AOS com CPAP (Grupo 3), antes (pré) e após 2 meses
Figura 7. Níveis de nitritos e nitratos séricos em indivíduos obesos sem AOS (Grupo 1), obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) e obesos com AOS com CPAP (Grupo 3), antes (pré) e após 2 meses (pós)
Figura 8. Níveis de adiponectina em indivíduos obesos sem AOS (Grupo 1), obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) e obesos com AOS com CPAP (Grupo 3), antes (pré) e após 2 meses (pós)
<b>Figura 9.</b> Correlação entre o índice apnéia-hipopnéia (IAH) e a produção de superóxido em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, níveis basais)
<b>Figura 10.</b> Correlação entre o índice apnéia-hipopnéia (IAH) e os níveis de nitritos e nitratos séricos (NOx) em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)

Figura 11. Correlação entre a produção de superóxido e nitritos e nitratos séricos em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)	33
<b>Figura 12.</b> Correlação entre a produção de superóxido e os níveis de adiponectina em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)	34
<b>Figura 13.</b> Correlação entre os níveis de nitritos e nitratos séricos e os níveis de adiponectina em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)	35
<b>Figura 14.</b> Correlação entre o índice apnéia-hipopnéia e os níveis de adiponectina em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)	36
<b>Figura 15.</b> Correlação entre o índice apnéia-hipopnéia (IAH) e o HOMA-IR em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)	37
Figura 16. Correlação entre a produção de superóxido e o HOMA-IR e em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, níveis basais)	38
Figura 17. Correlação entre o HOMA-IR e os níveis de nitritos e nitratos em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, níveis basais)	39

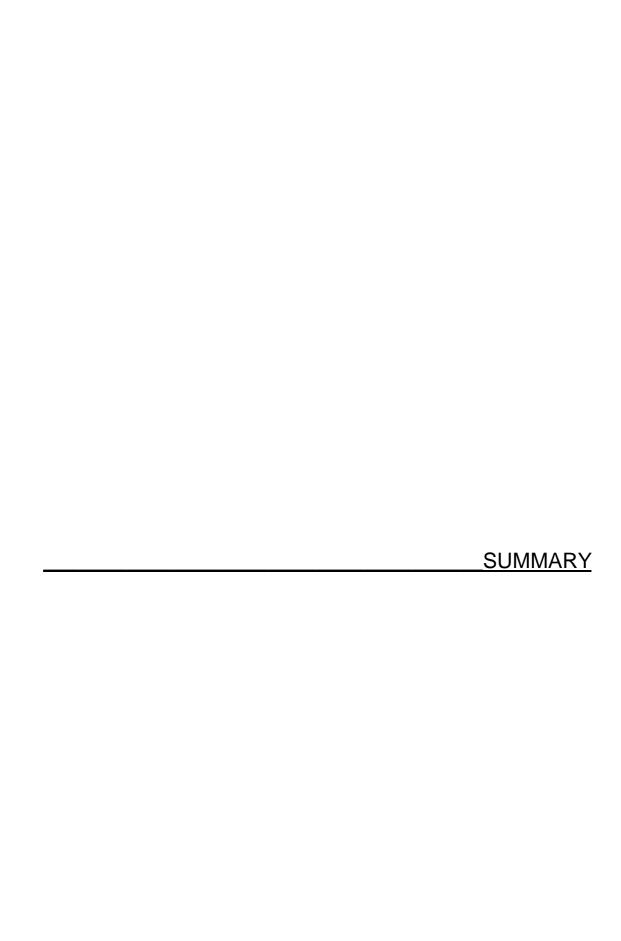


Lima, A. M. J. Efeito do CPAP sobre o stress oxidativo e os níveis de adiponectina em indivíduos obesos com apnéia obstrutiva do sono [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 68 p.

A obesidade é tida como o principal preditor para o desenvolvimento da apnéia obstrutiva do sono (AOS). Tanto a obesidade, como a AOS estão associadas a maior prevalência de doenças cardiovasculares e alguns fatores comuns às duas doenças são considerados como responsáveis por esta ligação, como o aumento no stress oxidativo, do tônus simpático e da resistência à insulina. Para o tratamento da AOS, o uso do CPAP é a principal escolha, melhorando a qualidade do sono destes indivíduos. No entanto, os efeitos fisiológicos sobre outras variáveis vêm sendo bastante pesquisados nos últimos anos. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do CPAP sobre o stress oxidativo e níveis de adiponectina em pacientes obesos portadores de AOS. Foram estudados pesquisa 29 pacientes, classificados como obesos (IMC = 30kg/m<sup>2</sup>), do sexo masculino, com idade entre 25-70 anos, divididos em 3 grupos: a) Grupo I: 10 indivíduos sem AOS (índice apnéia-hipopnéia-IAH = 5), que não tiveram AOS diagnosticada após a realização da polissonografia; b) Grupo 2: 10 portadores de AOS de moderada a grave (IAH = 20) que não fizeram o uso do CPAP, por não se adaptarem ao aparelho ou por terem optado pelo tratamento cirúrgico, após o prazo de 2 meses; c) Grupo 3: 9 portadores de AOS de moderada a grave (IAH = 20) que fizeram o uso do CPAP. Foram pacientes com indicação, acesso e adaptação (no mínimo 4h por noite, durante dois meses) ao CPAP. O grupo 3 apresentou diferenças significativas antes e após o uso do CPAP, nas seguintes variáveis: redução na produção de superóxido [13,2 (10,3-19,6) vs. 10,5 (5,8-11,8) nmoles O<sub>2</sub><sup>-</sup> /2x10<sup>6</sup> PMN] e aumento na síntese de nitritos e nitratos séricos [24,5 (16,7-33,5) vs. 49,5 (39,3-58,1) μM] e nos níveis plasmáticos de adiponectina [4,4 (4,2-5,6) vs. 5,3 (4,4-6,1) μg/mL]. Também foram verificadas correlações positivas entre a produção de superóxido e o índice apnéia-hipopnéia (IAH) (r= 0,726154; p= 0,000431), entre os níveis de nitritos e nitratos séricos e de adiponectina (r= 0,68809886; p= 0,001127), entre a produção de superóxido e o HOMA-IR (r= 0,833409; p= 0,000009), entre o entre o IAH e o HOMA-IR (r= 0,8570778; p= 0,000002). Foram observadas correlações negativas entre o índice IAH e os níveis de nitritos e nitratos séricos (r= -0,867078; p= 0,000002), entre a produção de superóxido e de óxido nítrico (r= -0,92733221; p= 0,000000), entre a produção de superóxido e os níveis de adiponectina (r= -0,77373778; p= 0,000102), entre o IAH e os níveis de adiponectina (r= -0,70782095; p= 0,000698) entre a os níveis de nitritos e nitratos séricos e o HOMA-IR (r= -0,813984; p= 0,000002). De acordo com os resultados do presente trabalho, podemos concluir que: a) Os indivíduos obesos portadores de AOS apresentam aumento na produção de superóxido, redução nos níveis de nitritos e nitratos séricos e adiponectina, e resistência à insulina; b) As alterações na produção de superóxido, nos níveis de nitritos e nitratos séricos e de adiponectina e a resistência à insulina presentes na obesidade, são agravadas pela apnéia obstrutiva do sono e c) O uso do CPAP é capaz de melhorar as elevações na produção de

superóxido, as reduções nos níveis de nitritos e nitratos séricos e adiponectina e as alterações metabólicas presentes nos pacientes obesos portadores de AOS.

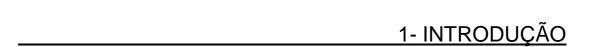
Descritores: Apnéia do sono tipo obstrutiva, Obesidade, Stress Oxidativo, Adiponectina, Homens.



Lima, A. M. J. *CPAP effect on stress oxidative and adiponectin levels in obese patients with obstructive sleep apnea* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2007. 68 p.

Obesity is viewed as the main factor for the obstructive sleep apnea (OSA) development. Obesity and the OSA are both associated with the major cardiovascular illnesses prevalence and certain common factors they are considered responsible for, such as the stress oxidative increase, the sympathetic tonus and the resistance to insulin. For the OSA treatment, CPAP usage is the first choice in enhancing these individuals' sleeping quality. Meanwhile, the physiological effects on other variables are being actively searched for these last years. Thus, the objective of this paper was to check CPAP effect on oxidative stress and the adiponectin levels in obese patients with OSA. Twenty nine male patients considered obese (BMI = 30kg/m<sup>2</sup>) and between the ages of 25-70 were analyzed, then divided into 3 groups: a) Group I: 10 OSA free patients (apnea-hipopnea index (AHI) = 5), after a polysomnography diagnostic; b) Group 2: 10 with moderate to serious OSA (AHI = 20) and CPAP free usage for failure to adapt to the machine or, for having chosen surgical treatment after two months; c) Group 3: 9 with OSA from moderate to serious (AHI = 20) using CPAP. They were patients with sign, access and adaptation (in minimum 4 hours/night, during 2 months) to CPAP. Significant differences were observed in group 3, before and after CPAP usage in the following variables: reduction of superoxide production [13,2 (10,3-19,6) vs. 10,5 (5,8-11,8) n moles  $O_2^{-7}/2x10^6$  PMN] and increase in serum nitrite/nitrates levels [24,5 (16,7-33,5) vs. 49,5 (39,3-58,1) μg/mL] and the adiponectin plasmatic levels [4,4 (4,2-5,6) vs. 5,3 (4,4-6,1) μg/mL]. Positive correlations between superoxide production and Apnea-Hypopnea Index (AHI) (r= 0,726154; p= 0,000431) were verified, as well as between serum nitrite/nitrates levels and adiponectin levels (r= 0,68809886; p= 0,001127); superoxide production and HOMA(IR) (r= 0,833409; p= 0,000009); AHI and HOMA(IR) (r= 0,8570778; p= 0,000002). Negative correlations were observed between AHI and serum nitrite/nitrates levels (r= -0,867078; p= 0,000002); superoxide and serum nitrite/nitrates levels (r= -0,92733221; p= 0,000000); superoxide production and adiponectin levels (r= -0,77373778; p= 0,000102); AHI and adiponectin levels (r= -0,70782095; p= 0,000698); serum nitrite/nitrates levels and HOMA(IR) (r= -0,813984; p= 0,000002). According to our results we can conclude that: a) obese individuals with OSA have superoxide production, serum nitrite/nitrates levels and adiponectin reduction, and resistance to insulin; b) alterations in superoxide production, serum nitrite/nitrates levels, adiponectin and the resistance to insulin present in obesity, are all worsen by the sleep obstructive apnea; c) CPAP usage can improve rises in superoxide production, reductions serum nitrite/nitrates levels and adiponectin, and the metabolic alterations present in obese patients with OSA.

Descriptors: Obstructive Sleep Apnea, Obesity, Oxidative Stress, Adiponectin, Men.



#### 1.1 Apnéia Obstrutiva do Sono e Obesidade: Considerações Gerais

A apnéia obstrutiva do sono (AOS) é uma síndrome caracterizada por colapsos repetitivos das vias aéreas superiores (VAS) durante o sono, e a sua classificação é baseada no índice apnéia/hipopnéia (IAH), que quantifica o número total de apnéias e/ou hipopnéias por hora de sono<sup>1,2</sup>. A apnéia é definida como a interrupção total do fluxo aéreo por um intervalo ≥ 10s, e a hipopnéia é a interrupção parcial (= 50%) do fluxo aéreo. Ambas devem estar associadas à queda da saturação da hemoglobina de, no mínimo, 4% e/ou ao despertar do paciente<sup>3,4</sup>. De acordo com a classificação, consideramos: a) AOS leve: 5 > IAH < 15 eventos p/hora; b) AOS moderada: 15 > IAH < 30 eventos p/hora; c) AOS moderada: IAH > 30 eventos p/hora<sup>5,6</sup>.

A AOS é uma doença de alta prevalência, acometendo, segundo Young et al. (2002)<sup>6</sup>, 5% da população ocidental. É mais freqüente em homens (4%) do que em mulheres (2%), até a menopausa, quando esses números se igualam<sup>7</sup>. Tanto os indivíduos idosos quanto os obesos têm uma maior propensão a apresentar a AOS<sup>8.9</sup>.

Apesar da relação entre a obesidade e a AOS estar comprovada, a forma precisa por meio da qual esta ligação se estabelece ainda não está completamente esclarecida. Suspeita-se que fatores como o depósito de gordura em torno das VAS e a alteração nos mecanismos de controle ventilatório e das VAS podem estar envolvidos<sup>10,11,12</sup>. Cerca de 40% dos indivíduos obesos apresentam AOS, enquanto aproximadamente 70% dos pacientes com AOS são obesos. O aumento de um desvio padrão no IMC

eleva em quatro vezes o risco de desenvolvimento de apnéia do sono<sup>13</sup>. Segundo DeAlberto *et al.* (1994) <sup>14</sup>, a obesidade é considerada um fator de predição mais forte para o desenvolvimento de AOS, quando comparada ao gênero e à idade.

#### 1.2 Fisiopatologia da Apnéia Obstrutiva do Sono

Os fatores que determinam a fisiopatologia da AOS não são totalmente conhecidos. No entanto, evidências têm mostrado que o ponto de partida é a predisposição anatômica de colapso das VAS nos pacientes que apresentam esse quadro 15,16.

Durante o período de vigília, a permeabilidade das VAS é mantida pela interação do controle do tônus muscular faríngeo com os mecanismos de controle ventilatório da respiração 17,18. Sabe-se que, de acordo com a mecânica respiratória, na expiração desenvolve-se uma maior resistência ao fluxo de ar nas VAS, em razão da ativação dos músculos constrictores da faringe, enquanto o oposto acontece durante a inspiração, quando os músculos dilatadores da faringe são recrutados, proporcionando uma maior facilidade à passagem do ar 19,20.

Os mecanismos de controle reflexos das VAS também sofrem influência das fases do sono [sono REM –rapid eyes movements (movimento rápido dos olhos); sono NREM- non rapid eyes movements (movimento não-rápido dos olhos)<sup>21</sup>. Em indivíduos saudáveis, na passagem do estado de vigília para o sono NREM, há uma queda na ventilação e redução no volume de reserva expiratório (VRE), devido à diminuição de tônus diafragmático e

da musculatura dilatadora da faringe<sup>22</sup>. Esta atonia muscular nos apnéicos, que já possuem VAS estreitadas e com tendência ao colapso, leva ao colabamento das VAS caracterizando a apnéia<sup>23,24</sup>.

Há também comprometimento dos mecanismos de controle reflexos das VAS na AOS, como as alterações na regulação realizada pelos quimiorreceptores centrais e periféricos. Em indivíduos saudáveis, durante o sono, a resposta destes quimiorreceptores está diminuída, situação que leva a alterações discretas na PaO<sub>2</sub> (reduções de até 2%) e na PaCO<sub>2</sub> (aumentos de 2-6mmHg)<sup>25</sup>. Já nos portadores de AOS, a reação ao estímulo dos quimiorreceptores periféricos encontra-se aumentada, resultando em uma resposta ventilatória exacerbada à hipoxemia, que pode estar associada à hiperatividade simpática presente na AOS<sup>26, 27</sup>.

A hiperatividade simpática, outro componente envolvido na fisiopatologia da AOS, tem relação direta com as condições de co-morbidade cardiovascular presentes nesta doença<sup>28,29</sup>. Observando o comportamento do sistema nervoso simpático (SNS) durante as fases do sono, verificamos que no sono NREM há uma redução entre 10-30% do tônus simpático, da freqüência cardíaca (FC) e da pressão arterial (PA). Já no sono REM, ocorrem aumentos da modulação simpática cardiovascular, com oscilações freqüentes na FC e na PA<sup>30</sup>.

Vários estudos têm demonstrado que muitos portadores de AOS permanecem com os níveis pressóricos elevados mesmo no período diurno, o que pode ser justificado pela maior sensibilidade destes quimiorreceptores<sup>31,32</sup>. Em um estudo realizado por Narkiewicz *et al.* 

(1998)<sup>33</sup>, foram observados aumentos na variabilidade da PA e reduções na variabilidade da FC (fatores diretamente relacionados com a hiperatividade simpática) em pacientes com AOS, mesmo sem qualquer manifestação de hipertensão arterial, insuficiência cardíaca ou outras doenças cardiovasculares. Contribuem ainda para a hiperatividade simpática presente na AOS as alterações nos barorreceptores<sup>29</sup>, a liberação noturna de endotelina<sup>34</sup> e a disfunção endotelial<sup>35</sup>.

O diagrama abaixo (Figura 1) traz um resumo da fisiopatologia da AOS:

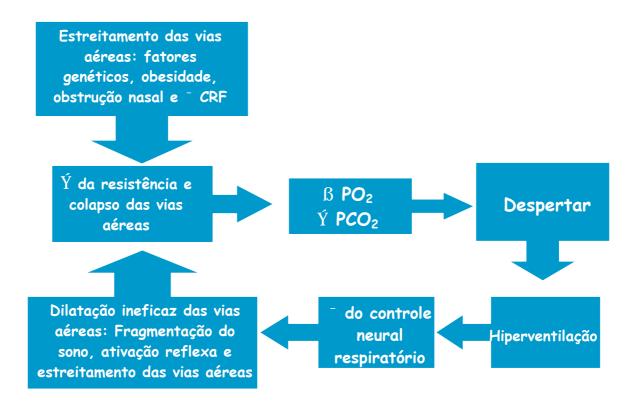


Figura 1. Diagrama esquemático da fisiopatologia da apnéia obstrutiva do sono. Adaptada <sup>36</sup> McNicholas WT, Ryan S. Obstructive sleep apnoea syndrome: translating science to clinical practice. Respirology 2006;11(2):136-44<sup>36</sup>.

# 1.3 Uso Terapêutico da Pressão Positiva das Vias Aéreas (Continuous Positive Airway Pressure-CPAP) na Apnéia Obstrutiva do Sono

Os primeiros relatos da utilização do CPAP em pacientes com apnéia do sono foram feitos por Sullivan *et al.* (1981)<sup>37</sup>, utilizando um modelo improvisado. Atualmente, a aplicação noturna do CPAP, administrado por meio do uso de máscara nasal, é o tratamento conservador mais empregado no tratamento da AOS (Figura 2). Esses pacientes se beneficiam do CPAP em razão deste aparelho prevenir um colapso orofaríngeo produzido pelo aumento da pressão negativa intratorácica na inspiração, promovendo aumento da capacidade residual funcional (por alargamento das vias aéreas) e redução do edema das vias aéreas superiores<sup>38</sup>.



Figura 2. Uso noturno do CPAP www.apprhs.org/arhs/sleep.html

O aparelho de CPAP produz um fluxo de ar contínuo de 20-60 l/min, utilizando um ventilador ou turbina. O fluxo é fornecido por meio de uma máscara e proporciona uma pressão constante na inspiração e na expiração, mantendo as VAS permeáveis (Figura 3c)<sup>39,40</sup>.

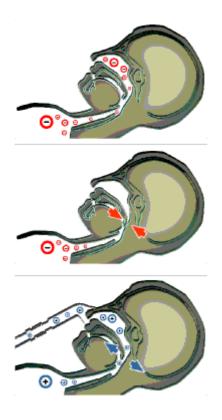


Figura 3. (a) Pressão negativa nas vias aéreas superiores, durante a inspiração, em indivíduos saudáveis; (b) Pressão negativa nas vias aéreas superiores, durante a inspiração, em indivíduos com apnéia obstrutiva do sono; (c) Efeito do CPAP nas vias aéreas superiores, durante a inspiração.

www.somnolab-berlin.de/html/cpap .html

A eficácia do CPAP está diretamente relacionada com o uso diário e constante deste aparelho por, no mínimo 4,5-5h/noite. A adesão ao tratamento pode ser influenciada por vários fatores como: a) a motivação, associada à gravidade da AOS e ao alívio dos sintomas; b) o desconforto relacionado ao uso da máscara (ressecamento e congestão nasal e rinorréia); c) o grau de escolaridade e o conhecimento da doença; d) a orientação sobre o uso adequado do aparelho<sup>41,42</sup>.

A terapia com CPAP é largamente utilizada e sua eficácia já foi comprovada por vários estudos, sendo considerada como a principal escolha no tratamento da AOS<sup>43,44,45</sup>. Muitas investigações têm sido realizadas a

respeito dos efeitos do CPAP em várias situações patológicas associadas com a AOS, tais como a alteração das funções neuroendócrinas<sup>46</sup>, a disfunção endotelial<sup>47,48</sup>, os níveis de resistina, grelina e leptina<sup>9,49,50</sup> e a hiperatividade simpática<sup>29</sup>.

# 1.4 Apnéia Obstrutiva do Sono, Resistência à Insulina e Stress Oxidativo

A AOS está relacionada com uma série de condições de morbimortalidade para o sistema cardiovascular, entre elas a resistência à insulina<sup>51</sup>. A resistência à insulina se caracteriza por uma falha biológica da resposta do receptor à insulina, prejudicando a captação da glicose mediada por este hormônio<sup>52</sup>. A alteração da sensibilidade à insulina dos pacientes com AOS parece estar relacionada com a hiperatividade simpática, embora o mecanismo não esteja totalmente esclarecido. O aumento do tônus simpático é atribuído à alteração no eixo hipotálamo-hipófise em razão da perturbação do ciclo sono-vigília e/ou da hipoxemia intermitente presente na AOS<sup>53,54</sup>. Há um estímulo para a liberação de hormônios como o cortisol, a adrenalina e a noradrenalina, entre outros, os quais estão diretamente associados ao desenvolvimento da resistência à insulina<sup>55</sup>.

A sensibilidade à insulina também é influenciada pelos níveis de adiponectina, uma adipocitocina liberada pelo tecido adiposo, cuja concentração no plasma é três vezes maior do que a da leptina. Ao contrário de outras adipocitocinas, a adiponectina tem relação inversa com a massa gorda, mostrando correlação negativa com a resistência à insulina<sup>56</sup>. Além

disso, a adiponectina apresenta propriedades antiinflamatória<sup>57</sup> e antiateroesclerótica<sup>58</sup>.

Outra alteração importante presente na AOS é o aumento do stress oxidativo. As alterações repetidas na saturação sangüínea, presentes nos episódios de apnéia/hipopnéia e hipóxia-reoxigenação da AOS, são similares ao quadro da injúria isquemia-reperfusão tecidual, promovendo danos aos vasos sangüíneos quando o fluxo é restaurado, em razão do aumento da produção de radicais livres<sup>59,60</sup>. Estas espécies reativas de oxigênio interagem com ácidos nucléicos, lipídeos e proteínas e ainda reduzem a produção de óxido nítrico, causando lesão endotelial, um fator de risco fortemente associado às doenças cardiovasculares<sup>61</sup>. Há várias formas de avaliar o stress oxidativo, como a análise de nitritos e nitratos séricos, a produção de superóxido, a mensuração de 8-OHDG (8-hydrixideoxiguanosina), 8-isoprostano, a peroxidação lipídica, entre outras, todas validadas cientificamente<sup>62</sup>.

De acordo com estudos moleculares, celulares, fisiológicos e clínicos, a insulina possui efeitos não apenas sobre o metabolismo, mas também sobre o tônus vascular, pois em situações fisiológicas, a insulina promove a liberação de óxido nítrico pelo endotélio, ocasionando vasodilatação, maior fluxo sangüíneo e aporte de glicose para o tecido<sup>63</sup>. Por outro lado, a insulina provoca a estimulação para a liberação de endotelina-1 (ET-1), um potente vasoconstrictor<sup>64</sup>. Estas duas ações antagônicas da insulina são reguladas de modo a manter um equilíbrio fisiológico juntamente com sua ação metabólica (Figura 4).

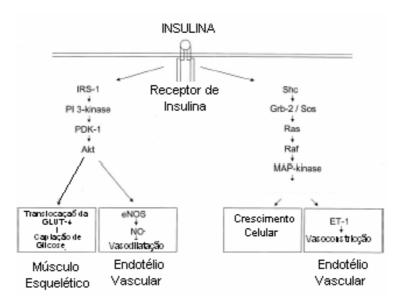


Figura 4. Efeitos gerais das vias de tradução do sinal da insulina. O ramo PI3-Kinase da sinalização da insulina regula a captação de glicose de a liberação do óxido nítrico. O ramo MAP-Kinase da sinalização da insulina regula o crescimento celular e a liberação de ET-1 pelo endotélio. Adaptada. Kim JA, Koh, KK, Quon MJ. The union of vascular and metabolic actions of insulin in sickness and health. Arterioscle Thromb Vasc Biol 2005;25:889-91<sup>65</sup>.

Este equilíbrio na regulação vascular e metabólica da insulina pode ser rompido pelo aumento na produção de radicais livres, que impedem a translocação da GLUT-4 (proteína carreadora de glicose) induzida pela insulina, prejudicando, assim, a captação de glicose pelos tecidos<sup>66,67</sup>. O aumento do stress oxidativo estimula várias cinases serina/treonina e leva à fosforilação da serina da IRS-1, o que interfere na capacidade de ligação e ativação da IP3-kinase. Em conseqüência, há uma redução na ativação da Akt e PKC-ζ, resultando em diminuição da translocação da GLUT-4 e do transporte de glicose<sup>68, 69,70</sup>.

Além destes efeitos metabólicos, o aumento na produção de radicais livres desencadeia a ativação de fatores pró-inflamatórios que promovem a fosforilação do IKKβ e NF-κB<sup>71</sup>. A ativação do NF-κB e da AP-1 regula a transcrição de substâncias inflamatórios, como a interleucina-6 (IL-6), a

interleucina 1-  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e impede a liberação do óxido nítrico induzida pela insulina, gerando lesão endotelial<sup>72</sup>.

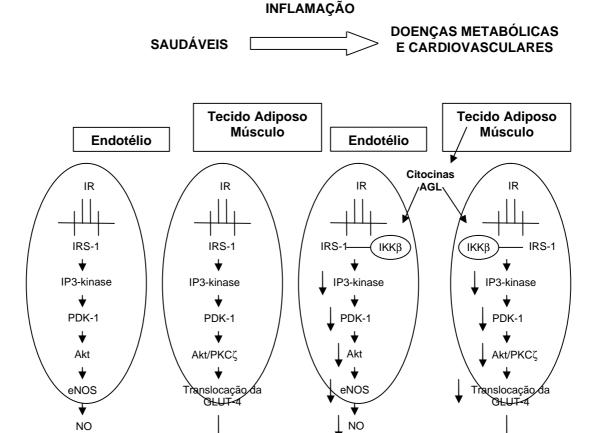


Figura 5. À esquerda, vias de sinalização da insulina PI 3-kinase dependente, no tecido muscular e vascular, em indivíduos saudáveis. À direita, inibição das vias insulino-dependentes em condições patológicas, que contribuem para a associação entre a resistência à insulina e a disfunção endotelial. Adaptada, Kim JA, Koh, KK, Quon MJ. The union of vascular and metabolic actions of insulin in sickness and health. Arterioscle Thromb Vasc Biol 2005;25:889-91<sup>67</sup>.

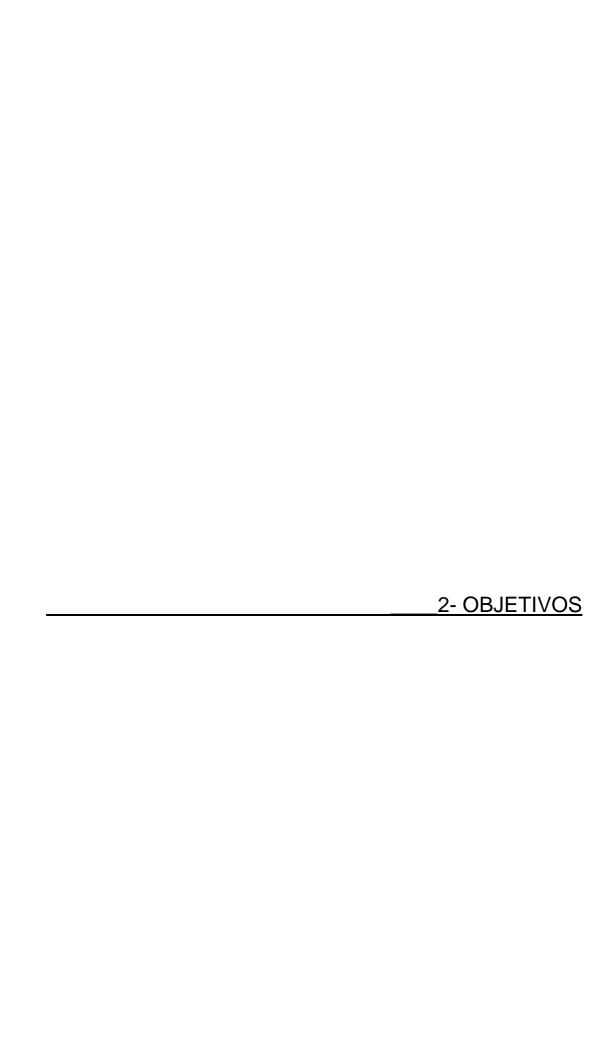
↑ Captação de Glicose

↑ Vasodilatação

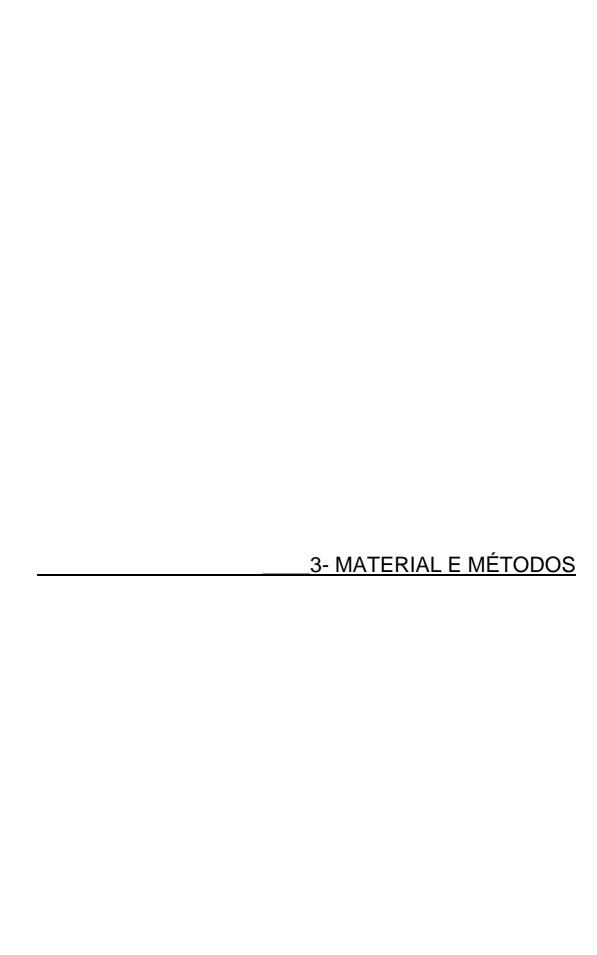
Disfunção Endotelial

Resistência à Insulina

Assim sendo, conforme vimos que a AOS está intimamente ligada à obesidade, ao stress oxidativo e à resistência à insulina, questionamos de que maneira o stress oxidativo e os níveis de adiponectina se comportam em pacientes obesos portadores de AOS, além de investigar se o uso do CPAP interfere nos níveis dos marcadores de stress oxidativo e de adiponectina nesses pacientes.



- Determinar o efeito do uso do CPAP sobre os marcadores de stress oxidativo, níveis adiponectina e resistência à insulina em pacientes obesos portadores de AOS;
- Comparar os marcadores de stress oxidativo, os níveis de adiponectina e a resistência à insulina em pacientes obesos portadores de AOS, antes e após o uso do CPAP;
- Correlacionar as variáveis analisadas: IAH, marcadores de stress oxidativo, níveis de adiponectina e resistência à insulina em pacientes obesos portadores de AOS.



#### 3.1 Amostra e Critérios de Inclusão

Foram inclusos na pesquisa 29 pacientes, classificados como obesos (IMC ≥ 30kg/m²), do sexo masculino, divididos em 3 grupos:

- a) Grupo I: 10 indivíduos sem AOS (IAH = 5), que não tiveram AOS diagnosticada após a realização da polissonografia;
- **b) Grupo 2:** 10 portadores de AOS de moderada a grave (IAH = 20), que não fizeram o uso do CPAP, por não se adaptarem ao aparelho ou por terem optado pelo tratamento cirúrgico, após o prazo de 2 meses.
- **c) Grupo 3:** 9 portadores de AOS de moderada a grave (IAH = 20), que fizeram o uso do CPAP. Foram pacientes indicados para o uso do CPAP, que passaram por um período de adaptação do aparelho, ao qual tiveram acesso, no mínimo, 4 horas por noite, durante dois meses.

Os indivíduos que concordaram em participar da pesquisa assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, de acordo com a resolução CNS 196/96 do Ministério da Saúde e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do HC/FMUSP.

#### 3.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos da pesquisa os pacientes portadores de diabetes tipo I ou II, em processo inflamatório agudo ou crônico, portadores de apnéia do sono central ou respiração de Cheyne-Stokes, doença pulmonar obstrutiva crônica, asma, disfunções da tireóide, e aqueles que estavam utilizando outra forma de tratamento para AOS (p. ex. perda de peso ou

tonsilectomia) ou fazendo uso de corticoesteróides e  $\beta$ -agonistas ou bloqueadores.

#### 3.3 Medidas Antropométricas

Foram mensurados no início e após 2 meses, nos pacientes dos 3 grupos experimentais, o peso (kg) e a altura (m) utilizando-se uma balança antropométrica e o índice de massa corpórea (IMC) (kg/m²). Para medida do peso e altura, o paciente foi orientado a tirar os sapatos, usar roupas leves, permanecer em posição ortostática e com o mento paralelo ao plano horizontal. Para mensurar o IMC foi divido o valor do peso (kg) pelo da altura² (m).

## 3.4 Polissonografia

Os 3 grupos experimentais foram submetidos a polissonografia de noite inteira. Para realização deste exame, foi utilizado um sistema de polissonografia computadorizada (Healthdyne Technologies, Respironics, Alice 3<sup>®</sup>) do Laboratório do Sono da Clínica Neurológica Luís Ataíde. Os parâmetros mensurados foram eletrocardiograma (ECG), pressão arterial (PA), movimentos torácicos e abdominais (pletismografia), saturação periférica de oxigênio (SpO<sub>2</sub>) (oximetria de pulso), fluxo aéreo nasal/bucal (termistores), posição corporal e ronco (microfone). Foram calculados ainda o número de apnéias, hipopnéias, o IAH e as quedas na SpO<sub>2</sub>, conforme descrito anteriormente.

#### 3.5 Uso do CPAP

Após a polissonografia diagnóstica, foi realizada outra polissonografia com os pacientes portadores de AOS a fim de titular (quantificar) a pressão do CPAP (Somnotron 41<sup>®</sup>, Weinmann). Para cada paciente, foi administrada a pressão mínima suficiente para eliminar as apnéias, hipopnéias e roncos em todas as posições corporais e em todas as fases de sono. Inicialmente, foi imposta uma pressão de 0.4 kPa (4 mbars) e, após cada 5 minutos (no mínimo) depois a ocorrência dos eventos restritivos, esta pressão foi aumentada em 0.1 kPa (1 mbar). Se estes eventos cessassem nos 30 min seguinte, a pressão era reduzida em 0.1 kPa (1 mbar), a cada 10 min, até que os eventos obstrutivos se manifestassem novamente e todo o procedimento fosse repetido<sup>76</sup>.

#### 3.6 Determinação dos Parâmetros Bioquímicos

A glicose plasmática foi mensurada por meio do método de glicose desidrogenase após precipitação das proteínas por ácido tricloroacético. Para medir os níveis de insulina em jejum, foi utilizado o método de radioimunoensaio. As frações de LDL e HDL foram separadas do soro pela combinação das técnicas de ultracentrifugação e precipitação. Os conteúdos de colesterol das frações de lipoproteínas e os triglicerídeos séricos foram determinados enzimaticamente.

#### 3.7 Resistência à Insulina

Para avaliar a resistência à insulina, foi utilizado o HOMA-IR, obtido a partir da seguinte fórmula<sup>73, 74</sup>:

HOMA-IR= Insulinemia de Jejum ( $\mu$ U/mI) x Glicemia de jejum (mmol/I)/ 22,5

O HOMA-IR apresenta uma boa correlação com as mensurações da resistência à insulina obtidas através do clamp euglicêmico<sup>75, 76</sup>.

#### 3.8 Dosagem para Adiponectina

Para dosagem da adiponectina, as amostras de sangue foram coletadas entre 7:00-8:00 e armazenadas a -80° C, para posterior análise. Os níveis para adiponectina plasmática foram dosados no início do estudo e após dois meses, utilizando-se o KIT ELISA de Adiponectina Humana (Linco Research, Inc., St. Charles, MO), com variação intra-ensaio de 3,2% e interensaio de 3,8%. A sensibilidade foi de 0,5 ng/mL.

### 3.9 Dosagem para Superóxido

#### 3.9.1 Obtenção de Monócitos a Partir do Sangue Periférico

Os monócitos foram obtidos a partir da coleta de sangue venoso, com EDTA, entre 7:00-8:00. O sangue obtido foi diluído na proporção de 1:2 em meio de cultura RPMI 1640, estéril, à temperatura ambiente de 22 °C a 25 °C (15 ml de sangue + 15 ml de RPMI 1640). Aos 30 ml da suspensão foram adicionados 15 ml de Histopaque (1077 – SIGMA) e todo o conteúdo foi centrifugado por 30 minutos a 1400 rpm (2º a 8ºC).

Logo após, o plasma foi aspirado e então se coletou a camada formada pelas células (PBMC), que foi transferida para outro tubo de ensaio. Foram adicionados 15 ml de RPMI 1640 e centrifugados por 10 minutos nas mesmas condições anteriores. O sobrenadante foi aspirado e desprezado. Posteriormente foram realizadas duas novas lavagens com RPMI 1640, centrifugando-se 5 minutos a cada lavagem. Mais uma vez o sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspendido em 2 ml do meio de cultura RPMI 1640 completo, contendo 3% de soro fetal bovino e antibióticos (penicilina 100 U/ml e estreptomicina 100µg/ml). Dessa suspensão, foi feita a contagem em Câmara de Neubauer, acrescendo-se uma alíquota da suspensão de células e o corante azul tripan na diluição 1:10. Esse corante é usado para fazer a contagem das células e avaliar a sua viabilidade. A concentração celular foi ajustada para 2 x 10<sup>6</sup> células em 2 ml do meio. As células foram colocadas em placas do tipo Falcon, com 6 poços de 35 milímetros de diâmetro cada, em cada um dos quais foram dispensados os 2 ml da suspensão (2 x 10<sup>6</sup> células por 2 ml de meio de cultura RPMI 1640 completo). Após esse tempo, os poços foram lavados com meio de cultura RPMI 1640 para retirada das células não aderentes. O material permaneceu por mais 1 hora na incubadora em atmosfera úmida, temperatura de 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>.

## 3.9.2 Produção do Ânion Superóxido

Esse ânion pode ser detectado a partir da sua capacidade em reduzir quimicamente um composto aceptor de elétrons. Utilizou-se, para sua

captação, o ferricitocromo C (30 mg/ml em HBSS, 2,4 x 10<sup>-3</sup> M, Ferricitocromo C de mitocôndria de eqüino, tipo III, da Sigma Chemical Company, de St. Louis, MO, Estados Unidos). Foi necessária, ainda, a utilização de uma enzima, a superóxido dismutase (enzima superóxido dismutase de eritrócitos bovinos – SOD, Sigma Chemical Company<sup>®</sup>), contendo 3.000 u/mg de proteína em solução final de 3 mg/ml em água destilada.

Para a avaliação da produção de superóxido formado, foram preparados 2 sistemas de análise descontínua, com uma primeira avaliação logo após o início da estimulação das células com acetato miristato de forbol (PMA, da Sigma Chemical Company) e uma segunda avaliação após 2 horas.

Para o preparo desses sistemas, foram usados monócitos em cultura, adicionando-se SOD ao primeiro sistema (controle negativo) e, ao segundo, água destilada (controle positivo). Os sistemas foram mantidos em incubadora com atmosfera úmida a 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C por 10 minutos para ativação da SOD. Ao meio de cultura foi acrescido citocromo C e PMA (o PMA foi preparado em solução concentrada de 3000 μg/ml em dimetil-sulfóxido de sódio (DMSO, SIGMA), diluído para uma concentração de 2μg/ml em 2.145 ml de solução salina balanceada de Hanks (HBSS GIBCO) e colocado nos poços da placa de cultura.

No segundo sistema, contendo água destilada, também foi adicionado citocromo C e PMA. Em seguida amostras de 600 µl foram retiradas concomitantemente de cada sistema e postas em tubos Eppendorf. A

MATERIAL E MÉTODOS\_

21

primeira alíquota recolhida foi relativa ao tempo zero de cada sistema e a

amostra subsequente foi coletada em intervalo de tempo de 2 horas nas

mesmas condições.

3.9.3 Determinação Espectrofotométrica

Ao término da última coleta, as amostras foram centrifugadas a

10.000 rpm por 5 minutos à temperatura ambiente, em microcentrífuga

(25.000g – rotor Ra-1M Kubota).

O sobrenadante foi levado para determinação do grau de redução de

ferrocitocromo C (proporcional à produção do radical superóxido), usando-se

cubeta de 1 ml de quartzo e espectofotômetro com comprimento de onda

ajustado para a faixa do vermelho (550 nm).

Os resultados finais foram expressos após o agrupamento dos

respectivos pontos para cada tempo de coleta de cada paciente. O cálculo

final foi dado pela fórmula:

Cálculo  $[O2^{-}] = K \times DO \times V$ .

Onde:

K: constante calculada para o volume final em cada poço

DO: densidade ótica; e

V: volume da amostra

No presente estudo, a constante K, calculada para o volume final em

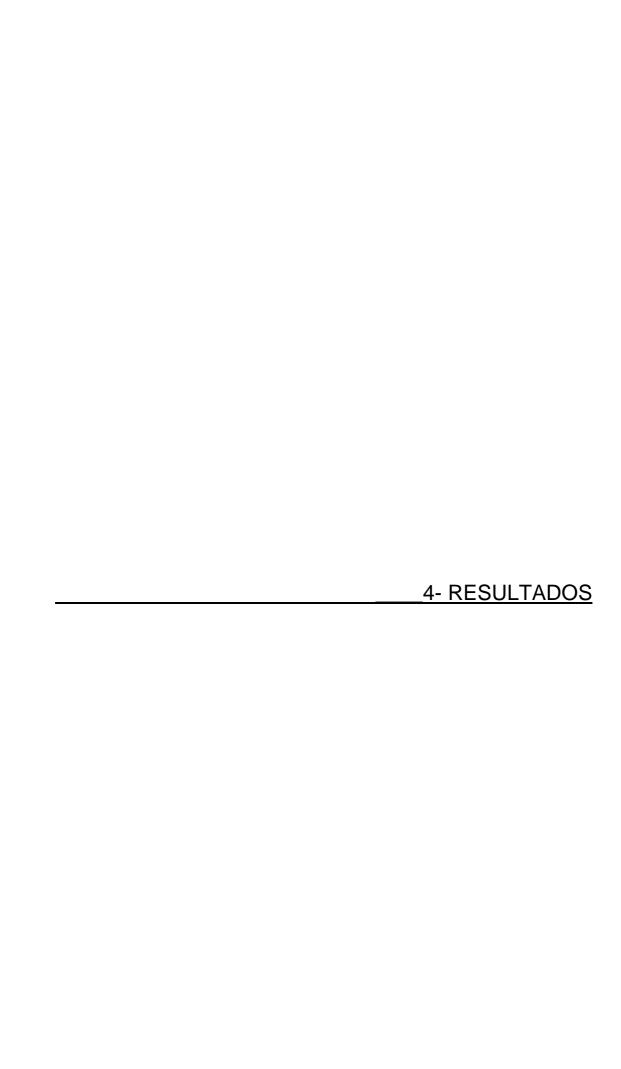
cada poço, foi de 205,49.

## 3.10 Produção de Óxido Nítrico (NO) em monócitos cultivados e tratados com lipopolissacarídeo de E. coli (LPS)

Em cada grupo a concentração foi ajustada para 1 X 10<sup>6</sup> células em 1 ml de meio de cultura nos poços da placa. Em seguida, as células foram tratadas na dose de 10 μg/mL de LPS por 24 horas. A avaliação da liberação de NO foi realizada utilizando-se o método de GRIESS. Este método quantifica indiretamente a produção de NO pela determinação de nitritos e nitratos acumulados no sobrenadante das células, após o tratamento. As amostras e o padrão (NaNO<sub>2</sub> 1mM - 251-4 Sigma Chemical, St. Louis, MO; USA) foram colocados em placa de vinil nas concentrações determinadas (1,56?μM a 50 μM), diluídas em RPMI 1640 (50μI por poço). Logo após, foram adicionados 50μI do reagente de GRIESS (1g de sulfanilamide, Sigma 9251; 0,1g de N-(Naphthyl)Ethylenediamine Dihydrochloride – Sigma 5889; 2,5 ml de ácido fosfórico PA e água destilada qsp 100ml). A placa foi incubada por 10 minutos ao abrigo da luz. Realizou-se a leitura a 540 nm em leitor de ELISA (Dynatech MR 5000). O limiar de sensibilidade do teste foi de 1,56 μM.

#### 3.11 Análise Estatística

Para verificação das diferenças inter e intra-grupos realizaram-se os testes de Wilcoxon e Mann-Whitney. Para o estabelecimento das correlações utilizou-se o coeficiente de Spearman. Os resultados foram apresentados como mediana e valores de máximo e mínimo. O valor de p<0,05 foi considerado como nível de significância estatística.



**Tabela 1.** Características dos três grupos experimentais

	Obesos sem AOS (Grupo 1) n=10	Obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) n=10	Obesos com AOS com CPAP (Grupo 3) n=9
Idade (anos)	63,5 (28,0-71,0)	61,0 (34,0-68,0)	58,7 (33,0-68,0)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	32,7 (30,5-37,8)	32,8 (30,4-44,0)	33,8 (30,3-41,7)
IAH (eventos/h)	3,7 (3,1-3,9)	29,0 (16,7-57,2)*	31,5 (17,9-43,8)*
Saturação Mínima de O <sub>2</sub> (%)	88,0 (74,0-92,0)	67,0 (42,0-85,0)*	73,0 (56,0-83,0)*
FC (bpm)	94,0 (80,0-98,0)	102,0 (90,0-109,0)*	100,0 (89,0- 112,0)*

IMC- índice de massa corpórea; IAH- índice apnéia-hipopnéia; FC- Freqüência Cardíaca \* p< 0,05, diferença significativa em relação ao grupo 1.

A tabela 1 mostra as características gerais basais dos três grupos analisados. Não houve diferenças significativas entre os grupos quanto à idade e ao índice de massa corpórea, o que reiterou a homogeneidade da amostra.

O índice apnéia-hipopnéia e a saturação mínima de oxigênio foram similares para os grupos 2 e 3. Já ao serem comparados ao grupo 1, os grupos 2 e 3 mostraram índice apnéia-hipopnéia e saturação mínima de oxigênio mais elevados.

Tabela 2. Perfil metabólico e lípidico dos indivíduos obesos com e sem AOS, antes e dois meses após o uso do CPAP

	Obesos sem AOS (Grupo 1) n=10		Obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) n=10		Obesos com AOS com CPAP (Grupo 3) n=9	
	Antes	2 Meses Após	Antes	2 Meses Após	Antes	2 Meses Após
IMC (kg/m²)	32,7 (30,5-37,8)	33,0 (30,9-38,2)	32,8 (30,4-44,0)	34,7 (30,8-44,3)	33,8 (30,3-41,7)	34,2 (31,7-39,3)
Glicose (mg/dl)	98,5 (88,0-118,0)	105,0 (86,0-120,0)	108,5 (92,0-119,0)	110,0 (90,0-120,0)	110,0 (98,0-119,0)	109,0 (94,0-116,0)
Insulina (μU/ml)	12,6 (9,9-17,5)	12,0 (10,2-18,0)	19,0 (8,5-24,7)†	20,4 (10,0-25,1)†	17,5(10,5-29,6)†	11,8 (6,3-24,1)*
HOMA-IR	3,2 (2,5-4,0)	3,3 (2,1-4,1)	5,6 (2,7-7,2)†	5,4 (2,5-7,3)†	4,9 (2,8-7,1)†	3,2 (1,6-6,2)*
Triglicerídeos (mg/dl)	128,3 (117,8-155,2)	126,8 (106,0-143,6)	152,5 (135,6-185,8)†	147,4 (129,6-182,4)†	162,1 (139,2-188,6)†	153,4 (131,3-189,6)†
Colesterol Total (mg/dl)	155,5 (141,8-178,9)	160,5 (139,8-170,1)	176,5 (167,4-192,0)†	169,5 (161,0-181,7)†	179,0 (151,0-195,3)†	158,0 (141,2-184,0) *
LDL Colesterol (mg/dl)	124,4 (109,2-144,3)	125,6 (106,6-147,0)	143,4 (126,0-169,0)†	142,7 (122,3-175,5)†	149,5 (123,1-171,6)†	128,8 (115,6-144,3)*
HDL Colesterol (mg/dl)	37,0 (31,2-43,7)	37,5 (32,3-44,2)	36,0 (29,0-45,0)	36,5 (31,7-44,5)	35,0 (28,0-42,0)	36,0 (27,0-43,0)

<sup>\*</sup> p< 0,05, diferença significativa antes e após 2 meses. †p< 0,05, diferença significativa em relação ao Grupo 1

\_RESULTADOS\_\_\_\_\_\_\_ 26

**Tabela 3.** Produção de superóxido, níveis de nitritos e nitratos séricos e adiponectina dos indivíduos obesos com e sem AOS, antes e dois Meses após o Uso do CPAP

	Obesos sem AOS (Grupo 1) n=10		Obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) n=10		Obesos com AOS com CPAP (Grupo 3) n=9	
	Antes	2 Meses Após	Antes	2 Meses Após	Antes	2 Meses Após
Produção de Superóxido (nmol O <sub>2</sub> -/2x10 <sup>6</sup> células)	9,5 (6,5-11,0)	9,0 (6,2-12,4)	15,5 (10,3-22)†	16,1 (9,8-21,7)†	13,2 (10,3-19,6)†	10,5 (5,8-11,8)*
Nitritos e Nitratos Séricos (μΜ)	52,8 (39,1-62,3)	52,2 (37,4-62,8)	29,2 (18,5-43,8)†	29,7 (20,1-45,2)†	24,5 (16,7,0-33,5)†	49,5 (39,3-58,1)*
Adiponectina (μg/mL)	5,7 (4,7-5,9)	5,6 (4,5-6,0)	4,4 (4,1-5,3)†	4,7 (4,1-5,6)†	4,4 (4,2-5,6)†	5,3 (4,4-6,1)*

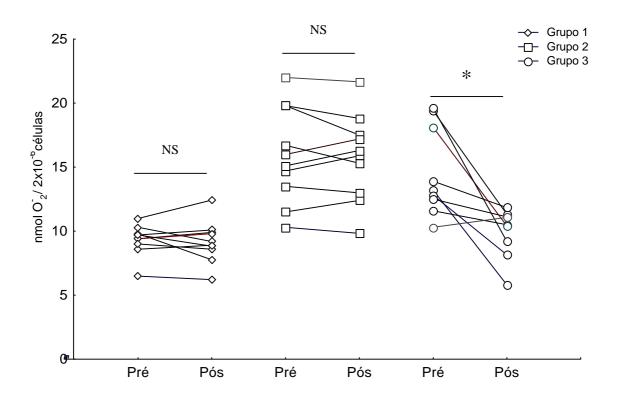
<sup>\*</sup> p< 0,05, diferença significativa antes e após 2 meses. †p< 0,05, diferença significativa em relação ao Grupo 1

Na Tabela 2, não verificamos diferença significativa nos valores basais do índice de massa corpórea, na glicemia e nos níveis de HDL colesterol entre os grupos estudados. Da mesma forma, não foram verificadas alterações quando analisamos esses mesmos parâmetros antes e após 2 meses.

Já nos parâmetros a seguir (Tabelas 2 e 3), os valores basais dos Grupos 2 e 3 foram iguais entre si e superiores aos do Grupo 1: insulinemia, HOMA-IR, triglicerídeos, colesterol total, LDL colesterol e produção de superóxido, enquanto na produção de nitritos e nitratos séricos e adiponectina, os valores dos Grupos 2 e 3, apesar de terem sido similares entre si, foram inferiores aos do Grupo 1.

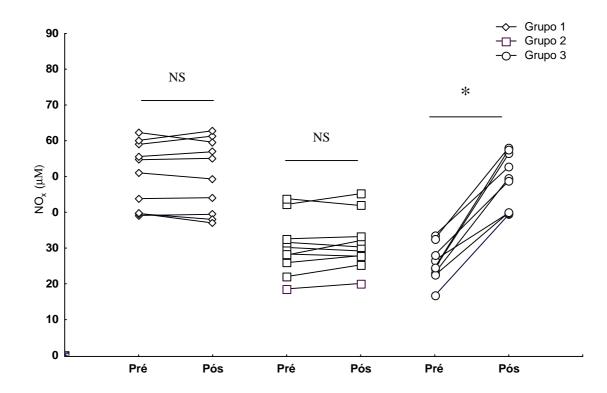
Nas tabelas 2 e 3, também foram identificadas diferenças significativas no Grupo 3, antes e após 2 meses do uso do CPAP, nas variáveis insulinemia, HOMA-IR, triglicerídeos, colesterol total, LDL colesterol, produção de superóxido, produção de nitritos e nitratos séricos e adiponectina. Verificamos ainda que, no Grupo 3, após o uso do CPAP, os valores de insulinemia, HOMA-IR, LDL Colesterol, produção de superóxido, níveis de nitritos e nitratos e de adiponectina foram similares aos do Grupo 1.

As representações gráficas das variações na produção de superóxido, nos níveis de nitrito e nitrato séricos e de adiponectina dos 3 grupos experimentais, antes e após 2 meses, estão demonstradas nas figuras 6, 7, e 8, a seguir.



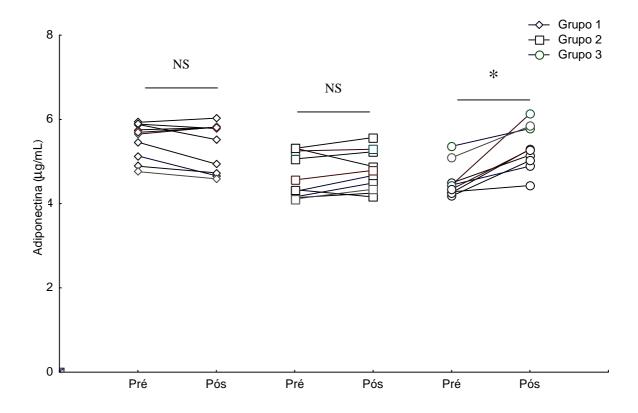
**Figura 6.** Produção de superóxido em indivíduos obesos sem AOS (Grupo 1), obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) e obesos com AOS com CPAP (Grupo 3), antes (pré) e após 2 meses (pós)

Na figura 6, verificamos a produção de superóxido nos 3 grupos experimentais e observamos diferença significativa no Grupo 3, antes e após 2 meses do uso do CPAP [13,2 (10,3-19,6 vs. 10,5 (5,8-11,8) nmol  $O_2^{-1}$ /  $2x10^6$  células].



**Figura 7.** Níveis de nitritos e nitratos séricos em indivíduos obesos sem AOS (Grupo 1), obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) e obesos com AOS com CPAP (Grupo 3), antes (pré) e após 2 meses (pós).

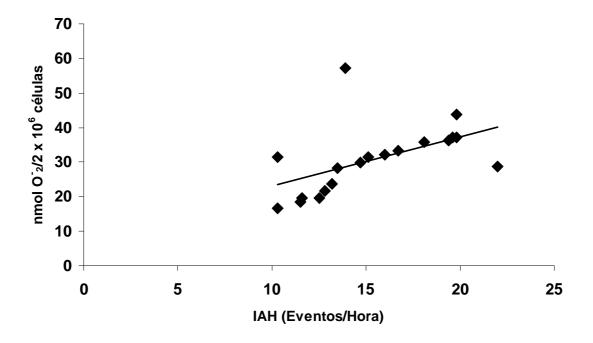
Na figura 7, verificamos os níveis de nitritos e nitratos nos 3 grupos experimentais e observamos níveis menores no Grupo 3, ao compararmos os resultados de antes e após dois meses do uso do CPAP [24,5 (16,7-33,6) vs. 49,1 (39,4-58,1)  $\mu$ M].



**Figura 8.** Níveis de adiponectina em indivíduos obesos sem AOS (Grupo 1), obesos com AOS sem CPAP (Grupo 2) e obesos com AOS com CPAP (Grupo 3), antes (pré) e após 2 meses (pós).

Na figura 8, verificamos que o Grupo 3 mostrou aumento significativo nos níveis de adiponectina, ao serem comparados os valores de antes e após dois meses do uso do CPAP [4,4 (4,2-5,6) vs. 5,3 (4,4-6,1)μg/mL].

4.1 Correlação entre o Índice Apnéia-Hipopnéia e a Produção de Superóxido em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.

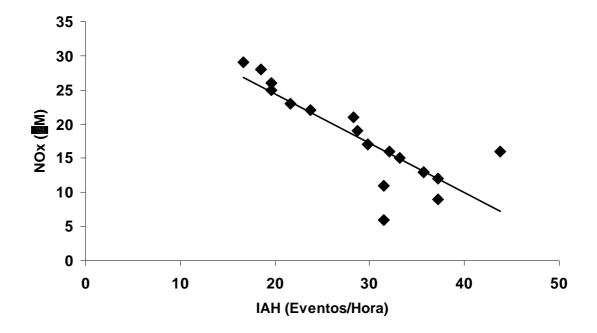


**Figura 9.** Correlação entre o índice apnéia-hipopnéia (IAH) e a produção de superóxido em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, níveis basais)

r= 0,726154; p= 0,000431

Ao avaliarmos a relação entre o IAH e a produção de superóxido dos pacientes obesos com AOS (Figura 9), verificamos a existência de uma correlação positiva entre as variáveis, o que mostra que, quanto maiores os valores do IAH, mais elevada é a produção de superóxido.

4.2 Correlação entre o Índice Apnéia-Hipopnéia e os Níveis de Nitritos e Nitratos Séricos em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.

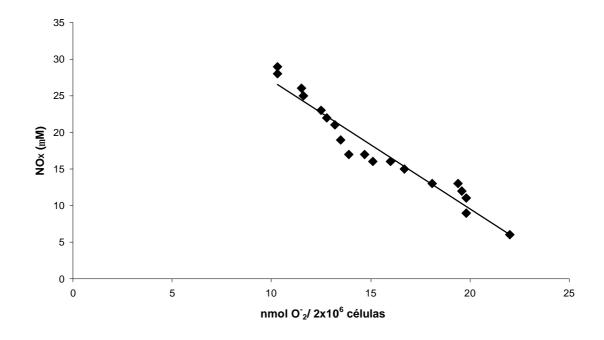


**Figura 10.** Correlação entre o índice apnéia-hipopnéia (IAH) e os níveis de nitritos e nitratos séricos (NOx) em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)

r= - 0,867078; p= 0,000002

Na figura 10, está demonstrada a relação entre o IAH e a os níveis de nitritos e nitratos séricos dos pacientes obesos com AOS, na qual há uma correlação positiva entre as variáveis analisadas, o que demonstra que, quanto maiores os valores de IAH, menores são os níveis dos nitritos e nitratos séricos.

4.3 Correlação entre a Produção de Superóxido e os Níveis de Nitrito e Nitratos Séricos em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.

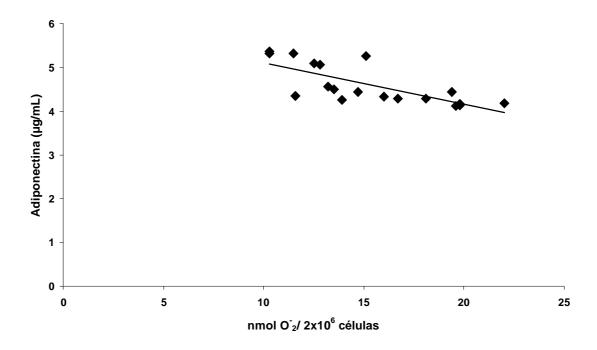


**Figura 11.** Correlação entre a produção de superóxido e nitritos e nitratos séricos em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)

r= - 0,92733221; p= 0,000000

Na figura 11, está demonstrada a relação entre os níveis de nitritos e nitratos séricos e a produção de superóxido em pacientes obesos com AOS (níveis basais), na qual há uma correlação negativa entre as variáveis analisadas, o que mostra que, quanto maiores os valores de superóxido, menor é a produção de nitritos e nitratos séricos.

4.4 Correlação entre a Produção de Superóxido e os Níveis de Adiponectina em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.

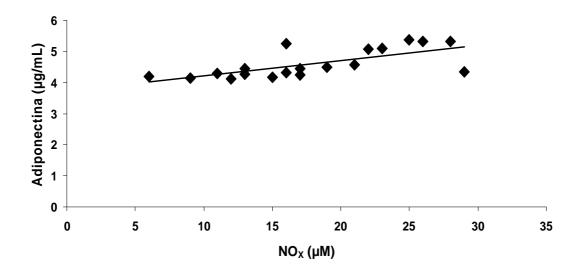


**Figura 12.** Correlação entre a produção de superóxido e os níveis de adiponectina em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)

r= - 0,77373778; p= 0,000102

Na figura 12, fica demonstrada a relação entre produção de superóxido e os níveis de adiponectina em pacientes obesos com AOS (níveis basais), na qual há uma correlação negativa entre as variáveis analisadas, o que salienta que, quanto maiores os valores de superóxido, menores são os níveis de adiponectina.

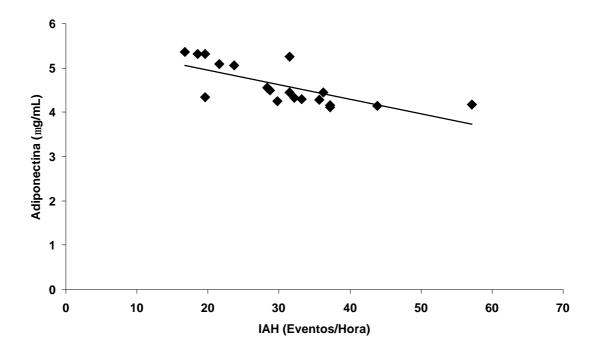
4.5 Correlação entre os Níveis de Nitritos e Nitratos Séricos e os Níveis de Adiponectina em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.



**Figura 13.** Correlação entre os níveis de nitritos e nitratos séricos e os níveis de adiponectina em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais) r= 0,68809886; p= 0,001127

Na figura 13, está evidenciada a relação entre os níveis de nitritos e nitratos séricos e os níveis de adiponectina em pacientes obesos com AOS (níveis basais), na qual há uma correlação positiva entre as variáveis analisadas, o que indica que, quanto maiores os valores de nitritos e nitratos séricos, mais elevados são os níveis de adiponectina.

4.6 Correlação entre o Índice Apnéia-Hipopnéia e os Níveis de Adiponectina em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.

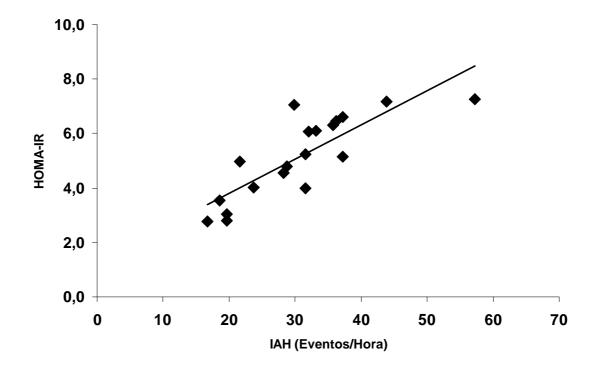


**Figura 14.** Correlação entre o índice apnéia-hipopnéia e os níveis de adiponectina em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais)

r= - 0,70782095; p= 0,000698

Na figura 14, revela-se a relação entre o índice apnéia-hipopnéia e os níveis de adiponectina em pacientes obesos com AOS (níveis basais), na qual há uma correlação negativa entre as variáveis analisadas, o que prova que, quanto maiores eram os valores do IAH, mais reduzidos são os níveis de adiponectina.

# 4.7 Correlação entre o Índice Apnéia-Hipopnéia e o HOMA-IR em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.

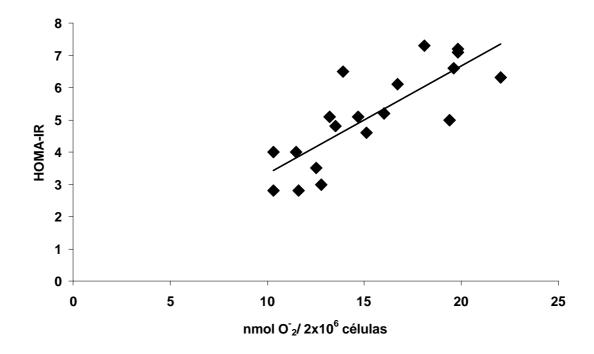


**Figura 15.** Correlação entre o índice apnéia-hipopnéia (IAH) e o HOMA-IR em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, em níveis basais).

r= 0,8570778; p= 0,000002

Ao analisarmos a relação entre o IAH e o HOMA-IR (Figura 15) nos indivíduos obesos com AOS, verificamos que, quanto mais elevados os valores do IAH, maiores eram os níveis de HOMA-IR, o que constitui uma correlação positiva entre os parâmetros avaliados.

## 4.8 Correlação entre a Produção de Superóxido e o HOMA-IR em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.

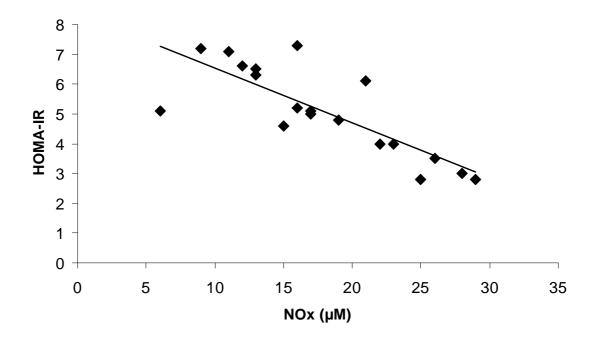


**Figura 16.** Correlação entre a produção de superóxido e o HOMA-IR em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, níveis basais).

r= 0,833409; p= 0,000009

Na figura 16, está demonstrada a relação entre o HOMA-IR e a produção de superóxido dos indivíduos obesos com AOS, na qual há uma correlação significativa entre as variáveis analisadas, o que indica que, quanto maiores os valores de HOMA-IR, mais elevada é a produção de superóxido.

4.9 Correlação entre os Níveis de Nitritos e Nitratos Séricos e o HOMA-IR em Pacientes Obesos Portadores de Apnéia Obstrutiva do Sono.



**Figura 17.** Correlação entre o HOMA-IR e a produção de nitritos e nitratos em indivíduos obesos portadores de AOS (Grupos 2 e 3, níveis basais).

r= - 0,813984; p= 0,000002

Ao avaliarmos a relação entre o HOMA-IR e os níveis de nitritos e nitratos séricos dos pacientes com AOS (Figura 17), verificamos a existência de uma correlação negativa entre as variáveis, o que assinala que, quanto maiores os valores do HOMA-IR, mais reduzidos são os níveis de nitritos e nitratos séricos.

5- DISCUSSÃO

A AOS está relacionada à ocorrência de doenças cardiovasculares e à patogênese das condições mórbidas como hipertensão arterial sistêmica, resistência à insulina e dislipidemia. Acredita-se que os principais responsáveis pelas disfunções metabólicas e cardiovasculares induzidas pela AOS sejam a hipoxemia intermitente e o aumento do tônus simpático. A obesidade também está associada com o aumento da prevalência de doenças cardiovasculares, considerando-se, ainda, que indivíduos obesos apresentam uma maior predisposição para o desenvolvimento de AOS.

A produção de ON reproduz o relaxamento vascular dependente do endotélio<sup>77, 78</sup>. Como o tempo de meia vida dos nitritos e nitratos (derivados do ON) é de 4-7 horas, a mensuração desses elementos logo após o despertar reflete a produção de ON durante a noite<sup>79</sup>, período no qual os pacientes apnéicos apresentam os episódios recorrentes de hipóxia/reoxigenação.

Corroborando os nossos resultados dos efeitos do CPAP sobre os níveis de nitritos e nitratos séricos, Schulz *et al.*(2000)<sup>48</sup>, ao estudarem a produção de nitritos e nitratos séricos em 3 grupos: indivíduos saudáveis, portadores de AOS e portadores de outras doenças, verificaram que os pacientes com AOS demonstraram níveis reduzidos de ON, quando comparados aos pacientes dos outros 2 grupos. Também foi observado, neste mesmo estudo, que o uso do CPAP tanto a curto (2 dias), quanto a longo prazo (5,5 meses), promovia elevação nos níveis de ON. Esses dados mostram o efeito direto da redução e/ou eliminação dos episódios de hipóxia/reoxigenação pelo CPAP sobre a produção de ON.

Outro estudo, realizado por Ip *et al.*(2000)<sup>47</sup> em indivíduos saudáveis e portadores de AOS, também verificou níveis inferiores de ON nos indivíduos com AOS, quando comparados ao grupo controle. Após 3 meses do uso do CPAP, houve aumento significativo da síntese de ON nos pacientes portadores de AOS.

Um novo e importante achado do nosso estudo é que o equilíbrio antioxidante/oxidante na AOS é perturbado, independente da presença da obesidade, já que os pacientes obesos portadores de AOS apresentaram níveis de nitritos e nitratos séricos inferiores e de SO superiores àqueles encontrados nos indivíduos obesos sem AOS.

Já é comprovado que a obesidade é um fator que aumenta o stress oxidativo. No trabalho publicado por Furukawa *et al.*(2004)<sup>70</sup>, foi relatado que o stress oxidativo em indivíduos obesos é responsável pelo estabelecimento da síndrome metabólica por meio dos seguintes mecanismos: a) o aumento na produção de radicais livres, leva a um desequilíbrio na produção das adipocitocinas e b) o aumento seletivo das espécies reativas de oxigênio nas regiões onde há acúmulo de gordura, leva à elevação do stress oxidativo sistêmico.

Em nosso estudo, a produção de ON em indivíduos obesos com AOS mostrou correlação negativa com o IAH, reforçando o papel dos eventos de hipóxia/reoxigenação sobre o stress oxidativo. Observamos também que, quanto maior a gravidade da AOS, caracterizada por valores elevados de IAH, menor era a produção de ON.

Ip et al.(2000)<sup>47</sup> mostraram uma correlação negativa entre o IAH e a produção de ON nos indivíduos com AOS, relação que permaneceu, mesmo após terem sido feitos ajustes em relação ao IMC, o que confirma que a AOS produz alterações na síntese de óxido nítrico, independente da obesidade.

A redução na produção de ON observada na AOS também é acompanhada de um prejuízo à função vascular, restabelecida após o uso do CPAP, como foi relatado por Imadojemu *et al.*(2002)<sup>80</sup>. Eles demonstraram que a hiperemia reativa decorrente de oclusão do fluxo arterial do antebraço estava atenuada e foi incrementada após o uso do CPAP, após o período de 2 semanas a 24 meses.

No nosso estudo, observamos níveis aumentados de SO nos indivíduos obesos portadores de apnéia. Esses pacientes, após o uso do CPAP, tiveram a produção de SO reduzida a níveis similares aos dos indivíduos obesos sem AOS. Segundo Khalid *et al.*(1993)<sup>81</sup>, o aumento da síntese de SO na AOS apresenta correlação com a redução nos níveis de ON e com possíveis alterações na homeostase do tônus vasomotor com conseqüente lesão endotelial, sendo influenciado pelos seguintes elementos: a) a hipoxemia intermitente que funciona como ativadora dos neutrófilos polimorfonucleares, que aderem ao endotélio e liberam as espécies reativas de oxigênio, induzindo a um aumento na produção de radicais livres. Esta resposta depende do grau e da duração da hipóxia; b) a hiperatividade simpática presente na AOS, que promove elevação nos níveis das catecolaminas plasmáticas, levando a um processo de auto-oxidação, o que

eleva a síntese das espécies reativas de oxigênio<sup>82</sup>; c) a fragmentação do sono, com privação do sono REM<sup>83</sup>. No estudo realizado por Carpagnano *et al.*(2003)<sup>84</sup>, foi verificada uma correlação negativa entre o tempo de sono REM na duração total do sono e a produção de 8-isoprostano, um marcador de stress oxidativo; d) o processo inflamatório da VAS e a congestão nasal, associados à elevação de fatores inflamatórios como a IL-6 e o TNF-a, elementos associados com o aumento do stress oxidativo.

Sobre a relação entre a produção de ON, SO e a adiponectina, sugerimos que o aumento nos níveis de adiponectina seja um dos responsáveis pela redução do stress oxidativo. Magalang *et al.*(2006)<sup>85</sup> relataram que o tratamento de neutrófilos humanos com adiponectina inibia a liberação de SO por estas células, possivelmente devido à regulação da NADPH oxidase.

Alguns estudos foram realizados a fim de mensurar os níveis de adiponectina em pacientes portadores de AOS. No trabalho realizado por Makino *et al.*(2006)<sup>86</sup>, foram observados níveis menores de adiponectina nos pacientes com AOS em relação aos controles saudáveis, mas a gravidade da AOS não interferia nos níveis de adiponectina. Já Wolk *et al.* (2005)<sup>87</sup> encontraram níveis maiores de adiponectina nos indivíduos com AOS quando comparados aos indivíduos saudáveis, e atribuíram esse achado a uma possível ação da adiponectina na tentativa de proteger o sistema cardiovascular desses pacientes.

O nosso estudo foi o primeiro a mensurar os níveis de adiponectina em pacientes obesos portadores de AOS e tratados com CPAP. Em 2004,

Zhang *et al.*<sup>88</sup> verificaram que os indivíduos obesos portadores de apnéia apresentavam níveis inferiores de adiponectina, independente do grau de obesidade. Masserini *et al.* (2006)<sup>89</sup> também verificaram níveis inferiores de adiponectina em indivíduos obesos com CPAP, quando comparados a controles saudáveis, mas não relataram alterações significativas nos níveis de adiponectina dos obesos com AOS após o uso do CPAP durante uma noite.

Muitos estudos têm sido realizados correlacionando os distúrbios do sono com a resistência à insulina, no entanto os resultados dos efeitos do CPAP sobre esta variável são controversos. Ip *et al.*(2002)<sup>53</sup> estudaram a resistência à insulina em pacientes com AOS leve, moderada e grave, comparando-os com indivíduos saudáveis. Eles observaram que a resistência à insulina era um fator de risco para hipertensão e poderia potencializar a aterogênese nesses pacientes.

No entanto, no trabalho realizado por West *et al.*(2006)<sup>90</sup>, no qual eles analisaram o efeito do CPAP sobre a glicemia, a resistência à insulina, a hemoglobina glicada e a adiponectina, em indivíduos diabéticos portadores de AOS, não foram encontradas diferenças significativas nas variáveis analisadas após o uso do CPAP por 3 meses (horas de uso por noite: 3,6±2,8 h).

A quantidade de horas de uso do CPAP pode ser um fator determinante nos resultados obtidos. Em nosso estudo, o tempo de utilização do aparelho por noite foi de 5,3±1,7 h. Os estudos sobre o tempo de utilização mínimo do CPAP por noite são poucos<sup>91</sup>. Segundo Campos-

Rodriguez *et al.*(2005)<sup>92</sup>, o uso do CPAP por, no mínimo, 1h por noite é eficaz para reduzir os índices de mortalidade. Já na melhora das variáveis clínicas, quanto mais tempo o CPAP for utilizado por noite, maiores serão os benefícios.

Nossos resultados também foram similares aos de Harsh *et al.* (2003)<sup>93</sup>, que relataram benefícios após o uso do CPAP a curto (2 dias) e a longo prazo (3 meses), em pacientes com AOS moderada-grave. A melhora na resistência à insulina obtida pelo uso do CPAP a curto prazo (2 dias) foi justificada pela redução da atividade simpática e, após 3 meses (logo prazo), a melhora foi atribuída à alteração na distribuição da gordura visceral.

Quanto à relação entre a resistência à insulina e a AOS, verificamos uma correlação significativa entre o IAH e o HOMA-IR. Punjabi *et al.*(2004)<sup>94</sup> verificaram que a gravidade da AOS está relacionada com o HOMA-IR. Estudos como os realizados por Larsen *et al.* (1997)<sup>95</sup> em grandes altitudes e Braun *et al.* (2001)<sup>96</sup> em câmara hipobárica reforçam o papel da hipóxia no estabelecimento da resistência à insulina. Eles relataram que a hipóxia reduz em 50% a sensibilidade à insulina. Além disso, existe o aumento da produção de mediadores inflamatórios com a IL-6, o TNF-α, o fator-1 hipóxia induzido (HIF-1) e NFκB, o que contribui para o desenvolvimento da resistência à insulina.

Outro fator que influencia o estabelecimento da resistência à insulina na AOS é a hiperatividade simpática. No nosso estudo, os indivíduos obesos portadores de AOS apresentaram níveis superiores de FC ao serem comparados ao grupo de obesos sem AOS, o que pode caracterizar um

aumento do tônus simpático nos pacientes com AOS. Em razão dos episódios de hipóxia intermitente, ocorre ativação de SNS a fim de promover o despertar. Além do que, a fragmentação do sono atua sobre o eixo hipotálamo-hipófise, provocando um aumento na liberação das catecolaminas séricas e ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, promovendo retenção de sódio e aumento na volemia 97,98.

O aumento da atividade simpática também repercute sobre as adipocitocinas  $^{99,100}$ . Segundo Fasshauer *et al.*(2001) $^{101}$ , a estimulação  $\beta$ -adrenérgica inibe a expressão do RNAm da adiponectina em cultura de adipócitos de camundongos.

A resistência à insulina é um fator metabólico que vem mostrando uma forte relação com a AOS e com o stress oxidativo. A insulina tem ação não apenas metabólica, mas também vascular, estimulando a produção de óxido nítrico, por meio da ativação da ON sintase endotelial (eONS)<sup>102</sup>. Na AOS além da resistência à insulina estar presente, aumentando a lesão endotelial, os episódios de hipóxia-reoxigenação e a fragmentação do sono aumentam ainda mais o stress oxidativo<sup>53</sup>.

A relação de dependência entre obesidade e resistência à insulina na AOS ainda é controversa. No nosso trabalho, verificamos que a presença do distúrbio do sono piora a resistência à insulina independente da obesidade. Resultados similares foram encontrados por Ip *et al.*(2002)<sup>53</sup> e por Punjabi *et al.*(2002)<sup>54</sup>, que identificaram a resistência à insulina presente na AOS como um fator independente da obesidade. O estudo de Gruber *et al.*(2006)<sup>103</sup> relata que a AOS está relacionada de maneira independente com a

síndrome metabólica, mas não com a resistência à insulina, sugerindo que, nos pacientes apnéicos, outros fatores que não a resistência à insulina seriam os principais responsáveis pela fisiopatologia da síndrome metabólica.

Embora a obesidade seja um fator que promove alteração no perfil lipídico, a AOS também contribui para o estabelecimento da dislipidemia<sup>104</sup>. Na AOS a dislipidemia se desenvolve em razão de uma maior biossíntese dos lipídeos no fígado. Além disso, a hipóxia intermitente presente na AOS pode influenciar a secreção das lipoproteínas e o clearance do colesterol pelo fígado, por mecanismos, até o momento, desconhecidos<sup>105</sup>.

Em nosso estudo, também observamos alterações no perfil lipídico, em sua maioria, exacerbadas nos indivíduos obesos com AOS e amenizadas após o uso do CPAP. Ao analisar 185 indivíduos portadores de AOS e compará-los com controles (n=85), Ip et al.(2000)<sup>47</sup> relataram que os pacientes com AOS possuíam maior quantidade de gordura visceral e que a gravidade da AOS também demonstrava correlação positiva com a relação cintura-quadril. Foram observados também níveis elevados de TG, colesterol total/HDL e LDL, quando comparados aos controles normais. Essas alterações foram revertidas após 6 meses do uso do CPAP.

Sugere-se que os eventos apnéicos, induzindo à hipóxia, possam ter um papel determinante nas alterações de perfil lipídico presentes na AOS: Estudando o efeito da hipóxia intermitente em ratos magros e obesos, Li *et al.*(2005)<sup>105</sup> observaram que, em ratos magros, a hipóxia intermitante promovia elevações nos níveis de colesterol, TG, fosfolipídeos, assim como

no conteúdo de TG no fígado. Relataram ainda que a obesidade e a hipercolesterolemia basais poderiam mascarar os efeitos da hipóxia intermitente sobre o metabolismo lipídico.

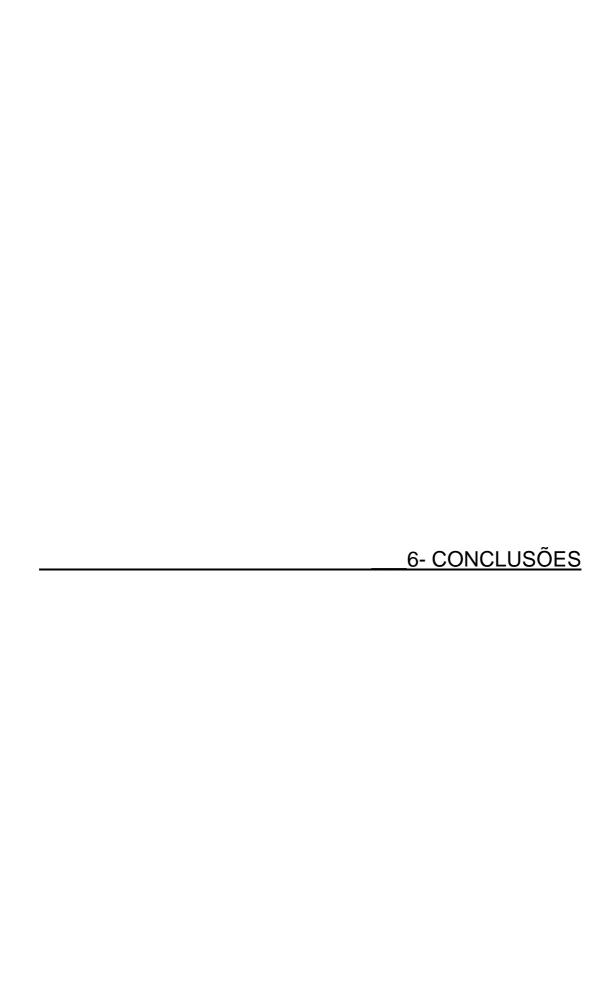
Em outro estudo realizado pelo mesmo grupo<sup>106</sup>, com ratos obesos leptina-deficiente *ob/ob*, foi demonstrado que a hipóxia crônica intermitente elevava o comprometimento do fígado desses animais e também estava associada com o aumento *da* atividade das vias de biossíntese de lipídeos no fígado. Eles sugeriram ainda que essa alteração na biossíntese hepática dos lipídeos ocorre em pacientes obesos com AOS, fator que contribuiria para o desenvolvimento da resistência à insulina nesses pacientes.

No presente estudo, apesar de terem sido observadas alterações nos níveis de lipídeos sangüíneos após o uso do CPAP, não se detectou redução significativa no peso corporal. Resultados similares foram encontrados por Chin *et al.*(1999)<sup>107</sup>. Eles mostraram ainda que, embora o uso do CPAP em longo prazo não altere o peso corporal dos pacientes, pode haver uma modificação na localização dos depósitos de gordura após a utilização do aparelho. Esse achado é interessante, pois outros estudos relatam que a gordura visceral está intimamente relacionada com os níveis sangüíneos de LDL e HDL, pois indivíduos com elevados índices de gordura visceral, apresentam altos níveis de LDL e baixos valores de HDL<sup>108,109</sup>.

Já sobre os níveis de HDL, em acordo com o nosso estudo, Coughlin et al. (2004)<sup>110</sup> também observaram níveis reduzidos de HDL em pacientes portadores de AOS, com aumento de prevalência da síndrome metabólica.

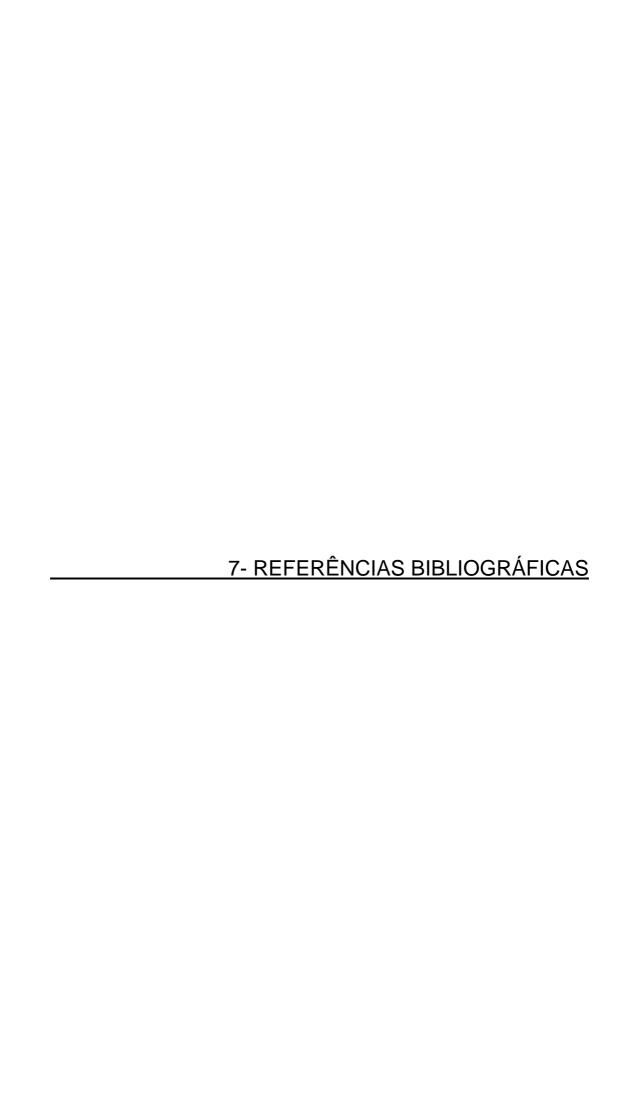
Já Borgel *et al.* (2006)<sup>111</sup> não observaram reduções nos níveis de HDL na AOS, tanto do CPAP como do BIPAP.

Em um trabalho realizado por Tan *et al.* (2006)<sup>112</sup>, foi verificado que os pacientes portadores de AOS, apesar de possuírem níveis similares de HDL em relação aos controles saudáveis, apresentavam uma disfunção do HDL, condição anteriormente relatada em pacientes com doença arterial coronariana. Foi concluído que a disfunção do HDL na AOS acarreta uma falha na prevenção e na inativação da peroxidação lipídica, podendo ser um dos responsáveis pelo aumento de risco cardiovascular nos pacientes apnéicos.



De acordo com os resultados do presente trabalho, podemos concluir que:

- Os indivíduos obesos portadores de AOS apresentam aumento na produção de superóxido, redução nos níveis de nitritos e nitratos séricos, e adiponectina e resistência à insulina;
- As alterações na produção de superóxido, nos níveis de nitritos e nitratos séricos, e de adiponectina e a resistência à insulina presentes na obesidade são agravadas pela apnéia obstrutiva do sono;
- 3. O uso do CPAP é capaz de melhorar as elevações na produção de superóxido, as reduções nos níveis de nitritos e nitratos séricos e adiponectina e as alterações metabólicas presentes nos pacientes obesos portadores de AOS.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Olson EJ, Moore WR, Morgenthaler TI, Gay PC, Staats BA. Obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. Mayo Clin Proc. 2003 Dec;78(12):1545-52.
- 2. Hamilton GS, Solin P, Naughton MT. Obstructive sleep apnoea and cardiovascular disease. Intern Med J 2004;34:420-26.
- Redline S, Kapur VK, Sanders MH, Quan SF, Gottlieb DJ, Rapoport DM, Bonekat WH, Smith PL, Kiley JP, Iber C. Effects of varying approaches for identifying respiratory disturbances on sleep apnea assessment. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161:369-74.
- Caples SM, Gami AS, Somers VK. Obstructive sleep apnea. Ann Intern Med. 2005 Feb 1;142(3):187-97.
- American Academy of Sleep Medicine Task Force. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. Sleep 1999;22:667– 689.
- 6. Young T, Peppard P, Gottlieb D. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. Am J Respir Crit Care Med 2002;165:1217-39.
- Bixler EO, Vgontzas AN, Lin H, Ten Have T, Rein J, Vela-Bueno A, Kales
   A. Prevalence of sleep-disordered breathing in women. Am J Respir Crit
   Care Med 2002;163:608-13.

- Bixler EO, Vgontzas AN, Ten Have T, Tyson K, Kales A. Effects of age on sleep apnea in men: I. Prevalence and severity. Am J Respir Crit Care Med 1998;157:144-48.
- Shimura R, Tatsumi K, Nakamura A, Kasahara Y, Tanabe N, Takiguchi Y, Kuriyama T. Fat accumulation, leptin, and hypercapnia in Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome. Chest 2005;127:543–49.
- 10. Horner RL, Mohiaddin RH, Lowell DG, Shea SA, Burman ED, Longmore DB, Guz A. and sizes of fat deposits around the pharynx in obese patients with obstructive sleep apnea and weight matched controls. Eur Respir J 1989;2:613–22.
- 11. Mortimore IL, Marshall I, Wraith PK, Sellar RJ, Douglas NJ. Neck and total body fat deposition in nonobese and obese patients with sleep apnea compared with that in control subjects. Am J Respir Crit Care Med. 1998 Jan;157(1):280-3.
- 12. Koenig SM. Pulmonary complications of obesity. Am J Med Sci 2001;321(4):249–79.
- 13. Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. N Engl J Med 1993;328(5):1230–35.
- 14. DeAlberto MJ, Ferber C, Garma L, Lemoine P, Alperovitch, A. Factors related to sleep apnea syndrome in sleep clinic patients. Chest 1994;105: 1753–58.

- 15. Stradling JR, Davies RJ. Sleep. 1: Obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome: definitions, epidemiology, and natural history. Thorax 2004 Jan;59(1):73-8.
- 16. Fogel RB, Malhotra A, White DP. Sleep 2: Pathophysiology of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome. Thorax 2004;59:159–63.
- 17. Hudgel DW, Gordon EA, Thanakitcharu S, et al.: Instability of ventilatory control in patients with obstructive sleep apnea. Am J Respir Crit Care Med 1998;158:1142–1149.
- 18. Lan Z, Itoi A, Takashima M, Oda M, Tomoda K. Difference of pharyngeal morphology and mechanical property between OSAHS patients and normal subjects. Auris Nasus Larynx 2006;33(4):433-9.
- 19. Kuna ST, Vanoye CR. Laryngeal response during forced vital capacity maneuvers in normal adult humans. Am J Respir Crit Care Med 1994; 150:729-34.
- 20. Kirkness JP, Schwartz AR, Patil SP, Pichard LE, Marx JJ, Smith PL, Schneider H. Dynamic modulation of upper airway function during sleep: a novel single-breath method. J Appl Physiol. 2006;101(5):1489-94.
- 21. Patil SP, Schneider H, Marx JJ, Gladmon E, Schwartz AR, Smith PL.
  Neuromechanical Control of Upper Airway Patency During Sleep. J Appl Physiol. 2006
- 22. White DP. Sleep apnea. Proc Am Thorac Soc. 2006;3(1):124-8.
- 23. Remmers JE, deGroot WJ, Sauerland EK, Anch AM. Pathogenesis of upper airway occlusion during sleep. J Appl Physiol 1978;44:931–8.

- 24. Ryan CM, Bradley TD. Pathogenesis of obstructive sleep apnea. J Appl Physiol. 2005 Dec;99(6):2440-50.
- 25. Krimsky WR, Leiter JC. Physiology of breathing and respiratory control during sleep. Semin Respir Crit Care Med. 2005 Feb;26(1):5-12.
- 26. Iturriaga R, Rey S, Del Rio R. Cardiovascular and ventilatory acclimatization induced by chronic intermittent hypoxia: a role for the carotid body in the pathophysiology of sleep apnea. Biol Res. 2005;38(4):335-40.
- 27. Iturriaga R, Rey S, Alcayaga J, Del Rio R. Chronic intermittent hypoxia enhances carotid body chemosensory responses to acute hypoxia. Adv Exp Med Biol. 2006;580:227-32.
- 28. Caples SM, Gami AS, Somers VK. Obstructive sleep apnea. Ann Intern Med. 2005 Feb 1;142(3):187-97.
- 29. Narkiewicz K, Somers SK. Sympathetic nerve activity in obstructive sleep apnoea. Acta Physiol Scand 2003;177:385–90.
- 30. Okano Y, Tochikubo O, Umemura S. Relationship between base blood pressure during sleep and health-related quality of life in healthy adults. J Hum Hypertens. 2007 Feb;21(2):135-40.
- 31. Garcia-Rio F, Racionero MA, Pino JM, Martinez I, Ortuno F, Villasante C, Villamor J. Sleep apnea and hypertension. Chest 2000;117:1417-25.
- 32. Coccagna G, Pollini A, Provini F. Cardiovascular disorders and obstructive sleep apnea syndrome. Clin Exp Hypertens. 2006 Apr-May;28(3-4):217-24.

- 33. Narkiewicz K, Montano N, Cogliati C, De Borne PJH, Dyken ME, Somers VK. Altered cardiovascular variability in obstructive sleep apnea. Circulation 1998;98:1071–77.
- 34. Phillips BG, Narkiewicz K, Pesek CA, Haynes WG, Dyken ME, Somers VK. Effects of obstructive sleep apnea on endothelin-1 and blood pressure. J Hypertens 1999;17:61–66.
- 35. Ip MSM, Tse H, Lam B, Tsamg KWT, Lam W. Endothelial Dysfunction in Sleep Apnea. Am J Respir Crit Care Med 2004;169:348–353.
- 36. McNicholas WT, Ryan S. Obstructive sleep apnoea syndrome: translating science to clinical practice. Respirology 2006;11(2):136-44.
- 37. Sullivan CE, Issa FG, Berthon-Jones M, Eves L. Reversal of obstructive sleep apnoea by continuous positive airway pressure applied through the nares. Lancet. 1981;1:862–65.
- 38. Chai CL, Pathinathan A, Smith B. Continuous positive airway pressure delivery interfaces for obstructive sleep apnoea. Cochrane Database Syst Rev. 2006 Oct 18;(4):CD005308.
- 39. Hirshkowitz M, Sharafkhaneh A. Positive Airway Pressure Therapy of OSA. Semin Respir Crit Care Med 2005; 26(1):68-79.
- 40. Giles TL, Lasserson TJ, Smith BH, White J, Wright J, Cates CJ. Continuous positive airways pressure for obstructive sleep apnoea in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2006 Jul 19;3:CD001106.
- 41. Beecroft J, Zanon S, Lukic D, Hanly, P. Oral continuous positive airway pressure for sleep apnea: effectiveness, patient preference, and adherence. Chest 2003;124:2200-08.

- 42. Aloia MS, Stanchina M, Arnedt JT, Malhotra A, Millman RP. Treatment adherence and outcomes in flexible vs standard continuous positive airway pressure therapy. Chest 2005;127:2085–93.
- 43. Wright J, Johns R, Watt I, Melville A, Sheldon T. Health effects of obstructive sleep apnoea and the effectiveness of continuous positive airways pressure: a systematic review of the research evidence. Br Med J 1997;314:851–60.
- 44. Jenkinson C, Davies RJ, Mullins R, Stradling JR. Comparison of therapeutic and subtherapeutic nasal continuous positive airway pressure for obstructive sleep CPAP in sleep apnoea: a randomised prospective parallel trial. Lancet 1999;353:2100–05.
- 45. Hsu AAL, Lo C. Continuous positive airway pressure therapy in sleep apnoea. Respirology 2003;8:447–54.
- 46. Yee B, Liu P, Phillips C, Grunstein R. Neuroendocrine changes in sleep apnea. Curr Opin Pulm Med 2004;10:475–81.
- 47. Ip MS, Lam B, Chan LY, Zheng L, Tsang KW, Fung PC, Lam WK.

  Circulating nitric oxide is suppressed in obstructive sleep apnea and is reversed by nasal continuous positive airway pressure. Am J Respir Crit Care Med 2000:162:2166-71.
- 48. Schulz R, Mahmoudi S, Hattar K, Sibelius U, Olschewski H, Mayer K, Seeger W, Grimminger F. Enhanced release of superoxide from polymorphonuclear neutrophils in obstructive sleep apnea: impact of continuous positive airway pressure therapy. Am J Respir Crit Care Med 2000;162:566–70.

- 49. Harsch IA, Koebnick C, Wallaschofski H, Ficker, JH, Lohmann T, Konturek PC. Resistin levels in patients with obstructive sleep apnoea syndrome the link to subclinical inflammation? Med Sci Monit 2004; 10(9):CR510-15.
- 50. Harsch IA, Konturek PC, Koebnick C, Kuehnlein PP, Fuchs FS, Pour Schahin S, Wiest GH, Hahn EG, Lohmann T, Ficker JH. Leptin and ghrelin levels in patients with obstructive sleep apnoea: effect of CPAP treatment. Eur Respir J 2003;22:251–57.
- 51. Brooks B, Cistulli PA, Borkman M, Ross G, Mcghee S, Grunstein RR, Sullivan CE, Yue DK. Obstructive sleep apnea in obese non-insulindependent diabetic patients: effect of continuous positive airway pressure treatment on insulin responsiveness. J Clin Endocrinol Metab 1994;79:1681–85.
- 52. American Diabetes Association. Consensus Development Conference on Insulin Resistance. Diabetes Care 1998;21:1–5.
- 53. Ip MS, Lam B, Ng MMT, Lam WK, Tsang KWT, Lam KSL. Obstructive sleep apnea is independently associated with insulin resistance. Am J Respir Crit Care Med 2002;165:670–76.
- 54. Punjabi NM, Sorkin JD, Karzel LI, Goldberg AP, Schwartz AR, Smith PL. Sleep-disordered breathing and insulin resistance in middle-aged and overweight men. Am J Respir Crit Care Med 2002;165:677–82.
- 55. Börntorp P. Metabolic implications of body fat distribution. Diabetes Care 1991;14:1132–43.

- 56. Vettor R, Milan G, Rossato M, Federspil G. Adipocytokines and insulin resistance. Aliment Pharmacol Ther 2005;22(2):3-10.
- 57. Kougias P, Chai H, Lin PH, Yao Q, Lumsden AB, Chen C. Effects of adipocyte-derived cytokines on endothelial functions: implication of vascular disease. J Surg Res. 2005 Jun 1;126(1):121-29.
- 58. Krakoff J, Funahashi T, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tanaka S, Matsuzawa Y, Kobes S, Tataranni PA, Hanson RL, Knowler WC, Lindsay, RS. Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian. Diabetes Care 2003;26(6):1745-51.
- 59. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. N Engl J Med 1985;312:159–63.
- 60. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. Am J Med 2000;108:652–59.
- 61. Suzuki YJ, Jain V, Park AM, Day RM. Oxidative stress and oxidant signaling in obstructive sleep apnea and associated cardiovascular diseases. Free Radic Biol Med 2006 May 15;40(10):1683-92.
- 62. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? Br J Pharmacol 2004;142:231–55.
- 63. Baron AD, Clark MG. Role of blood flow in the regulation of muscle glucose uptake. Annu Rev Nutr 1997;17:487–499.
- 64. Potenza MA, Marasciulo FL, Chieppa DM, Brigiani GS, Formoso G, Quon MJ, Montagnani M. Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats

- is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production. Am J Physiol 2005;289:H813–22.
- 65. Kim JA, Koh, KK, Quon MJ. The union of vascular and metabolic actions of insulin in sickness and health. Arterioscle Thromb Vasc Biol 2005;25:889-91.
- 66. 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;47:1562–69.
- 67. 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;50:404–10.
- 68. Gao Z, Hwang D, Bataille F, Lefevre M, York D, Quon MJ, Ye J. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. J Biol Chem 2002;277:48115–21.
- 69. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. Nature 2002;420:333–36.
- 70. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J Clin Invest 2004;114:1752–61.

- 71. Gao Z, Hwang D, Bataille F, Lefevre M, York D, Quon MJ, Ye J. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. J Biol Chem 2002;277:48115–21.
- 72. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. Nature 2002;420:333–36.
- 73. Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermetice MN.

  The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixtured population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. Diabetes Res Clin Pract 2006; 72(2):219-20.
- 74. Geloneze B, Tambascia MA. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. Arq Bras Endocrinol Metab. [periódico na Internet]. 2006 Abr [citado 2006 Out 30]; 50(2): 208-215. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0004-27302006000 200007&lng=pt&nrm=iso. doi: 10.1590/S0004-27302006000200007.
- 75. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistence and b-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia 1985;28(7):412-19.
- 76. Ikeda Y, Suehiro T, Nakamura T, Kumon Y, Hashimoto K. Clinical significance of the insulin resistance index as assessed by homeostasis model assesment. Endocrin J 2001;48:81-86.

- 77. Zimmet JF; Hare, JM. Nitroso-redox interactions in the cardiovascular system. Circulation 2006;114:1531-44.
- 78. Kasasbeh E, Chi DS, Krishnaswamy G. Inflamatory aspects of sleep apnea and their cardiovascular consequences. Southern Medical Journal 2006;99:58-67.
- 79. Viinikka L. Nitric oxide as a challenge for the clinical chemistry laboratory. Scand J Clin Lab Invest 1996;56:577-581.
- 80. Imadojemu VA, Gleeson K, Quraishi SA, Kunselman AR, Sinoway LI, Leuenberger U. Impaired vasodilator responses in obstructive sleep apnea are improved with continuous positive airway pressure therapy. Am J Respir Crit Care Med 2002;165:950-53.
- 81. Khalid MA, Ashraf M. Direct detection of endogenous hydroxyl radical production in cultured adult cardiomyocyte during anoxia and reoxygenation: is the hydroxyl radical really the most damaging radical species? Circ Res 1993;72:725-36.
- 82. Vargas F, Moreno JM, Wangensteen R, Rodriguez-Gomez I, Garcia-Estan J. The endocrine system in chronic nitric oxide deficiency. Eur J Endocrinol. 2007 Jan;156(1):1-12.
- 83. Glebocka A, Kossowska A, Bednarek M. Obstructive sleep apnea and the quality of life. J Physiol Pharmacol. 2006 Sep;57 Suppl 4:111-7.
- 84. Carpagnano GE, Kharitonov SA, Resta O, Foschino-Barbaro MP, Gramiccioni E, Barnes PJ. 8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, is increased in exhaled breath condensate of patients with obstructive sleep

- apnea after night and is a reduced by continuous positive airway pressure therapy. CHEST 2003;124:1386-92.
- 85. Magalang UJ, Rajappan R, Hunter MG, Kutala VK, Kuppusamy P, Wewers MD, Marsh CB, Parinandi NL. Adiponectin inhibits superoxide generation by human neutrophils. Antioxid Redox Signal. 2006 Nov-Dec;8(11-12):2179-86.
- 86. Makino S, Handa H, Suzukawa K, Fujiwara M, Nakamura M, Muraoka S, Takasago I, Tanaka, Y, Hashimoto, K, Sugimoto T. Obstructive sleep apnoea syndrome, plasma adiponectin levels and insulin resistance. Clin Endocrinol 2006;64(1):12-19.
- 87. Wolk R, Svatikova A, Nelson, CA, Gami, AS, Govender K, Winnicki M, Somers VK. Plasma levels of adiponectin, a novel adipocyte-derived hormone, in sleep apnea. Obes Res 2005;12:186-90.
- 88. Zhang XL, Yin KS, Mao H, Wang H, Yang Y. Serum adiponectin level in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome. Chin Med J (Engl). 2004 Nov;117(11):1603-6.
- 89. Masserini B, Morpurgo PS, Donadio F, Baldessari C, Bossi R, Beck-Peccoz P, Orsi E. Reduced levels of adiponectin in sleep apnea syndrome. J Endocrinol Invest. 2006 Sep;29(8):700-5.
- 90. West SD, Nicoll DJ, Stradling JR. Prevalence of obstructive sleep apnoea in men with type 2 diabetes. Thorax 2006;61(11):945-50.
- 91. Weaver, Terri E Adherence to positive airway pressure therapy. Curr Opin in Pulm Med. 12(6):409-413, November 2006.

- 92. Campos-Rodriguez F, Pena-Grinan N, Reyes-Nunez N, et al. Mortality in obstructive sleep apnea—hypopnea patients treated with positive airway pressure. Chest 2005; 128:624–633.
- 93. Harsch IA, Schahin SP, Radespiel-Troger M, Weintz O, Jahreiss H, Fuchs FS, Wiest GH, Hahn EG, Lohmann T, Konturek PC, Ficker JH. Continuous positive airway pressure treatment rapidly improves insulin sensitivity in patients with obstructive sleep apnea syndrome. Am J Respir Crit Care Med. 2004 Jan 15;169(2):156-62.
- 94. 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.
- 95. Larsen JJ, Hansen JM, Olsen NV, et al. The effect of altitude hypoxia on glucose homeostasis in men. J Physiol (Lond) 1997;504:241–9.
- 96. Braun B, Rock PB, Zamudio S, et al. Women at altitude: short-term exposure to hypoxia and/or alpha(1)-adrenergic blockade reduces insulin sensitivity. J Appl Physiol 2001;91:623–31.
- 97. Wolk R, Shamsuzzaman ASM, Somers VK. Obesity, sleep apnea, and hypertension. Hypertension 2003;42:1067-74.
- 98. Fletcher EC, Orolinova N, Bader M: Blood pressure response to chronic episodic hypoxia: the renin-angiotensin system. J Appl Physiol 2002;92:627–633.
- 99. Mantzoros, CS. The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. Ann Intern Med 1999;130:671-680.

- 100. Matsumura K, Tsuchihashi T, Fujji K, Iida M. Neural regulation of blood pressure by leptin and related peptides. Reg Pep 2003;114:79-86.
- 101. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Adiponectin gene expression is inhibited by beta-adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. FEBS Lett. 2001 Oct 26;507(2):142-6.
- 102. Robinson GV, Pepperell JC, Segal HC, Davies RJ, Stradling JR. Circulating cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnea: data from randomized controlled trials. Thorax 2004;59:777–782.
- 103. 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(1):22.
- 104. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP)
  Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood
  Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel Space) final report.
  Circulation 2002;106:3143–3421.
- 105. 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 Sep 30;97(7):698-706.
- 106. 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 Nov;99(5):1643-8.

- 107. Chin K, Chimizu 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;100:706-12.
- 108. Bjorntorp P. Obesity. Lancet 1997; 350: 423–426.
- 109. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong, Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel R. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on obesity and heart disease from the obesity committee of the council on nutrition, physical activity, and metabolism. 2006 Circulation; 113(6):898-918.
- 110. Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, Calverley PM, Wilding JP.

  Obstructive sleep apnoea is independently associated with an increased prevalence of metabolic syndrome. Eur Heart J. 2004 May;25(9):735-41.
- 111. Borgel J, Sanner BM, Bittlinsky A, Keskin F, Bartels NK, Buechner N, Huesing A, Rump LC, Mugge A. Obstructive sleep apnoea and its therapy influence high-density lipoprotein cholesterol serum levels. Eur Respir J 2006;27(1):121-7.
- 112. Tan KC, Chow WS, Lam JC, Lam B, Wong WK, Tam S, Ip MS. HDL dysfunction in obstructive sleep apnea. Atherosclerosis 2006;184(2):377-82.