

RAQUEL PASTRÉLLO HIRATA

**Avaliação da colapsabilidade da via aérea superior
durante a vigília por meio da pressão negativa expiratória
e durante o sono por meio da pressão crítica de fechamento da
faringe em indivíduos normais e portadores de apneia
obstrutiva do sono**

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

Programa de Pneumologia

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Lorenzi Filho

São Paulo

2016

RAQUEL PASTRÉLLO HIRATA

**Avaliação da colapsabilidade da via aérea superior
durante a vigília por meio da pressão negativa expiratória
e durante o sono por meio da pressão crítica de fechamento da
faringe em indivíduos normais e portadores de apneia
obstrutiva do sono**

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

Programa de Pneumologia

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Lorenzi Filho

São Paulo

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Hirata, Raquel Pastréllo

Avaliação da colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília por meio da pressão negativa expiratória e durante o sono por meio da pressão crítica de fechamento da faringe em indivíduos normais e portadores de apneia obstrutiva do sono / Raquel Pastréllo Hirata. -- São Paulo, 2016.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Pneumologia.

Orientador: Geraldo Lorenzi Filho.

Descritores: 1.Apneia do sono tipo obstrutiva 2.Faringe/fisiopatologia
3.Faringe/anatomia & histologia 4.Vigília/fisiologia 5.Sono/fisiologia
6.Resistência das vias respiratórias

USP/FM/DBD-146/16

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, *Alberto e Maria* sempre tão perto mesmo estando tão longe. A fé e a força de vocês me inspiram.

Ao *Fernando*, obrigada pelo apoio em todas as minhas decisões. Seu amor e suas atitudes me fazem uma pessoa melhor a cada dia.

Ao meu irmão *Rafael* e sua família *Renata, Ayumi e Yuna*. Obrigada pela confiança e por estarem sempre tão presentes.

AGRADECIMENTOS

À *Deus*, que me abençoa e ilumina em todos os momentos.

Ao *dr. Geraldo Lorenzi Filho*, obrigada pela oportunidade de ser sua aluna e por toda a orientação desde projeto. Sua sabedoria e entusiasmo com a pesquisa são inspiradoras.

Ao *dr. Pedro Rodrigues Genta*, obrigada pela disponibilidade e apoio em todos os momentos.

Ao *prof. Henrique Takachi Moriya*, pela disponibilidade e pela paciência com a nossa ignorância com os números.

À amiga *Fabiane Kayamori*, minha companheira de coletas, noites e finais de semana no laboratório, muito obrigada pela sua amizade de sempre.

À amiga *Vanessa Jeto*, muito obrigada pelo apoio desde o início, seu bom-humor e sua amizade tornaram mais fácil essa caminhada.

À amiga *Fabiola Schorr*, sempre disponível para nos ajudar nas coletas, obrigada pela sua amizade.

Ao amigo *Daniel de Queiroz*, sempre prestativo em ajudar, seja qual for o problema.

A todos os *amigos* que passaram pelo Laboratório do Sono do InCor durante esses anos, pós-graduandos, residentes e coordenadores de pesquisa, obrigada pela amizade e companheirismo.

À *Vandinha*, obrigada pela ajuda e amizade ao longo desses anos.

Aos técnicos de polissonografia do Laboratório do Sono do InCor, em especial ao *Paulo* e *Robson* que fizeram os exames desse projeto, muito obrigada pelo esforço e dedicação.

Ao *prof. Luis Vicente Franco de Oliveira*, obrigada pelos ensinamentos durante o mestrado e pela oportunidade de ter me levado a conhecer o Laboratório do Sono do InCor.

Aos amigos do Mestrado, em especial ao *Israel* e *Isabella*, obrigada pela amizade desde que cheguei a São Paulo.

Ao *dr. Giuseppe Insalaco* e *prof. Salvatore Romano*, do Conselho Nacional de Pesquisa da Itália. Obrigada pela receptividade e oportunidade de aprender a técnica da pressão negativa expiratória, além das contribuições nos resultados deste trabalho.

À amiga *Mariana Kanashiro* e sua família, que abriram as portas de sua casa quando cheguei a São Paulo, obrigada por todo apoio e amizade.

Ao pessoal do Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Pulmonar - LFIP da Universidade Estadual de Londrina, em especial ao *prof. Fabio Pitta*, *prof. Antonio Fernando Brunetto* (*in memoriam*) e *amigos* do LFIP, com quem iniciei o aprendizado em pesquisa. Com certeza este trabalho tem muito do que aprendi com vocês.

Aos profissionais da Secretaria do Programa de Pneumologia e da Comissão Científica, em especial à *Luciana*, *Alessandra*, *Elaine*, *Marcio* e *Klaus*, obrigada pelo apoio desde o início deste projeto.

Ao *prof. Carlos Roberto Ribeiro de Carvalho*, Titular da Disciplina de Pneumologia, ao *prof. Mário Terra Filho* e *prof. Rogério de Souza*, coordenadores do Programa de Pós Graduação em Pneumologia, obrigada pela oportunidade de participar de um programa de pós graduação de excelência.

À *Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo*, ao *Instituto do Coração*, à *Fundação Zerbini* e à *Disciplina de Pneumologia*, sem os quais essa pesquisa não seria realizada.

A todos os *pacientes* que participaram deste projeto, obrigada pela disponibilidade e contribuição com a pesquisa.

APOIO FINANCEIRO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

Bolsa de Doutorado (Processo 2012/20743-5)

Auxílio à Pesquisa (Processo 2011/12120-5)

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Aneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Apneia obstrutiva do sono (AOS)	2
1.1.1 Quadro clínico da AOS	2
1.1.2 Diagnóstico da AOS.....	3
1.1.3 Epidemiologia da AOS	6
1.1.4 Fisiopatologia da AOS.....	6
1.1.4 - a) Anatomia da via aérea superior	7
1.1.4 - b) Função neuromuscular da via aérea superior	14
1.1.4 - c) Limiar de despertar.....	14
1.1.4 - d) Estabilidade do controle ventilatório.....	15
1.1.5 Tratamento da AOS	16
1.2 Métodos fisiológicos para avaliação da colapsabilidade da via aérea superior	18
1.2.1 Pressão negativa expiratória.....	18
1.2.1 - a) Momento de aplicação da pressão negativa	20
1.2.1 - b) Nível de pressão negativa.....	21
1.2.1 - c) Duração da pressão negativa	21
1.2.1 - d) Posição	21
1.2.1 - e) Interface.....	22
1.2.1 - f) Parâmetros utilizados para medir a colapsabilidade da via aérea superior	23
1.2.2 Pressão crítica de fechamento da faringe	26
2 JUSTIFICATIVA.....	29
3 OBJETIVOS.....	31

3.1 <i>Estudo 1:</i> Influência da interface e da posição sobre a colapsabilidade da via aérea superior avaliada pela NEP.....	32
3.2 <i>Estudo 2:</i> Associação entre a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília avaliada pela NEP e durante o sono avaliada pela Pcrit com variáveis anatômicas características de pacientes com AOS avaliadas pela TC de via aérea superior.....	32
4 MÉTODO	33
4.1 Desenho do estudo	34
4.2 Sujeitos	34
4.3 Avaliações	35
4.3.1 Exame Físico	35
4.3.2 Questionários	35
4.3.3 Espirometria	35
4.3.4 Polissonografia.....	36
4.3.5 Pressão Negativa Expiratória.....	36
4.3.5 - a) Desenvolvimento de nova metodologia para o teste da NEP	38
4.3.6 Pressão Crítica de Fechamento da Faringe.....	41
4.3.7 Tomografia computadorizada de cabeça e pescoço.....	44
4.4 Análise estatística	45
5 RESULTADOS	47
5.1 Estudo 1	48
5.2 Estudo 2	54
6 DISCUSSÃO	62
6.1 Estudo 1	63
6.2 Estudo 2	67
7 CONCLUSÕES	71
7.1 Estudo 1	72
7.2 Estudo 2	72

8 ANEXOS	73
ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	74
ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	76
ANEXO C - Escala de Sonolência de Epworth	82
ANEXO D - Questionário Clínico de Berlim.....	84
9 REFERÊNCIAS	86

APÊNDICES

Apêndice 1 - Artigo enviado para publicação na revista *Chest*: *Influence of interface and position on upper airway collapsibility assessed by negative expiratory pressure*

Apêndice 2 - Artigo aceito para publicação na revista *Journal of Clinical Sleep Medicine*: *Upper airway collapsibility assessed by negative expiratory pressure while awake is associated with upper airway anatomy*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características demográficas, clínicas, de sono e de função pulmonar dos sujeitos	50
Tabela 2 - Efeitos da interface (bocal versus máscara nasal) e da posição (sentado versus supino) sobre a colapsabilidade da via aérea superior medida pela NEP	51
Tabela 3 - Correlações entre anatomia da via aérea superior e NEP avaliada com bocal nas posições sentada e supina e com máscara nasal na posição supina	53
Tabela 4 - Características demográficas, clínicas e do sono dos indivíduos	55
Tabela 5 - Características antropométricas, anatômicas e de colapsabilidade da via aérea superior de acordo com a gravidade da AOS	56
Tabela 6 - Variáveis antropométricas, anatômicas e do sono de acordo com a mediana da variável da NEP	57
Tabela 7 - Associações entre a colapsabilidade da via aérea superior avaliada durante a vigília (NEP) e durante o sono (Pcrit) com variáveis antropométricas e anatomias da via aérea superior (n=28)	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Registro de 60s de polissonografia de um paciente apresentando uma apneia obstrutiva. Observe a interrupção do fluxo aéreo e persistência de esforço respiratório (cintas torácica e abdominal) com consequente dessaturação (canal SpO₂) e despertar (canal EEG)..... 4

Figura 2 - Registro de 60s de polissonografia de um paciente apresentando uma hipopneia. Observe a diminuição do fluxo aéreo e persistência de esforço respiratório (cintas torácica e abdominal) com consequente dessaturação (canal SpO₂) e despertar (canal EEG)..... 5

Figura 3 - Anatomia da faringe evidenciando os principais segmentos – nasofaringe, orofaringe retropalatal, orofaringe retroglossal e hipofaringe 8

Figura 4 - Comparação de uma imagem representativa em corte sagital de **A)** um indivíduo normal e **B)** um paciente portador de apneia obstrutiva do sono. A via aérea é mais estreita e o palato mole é mais longo no paciente com apneia. A quantidade de gordura subcutânea (área branca na região posterior do pescoço) é maior no paciente com apneia do que no indivíduo normal. A quantidade de gordura na língua também parece ser maior no paciente com apneia do que no indivíduo normal 10

Figura 5 - Representação do conceito de pressão transmural e da lei dinâmica do tubo. **A)** A pressão transmural é definida como a pressão intraluminal menos a pressão tecidual. **B)** Um aumento da pressão transmural resulta em um aumento da área de secção transversa, de acordo com a lei dinâmica do tubo da faringe 11

Figura 6 - A abertura da mandíbula resulta em um deslocamento posterior e caudal da espinha geniana da mandíbula, assim como do hióide, por meio dos vários ligamentos entre a mandíbula e o hióide. Como resultado, as estruturas da parede anterior da faringe como a língua e a epiglote se movem em direção posterior, diminuindo o tamanho da faringe. A flexão do pescoço possui um efeito similar

sobre o hióide, língua e epiglote, mesmo sem alteração na relação entre mandíbula e maxila..... 12

Figura 7 - Possíveis mecanismos que explicam como a tração traqueal da via aérea superior protege a patência da via aérea superior 13

Figura 8 - Representação do conceito de *loop gain*, que é a resposta ventilatória a uma redução estável da ventilação. **1)** Eupneia; **2)** Diminuição da ventilação; **3)** Aumento do dióxido de carbono (CO₂) que leva a maior ativação muscular, causando um pequeno aumento da ventilação, até a estabilização (distúrbio). No caso desta figura, o distúrbio foi uma redução de 1,4 L/min na ventilação; **4)** Resposta ventilatória ao distúrbio. No caso, a resposta foi um aumento de 4,2 L/min na ventilação. O *loop gain* é $4,2 \div -1,4 = -3$, ou seja, cada litro por minuto de redução na ventilação tem como resposta um aumento de 3 vezes na ventilação; **5)** Eupneia, após a eliminação do excesso de CO₂..... 16

Figura 9 - Curvas fluxo-volume durante uma respiração espontânea seguida de uma aplicação de NEP ao início da expiração (indicado pelas setas). a. sujeito saudável, sem limitação de fluxo. b. paciente com DPOC grave com limitação ao fluxo expiratório intratorácico 19

Figura 10 - Curva fluxo-volume de um sujeito obeso (índice de massa corpórea de 38 kg/m²) durante uma respiração espontânea seguida da aplicação de NEP ao início da expiração (indicado pela seta) 20

Figura 11 - Perfil de um indivíduo com e sem bocal..... 22

Figura 12 - Técnicas de medida da colapsabilidade da via aérea superior: volume expirado a 0,2s (V_{0,2}), expresso como porcentagem da média do volume inspirado nas três respirações precedentes à aplicação da NEP e a variação da queda de fluxo ($\Delta V'$), expresso como porcentagem do pico de fluxo 26

Figura 13 - **A)** Representação do modelo de Resistor de Starling para avaliação da colapsabilidade da via aérea superior. A caixa selada representa os tecidos ao redor da faringe, o segmento colapsável representa a faringe, os tubos rígidos fora da caixa

representam o nariz e a traqueia; **B)** sem limitação de fluxo - faringe totalmente patente; **C)** com limitação de fluxo - colapso parcial da faringe; **D)** colapso total da faringe 27

Figura 14 - Montagem do equipamento de NEP com bocal 37

Figura 15 - Posições e interfaces para o teste da NEP. **A)** bocal sentado, **B)** máscara nasal sentado, **C)** bocal supino, **D)** máscara nasal supino..... 39

Figura 16 - Aplicação da NEP no início da expiração durante a respiração espontânea. $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ - relação entre o volume expirado a 0,2 s durante a respiração espontânea (representado pela área hachurada em cinza claro) sobre o volume expirado a 0,2 s durante a aplicação da NEP (representado pela área hachurada em cinza escuro), $R_{0,2}$ - resistência expiratória medida a 0,2 s durante a aplicação da NEP 40

Figura 17 - Representação do equipamento utilizado na determinação da P_{crit} 42

Figura 18 - Detalhe da redução de pressão da máscara e surgimento de limitação de fluxo. Os valores de fluxo inspiratório máximo e pressão da máscara concomitante das 3ª a 5ª respirações com limitação de fluxo são utilizados para análise..... 42

Figura 19 - Dispersão dos dados de pico de fluxo inspiratório e pressão na máscara de um exame de P_{crit} . A reta representa a regressão linear e sua extrapolação para o fluxo zero representa a P_{crit} 43

Figura 20 - Representação de uma imagem de tomografia computadorizada da via aérea superior 45

Figura 21 - Fluxograma do estudo 49

Figura 22 - Sobreposição das curvas de fluxo das manobras de NEP em um paciente representativo com AOS nas quatro situações estudadas: **A)** bocal na posição sentada, **B)** máscara nasal na posição sentada, **C)** bocal na posição supina e **D)** máscara nasal na posição supina. A flecha na região inferior de cada figura indica o momento da aplicação da NEP. A expiração está representada com valores positivos.

$V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$: relação entre a média do volume expirado a 0,2s nas 3 respirações precedentes durante a respiração estável (não mostrados na Figura) sobre o volume expirado a 0,2s durante a aplicação da NEP. O $V_{0,2}$ durante as respirações estáveis precedentes à NEP foram similares nas 4 situações (variação entre 32 - 38 mL). Por outro lado, o $V_{0,2}$ durante a aplicação da NEP foi variado. O $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ com máscara nasal foi maior (pior colapsabilidade da via aérea superior) na posição supina do que na posição sentada. O $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ com bocal foi similar entre as posições sentada e supina. Note também que a colapsabilidade da via aérea superior foi maior com bocal do que com máscara nasal 52

Figura 23 - Aplicação da NEP e determinação da Pcrit de dois pacientes representativos (A e B). De cima para baixo: curvas de fluxo e de pressão durante 3 respirações normais e durante a aplicação da NEP (-5 cmH₂O), ativada no início da expiração. O último gráfico representa a linha de regressão obtida para a determinação da Pcrit durante o sono induzido em um exame separado nos pacientes A e B, respectivamente. Cada ponto representa o pico de fluxo inspiratório das respirações 3 a 5 com limitação de fluxo e a pressão nasal correspondente. A Pcrit é a resultante da extrapolação da linha de regressão e representa a pressão no fluxo-zero. O paciente A é do sexo masculino (idade = 52 anos, peso = 71,9 kg, altura = 1,61 m, IMC = 27,7 kg/m³ e IAH = 15,4 eventos/hora) com NEP = 0,32 e Pcrit = -5,53 cmH₂O. O paciente B também é do sexo masculino (idade = 47 anos, peso = 139,6 kg, altura = 1,88 m, IMC = 39,5 kg/m³ e IAH = 80,2 eventos/hora) com NEP = 0,94 e Pcrit = +4,32 cmH₂O 59

Figura 24 - Análises de correlação entre a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília (NEP - lado esquerdo) e durante o sono (Pcrit - lado direito) com comprimento da faringe (distância entre a espinha nasal posterior até a epiglote) e com dimensão da língua (representada pelo volume da língua) 60

LISTA DE ABREVIATURAS

$\Delta V\%_{\text{pico}}$	Varição da queda de fluxo transitória que ocorre logo após o pico de fluxo inicial à aplicação da NEP
AOS	Apneia obstrutiva do sono
CO ₂	Dióxido de carbono
Comp	Comprimento
CPAP	Pressão positiva contínua na via aérea
CV	Capacidade vital lenta
CVF	Capacidade vital forçada
Dflow%	Relação entre a área sob a curva fluxo-volume da NEP e a área sob a curva expiratória espontânea
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EFL, %Vt	Limitação ao fluxo expiratório expresso como porcentagem do volume corrente expirado da NEP que ficou abaixo do volume corrente expirado na respiração precedente, avaliado pela sobreposição das curvas fluxo-volume
ENP	Espinha nasal posterior
ENP	Espinha nasal posterior
GEE	Equações de estimativa generalizadas
IAH	Índice de apneia-hipopneia
IMC	Índice de massa corpórea
InCor	Instituto do Coração
Iq	Índice quantitativo
MPH	Distância entre o plano mandibular ao hióide

NEP	Pressão negativa expiratória
NREM	<i>Non rapid eye movement</i>
Pcrit	Pressão crítica de fechamento da faringe
PM	Plano mandibular
PM	Plano mandibular
PSG	Polissonografia
R _{0,2}	Resistência expiratória medida a 0,2 s durante a aplicação da NEP
R _{int,rs}	Resistência do sistema respiratório medida pela técnica de interrupção do fluxo
RM	Ressonância magnética
RREP	Potencial evocado relacionado à respiração
TC	Tomografia computadorizada
USP	Universidade de São Paulo
V _{,NEP0,5} (mL)	Volume expirado nos primeiros 0,5s após a aplicação da NEP
V _{0,2} %V _i	Volume expirado nos primeiros 0,2s logo após a aplicação da NEP
V _{0,2SB} /V _{0,2NEP}	Relação entre o volume expirado a 0,2 s durante a respiração espontânea (3 expirações precedentes à aplicação da NEP) sobre o volume expirado a 0,2 s durante a aplicação da NEP
VEF ₁	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
V'imax	Pico de fluxo inspiratório

RESUMO

Hirata RP. *Avaliação da colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília por meio da pressão negativa expiratória e durante o sono por meio da pressão crítica de fechamento da faringe em indivíduos normais e portadores de apneia obstrutiva do sono* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

INTRODUÇÃO: A apneia obstrutiva do sono (AOS) é comum na população geral e é caracterizada pelo colapso recorrente da via aérea superior. Há um interesse crescente no desenvolvimento de métodos para melhor entendimento da fisiopatologia da AOS. A técnica da pressão negativa expiratória (NEP) é um método relativamente simples que avalia a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília. Porém, a metodologia varia muito e a maioria dos estudos utilizou o bocal, que pode não retratar de forma adequada o comportamento da nasofaringe e pode interferir na posição da língua. Adicionalmente, não existem estudos que avaliaram a associação da NEP com variáveis anatômicas da via aérea superior. A pressão crítica de fechamento da faringe (Pcrit) é um método bem estabelecido que reflete o componente anatômico da AOS, porém é realizada durante o sono e envolve metodologia complexa. **OBJETIVOS:** Realizamos 2 estudos em indivíduos normais e portadores de AOS com o objetivo de: *Estudo 1)* Determinar a influência da interface e posição sobre a medida da colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília avaliada pela NEP. *Estudo 2)* Avaliar a associação entre a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília medida pela NEP com máscara nasal na posição supina e durante o sono medida pela Pcrit com variáveis anatômicas da via aérea superior avaliadas pela tomografia computadorizada (TC). **MÉTODOS:** Foram recrutados indivíduos com idade entre 18 e 65 anos com suspeita de AOS referidos do Laboratório do Sono do InCor. Os indivíduos foram submetidos a prova de função pulmonar, polissonografia e NEP em 4 situações: posição sentada e supina utilizando tanto bocal como máscara nasal. A NEP foi avaliada pelo parâmetro $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ (relação entre o volume expirado a 0,2 s durante a respiração

espontânea (3 expirações precedentes à aplicação da NEP) sobre o volume expirado a 0,2 s durante a aplicação da NEP). Um subgrupo dos indivíduos realizou o exame de Pcrit e TC de via aérea superior. RESULTADOS: *Estudo 1*) Foram estudados um total de 86 indivíduos (72 homens, idade: 46±12 anos, índice de massa corpórea (IMC): 30,2±4,4 kg/m², índice de apneia/hipopneia (IAH): 32,9±26,4 eventos/hora). Encontramos uma interação entre interface e posição sobre a colapsabilidade da via aérea superior na análise multivariada (p=0,007), sendo que a via aérea superior foi mais colapsável com bocal do que com máscara nasal na posição sentada. A colapsabilidade da via aérea superior foi maior na posição supina do que sentada quando a NEP foi realizada com máscara nasal. Em contraste, a NEP não foi influenciada pela posição quando avaliada com bocal. A resistência expiratória foi significativamente maior e independente da posição com bocal do que máscara nasal (20,7 cmH₂O/L.s⁻¹ vs 8,6 cmH₂O/L.s⁻¹ respectivamente, p=0,018). *Estudo 2*) Vinte e oito indivíduos realizaram a NEP com máscara nasal na posição supina, Pcrit e TC da via aérea superior (idade: 45±13 anos, IMC: 29,4±4,9 kg/m² e IAH: 30±26 eventos/hora). A NEP e a Pcrit se associaram de maneira semelhante com a área da língua (r=0,646 e r=0,585), volume da língua (r=0,565 e r=0,613), comprimento da faringe (r=0,580 e r=0,611) e IAH (r=0,490 e r=0,531), respectivamente (p<0,05 para todas as correlações). A NEP e a Pcrit foram significativamente piores em pacientes com AOS grave do que no restante da população (p<0,05). CONCLUSÕES: *Estudo 1*) A interface e a posição influenciam a colapsabilidade da via aérea superior medida pela NEP. Propomos que a NEP seja realizada com máscara nasal na posição supina em estudos futuros de avaliação da colapsabilidade da via aérea superior em pacientes sob investigação de AOS. *Estudo 2*) A NEP avaliada com máscara nasal na posição supina é um método simples e promissor que reflete o componente anatômico da colapsabilidade da via aérea superior de forma similar a Pcrit.

Descritores: 1. Apneia do sono tipo obstrutiva, 2. Faringe/fisiopatologia, 3. Faringe/anatomia & histologia, 4. Vigília/fisiologia, 5. Sono/fisiologia, 6. Resistência das vias respiratórias.

ABSTRACT

Hirata RP. *Upper airway collapsibility evaluation during wakefulness using negative expiratory pressure and during sleep using pharyngeal critical closing pressure in obstructive sleep apnea and normal subjects* [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2016.

INTRODUCTION: Obstructive sleep apnea (OSA) is common in the general population and is characterized by recurrent collapse of the upper airway. There is a growing interest in developing methods for better understanding of OSA pathophysiology. Negative expiratory pressure (NEP) technique is a simple method that evaluates upper airway collapsibility during wakefulness. However, the method of NEP determination varies among published studies and is mostly evaluated with a mouthpiece, which could inadequately reflect the behavior of nasopharynx and also interfere on the tongue position. In addition, there are no studies evaluating the association between NEP and upper airway anatomy. Pharyngeal critical closing pressure (Pcrit) is a well established technique that reflects the anatomical component of OSA, however, it is performed during sleep and requires a complex methodology. **OBJECTIVES:** We performed 2 studies in OSA and normal subjects with the objectives of: *Study 1)* To determine the influence of interface and position on the measurement of upper airway collapsibility while awake evaluated by NEP. *Study 2)* To evaluate the association among upper airway collapsibility while awake evaluated by NEP with nasal mask in supine position and during sleep evaluated by Pcrit with upper airway anatomy evaluated objectively by upper airway computed tomography (CT) scan. **METHODS:** We recruited subjects with age between 18 and 65 years with suspect OSA referred to the outpatient sleep clinic at the Heart Institute, University of São Paulo. Subjects underwent pulmonary function test, polysomnography and NEP evaluations in four conditions: sitting and supine position either with mouthpiece or with nasal mask. NEP was evaluated by the parameter $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ (ratio between the volume exhaled at 0.2 s during stable breathing (3 expirations prior to NEP application) over the volume exhaled at 0.2 s during NEP application). A subgroup of subjects performed Pcrit and upper airway

CT evaluations. RESULTS: *Study 1*) We studied a total of 86 subjects (72 male, age: 46 ± 12 years, body mass index (BMI): 30.2 ± 4.4 kg/m², apnea/hypopnea index (AHI): 32.9 ± 26.4 events/hour). We found an interaction between interface and position on upper airway collapsibility in multivariate analysis ($p=0.007$), with the upper airway being more collapsible with mouthpiece than with nasal mask in sitting position. Upper airway collapsibility was higher in supine than in sitting position when NEP was performed with nasal mask. In contrast, NEP was not influenced by position when evaluated with mouthpiece. Expiratory resistance was significantly higher and independent of position with mouthpiece than with nasal mask (20.7 cmH₂O/L.s⁻¹ vs 8.6 cmH₂O/L.s⁻¹ respectively, $p=0.018$). *Study 2*) Twenty-eight subjects performed NEP with nasal mask in supine position, Pcrit and upper airway CT scan (age: 45 ± 13 years, BMI: 29.4 ± 4.9 kg/m², and AHI: 30 ± 26 events/h). NEP evaluated with nasal mask in supine position and Pcrit were similarly associated with tongue area ($r=0.646$ and $r=0.585$), tongue volume ($r=0.565$ and $r=0.613$), pharyngeal length ($r=0.580$ and $r=0.611$), and AHI ($r=0.490$ and $r=0.531$) respectively ($p < 0.05$ for all comparisons). NEP and Pcrit were significantly worse in patients with severe OSA than the remaining population ($p < 0.05$). CONCLUSIONS: *Study 1*) Interface and position influence upper airway collapsibility measured by NEP. We propose NEP to be performed with nasal mask in supine position in future studies of upper airway collapsibility evaluation in patients under investigation for OSA. *Study 2*) NEP evaluated with nasal mask in supine position is a simple and promising method that is associated with the anatomical component of upper airway collapsibility similarly to Pcrit.

Descriptors: 1. Sleep apnea, obstructive, 2. Pharynx/physiopathology, 3. Pharynx/anatomy & histology, 4. Wakefulness/physiology, 5. Sleep/physiology, 6. Airway resistance.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Apneia obstrutiva do sono (AOS)

A apneia obstrutiva do sono (AOS) é um distúrbio respiratório comum na população geral caracterizado pelo colapso recorrente, parcial ou completo, da via aérea superior durante o sono¹. A AOS possui uma importante implicação social relacionada a riscos cardiovasculares²⁻⁴, consequências neuropsicológicas^{5,6}, redução da qualidade de vida⁷ e aumento da utilização dos recursos de saúde^{8,9}.

1.1.1 Quadro clínico da AOS

O ronco é o sinal mais comum associado a AOS e se caracteriza por um barulho causado pela vibração dos tecidos da faringe durante o sono¹⁰. O cansaço e a sonolência excessiva diurna não associada a outros fatores também são sintomas comuns, assim como noctúria e diminuição da memória e concentração¹¹. Alguns fatores de risco importantes incluem obesidade, sexo masculino e idade. Embora indivíduos não obesos possam sofrer de AOS, a obesidade é o principal fator de risco; o aumento do índice de massa corpórea (IMC), acúmulo central de tecido adiposo e aumento da circunferência de pescoço são fortes preditores da doença¹¹⁻¹³. Além disso, a prevalência de AOS é de duas a três vezes maior em homens do que em mulheres¹⁴⁻¹⁶ e também maior em idosos (≥ 65 anos) comparados com adultos jovens (30-64 anos)¹⁷. A avaliação da via aérea superior com presença de hipertrofia de tonsilas palatinas, macroglossia, escore de Mallampati modificado III ou IV, palato em ogiva e úvula alongada, alterações de oclusão dentária ou anormalidades nasais também são achados frequentes ao exame físico de portadores de AOS^{11,18}.

1.1.2 Diagnóstico da AOS

O diagnóstico padrão-ouro da AOS é realizado por meio da polissonografia (PSG), que consiste no registro simultâneo de variáveis do eletroencefalograma, eletro-oculograma e eletromiograma para estagiamento do sono, além de registros do fluxo aéreo, do esforço respiratório, do eletrocardiograma, da oximetria digital de pulso, da atividade muscular de membros inferiores, do ronco e da posição corporal. A gravidade da AOS é classificada de acordo com o índice de apneia/hipopneia (IAH), que é definido e calculado pelo número total de eventos respiratórios (apneias e hipopneias) por hora de sono. A apneia é definida como uma redução maior ou igual a 90% do sinal de fluxo respiratório do termistor com duração mínima de 10 segundos. A apneia é considerada do tipo obstrutiva quando associada com a presença ou aumento do esforço respiratório durante o período do evento (Figura 1). A hipopneia é definida como uma redução maior ou igual a 30% do sinal de fluxo respiratório da cânula de pressão nasal durante pelo menos 10 segundos associada a dessaturação da oxihemoglobina maior ou igual a 3% ou despertar associado ao evento (Figura 2)¹⁹. Em indivíduos adultos, a classificação do IAH é de 0 a 4,9 (normal), de 5 a 14,9 (AOS leve), de 15 a 29,9 (AOS moderada) e acima de 30 (AOS grave)¹.



Figura 1 - Registro de 60s de polissonografia de um paciente apresentando uma apnéia obstrutiva. Observe a interrupção do fluxo aéreo e persistência de esforço respiratório (cintas torácica e abdominal) com consequente dessaturação (canal SpO₂) e despertar (canal EEG).

Abreviaturas: REM - *rapid eye movement*, N1 - estágio 1 do sono, EEG - eletroencefalograma, EMG - eletromiograma, SpO₂ - saturação da oxihemoglobina

FONTE: Laboratório do Sono do Instituto do Coração (InCor)

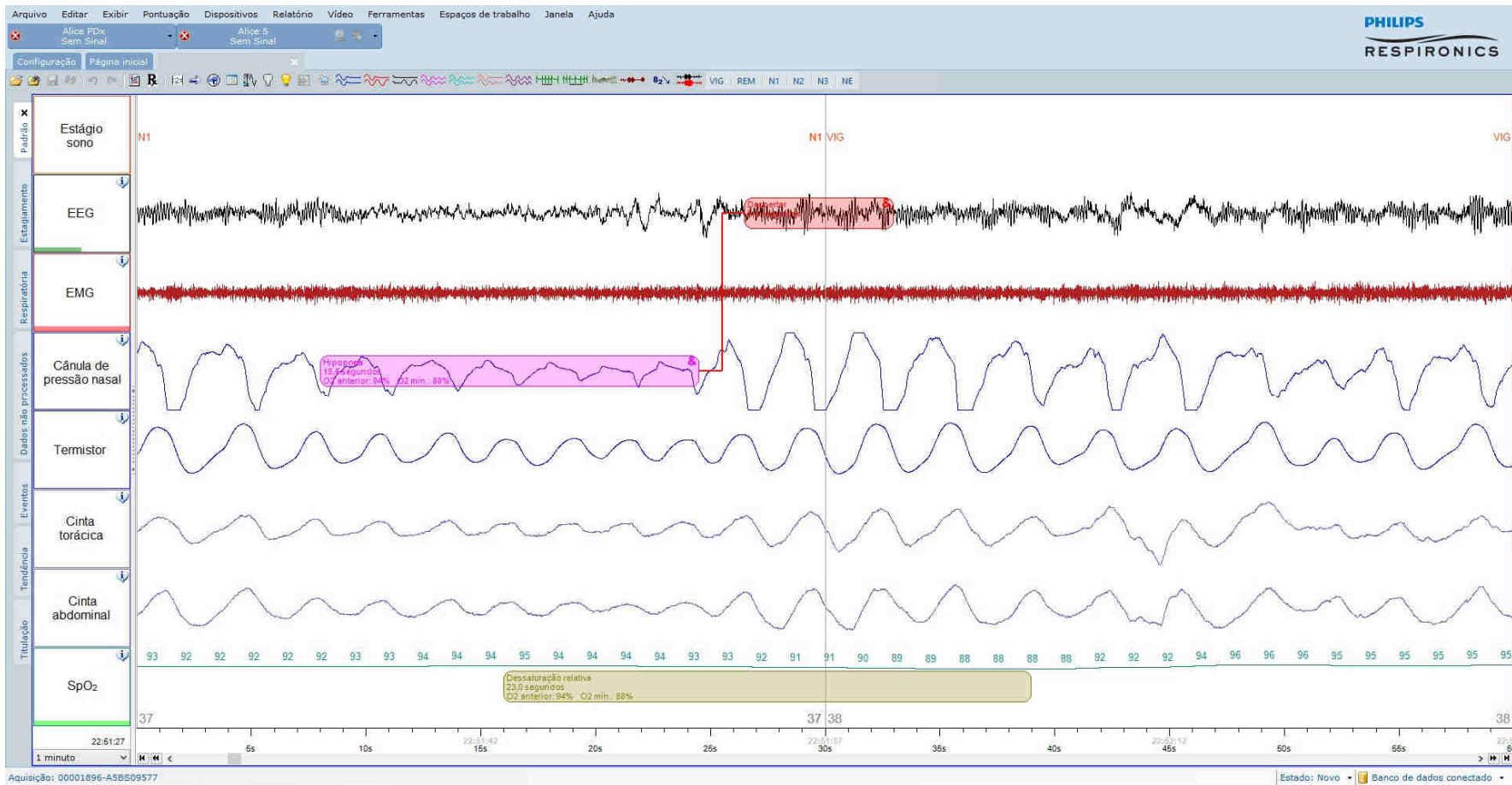


Figura 2 - Registro de 60s de polissonografia de um paciente apresentando uma hipopneia. Observe a diminuição do fluxo aéreo e persistência de esforço respiratório (cintas torácica e abdominal) com consequente dessaturação (canal SpO₂) e despertar (canal EEG)
 Abreviaturas: N1 - estágio 1 do sono, VIG - vigília, EEG - eletroencefalograma, EMG - eletromiograma, SpO₂ - saturação da oxihemoglobina
 FONTE: Laboratório do Sono do Instituto do Coração (InCor)

1.1.3 Epidemiologia da AOS

A prevalência de AOS na população adulta foi determinada por um estudo epidemiológico em uma coorte em Wisconsin, há mais de 20 anos. Quando considerado um IAH maior ou igual a 5 eventos por hora de sono associado a sintoma de sonolência excessiva diurna, a prevalência da AOS foi estimada em 2% entre as mulheres e 4% entre os homens. Nesse mesmo estudo, quando considerado um IAH maior ou igual a 15 eventos por hora de sono para a definição da doença, a prevalência da AOS foi de 4% entre as mulheres e 9% entre os homens¹⁶. No entanto, fatores como o desenvolvimento de técnicas mais sensíveis para o diagnóstico, o reconhecimento de que muitos pacientes com AOS não apresentam sonolência excessiva diurna e a epidemia de obesidade contribuíram para o reconhecimento atual de que a AOS é muito mais comum do que inicialmente estimado. Por exemplo, um estudo de base populacional realizado na cidade de São Paulo, em 2010, mostrou que 9,6% das mulheres e 24,8% dos homens na população adulta são portadores de AOS, quando considerado um IAH maior ou igual a 15 eventos por hora de sono²⁰. Outro exemplo mais recente, de 2015, estimou a prevalência da AOS na população adulta proveniente de uma coorte na Suíça. Quando considerado um IAH maior ou igual a 15 eventos por hora de sono, a prevalência da AOS foi de 23,4% entre as mulheres e 49,7% entre os homens²¹. Portanto, a AOS é extremamente comum na população adulta.

1.1.4 Fisiopatologia da AOS

De forma geral, o colapso da via aérea superior em pacientes com AOS ocorre em decorrência do relaxamento da musculatura dilatadora da faringe durante o

sono em pacientes com uma anatomia desfavorável. No entanto, a fisiopatologia da AOS é multifatorial e pode variar consideravelmente entre os indivíduos. Foram propostas quatro características fenotípicas principais envolvidas na fisiopatologia da AOS: anatomia da via aérea superior, função neuromuscular da via aérea superior, limiar de despertar e estabilidade do controle ventilatório²². O fator anatômico é considerado o mais importante e será estudado neste trabalho, por isso será abordado com mais detalhes em conjunção com fatores biomecânicos que influenciam direta ou indiretamente o componente anatômico.

1.1.4 - a) Anatomia da via aérea superior

A via aérea superior é uma estrutura complexa que inclui a parte extratorácica da traqueia, a laringe, a faringe e o nariz. A via aérea superior constitui uma passagem para o fluxo de ar do nariz até os pulmões e também participa de outras funções, como fonação e deglutição. O nariz é protegido por estrutura óssea, enquanto a traqueia e a laringe são protegidas por estruturas cartilaginosas, que evitam seu colapso durante a respiração. A região da faringe não possui esse suporte e está propensa ao colapso quando há um desequilíbrio entre as forças que tendem a dilatá-la ou fechá-la. A faringe pode ser anatomicamente dividida em quatro sub-regiões, a nasofaringe (entre a margem posterior das conchas nasais e a margem posterior do palato duro), orofaringe retropalatal ou velofaringe (entre a margem posterior do palato duro e a margem caudal do palato mole), orofaringe retroglossal (entre a margem caudal do palato mole e a base da epiglote) e hipofaringe (entre a epiglote e a laringe). A região orofaríngea é mais estreita e, conseqüentemente, é o local mais comum de colapso durante o sono²³. Existem mais de 20 músculos que

circundam a via aérea na região da faringe. As principais estruturas ósseas da região da faringe são a mandíbula e o hióide, que representa uma âncora para fixar os músculos e tecidos moles circundantes. A interação entre as estruturas ósseas e de tecidos moles craniofaciais é de grande importância na gênese da AOS. Dessa forma, tanto uma estrutura óssea estreita (retrognatia) quanto um aumento de partes moles (obesidade) pode elevar o risco de AOS pela redução do diâmetro da via aérea superior, aumentando a chance de colapso (Figura 3).

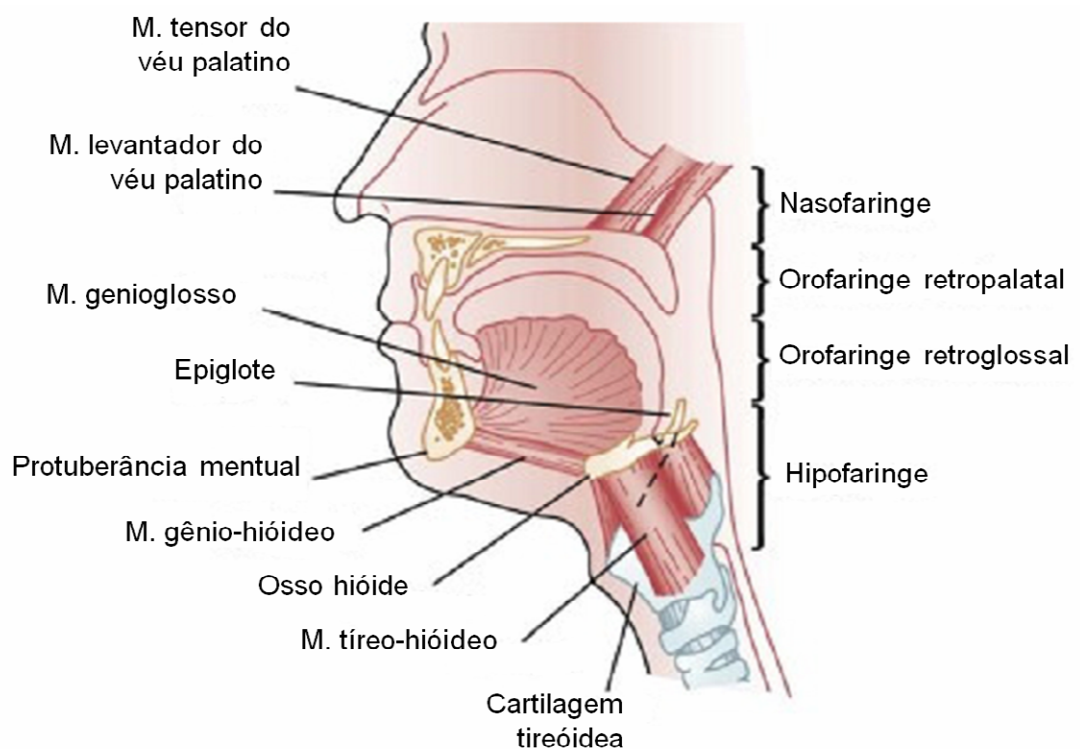


Figura 3 - Anatomia da faringe evidenciando os principais segmentos – nasofaringe, orofaringe retropalatal, orofaringe retroglottal e hipofaringe

Abreviaturas: M. – músculo

FONTE: adaptado de Schwab RJ, Remmers JE, Kuna ST. *Anatomy and Physiology of Upper Airway Obstruction*. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. St Louis: Elsevier Inc; 2005. Cap 101, p. 1158

A avaliação da anatomia da via aérea superior por meio de exames de imagem permite estudar de maneira objetiva sua contribuição na fisiopatologia da AOS. A cefalometria lateral é um método radiológico amplamente utilizado na odontologia e consiste em uma radiografia lateral crânio-facial em posição padronizada. Posteriormente, é possível a determinação de ângulos e medidas baseadas em pontos de referência anatômicos, como posição do hióide, ângulo da base do crânio e avaliação da posição da mandíbula. A utilização de exames como a tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) são consideradas superiores à cefalometria, visto que permitem a avaliação tridimensional das estruturas, melhor definição de partes moles e medidas de volume, além da reconstrução sagital necessária para a realização das medidas cefalométricas²⁴.

A avaliação da anatomia da via aérea superior durante a vigília se correlaciona com a probabilidade do paciente desenvolver AOS durante o sono. Uma faringe mais estreita geralmente está mais susceptível ao colapso do que uma mais larga, o que pode ser visto em estudos medindo a área transversa da via aérea superior por meio de TC ou RM em pacientes com AOS comparados com normais²⁵.²⁶. Além disso, a maneira como os tecidos moles estão dispostos ao redor da faringe parece estar alterada em pacientes com AOS, o que poderia deixá-la mais propensa ao colapso²⁶ (Figura 4). O aumento do comprimento da faringe e das dimensões da língua, assim como o hióide posicionado mais caudalmente também estão associados à gravidade da AOS^{25, 27-30}.

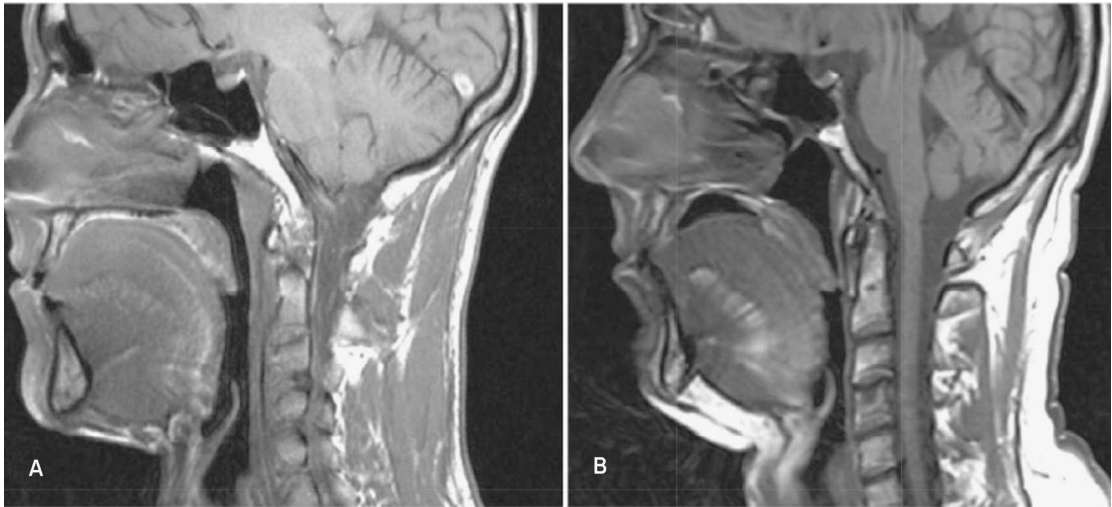


Figura 4 - Comparação de uma imagem representativa em corte sagital de **A)** um indivíduo normal e **B)** um paciente portador de apneia obstrutiva do sono. A via aérea é mais estreita e o palato mole é mais longo no paciente com apneia. A quantidade de gordura subcutânea (área branca na região posterior do pescoço) é maior no paciente com apneia do que no indivíduo normal. A quantidade de gordura na língua também parece ser maior no paciente com apneia do que no indivíduo normal

FONTE: adaptado de Schwab RJ, Remmers JE, Kuna ST. *Anatomy and Physiology of Upper Airway Obstruction*. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. St Louis: Elsevier Inc; 2005. Cap 101, p. 1161

A biomecânica da via aérea superior também pode influenciar a anatomia. O comportamento mecânico da via aérea superior em situação passiva (ausência de atividade dilatadora da faringe) pode ser descrito pela relação entre a área da secção transversa e a pressão transmural. A pressão transmural é a diferença entre a pressão intraluminal e a pressão dos tecidos (Figura 5A). Um aumento da pressão transmural, causado tanto por uma pressão intraluminal mais positiva ou por uma pressão tecidual mais negativa, dilata a área da via aérea superior. Já uma diminuição da pressão transmural, causada tanto por uma pressão intraluminal mais negativa ou por uma pressão tecidual mais positiva, leva a um estreitamento da via aérea superior. A relação entre a área da secção transversa e a pressão transmural se refere à lei dinâmica do tubo e descreve a dependência da área da secção transversa sobre a pressão transmural (Figura 5B). A pressão de fechamento da faringe (descrita no

item 1.2.2) é a pressão transmural quando a área da secção transversa é zero, ou seja, obstrução total. Alguns fatores mecânicos influenciam o comportamento da via aérea superior (abertura, estreitamento ou fechamento), portanto podem influenciar a medida da colapsabilidade da via aérea superior e serão descritos a seguir.

Tensão superficial: Durante a respiração nasal com a boca fechada, a tensão superficial ajuda a manter o palato mole justaposto à língua e promove o contato da língua com a mucosa da cavidade oral. A abertura da boca libera as ligações entre a língua e o palato mole e permite que essas estruturas se movam posteriormente, desestabilizando a via aérea superior³¹.

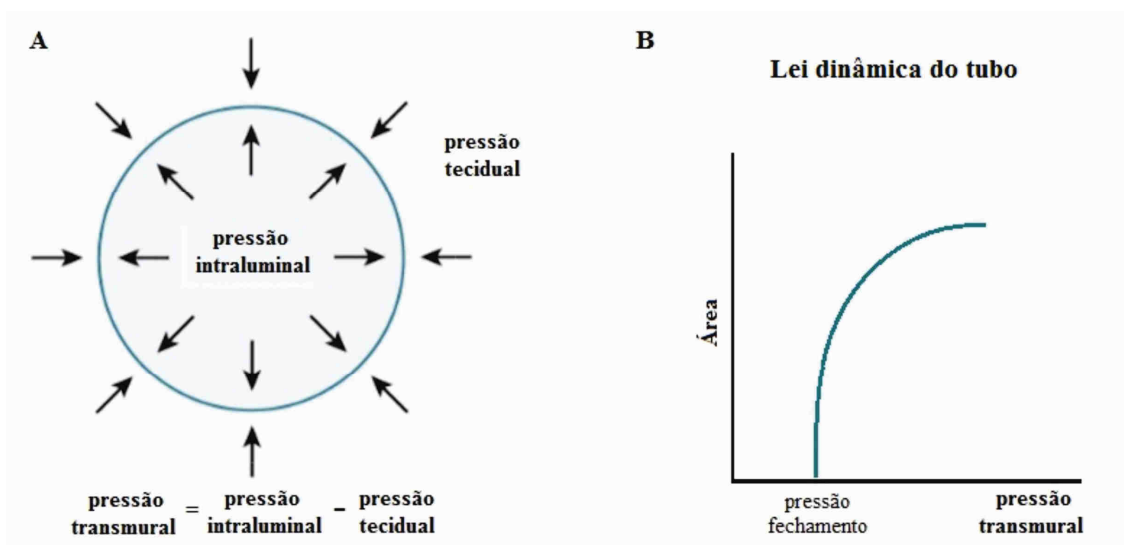


Figura 5 - Representação do conceito de pressão transmural e da lei dinâmica do tubo. **A)** A pressão transmural é definida como a pressão intraluminal menos a pressão tecidual. **B)** Um aumento da pressão transmural resulta em um aumento da área de secção transversa, de acordo com a lei dinâmica do tubo da faringe
 FONTE: adaptado de Schwab RJ, Remmers JE, Kuna ST. *Anatomy and Physiology of Upper Airway Obstruction*. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. St Louis: Elsevier Inc; 2005. Cap 101, p. 1155

Posição do pescoço e da mandíbula: A flexão do pescoço causa um estreitamento da região retropalatal e retroglossal, levando a uma tendência ao fechamento da via aérea superior. Já a extensão do pescoço tende a abrir a via aérea superior. A posição da mandíbula também altera o tamanho da via aérea superior. A abertura da mandíbula desloca a espinha geniana posteriormente, em direção à parede posterior da faringe. Este movimento associado a abertura da boca causa um deslocamento posterior da língua e do hióide, estreitando a via aérea superior (Figura 6).

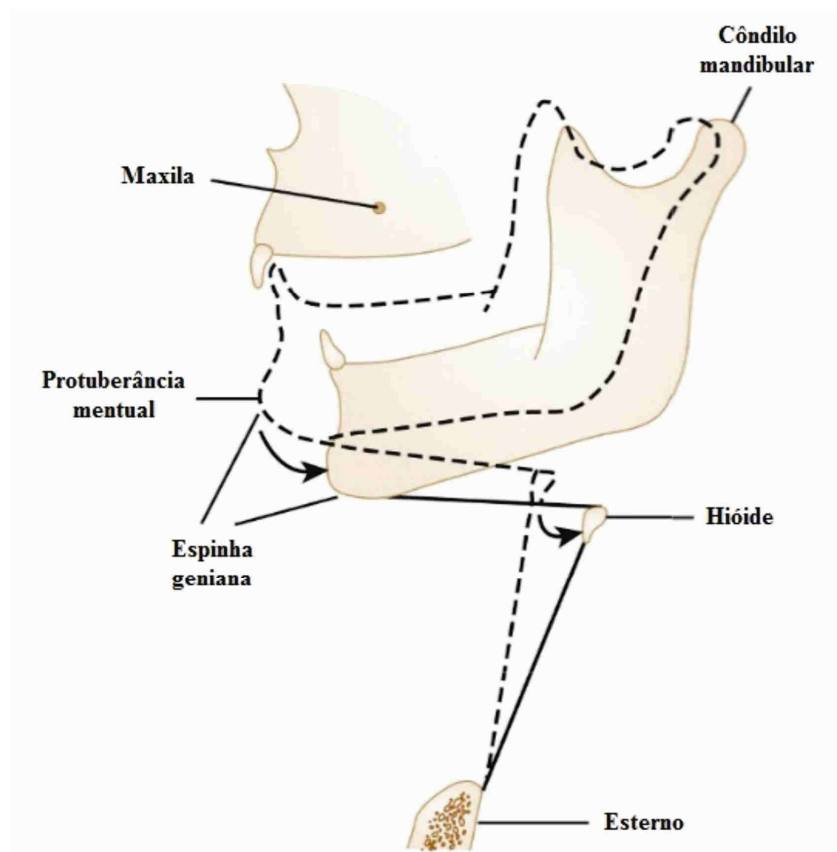


Figura 6 - A abertura da mandíbula resulta em um deslocamento posterior e caudal da espinha geniana da mandíbula, assim como do hióide, por meio dos vários ligamentos entre a mandíbula e o hióide. Como resultado, as estruturas da parede anterior da faringe como a língua e a epiglote se movem em direção posterior, diminuindo o tamanho da faringe. A flexão do pescoço possui um efeito similar sobre o hióide, língua e epiglote, mesmo sem alteração na relação entre mandíbula e maxila

FONTE: adaptado de Schwab RJ, Remmers JE, Kuna ST. *Anatomy and Physiology of Upper Airway Obstruction*. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. St Louis: Elsevier Inc; 2005. Cap 101, p. 1156

Tração traqueal: O aumento do volume pulmonar causa um deslocamento caudal da porção intratorácica da traqueia que, por sua vez, exerce uma força caudal sobre a via aérea superior, chamada de tração traqueal. A tração traqueal promovida pelo aumento do volume pulmonar pode aumentar a área da secção transversa da faringe, diminuir a pressão de fechamento e enrijecer a via aérea superior³³. A tração traqueal pode melhorar a patência da via aérea superior por 4 mecanismos: a) diminuição das pregas da parede da laringe e orofaringe, b) enrijecimento da parede da faringe causada pelo estiramento, deixando a via aérea mais resistente ao colapso, c) deslocamento caudal de gordura e outras estruturas ao redor da faringe, o que pode reduzir a compressão extrínseca na via aérea superior e d) efeito mecânico sobre o hióide (Figura 7)³⁴.

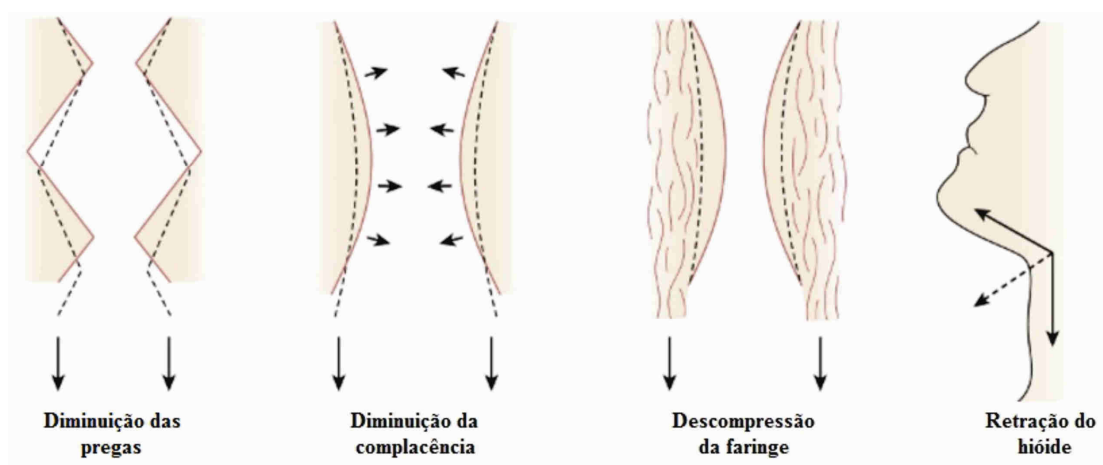


Figura 7 - Possíveis mecanismos que explicam como a tração traqueal da via aérea superior protege a patência da via aérea superior

FONTE: adaptado de Schwab RJ, Remmers JE, Kuna ST. *Anatomy and Physiology of Upper Airway Obstruction*. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. St Louis: Elsevier Inc; 2005. Cap 101, p. 1156

Ação da gravidade: A gravidade também tem um papel importante sobre a patência da via aérea superior. A via aérea superior é mais colapsável na posição supina quando comparada ao decúbito lateral em pacientes com AOS³⁵. A língua e o palato mole são empurrados posteriormente pela força da gravidade na posição supina, levando a um estreitamento da via aérea superior³⁶.

1.1.4 - b) Função neuromuscular da via aérea superior

O fator neuromuscular é outro mecanismo importante para a patogênese da AOS. Durante a vigília, pacientes com AOS parecem utilizar de reflexos protetores que aumentam a atividade da musculatura dilatadora da faringe como forma compensatória pela via aérea anatomicamente mais estreita³⁷. Durante o sono, há uma diminuição da atividade muscular, levando a um aumento da pressão negativa intraluminal. Esse aumento da pressão negativa causa um estreitamento da via aérea superior e faz com que os indivíduos com anatomia desfavorável fiquem particularmente susceptíveis ao colapso^{38, 39}. O genioglossos também possui mecanismos reflexos que respondem à pressão negativa faríngea via mecanorreceptores localizados na via aérea superior. Durante o evento obstrutivo, essa atividade reflexa aumenta a atividade da musculatura dilatadora da faringe, estabilizando a via aérea.

1.1.4 - c) Limiar de despertar

Os despertares breves que geralmente estão associados aos eventos respiratórios durante o sono resultam em um aumento da ventilação⁴⁰. De certa maneira, o despertar pode funcionar como uma defesa, promovendo o término

praticamente imediato dos eventos respiratórios^{41, 42}. Entretanto, despertar muito facilmente, ou seja, ter um baixo limiar de despertar respiratório, gera uma persistência da instabilidade respiratória e, conseqüentemente, contribui com a AOS⁴³. Já um limiar de despertar alto tende a estabilizar o sono, permitindo o recrutamento da musculatura dilatadora da faringe que, por sua vez, estabiliza a via aérea superior.

1.1.4 - d) Estabilidade do controle ventilatório

O padrão ventilatório dos pacientes com AOS oscila entre eventos obstrutivos (apneias e hipopneias) e despertares. Os eventos obstrutivos podem ser desencadeados por períodos de baixo drive ventilatório, portanto, flutuações no drive ventilatório podem levar a instabilidade e potencial colapso da via aérea. A estabilidade do controle ventilatório pode ser descrita utilizando o conceito de *loop gain*, que representa a resposta ventilatória a uma redução estável da ventilação. O *loop gain* pode ser medido pela relação entre a magnitude da resposta ventilatória sobre a magnitude do distúrbio ventilatório (Figura 8). Se a magnitude da resposta da ventilação for alta (hiperpneia) em relação a magnitude do distúrbio (hipopneia), ou seja, um *loop gain* alto, a ventilação ficará instável e irá flutuar entre hiperpneia e hiponeia/apneia. Por outro lado, se a magnitude da resposta for baixa, ou seja, um *loop gain* baixo, então a ventilação se manterá estável em resposta ao distúrbio^{22, 44}. As oscilações da ventilação podem provocar redução do dióxido de carbono (CO₂) e provocar uma apneia central. Durante a apneia central há uma redução da musculatura dilatadora da faringe, podendo terminar como uma apneia obstrutiva (apneia mista)⁴⁵.

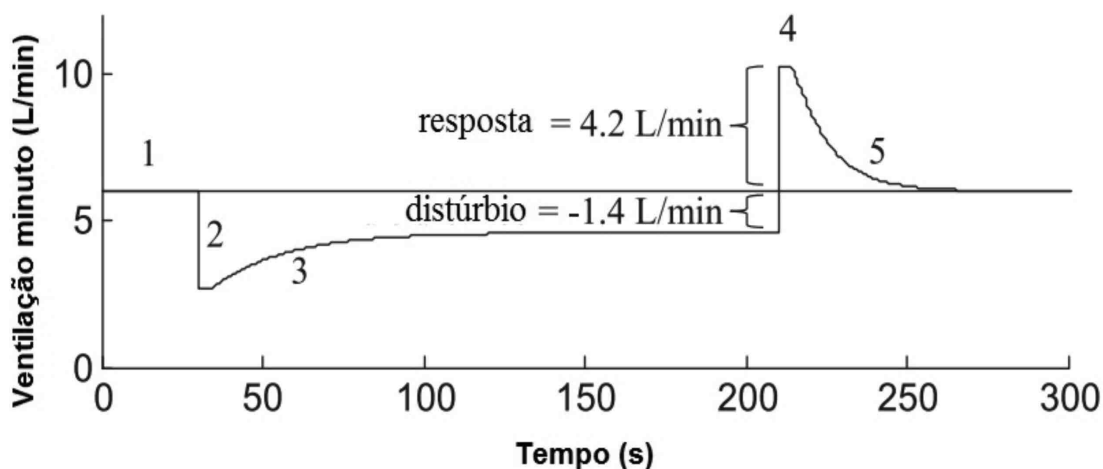


Figura 8 - Representação do conceito de *loop gain*, que é a resposta ventilatória a uma redução estável da ventilação. **1)** Eupneia; **2)** Diminuição da ventilação; **3)** Aumento do dióxido de carbono (CO_2) que leva a maior ativação muscular, causando um pequeno aumento da ventilação, até a estabilização (distúrbio). No caso desta figura, o distúrbio foi uma redução de 1,4 L/min na ventilação; **4)** Resposta ventilatória ao distúrbio. No caso, a resposta foi um aumento de 4,2 L/min na ventilação. O *loop gain* é $4,2 \div -1,4 = -3$, ou seja, cada litro por minuto de redução na ventilação tem como resposta um aumento de 3 vezes na ventilação; **5)** Eupneia, após a eliminação do excesso de CO_2

FONTE: adaptado de Am J Respir Crit Care Med 2013;188:996-1004

1.1.5 Tratamento da AOS

O tratamento da AOS depende dos sintomas e da gravidade da doença. A perda de peso deve ser incentivada em todos os pacientes com sobrepeso ou obesidade⁴⁶. Os aparelhos de avanço mandibular representam uma opção de tratamento para AOS leve a moderada^{47, 48}. Diversas técnicas cirúrgicas específicas também são consideradas alternativas para o tratamento da AOS⁴⁹. O tratamento com exercícios orofaríngeos se mostrou eficaz na redução do IAH em pacientes com AOS moderada⁵⁰ e na redução da frequência e intensidade do ronco em roncadores primários⁵¹. Mais recentemente, o tratamento com estimulação do nervo hipoglosso foi proposto como alternativa para pacientes com AOS selecionados^{52, 53}. O uso de sedativos aumenta o limiar de despertar e pode ser uma alternativa de tratamento

para a AOS^{54, 55}. Já o uso de oxigênio suplementar e tratamento farmacológico reduz o *loop gain* e pode ser utilizado em indivíduos com instabilidade ventilatória^{56, 57}. A terapia com pressão positiva contínua na via aérea (CPAP) é o tratamento mais comum e considerado padrão ouro para AOS moderada-grave⁵⁸. A utilização do CPAP reduz a pressão arterial em pacientes com AOS e hipertensão resistente⁵⁹ e diminui a mortalidade cardiovascular³. No entanto, o tratamento com CPAP é pouco tolerado e tem uma baixa adesão, aproximadamente 50% dos pacientes diagnosticados com AOS continuam o tratamento após 3 meses^{60, 61}.

O desenvolvimento de métodos capazes de determinar a contribuição de cada característica fenotípica é de grande interesse, pois pode direcionar o melhor tratamento. A anatomia da via aérea superior é considerada um fator chave, pois pacientes com prejuízo predominantemente anatômico não se beneficiam de tratamentos alternativos ao CPAP. Como discutido anteriormente, a visualização da via aérea superior por meio da cefalometria, TC e RM pode contribuir para o entendimento da fisiopatologia. No entanto, não são utilizados facilmente na prática clínica. Novos métodos foram desenvolvidos para estudar a colapsabilidade da via aérea superior e estão sendo propostos para avaliar o componente anatômico da AOS, que serão descritos abaixo.

1.2 Métodos fisiológicos para avaliação da colapsabilidade da via aérea superior

1.2.1 Pressão negativa expiratória

A pressão negativa expiratória (NEP) avalia a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília. Consiste na aplicação não invasiva de uma pressão negativa na via aérea durante o início da expiração espontânea. Está baseado no princípio de que, na ausência de limitação ao fluxo expiratório, o aumento no gradiente de pressão entre os alvéolos e a via aérea superior aberta pode resultar em um aumento do fluxo expiratório⁶². Inicialmente, o teste da NEP foi utilizado para avaliar a limitação ao fluxo expiratório intratorácica em pacientes portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), mensurada por meio da curva fluxo-volume. A curva registrada durante a NEP era sobreposta àquela registrada durante a expiração espontânea imediatamente anterior. Estes sujeitos eram considerados com limitação ao fluxo expiratório quando a variação do fluxo durante a NEP era igual ou inferior ao fluxo correspondente durante a expiração espontânea precedente⁶²⁻⁶⁵. Portanto, em sujeitos que não apresentam limitação, o fluxo expiratório deveria aumentar com a aplicação da NEP por toda a expiração espontânea precedente (Figura 9a). Por outro lado, em pacientes portadores de limitação obstrutiva intratorácica, a aplicação da NEP deveria aumentar a compressão dinâmica dos segmentos fluxo-limitados das vias aéreas inferiores sem efeitos substanciais na pressão ou fluxo da via aérea superior (Figura 9b)^{63, 65}.

Posteriormente, o teste da NEP também foi utilizado para verificar as propriedades da via aérea superior em sujeitos obesos e/ou portadores de AOS

sugerindo que, na ausência de obstrução aérea intratorácica, a resposta à aplicação da NEP poderia refletir a colapsabilidade da via aérea superior. Para evitar o viés relacionado à localização da limitação de fluxo, pacientes com limitação ao fluxo expiratório intratorácica foram excluídos destes estudos. Na limitação ao fluxo expiratório extratorácica, a aplicação da NEP durante o início da expiração provoca um aumento imediato do fluxo, principalmente devido à compressão dinâmica da via aérea desde as estruturas complacentes da boca e do pescoço, seguido de uma queda no fluxo de variável grau entre os sujeitos. A súbita queda do fluxo é causada pelo aumento da resistência na região orofaríngea, refletindo a colapsabilidade da via aérea superior (Figura 10) ^{63, 66-68}.

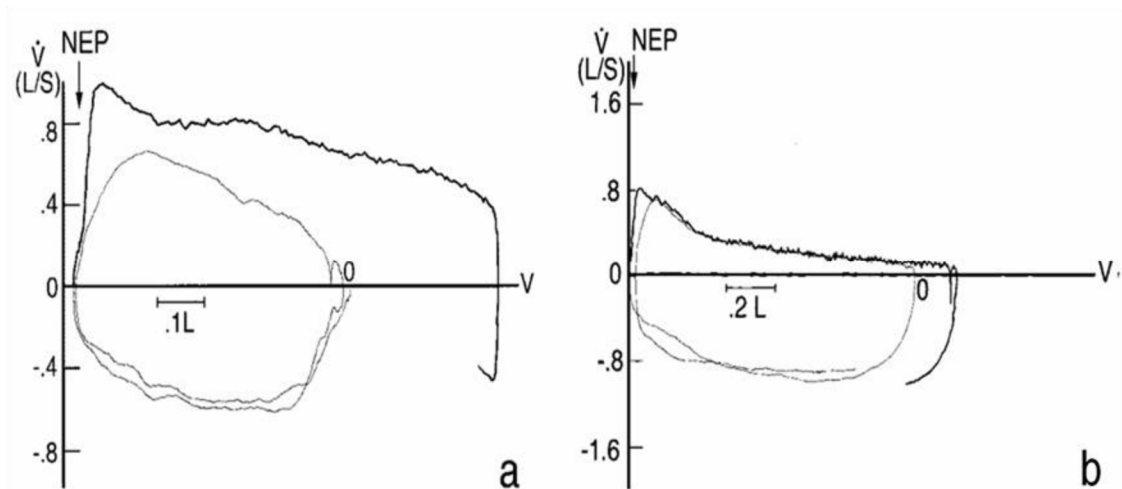


Figura 9 - Curvas fluxo-volume durante uma respiração espontânea seguida de uma aplicação de NEP ao início da expiração (indicado pelas setas). **a)** sujeito saudável, sem limitação de fluxo. **b)** paciente com DPOC grave com limitação ao fluxo expiratório intratorácico

Abreviaturas: NEP - pressão negativa expiratória, \dot{V} - fluxo, V - volume

FONTE: adaptado de Chest 2004;125:98-105

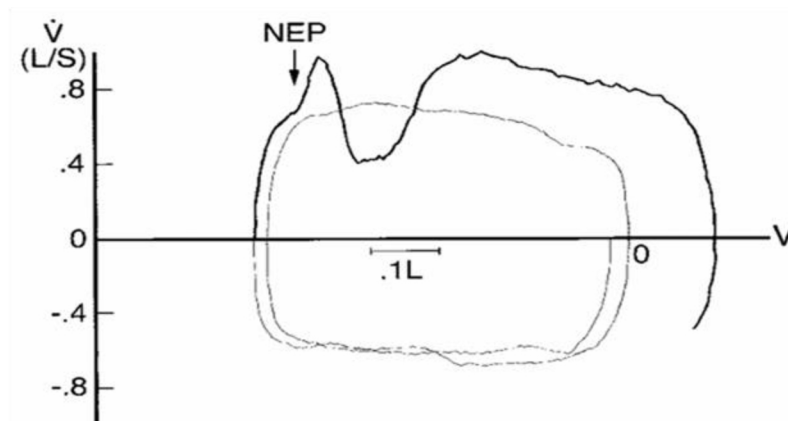


Figura 10 - Curva fluxo-volume de um sujeito obeso (índice de massa corpórea de 38 kg/m²) durante uma respiração espontânea seguida da aplicação de NEP ao início da expiração (indicado pela seta)

Abreviaturas: NEP - pressão negativa expiratória, \dot{V} - fluxo, V - volume

FONTE: adaptado de Chest 2004;125:98-105

A NEP é um teste simples que exige mínima colaboração do indivíduo e tem sido considerada uma importante ferramenta para estudar a fisiopatologia da AOS. Entretanto, o método de determinação da NEP varia muito entre os estudos. Fizemos uma revisão da literatura e encontramos 16 trabalhos que utilizaram a NEP para investigação de distúrbios respiratórios do sono em adultos, incluindo roncadores e todos os níveis de gravidade de AOS⁶⁶⁻⁸¹. Uma revisão dos métodos de coleta e análise desses estudos está descrita a seguir.

1.2.1 - a) Momento de aplicação da pressão negativa

A maioria dos estudos (11 de 16 estudos) descreveram aplicar a NEP no início da expiração^{66, 69-72, 74-78, 80}. Entretanto, o início da expiração foi definido de maneiras diferentes, ou baseado no fluxo expiratório (variando entre 20 a 50 mL/s da expiração), ou então baseado no tempo (variando entre 20 a 200 ms após o início da

expiração). Além disso, 1 estudo aplicou a NEP no meio da expiração⁸¹ e 4 estudos não descreveram claramente o tempo de aplicação da NEP nos métodos^{67, 68, 73, 79}.

1.2.1 - b) Nível de pressão negativa

O nível de pressão negativa variou de -1 a -10 cmH₂O, sendo que o mesmo estudo pode ter usado mais de um nível de pressão. A maioria dos estudos utilizou -5 cmH₂O (13 estudos)^{66-68, 70-76, 79-81} ou -10 cmH₂O (6 estudos)^{68, 72, 74, 77, 78, 80}. Além disso, 2 estudos utilizaram -1 cmH₂O^{72, 81}, 1 estudo utilizou -2 cmH₂O⁶⁹ e 2 estudos utilizaram -3 cmH₂O^{69, 81}.

1.2.1 - c) Duração da pressão negativa

A duração do estímulo de pressão negativa também variou entre os estudos. A maioria dos trabalhos (7) não controlou exatamente o tempo de aplicação da NEP, descreveram ou mostraram em gráficos que mantiveram durante toda a expiração^{66-69, 71, 79, 80}. Além disso, 2 estudos mantiveram a NEP por 200 ms^{72, 81}, 1 estudo por 500 ms⁷⁰, 3 estudos usaram 2 s^{74, 77, 78} e 3 estudos não descrevem claramente qual a duração do estímulo de pressão negativa^{73, 75, 76}.

1.2.1 - d) Posição

A maioria dos estudos realizou a NEP nas posições sentada e supina^{66-71, 73, 74, 79-81}. Além disso, 3 estudos realizaram a NEP somente na posição sentada^{72, 77, 78} e 1 estudo realizou a NEP somente na posição supina⁷⁶. Nenhum trabalho teve o objetivo principal de comparar as posições, porém alguns estudos sugerem que a posição supina apresentou melhores resultados. Isso se explica pelo fato de a via aérea

superior estar em uma situação mais passiva e, portanto, mais susceptível à limitação ao fluxo expiratório em pacientes roncadores ou com AOS^{68, 74, 80, 81}.

1.2.1 - e) Interface

Os 16 estudos citados até agora que avaliaram a colapsabilidade da via aérea superior em adultos, incluindo roncadores e todos os níveis de gravidade de AOS, utilizaram um bocal para aplicação da NEP⁶⁶⁻⁸¹. O encaixe do bocal altera a posição da língua e da mandíbula, além de excluir a parte superior da via aérea, o que poderia interferir na medida da colapsabilidade da via aérea superior (Figura 11).

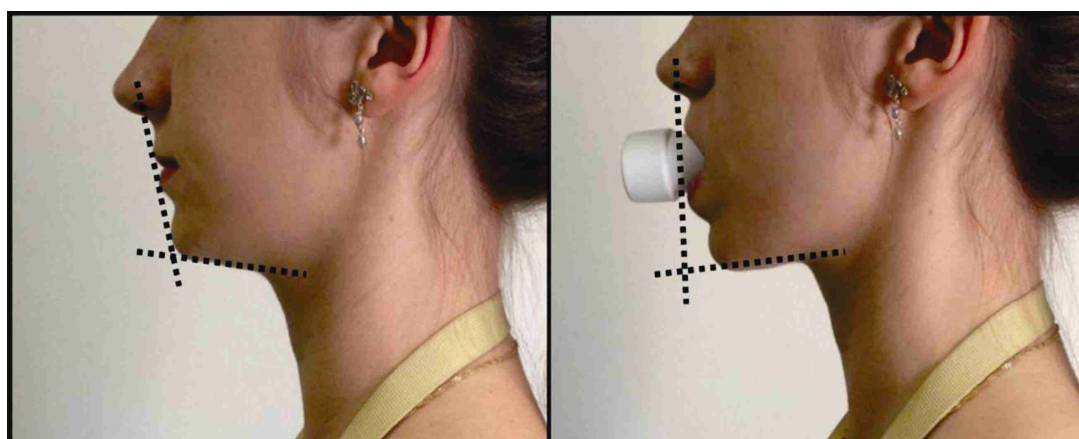


Figura 11 - Perfil de um indivíduo com e sem bocal
FONTE: Laboratório do Sono do Instituto do Coração (InCor)

O tipo de interface é uma questão importante em pacientes com AOS, já que a interface está intimamente relacionada com a gravidade da AOS e adesão ao tratamento. A respiração oral piora a anatomia e a colapsabilidade da via aérea superior^{32, 82, 83} e pode comprometer o tratamento com CPAP⁸⁴. Há evidências que o tratamento da AOS com máscaras oronasais pode não ser tão eficaz quanto com

máscaras nasais⁸⁵. Portanto, seria intuitivo levar em consideração essas informações ao avaliar os pacientes sob investigação para AOS.

1.2.1 - f) Parâmetros utilizados para medir a colapsabilidade da via aérea superior

Houve uma grande variedade de variáveis estudadas, sendo que o mesmo estudo pode ter utilizado mais de uma. As variáveis estão descritas a seguir:

Presença ou ausência de limitação de fluxo: variáveis qualitativas avaliadas pela sobreposição das curvas fluxo-volume da NEP e da expiração precedente. A limitação de fluxo era considerada quando havia uma diminuição do fluxo da NEP em relação à expiração precedente. Pacientes com AOS apresentavam mais limitação de fluxo do que os controles^{68, 80}.

Número de oscilações: variável qualitativa avaliada manualmente, é a contagem do número de oscilações no fluxo durante a aplicação da NEP. Houve uma associação entre essa contagem e o IAH⁷⁹.

Iq / Dflow% (índice quantitativo): relação entre a área sob a curva fluxo-volume da NEP e a área sob a curva expiratória espontânea. Quanto menor o índice, maior a gravidade da AOS^{79, 80}.

RREP (potencial evocado relacionado à respiração) componentes P22, N45 e P85: avalia a ativação de neurônios corticais induzida pelo estímulo de pressão negativa na via aérea superior. Pacientes com AOS têm uma amplitude reduzida do potencial evocado, o que poderia ser explicado por uma alteração tecidual da via aérea superior que afetaria a informação aferente. O déficit na

informação aferente levaria a uma disfunção do controle neuromuscular da via aérea superior, promovendo a apneia⁷².

Rint,rs: Resistência do sistema respiratório medida pela técnica de interrupção do fluxo (pressão na via aérea aberta menos a pressão no fluxo zero dividido pelo fluxo imediatamente anterior à interrupção). Em roncadores, a resistência aumenta durante a aplicação da pressão negativa, o que poderia refletir o estreitamento da via aérea superior, indicando que a via aérea dos roncadores é mais colapsável que a dos não roncadores⁸¹.

EFL, %Vt: limitação ao fluxo expiratório expresso como porcentagem do volume corrente expirado da NEP que ficou abaixo do volume corrente expirado na respiração precedente, avaliado pela sobreposição das curvas fluxo-volume. Pacientes roncadores e com AOS possuem essa variável aumentada em relação aos controles^{66, 67, 69}, porém um estudo mostra que não houve diferença entre roncadores e AOS⁷⁹. Foi encontrada uma associação positiva entre esta variável e o IAH^{67, 68} e o índice de dessaturação⁶⁶, porém alguns estudos encontraram que essa variável tem uma baixa sensibilidade para predizer a AOS^{73, 74}.

$\Delta V\%_{\text{pico}}$: variação da queda de fluxo transitória que ocorre logo após o pico de fluxo inicial à aplicação da NEP expresso como porcentagem do pico de fluxo inicial. O $\Delta V\%_{\text{pico}}$ foi maior em sujeitos normais quando comparados com AOS grave⁷⁷. Essa variável teve uma melhor associação com IAH quando comparada com EFL, %Vt⁷⁴ (Figura 12).

V,NEP_{0,5}(mL): volume expirado nos primeiros 0,5s após a aplicação da NEP expresso em mililitros. Pacientes roncadores e com AOS moderada-grave apresentaram menor V,NEP_{0,5} quando comparados com controles^{71, 75, 76, 78}, porém

roncadores e pacientes com AOS apresentaram uma sobreposição dos valores, impossibilitando um ponto de corte diagnóstico⁷¹. Um estudo avaliou essa variável após tratamento com CPAP em pacientes com AOS grave e mostrou que não houve diferença a curto prazo (1 semana) mas houve um aumento significativo a longo prazo (6 meses)⁷⁰. Este mesmo estudo avaliou medidas de área da faringe utilizando faringometria acústica e não foi encontrada associação entre a mudança do calibre da via aérea superior com mudanças na colapsabilidade da via aérea superior⁷⁰. Outro estudo comparou a NEP com a pressão crítica de fechamento da faringe (Pcrit) em 30 pacientes (10 normais, 10 roncadores e 10 com AOS) e encontrou uma associação entre as duas técnicas ($r^2=0,61$, $p<0,0001$), porém, estes dados são aplicáveis apenas a homens com circunferência cervical acima de 37cm. Além disso, uma grande limitação deste estudo é a metodologia da Pcrit, que foi realizada sem um aparelho que pudesse proporcionar pressão positiva e negativa e sem os canais do eletroencefalograma, impossibilitando o controle dos estágios do sono⁷⁵. Este mesmo grupo publicou outro trabalho avaliando o $V_{0,2\%v_i}$ como porcentagem do predito, baseado em uma equação que considerou a circunferência do pescoço e o tamanho da via aérea avaliado por faringometria acústica e também encontrou uma correlação com Pcrit ($r^2=0,79$, $p<0,0001$)⁷⁶.

$V_{0,2\%v_i}$: volume expirado nos primeiros 0,2s logo após a aplicação da NEP, expresso como porcentagem da média do volume inspirado nas 3 respirações espontâneas precedentes. O $V_{0,2\%v_i}$ foi menor em sujeitos normais quando comparados com AOS grave⁷⁷. O aumento do IAH estava associado a menor valor de $V_{0,2\%v_i}$ e foi possível detectar pacientes com AOS moderada-grave⁷⁸ (Figura 12).

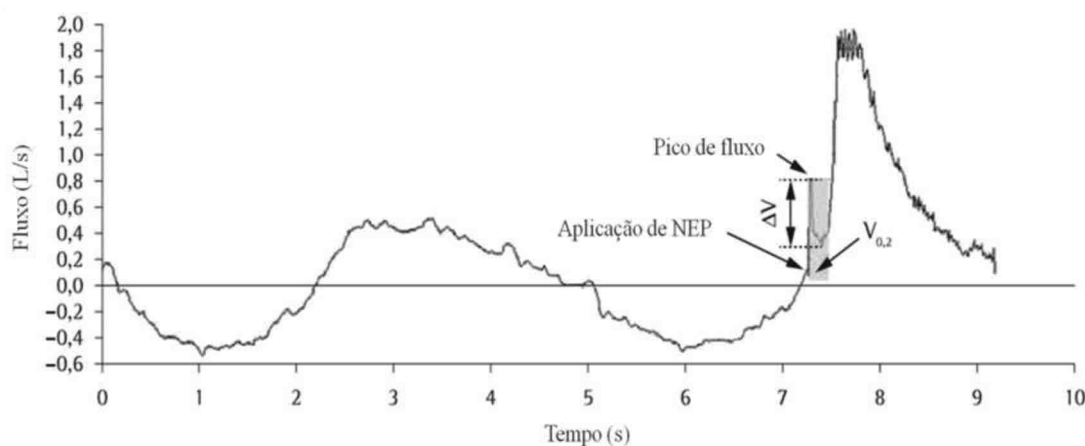


Figura 12 - Técnicas de medida da colapsabilidade da via aérea superior: volume expirado a 0,2s ($V_{0,2}$), expresso como porcentagem da média do volume inspirado nas três respirações precedentes à aplicação da NEP e a variação da queda de fluxo ($\Delta V'$), expresso como porcentagem do pico de fluxo

Abreviaturas: NEP – pressão negativa expiratória

FONTE: adaptado de J Bras Pneumol 2011;37(5):659-663

1.2.2 Pressão crítica de fechamento da faringe

A P_{crit} avalia a colapsabilidade da via aérea superior durante o sono. De um ponto de vista mecânico, a faringe pode ser considerada um tubo colapsável, assim como as vias aéreas intratorácicas que podem colapsar durante a expiração forçada, ou como os capilares do endocárdio que podem se fechar em níveis altos de pressão diastólica final no ventrículo esquerdo. Um modelo simples de fluxo através de um tubo colapsável foi proposto para explicar o comportamento desses segmentos biológicos colapsáveis. Este modelo, chamado modelo de Resistor de Starling, consiste em um tubo que passa através de uma caixa selada (Figura 13A). No caso da via aérea superior, a caixa selada representa os tecidos ao redor da faringe. Dentro da caixa o tubo é colapsável (faringe), fora da caixa os tubos são rígidos em ambos os lados (nariz e traqueia).

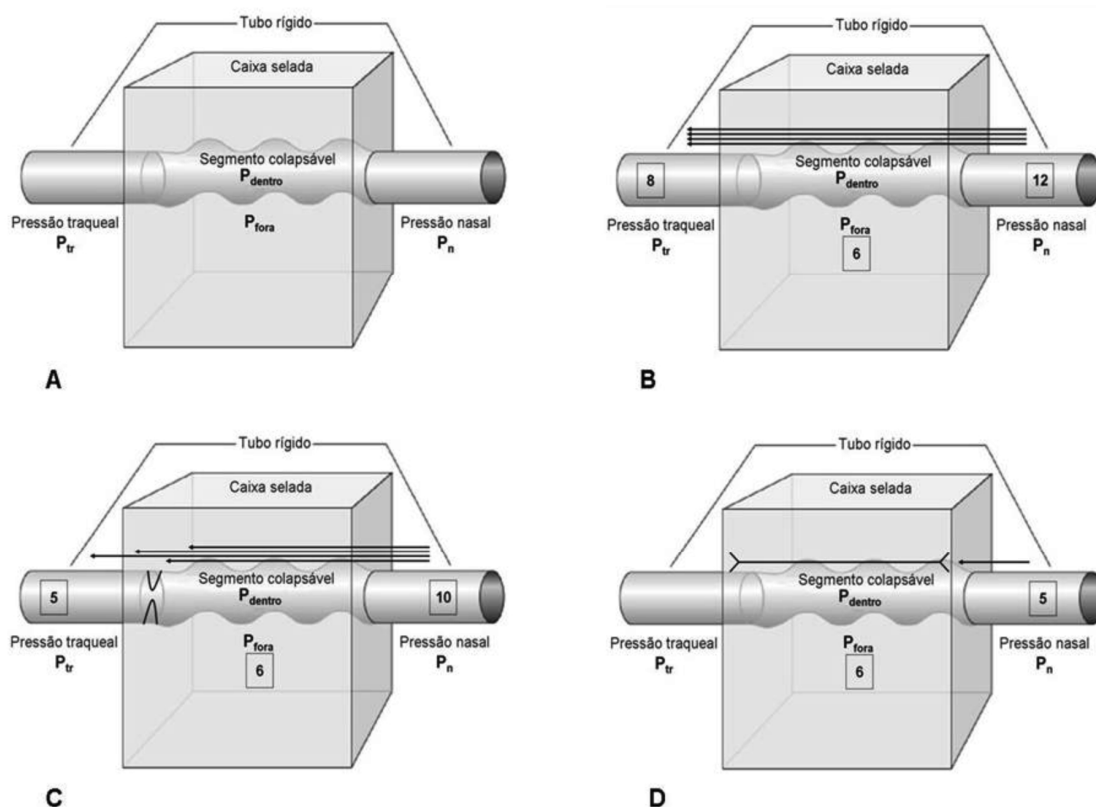


Figura 13 - **A)** Representação do modelo de Resistor de Starling para avaliação da colapsabilidade da via aérea superior. A caixa selada representa os tecidos ao redor da faringe, o segmento colapsável representa a faringe, os tubos rígidos fora da caixa representam o nariz e a traqueia; **B)** sem limitação de fluxo - faringe totalmente patente; **C)** com limitação de fluxo - colapso parcial da faringe; **D)** colapso total da faringe
 FONTE: adaptado de Chest 1996;110:1077-88

O padrão do fluxo que passa por este tubo depende das forças aplicadas dentro e fora do segmento colapsável. As forças que tendem a fechar o tubo são a pressão negativa inspiratória e a pressão aplicada pelos tecidos ao redor da faringe (caixa selada). As forças que tendem a abrir o tubo são a tração traqueal e, principalmente, a musculatura dilatadora da faringe. Quando a pressão nasal e a pressão na traqueia é maior do que a pressão dentro da faringe, o fluxo ocorre normalmente (Figura 13B). Quando a pressão nasal é maior do que a pressão dentro da faringe, mas a pressão da faringe é maior ou igual à pressão da traqueia, ocorre

limitação de fluxo (Figura 13C). Quando a pressão nasal é menor ou igual à pressão da faringe, o fluxo não ocorre (Figura 13D). Portanto, a pressão crítica de fechamento (P_{crit}) é a pressão na qual ocorre o colapso da faringe.

Alguns estudos mostram que a P_{crit} é capaz de diferenciar todo o espectro da AOS, sendo que os valores da P_{crit} vão ficando mais positivos com o aumento da gravidade da AOS^{86, 87}. A P_{crit} está associada a características anatômicas como comprimento da faringe e volume da língua, medidas por cefalometria e TC da via aérea superior⁸⁸⁻⁹¹. Entretanto, a P_{crit} é um método complexo que exige avaliadores experientes no reconhecimento dos estágios do sono e da limitação de fluxo durante aplicação de CPAP.

2 JUSTIFICATIVA

A fisiopatologia da AOS é complexa e um dos seus principais fatores determinantes é a anatomia da via aérea superior. O desenvolvimento de métodos capazes de determinar a contribuição do componente anatômico da AOS para individualizar o tratamento é de grande interesse. A NEP é um teste simples que avalia a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília e é uma ferramenta promissora para estudar o componente anatômico da AOS. Entretanto, o método de avaliação e análise da NEP varia muito entre os estudos. A maioria dos estudos de NEP para investigação de AOS aplicaram a pressão negativa por meio de um bocal. O bocal exclui a região mais alta da via aérea superior e altera a posição da língua e da mandíbula. O efeito da gravidade na posição supina arrasta a língua e o palato mole posteriormente, levando a um estreitamento da via aérea superior. A Pcrit é um parâmetro bem estabelecido na literatura que avalia a colapsabilidade da via aérea superior durante o sono e determina a contribuição anatômica para a AOS, porém, é um exame complexo. Alguns estudos mostraram uma associação da Pcrit com características anatômicas, como comprimento da faringe e volume da língua, avaliados por TC de via aérea superior. Porém, ainda não há estudos que avaliaram a associação entre a NEP e variáveis anatômicas medidas de maneira objetiva.

A presente tese foi dividida em 2 estudos para testar as seguintes hipóteses: *Hipótese 1)* a interface e a posição irão influenciar diretamente a medida da colapsabilidade da via aérea superior avaliada pela NEP. *Hipótese 2)* a NEP realizada com máscara nasal na posição supina durante a vigília está associada de maneira similar à Pcrit com medidas de anatomia da via aérea superior características de pacientes com AOS medidas pela TC da via aérea superior.

3 *OBJETIVOS*

3.1 *Estudo 1:* Influência da interface e da posição sobre a colapsabilidade da via aérea superior avaliada pela NEP

Determinar a influência da interface (bocal versus máscara nasal) e posição (sentada versus supina) sobre a medida da colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília avaliada pela NEP em indivíduos normais e portadores de AOS.

3.2 *Estudo 2:* Associação entre a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília avaliada pela NEP e durante o sono avaliada pela Pcrit com variáveis anatômicas características de pacientes com AOS avaliadas pela TC de via aérea superior

Avaliar a associação entre a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília medida pela NEP e durante o sono medida pela Pcrit, ambas com máscara nasal na posição supina, com variáveis anatômicas características de pacientes com AOS, avaliadas pela TC de via aérea superior.

4 MÉTODO

4.1 Desenho do estudo

Estudo observacional transversal, realizado no Laboratório de Sono do Instituto do Coração – InCor da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP.

4.2 Sujeitos

Participaram deste estudo indivíduos normais e portadores de AOS, de ambos os sexos e com faixa etária entre 18 e 65 anos provenientes da comunidade ou referidos do ambulatório de distúrbios do sono da Disciplina de Pneumologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Foram excluídos sujeitos com obstrução nasal grave, alterações anatômicas craniofaciais, obstrução intratorácica, comorbidades graves, uso de drogas e abuso no consumo alcoólico ou, ainda, aqueles que já foram tratados ou estejam realizando tratamento para AOS através do uso de CPAP ou aparelho intraoral.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP, sob o parecer número 80484/2012 (Anexo A). Todos os pacientes que concordaram em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B). Os pacientes avaliados com TC de via aérea superior participaram de outro estudo que avaliou as características anatômicas associadas à colapsabilidade da via aérea superior durante o sono, aprovado pelo Comitê de Ética da mesma instituição, sob o parecer número 0230/09.

4.3 Avaliações

4.3.1 Exame Físico

A avaliação do peso e altura foi realizada através de uma balança eletrônica (modelo 200/5, Welmy Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, Brasil). O cálculo do IMC foi realizado através da Classificação de IMC da Organização Mundial da Saúde. A circunferência de pescoço foi mensurada na região da proeminência laríngea e a circunferência abdominal foi mensurada na altura das cristas ilíacas, ao final da expiração.

4.3.2 Questionários

O Questionário de Berlim e a Escala de Sonolência de Epworth foram aplicados para identificação de sujeitos com maior risco a AOS⁹² e para avaliação da sonolência excessiva diurna⁹³ (Anexos C e D). Ambos os questionários foram autoaplicados.

4.3.3 Espirometria

A espirometria foi realizada por meio do espirômetro KoKo PFT System Versão 4.11 (nSpire Health, Inc; Louisville, CO, USA) utilizando a manobra da capacidade vital lenta (CV) e forçada (CVF) de acordo com as diretrizes nacionais da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia e da European Respiratory Society / American Thoracic Society^{94, 95}.

Os testes foram realizados na posição sentada de maneira confortável, com corpo ereto, utilizando clipe nasal e sem apoio de membros superiores. Aqueles que

apresentaram sinais de obstrução pulmonar, ou seja, relação volume expirado forçado no primeiro segundo e capacidade vital forçada (VEF_1/CVF) menor que 80% foram excluídos.

4.3.4 Polissonografia

Os exames de PSG (monitorização padrão – nível 1) foram realizados utilizando um sistema ambulatorial de análise de sono modelo Alice 5 (Philips Respironics, Murrysville, PA), sendo registrados sinais de eletroencefalograma (C4-M1, O2-M1 e C3-M2, O1-M2), eletro-oculograma (E1-M2 e E2-M2), eletromiografia submentoniano e tibial, eletrocardiograma, saturação periférica de oxigênio através de oximetria digital, fluxo nasal (cânula de pressão e termistor), esforço respiratório (cintas torácicas e abdominais do modelo *Xtrace*), ronco e posição corporal.

A leitura dos exames foi realizada manualmente por um técnico leitor especializado e os exames foram laudados por um médico especialista em Medicina do Sono, segundo as Diretrizes da American Academy of Sleep Medicine¹⁹.

4.3.5 Pressão Negativa Expiratória

A pressão negativa foi gerada por um dispositivo Venturi amplificador de ar (Exair modelo 120021, Cincinnati, USA) acoplado a um cilindro de ar comprimido conectado a uma válvula solenóide (Norgren Ltd model 9500400, Vimercate, MI, Italy). A válvula solenóide era ativada eletronicamente no início da expiração e era mantida aberta por 2 s. O controle automático da válvula solenóide e a aquisição dos dados foram realizados por um software escrito em LabView 8.2 (National

Instruments; Austin, USA) desenvolvido pelo laboratório em Palermo. Um pneumotacógrafo (Hans Rudolph, modelo 3038B, Kansas City, USA) era conectado ao amplificador de ar e à interface para mensuração do fluxo, utilizando um transdutor de pressão diferencial (Sensortechncs GmbH, modelo PCLA02X5, Puchheim, Alemanha). A pressão foi medida por um transdutor de pressão (Sensortechncs GmbH, modelo PCLA0050, Puchheim, Alemanha). Os sinais de fluxo e pressão foram filtrados por um filtro passa-baixa e adquiridos com uma frequência amostral de 100Hz. Ambos os sinais eram exibidos na tela de um computador em tempo real e gravados para análise posterior. Pressões de $-5 \text{ cmH}_2\text{O}$ foram adquiridas pela oclusão total do pneumotacógrafo para o ajuste do fluxo de ar comprimido para o sistema de Venturi antes de cada sujeito (Figura 14).

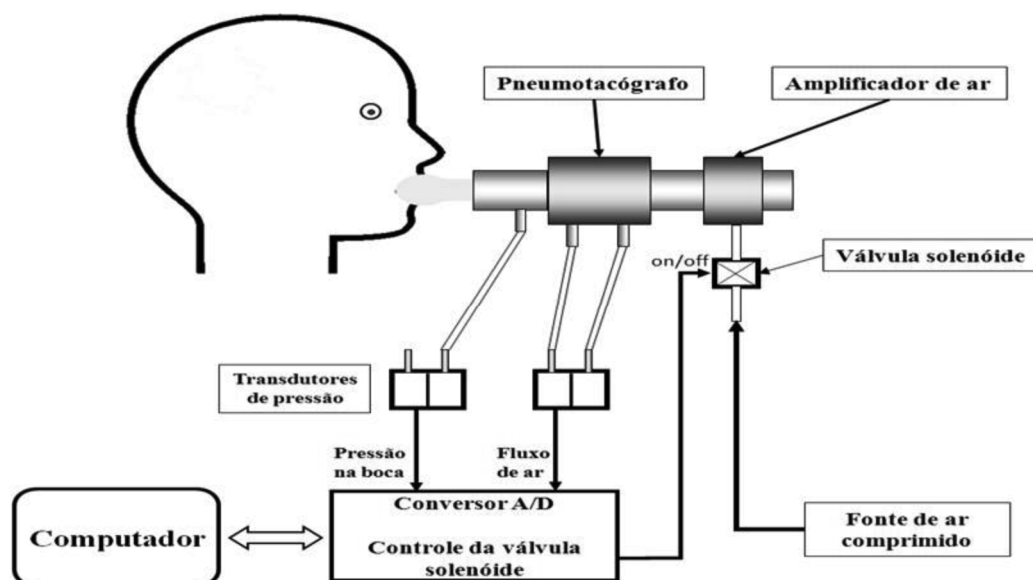


Figura 14 - Montagem do equipamento de NEP com bocal

Abreviaturas: A/D – analógico/digital

FONTE: adaptado de Laboratório de Sono do Instituto de Biomedicina e Imunologia Molecular “A. Monroy”, Conselho Nacional de Pesquisa da Itália

A NEP foi realizada durante a vigília com uma pressão negativa de $-5 \text{ cmH}_2\text{O}$ nas posições sentada e supina. Durante o teste, os sujeitos eram solicitados a se manter relaxados e com os olhos abertos. Dois tipos de interface foram usados para a avaliação da colapsabilidade da via aérea superior, um bocal e uma máscara nasal, conforme descrito em mais detalhes abaixo. Nenhuma instrução foi dada em relação ao momento de aplicação da pressão negativa para evitar qualquer reação voluntária. Em todas as posições era tomado extremo cuidado para que o pescoço se mantivesse em posição neutra. Todos os sujeitos foram submetidos a aproximadamente 10 aplicações de NEP em cada interface e posição, um total de aproximadamente 40 aplicações de NEP. Quando qualquer aplicação da NEP fosse invalidada durante o teste, outra NEP era aplicada. Cada NEP era realizada com intervalo mínimo de quatro respirações regulares, para estabilização do padrão ventilatório.

A análise do fluxo e volume foi realizada posteriormente, utilizando o mesmo *software* desenvolvido em Palermo (LabView 8.2, National Instruments; Austin, USA). Cada aplicação de NEP foi analisada manualmente pelo mesmo investigador, que excluía qualquer outra curva inválida. Os critérios de exclusão foram: diferença maior que 10% entre o volume inspiratório e expiratório para cada uma das 3 respirações precedentes à aplicação da NEP, aplicação da NEP quando o fluxo expiratório era maior que 0,5 L/s, presença de esforço inspiratório durante a aplicação da NEP e qualquer sinal de sono durante o teste.

4.3.5 - a) Desenvolvimento de nova metodologia para o teste da NEP

Metodologia de coleta da NEP: Conforme descrito anteriormente, os estudos de NEP em adultos com suspeita de AOS foram realizados utilizando um

bocal. Nesse trabalho, acrescentamos a máscara nasal como interface. Desde o início do protocolo foram coletados os dados da NEP com bocal nas posições sentada e supina e com máscara nasal na posição supina. Foi necessária uma montagem diferente do equipamento para a realização do teste com máscara nasal na posição sentada, o que resultou em um número menor de coletas. Quando a NEP era realizada com bocal, os sujeitos utilizavam um clipe nasal e eram instruídos a respirar pela boca. Quando a NEP era realizada com máscara nasal, os sujeitos eram instruídos a respirar somente pelo nariz, com os lábios selados (Figura 15).

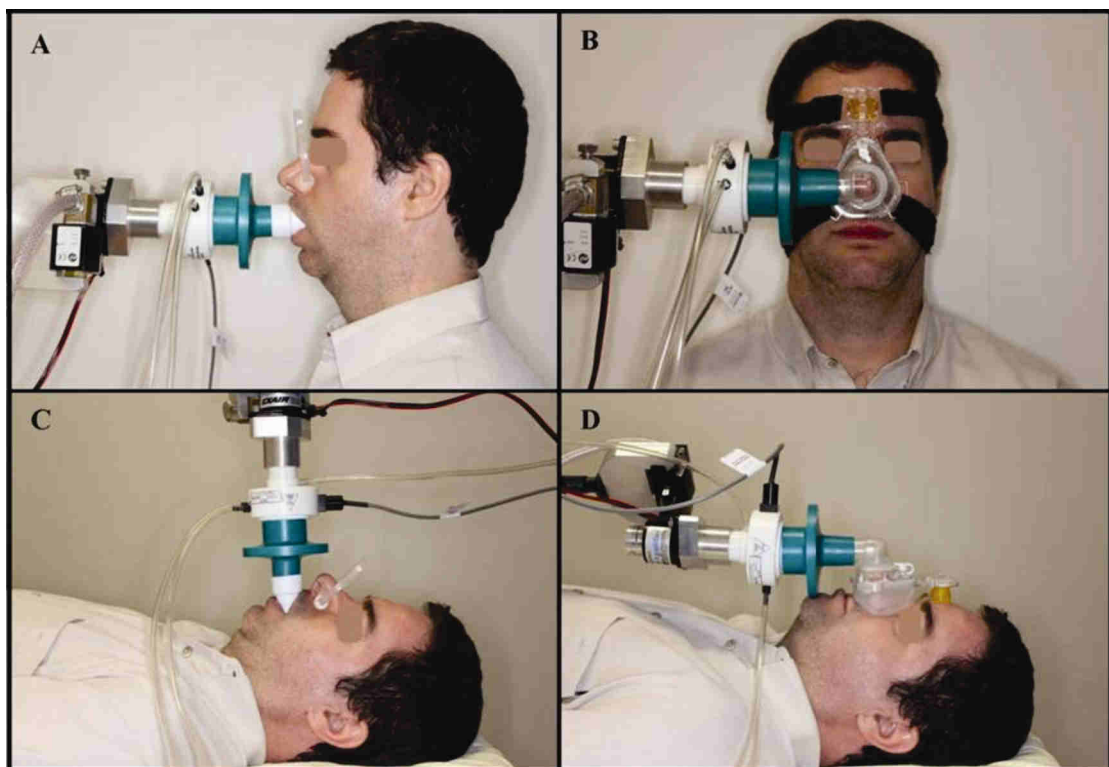


Figura 15 - Posições e interfaces para o teste da NEP **A)** bocal sentado, **B)** máscara nasal sentado, **C)** bocal supino, **D)** máscara nasal supino
FONTE: Laboratório do Sono do Instituto do Coração (InCor)

Metodologia de análise da NEP: A colapsabilidade da via aérea superior foi avaliada pela relação entre o volume expirado a 0,2 s durante a respiração espontânea

(3 expirações precedentes à aplicação da NEP) sobre o volume expirado a 0,2 s durante a aplicação da NEP ($V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$). A mesma porção da respiração (expiração) é considerada neste parâmetro tanto para a respiração espontânea como para a aplicação da pressão negativa, assegurando condições similares de volume pulmonar e atividade da musculatura dilatadora da faringe. Além disso, avaliamos também a resistência expiratória medida a 0,2 s durante a aplicação da NEP ($R_{0,2}$), conforme ilustrado na Figura 16. Essas análises foram realizadas em um *software* personalizado (MatLab, The Math Works, Natick, MA), desenvolvido pela própria aluna responsável por este projeto, após cursar a matéria de Métodos Matemáticos em Engenharia Biomédica I na Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, com a ajuda do professor Henrique Takachi Moriya.

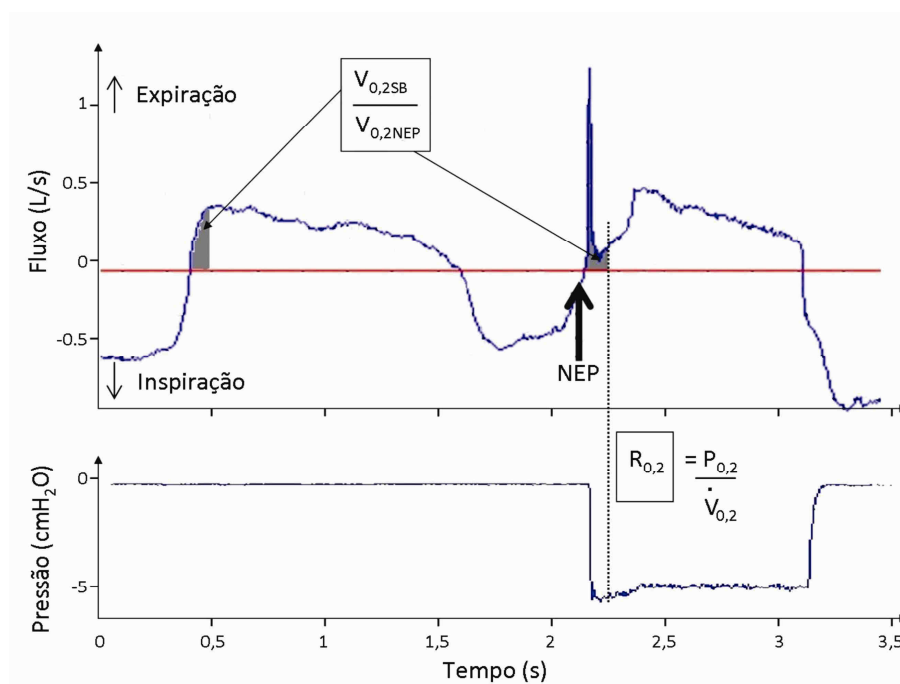


Figura 16 - Aplicação da NEP no início da expiração durante a respiração espontânea. $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ - relação entre o volume expirado a 0,2 s durante a respiração espontânea (representado pela área hachurada em cinza claro) sobre o volume expirado a 0,2 s durante a aplicação da NEP (representado pela área hachurada em cinza escuro), $R_{0,2}$ - resistência expiratória medida a 0,2 s durante a aplicação da NEP

FONTE: Laboratório do Sono do Instituto do Coração (InCor)

4.3.6 Pressão Crítica de Fechamento da Faringe

A Pcrit foi realizada durante o dia, em sono induzido com midazolam diluído em uma solução salina com concentração de 1mg/10mL, conforme descrito anteriormente⁹⁶. A infusão foi realizada em uma veia periférica vagorosamente, até ser observado o início do sono pela PSG. Se o paciente acordasse e não fosse capaz de adormecer novamente após 10 minutos, a infusão de midazolam era iniciada novamente. As medidas foram realizadas em posição supina, com a montagem completa de PSG basal, exceto cânula de pressão nasal e termistor. Em seu lugar, os indivíduos usaram uma máscara nasal conectada a um pneumotacógrafo aquecido (modelo 3700A, Hans Rudolf, Kansas City, MO) e um transdutor de pressão diferencial (Validyne, Northridge, CA) para as medidas de fluxo e pressão, que foram gravados em um computador pessoal usando um conversor analógico-digital (National Instruments, Austin, TX) e um software de aquisição de dados (LabVIEW, National Instruments, Austin, TX). A máscara foi conectada a um dispositivo de CPAP modificado (Philips Respironics, Murrysville, PA), capaz de gerar pressões positivas e negativas (Figura 17).

Após o início do sono, a pressão de CPAP era aumentada até a abolição de limitação ao fluxo aéreo para cada paciente (pressão de manutenção). Ao atingir sono NREM estável, a pressão de CPAP era abruptamente reduzida em 1-2 cmH₂O durante a expiração, mantida por cinco respirações e então retornada à pressão de manutenção (Figura 18). A redução era repetida em mais 1-2 cmH₂O após um minuto se o indivíduo permanecesse dormindo, ou após dois minutos de sono NREM estável se ocorresse um despertar. Este processo foi repetido progressivamente até

que uma apneia ocorresse e todo o procedimento era realizado de duas a quatro vezes para cada sujeito.

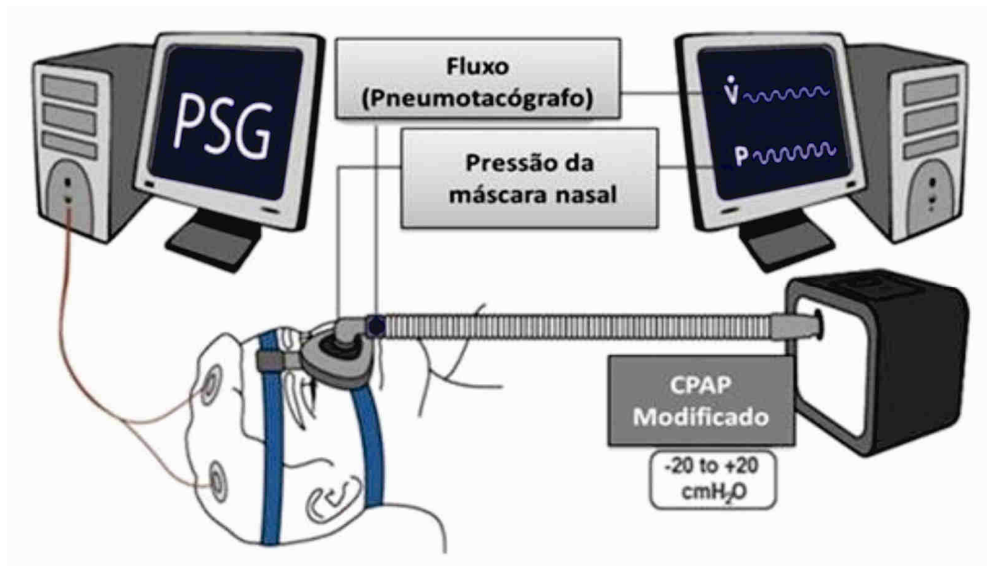


Figura 17 - Representação do equipamento utilizado na determinação da Pcrit
 Abreviaturas: PSG – polissonografia; CPAP +20 a -20cmH₂O – dispositivo de CPAP (pressão positiva contínua na via aérea) modificado capaz de gerar pressões positivas e negativas; V' – fluxo respiratório; P – pressão da máscara
 FONTE: Laboratório do Sono do Instituto do Coração (InCor)

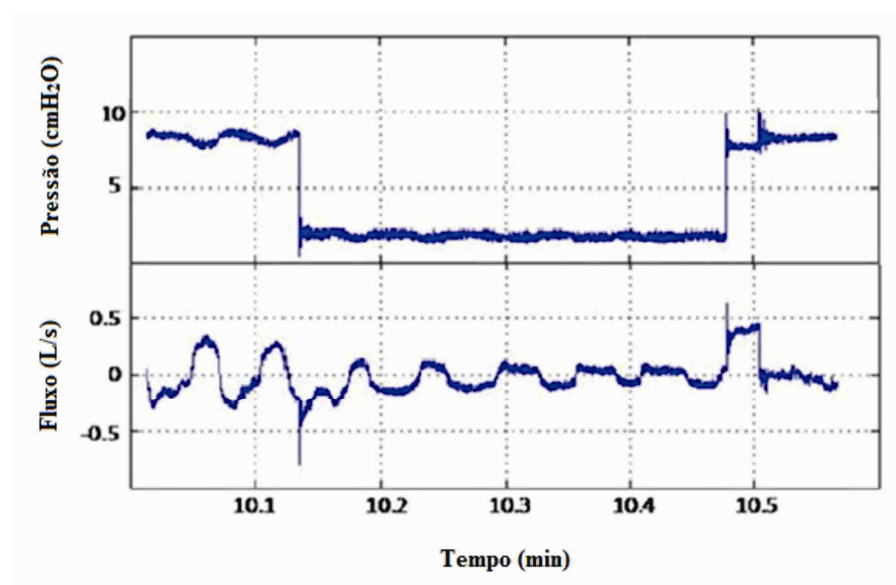


Figura 18 - Detalhe da redução de pressão da máscara e surgimento de limitação de fluxo. Os valores de fluxo inspiratório máximo e pressão da máscara concomitante das 3^a a 5^a respirações com limitação de fluxo foram utilizados para análise
 FONTE: Laboratório do Sono do Instituto do Coração (InCor)

O pico de fluxo inspiratório (\dot{V}_i^{max}) das respirações 3-5 com limitação de fluxo durante a queda de pressão foram plotadas contra a pressão correspondente na máscara. A P_{crit} foi determinada como a interceptação do fluxo zero a partir da regressão linear de \dot{V}_i^{max} versus pressão nasal⁹⁷ (Figura 19). Os dados foram analisados por meio de um *software* escrito em MatLab (The MathWorks, Inc., Natick, MA) desenvolvido através da colaboração com o Laboratório de Bioengenharia da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

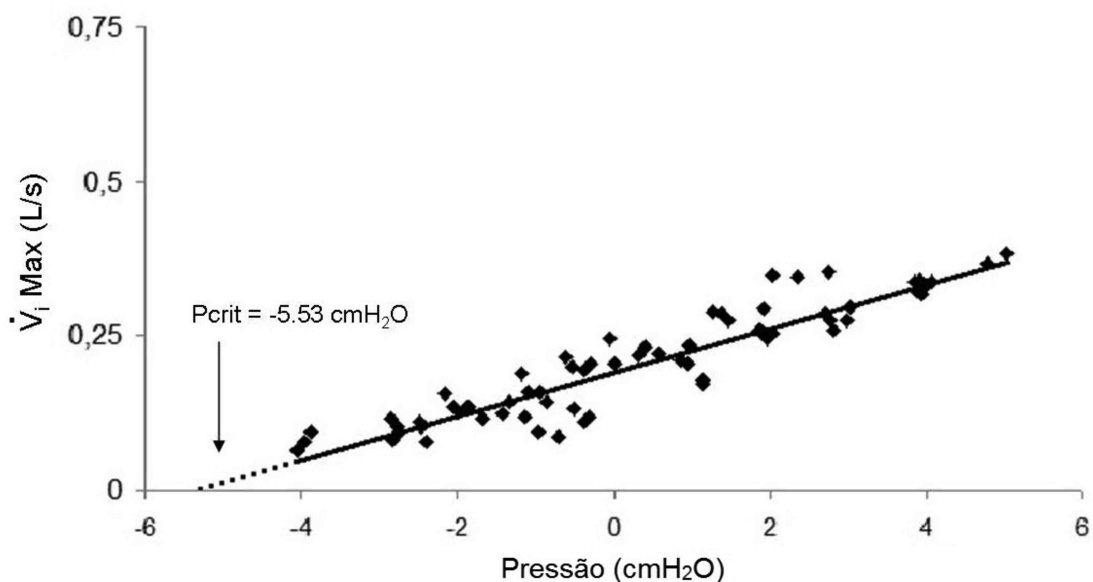


Figura 19 - Dispersão dos dados de pico de fluxo inspiratório e pressão na máscara de um exame de P_{crit} . A reta representa a regressão linear e sua extrapolação para o fluxo zero representa a P_{crit}

Abreviaturas: $\dot{V}_i \text{ Max}$ - pico de fluxo inspiratório, P_{crit} - Pressão crítica de fechamento da faringe

FONTE: Laboratório do Sono do Instituto do Coração (InCor)

4.3.7 Tomografia computadorizada de cabeça e pescoço

A TC de cabeça e pescoço (Discovery CT 750 HD, GE HealthCare, Milwaukee, Wisconsin, USA) foi realizada com o objetivo de avaliar as variáveis cefalométricas, além do volume e área da língua.

Durante a aquisição das imagens, realizada em respiração tranquila, os pacientes permaneceram acordados, em posição supina e com a cabeça em posição neutra. Os exames foram adquiridos com um intervalo de 2,5 mm e reconstruídos com espessura de 0,625 mm, 120 kV, 100mA e em um tempo de rotação de 0,8 segundos. No plano sagital, após reconstrução multiplanar, foram identificadas as medidas cefalométricas, baseando-se em pontos de referência ósseos e de partes moles. Reconstruções tridimensionais das imagens foram realizadas em uma estação de trabalho para medida do volume da via aérea e da língua. Todas as medidas foram realizadas por um único investigador, utilizando um paquímetro eletrônico.

Os seguintes pontos de referência foram identificados: espinha nasal posterior, hióide, plano mandibular e base da epiglote. A distância entre o plano mandibular ao hióide (MPH) foi então identificada. A altura da língua foi definida como a máxima altura perpendicular ao comprimento da língua. O comprimento da faringe foi definido pela medida da distância entre uma linha horizontal passando pelo nível do palato mole e outra passando pela base da epiglote. Reconstruções tridimensionais foram realizadas para medidas de volume da língua (Figura 20).

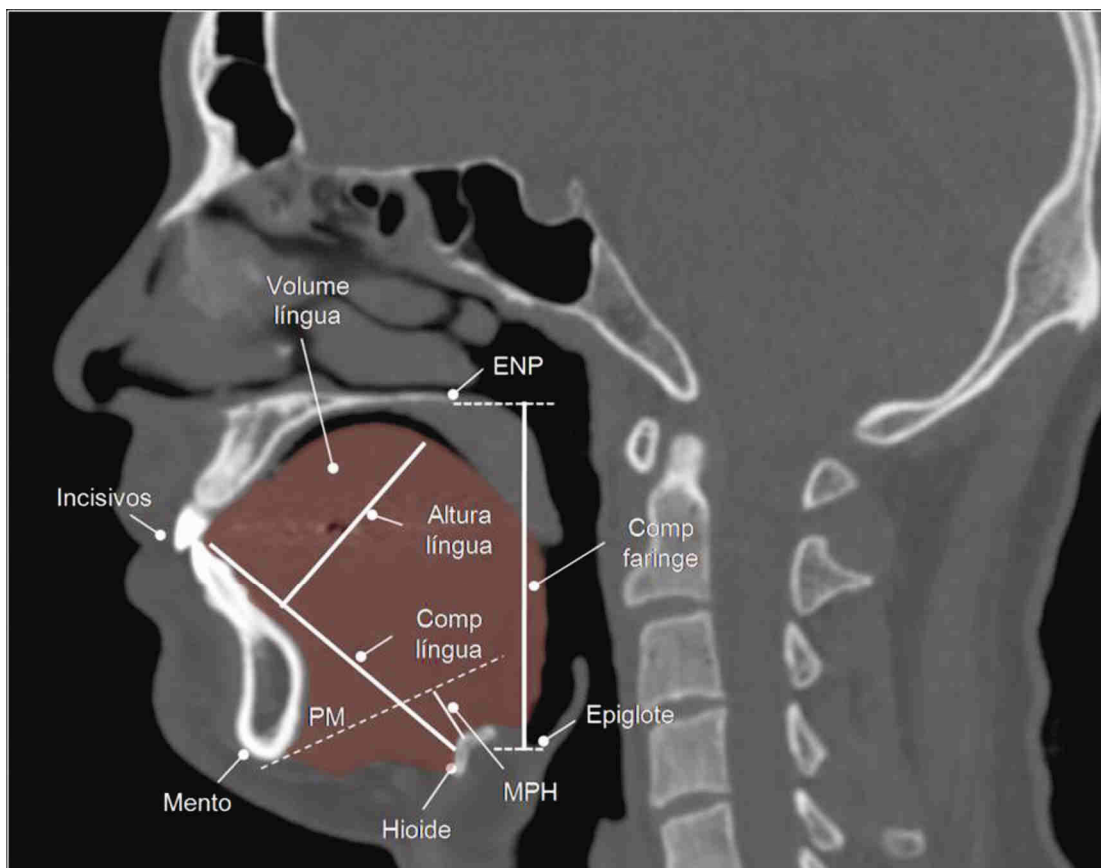


Figura 20 - Representação de uma imagem de tomografia computadorizada da via aérea superior

Abreviaturas: ENP - espinha nasal posterior, PM - plano mandibular, Comp - comprimento, MPH - distância entre o plano mandibular ao hióide

FONTE: InRad – HCFMUSP

4.4 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo pacote estatístico IBM SPSS Statistics, versão 17.0 (IBM Corp 2008, Chicago, IL, USA). Os dados foram descritos como média \pm desvio padrão ou medianas [intervalo interquartil] quando apropriado. O teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov foi realizado para constatar a homogeneidade dos dados.

Estudo 1 - Utilizamos a análise de equações de estimativa generalizadas (GEE) para analisar a influência da interface e da posição sobre a colapsabilidade da via aérea superior medida pela NEP. Os principais preditores deste modelo foram interface (bocal / máscara nasal) e posição (sentada / supina). As comparações múltiplas pós-hoc foram realizadas utilizando o teste de Bonferroni para melhor entendimento do efeito isolado da interface e da posição sobre a colapsabilidade da via aérea superior.

Estudo 2 - Utilizamos o coeficiente de correlação de Pearson para avaliar as associações entre as variáveis de colapsabilidade da via aérea superior (NEP e Pcrit) e as variáveis de PSG e anatomia da via aérea superior. Também realizamos um modelo de regressão linear utilizando as variáveis de anatomia da via aérea superior como variáveis dependentes e as variáveis de NEP, Pcrit e IMC como variáveis independentes para controlar os resultados para o IMC. Dividimos a amostra de acordo com a mediana da variável $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ para comparar as variáveis anatômicas e antropométricas utilizando o teste t de Student para amostras independentes. Utilizamos one-way ANOVA e pós-hoc de Bonferroni para comparar os sujeitos de acordo com a gravidade da AOS.

5 RESULTADOS

5.1 *Estudo 1*

Foram recrutados 93 sujeitos e 7 foram excluídos (2 por obstrução intratorácica ($VEF_1/CVF < 0,7$) e 5 por obstrução nasal grave). Portanto, a amostra final consistiu em 86 sujeitos avaliados nas posições sentada e supina com bocal e supino com máscara nasal. Foi necessária uma mudança na montagem do equipamento para o teste na posição sentada com máscara nasal. Por este motivo, temos um número reduzido de casos ($n=36$) na posição sentada com máscara nasal. Um subgrupo de 28 pacientes também foram submetidos à TC da via aérea superior (Figura 21). A população estudada era de adultos jovens caracterizados por sobrepeso ou obesidade com um amplo espectro de IAH. Na Tabela 1 estão descritas as características demográficas, clínicas e de sono dos indivíduos.

Na análise do GEE, nós encontramos um efeito de interação entre interface e posição sobre a colapsabilidade da via aérea superior medida pela variável $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ ($p=0,007$). Os resultados das comparações pós-hoc entre interfaces e posições estão descritos na Tabela 2. A via aérea superior foi mais colapsável com bocal do que com máscara nasal quando a NEP foi realizada na posição sentada. A colapsabilidade da via aérea superior foi mais alta na posição supina quando comparada com a posição sentada somente quando a NEP foi realizada com máscara nasal. As curvas da NEP de um paciente representativo estão ilustradas na Figura 22. A resistência expiratória a 0,2s da aplicação da NEP foi significativamente maior com bocal do que com máscara nasal ($20,7 \text{ cmH}_2\text{O/L.s}^{-1}$ versus $8,6 \text{ cmH}_2\text{O/L.s}^{-1}$ respectivamente, $p=0,018$), independentemente da posição.

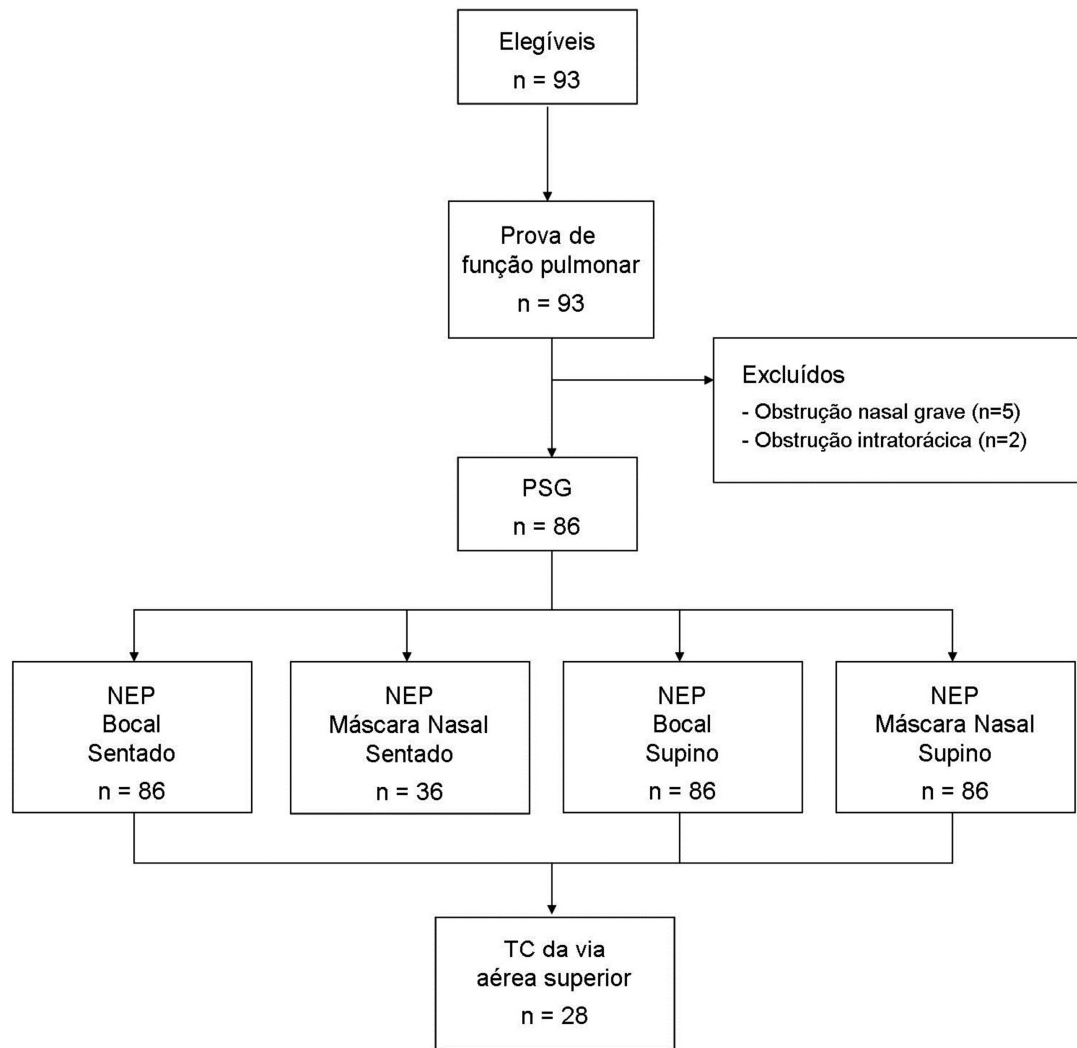


Figura 21 - Fluxograma do estudo

Abreviaturas: PSG - polissonografia, NEP - pressão negativa expiratória, TC - tomografia computadorizada

Tabela 1 - Características demográficas, clínicas, de sono e de função pulmonar dos sujeitos

	n=86
Idade, anos (mín / máx)	46 ± 12 (23 / 65)
IMC, kg/m ²	30,0 ± 4,4
Circunferência do pescoço, cm	40,0 ± 3,5
Circunferência do abdomen, cm	101,5 ± 11,9
Hipertensão, n(%)	26 (30,2)
Diabetes, n(%)	8 (9,3)
IAH, eventos/h (mín / máx)	32,9 ± 26,4 (0,5 / 122,5)
SpO ₂ min, %	80,7 ± 8,4
T SpO ₂ <90%, min	28,9 ± 60,3
Epworth, pontuação	10 ± 5,5
CVF, % predito	96,1 ± 9,7
VEF ₁ , % predito	93,9 ± 9,4
VEF ₁ /FVC	0,81 ± 0,05

Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão

Abreviaturas: IMC - índice de massa corpórea, IAH - índice de apneia/hipopneia, SpO₂ - saturação periférica da oxihemoglobina, CVF - capacidade vital forçada, VEF₁ - volume expiratório forçado no primeiro segundo

Tabela 2 - Efeitos da interface (bocal versus máscara nasal) e da posição (sentado versus supino) sobre a colapsabilidade da via aérea superior medida pela NEP

	Bocal	Máscara Nasal*	p (interface)
$V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ - sentado	0,44 [0,33 - 0,68]	0,32 [0,25 - 0,41]	0,001
$V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ - supino	0,51 [0,34 - 0,61]	0,44 [0,31 - 0,57]	ns
p (posição)	ns	0,019	

Os dados estão apresentados como média±desvio padrão ou mediana [intervalo interquartil] quando não houve distribuição normal. P (interface) representa a comparação entre bocal versus máscara nasal e o P (posição) representa a comparação entre sentado versus supino *n=36 para máscara nasal na posição sentada; n=86 para o restante.

Abreviaturas: $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ - relação entre a média do volume expirado durante 0,2s das três expirações precedentes e o volume expirado a 0,2s durante a aplicação da NEP

NEP e anatomia da via aérea superior

A NEP avaliada com bocal nas posições sentada e supina e com máscara nasal na posição supina foi comparada com variáveis anatômicas obtidas pela TC de via aérea superior. A NEP com máscara nasal na posição sentada não estava disponível nesses pacientes. As correlações entre $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ com bocal nas posições sentada e supina e com máscara nasal na posição supina estão descritas na Tabela 3. A NEP avaliada com máscara nasal na posição supina e com bocal na posição sentada se correlacionou com medidas anatômicas da via aérea superior características de pacientes com AOS, como dimensões da língua e comprimento da faringe, com uma tendência a serem melhores com máscara nasal. A NEP avaliada com bocal na posição supina se correlacionou somente com volume da língua.

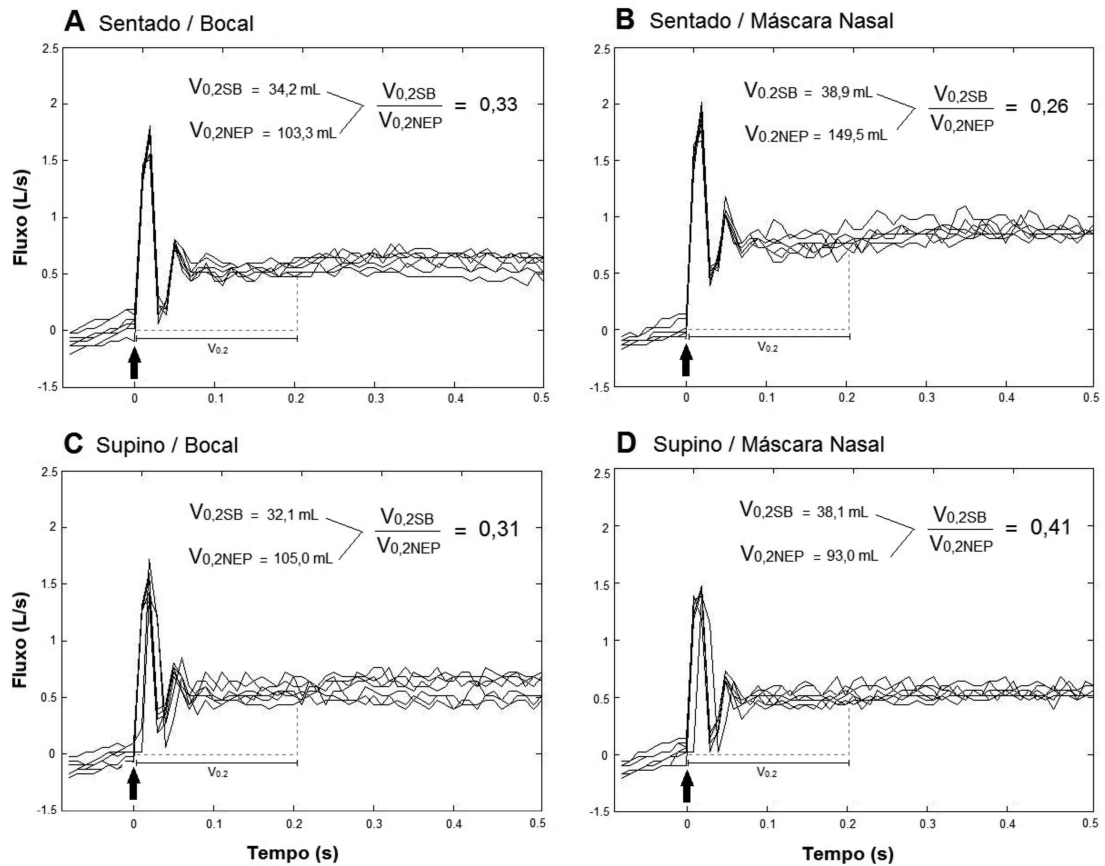


Figura 22 - Sobreposição das curvas de fluxo das manobras de NEP em um paciente representativo com AOS nas quatro situações estudadas: **A)** bocal na posição sentada, **B)** máscara nasal na posição sentada, **C)** bocal na posição supina e **D)** máscara nasal na posição supina. A flecha na região inferior de cada figura indica o momento da aplicação da NEP. A expiração está representada com valores positivos. $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$: relação entre a média do volume expirado a 0,2s nas 3 respirações precedentes durante a respiração estável (não mostrados na Figura) sobre o volume expirado a 0,2s durante a aplicação da NEP. O $V_{0,2}$ durante as respirações estáveis precedentes à NEP foram similares nas 4 situações (variação entre 32 - 38 mL). Por outro lado, o $V_{0,2}$ durante a aplicação da NEP foi variado. O $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ com máscara nasal foi maior (pior colapsabilidade da via aérea superior) na posição supina do que na posição sentada. O $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ com bocal foi similar entre as posições sentada e supina. Note também que a colapsabilidade da via aérea superior foi maior com bocal do que com máscara nasal na posição sentada

Tabela 3 - Correlações entre anatomia da via aérea superior e NEP avaliada com bocal nas posições sentada e supina e com máscara nasal na posição supina

	$V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$		$V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$		$V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$	
	Bocal		Bocal		Máscara Nasal	
	Sentado		Supino		Supino	
	r	p	r	p	r	p
Dimensões ósseas						
MPH	0,443	0,021	0,167	0,405	0,432	0,024
Ângulo base do crânio	-0,190	0,333	0,139	0,479	-0,241	0,216
Comp da maxila	-0,280	0,149	-0,369	0,053	-0,417	0,027
Comp da mandíbula	-0,110	0,579	-0,270	0,164	-0,009	0,963
Dimensões tecido mole						
Área da língua	0,427	0,024	0,288	0,138	0,646	<0,0001
Volume da língua	0,413	0,029	0,390	0,040	0,565	0,002
Comp da faringe	0,556	0,002	0,315	0,103	0,580	0,001
Volume via aérea	0,105	0,604	0,082	0,684	0,122	0,546

Abreviaturas: $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ - relação entre a média do volume expirado durante 0,2s das três expirações precedentes e o volume expirado a 0,2s durante a aplicação da NEP, MPH - distância entre o plano mandibular e o osso hióide

5.2 Estudo 2

Neste estudo, consideramos a NEP realizada com máscara nasal na posição supina e representada pela variável $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ (relação entre a média do volume expirado durante 0,2s das três respirações precedentes sobre o volume expirado a 0,2s durante a aplicação da NEP). A Pcrit foi realizada na posição supina durante o sono induzido com Midazolam.

Foram recrutados 30 indivíduos para participar deste estudo, 2 foram excluídos por obstrução intratorácica ($VEF_1/CVF < 0,7$). A amostra incluída consistiu de 28 homens adultos jovens com sobrepeso e com um amplo espectro de IAH. As características da amostra estão descritas na Tabela 4. A duração da determinação da Pcrit foi de $3,1 \pm 0,9$ horas e a dose de Midazolam foi de $3,7 \pm 1,7$ mg. A pressão de manutenção (pressão de CPAP na qual não há limitação de fluxo) foi de $9,5 \pm 2,7$ cmH₂O. A NEP foi obtida em aproximadamente 10 minutos.

As características antropométricas, anatômicas e de colapsabilidade da via aérea superior estão apresentadas na Tabela 5 de acordo com a gravidade da AOS. Pacientes com AOS grave eram mais velhos, apresentavam um IMC maior e a colapsabilidade da via aérea superior também maior, medidas tanto durante o sono quanto durante a vigília. Os parâmetros anatômicos também foram diferentes entre as categorias de IAH.

Tabela 4 - Características demográficas, clínicas e do sono dos indivíduos

	n=28
Idade, anos (mín / máx)	45 ± 13 (23 / 64)
IMC, kg/m ²	29,5 ± 4,9
Circunferência do pescoço, cm	41,0 ± 3,4
Circunferência do abdomen, cm	101,4 ± 13,9
Hipertensão, n[%]	9 [32,1]
Diabetes, n[%]	5 [17,9]
Fumantes, n[%]	3 [10,7]
IAH, eventos/h (mín / máx)	30 ± 26 (1,9 / 85,8)
SpO ₂ min, %	81,6 ± 8,5
T SpO ₂ <90%, min	24,6 ± 55,6
Epworth	11,1 ± 5,9
CVF, % predito	95,7 ± 9,3
VEF ₁ , % predito	92,2 ± 7,5
VEF ₁ /CVF	0,8 ± 0,06
Pcrit, cmH ₂ O (mín / máx)	-0,69 ± +3,04 (-7,24 / +6,20)
NEP, V _{0,2SB} /V _{0,2NEP} (mín / máx)	0,51 ± 0,25 (0,21 / 1,18)

Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão

Abreviaturas: IMC - índice de massa corpórea, IAH - índice de apneia/hipopneia, SpO₂ - saturação periférica da oxihemoglobina, CVF - capacidade vital forçada, VEF₁ - volume expiratório forçado no primeiro segundo, Pcrit - pressão crítica de fechamento da faringe, NEP - pressão negativa expiratória

Tabela 5 - Características antropométricas, anatômicas e de colapsabilidade da via aérea superior de acordo com a gravidade da AOS

Variáveis	IAH < 15 n=11	15 ≤ IAH < 30 n=8	IAH ≥ 30 n=9
Idade, anos	37 ± 12	47 ± 11	53 ± 9 *
IMC, kg/m ²	28,2 ± 4,3	26,2 ± 3,1	33,8 ± 3,7 *†
Circ do pescoço, cm	39,6 ± 2,9	40,1 ± 2,8	43,6 ± 3,1 *
Circ do abdomen, cm	95,6 ± 10,4	93,7 ± 8,1	115,33 ± 11,6 *†
IAH, eventos/h	8,5 ± 4,2	23,3 ± 5,7	62,4 ± 20,4 *†
SpO ₂ min, %	87,6 ± 2,1	84,5 ± 4,0	71,6 ± 7,1 *†
T SpO ₂ <90%, min	0,61 ± 0,67	3,7 ± 3,4	78,5 ± 82,1 *†
Pcrit, cmH ₂ O	-2,2 ± +2,7	-1,2 ± +2,6	+1,6 ± +2,6 *
NEP, V _{0,2SB} /V _{0,2NEP}	0,45 ± 0,17	0,40 ± 0,11	0,70 ± 0,32 *†
Dimensões ósseas			
MPH, mm	13,8 ± 7,4	13,0 ± 6,0	22,5 ± 8,9 †
Ângulo da base do crânio, °	129,6 ± 4,7	128,2 ± 3,0	128,7 ± 4,1
Comp da maxila, mm	85,7 ± 3,1	87,2 ± 4,4	88,0 ± 4,8
Comp da mandíbula, mm	113,5 ± 4,3	114,0 ± 5,7	116,7 ± 5,6
Dimensões de tecido mole			
Área da língua, cm ²	33,1 ± 3,2	31,4 ± 1,8	38,5 ± 2,2 *†
Volume da língua, cm ³	133,3 ± 15,5	131,7 ± 12,3	162,2 ± 14,2 *†
Comp da faringe, mm	64,8 ± 7,0	68,9 ± 8,0	77,0 ± 9,4 *
Comp do palato mole, mm	37,3 ± 3,7	35,9 ± 2,5	40,9 ± 4,6 †
Volume via aérea superior, cm ³	83,7 ± 16,0	103,3 ± 56,0	120,9 ± 42,5

* p<0,05 entre grupo IAH ≥ 30 e grupo IAH < 15.

† p<0,05 entre grupo IAH ≥ 30 e grupo 15 ≤ IAH < 30.

Abreviaturas: IMC - índice de massa corpórea, circ - circunferência, IAH - índice de apneia/hipopneia, SpO₂ - saturação periférica da oxihemoglobina, Pcrit - pressão crítica de fechamento da faringe, NEP - pressão negativa expiratória, MPH - distância entre o plano mandibular e o hióide, comp - comprimento

Tabela 6 - Variáveis antropométricas, anatômicas e do sono de acordo com a mediana da variável da NEP

Variáveis	$V_{0,2SB}/V_{0,2NEP} < 0,47$	$V_{0,2SB}/V_{0,2NEP} > 0,47$	P
	n=14	n=14	
Idade, anos	41 ± 10	49 ± 13	0,097
IMC, kg/m ²	27,4 ± 4,4	31,4 ± 4,6	0,028
Circ do pescoço, cm	39,3 ± 2,6	42,7 ± 3,3	0,006
Circ do abdomen, cm	94,9 ± 11,8	107,9 ± 13,0	0,011
IAH, eventos/h (mín-máx)	20,7 ± 16,1 (4,2 - 66,6)	39,3 ± 31,4 (1,9 - 85,8)	0,063
SpO ₂ min, %	84,1 ± 5,5	79,0 ± 10,2	0,119
T SpO ₂ <90%, min	4,1 ± 6,1	46,6 ± 75,1	0,045
Pcrit, cmH ₂ O (mín-máx)	-1,7 ± +3,1 (-7,2 - +2,9)	0,3 ± 2,7 (-3,8 - +6,2)	0,075
Dimensões ósseas			
MPH, mm	14,0 ± 8,5	18,7 ± 8,1	0,157
Ângulo da base do crânio, °	129,6 ± 4,6	128,2 ± 3,2	0,374
Comp da maxila, mm	88,8 ± 3,9	85,0 ± 3,3	0,011
Comp da mandíbula, mm	115,0 ± 5,0	114,3 ± 5,5	0,717
Dimensões de tecido mole			
Área da língua, cm ²	32,5 ± 3,2	36,2 ± 3,6	0,009
Volume da língua, cm ³	130,6 ± 13,7	153,7 ± 18,2	0,001
Comp da faringe, mm	65,3 ± 8,0	74,5 ± 8,6	0,007
Comp do palato mole, mm	35,9 ± 2,9	40,2 ± 4,1	0,003
Volume via aérea, cm ³	95,6 ± 42,6	105,9 ± 40,2	0,523

Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão

Abreviaturas: IMC - índice de massa corpórea, circ - circunferência, IAH - índice de apneia/hipopneia, SpO₂ - saturação periférica da oxihemoglobina, Pcrit - pressão crítica de fechamento da faringe, MPH - distância entre o plano mandibular e o hióide, Comp - comprimento

A Tabela 6 mostra as variáveis antropométricas, anatômicas e do sono divididas em dois grupos de acordo com o valor da mediana da relação $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$.

Pacientes com a colapsabilidade da via aérea superior aumentada medida pela NEP apresentaram IMC mais alto, além de aumento das dimensões da língua (área e volume), aumento do comprimento da faringe e do comprimento do palato mole. A Figura 23 representa o traçado de fluxo de um paciente com um valor baixo de $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ (menos colapsável) e outro com um valor alto de $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ (mais colapsável), assim como as respectivas linhas de regressão da Pcrit. As associações entre o comprimento da faringe e o volume da língua com a NEP e a Pcrit estão ilustradas na Figura 24. As correlações entre as variáveis de anatomia da via aérea superior e colapsabilidade da via aérea superior estão apresentadas na Tabela 7. A NEP e a Pcrit ainda se correlacionaram com variáveis como comprimento da faringe (coeficiente $\beta=0,64$; $p=0,002$ para NEP e coeficiente $\beta=0,64$; $p=0,001$ para Pcrit) e área da língua (coeficiente $\beta=0,38$; $p=0,012$ para NEP e coeficiente $\beta=0,30$; $p=0,044$ para Pcrit), independentemente do IMC. A NEP se correlacionou com a Pcrit ($r=0,39$). A NEP e a Pcrit também se correlacionaram significativamente com o IAH ($r=0,490$ e $r=0,531$, respectivamente).

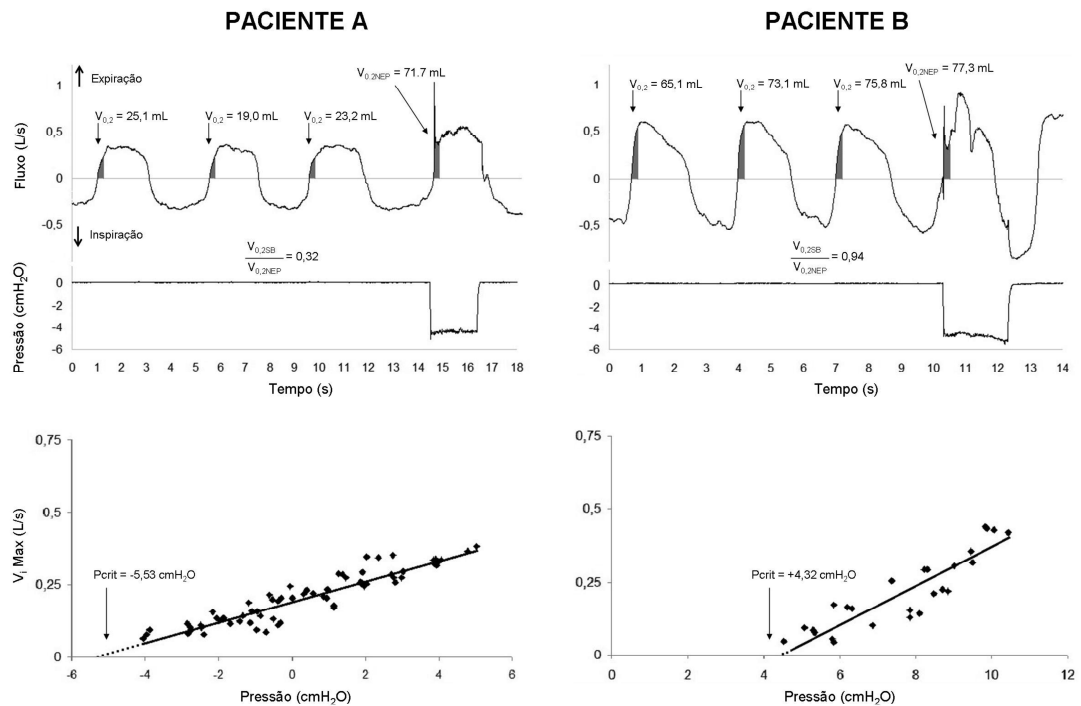


Figura 23 - Aplicação da NEP e determinação da Pcrit de dois pacientes representativos (**A** e **B**). De cima para baixo: curvas de fluxo e de pressão durante 3 respirações normais e durante a aplicação da NEP (-5 cmH₂O), ativada no início da expiração. O último gráfico representa a linha de regressão obtida para a determinação da Pcrit durante o sono induzido em um exame separado nos pacientes A e B, respectivamente. Cada ponto representa o pico de fluxo inspiratório das respirações 3 a 5 com limitação de fluxo e a pressão nasal correspondente. A Pcrit é a resultante da extrapolação da linha de regressão e representa a pressão no fluxo-zero. O paciente A é do sexo masculino (idade = 52 anos, peso = 71,9 kg, altura = 1,61 m, IMC = 27,7 kg/m³ e IAH = 15,4 eventos/hora) com NEP = 0,32 e Pcrit = -5,53 cmH₂O. O paciente B também é do sexo masculino (idade = 47 anos, peso = 139,6 kg, altura = 1,88 m, IMC = 39,5 kg/m³ e IAH = 80,2 eventos/hora) com NEP = 0,94 e Pcrit = +4,32 cmH₂O

Abreviaturas: $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ - relação entre a média do volume expirado durante 0,2s das três expirações precedentes e o volume expirado a 0,2s durante a aplicação da NEP, $V_i \text{Max}$ - pico de fluxo inspiratório, Pcrit - pressão crítica de fechamento da faringe

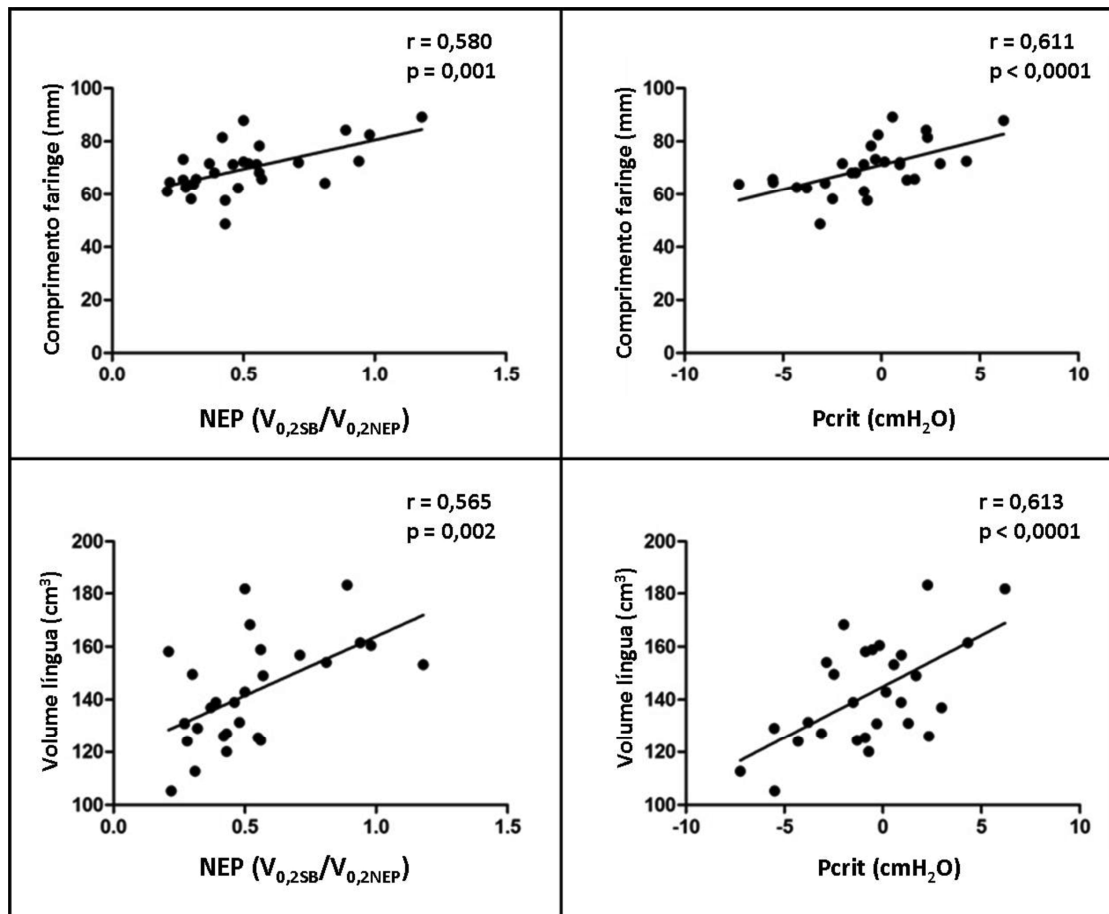


Figura 24 - Análises de correlação entre a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília (NEP - lado esquerdo) e durante o sono (Pcrit - lado direito) com comprimento da faringe (distância entre a espinha nasal posterior até a epiglote) e com dimensão da língua (representada pelo volume da língua)

Abreviaturas: $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ - relação entre a média do volume expirado durante 0,2s das três expirações precedentes e o volume expirado a 0,2s durante a aplicação da NEP, Pcrit - pressão crítica de fechamento da faringe

Tabela 7 - Associações entre a colapsabilidade da via aérea superior avaliada durante a vigília (NEP) e durante o sono (Pcrit) com variáveis antropométricas e anatômias da via aérea superior (n=28)

	NEP	Pcrit
	Vigília	Sono
	r	r
Variáveis antropométricas		
Idade	,360	,403*
IMC	,500*	,438*
Circunferência do pescoço	,515*	,552*
Circunferência do abdomen	,511*	,516*
Dimensões ósseas		
MPH	,432*	,705**
Ângulo da base do crânio	-,241	-,156
Comprimento maxilar	-,417*	-,107
Comprimento mandibular	-,009	-,118
Dimensões de tecido mole		
Área da língua	,646**	,585*
Volume da língua	,565*	,613**
Comprimento da faringe	,580*	,611**
Comprimento do palato mole	,472*	,612**
Volume da via aérea superior	,122	,313

* p < 0,05, ** p < 0,0001

Abreviaturas: NEP - pressão negativa expiratória, Pcrit - pressão crítica de fechamento da faringe, MPH - distância entre o plano mandibular e o hióide, IMC - índice de massa corpórea, circ - circunferência, IAH - índice de apneia/hipopneia

6 DISCUSSÃO

6.1 *Estudo 1*

Neste estudo, nós mostramos que a colapsabilidade da via aérea superior avaliada pela NEP é influenciada pela interface e posição. Primeiramente, nós encontramos que a via aérea foi mais colapsável com bocal do que com máscara nasal quando avaliada na posição sentada. Em segundo lugar, a resistência expiratória avaliada durante a aplicação da NEP foi maior com bocal do que com máscara nasal, independente da posição. Em terceiro lugar, como já esperado baseado em estudos prévios³⁶, a colapsabilidade da via aérea superior foi maior na posição supina do que na posição sentada quando a NEP foi avaliada com máscara nasal. Por outro lado, não observamos aumento da colapsabilidade da via aérea superior quando a NEP foi avaliada com bocal. Finalmente, a NEP se correlacionou com medidas anatômicas da via aérea superior características da AOS, como dimensões da língua e comprimento da faringe, quando a NEP foi avaliada com máscara nasal na posição supina e com bocal na posição sentada, mas não houve correlação com a NEP avaliada com bocal na posição supina (Tabela 3).

A NEP é uma técnica simples para avaliar a colapsabilidade da via aérea superior em indivíduos com suspeita de AOS. Entretanto, a maioria dos estudos utilizaram um bocal para avaliar a NEP. Nosso estudo foi o primeiro a avaliar a colapsabilidade da via aérea superior com a NEP utilizando uma máscara nasal em adultos com suspeita de AOS. O bocal pode não apenas mudar a posição da língua e da mandíbula, como também falhar em captar o comportamento da porção cefálica da via aérea superior (nasofaringe). Por exemplo, Isono *et al.* mostrou que a abertura da mandíbula causou uma diminuição da área máxima da secção transversa da

orofaringe e um aumento da pressão de fechamento em pacientes com AOS anestesiados e avaliados com máscara nasal na posição supina³². Em outro estudo, a respiração pela rota oral promoveu um aumento da resistência da via aérea superior durante o sono a levou a um aumento da frequência dos eventos obstrutivos quando comparada com a rota nasal em indivíduos normais⁸². Consistente com esses estudos prévios, nós mostramos que a colapsabilidade da via aérea superior foi maior com bocal do que com máscara nasal na posição sentada (Tabela 2). Também mostramos que a resistência expiratória durante a NEP foi maior quando a NEP foi realizada com bocal do que com máscara nasal. Essas observações podem ajudar a explicar por que alguns pacientes com AOS não apresentaram limitação de fluxo quando avaliados pela NEP com bocal no estudo de Verin *et al*⁶⁸. O aumento da resistência na via aérea superior durante a respiração oral também ajuda a explicar por que as máscaras oronasais podem comprometer a eficácia do CPAP para o tratamento da AOS^{85, 98}. Portanto, nosso estudo levanta uma questão sobre a acurácia de medir a resistência da via aérea superior utilizando técnicas realizadas com bocal, como a faringometria acústica.

A posição também pode influenciar a colapsabilidade da via aérea superior. A língua e o palato mole são empurrados posteriormente pela força da gravidade na posição supina, levando ao estreitamento da via aérea superior³⁶. Existe evidência de que a posição sentada diminui a frequência de AOS quando comparada com a posição supina, particularmente em pacientes obesos com AOS⁹⁹. Os eventos obstrutivos são mais graves na posição supina em pacientes com AOS grave não posicional¹⁰⁰. A Pcrit também é mais positiva na posição supina quando comparada com a posição lateral em pacientes portadores de AOS^{32, 35}. Portanto, os resultados

em nosso estudo mostrando que a NEP avaliada com máscara nasal é mais colapsável na posição supina do que na posição sentada corroboram com a literatura. Por outro lado, a posição não influenciou a NEP avaliada com bocal. Portanto, o uso do bocal pode mitigar o efeito da posição que só foi observado pela NEP com máscara nasal. Recentemente, nós mostramos que a NEP e a Pcrit, ambas avaliadas com máscara nasal na posição supina, foram associadas de maneira similar com o componente anatômico da colapsabilidade da via aérea superior em pacientes sob investigação para AOS¹⁰¹. Nós estendemos esses resultados para a avaliação da NEP com bocal em ambas as posições sentada e supina. A NEP com bocal na posição sentada e a NEP com máscara nasal na posição supina se correlacionaram com a anatomia da via aérea superior. Por outro lado, não encontramos correlação entre a anatomia da via aérea superior com a NEP com bocal na posição supina. Também é interessante ressaltar que a NEP com máscara nasal na posição supina foi discretamente melhor correlacionada com anatomia do que o bocal (Tabela 3).

Este estudo tem limitações. O número de pacientes estudados (n=86) foi relativamente pequeno e algumas medidas foram realizadas somente em um subgrupo de pacientes. As informações obtidas pela NEP podem ser limitadas, pois a NEP é realizada durante a vigília enquanto a AOS ocorre durante o sono. Em contrapartida, nós avaliamos o comportamento do fluxo nos primeiros 0,2s da expiração e, portanto, antes da ativação da musculatura dilatadora da faringe¹⁰². Além disso, as correlações entre a anatomia da via aérea superior e a NEP com máscara nasal na posição supina foram similares às obtidas pela Pcrit¹⁰¹, um método bem estabelecido na literatura para medir o componente anatômico da AOS.

Finalmente, estudos futuros são necessários para mostrar que a NEP pode ser incorporada na prática clínica.

Um trabalho sobre estes dados foi enviado para publicação na revista Chest (Apêndice 1).

6.2 *Estudo 2*

Neste estudo, nós mostramos que a NEP está associada com o componente anatômico da colapsabilidade da via aérea superior em pacientes com suspeita de AOS. Primeiramente, tanto a NEP quanto a Pcrit foram significativamente piores em pacientes com AOS grave comparados com o restante da população (Tabela 5). Além disso, quando os pacientes foram divididos de acordo com a mediana da NEP, o grupo com pior colapsabilidade da via aérea superior era mais obeso, possuía maior circunferência do pescoço e pior anatomia incluindo aumento da área e volume da língua, aumento do palato mole e comprimento da faringe (Tabela 6). Finalmente, as correlações entre a NEP e a anatomia da via aérea superior foram similares às da Pcrit medida durante o sono (variação do r entre 0,5 e 0,7) (Tabela 7).

Existem características fenotípicas anatômicas e não anatômicas que contribuem para a fisiopatologia da AOS^{22, 103}. Pacientes com a anatomia da via aérea superior muito comprometida são menos prováveis de se beneficiarem de terapias alternativas ao CPAP, já que nesses casos, os componentes não anatômicos (instabilidade do controle ventilatório, função neuromuscular da via aérea superior e limiar de despertar) têm menos influência no colapso da via aérea superior. Em nosso estudo, pacientes com AOS grave possuíam maior área e volume da língua, maior comprimento da faringe e o hióide em posição mais caudal do que os pacientes sem AOS (Tabela 5). Estes resultados corroboram com outros estudos que mostraram que as dimensões da língua e o comprimento da faringe também contribuem para o aumento do risco de colapso da via aérea superior durante o sono^{27, 29, 30, 104, 105}. Além disso, a posição mais caudal do hióide é a anormalidade cefalométrica mais comum

entre os pacientes com AOS. A posição do hióide também possui uma relação direta com a gravidade da AOS^{25, 28}. A Pcrit é um método bem estabelecido capaz de prever o componente anatômico da AOS⁸⁸⁻⁹¹. Entretanto, a Pcrit é um exame complexo realizado durante o sono que requer pesquisadores experientes e é usada somente para pesquisa. Por outro lado, a NEP é uma técnica simples e não-invasiva realizada durante a vigília, não requer colaboração do paciente e dura aproximadamente 10 minutos. Um estudo mostrou uma associação entre a NEP e a área da faringe estimada pela faringometria acústica⁷⁶. Entretanto, o volume expirado da NEP foi expresso como valor absoluto, sem correção para o volume pulmonar e a anatomia da via aérea superior não foi avaliada. Apesar das diferenças metodológicas que ajudam a explicar a relativa baixa correlação entre a NEP e a Pcrit ($r=0,39$), nós mostramos que a NEP e a Pcrit foram associadas de maneira similar com os principais componentes anatômicos da via aérea superior relevantes para AOS, incluindo área da língua ($r=0,646$ e $r=0,585$), volume da língua ($r=0,565$ e $r=0,613$) e comprimento da faringe ($r=0,580$ e $r=0,611$), respectivamente.

A aplicação da NEP deve gerar um aumento do fluxo expiratório, portanto o volume expirado durante a aplicação da NEP deve ser maior do que durante a respiração normal. Em pacientes com AOS, o aumento de tecido mole ao redor da orofaringe aumenta a resistência ao fluxo durante a aplicação da NEP, causando uma queda no fluxo e, conseqüentemente, um volume expirado reduzido. A relação $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ representa o volume expirado a 0,2 s durante a respiração espontânea sobre o volume expirado a 0,2 s durante a aplicação da NEP. Quanto maior esta relação, mais colapsável é a via aérea superior. Não existe uma padronização para o tempo de aplicação da NEP, que pode variar do início ao final da expiração^{62, 72, 76, 81}.

Em nosso estudo, a NEP foi automaticamente aplicada na exata transição entre inspiração e expiração e nós analisamos o volume expirado durante os primeiros 0,2 s. Tantucci *et al.* mostrou que não houve ativação reflexa do genioglossos quando a NEP foi aplicada no início da expiração¹⁰². Portanto, em nosso estudo a NEP pode ser considerada uma avaliação passiva da colapsabilidade da via aérea superior, independente do recrutamento muscular reflexo ou voluntário. O método da NEP varia entre os estudos publicados. A maioria dos estudos aplicaram a NEP por meio de um bocal tanto na posição sentada quanto na posição supina^{66-68, 74, 76-78, 81}. Esta técnica foi adaptada de outros estudos que tinham por objetivo avaliar obstrução intratorácica^{62, 64, 65}. Entretanto, o uso do bocal exclui a região retropalatal, que é um local comum de obstrução durante o sono em pacientes com AOS²³. Além disso, é necessária uma abertura parcial da boca para o uso do bocal. Existe evidência de que a abertura da boca aumenta a colapsabilidade da via aérea superior¹⁰⁶. Em contraste aos estudos anteriores, em nosso estudo a NEP foi aplicada com uma máscara nasal na posição supina. Portanto, nosso método pode trazer informações mais relevantes para pacientes em investigação para AOS.

Este estudo possui várias limitações. A Pcrit foi avaliada durante o sono induzido com midazolam. Entretanto, nosso grupo mostrou previamente que a Pcrit determinada durante o sono induzido com doses baixas de midazolam foi similar à Pcrit determinada durante o sono natural⁹⁶. A NEP e a Pcrit foram realizadas em condições diferentes. A NEP foi avaliada durante a vigília enquanto a Pcrit foi avaliada durante o sono. O número de pacientes foi relativamente pequeno, estudos futuros são necessários para validar a NEP e os valores de $V_{0,2SB}/V_{0,2NEP}$ em um maior número de pacientes. Nós estudamos apenas adultos do sexo masculino para

evitar as diferenças da colapsabilidade da via aérea superior e da resposta aos eventos respiratórios entre os gêneros^{107, 108}. Portanto, nossos resultados não podem ser extrapolados para mulheres. Finalmente, como discutido anteriormente, não há uma padronização no método da NEP. Portanto, nossos resultados não podem ser extrapolados para outros métodos de aplicação e análise da NEP.

Este trabalho é pioneiro na avaliação da colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília comparada com fatores anatômicos da via aérea superior e foi aceito para publicação na revista *Journal of Clinical Sleep Medicine* (Apêndice 2).

7 CONCLUSÕES

7.1 Estudo 1

A interface e a posição influenciam a avaliação da colapsabilidade da via aérea superior pela NEP. O bocal aumenta a resistência e a colapsabilidade da via aérea superior. Além disso, o uso do bocal mitiga o efeito da posição sobre a colapsabilidade da via aérea superior, que foi maior na posição supina do que na sentada somente quando a NEP foi avaliada com máscara nasal.

7.2 Estudo 2

A aplicação da NEP durante a vigília com máscara nasal na posição supina se correlaciona com o componente anatômico da AOS de maneira similar à Pcrit.

Implicações

A maioria dos estudos que avaliaram a colapsabilidade da via aérea superior durante a vigília por meio da NEP foram realizados com bocal e portanto devem ser interpretados com cuidado, pois mostramos que a NEP avaliada com máscara nasal é diferente da NEP avaliada com bocal. A NEP avaliada com máscara nasal na posição supina se correlaciona com o componente anatômico da AOS de maneira similar à Pcrit. A NEP é um método simples e promissor para uso clínico que pode ser útil na seleção de pacientes com AOS para tratamentos alternativos ao CPAP.

8 *ANEXOS*

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

PROJETO DE PESQUISA

Título: COMPARAÇÃO DA AVALIAÇÃO DA COLAPSABILIDADE DA VIA AÉREA SUPERIOR ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PRESSÃO CRÍTICA DE FECHAMENTO E DO TESTE DE PRESSÃO NEGATIVA EXPIRATÓRIA EM INDIVÍDUOS NORMAIS E PORTADORES DE APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO

Pesquisador Responsável: Geraldo Lorenzi-Filho

Versão: 1

Pesquisador Executante: Raquel Pastrello Hirata

CAAE: 03787212.0.0000.0068

Finalidade Acadêmica: Doutorado

Instituição: HCFMUSP

Departamento: COMISSÃO CIENTÍFICA DO INCOR

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 9243

Número do Parecer: 80484

Data da Relatoria: 22/08/2012

Apresentação do Projeto: Estudo clínico, estudo observacional transversal que tem relevância clínica e apresenta-se bem escrito

Objetivo da Pesquisa: Trata-se de um projeto com o objetivo de comparar a colapsabilidade da via aérea superior através em portadores de apneia obstrutiva do sono e em sujeitos normais

Avaliação dos Riscos e Benefícios: O projeto não apresenta riscos e os benefícios são para a compreensão dos mecanismos que causam a oclusão das vias aéreas superiores e que beneficiará outros pacientes

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: Estudo clínico, estudo observacional transversal que tem relevância clínica e apresenta-se bem escrito.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Adequados

Recomendações: Aprovação

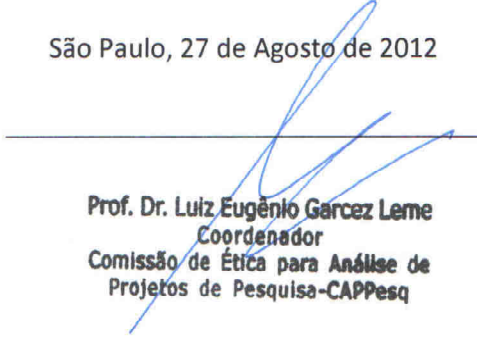
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Nenhuma

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

Andresa
COMISSÃO CIENTÍFICA
RECEBIDO
28/08/2012

São Paulo, 27 de Agosto de 2012


Prof. Dr. Luiz Eugênio Garcez Leme
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa-CAPPesq

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU
RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº
BAIRRO: CIDADE
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº
BAIRRO: CIDADE
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

**1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA “COMPARAÇÃO DA
AVALIAÇÃO DA COLAPSABILIDADE DA VIA AÉREA SUPERIOR
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PRESSÃO CRÍTICA DE FECHAMENTO E DO
TESTE DE PRESSÃO NEGATIVA EXPIRATÓRIA EM INDIVÍDUOS
NORMAIS E PORTADORES DE APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO”**

PESQUISADOR : Prof. Dr. Geraldo Lorenzi-Filho

CARGO/FUNÇÃO: Diretor do Laboratório do Sono

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: CRM 52063

UNIDADE DO HCFMUSP: Laboratório do Sono do Incor - Disciplina de Pneumologia.

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 3 anos.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

As informações a seguir estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo cujo objetivo é avaliar a colapsabilidade da via aérea superior através das técnicas de pressão crítica de fechamento (Pcrit) e teste da pressão negativa expiratória (NEP) em portadores de apneia obstrutiva do sono (AOS) e sujeitos normais. Caso concorde em participar do estudo, o(a) senhor(a) deve estar disponível por uma noite inteira, onde deverá dormir no Laboratório de Sono do InCor, assim como por uma parte do dia seguinte para realização dos testes.

O(a) senhor(a) fará os seguintes exames: **1. Polissonografia:** É caracterizada pela avaliação dos estágios do sono e vigília, respiração, função cardiovascular e movimentos corporais e será realizado por meio de polissonografia noturna completa, utilizando-se um sistema de registro das variáveis neurológicas e cardiorespiratórias. Será necessário que sejam colados adesivos ligados a fios na região da cabeça, uma cânula nasal e cintas no tórax e abdomen. Para a realização deste exame os pacientes deverão dormir uma noite toda no Laboratório do Sono do InCor. Durante a noite da realização do exame eles serão acompanhados por um técnico especializado em polissonografia e por um médico. Trata-se de um exame não invasivo e que não causa desconfortos aos pacientes. **2. Pressão Crítica de fechamento da faringe:** será realizado no mesmo local e com equipamento parecido, mas você utilizará uma máscara ao redor do nariz para respirar. No início do exame, após você adormecer, será realizado um exame para medir com qual facilidade sua garganta fecha. Este exame simula o que ocorre durante uma pausa na respiração durante o sono. Este exame é específico para este estudo e, portanto, experimental. Pode haver pequeno desconforto, pois será reduzida a pressão em sua garganta, o que pode fazer com que você desperte. Se você despertar, poderá respirar normalmente, sem qualquer desconforto. O risco para sua saúde é mínimo porque o teste é curto, realizado com acompanhamento contínuo do seu coração, de sua respiração e da oxigenação do sangue. **3. Espirometria:** é um teste simples, o qual o paciente será solicitado a soprar algumas vezes através de um tubo. Será realizado durante o dia, com o paciente sentado em posição confortável, por meio de um espirômetro, que é um equipamento que não causa dor ou desconforto algum ao paciente. Os testes acontecerão no Laboratório do Sono do InCor. **4. Pressão negativa expiratória:** será utilizado um equipamento semelhante a um espirômetro que é utilizado para a realização da espirometria. Os exames serão realizados com os sujeitos em posição sentada e deitada, sendo executados durante a respiração tranquila, com um clipe preso ao nariz para assegurar

que a respiração seja somente pela boca. O paciente deverá respirar através de um tubo colocado a boca e conectado a um equipamento que enviará uma pressão negativa. Serão utilizados filtros bacteriológicos para evitar a possível contaminação pelo fluxo de ar. Será colocada uma máscara na boca ligada a um aparelho e será pedido que respire normalmente. Trata-se de uma técnica não invasiva, de fácil aplicação e que requer o mínimo de cooperação do sujeito.

Ao início e final do estudo o(a) senhor(a) deverá responder questionários sobre seu sono, problemas de saúde passados e/ou atuais, medicamentos que usa normalmente, sobre o risco de cochilar durante o dia, realizar medidas do pescoço, abdômen, altura e peso. Além disso, se existir alguém que durma no mesmo quarto, esta pessoa deverá responder um questionário sobre seu ronco e a qualidade de sono dela.

A utilização destas técnicas na detecção da limitação ao fluxo expiratório na via aérea superior poderá permitir a identificação de sujeitos portadores de apneia do sono e sua gravidade. A realização desta pesquisa permitirá o uso de novas técnicas de diagnóstico para os distúrbios respiratórios do sono, contribuindo em muito para o desenvolvimento científico e tecnológico de nosso país. Trata-se de instituições de pesquisa e de pesquisadores renomadas em todo o mundo com uma expressiva produção científica o que permitirá um intercâmbio de experiências e aquisição de novos conhecimentos e metodologias. Para a realização da presente pesquisa não existem métodos alternativos. Todos os exames propostos são consagrados na literatura e fazem parte da rotina de avaliação clínica para pacientes que apresentam estas disfunções.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Geraldo Lorenzi-Filho que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 – 7º. Andar (Laboratório do Sono). Telefone(s) 2661-5486. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

Os pesquisadores asseguram a privacidade dos voluntários quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa, sendo divulgados única e exclusivamente com finalidade científica sem a identificação dos participantes. O(a) senhor(a) tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores. O

voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer ônus e ou obrigação.

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

Este termo de consentimento livre e esclarecido foi elaborado de acordo com as diretrizes e normas regulamentadas de pesquisa envolvendo seres humanos atendendo à Resolução n.º 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério de Saúde – Brasília – DF.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “**COMPARAÇÃO DA AVALIAÇÃO DA COLAPSABILIDADE DA VIA AÉREA SUPERIOR ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PRESSÃO CRÍTICA DE FECHAMENTO E DO TESTE DE PRESSÃO NEGATIVA EXPIRATÓRIA EM INDIVÍDUOS NORMAIS E PORTADORES DE APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO**”.

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

Assinatura do paciente/representante legal

Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

ANEXO C - Escala de Sonolência de Epworth



LABORATÓRIO DO SONO
Instituto do Coração – InCor / HCFMUSP
ESCALA DE EPWORTH



NOME COMPLETO:	
IDENTIFICAÇÃO:	DATA AVALIAÇÃO: / /

Qual a probabilidade de você cochilar ou adormecer nas situações apresentadas a seguir? Ao responder, procure separar da condição de sentir-se simplesmente cansado.

Isso se refere ao seu estilo de vida normal recente. Mesmo que você não tenha feito algumas dessas coisas recentemente, tente imaginar como elas poderiam lhe afetar.

Utilize a escala abaixo para escolher a alternativa mais apropriada para cada situação.

0 – Nenhuma chance (de cochilar)

1 – Pequena chance (de cochilar)

2 – Moderada chance (de cochilar)

3 – Alta chance (de cochilar)

Sentado e lendo	0	1	2	3
Assistindo TV	0	1	2	3
Sentado em lugar público (sala de espera, cinema, teatro, reunião)	0	1	2	3
Como passageiro de um carro, ônibus ou trem, andando uma hora sem parar	0	1	2	3
Deitado para descansar à tarde, quando as circunstâncias permitem	0	1	2	3
Sentado e conversando com alguém	0	1	2	3
Sentado calmamente após o almoço, sem ter bebido álcool	0	1	2	3
Dirigindo um carro, enquanto pára por alguns minutos ao pegar um trânsito intenso	0	1	2	3

ANEXO D - Questionário Clínico de Berlim



LABORATÓRIO DO SONO
Instituto do Coração – InCor / HCFMUSP
QUESTIONARIO CLÍNICO DE BERLIM



NOME COMPLETO:	
IDENTIFICAÇÃO:	DATA AVALIAÇÃO: / /

CATEGORIA 1**1. Você ronca?**

- Sim
 Não
 Não sei

2. Seu ronco é:

- Pouco mais alto que sua respiração
 Mais alto do que falando
 Muito alto que pode ser ouvido à distância

3. Com que frequência você ronca?

- Praticamente todos os dias
 3 a 4 vezes por semana
 1 a 2 vezes por semana
 Nunca ou praticamente nunca

4. Seu ronco incomoda alguém?

- Sim
 Não sei

5. Alguém notou que você pára de respirar enquanto dorme?

- Praticamente todos os dias
 3 a 4 vezes por semana
 1 a 2 vezes por semana
 Nunca ou praticamente nunca

CATEGORIA 2**6. Quantas vezes você se sente cansado ou com fadiga depois de acordar?**

- Praticamente todos os dias
 3 a 4 vezes por semana
 1 a 2 vezes por semana
 Nunca ou praticamente nunca

7. Quando você está acordado se sente cansado, fadigado ou não se sente bem?

- Praticamente todos os dias
 3 a 4 vezes por semana
 1 a 2 vezes por semana
 Nunca ou praticamente nunca

8. Alguma vez você cochilou ou caiu no sono enquanto dirigia?

- Sim
 Não

CATEGORIA 3**9. Você tem pressão alta e/ou toma medicamento para hipertensão?**

- Sim
 Não
 Não sei

10. IMC: _____ Kg/m²

9 REFERÊNCIAS

1. AASM. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep*. 1999 Aug 1;22(5):667-89.
2. Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Figueiredo AC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Sep 1;172(5):613-8.
3. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agusti AG. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet*. 2005 Mar 19-25;365(9464):1046-53.
4. Nieto FJ, Young TB, Lind BK, Shahar E, Samet JM, Redline S, et al. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. Sleep Heart Health Study. *JAMA*. 2000 Apr 12;283(14):1829-36.
5. Kim HC, Young T, Matthews CG, Weber SM, Woodward AR, Palta M. Sleep-disordered breathing and neuropsychological deficits. A population-based study. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Dec;156(6):1813-9.
6. Yaggi HK, Concato J, Kernan WN, Lichtman JH, Brass LM, Mohsenin V. Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death. *N Engl J Med*. 2005 Nov 10;353(19):2034-41.
7. Flemons WW, Tsai W. Quality of life consequences of sleep-disordered breathing. *J Allergy Clin Immunol*. 1997 Feb;99(2):S750-6.
8. Otake K, Delaive K, Walld R, Manfreda J, Kryger MH. Cardiovascular medication use in patients with undiagnosed obstructive sleep apnoea. *Thorax*. 2002 May;57(5):417-22.
9. Smith R, Ronald J, Delaive K, Walld R, Manfreda J, Kryger MH. What are obstructive sleep apnea patients being treated for prior to this diagnosis? *Chest*. 2002 Jan;121(1):164-72.
10. Liistro G, Stanescu DC, Veriter C, Rodenstein DO, Aubert-Tulkens G. Pattern of snoring in obstructive sleep apnea patients and in heavy snorers. *Sleep*. 1991 Dec;14(6):517-25.
11. Epstein LJ, Kristo D, Strollo PJ, Jr., Friedman N, Malhotra A, Patil SP, et al. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *J Clin Sleep Med*. 2009 Jun 15;5(3):263-76.
12. Kushida CA, Efron B, Guilleminault C. A predictive morphometric model for the obstructive sleep apnea syndrome. *Ann Intern Med*. 1997 Oct 15;127(8 Pt 1):581-7.

13. Young T, Skatrud J, Peppard PE. Risk factors for obstructive sleep apnea in adults. *JAMA*. 2004 Apr 28;291(16):2013-6.
14. Bixler EO, Vgontzas AN, Lin HM, Ten Have T, Rein J, Vela-Bueno A, et al. Prevalence of sleep-disordered breathing in women: effects of gender. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Mar;163(3 Pt 1):608-13.
15. Strohl KP, Redline S. Recognition of obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Aug;154(2 Pt 1):279-89.
16. 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 Apr 29;328(17):1230-5.
17. 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 Jan;157(1):144-8.
18. Friedman M, Tanyeri H, La Rosa M, Landsberg R, Vaidyanathan K, Pieri S, et al. Clinical predictors of obstructive sleep apnea. *Laryngoscope*. 1999 Dec;109(12):1901-7.
19. Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE, Harding SM, Lloyd RM, Marcus CL, et al. American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the scoring of sleep and associated events: Rules, Terminology and Technical Specifications, Version 2.2.: Darien, IL: American Academy of Sleep Medicine; 2015.
20. Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LR. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Med*. 2010 May;11(5):441-6.
21. Heinzer R, Vat S, Marques-Vidal P, Marti-Soler H, Andries D, Tobback N, et al. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med*. 2015 Apr;3(4):310-8.
22. Eckert DJ, White DP, Jordan AS, Malhotra A, Wellman A. Defining phenotypic causes of obstructive sleep apnea. Identification of novel therapeutic targets. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Oct 15;188(8):996-1004.
23. Morrison DL, Launois SH, Isono S, Feroah TR, Whitelaw WA, Remmers JE. Pharyngeal narrowing and closing pressures in patients with obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis*. 1993 Sep;148(3):606-11.
24. Stuck BA, Maurer JT. Airway evaluation in obstructive sleep apnea. *Sleep Med Rev*. 2008 Dec;12(6):411-36.

25. Barkdull GC, Kohl CA, Patel M, Davidson TM. Computed tomography imaging of patients with obstructive sleep apnea. *Laryngoscope*. 2008 Aug;118(8):1486-92.
26. Schwab RJ, Gupta KB, Gefer WB, Metzger LJ, Hoffman EA, Pack AI. Upper airway and soft tissue anatomy in normal subjects and patients with sleep-disordered breathing. Significance of the lateral pharyngeal walls. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 Nov;152(5 Pt 1):1673-89.
27. Abramson Z, Susarla S, August M, Troulis M, Kaban L. Three-dimensional computed tomographic analysis of airway anatomy in patients with obstructive sleep apnea. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010 Feb;68(2):354-62.
28. Cistulli PA. Craniofacial abnormalities in obstructive sleep apnoea: implications for treatment. *Respirology*. 1996 Sep;1(3):167-74.
29. Schwab RJ, Pasirstein M, Pierson R, Mackley A, Hachadoorian R, Arens R, et al. Identification of upper airway anatomic risk factors for obstructive sleep apnea with volumetric magnetic resonance imaging. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Sep 1;168(5):522-30.
30. Tsuiki S, Isono S, Ishikawa T, Yamashiro Y, Tatsumi K, Nishino T. Anatomical balance of the upper airway and obstructive sleep apnea. *Anesthesiology*. 2008 Jun;108(6):1009-15.
31. Kirkness JP, Madronio M, Stavrinou R, Wheatley JR, Amis TC. Relationship between surface tension of upper airway lining liquid and upper airway collapsibility during sleep in obstructive sleep apnea hypopnea syndrome. *J Appl Physiol (1985)*. 2003 Nov;95(5):1761-6.
32. Isono S, Tanaka A, Tagaito Y, Ishikawa T, Nishino T. Influences of head positions and bite opening on collapsibility of the passive pharynx. *J Appl Physiol (1985)*. 2004 Jul;97(1):339-46.
33. Tagaito Y, Isono S, Remmers JE, Tanaka A, Nishino T. Lung volume and collapsibility of the passive pharynx in patients with sleep-disordered breathing. *J Appl Physiol (1985)*. 2007 Oct;103(4):1379-85.
34. Van de Graaff WB. Thoracic influence on upper airway patency. *J Appl Physiol (1985)*. 1988 Nov;65(5):2124-31.
35. Ong JS, Touyz G, Tanner S, Hillman DR, Eastwood PR, Walsh JH. Variability of human upper airway collapsibility during sleep and the influence of body posture and sleep stage. *J Sleep Res*. 2011 Dec;20(4):533-7.
36. Isono S, Tanaka A, Nishino T. Lateral position decreases collapsibility of the passive pharynx in patients with obstructive sleep apnea. *Anesthesiology*. 2002 Oct;97(4):780-5.

37. Mezzanotte WS, Tangel DJ, White DP. Waking genioglossal electromyogram in sleep apnea patients versus normal controls (a neuromuscular compensatory mechanism). *J Clin Invest*. 1992 May;89(5):1571-9.
38. Mezzanotte WS, Tangel DJ, White DP. Influence of sleep onset on upper-airway muscle activity in apnea patients versus normal controls. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Jun;153(6 Pt 1):1880-7.
39. Worsnop C, Kay A, Pierce R, Kim Y, Trinder J. Activity of respiratory pump and upper airway muscles during sleep onset. *J Appl Physiol* (1985). 1998 Sep;85(3):908-20.
40. Carley DW, Applebaum R, Basner RC, Onal E, Lopata M. Respiratory and arousal responses to acoustic stimulation. *Chest*. 1997 Dec;112(6):1567-71.
41. Eckert DJ, Younes MK. Arousal from sleep: implications for obstructive sleep apnea pathogenesis and treatment. *J Appl Physiol* (1985). 2014 Feb 1;116(3):302-13.
42. White DP, Younes MK. Obstructive sleep apnea. *Compr Physiol*. 2012 Oct;2(4):2541-94.
43. Younes M. Role of arousals in the pathogenesis of obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Mar 1;169(5):623-33.
44. Hudgel DW, Gordon EA, Thanakitcharu S, Bruce EN. Instability of ventilatory control in patients with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Oct;158(4):1142-9.
45. Badr MS, Toiber F, Skatrud JB, Dempsey J. Pharyngeal narrowing/occlusion during central sleep apnea. *J Appl Physiol* (1985). 1995 May;78(5):1806-15.
46. Tuomilehto HP, Seppa JM, Partinen MM, Peltonen M, Gylling H, Tuomilehto JO, et al. Lifestyle intervention with weight reduction: first-line treatment in mild obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Feb 15;179(4):320-7.
47. Gagnadoux F, Fleury B, Vielle B, Petelle B, Meslier N, N'Guyen XL, et al. Titrated mandibular advancement versus positive airway pressure for sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2009 Oct;34(4):914-20.
48. Lim J, Lasserson TJ, Fleetham J, Wright J. Oral appliances for obstructive sleep apnoea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006(1):CD004435.
49. Aurora RN, Casey KR, Kristo D, Auerbach S, Bista SR, Chowdhuri S, et al. Practice parameters for the surgical modifications of the upper airway for obstructive sleep apnea in adults. *Sleep*. 2010 Oct;33(10):1408-13.
50. Guimaraes KC, Drager LF, Genta PR, Marcondes BF, Lorenzi-Filho G. Effects of oropharyngeal exercises on patients with moderate obstructive

- sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 May 15;179(10):962-6.
51. Ieto V, Kayamori F, Montes MI, Hirata RP, Gregorio MG, Alencar AM, et al. Effects of Oropharyngeal Exercises on Snoring: A Randomized Trial. *Chest*. 2015 Sep;148(3):683-91.
 52. Certal VF, Zaghi S, Riaz M, Vieira AS, Pinheiro CT, Kushida C, et al. Hypoglossal nerve stimulation in the treatment of obstructive sleep apnea: A systematic review and meta-analysis. *Laryngoscope*. 2015 May;125(5):1254-64.
 53. Friedman M, Jacobowitz O, Hwang MS, Bergler W, Fietze I, Rombaux P, et al. Targeted hypoglossal nerve stimulation for the treatment of obstructive sleep apnea: Six-month results. *Laryngoscope*. 2016 Mar 24.
 54. Eckert DJ, Owens RL, Kehlmann GB, Wellman A, Rahangdale S, Yim-Yeh S, et al. Eszopiclone increases the respiratory arousal threshold and lowers the apnoea/hypopnoea index in obstructive sleep apnoea patients with a low arousal threshold. *Clin Sci (Lond)*. 2011 Jun;120(12):505-14.
 55. Heinzer RC, White DP, Jordan AS, Lo YL, Dover L, Stevenson K, et al. Trazodone increases arousal threshold in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2008 Jun;31(6):1308-12.
 56. Edwards BA, Sands SA, Eckert DJ, White DP, Butler JP, Owens RL, et al. Acetazolamide improves loop gain but not the other physiological traits causing obstructive sleep apnoea. *J Physiol*. 2012 Mar 1;590(5):1199-211.
 57. Wellman A, Malhotra A, Jordan AS, Stevenson KE, Gautam S, White DP. Effect of oxygen in obstructive sleep apnea: role of loop gain. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008 Jul 31;162(2):144-51.
 58. Kushida CA, Littner MR, Hirshkowitz M, Morgenthaler TI, Alessi CA, Bailey D, et al. Practice parameters for the use of continuous and bilevel positive airway pressure devices to treat adult patients with sleep-related breathing disorders. *Sleep*. 2006 Mar;29(3):375-80.
 59. Liu L, Cao Q, Guo Z, Dai Q. Continuous Positive Airway Pressure in Patients With Obstructive Sleep Apnea and Resistant Hypertension: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2016 Feb;18(2):153-8.
 60. Engleman HM, Wild MR. Improving CPAP use by patients with the sleep apnoea/hypopnoea syndrome (SAHS). *Sleep Med Rev*. 2003 Feb;7(1):81-99.
 61. Sawyer AM, Gooneratne NS, Marcus CL, Ofer D, Richards KC, Weaver TE. A systematic review of CPAP adherence across age groups: clinical and empiric insights for developing CPAP adherence interventions. *Sleep Med Rev*. 2011 Dec;15(6):343-56.

62. Valta P, Corbeil C, Lavoie A, Campodonico R, Koulouris N, Chasse M, et al. Detection of expiratory flow limitation during mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 Nov;150(5 Pt 1):1311-7.
63. Baydur A, Wilkinson L, Mehdian R, Bains B, Milic-Emili J. Extrathoracic expiratory flow limitation in obesity and obstructive and restrictive disorders: effects of increasing negative expiratory pressure. *Chest*. 2004 Jan;125(1):98-105.
64. Koulouris NG, Dimopoulou I, Valta P, Finkelstein R, Cosio MG, Milic-Emili J. Detection of expiratory flow limitation during exercise in COPD patients. *J Appl Physiol*. 1997 Mar;82(3):723-31.
65. Koulouris NG, Valta P, Lavoie A, Corbeil C, Chasse M, Braidy J, et al. A simple method to detect expiratory flow limitation during spontaneous breathing. *Eur Respir J*. 1995 Feb;8(2):306-13.
66. Liistro G, Veriter C, Dury M, Aubert G, Stanescu D. Expiratory flow limitation in awake sleep-disordered breathing subjects. *Eur Respir J*. 1999 Jul;14(1):185-90.
67. Van Meerhaeghe A, Delpire P, Stenuit P, Kerkhofs M. Operating characteristics of the negative expiratory pressure technique in predicting obstructive sleep apnoea syndrome in snoring patients. *Thorax*. 2004 Oct;59(10):883-8.
68. Verin E, Tardif C, Portier F, Similowski T, Pasquis P, Muir JF. Evidence for expiratory flow limitation of extrathoracic origin in patients with obstructive sleep apnoea. *Thorax*. 2002 May;57(5):423-8.
69. Baydur A, Vigen C, Chen Z. Expiratory Flow Limitation in Obstructive Sleep Apnea and COPD: A Quantitative Method to Detect Pattern Differences Using the Negative Expiratory Pressure Technique. *Open Respir Med J*. 2012;6:111-20.
70. Corda L, Redolfi S, Montemurro LT, La Piana GE, Bertella E, Tantucci C. Short- and long-term effects of CPAP on upper airway anatomy and collapsibility in OSAH. *Sleep Breath*. 2009 May;13(2):187-93.
71. Ferretti A, Giampiccolo P, Redolfi S, Mondini S, Cirignotta F, Cavalli A, et al. Upper airway dynamics during negative expiratory pressure in apneic and non-apneic awake snorers. *Respir Res*. 2006;7:54.
72. Grippo A, Carrai R, Romagnoli I, Pinto F, Fanfulla F, Sanna A. Blunted respiratory-related evoked potential in awake obstructive sleep apnoea subjects: a NEP technique study. *Clin Neurophysiol*. 2011 Aug;122(8):1562-8.

73. Guillot M, Costes F, Sforza E, Maudoux D, Bertoletti L, Barthelemy JC, et al. Is tidal expiratory flow limitation predictive of sleep-related disorders in the elderly? *Eur Respir J*. 2010 Oct;36(4):842-8.
74. Insalaco G, Romano S, Marrone O, Salvaggio A, Bonsignore G. A new method of negative expiratory pressure test analysis detecting upper airway flow limitation to reveal obstructive sleep apnea. *Chest*. 2005 Oct;128(4):2159-65.
75. Montemurro LT, Bettinzoli M, Corda L, Braghini A, Tantucci C. Relationship between critical pressure and volume exhaled during negative pressure in awake subjects with sleep-disordered breathing. *Chest*. 2010 Jun;137(6):1304-9.
76. Montemurro LT, Bettinzoli M, Corda L, Redolfi S, Novali M, Braghini A, et al. Influence of upper airway size on volume exhaled under negative pressure during evaluation of upper airway collapsibility. *Sleep Breath*. 2011 Mar 23.
77. Romano S, Salvaggio A, Hirata RP, Lo Bue A, Picciolo S, Oliveira LVF, et al. Upper airway collapsibility evaluated by negative expiratory pressure test in severe obstructive sleep apnea. *Clinics*. 2011;66(5):6.
78. Romano S, Salvaggio A, Lo Bue A, Marrone O, Insalaco G. A negative expiratory pressure test during wakefulness for evaluating the risk of obstructive sleep apnea in patients referred for sleep studies. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(11):1887-94.
79. Rouatbi S, Tabka Z, Dogui M, Abdelghani A, Guenard H. Negative expiratory pressure (NEP) parameters can predict obstructive sleep apnea syndrome in snoring patients. *Lung*. 2009 Jan-Feb;187(1):23-8.
80. Tamisier R, Wuyam B, Nicolle I, Pepin JL, Orliaguet O, Perrin CP, et al. Awake flow limitation with negative expiratory pressure in sleep disordered breathing. *Sleep Med*. 2005 May;6(3):205-13.
81. Tantucci C, Duguet A, Ferretti A, Mehiri S, Arnulf I, Zelter M, et al. Effect of negative expiratory pressure on respiratory system flow resistance in awake snorers and nonsnorers. *J Appl Physiol (1985)*. 1999 Sep;87(3):969-76.
82. Fitzpatrick MF, McLean H, Urton AM, Tan A, O'Donnell D, Driver HS. Effect of nasal or oral breathing route on upper airway resistance during sleep. *Eur Respir J*. 2003 Nov;22(5):827-32.
83. Lee SH, Choi JH, Shin C, Lee HM, Kwon SY. How does open-mouth breathing influence upper airway anatomy? *Laryngoscope*. 2007 Jun;117(6):1102-6.
84. Bachour A, Maasilta P. Mouth breathing compromises adherence to nasal continuous positive airway pressure therapy. *Chest*. 2004 Oct;126(4):1248-54.

85. Andrade RG, Piccin VS, Nascimento JA, Viana FM, Genta PR, Lorenzi-Filho G. Impact of the type of mask on the effectiveness of and adherence to continuous positive airway pressure treatment for obstructive sleep apnea. *J Bras Pneumol*. 2014 Nov-Dec;40(6):658-68.
86. Gleadhill IC, Schwartz AR, Schubert N, Wise RA, Permutt S, Smith PL. Upper airway collapsibility in snorers and in patients with obstructive hypopnea and apnea. *Am Rev Respir Dis*. 1991 Jun;143(6):1300-3.
87. Gold AR, Marcus CL, Dipalo F, Gold MS. Upper airway collapsibility during sleep in upper airway resistance syndrome. *Chest*. 2002 May;121(5):1531-40.
88. Genta PR, Schorr F, Eckert DJ, Gebrim E, Kayamori F, Moriya HT, et al. Upper airway collapsibility is associated with obesity and hyoid position. *Sleep*. 2014 Oct;37(10):1673-8.
89. Schorr F, Kayamori F, Hirata RP, Danzi-Soares NJ, Gebrim EM, Moriya HT, et al. Different Craniofacial Characteristics Predict Upper Airway Collapsibility in Japanese-Brazilian and White Men. *Chest*. 2015 Mar;149(3):737-46.
90. Sforza E, Bacon W, Weiss T, Thibault A, Petiau C, Krieger J. Upper airway collapsibility and cephalometric variables in patients with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Feb;161(2 Pt 1):347-52.
91. Watanabe T, Isono S, Tanaka A, Tanzawa H, Nishino T. Contribution of body habitus and craniofacial characteristics to segmental closing pressures of the passive pharynx in patients with sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Jan 15;165(2):260-5.
92. Netzer NC, Stoohs RA, Netzer CM, Clark K, Strohl KP. Using the Berlin Questionnaire to identify patients at risk for the sleep apnea syndrome. *Ann Intern Med*. 1999 Oct 5;131(7):485-91.
93. Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*. 1991 Dec;14(6):540-5.
94. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005 Aug;26(2):319-38.
95. Pereira CAC. II Consenso Brasileiro de Espirometria. *J Pneumol*. 2002;28(supl3):S1-S82.
96. Genta PR, Eckert DJ, Gregorio MG, Danzi NJ, Moriya HT, Malhotra A, et al. Critical closing pressure during midazolam-induced sleep. *J Appl Physiol*. 2011 Nov;111(5):1315-22.
97. Gold AR, Schwartz AR. The pharyngeal critical pressure. The whys and hows of using nasal continuous positive airway pressure diagnostically. *Chest*. 1996 Oct;110(4):1077-88.

98. Andrade RG, Madeiro F, Piccin VS, Moriya HT, Schorr F, Sardinha PS, et al. Impact of acute changes in CPAP flow route in sleep apnea treatment. *Chest*. 2016 Apr 28.
99. McEvoy RD, Sharp DJ, Thornton AT. The effects of posture on obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis*. 1986 Apr;133(4):662-6.
100. Oksenberg A, Khamaysi I, Silverberg DS, Tarasiuk A. Association of body position with severity of apneic events in patients with severe nonpositional obstructive sleep apnea. *Chest*. 2000 Oct;118(4):1018-24.
101. Hirata RP, Kayamori F, Schorr F, Moriya HT, Romano S, Insalaco G, et al. Influence of interface and position on upper airway collapsibility assessed by negative expiratory pressure. *Journal of Clinical Sleep Medicine*. 2016;accepted for publication.
102. Tantucci C, Mehiri S, Duguet A, Similowski T, Arnulf I, Zelter M, et al. Application of negative expiratory pressure during expiration and activity of genioglossus in humans. *J Appl Physiol* (1985). 1998 Mar;84(3):1076-82.
103. Owens RL, Edwards BA, Eckert DJ, Jordan AS, Sands SA, Malhotra A, et al. An Integrative Model of Physiological Traits Can Be Used to Predict Obstructive Sleep Apnea and Response to Non Positive Airway Pressure Therapy. *Sleep*. 2014 Nov 9.
104. Segal Y, Malhotra A, Pillar G. Upper airway length may be associated with the severity of obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath*. 2008 Nov;12(4):311-6.
105. Sutherland K, Lee RW, Phillips CL, Dungan G, Yee BJ, Magnussen JS, et al. Effect of weight loss on upper airway size and facial fat in men with obstructive sleep apnoea. *Thorax*. 2011 Sep;66(9):797-803.
106. Meurice JC, Marc I, Carrier G, Series F. Effects of mouth opening on upper airway collapsibility in normal sleeping subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Jan;153(1):255-9.
107. Chin CH, Kirkness JP, Patil SP, McGinley BM, Smith PL, Schwartz AR, et al. Compensatory responses to upper airway obstruction in obese apneic men and women. *J Appl Physiol* (1985). 2012 Feb;112(3):403-10.
108. Kirkness JP, Schwartz AR, Schneider H, Punjabi NM, Maly JJ, Laffan AM, et al. Contribution of male sex, age, and obesity to mechanical instability of the upper airway during sleep. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Jun;104(6):1618-24.

10 APÊNDICES

Apêndice 1. Artigo referente ao *Estudo 1*, enviado para publicação na Revista Chest



If there is Online Only content that cannot be converted to a Word processing format, you may have to click the Supplemental Files icon on the menu bar in your Reviewer Center to access.

Influence of interface and position on upper airway collapsibility assessed by negative expiratory pressure

Journal:	<i>CHEST</i>
Manuscript ID	CHEST-16-1404
Article Type:	Original Research
Date Submitted by the Author:	13-Jun-2016
Complete List of Authors:	Hirata, Raquel; University of Sao Paulo, Sleep Laboratory, Pulmonary Division, Heart Institute (InCor) Kayamori, Fabiane; University of São Paulo, Sleep Laboratory, Pulmonary Division SCHORR, FABIOLA; University of São Paulo School of Medicine, Sleep Laboratory, Pulmonary Division Moriya, Henrique; Escola Politécnica, University of São Paulo, Biomedical Engineering Laboratory Romano, Salvatore; National Research Council of Italy, Institute of Biomedicine and Molecular Immunology "A. Monroy" ; IBIM CNR Insalaco, Giuseppe; National Research Council of Italy, Institute of Biomedicine and Molecular Immunology "A. Monroy" ; National Research Council of Italy, Gebrim, Eloisa; University of São Paulo School of Medicine, Radiology Institute; School of Medicine University of São Paulo, Radiology Oliveira, Luis Vicente; Nove de Julho University (UNINOVE), Rehabilitation Sciences Master's and Doctoral degree program Genta, Pedro; University of São Paulo, Sleep Laboratory, Pulmonary Division, Heart Institute (InCor) Lorenzi-Filho, Geraldo; University of São Paulo, Sleep Laboratory, Pulmonary Division, Heart Institute (InCor)
Keywords:	OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA, pharynx, anatomy, pathophysiology, supine position

SCHOLARONE™
Manuscripts

Title page

Word count: text - 2500 (2500 max) / abstract - 243 (250 max)

Influence of interface and position on upper airway collapsibility assessed by negative expiratory pressure.

Short Title

Interface and position influence NEP evaluation**Authors**

Raquel P. Hirata, MSc¹; Fabiane Kayamori, SLP¹; Fabiola Schorr MD¹; Henrique Takachi Moriya, PhD²; Salvatore Romano, MSc³; Giuseppe Insalaco, MD³; Eloisa Gebrim, MD⁴; Luis Vicente Franco de Oliveira, PhD⁵; Pedro R. Genta, PhD¹; Geraldo Lorenzi-Filho, PhD¹.

Institutional Affiliations

¹ Sleep Laboratory, Pulmonary Division, Heart Institute (InCor), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil.

² Biomedical Engineering Laboratory, Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, Brazil.

³ Institute of Biomedicine and Molecular Immunology A. Monroy, Italian National Research Council, Palermo, Italy.

⁴ Radiology Institute (InRad), Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil.

⁵ Rehabilitation Sciences Master and Doctoral Program, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil.

Corresponding Author Information: Geraldo Lorenzi-Filho. Sleep Laboratory, Heart Institute (InCor) - Avenida Doutor Eneas de Carvalho Aguiar, 44, 8º andar, bloco I. CEP 05403-900. Sao Paulo, SP, Brazil. E-mail: geraldo.lorenzi@gmail.com.

Conflict of Interest Statement

All the authors have reported that there are no conflicts of interest with any companies or organizations discussed in this article.

Funding Information

This study was supported by Sao Paulo Research Foundation (FAPESP), grant numbers: 2012/20743-5 and 2011/12120-5.

Notation of prior abstract publication/presentation

This work has been presented in a Poster Discussion Session at the 14th International Symposium on Sleep and Breathing, in October 26th 2015, Porto de Galinhas, Pernambuco, Brazil.

Abbreviations list

OSA - Obstructive sleep apnea

CPAP - Continuous positive airway pressure

Pcrit - Passive pharyngeal critical closing pressure

NEP - Negative expiratory pressure

COPD - Chronic obstructive pulmonary disease

FEV₁/FVC - Ratio between forced expiratory volume in one second and forced vital capacity

PSG - Polysomnography

AHI - Apnea-hypopnea index

CT - Computed tomography

MPH - Mandibular plane to hyoid distance

V_{0.2} - Volume exhaled at 0.2s

V_{0.2SB}/V_{0.2NEP} - Ratio between exhaled volume at 0.2s during stable breathing and volume exhaled at 0.2s during NEP application

R_{0.2} - Expiratory resistance at 0.2s during NEP application

GEE - Generalized estimating equations

BMI - Body-mass index

SpO₂ - Oxyhemoglobin saturation

T SpO₂ <90% - Time spent with oxyhemoglobin saturation below 90%

MP - Mandibular plane

PNS - Posterior nasal spine

Abstract

Background: Negative expiratory pressure (NEP) is a simple technique for the evaluation of upper airway collapsibility in patients with obstructive sleep apnea (OSA). Most studies evaluated NEP using a mouthpiece that may exclude the cephalic portion of the upper airway. We hypothesize that NEP determination is influenced by interface and position. **Methods:** We evaluated patients with suspected OSA using polysomnography, NEP (-5cmH₂O in sitting and supine position with mouthpiece and nasal mask). A subgroup also underwent computed tomography (CT) of the upper airway. **Results:** We studied a total of 86 subjects (72 male, age: 46±12 yrs, body mass index: 30.0±4.4 kg/m², neck circumference: 40.0±3.5 cm, AHI: 32.9±26.4, range 0.5 to 122.5 events/hour). NEP was influenced by interface and position (p=0.007) and upper airway was more collapsible with mouthpiece than with nasal mask in sitting position (p=0.001). Position influenced NEP and was worse in supine only when evaluated by nasal mask. Expiratory resistance (R_{0.2}) at 0.2s during NEP was significantly higher and independent of position with mouthpiece than with nasal mask (20.7 cmH₂O/L.s⁻¹ vs 8.6 cmH₂O/L.s⁻¹ respectively, p=0.018). NEP evaluated with nasal mask in supine position and with mouthpiece in sitting position, but not when evaluated with mouthpiece in supine position, were correlated with upper airway anatomical measurements including tongue dimensions and pharyngeal length. **Conclusions:** Interface and position influence NEP. NEP evaluated with nasal mask in supine position may convey more relevant information for patients under investigation for OSA than when evaluated with mouthpiece.

Keywords: obstructive sleep apnea, pharynx, anatomy, pathophysiology, supine position.

Introduction

Obstructive sleep apnea (OSA) is a common sleep disorder characterized by recurrent collapse of the upper airway.¹ The pathogenesis of OSA is complex and depends on several factors including upper airway anatomy, ventilatory control instability, upper airway neuromuscular function and arousal threshold.^{2,3} There is a growing interest to systematically study the components of OSA pathogenesis in order to individualize therapy. Upper airway anatomy is the most important OSA phenotypic trait and a key factor. Patients with a significant anatomical compromise may be only properly treated with continuous positive airway pressure (CPAP).² The passive pharyngeal critical closing pressure (Pcrit) is the gold standard method to assess the anatomical component of OSA.⁴ However, Pcrit determination is a laborious method that is only used for research purposes and therefore difficult to be incorporated in clinical practice.

Negative expiratory pressure (NEP) is a measurement of upper airway collapsibility performed during wakefulness. NEP has been used as a screening method for OSA, and has been shown to be able to differentiate normal subjects from snorers and OSA subjects.⁵⁻⁹ Because NEP is applied at the early onset of expiration, it avoids the inspiratory activation of pharyngeal dilators.¹⁰ We have recently shown that NEP applied using a nasal mask in the supine position correlates with upper airway anatomy¹¹. Therefore, NEP is an attractive method to determine the anatomical contribution to OSA. However, the method used for NEP application varies among published studies. NEP was initially described to assess expiratory flow limitation among chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients.^{12,13} In order to reduce the interference of the upper airway, a mouthpiece has been used to study expiratory flow limitation in COPD patients. All studies that evaluated NEP in adults with suspected OSA used a mouthpiece either while sitting or supine position.^{5-9,14-24} The use of a mouthpiece requires mouth opening that imposes a change in the position of the tongue and mandible, that may increase upper airway collapsibility. In contrast, Pcrit is measured in the supine position with a nasal mask, that may better capture the whole upper airway dynamics associated with OSA.

The present study was designed to evaluate the impact of interface (mouthpiece versus nasal mask) and position (sitting versus supine) on upper airway collapsibility assessed by NEP. We hypothesize that both interface and position will interfere on NEP measurements. We also hypothesize that NEP in the supine position with nasal mask

will convey more relevant information to evaluate upper airway collapsibility in patients with suspected OSA.

Methods

Subjects aged between 18 and 65 years with suspected OSA referred to the outpatient sleep clinic at the Heart Institute, University of São Paulo were recruited. Subjects with severe nasal obstruction, craniofacial malformations, and intrathoracic obstruction as defined by forced expiratory volume in one second and forced vital capacity ratio (FEV_1/FVC) <0.7 were excluded (Figure 1). The study was approved by the local ethical committee (CAPPesq 80484/2012). Written informed consent was obtained from all subjects before study entry.

All patients underwent pulmonary function test, polysomnography (PSG) and NEP evaluation. Pulmonary function test (KoKo, Version 4.14, nSpire Health, Louisville, USA) was performed by a well trained technician according to the guidelines of the American Thoracic Society/European Respiratory Society.²⁵ PSG was performed using Alice 5 (Philips Respironics, Murrysville, PA). Monitoring included electroencephalogram, electrooculogram, chin and tibialis electromyography, electrocardiogram, oxymetry, oronasal airflow (thermistor and pressure cannula), measurements of rib cage and abdominal movements, snoring and body position. Apnea was defined as a reduction of $\geq 90\%$ of thermistor signal amplitude for at least 10s. Hypopnea was defined as a reduction of $\geq 30\%$ of nasal pressure amplitude for at least 10s followed by oxygen desaturation $\geq 3\%$ or arousal. Apnea-hypopnea index (AHI) was calculated as the total number of respiratory events (apneas + hypopneas) per hour of sleep.²⁶ Subjects with $AHI < 5$ were considered normal. Mild, moderate and severe OSA were defined as $5 \leq AHI < 15$, $15 \leq AHI < 30$, and $AHI \geq 30$ respectively.¹

Upper Airway Anatomy

Computed tomography (CT) scan of the upper airway (Discovery CT 750 HD, GE Health Care, Milwaukee, USA) was performed in a subgroup of patients while awake in supine position with head in neutral position and during quiet breathing. Specific results of NEP evaluated with nasal mask in the supine position have been recently reported¹¹. Scans were acquired at 2.5 mm collimation/interval and reconstructed at 0.625/0.625 mm thickness/interval, with 120kV, 100 mA, and a rotation time of 0.8 sec. Axial and sagittal image reconstructions were performed to

1
2
3 allow linear and volumetric measurements using an Advantage Workstation, version 4.5
4 (GE Healthcare, Milwaukee, USA). We identified the following landmarks on sagittal
5 reconstruction: posterior nasal spine, hyoid bone, mandibular plane, and epiglottis base.
6
7 The distance between mandibular plane to hyoid bone (MPH) was determined.
8
9 Pharyngeal length was defined as the distance of horizontal lines passing at the level of
10 the hard palate and the base of the epiglottis. Tongue area was measured by tracing the
11 contours on sagittal plane. Volumetric reconstruction were performed to determine
12 tongue and airway volume. Tongue limits were identified and manually traced at each
13 axial image obtained. Airway volume was determined by segmentation technique based
14 on a fixed threshold characteristic of the air.
15
16
17
18
19
20

21 *NEP*

22
23 Negative pressure was generated by a ventury system (Exair model 120021,
24 Cincinatti, USA) attached to a tank of compressed air connected to a solenoid valve
25 (Norgren Ltd model 9500400, Vimercate, Italy). The solenoid valve was automatically
26 activated in early expiration by software control written in LabView 8.2 (National
27 Instruments; Austin, USA) and remained open for 2s. A pneumotachograph (Hans
28 Rudolph, model 3830B, Kansas City, USA) was connected to the Air Amplifier and to
29 the interface for measurements of airflow and pressure, using a differential pressure
30 transducer (Sensortechncs GmbH, model PCLA02X5 and PCLA 0050, Puchheim,
31 Germany). Flow and pressure signals were filtered through an analog low-pass filter
32 with cut-off frequency of 100Hz and sampled at 200Hz. Both signals were displayed in
33 real time on the computer screen and recorded for subsequent analysis. Negative
34 pressure of -5 cmH₂O was set by occluding the pneumotachograph with a stopper and
35 adjusting the flow from the compressed air tank to the air amplifier prior of testing each
36 subject.
37
38
39
40
41
42
43
44
45

46 NEP was determined during wakefulness, with subjects relaxed and maintaining
47 the eyes open. Upper airway collapsibility was evaluated with mouthpiece and nasal
48 mask, in sitting and supine positions with the neck in neutral position (Figure 2).
49 Subjects underwent 10 valid NEP maneuvers for each interface and position, that were
50 interposed by at least 4 stable breaths.
51
52
53

54 Analysis of flow and volume were performed offline using a custom-designed
55 software (MatLab, The Math Works, Natick, MA). Each NEP application was manually
56 analyzed by the same investigator. A NEP maneuver was discarded if there was a
57
58
59
60

1
2
3 difference between inspiratory and expiratory volumes greater than 10% for each of the
4 3 breaths before NEP application. Upper airway collapsibility was evaluated by the ratio
5 between expiratory volume exhaled at 0.2s ($V_{0.2}$) during stable breathing (3 expirations
6 preceding NEP application) ($V_{0.2SB}$) over the $V_{0.2}$ during NEP application ($V_{0.2NEP}$).
7 Therefore, the higher the ratio, more collapsible is the upper airway. Expiratory
8 resistance ($R_{0.2} = \text{pressure/flow}$) was also measured at 0.2s during NEP application
9 (Figure 3).
10
11
12
13
14
15

16 **Statistical analysis**

17 Data was described by mean \pm standard deviation or median [interquartile range]
18 after testing for normal distribution (Kolmogorov-Smirnov test). Generalized estimating
19 equations (GEE) were used to evaluate the effects of interface and position on NEP with
20 an exchangeable working correlation matrix and a model-based estimator with normal
21 distribution and identity link function. The main predictors in these models were
22 interface (mouthpiece and nasal mask) and position (sitting and supine). Pairwise
23 comparisons of mouthpiece/nasal mask and sitting/supine position were used in order to
24 better understand the isolated effect of interface as well as position on upper airway
25 collapsibility. Pearson correlation was used to evaluate the associations between NEP
26 and upper airway anatomy. Data were analyzed using IBM SPSS StatisticsTM software
27 package, version 17.0 (IBM Corp 2008, Chicago, IL, USA).
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37

38 **Results**

39 Ninety-three subjects were recruited. Seven subjects were excluded (2 subjects
40 had intrathoracic obstruction ($FEV_1/FVC < 0.7$) and 5 subjects had severe nasal
41 obstruction). Eighty-six subjects underwent NEP with a mouthpiece in sitting and
42 supine positions as well as using a nasal mask in the supine position. Thirty-six subjects
43 underwent NEP with a nasal mask and a mouthpiece while sitting and supine. A
44 subgroup of 28 patients also evaluated anatomy of upper airway by CT. The population
45 characteristics are shown in Table 1.
46
47
48
49
50

51 The results from GEE analysis showed a dependency of upper airway
52 collapsibility measured by the variable $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ on mouthpiece and nasal mask
53 interface and sitting and supine position ($p=0.007$). The results from pairwise
54 comparisons between both interfaces and positions are shown in Table 2. Upper airway
55 was more collapsible with the mouthpiece than with the nasal mask when NEP was
56
57
58
59
60

1
2
3 performed in sitting position. Upper airway collapsibility was higher in supine than in
4 sitting position only when NEP was performed with nasal mask. NEP curves from a
5 representative patient are illustrated in Figure 4. Expiratory resistance at 0.2s during
6 NEP was significantly higher and independent of position with mouthpiece than with
7 nasal mask ($20.7\text{cmH}_2\text{O/L}\cdot\text{s}^{-1}$ vs $8.6\text{cmH}_2\text{O/L}\cdot\text{s}^{-1}$ respectively, $p=0.018$).
8
9
10
11
12

13 *NEP and upper airway anatomy*

14 NEP with mouthpiece in sitting and supine positions and with nasal mask in
15 supine position were compared with anatomical variables obtained from CT scans. NEP
16 with nasal mask in sitting position was not available in these patients. Correlations
17 among $V_{0.2\text{SB}}/V_{0.2\text{NEP}}$ with mouthpiece in sitting and supine position and with nasal
18 mask in supine position are described in Table 3. NEP with nasal mask in supine
19 position and with mouthpiece in sitting position were correlated with upper airway
20 anatomical measurements characteristics of OSA patients, such as tongue dimensions
21 and pharyngeal length, with a trend to be better with nasal mask. NEP with mouthpiece
22 in supine position was correlated only with tongue volume.
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

33 **Discussion**

34 In this study we showed that upper airway collapsibility evaluated by NEP is
35 influenced by interface and position. Firstly, we found that the upper airway was more
36 collapsible with mouthpiece than with nasal mask when evaluated in the sitting position.
37 Secondly, expiratory resistance evaluated during NEP application was higher and
38 independent of position with mouthpiece than with nasal mask. Thirdly, as expected
39 based on previous studies,²⁷ upper airway collapsibility was higher in the supine than in
40 the sitting position. However, this phenomenon was only observed when NEP was
41 evaluated with nasal mask. Finally, the correlations between NEP and upper airway
42 anatomical measurements characteristics of OSA, such as tongue dimensions and
43 pharyngeal length, were present when NEP was evaluated by nasal mask in supine
44 position and mouthpiece in the sitting position. In contrast, NEP did not correlate with
45 upper airway anatomical measurements when was evaluated with mouthpiece in the
46 supine position (Table 3).
47
48
49
50
51
52
53
54
55

56 NEP is a simple technique to evaluate upper airway collapsibility in subjects
57 with suspected OSA. However, all studies in adults with suspected OSA used a
58
59
60

1
2
3 mouthpiece to evaluate NEP^{5-9,14-24}. We only found 2 studies in children that evaluated
4 NEP with oronasal mask.^{28,29} However, in these studies the pattern of breathing during
5 NEP application (nasal or oral route) was not controlled. To our knowledge, our study
6 was the first to evaluate upper airway collapsibility by NEP with nasal mask in adults
7 with suspected OSA. Mouthpiece may not only change tongue and mandible position
8 but also fail to capture the behavior of the cephalic portion of the upper airway
9 (nasopharynx). For instance, Isono *et al.* showed that bite opening decreased the
10 maximum cross-sectional area of the oropharynx and increased the closing pressure in
11 anesthetized OSA patients evaluated in supine position using a nasal mask.³⁰ Breathing
12 through oral route increased upper airway resistance during sleep and also led to more
13 frequent obstructive events than nasal route in normal subjects in another study.³¹
14 Consistent with these previous studies, we showed that upper airway collapsibility was
15 higher with mouthpiece than with nasal mask in sitting position (Table 2). We also
16 showed that expiratory resistance during NEP was higher when NEP was performed
17 with mouthpiece than with nasal mask. These observations may help to explain why
18 Verin *et al.* found that some OSA patients did not present flow limitation when
19 evaluated by NEP with mouthpiece.⁸ The increase in upper airway resistance during
20 mouth breathing may also help to explain why oronasal masks may compromise the
21 effectiveness of CPAP to treat OSA.^{32,33} Therefore, our study raises concern about the
22 accuracy to measure upper airway resistance using techniques that are performed with
23 mouthpiece, such as acoustic pharyngometry.

24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
Body position may also influence upper airway collapsibility. The tongue and
soft palate are pushed posteriorly by the force of gravity in supine position, leading to
upper airway narrowing.²⁷ Sitting position has been reported to decrease OSA
frequency when compared to supine position, particularly in more obese patients with
OSA³⁴. Obstructive events are more severe in the supine position in patients with severe
non-positional OSA.³⁵ Pcrit has also been shown to be more positive in the supine
position when compared to the lateral position in OSA patients.^{30,36} Therefore, the
results in our study showing that NEP evaluated by nasal mask is more collapsible in
the supine than sitting position are in line with the literature. In contrast, body position
did not influence NEP evaluated by mouthpiece. Therefore, the use of mouthpiece may
mitigate the effect of position that were only observed by NEP with nasal mask. We
have recently shown that NEP and Pcrit, both evaluated with nasal mask in supine
position, were similarly associated with the anatomical component of upper airway

1
2
3 collapsibility in patients under investigation for OSA¹¹. We extend these results by
4 evaluating NEP with mouthpiece both in sitting and supine positions. NEP with
5 mouthpiece in the sitting position and NEP with nasal mask in the supine position were
6 correlated with upper airway anatomy. In contrast, NEP did not correlate with upper
7 airway anatomical measurements when evaluated with mouthpiece in the supine
8 position. Interestingly, NEP with nasal mask in the supine position conveyed slightly
9 better correlation than mouthpiece (Table 3).
10
11
12
13

14 This study has limitations. The number of patients studied (n=86) was relatively
15 small, and some measurements were performed only in a subgroup of patients. The
16 information obtained by NEP may be limited because NEP is performed during
17 wakefulness while OSA occurs during sleep. On the other hand, we evaluated flow
18 behavior during the first 0.2s of expiration, and therefore prior to activation of upper
19 airway dilator muscles.¹⁰ Moreover, the anatomical correlation obtained by NEP using
20 nasal mask in the supine position was similar to those obtained by Pcrit¹¹, a well
21 established method to measure the anatomical component of OSA. Finally, future
22 studies are necessary to show that NEP can be incorporated in clinical practice.
23
24
25
26
27
28

29 In conclusion, interface and position influence NEP evaluation of upper airway
30 collapsibility. NEP performed with nasal mask in supine position is a simple method
31 that correlates with upper airway anatomy. Therefore, NEP is a promising method for
32 clinical use because it may convey more relevant information for patients under
33 investigation for OSA and could be useful in future studies for the selection of patients
34 for non-CPAP therapies.
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Acknowledgments

Guarantor statement: RPH had full access to all of the data and takes responsibility for the integrity of the work as a whole, from inception to published article.

Author contributions: RPH contributed to study design, data collection, analysis and interpretation of the data, and manuscript draft; FK, FS and EG contributed to data collection and analysis, and critical review of the manuscript; HTM contributed to data analysis and interpretation, and critical review of the manuscript; PRG contributed to study design, data analysis and interpretation, and critical review of the manuscript; SR, GI and LVFO contributed to data collection and analysis, and critical review of the manuscript, GLF contributed to study design, data analysis and interpretation, drafting and critical review of the manuscript.

Financial/nonfinancial disclosures: All the authors have reported that there are no conflicts of interest with any companies or organizations discussed in this article.

Role of sponsors: This study was supported by São Paulo Research Foundation (FAPESP), grant number 2011/12120-5. RPH received a PhD scholarship from FAPESP, grant number 2012/20743-5.

Figure legends

Figure 1. Flow diagram of the study design.

Figure 2. Interfaces and positions during NEP. A) mouthpiece in sitting position, B) nasal mask in sitting position, C) mouthpiece in supine position, and D) nasal mask in supine position.

Figure 3. Flow and pressure curves of 2 consecutive breaths. Observe the application of 5 cmH₂O of negative pressure that was triggered at early onset of the second expiration. The hatched area under the curve in light and dark grey are the exhaled volume at 0.2s during stable breathing ($V_{0.2SB}$) and during NEP application ($V_{0.2NEP}$), respectively. Expiratory resistance at 0.2s ($R_{0.2}$) was calculated by dividing the pressure and flow at 0.2s during NEP application.

Figure 4. Superimposed flow curves during NEP maneuvers from one representative patient with OSA in the four situations studied: A) mouthpiece in the sitting position, B) nasal mask in the sitting position, C) mouthpiece in the supine position, and D) nasal mask in the supine position. The arrow at the bottom of each figure indicates the time of NEP application. Expiration is positive. $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$: ratio between mean exhaled volume at 0.2s of 3 preceding expirations during stable breathing (not shown in the Figure) and the exhaled volume at 0.2s during NEP application. $V_{0.2}$ during preceding stable breathings were similar in the four conditions (range 32 - 38 mL). In contrast, $V_{0.2}$ during NEP application was varied. $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ with nasal mask was higher (worse upper airway collapsibility) in the supine than in the sitting position. $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ with mouthpiece was similar between sitting and supine positions. Also note that upper airway collapsibility was higher with mouthpiece than with nasal mask.

References

- 1 AASM. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep* 1999; 22:667-689
- 2 Eckert DJ, White DP, Jordan AS, et al. Defining phenotypic causes of obstructive sleep apnea. Identification of novel therapeutic targets. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188:996-1004
- 3 Owens RL, Edwards BA, Eckert DJ, et al. An Integrative Model of Physiological Traits Can Be Used to Predict Obstructive Sleep Apnea and Response to Non Positive Airway Pressure Therapy. *Sleep* 2014
- 4 Gold AR, Schwartz AR. The pharyngeal critical pressure. The whys and hows of using nasal continuous positive airway pressure diagnostically. *Chest* 1996; 110:1077-1088
- 5 Insalaco G, Romano S, Marrone O, et al. A new method of negative expiratory pressure test analysis detecting upper airway flow limitation to reveal obstructive sleep apnea. *Chest* 2005; 128:2159-2165
- 6 Liistro G, Veriter C, Dury M, et al. Expiratory flow limitation in awake sleep-disordered breathing subjects. *Eur Respir J* 1999; 14:185-190
- 7 Montemurro LT, Bettinzoli M, Corda L, et al. Relationship between critical pressure and volume exhaled during negative pressure in awake subjects with sleep-disordered breathing. *Chest* 2010; 137:1304-1309
- 8 Verin E, Tardif C, Portier F, et al. Evidence for expiratory flow limitation of extrathoracic origin in patients with obstructive sleep apnoea. *Thorax* 2002; 57:423-428
- 9 Romano S, Salvaggio A, Hirata RP, et al. Upper airway collapsibility evaluated by negative expiratory pressure test in severe obstructive sleep apnea. *Clinics* 2011; 66:6
- 10 Tantucci C, Mehiri S, Duguet A, et al. Application of negative expiratory pressure during expiration and activity of genioglossus in humans. *J Appl Physiol (1985)* 1998; 84:1076-1082
- 11 Hirata RP, Kayamori F, Schorr F, et al. Influence of interface and position on upper airway collapsibility assessed by negative expiratory pressure. *Journal of Clinical Sleep Medicine* 2016; accepted for publication
- 12 Koulouris NG, Valta P, Lavoie A, et al. A simple method to detect expiratory flow limitation during spontaneous breathing. *Eur Respir J* 1995; 8:306-313
- 13 Valta P, Corbeil C, Lavoie A, et al. Detection of expiratory flow limitation during mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:1311-1317
- 14 Tamisier R, Wuyam B, Nicolle I, et al. Awake flow limitation with negative expiratory pressure in sleep disordered breathing. *Sleep Med* 2005; 6:205-213
- 15 Grippo A, Carrai R, Romagnoli I, et al. Blunted respiratory-related evoked potential in awake obstructive sleep apnoea subjects: a NEP technique study. *Clin Neurophysiol* 2011; 122:1562-1568
- 16 Tantucci C, Duguet A, Ferretti A, et al. Effect of negative expiratory pressure on respiratory system flow resistance in awake snorers and nonsnorers. *J Appl Physiol (1985)* 1999; 87:969-976
- 17 Baydur A, Vigen C, Chen Z. Expiratory Flow Limitation in Obstructive Sleep Apnea and COPD: A Quantitative Method to Detect Pattern Differences Using

- 1
2
3 the Negative Expiratory Pressure Technique. *Open Respir Med J* 2012; 6:111-
4 120
- 5 18 Montemurro LT, Bettinzoli M, Corda L, et al. Influence of upper airway size on
6 volume exhaled under negative pressure during evaluation of upper airway
7 collapsibility. *Sleep Breath* 2012; 16:399-404
- 8 19 Guillot M, Costes F, Sforza E, et al. Is tidal expiratory flow limitation predictive
9 of sleep-related disorders in the elderly? *Eur Respir J* 2010; 36:842-848
- 10 20 Rouatbi S, Tabka Z, Dogui M, et al. Negative expiratory pressure (NEP)
11 parameters can predict obstructive sleep apnea syndrome in snoring patients.
12 *Lung* 2009; 187:23-28
- 13 21 Romano S, Salvaggio A, Lo Bue A, et al. A negative expiratory pressure test
14 during wakefulness for evaluating the risk of obstructive sleep apnea in patients
15 referred for sleep studies. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66:1887-1894
- 16 22 Van Meerhaeghe A, Delpire P, Stenuit P, et al. Operating characteristics of the
17 negative expiratory pressure technique in predicting obstructive sleep apnoea
18 syndrome in snoring patients. *Thorax* 2004; 59:883-888
- 19 23 Corda L, Redolfi S, Montemurro LT, et al. Short- and long-term effects of
20 CPAP on upper airway anatomy and collapsibility in OSAH. *Sleep Breath* 2009;
21 13:187-193
- 22 24 Ferretti A, Giampiccolo P, Redolfi S, et al. Upper airway dynamics during
23 negative expiratory pressure in apneic and non-apneic awake snorers. *Respir Res*
24 2006; 7:54
- 25 25 Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur*
26 *Respir J* 2005; 26:319-338
- 27 26 Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson Jr A, et al. The AASM Manual for the scoring
28 of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications.:
29 Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine, 2007
- 30 27 Isono S, Tanaka A, Nishino T. Lateral position decreases collapsibility of the
31 passive pharynx in patients with obstructive sleep apnea. *Anesthesiology* 2002;
32 97:780-785
- 33 28 Carrera HL, Marcus CL, McDonough JM, et al. Negative Expiratory Pressure
34 Technique: An Awake Test to Measure Upper Airway Collapsibility in
35 Adolescents. *Sleep* 2015; 38:1783-1791
- 36 29 Carrera HL, McDonough JM, Gallagher PR, et al. Upper airway collapsibility
37 during wakefulness in children with sleep disordered breathing, as determined
38 by the negative expiratory pressure technique. *Sleep* 2011; 34:717-724
- 39 30 Isono S, Tanaka A, Tagaito Y, et al. Influences of head positions and bite
40 opening on collapsibility of the passive pharynx. *J Appl Physiol (1985)* 2004;
41 97:339-346
- 42 31 Fitzpatrick MF, McLean H, Urton AM, et al. Effect of nasal or oral breathing
43 route on upper airway resistance during sleep. *Eur Respir J* 2003; 22:827-832
- 44 32 Andrade RG, Madeiro F, Piccin VS, et al. Impact of acute changes in CPAP
45 flow route in sleep apnea treatment. *Chest* 2016
- 46 33 Andrade RG, Piccin VS, Nascimento JA, et al. Impact of the type of mask on the
47 effectiveness of and adherence to continuous positive airway pressure treatment
48 for obstructive sleep apnea. *J Bras Pneumol* 2014; 40:658-668
- 49 34 McEvoy RD, Sharp DJ, Thornton AT. The effects of posture on obstructive
50 sleep apnea. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133:662-666
- 51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 35 Oksenberg A, Khamaysi I, Silverberg DS, et al. Association of body position
4 with severity of apneic events in patients with severe nonpositional obstructive
5 sleep apnea. *Chest* 2000; 118:1018-1024
6
7 36 Ong JS, Touyz G, Tanner S, et al. Variability of human upper airway
8 collapsibility during sleep and the influence of body posture and sleep stage. *J*
9 *Sleep Res* 2011; 20:533-537
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

CONFIDENTIAL

Table 1. Demographic, clinical, sleep characteristics and pulmonary function test of the subjects.

	n = 86
Age, yrs (range)	46 ± 12 (23 - 65)
BMI, kg/m ²	30.0 ± 4.4
Neck circumference, cm	40.0 ± 3.5
Abdominal circumference, cm	101.5 ± 11.9
Hypertension, n(%)	26 (30.2)
Diabetes, n(%)	8 (9.3)
AHI, events/h (range)	32.9 ± 26.4 (0.5 - 122.5)
SpO ₂ min, %	80.7 ± 8.4
T SpO ₂ <90%, min	28.9 ± 60.3
FVC, % predicted	96.1 ± 9.7
FEV ₁ , % predicted	93.9 ± 9.4
FEV ₁ /FVC	0.81 ± 0.05

Values are presented as mean ± standard deviation. BMI - body mass index, AHI - apnea/hypopnea index, SpO₂min - minimal oxyhemoglobin saturation, T SpO₂ <90% - Time spent with oxyhemoglobin saturation below 90%, FVC - forced vital capacity, FEV₁ - forced expiratory volume in one second.

Table 2. Effects of interface (mouthpiece versus nasal mask) and position (sitting versus supine) on upper airway collapsibility using NEP as determined by Generalized Estimating Equations.

	Mouthpiece	Nasal Mask	p (interface)
$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ - sitting	0.44 [0.33 - 0.68]	0.32 [0.25 - 0.41]	0.001
$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ - supine	0.51 [0.34 - 0.61]	0.44 [0.31 - 0.57]	ns
p (position)	ns	0.019	

Values are presented as mean \pm standard deviation or median [interquartile range] when there was no parametric distribution. P (interface) represents the comparison between mouthpiece versus nasal mask, while the p (position) represents the comparison between sitting versus supine position.

Table 3. Effects of interface (mouthpiece versus nasal mask) and position (sitting versus supine) on upper airway collapsibility using NEP (n=28).

	$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$		$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$		$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$	
	Sitting		Supine		Supine	
	Mouthpiece		Mouthpiece		Nasal Mask	
	r	p	r	p	r	p
Bony dimensions						
MPH	0.443	0.021	0.167	0.405	0.432	0.024
Cranial base angle	-0.190	0.333	0.139	0.479	-0.241	0.216
Maxillary length	-0.280	0.149	-0.369	0.053	-0.417	0.027
Mandibular length	-0.110	0.579	-0.270	0.164	-0.009	0.963
Soft tissue dimensions						
Tongue area	0.427	0.024	0.288	0.138	0.646	<0.0001
Tongue volume	0.413	0.029	0.390	0.040	0.565	0.002
Pharyngeal length	0.556	0.002	0.315	0.103	0.580	0.001
Upper airway volume	0.105	0.604	0.082	0.684	0.122	0.546

$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ - ratio between $V_{0.2}$ during stable breathing (3 expirations preceding NEP application) over the $V_{0.2}$ during NEP application, MPH - mandibular plane to hyoid distance, BMI - body mass index, circ - circumference, AHI - apnea/hypopnea index, Pcrit - critical closing pressure.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

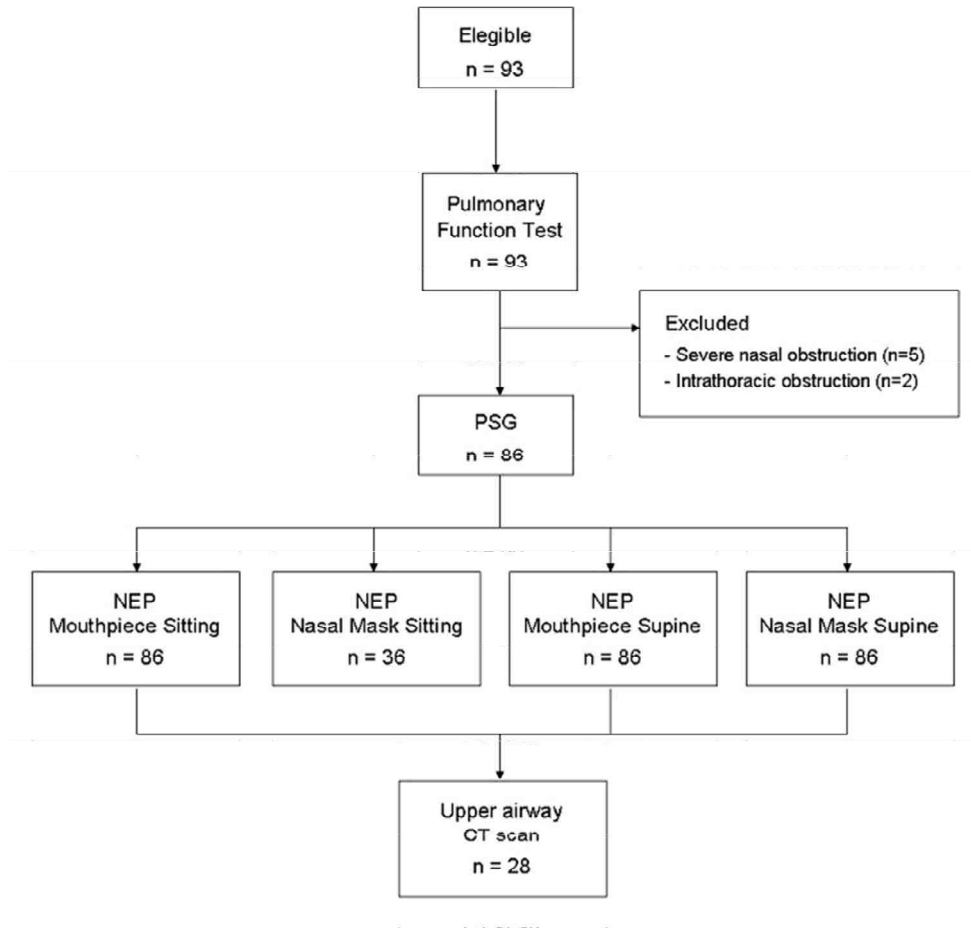


Figure 1. Flow diagram of the study design
190x184mm (96 x 96 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

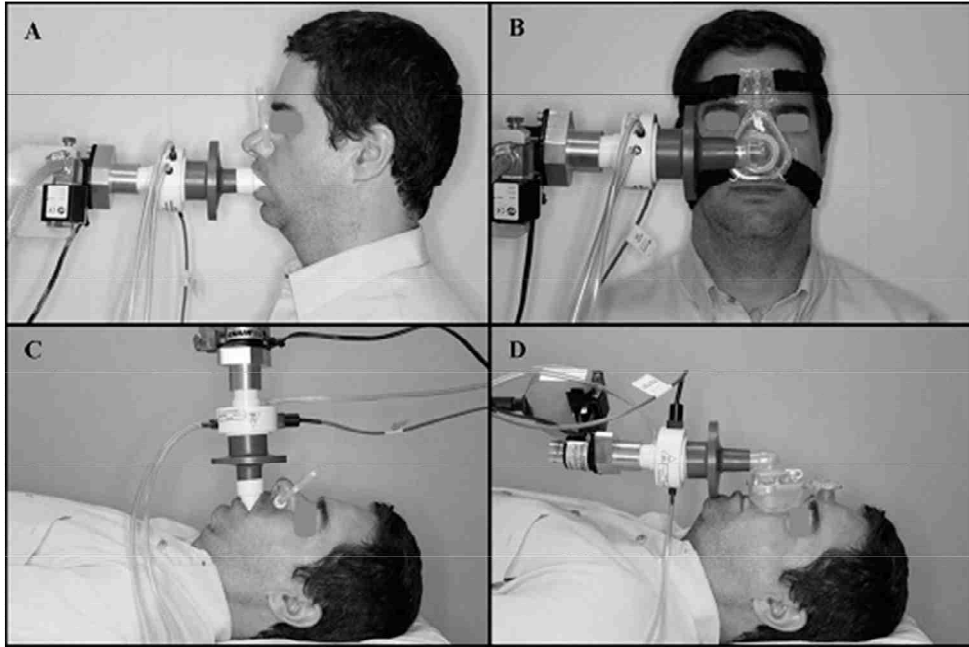


Figure 2. Interfaces and positions during NEP. A) mouthpiece in sitting position, B) nasal mask in sitting position, C) mouthpiece in supine position, and D) nasal mask in supine position
142x94mm (96 x 96 DPI)

CONFIDENTIAL

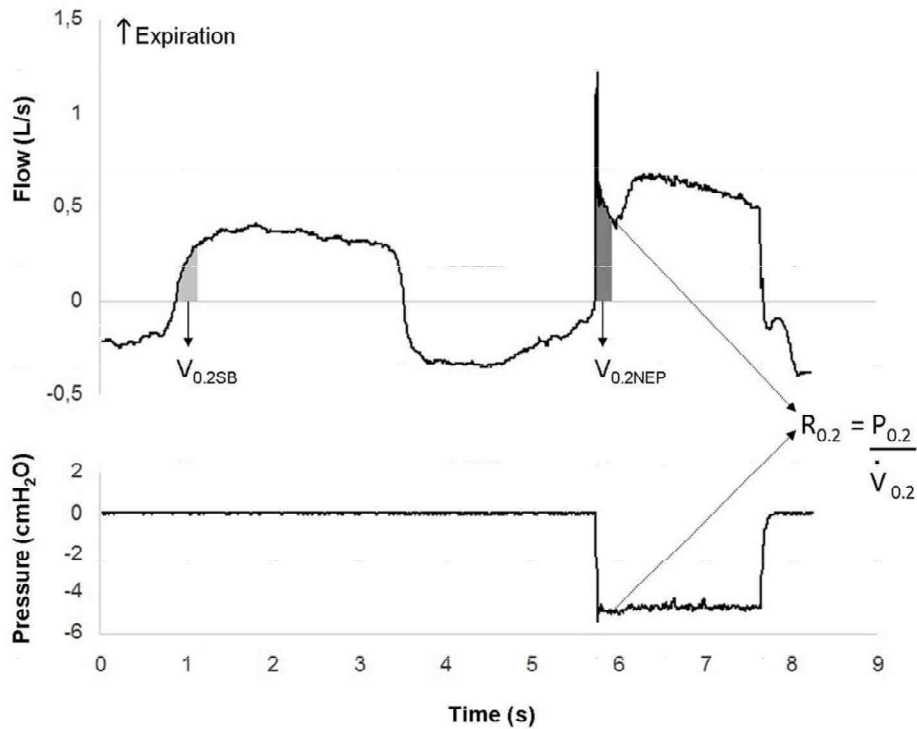


Figure 3. Flow and pressure curves of 2 consecutive breaths. Observe the application of 5 cmH_2O of negative pressure that was triggered at early onset of the second expiration. The hatched area in light and dark grey are the exhaled volume at 0.2s during stable breathing ($V_{0.2SB}$) and during NEP application ($V_{0.2NEP}$), respectively. Expiratory resistance at 0.2s ($R_{0.2}$) was calculated by dividing the pressure and flow at 0.2s during NEP application

190x154mm (150 x 150 DPI)

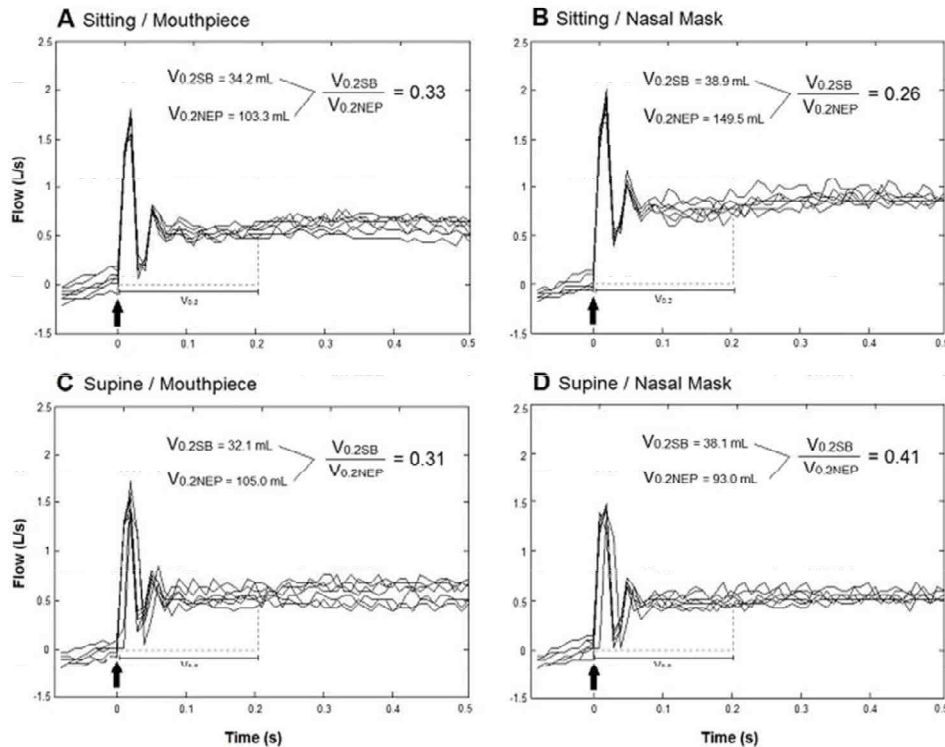


Figure 4. Superimposed flow curves during NEP maneuvers from one representative patient with OSA in the four situations studied: A) mouthpiece in the sitting position, B) nasal mask in the sitting position, C) mouthpiece in the supine position, and D) nasal mask in the supine position. The arrow at the bottom of each figure indicates the time of NEP application. Expiration is positive. $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$: ratio between mean exhaled volume at 0.2s of 3 preceding expirations during stable breathing (not shown in the Figure) and the exhaled volume at 0.2s during NEP application. $V_{0.2}$ during preceding stable breathings were similar in the four conditions (range 32 - 38 mL). In contrast, $V_{0.2}$ during NEP application was varied. $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ with nasal mask was higher (worse upper airway collapsibility) in the supine than in the sitting position. $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ with mouthpiece was similar between sitting and supine positions. Also note that upper airway collapsibility was higher with mouthpiece than with nasal mask

189x152mm (96 x 96 DPI)

Apêndice 2. Artigo referente ao *Estudo 2*, aceito para publicação na Revista
Journal of Clinical Sleep Medicine

View Decision Letter

MS Title: Upper Airway Collapsibility Assessed by Negative Expiratory Pressure while Awake is Associated with Upper-Airway Anatomy

MS Number: JC-00020-16 Version 3

MS Type: Original Research

Section: No section assigned.

Author Letter:

RE: JC-00020-16 Version 3
Upper Airway Collapsibility Assessed by Negative Expiratory Pressure while Awake is Associated with Upper-Airway Anatomy

Dear Dr. Geraldo Lorenzi-Filho:

I am pleased to inform you that your Original Research entitled "Upper Airway Collapsibility Assessed by Negative Expiratory Pressure while Awake is Associated with Upper-Airway Anatomy" has been accepted for publication in an upcoming issue of the Journal of Clinical Sleep Medicine (JCSM).

These are the next steps related to your accepted manuscript:

1. The PDF version of your manuscript as accepted will be available on the Accepted Papers tab on the Journal of Clinical Sleep Medicine (JCSM) website within seven days.
2. Your manuscript will be copyedited and a version will be sent to you for approval. You will receive an email from Andy Miller, Managing Editor, within approximately 14 days with instructions for reviewing the copyedited version of your manuscript and a deadline for returning any edits.
3. The copyedited, author-approved version of your paper's abstract will be submitted to PubMed for Ahead of Print and should appear on the site approximately 15 days after the approved version has been received from the corresponding author. This abstract will be replaced with the final version when the manuscript is published in an issue of the Journal of Clinical Sleep Medicine (JCSM).
4. Once your manuscript has been assigned to an issue, you will be notified and you will also receive a PDF of the page proofs from Andy Miller, Managing Editor. This message will include instructions for reviewing the manuscript and a deadline for returning any edits. Failure to comply with the instructions and deadline will delay the publication of your manuscript.

You may direct inquiries regarding your manuscript to the administrative office by calling (630) 615-8748.

Thank you for your support of the journal and for your contribution to the field.

Sincerely,

Nancy A. Collop
Editor-in-Chief, Journal of Clinical Sleep Medicine (JCSM)

Title page**Upper airway collapsibility assessed by negative expiratory pressure while awake is associated with upper airway anatomy**

Short Title

Awake upper airway collapsibility and anatomy**Authors**

Raquel P. Hirata, MSc¹; Fabiola Schorr, MD¹; Fabiane Kayamori, SLP¹; Henrique Takachi Moriya, PhD²; Salvatore Romano, MSc³; Giuseppe Insalaco, MD³, Luis Vicente Franco de Oliveira, PhD⁴, Pedro R. Genta, MD¹; Geraldo Lorenzi-Filho, MD¹.

Institutional Affiliations

¹ Sleep Laboratory, Pulmonary Division, Heart Institute (InCor), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil.

² Biomedical Engineering Laboratory, Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, Brazil.

³ Institute of Biomedicine and Molecular Immunology A. Monroy, Italian National Research Council, Palermo, Italy.

⁴ Rehabilitation Sciences Master and Doctoral Program, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil.

Institution at which the work was performed: Sleep Laboratory, Pulmonary Division, Heart Institute (InCor), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil.

Conflict of Interest Statement

All the authors have reported that there are no conflicts of interest with any companies or organizations discussed in this article.

Funding Information

This study was supported by Sao Paulo Research Foundation (FAPESP), grant numbers: 2012/20743-5 and 2011/12120-5.

Corresponding Author Information: Geraldo Lorenzi-Filho. Sleep Laboratory, Heart Institute (InCor) - Avenida Doutor Eneas de Carvalho Aguiar, 44, 8º andar, bloco I. CEP 05403-900. Sao Paulo, SP, Brazil. E-mail: geraldo.lorenzi@gmail.com.

Abstract

Study objectives: There is a growing interest to develop simple method to characterize the mechanisms leading to upper airway collapse in order to guide treatment options in patients obstructive sleep apnea (OSA). Critical closing pressure (Pcrit) during sleep is able to predict the anatomical component of OSA. However Pcrit is a laborious method that is only used for research purposes. The application of negative expiratory pressure (NEP) is a simple method to assess upper airway collapsibility that can be easily performed during wakefulness. We hypothesized that NEP will be, similarly to Pcrit, associated with upper airway anatomy assessed by computed tomography (CT) scan.

Methods: Patients under investigation for OSA underwent polysomnography, CT of the upper airway, NEP while awake and Pcrit during sleep. NEP was performed with -5cmH₂O in supine position using a nasal mask. Pcrit was measured during sleep induced by low doses of midazolam.

Results: Twenty-eight male subjects were studied (age=45±13yrs, body mass index=29.4±4.9kg/m², apnea-hypopnea index (AHI)=30±26, range 2 to 86 events/h). NEP and Pcrit were similarly associated with tongue area (r=0.646 and r=0.585), tongue volume (r=0.565 and r=0.613) and pharyngeal length (r=0.580 and r=0.611), respectively (p<0.05 for all comparisons). NEP and Pcrit were also significantly correlated with AHI (r=0.490 and r=0.531). NEP and Pcrit were significantly higher in patients with severe OSA than the remaining population.

Conclusions: NEP is a simple and promising method that is associated with the anatomical component of upper airway collapsibility. NEP may be valuable to select patients for non-CPAP alternative therapies for OSA.

Key words: obstructive sleep apnea, pharynx, computed tomography, anatomy, pathophysiology.

Current Knowledge/Study Rationale: There is a growing interest to develop simple methods to characterize the mechanisms leading to upper airway collapse in order to guide treatment options in patients obstructive sleep apnea (OSA). Negative expiratory pressure (NEP) evaluates upper airway collapsibility and can be easily performed during wakefulness.

Study Impact: We showed that NEP applied with nasal mask in the supine position is associated with the anatomical component of upper airway collapsibility and performs similarly to the laborious method of Pcrit in patients under investigation for OSA. This tool may be valuable to select patients for non-CPAP alternative therapies for OSA.

Introduction

Obstructive sleep apnea (OSA) is characterized by recurrent collapse of the pharynx during sleep. OSA is considered a public health problem and affects up to one third of the adult population.^{1,2} Continuous positive airway pressure (CPAP) is the gold standard treatment for moderate to severe OSA. However, the adherence to CPAP is far from ideal even in patients with severe OSA.³ On the other hand, the response to non-CPAP alternatives such as mandibular advancement device, sedatives, weight loss and oropharyngeal exercises is variable and not easily predictable. Therefore, there is a growing interest to characterize OSA phenotypes in order to individualize OSA therapy. Four main phenotypical traits have been proposed to be involved in OSA pathogenesis: upper airway anatomy, ventilatory control instability, upper airway neuromuscular function and arousal threshold. However, sophisticated methods are necessary to determine the contribution of each trait. Upper airway anatomy is the most important among all phenotypical traits. Multiple studies using computed tomography (CT) and magnetic resonance have shown that patients with OSA have a smaller airway, larger soft tissue volume and an increased upper airway length than proper controls while awake.⁴⁻⁷ Pharyngeal critical closing pressure (Pcrit) evaluates upper airway collapsibility during non-REM sleep and determines the anatomical contribution to OSA. Pcrit is associated with anatomic features such as pharyngeal length and tongue volume.⁸⁻¹² However, Pcrit is a laborious method that requires a complex setup and experienced investigators capable of recognizing sleep stages and flow limitation during CPAP application.

Negative expiratory pressure (NEP) applied non invasively during spontaneous expiration is a simple measurement performed during wakefulness used to evaluate expiratory flow limitation.¹³ NEP is expected to increase expiratory flow in normal individuals. Expiratory flow fails to increase during NEP application among individuals with intrathoracic or extrathoracic obstruction. NEP was first described to evaluate intrathoracic expiratory flow limitation in patients with chronic obstructive pulmonary disease.^{13,14} NEP has been more recently used to assess upper airway collapsibility in patients with suspected OSA. NEP is able to differentiate severe OSA patients, snorers, as well as normal subjects.¹⁵⁻¹⁸ Despite all these promising evidence, NEP has never been used to predict upper airway anatomy. In this study we hypothesized that NEP will

be, similarly to Perit, associated with upper airway anatomy evaluated objectively by CT scan.

Methods

Subjects

Male subjects aged 18-65 years referred to the Heart Institute Sleep Clinic for OSA investigation were considered eligible for the study. Patients with severe nasal obstruction, craniofacial malformations, and intrathoracic obstruction as defined by the ratio between forced expiratory volume in one second over the forced vital capacity (FEV_1/FVC) <0.7 were excluded. The study was approved by the local ethical committee (CAPPesq 80484/2012). Written informed consent was obtained from all subjects before study entry. Most patients enrolled in this study took part in another investigation that assessed the anatomical characteristics associated with upper airway collapsibility.¹²

Evaluations

Pulmonary Function Test

Pulmonary function test (KoKo Version 4.14, nSpire Health, Louisville, USA) was performed by a well trained technician according to the guidelines of the Brazilian Society of Pneumology¹⁹ and the European Respiratory Society.²⁰

NEP

NEP was performed during wakefulness, with subjects using a nasal mask in supine position, with eyes open and neck in neutral position. Negative pressure was generated by a Super Air Amplifier (Exair model 120021, Cincinnati, USA) attached to a tank of compressed air connected to a solenoid valve (Norgren Ltd model 9500400, Vimercate, Italy). The solenoid valve was operated by software control, automatically activated in early expiration and remained open for 2s. A pneumotachograph (Hans Rudolph, model 3830B, Kansas City, USA) was connected to the Air Amplifier and to the nasal mask for measurements of airflow, using a differential pressure transducer (Sensortech GmbH, model PCLA02X5, Puchheim, Germany). Mask pressure was measured by a pressure transducer (Sensortech GmbH, model PCLA0050,

Puchheim, Germany). Flow and pressure signals were filtered through a low-pass filter and sampled at 100Hz. Both signals were displayed in real time on the computer screen and recorded for subsequent analysis. Ten NEP maneuvers with at least 4 preceding regular breaths for normalization of breathing pattern were performed in each subject. NEP was analyzed by the ratio between $V_{0.2}$ during stable breathing (3 expirations preceding NEP application) and $V_{0.2}$ during NEP application ($V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$), as illustrated in Figure 1. Automatic control of the solenoid valve and data acquisition were performed using a custom-designed software written in LabView 8.2 (National Instruments; Austin, USA) developed in the Palermo laboratory. Analysis of flow and volume were performed using a custom-designed software (MatLab, The Math Works, Natick, MA).

Polysomnography

Standard overnight polysomnography (PSG) was performed using Alice 5 (Philips Respironics, Murrysville, PA). Monitoring included electroencephalogram, electrooculogram, chin and tibialis electromyography, electrocardiogram, oxymetry, oronasal airflow (thermistor and pressure cannula), measurements of rib cage and abdominal movements, snoring and body position. Apnea was defined as a reduction of $\geq 90\%$ of thermistor signal amplitude for at least 10s. Hypopnea was defined as a reduction of $\geq 30\%$ of nasal pressure amplitude for at least 10s followed by oxygen desaturation $\geq 3\%$ or arousal. Apnea hypopnea index (AHI) was calculated as the total number of respiratory events (apneas + hypopneas) per hour of sleep.²¹ Subjects with $AHI < 5$ were considered normal. Mild, moderate and severe OSA were defined as $5 \leq AHI < 14.9$, $15 \leq AHI < 29.9$, and $AHI \geq 30$ respectively.¹

Pcrit

Pcrit was performed in the morning, after sleep induction with low doses of midazolam (diluted in a saline solution with a concentration of 1mg/10ml). A peripheral vein was cannulated and 5ml of the solution was administered slowly until a sleeplike state was detected through PSG monitoring. The infusion was restarted if the patient arose and was not able to fall sleep again in 10 minutes.²² Patient slept in supine position with all PSG channels (except for nasal pressure and thermistor), a well fitted nasal mask attached to a heated pneumotacograph (Hans Rudolph, model 3700A, Kansas City, MO) and a differential pressure transducer (Validyne, Northridge, CA)

for measurements of flow and pressure. The mask was connected to a modified CPAP device (Philips Respironics, Murrysville, PA) that could deliver both positive and negative pressures. After sleep onset, airway pressure was increased in order to abolish flow limitation (holding pressure). When stable non-REM sleep was reached, CPAP pressure was abruptly reduced 1-2cmH₂O during expiration, held for 5 respiratory cycles, and then returned to the holding pressure. If the patient remained asleep, the reductions were repeated after 1 minute with a further pressure decrease of 1-2cmH₂O. If an arousal occurred, at least 2 minutes of stable NREM sleep should occur at holding pressure before any further CPAP reduction. This process was repeated progressively until an apnea occurred. The entire procedure was performed two to four times for each subject. Peak inspiratory flow from breaths 3-5 were plotted against nasal pressure if breaths were considered flow-limited, and Pcrit was determined as the zero-flow intercept from a linear regression.⁸ This analysis was performed using a custom-designed software (MatLab, The Math Works, Inc., Natick, MA).

Upper airway computed tomography scan

CT scan of the upper airway (Discovery CT 750 HD, GE HealthCare, Milwaukee, USA) was performed during quiet breathing with patients in supine position with head in neutral position while awake. The scans were acquired at 2.5 mm collimation/interval and reconstructed at 0.625/0.625 mm thickness/interval, with 120 kV, 100mA, and a rotation time of 0.8sec. Axial and sagittal image reconstructions were performed to allow linear and volumetric measurements using an Advantage Workstation, version 4.5 (GE Healthcare, Milwaukee, USA). The landmarks identified at the midline sagittal reconstruction were posterior nasal spine, hyoid, mandibular plane, and epiglottis base. The distance between mandibular plane to hyoid (MPH) was determined. Pharyngeal length was defined as the distance of horizontal lines passing at the level of the hard palate and the base of the epiglottis. Tongue area was measured by tracing the contours on sagittal plane. Three-dimensional reconstructions were made for volumetric measurements. Tongue volume measurement was performed by identifying tongue limits and manually tracing the contours at each axial image obtained. Airway volume was determined by segmentation technique based on a fixed threshold characteristic of air (Figure 2). A single investigator performed all measurements.

Statistical analysis

Variables were described as mean \pm SD or absolute number [percentage] when appropriate. We used Kolmogorov-Smirnov test to evaluate the normality of the variables and Pearson correlation coefficient to analyze the associations between upper airway collapsibility variables (Pcrit and NEP) and upper airway anatomy. We also performed a linear regression model using the upper airway anatomy measurements as dependent variables and NEP or Pcrit and BMI as independent variables in order to control results for BMI. Sample was divided according to the median value of $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ and anthropometric and anatomical variables were compared using independent Student t-test. One-way ANOVA and Bonferroni post-hoc analyses were used to compare subjects according to OSA severity.

Results

Thirty male subjects were invited to the study. Two subjects were excluded because of intrathoracic airway obstruction ($FEV_1/FVC < 0.7$). The included sample consisted of middle aged overweight males with a wide range of AHI (Table 1). The duration of Pcrit determination was 3.1 ± 0.9 hours and the dose of midazolam was 3.7 ± 1.7 mg. Holding pressure was 9.5 ± 2.7 cmH₂O, the mean number of series of pressure drops was 3.6 ± 1.2 and the number of pressure drops was 29.8 ± 7.2 . NEP was obtained in approximately 10 minutes.

Anthropometric, upper airway anatomy and collapsibility characteristics according to OSA severity are presented in Table 2. Patients with severe OSA were older, presented a higher body mass index (BMI), a higher Pcrit and NEP (as defined by $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ ratio). Anatomical parameters were also different between different AHI categories.

Table 3 shows anthropometric, sleep and anatomical variables divided in two groups according to the median value of $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$. Patients with higher upper airway collapsibility measured by NEP had higher BMI and also had increased tongue dimensions (area and volume), increased pharyngeal length and soft palate length. Figure 1 represents the flow tracing from a patient with a low $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ and one with a high $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$, as well as the respective Pcrit regression lines. The associations between pharyngeal length and tongue volume with NEP and Pcrit are illustrated in Figure 3. Correlations between upper airway anatomy variables and upper airway collapsibility are presented in Table 4. NEP and Pcrit were still associated with variables such as pharyngeal length (β coefficient = 0.64; $p = 0.002$ for NEP and β

coefficient = 0.64; $p = 0.001$ for Pcrit) and tongue area (β coefficient = 0.38; $p = 0.012$ for NEP and β coefficient = 0.30; $p=0.044$ for Pcrit), independently of the BMI. NEP was correlated to Pcrit ($r=0.39$). NEP and Pcrit were also significantly correlated with AHI ($r=0.490$ and $r=0.531$, respectively).

Discussion

In the present study we showed that NEP is correlated with the anatomical component of upper airway collapsibility in patients under investigation for OSA. Firstly, among patients investigated for OSA with a wide range of AHI, both NEP and Pcrit were significantly worse in patients with severe OSA than in the remaining population (Table 2). Secondly, when the patients were divided according to the median values of NEP, those with worse collapsibility were more obese, had larger neck circumference and had worse anatomical characteristics including increased tongue area and volume, increased soft palate and pharyngeal length (Table 3). Finally, the correlations between NEP and upper airway anatomy were similar to Pcrit measured during sleep (r ranging from 0.5 to 0.7) (Table 4).

There are anatomical and non-anatomical phenotypical traits that contribute to the genesis of OSA.^{23,24} Patients with severely compromised upper airway anatomy are less likely to benefit from non-CPAP therapies because non-anatomical traits (ventilatory control instability, upper airway neuromuscular function and arousal threshold) have less influence on upper airway collapse. In our study, patients with severe OSA had a higher tongue area and volume, a longer pharyngeal length and a lower positioned hyoid bone than patients with no OSA (Table 2). These results are in line with studies showing that tongue dimensions and pharyngeal length also contribute to increase the risk of upper airway collapse during sleep.^{4,7,25-27} In addition, a lower positioned hyoid bone is the most commonly reported cephalometric abnormality among OSA patients. Hyoid bone position has also a close relationship with OSA severity.^{5,6} Pcrit is a well established method that is able to predict the anatomical component of OSA.⁹⁻¹² However, Pcrit is a laborious exam performed during sleep that requires experienced investigators and is only used for research purposes. In contrast, NEP is a simple noninvasive technique performed while awake, does not require patient collaboration and can be determined in approximately 10 minutes. One study showed an association between NEP and pharyngeal area estimated by acoustic pharyngometry.²⁸

However, NEP was expressed in absolute values of expired volume with no corrections for lung volumes and upper airway anatomy was not determined²⁸. Despite all methodological differences that help to explain the relatively low correlation between NEP and Pcrit ($r=0.39$), we have shown that NEP and Pcrit were similarly associated with the main components of upper airway anatomy relevant to OSA including tongue area ($r=0.646$ and $r=0.585$), tongue volume ($r=0.565$ and $r=0.613$) and pharyngeal length ($r=0.580$ and $r=0.611$), respectively.

NEP application should elicit an expiratory flow increase, therefore the volume exhaled during NEP application should be greater than during stable breathing. In OSA subjects, enlargement of soft tissues surrounding the oropharynx increases the resistance to flow during NEP application, causing a drop in flow and consequently a reduced exhaled volume. The ratio ($V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$) represents the volume exhaled at 0.2s during spontaneous breathing over the volume exhaled at 0.2s during NEP application. The higher this ratio, the more collapsible is the upper airway. The method of NEP determination varies among published studies. The majority of studies applied NEP using a mouthpiece either sitting or in the supine position.^{15,16,18,28-32} This technique was adapted from earlier studies that aimed to evaluate intrathoracic obstruction.^{13,14,33} However, the use of a mouthpiece excludes the retropalatal region that is a common site of obstruction during sleep in patients with OSA.³⁴ In addition, a partial opening of the mouth is necessary for mouthpiece use. Mouth opening has been shown to increase upper airway collapsibility.³⁵ In contrast to previous report, in our study NEP was applied through a nasal mask in the supine position. Our method therefore may convey more relevant information for patients under investigation for OSA. However, future studies are necessary to evaluate the impact of the interface and body position on the evaluation of upper airway collapsibility. The timing of NEP application has not been standardized and may vary from the onset up to end of expiration.^{13,28,31,36} In our study, NEP was automatically applied at the exact transition from inspiration to expiration and we analyzed the exhaled volume during the first 0.2s. Tantucci *et al.* showed that there was no reflex-mediated activation of genioglossus when NEP was applied in early expiration.³⁷ Therefore, in our study NEP can be considered a passive upper airway collapsibility evaluation, independent of voluntary or reflex muscle recruitment.

This study has several potential limitations. Pcrit was assessed during induced sleep with midazolam. However, we have previously demonstrated that Pcrit determined during induced sleep by low doses of midazolam was similar to Pcrit during

natural sleep.²² NEP and Pcrit were performed in different conditions. NEP was assessed during wakefulness while Pcrit was assessed during sleep. The number of patients was relatively small, future studies are necessary to validate NEP and $V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ values in large clinical cohorts. We studied only male subjects in order to avoid the inherent differences between genders in upper airway collapsibility and respiratory responses to upper airway obstruction.^{38,39} Therefore, our results cannot be extrapolated to women. Finally, the method of NEP varies widely as previously discussed. Therefore, our results cannot be extrapolated to other methods of NEP application and analysis.

In conclusion, NEP application while awake in the supine position with nasal mask is a simple and promising method that correlates with the anatomical component of upper airway collapsibility in patients under investigation for OSA. NEP may prove to be useful in the selection of patients candidate to non-CPAP alternatives for OSA treatment.

Acknowledgments

The authors thank Philips Respironics for providing the modified CPAP device.

This study was supported by São Paulo Research Foundation (FAPESP), grant number 2011/12120-5. RPH received a PhD scholarship from FAPESP, grant number 2012/20743-5.

Author contributions: RPH contributed to study design, data collection, analysis and interpretation of the data, and manuscript draft; FK and FS contributed to data collection and analysis, and critical review of the manuscript; HTM contributed to data analysis and interpretation, and critical review of the manuscript; PRG contributed to study design, data analysis and interpretation, and critical review of the manuscript; SR, GI and LVFO contributed to data collection and analysis, and critical review of the manuscript, GLF contributed to study design, data analysis and interpretation, drafting and critical review of the manuscript.

Abbreviations list

OSA - obstructive sleep apnea

CPAP - continuous positive airway pressure

CT - computed tomography

Pcrit - pharyngeal critical closing pressure

REM - rapid eye movements

NEP - negative expiratory pressure

FEV₁/FVC - ratio between forced expiratory volume in one second and forced vital capacity

V_{0.2SB}/V_{0.2NEP} - ratio between mean exhaled volume at 0.2s during stable breathing (3 expirations preceding NEP application) and the volume exhaled at 0.2s during NEP application

PSG - polysomnography

AHI - apnea hypopnea index

MPH - mandibular plane to hyoid distance

BMI - body mass index

SpO₂ - peripheral oxygen saturation

PNS - posterior nasal spine

Table 1. Demographic, clinical and sleep characteristics of the subjects.

	n=28
Age, yr (range)	45 ± 13 (23 - 64)
BMI, kg/m ²	29.5 ± 4.9
Neck circumference, cm	41.0 ± 3.4
Abdominal circumference, cm	101.4 ± 13.9
Hypertension, n[%]	9 [32.1]
Diabetes, n[%]	5 [17.9]
Smokers, n[%]	3 [10.7]
AHI, events/h (range)	30 ± 26 (1.9 - 85.8)
SpO ₂ min, %	81.6 ± 8.5
T SpO ₂ <90%, min	24.6 ± 55.6
FVC, % predicted	95.7 ± 9.3
FEV ₁ , % predicted	92.2 ± 7.5
FEV ₁ /FVC	0.8 ± 0.06
Pcrit, cmH ₂ O (range)	-0.69 ± +3.04 (-7.24 - +6.20)
NEP, V _{0.2SB} /V _{0.2NEP} (range)	0.51 ± 0.25 (0.21 - 1.18)

Values are presented as mean ± standard deviation. BMI - body mass index, AHI - apnea/hypopnea index, SpO₂ - oxygen saturation, FVC - forced vital capacity, FEV₁ - forced expiratory volume in one second, Pcrit - critical closing pressure, NEP - negative expiratory pressure.

Table 2. Anthropometric, upper airway anatomy and collapsibility characteristics according to OSA severity.

Variables	AHI < 15 n=11	15 ≤ AHI < 30 n=8	AHI ≥ 30 n=9
Age, yr	37 ± 12	47 ± 11	53 ± 9 *
BMI, kg/m ²	28.2 ± 4.3	26.2 ± 3.1	33.8 ± 3.7 *†
Neck circ, cm	39.6 ± 2.9	40.1 ± 2.8	43.6 ± 3.1 *
Abdominal circ, cm	95.6 ± 10.4	93.7 ± 8.1	115.33 ± 11.6 *†
AHI, events/h	8.5 ± 4.2	23.3 ± 5.7	62.4 ± 20.4 *†
SpO ₂ min, %	87.6 ± 2.1	84.5 ± 4.0	71.6 ± 7.1 *†
T SpO ₂ <90%, min	0.61 ± 0.67	3.7 ± 3.4	78.5 ± 82.1 *†
Pcrit, cmH ₂ O	-2.2 ± +2.7	-1.2 ± +2.6	+1.6 ± +2.6 *
NEP, V _{0.2SB} /V _{0.2NEP}	0.45 ± 0.17	0.40 ± 0.11	0.70 ± 0.32 *†
Bony dimensions			
MPH, mm	13.8 ± 7.4	13.0 ± 6.0	22.5 ± 8.9 †
Cranial base angle, °	129.6 ± 4.7	128.2 ± 3.0	128.7 ± 4.1
Maxillary length, mm	85.7 ± 3.1	87.2 ± 4.4	88.0 ± 4.8
Mandibular length, mm	113.5 ± 4.3	114.0 ± 5.7	116.7 ± 5.6
Soft tissue dimensions			
Tongue area, cm ²	33.1 ± 3.2	31.4 ± 1.8	38.5 ± 2.2 *†
Tongue volume, cm ³	133.3 ± 15.5	131.7 ± 12.3	162.2 ± 14.2 *†
Pharyngeal length, mm	64.8 ± 7.0	68.9 ± 8.0	77.0 ± 9.4 *
Soft palate length, mm	37.3 ± 3.7	35.9 ± 2.5	40.9 ± 4.6 †
Upper airway volume, cm ³	83.7 ± 16.0	103.3 ± 56.0	120.9 ± 42.5

* p<0.05 from the AHI ≥ 30, regarding to group AHI < 15.

† p<0.05 from the AHI ≥ 30, regarding to group 15 ≤ AHI < 30.

BMI - body mass index, circ - circumference, AHI - apnea hypopnea index, SpO₂ - oxygen saturation, Pcrit - critical closing pressure, NEP - negative expiratory pressure, MPH - mandibular plane to hyoid distance.

Table 3. Anthropometric, sleep and anatomical variables according to the median value of NEP.

Variables	$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP} < 0.47$	$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP} > 0.47$	P
	n=14	n=14	
Age, yr	41 ± 10	49 ± 13	0.097
BMI, kg/m ²	27.4 ± 4.4	31.4 ± 4.6	0.028
Neck circ, cm	39.3 ± 2.6	42.7 ± 3.3	0.006
Abdominal circ, cm	94.9 ± 11.8	107.9 ± 13.0	0.011
AHI, events/h (range)	20.7 ± 16.1 (4.2 - 66.6)	39.3 ± 31.4 (1.9 - 85.8)	0.063
SpO ₂ min, %	84.1 ± 5.5	79.0 ± 10.2	0.119
T SpO ₂ <90%, min	4.1 ± 6.1	46.6 ± 75.1	0.045
Pcrit, cmH ₂ O (range)	-1.7 ± +3.1 (-7.2 - +2.9)	0.3 ± 2.7 (-3.8 - +6.2)	0.075
Bony dimensions			
MPH, mm	14.0 ± 8.5	18.7 ± 8.1	0.157
Cranial base angle, °	129.6 ± 4.6	128.2 ± 3.2	0.374
Maxillary length, mm	88.8 ± 3.9	85.0 ± 3.3	0.011
Mandibular length, mm	115.0 ± 5.0	114.3 ± 5.5	0.717
Soft tissue dimensions			
Tongue area, cm ²	32.5 ± 3.2	36.2 ± 3.6	0.009
Tongue volume, cm ³	130.6 ± 13.7	153.7 ± 18.2	0.001
Pharyngeal length, mm	65.3 ± 8.0	74.5 ± 8.6	0.007
Soft palate length, mm	35.9 ± 2.9	40.2 ± 4.1	0.003
Upper airway volume, cm ³	95.6 ± 42.6	105.9 ± 40.2	0.523

Values are presented as mean ± standard deviation. BMI - body mass index, circ - circumference, AHI - apnea/hypopnea index, SpO₂ - oxygen saturation, Pcrit - critical closing pressure, MPH - mandibular plane to hyoid distance.

Table 4. Associations between upper airway collapsibility evaluated by NEP while awake and Pcrit during sleep with anthropometric variables and upper airway anatomy (n=28).

	NEP Wakefulness	Pcrit Sleep
	r	r
Anthropometric variables		
Age	.360	.403*
BMI	.500*	.438*
Neck circumference	.515*	.552*
Abdominal circumference	.511*	.516*
Bony dimensions		
MPH	.432*	.705**
Cranial base angle	-.241	-.156
Maxillary length	-.417*	-.107
Mandibular length	-.009	-.118
Soft tissue dimensions		
Tongue area	.646**	.585*
Tongue volume	.565*	.613**
Pharyngeal length	.580*	.611**
Soft palate length	.472*	.612**
Upper airway volume	.122	.313

* p < 0.05, ** p < 0.0001

NEP - negative expiratory pressure, Pcrit - critical closing pressure, MPH - mandibular plane to hyoid distance, BMI - body mass index, circ - circumference, AHI - apnea/hypopnea index, Pcrit - critical closing pressure.

Figure 1. NEP application and Pcrit determination of 2 representative patients (A and B). From top to bottom: flow and pressure from curves during 3 stable breathings and during NEP application (-5 cmH₂O) triggered at onset of expiration. The bottom graph represents the regression line obtained to determination of Pcrit during sleep induction in a separate experiment of patients A and B, respectively. Each point represents the peak inspiratory flow for breaths 3-5 with flow limitation and the correspondent nasal pressure. The Pcrit is the resultant from the extrapolation of the regression line and represents the Pressure at zero-flow. Patient A is a 52 years old male (weight = 71.9 kg, height = 1.61 m, BMI = 27.7 kg/m², and AHI = 15.4 events/h) with NEP = 0.32 and Pcrit = -5.53 cmH₂O. Patient B is a 47 years old male (weight = 139.6 kg, height = 1.88 m, BMI = 39.5 kg/m², and AHI = 80.2 events/h) with NEP = 0.94 and Pcrit = +4.32.

$V_{0.2SB}/V_{0.2NEP}$ - ratio between mean exhaled volume at 0.2s during stable breathing and the exhaled volume at 0.2s during NEP, V_{iMax} - peak inspiratory flow, Pcrit - pharyngeal critical closing pressure.

Figure 2. Sagittal CT scan of the upper airway. MP - mandibular plane, MPH - mandibular plane to hyoid distance, PNS - posterior nasal spine, Pharyngeal length - distance between the posterior nasal spine to epiglottis.

Figure 3. Correlation analyses among upper airway collapsibility measured while awake (NEP - left side) and during sleep (Pcrit - right side) with pharyngeal length (distance between posterior nasal spine to epiglottis) and tongue dimension (represented by tongue volume).

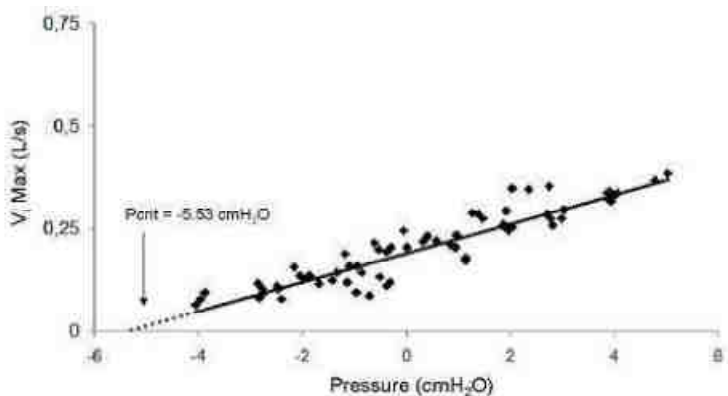
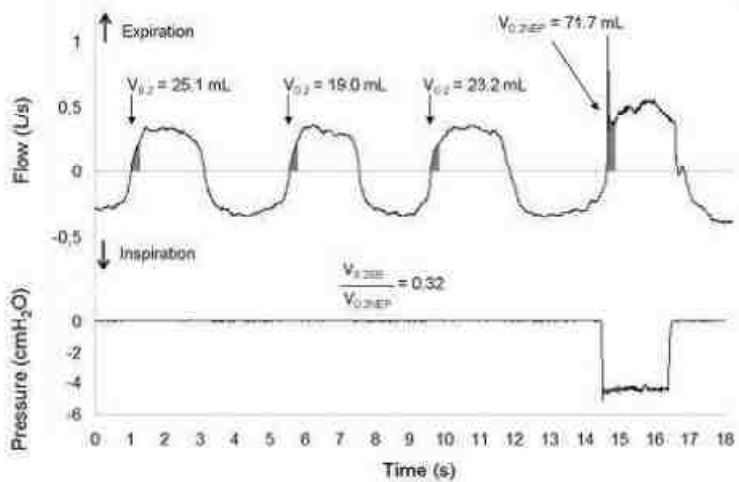
References

- 1 AASM. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep* 1999; 22:667-689
- 2 Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, et al. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Med* 2010; 11:441-446
- 3 Sawyer AM, Gooneratne NS, Marcus CL, et al. A systematic review of CPAP adherence across age groups: clinical and empiric insights for developing CPAP adherence interventions. *Sleep Med Rev* 2011; 15:343-356
- 4 Abramson Z, Susarla S, August M, et al. Three-dimensional computed tomographic analysis of airway anatomy in patients with obstructive sleep apnea. *J Oral Maxillofac Surg* 2010; 68:354-362
- 5 Barkdull GC, Kohl CA, Patel M, et al. Computed tomography imaging of patients with obstructive sleep apnea. *Laryngoscope* 2008; 118:1486-1492
- 6 Cistulli PA. Craniofacial abnormalities in obstructive sleep apnoea: implications for treatment. *Respirology* 1996; 1:167-174
- 7 Schwab RJ, Pasirstein M, Pierson R, et al. Identification of upper airway anatomic risk factors for obstructive sleep apnea with volumetric magnetic resonance imaging. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168:522-530
- 8 Gold AR, Schwartz AR. The pharyngeal critical pressure. The whys and hows of using nasal continuous positive airway pressure diagnostically. *Chest* 1996; 110:1077-1088
- 9 Sforza E, Bacon W, Weiss T, et al. Upper airway collapsibility and cephalometric variables in patients with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:347-352
- 10 Watanabe T, Isono S, Tanaka A, et al. Contribution of body habitus and craniofacial characteristics to segmental closing pressures of the passive pharynx in patients with sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:260-265
- 11 Genta PR, Schorr F, Eckert DJ, et al. Upper airway collapsibility is associated with obesity and hyoid position. *Sleep* 2014; 37:1673-1678
- 12 Schorr F, Kayamori F, Hirata RP, et al. Different craniofacial characteristics predict upper airway collapsibility in Japanese-Brazilian and Caucasian Males. *Chest* 2015
- 13 Valta P, Corbeil C, Lavoie A, et al. Detection of expiratory flow limitation during mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:1311-1317
- 14 Koulouris NG, Valta P, Lavoie A, et al. A simple method to detect expiratory flow limitation during spontaneous breathing. *Eur Respir J* 1995; 8:306-313
- 15 Insalaco G, Romano S, Marrone O, et al. A new method of negative expiratory pressure test analysis detecting upper airway flow limitation to reveal obstructive sleep apnea. *Chest* 2005; 128:2159-2165
- 16 Liistro G, Veriter C, Dury M, et al. Expiratory flow limitation in awake sleep-disordered breathing subjects. *Eur Respir J* 1999; 14:185-190
- 17 Montemurro LT, Bettinzoli M, Corda L, et al. Relationship between critical pressure and volume exhaled during negative pressure in awake subjects with sleep-disordered breathing. *Chest* 2010; 137:1304-1309

- 18 Verin E, Tardif C, Portier F, et al. Evidence for expiratory flow limitation of extrathoracic origin in patients with obstructive sleep apnoea. *Thorax* 2002; 57:423-428
- 19 Pereira CAC. II Consenso Brasileiro de Espirometria. *J Pneumol* 2002; 28:S1-S82
- 20 Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26:319-338+
- 21 Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson Jr A, et al. The AASM Manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications.: Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine, 2007
- 22 Genta PR, Eckert DJ, Gregorio MG, et al. Critical closing pressure during midazolam-induced sleep. *J Appl Physiol* 2011; 111:1315-1322
- 23 Eckert DJ, White DP, Jordan AS, et al. Defining phenotypic causes of obstructive sleep apnea. Identification of novel therapeutic targets. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188:996-1004
- 24 Owens RL, Edwards BA, Eckert DJ, et al. An Integrative Model of Physiological Traits Can Be Used to Predict Obstructive Sleep Apnea and Response to Non Positive Airway Pressure Therapy. *Sleep* 2014; 38:961-970
- 25 Segal Y, Malhotra A, Pillar G. Upper airway length may be associated with the severity of obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath* 2008; 12:311-316
- 26 Tsuiki S, Isono S, Ishikawa T, et al. Anatomical balance of the upper airway and obstructive sleep apnea. *Anesthesiology* 2008; 108:1009-1015
- 27 Sutherland K, Lee RW, Phillips CL, et al. Effect of weight loss on upper airway size and facial fat in men with obstructive sleep apnoea. *Thorax* 2011; 66:797-803
- 28 Montemurro LT, Bettinzoli M, Corda L, et al. Influence of upper airway size on volume exhaled under negative pressure during evaluation of upper airway collapsibility. *Sleep Breath* 2012; 16:399-404
- 29 Romano S, Salvaggio A, Hirata RP, et al. Upper airway collapsibility evaluated by negative expiratory pressure test in severe obstructive sleep apnea. *Clinics* 2011; 66:6
- 30 Romano S, Salvaggio A, Lo Bue A, et al. A negative expiratory pressure test during wakefulness for evaluating the risk of obstructive sleep apnea in patients referred for sleep studies. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66:1887-1894
- 31 Tantucci C, Duguet A, Ferretti A, et al. Effect of negative expiratory pressure on respiratory system flow resistance in awake snorers and nonsnorers. *J Appl Physiol (1985)* 1999; 87:969-976
- 32 Van Meerhaeghe A, Delpire P, Stenuit P, et al. Operating characteristics of the negative expiratory pressure technique in predicting obstructive sleep apnoea syndrome in snoring patients. *Thorax* 2004; 59:883-888
- 33 Koulouris NG, Dimopoulou I, Valta P, et al. Detection of expiratory flow limitation during exercise in COPD patients. *J Appl Physiol* 1997; 82:723-731
- 34 Morrison DL, Launois SH, Isono S, et al. Pharyngeal narrowing and closing pressures in patients with obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:606-611
- 35 Meurice JC, Marc I, Carrier G, et al. Effects of mouth opening on upper airway collapsibility in normal sleeping subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:255-259

- 36 Grippo A, Carrai R, Romagnoli I, et al. Blunted respiratory-related evoked potential in awake obstructive sleep apnoea subjects: a NEP technique study. *Clin Neurophysiol* 2011; 122:1562-1568
- 37 Tantucci C, Mehiri S, Duguet A, et al. Application of negative expiratory pressure during expiration and activity of genioglossus in humans. *J Appl Physiol* (1985) 1998; 84:1076-1082
- 38 Chin CH, Kirkness JP, Patil SP, et al. Compensatory responses to upper airway obstruction in obese apneic men and women. *J Appl Physiol* (1985) 2012; 112:403-410
- 39 Kirkness JP, Schwartz AR, Schneider H, et al. Contribution of male sex, age, and obesity to mechanical instability of the upper airway during sleep. *J Appl Physiol* (1985) 2008; 104:1618-1624

PATIENT A



PATIENT B

