



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO – UNINOVE
Programa de Pós Graduação Doutorado em Ciências da Reabilitação

Sergio Roberto Nacif

**TESTE DE PRESSÃO NEGATIVA EXPIRATÓRIA COMO PROPOSTA DE
SCREENING PARA A APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO EM PACIENTES
COM MIASTENIA GRAVIS.**

São Paulo – SP

2014

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO – UNINOVE
Programa de Pós Graduação Doutorado em Ciências da Reabilitação

Sergio Roberto Nacif

**TESTE DE PRESSÃO NEGATIVA EXPIRATÓRIA COMO PROPOSTA DE
SCREENING PARA A APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO EM PACIENTES
COM MIASTENIA GRAVIS.**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação Doutorado em Ciências da Reabilitação da Universidade Nove de Julho como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências da Reabilitação.

Orientador: Prof. Dr. Luis Vicente F. Oliveira

São Paulo – SP

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Nacif, Sergio Roberto.

Teste de pressão negativa expiratória como proposta de Screening para a apneia obstrutiva do sono em pacientes com miastenia gravis. / Sergio Roberto Nacif. 2014.

96 f.

Tese (doutorado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2014.

Orientador (a): Prof. Dr. Luis Vicente Franco de Oliveira.

1. Pressão negativa expiratória. 2. Screening. 3. Apneia obstrutiva do sono. 4. Miastenia gravis. 5. Distúrbio do sono.

I. Oliveira, Luis Vicente Franco. II. Titulo

CDU 615.8

São Paulo, 16 de dezembro de 2014.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno(a): SERGIO ROBERTO NACIF

Título da Tese: "Estudo do teste de pressão negativa expiratória (NEP) como proposta de screening para a apneia obstrutiva do sono em pacientes com miastenia gravis".

Presidente: PROF. DR. LUIS VICENTE FRANCO DE OLIVEIRA



Membro: PROF. DR. ROBERTO STIRBULOV



Membro: PROF. DR. RODOLFO DE PAULA VIEIRA



Membro: PROF. DR. MICHEL BURIHAN CAHALI



Membro: PROFA. DRA. LUCIANA MARIA MALOSÁ SAMPAIO



DEDICATÓRIA

Ao meu Professor e orientador, Dr. Luis Vicente Franco de Oliveira, incansável na busca da verdade científica e pesquisador nato, que me despertou o espírito acadêmico.

Aos meus filhos, Rachel, Gustavo, Paula e Gabriela, esta recém chegada de 7 anos, de quem certamente foram subtraídas muitas horas e dias de convívio familiar. Que possam compreender minha ausência, embora nem sempre aceita. Mas sempre me incentivaram e não permitiram desistir, permanecendo ao meu lado mesmo nos momentos mais difíceis, mesmo à distância.

À minha atual companheira, Andreia, incansável na educação familiar e no apoio ao meu trabalho, sempre me compreendeu na ausência. A você dedico este trabalho, embora não recompense a minha falta familiar.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luis Vicente Franco de Oliveira que me introduziu na atividade acadêmica, estimulando-me e apoiando nesta longa caminhada. Minha admiração pelas suas qualidades como pessoa, orientador e, sobretudo, companheiro nas horas mais difíceis. Sem a sua ajuda não teria conseguido atingir este momento.

À Uninove, universidade que me acolheu, deu todo apoio e condições para desenvolver meus conhecimentos.

À Capes, que forneceu todo apoio material.

Aos colegas, estudantes, graduandos e pós graduandos que atuam no Laboratório do Sono da Uninove, que muito participaram das minhas atividades. Especial agradecimentos ao Israel, Ismael, Ezequiel, Nádua, Jéssica e Nina, pós graduandos, que acompanharam todo o trabalho, colaborando nas atividades de coleta de dados, polissonografia, testes de PNE, pesquisa bibliográfica, revisão e elaboração do projeto final.

Aos Professores e pesquisadores do Conselho Nacional de Pesquisa Italiano, de Palermo, que me acolheram e me ensinaram aplicar os testes com a PNE, onde foi desenvolvida toda a tecnologia, agora também em uso no Brasil.

Aos pacientes do Ambulatório de Doenças Neuromusculares da Unifesp, Serviço do Prof Acari e dos pacientes do Ambulatório do Hospital do Servidor Público do Estado de São Paulo – HSPE, Serviço de Doenças Neuromusculares, coordenado pelo Dr. João R. Pereiro. Agradecimento especial pela disposição para colaborar para o desenvolvimento da pesquisa e possíveis novas opções de tratamento, principalmente para o próximo.

SUMÁRIO

RESUMO-----	9
LISTA DE ABREVIATURAS - -----	10
LISTA DE FIGURAS-----	12
1. Contextualização-----	13
1.1. Definição -----	13
1.2. Diagnóstico e Tratamento da Miastenia gravis -----	14
1.3. Sinais e Sintomas da Miastenia gravis -----	15
1.4. Associação dos distúrbios do sono e Miastenia gravis -----	16
1.5. Apneia Obstrutiva do Sono -----	16
2. Fisiopatologia da obstrução das vias aéreas superiores -----	18
2.1. Anatomia das vias aéreas superiores -----	18
2.2. Obesidade -----	19
2.3. Gravidez e distúrbios respiratórios do sono -----	19
2.4. Fatores neuromusculares -----	20
2.5. Instabilidade ventilatória -----	21
2.6. Diferença entre generos -----	22
2.7. Idade -----	23
2.8. Determinantes da patência das vias aéreas superiores -----	23
3. Teste de Pressão Negativa Expiratória (PNE)-----	27
4. Justificativa -----	28
5. Objetivos-----	29
5.1. Objetivo geral -----	29
5.2. Objetivos específicos -----	29
6. Metodo-----	29
6.1 Desenho do estudo-----	29
6.2. Considerações éticas -----	29
6.3. População-----	31
6.4. Protocolo-----	31
6.5. Exame físico -----	31
6.6. Espirometria -----	32
6.7. Manovacuometria -----	32

6.8. Teste da Pressão Negativa Expiratória	33
6.9. Polissonografia basal noturna	36
6.10. Questionário clínico de Berlim	37
6.11. Escala de Epworth	37
6.12. Cálculo amostral e análise estatística	37
7. Resultados	38
8. Discussão	44
9. Conclusão	50
10. Referências	52
11. Anexos	63
11.1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – CoEP	64
11.2. Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC)	67
11.3. – Artigo publicado	69
11.4. – Artigo enviado – Revisão sistemática PNE	77

RESUMO

Introdução: A apneia obstrutiva do sono (AOS) é um distúrbio respiratório caracterizado pelo colapso da via aérea superior com importante prevalência na população em geral e especificamente nas doenças neuromusculares. **Objetivo:** Verificar a eficácia do teste da pressão negativa expiratória (PNE) como proposta de *screening* para AOS em pacientes com Miastenia gravis. **Método:** Participaram deste estudo 15 pacientes (12 mulheres) provenientes do Setor de Investigação de Doenças Neuromusculares e Associação Brasileira de Miastenia Grave, os quais foram submetidos à polissonografia basal noturna (PSG), espirometria, manovacuometria e teste da PNE. **Resultados:** A média de idade foi de $41,46 \pm 11,32$ anos, peso médio de $78,4 \pm 15,28$ kg e o índice de massa corpórea médio foi de $29,34 \pm 5,3$ kg/m². As variáveis fisiológicas do sono observadas na PSG chamam a atenção para a saturação periférica mínima de oxigênio, para a latência e tempo total de sono REM, IAH e tempo de ronco. O IAH médio foi de $17,5 \pm 21,7$ sendo a maioria eventos obstrutivos. A análise estatística para verificação da existência de correlação entre as variáveis PNE e IAH mostrou um R de -0,5 com um valor de $p=0,06$ e, para PNE/IDO/h um R -0,45 com um valor de $p=0,08$. Quando correlacionamos os valores obtidos no teste de PNE com pressões de -6 e -10cm/H₂O observamos uma excelente correlação de $R=0,825$ com um $p=0,0000$. Em relação ao questionário clínico de Berlim, dos quinze pacientes avaliados apenas um apresentou baixo risco para AOS. As análises estatísticas para verificação da existência de correlação entre as variáveis antropométricas, fisiológicas da PSG, escala de Epworth e questionário de Berlim mostram valores significativos apenas para o IMC, circunferência abdominal e IAH. **Conclusão:** Pacientes com MG apresentam redução das pressões máximas ventilatórias associado a função pulmonar normal. Também apresentam um considerável IAH associado a queda da saturação da oxihemoglobina e redução do sono REM, com consequente presença de sonolência excessiva diurna e alto risco para AOS. Embora não tenha sido observado uma correlação entre o teste do PNE com o IAH, nossos dados mostram que pacientes com Myasthenia gravis com AOS moderada-grave apresentam grande redução do V_O,2%.

Palavras-chave: Miastenia gravis; Apneia obstrutiva do sono; Vias aéreas superiores, Pressão negativa expiratória, *Screening*.

Abstract

Introduction: Obstructive sleep apnea (OSA) is a breathing disorder characterized by the collapse of the upper airway and has significant prevalence in the general population and specifically in neuromuscular diseases. **Objective:** To determine the effectiveness of the negative expiratory pressure (NEP) test as a screening to the OSA in myasthenia gravis patients. **Method:** The study included 15 patients (12 women) from the Setor de Investigação de Doenças Neuromusculares and Associação Brasileira de Miastenia Grave (ABRAMI), which underwent overnight standard polysomnography (PSG), spirometry, manovacuometer and NEP test. **Results:** The mean age was 41.46 ± 11.32 years, mean weight of 78.4 ± 15.28 kg and the mean body mass index was $29.34 \pm 5,3\text{kg} / \text{m}^2$. The physiological variables of sleep observed in PSG draw attention to the oxygen saturation nadir, for the sleep latency and total sleep rapid eyes movement (REM) time, apnea-hypopnea index (AHI) and snoring time. The mean AHI was 17.5 ± 21.7 , being most obstructive origin events. Regarding the Berlin Questionnaire, only one of the fifteen patients evaluated presented low risk for OSA. Regarding the Epworth Sleepiness Scale, we observed that six patients (40%) did not presented excessive daytime sleepiness, three (20%) had mild drowsiness, five individuos presented moderate (33.4%) and only one patient (6.6%) was classified with severe excessive daytime sleepiness with a score of 22 to a maximum of 24 points. The statistics analyses verify the existence of correlation between anthropometric variables, physiological PSG variables, Epworth Sleepiness Scale and Berlin questionnaire show higher values for body mass index (BMI), waist circumference and AHI. **Conclusion:** We can conclude that patients with MG have lower values of ventilatory maximum pressures associated with normal lung function. They also feature a considerable number of sleep disordered breathing associated with fall oxyhemoglobin saturation and reduced REM sleep, with consequent presence of excessive daytime sleepiness and high risk for OSA. Although we did not observe a correlation between the PNE test with AHI, our data show that patients with moderate-severe OSA have greatly reduced $\dot{V}O_2$ (<20%).

Keywords: Negative expiratory pressure, Screening, Obstructive sleep apnea, Myasthenia gravis, Sleep disturbes.

LISTA DE ABREVIATURAS

AASM – *American Academy of Sleep Medicine*
AFMG – *American Foundation of Myasthenia Gravis*
AOS – Apneia obstrutiva do sono
CPAP – Pressão positiva contínua na via aérea superior
CVF – Capacidade Vital Forçada
DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
DRS – Distúrbios respiratórios do sono
H⁺ - Hidrogênio ionte
IAH – índice de apneia/hipopneia por hora
IDR – Índice de distúrbio respiratório
IMC – índice de massa corpórea
L - litros
LFE – limitação ao fluxo expiratório
MG – Miastenia gravis
mmHg – Milímetros de mercúrio
PNE – Pressão Negativa Expiratória
NREm – Sono sem movimentos rápidos dos olhos
OMS – Organização Mundial da Saúde
PaO₂ – Pressão arterial parcial de oxigênio
PaCO₂ – Pressão arterial parcial de gás carbônico
P_{crit} – Pressão crítica de oclusão
PE_{max} - Pressão máxima expiratória
PI_{max} - Pressão máxima inspiratória
PNE – Pressão negativa expiratória
PSG – Polissonografia basal noturna
RAC_H – Receptores de Acetilcolina
REBEC – Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos
REM – Sono com movimento rápido dos olhos
SpO₂ – Saturação periférica da oxihemoglobina
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
VAS – Vias aéreas superiores
VEF₁ – Volume Expirado no primeiro segundo
V_{0,2} – Volume Expirado a 0,2 segundos
ΔV^ˆ - delta fluxo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do estudo -----	17
Figura 2. Esquema do teste de Pressão Negativa Expiratória -----	20
Figura 3. Gráfico do teste de Pressão Negativa Expiratória -----	21
Figura 4: Correlação entre IMC e PNE 0,2s/-10cm/H ₂ O -----	28
Figura 5: Circunferência abdominal e PNE 0,2s/-10cm/H ₂ O -----	28
Figura 6: Correlação entre IMC e PNE 0,2s/-6cm/H ₂ O -----	28
Figura 7: Correlação entre IAH e PNE 0,2s/-6cm/H ₂ O -----	29
Figura 8: PNE 0,2s/-6cm/H ₂ O e PNE 0,2s/-10cm/H ₂ O -----	29
Figura 9: Correlação entre PNE 0,2s/-6cm/H ₂ O e 0,2s/-10cm/H ₂ O -----	30
Tabela 1. Características antropométricas e clínicas -----	24
Tabela 2. Variáveis espirométricas -----	24
Tabela 3. Pressões máximas ventilatórias -----	25
Tabela 4. Parâmetros fisiológicos da polissonografia -----	26
Tabela 5. Volume expirado no 0,2s em relação ao volume inspirado -----	27

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 – Definição

A miastenia gravis (MG) é uma doença crônica autoimune caracterizada por fraqueza progressiva e fadiga dos músculos esqueléticos, devido a uma anormalidade na junção sináptica entre o nervo e as fibras musculares. A gravidade da doença depende dos grupos musculares envolvidos, variando de casos leves, com sintomas puramente oculares, para casos graves, com fraqueza muscular generalizada, incluindo, insuficiência respiratória. (1)

A sua prevalência tem sido relatada como 2-7 / 10 000 habitantes no Reino Unido, (7 - 2) e cerca de 1 / 10 000 em cidadãos americanos entre as idades de 20 e 40 anos, sendo as mulheres mais comprometidas do que os homens, na proporção de 3:2. (2-4) A MG é classificada de acordo com a fase de início, a presença ou ausência de anticorpos anti receptores de acetilcolina (RACH) e quanto a etiologia da doença. De acordo com o período de início, a doença pode ser classificada como auto-imune neonatal ou adulto transitória. A MG neonatal é transitória devido à transferência de anticorpos anti-RACH maternos através da placenta para o recém-nascido. (5)

Apenas 10 a 15% dos recém-nascidos com estes anticorpos manifestam os sintomas da doença (hipotonia, choro fraco e dificuldade respiratória) nas primeiras horas de vida. Os sintomas geralmente desaparecem espontaneamente de 1 a 3 semanas, embora possa ser necessário um tratamento de suporte temporário e administração de piridostigmina. (6)

De acordo com a presença ou ausência de anticorpos anti-RACH, a doença pode ser classificada como soropositiva ou soronegativa. A soropositiva é a mais comum e mais estudada das MG auto-imune, onde aproximadamente 85% dos pacientes apresentam a MG generalizada e 50% a 60% a forma ocular com o teste positivo para anticorpos anti-RACH por radioimunoensaio. A soronegativa, compromete cerca de 10% a 20% dos

pacientes com MG adquirida, sendo que estes não possuem anticorpos anti-RACH detectáveis por radioimunoensaio. (7)

De acordo com a classificação de Osserman, a MG adquirida foi inicialmente dividida em tipos I, II-A e II-B, III e IV, em relação ao surgimento dos sintomas, sua gravidade e distribuição anatômica nos grupos musculares. (8) Posteriormente, esta classificação foi modificada por um comitê da *Myasthenia Gravis Foundation of America*, visando a padronização para fins de pesquisa. Temos a **Classe I**: forma ocular pura; **Classe II**: forma generalizada leve; **Classe III**: forma generalizada moderada; **Classe IV**: forma generalizada grave; **a**: predomínio apendicular e/ou axial; **b**: predomínio orofaríngeo e/ou respiratório; **Classe V**: insuficiência ventilatória com ventilação mecânica. (5)

A crise miastênica é uma exacerbação da MG levando à paralisia progressiva transitória dos músculos respiratórios, geralmente causada por infecções altas doses de esteroides ou tratamento inadequado, o que requer o suporte ventilatório urgente, geralmente em unidade de terapia intensiva. Além de se submeterem a suporte ventilatório e antibióticoterapia, a gestão de fluidos e terapia medicamentosa anticolinesterase são necessários. A plasmaférese ou tratamento de imunoglobulina intravenosa também pode ser necessária para o controle imediato da crise. (9)

1.2 - Diagnóstico e Tratamento da MG

Nos últimos anos, tem se observado avanços significativos no diagnóstico e tratamento da MG. A doença geralmente era extremamente incapacitante e muitas vezes fatal, justificando a denominação de “gravis” no passado. O diagnóstico clínico fundamenta-se na história do paciente sendo complementado pela eletroneuromiografia com estimulação nervosa repetitiva e dosagem dos anticorpos contra os RACH. (10)

As opções terapêuticas mais modernas têm se mostrado altamente eficazes. Antes de 1958, a doença apresentava uma mortalidade cerca de 30%, apesar do tratamento. Esta mortalidade foi reduzida praticamente a zero com as atuais terapias. No entanto, a imunoterapia moderna tem melhorado

dramaticamente o prognóstico e quase todos os pacientes são capazes de levar uma vida plena e produtiva. (11)

Porém, ainda não se sabe quais os fatores que iniciam e mantêm a resposta autoimune na MG. Ainda não existe cura para a MG, mas existem medicamentos que favorecem a permanência da acetilcolina na junção neuromuscular e outros que reduzem a produção de anticorpos contra os receptores da acetilcolina.

Os corticosteroides e os imunossupressores também são recursos farmacológicos utilizados no tratamento dessa doença. A plasmaferese tem-se mostrado útil em alguns casos, mas apresenta o inconveniente de produzir efeitos de curta duração. Os resultados da retirada do timo também são discutíveis. (11-13)

1.3 - Sinais e sintomas da MG

Normalmente, os pacientes apresentam uma história de fraqueza e fadiga dos músculos esqueléticos em atividades sustentadas ou repetidas com melhora após o repouso. Os sintomas variam de dia para dia e de hora a hora, geralmente aumentando ao final do dia e começo da noite. Os fatores mais conhecidos por aumentar a fraqueza incluem esforços repetitivos, altas temperaturas, infecções, alterações emocionais, certos medicamentos (por exemplo, aminoglicosídeos, fenitoína, anestésicos locais), pós cirurgias, fluxo menstrual e gravidez. Os músculos mais comprometidos em ordem decrescente de frequência são os elevadores das pálpebras, músculos extra-oculares, músculos proximais dos membros, músculos da expressão facial e extensores do pescoço. (8)

Os músculos oculares externos são afetados inicialmente em cerca de 50% e na fase avançada em 90% dos casos. A ptose palpebral que muitas vezes é parcial, podendo ser unilateral, é uma característica de apresentação comum, muitas vezes de natureza flutuante. (14) Inicialmente, os músculos mais comprometidos são o elevador da pálpebra, os músculos extra-oculares,

orbiculares, músculos faciais, músculos da mastigação, deglutição, fonação, pescoço, ombro e músculos do quadril. (3)

O comprometimento respiratório na MG é geralmente atribuído à fraqueza do músculo diafragma e dos músculos acessórios da ventilação, no entanto, a obstrução das vias aéreas superiores pode ter outra causa de comprometimento respiratório na MG. (15-17)

1.4 - Associação dos distúrbios do sono e MG

A presença de distúrbios do sono em pacientes com doenças neuromusculares nem sempre é óbvia, e muitas vezes os pacientes atribuem os sintomas como sonolência diurna e fadiga a sua doença neurológica de base. Além disso, os sintomas se desenvolvem frequentemente de forma progressiva, dificultando a percepção, no entanto, os distúrbios do sono, particularmente os distúrbios respiratórios do sono (DRS) surgem como uma das principais causas de morbimortalidade em pacientes com doenças neuromusculares. Portanto, é extremamente importante que profissionais da saúde conheçam as manifestações de distúrbios do sono nesta população.

O sono pode comprometer negativamente a ventilação e a mecânica da respiração em pacientes com doenças neuromusculares, e se existirem distúrbios respiratórios do sono associados pode ocorrer piora da função cardiopulmonar. São escassos os estudos que descrevem a respiração durante o sono em pacientes com MG, embora alguns observaram a presença dos DRS nesses pacientes. (18-20)

1.5 - Apneia Obstrutiva do Sono

Apneia do sono é definida como a cessação completa do fluxo aéreo por um tempo maior do que 10 segundos, sendo considerada apneia obstrutiva do sono (AOS) quando associada ao esforço inspiratório durante o período de ausência de fluxo. A hipopneia é definida como uma redução de pelo menos 30% no sinal de fluxo respiratório por um tempo maior do que 10 segundos,

associada a uma dessaturação da oxihemoglobina de 4%. O índice de apneia/hipopneia (IAH) é definido e calculado através do número total de eventos respiratórios (apneias e hipopneias) por hora de sono. (21)

Após a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e a asma, a AOS é a doença respiratória mais importante e difundida, comprometendo de 3% a 7% da população masculina e 2% a 5 % da população feminina entre os 40 e 65 anos de idade na população geral, no mundo ocidental. (22) No Brasil, um estudo conduzido na cidade de São Paulo envolvendo 1042 participantes, submetidos a PSG, mostrou uma considerável prevalência da AOS.

Segundo os autores, a AOS foi observada em 32,8% dos envolvidos, homens e mulheres com média de idade de 42 ± 14 anos. Considerando um IAH maior de 15, foi observada a prevalência de 24,8% (21,0 – 29,1) para homens e de 9,6% (7,4 – 12,3) para as mulheres. (23)

A AOS tem uma importante implicação social relacionada a acidentes (24), riscos cardiovasculares (25, 26) implicações neuropsicológicas (27), redução da qualidade de vida (28) e aumento da utilização dos recursos de saúde (29, 30) que, se subdiagnosticada, pode trazer graves consequências.

O aumento da colapsabilidade da via aérea superior, é um dos principais determinantes da AOS (31, 32), porém, o mecanismo responsável por esse colapso da faringe durante o sono permanece incerto. Alguns estudos identificaram como causas, fatores anatômicos (33, 34), alteração do controle neuromuscular (35, 36), acúmulo de líquidos e ou tecido adiposo (33, 37) que podem predispor o colapso da faringe durante o sono em pacientes com AOS.

O diagnóstico padrão ouro da AOS é realizado através da polissonografia basal noturna (PSG), que consiste na avaliação dos estágios do sono e da vigília, respiração, função cardiovascular e movimentos corporais através do registro simultâneo de variáveis do eletroencefalograma, eletro-oculograma e eletromiograma, além de registros do fluxo aéreo, do esforço ventilatório, do eletrocardiograma, da oximetria digital de pulso, da atividade muscular de membros inferiores, do ronco e da posição corporal. (38, 39)

2. FISIOPATOLOGIA DA OBSTRUÇÃO DA VIA AÉREA ALTA

O colapso das vias aéreas superiores (VAS) na AOS tem sua fisiopatologia heterogênea, ainda não completamente compreendida e múltiplas causas podem estar presentes. Portanto, sua patogênese é multifatorial, apresentando uma grande variedade entre a população. (40)

2.1 - Anatomia das vias aéreas superiores

A faringe, estrutura complexa com diversas funções como deglutição, respiração e fonação é composta de mais de 2 dezenas de músculos. Com o desenvolvimento da fonação, a faringe tornou-se mais alongada nos seres humanos, comparada a outros mamíferos e, como consequência o osso hióide perdeu a conexão com o processo estiloide, visto em outros mamíferos. O osso hióide exerce importante função estabilizadora da faringe, recebendo inserção de alguns músculos dilatadores. Desta forma, a faringe tornou-se mais colapsável no ser humano, devido a sua mobilidade e falta de conexão esquelética do osso hióide. (41, 42)

A anatomia crânio-facial e a sua interação com as partes moles das VAS superiores desempenham papel importante na gênese da AOS. Desta forma, a hipertrofia tonsilar, a retrognatia e a redução do corpo mandibular podem estar associados à AOS. (43-47)

A distribuição central de tecido adiposo pode aumentar a circunferência cervical, ocorrendo deposição de gordura na língua e ao redor das vias aéreas superiores, além do aumento das paredes laterais da faringe. (48-49) O aumento das partes moles circundantes pode reduzir o diâmetro da VAS, aumentando o risco para a AOS. (50, 51) Este aumento das partes moles associado a uma anatomia reduzida (como na retrognatia), aumenta o risco de AOS. Ao contrário, diante de uma anatomia crânio-facial normal, o mesmo aumento das partes moles pode representar risco menor para desenvolver

AOS. (52)

Outro fator muito discutido ultimamente, que pode contribuir para aumento das partes moles e conseqüente redução do diâmetro das VAS é o deslocamento de fluídos corporais dos membros inferiores em direção cefálica durante o sono em decúbito, aumentando a circunferência cervical devido ao aumento do volume extraluminal, refletindo em aumento da resistência aérea, predispondo a AOS. White, Bradley e Logan em 2014 observaram uma elevada prevalência de AOS em estados de retenção de fluidos, incluindo hipertensão, associado a uma relação direta entre a gravidade da doença e o volume de fluido deslocado das pernas para o pescoço durante o sono. (53)

2.2 Obesidade

A obesidade pode reduzir substancialmente os volumes pulmonares, principalmente em seu extremo, devido aumento do volume abdominal e impedimento mecânico da caixa torácica, acentuando-se com o decúbito. Ela também produz o aumento da circunferência cervical e constitui o principal fator de risco para AOS.

Com o decúbito dorsal durante o sono, os volumes pulmonares reduzem-se mais ainda, devido ao aumentando da pressão abdominal e conseqüente restrição de movimentação do músculo diafragma. Os volumes pulmonares normais exercem tração traqueal através de estruturas mediastinais que tensionam as paredes laterais da faringe, aumentando seu diâmetro. A redução destes volumes compromete a tração traqueal durante a negatização da pressão intratorácica devido ao descenso do diafragma, levando a um aumento da espessura da parede faríngea e estreitamento da via aérea. (54, 55)

2.3 – Gravidez e Distúrbios respiratórios do Sono

A gravidez esta associada a muitas alterações fisiológicas e hormonais, comprometendo a estrutura do sono e podendo colocar a mulher grávida em

risco de desenvolver DRS ou agravar uma AOS preexistente. O ronco, a manifestação mais frequente dos DRS, geralmente se encontra aumentado durante a gravidez.

A exata prevalência da AOS na gravidez, é ainda pouco esclarecida. Como a reserva de oxigênio é reduzida na gravidez, a presença de episódios de apneia, frequentemente associados a dessaturações da oxihemoglobina, pode ser potencialmente prejudicial ao feto. A AOS esta associada ao risco aumentado de hipertensão arterial sistêmica na população geral, o que aumenta o risco de hipertensão na gestação e preeclampsia. (56)

As alterações hormonais e fisiológicas que ocorrem durante a gravidez aumentam o risco para DRS (insônia, sonolência diurna, SPI) e para os DRS (ronco, resistência aumentada das vias aéreas superiores e apneia obstrutiva do Sono). Estima-se que 10-27% das mulheres grávidas podem sofrer de ronco habitual⁹ e há cada vez mais evidências que sugerem que a apnéia do sono e ronco durante a gravidez estão associados com um risco aumentado de hipertensão gestacional e pré-eclampsia. SDB e curta duração do sono em mulheres grávidas também podem estar associada com o risco de diabetes gestacional. (57)

Portanto, há evidências que a curta duração do sono e má qualidade estão associados ao sofrimento materno e fetal. Os mecanismos envolvidos podem incluir a ativação do sistema nervoso simpático (aumento do tônus adrenérgico, que predomina durante a vigília e despertares), aumento do estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial (relacionados a morbidade cardiovascular) e resistência insulínica. (56, 57)

2.4 - Fatores neuromusculares

O músculo genio-glosso é o principal músculo da língua e um dos principais dilatadores da faringe. Durante o ciclo respiratório os músculos dilatadores da faringe são ativados de forma tônica (contínua) e fásica (intermitente), estabilizando a VAS, evitando o colapso da faringe durante a inspiração, quando é gerada a pressão negativa na via aérea. Também são

estimuladas as fibras proprioceptivas na faringe, aumentando a atividade muscular dilatadora (58). Este mecanismo protetor parece estar comprometido na AOS.

Foi demonstrado que, a atividade dos músculos dilatadores como o genioglosso e tensor palatino está aumentada na AOS durante a vigília, quando comparado com indivíduos normais e o tratamento com pressão positiva reduz sua atividade. (59) Durante o sono há perda da aferência pré-motora tônica e da ativação muscular reflexa (proprioceptiva), reduzindo a atividade eletromiográfica, com risco de colapso.

O menor diâmetro da faringe encontrada nos pacientes com AOS pode ser responsável por esta hiperatividade muscular. Com o progredir do sono, nos estágios 2 e 3 até o sono REM, observa-se a redução progressiva da atividade tônica e fásica dos músculos dilatadores da faringe, favorecendo ao colapso da VAS. (60) A oclusão e reabertura cíclica da via aérea pode levar a lesão muscular e nervosa, que poderia prejudicar a ativação reflexa da musculatura dilatadora da faringe durante um episódio de apneia. (61)

2.5 - Instabilidade ventilatória

Durante o sono o controle ventilatório é dependente dos quimiorreceptores centrais, com a pressão parcial arterial de gás carbônico (PaCO_2) variando de acordo com a concentração do hidrogênio ionte (H^+) e quimiorreceptores periféricos, variando de acordo com a pressão parcial arterial de oxigênio (PaO_2) e PaCO_2), perdendo importante influência do tônus de vigília.

Com o avançar das fases do sono, observamos o aumento do relaxamento muscular e da resistência das VAS, elevando a PaCO_2 alguns milímetros de mercúrio (mmHg) acima do valor basal de vigília (45 mmHg). O limiar apneico encontra-se aumentado, favorecendo o aparecimento de eventos de apneias centrais, caso a PaCO_2 desça abaixo deste limiar.

A resposta ventilatória a uma determinada variação na PaO_2 ou na PaCO_2 , conhecida como quimiosensibilidade, pode variar bastante entre

indivíduos e de acordo com a patologia. Altas respostas quimiosensitivas podem colocar o paciente em risco de instabilidade ventilatória devido a sua resposta hiperventilatória exacerbada a um pequeno estímulo químico.

A instabilidade ventilatória também pode ocorrer devido a um retardo do tempo de estímulo, como nos quadros de insuficiência cardíaca. A tendência a instabilidade depende do sistema de controle chamado de *loop gain* (térmo de engenharia para sistemas controlados por retorno negativo ou retroalimentação), como ocorre na resposta ventilatória a um distúrbio, como um evento apneico. (62)

Dada a situação, pacientes com elevada quimiosensibilidade (alto *loop gain*) provavelmente, irão hiperventilar acentuadamente para um determinado distúrbio, podendo reduzir a PaCO₂ abaixo do limiar apneico, seguido de uma hipoventilação e consequente apneia. Da mesma forma, um paciente com atraso no sistema de retroalimentação, como na insuficiência cardíaca, pode prolongar sua hiperventilação e, também, subsequente aumentar a instabilidade ventilatória. Há dois modos de controles do ganho do sistema *controller gain* e *plant gain*, que são os maiores determinantes do *loop gain* e, portanto, da estabilidade ventilatória. (63)

O *loop gain* avalia a resposta ventilatória em relação a um distúrbio ventilatório, como uma apneia e verifica a tendência de instabilidade do sistema de controle. O *loop gain* é igual a resposta ventilatória dividida pelo distúrbio ventilatório e quando maior que 1 reflete uma resposta ventilatória exagerada em relação ao distúrbio primário, indicando instabilidade ventilatória. Quando o *loop gain* é menor que 1, ele reflete a estabilidade ventilatória. (64, 65)

2.6- Diferença entre genero

Alguns estudos epidemiológicos mostram maior prevalência da AOS entre os homens, podendo chegar ao dobro das mulheres, embora entre elas aumente a prevalência após a menopausa e outras condições como a síndrome do ovário policístico. (66) Estudos recentes mostraram que a

colapsabilidade da VAS dos homens é maior do que a das mulheres, possivelmente por diferenças anatômicas, como o maior comprimento da VAS nos homens. (67-69)

No entanto, a mulher pós-menopausa tem a VAS maior quando comparado com a mulher pré-menopausa. (70) A deposição central de gordura com aumento da circunferência do pescoço pode refletir a influência hormonal. (71) O limiar de apneia é mais baixo nas mulheres, fazendo com que as oscilações ventilatórias com queda da $PaCO_2$ mais dificilmente promovam os eventos apneicos, protegendo-as. Estes fatos podem explicar a maior instabilidade ventilatória entre os homens, favorecendo a maior prevalência de AOS quando comparados as mulheres. (72)

2.7- Idade

A deposição de gordura ao redor da faringe aumenta com a idade e contribui para agravamento da AOS, concorrendo também para este agravamento a provável redução do reflexo ocasionado pela pressão negativa nas VAS para evitar o colapso da faringe. (73, 74)

2.8- Determinantes mecânicos da patência das VAS

O calibre da faringe humana durante o sono é influenciado por fatores similares àqueles que determinam o calibre de qualquer tubo colapsável. Outros exemplos biológicos incluem o colapso dos capilares pulmonares no ápice dos pulmões e o colapso das vias aéreas intratorácicas com a expiração forçada. Gold e Schwartz (1996) desenvolveram o modelo do resistor de Starling, que consiste de um tubo colapsável (faringe) dentro de uma caixa selada interposta por dois segmentos rígidos (nariz e laringe), para explicar a relação entre pressão e fluxo na VAS. (75)

A pressão tecidual é constante na ausência de atividade muscular dilatadora da faringe, correspondendo à pressão dentro da caixa e fora do tubo

colapsável. O colapso ocorre quando a pressão na faringe é menor que a pressão tecidual. Ao contrário, se a pressão na faringe é maior que a pressão tecidual, esta permanece aberta. Então, a pressão tecidual é igual à pressão crítica de fechamento da faringe (P_{crit}), definida como a pressão nasal em que ocorre fechamento da faringe e ausência de fluxo aéreo. (75)

A pressão a montante (nasal) menos a P_{crit} define o gradiente de pressão durante o fluxo aéreo pelo sistema e não sofre influência da pressão traqueal e sim das estruturas anatômicas a montante (resistência nasal). Desenvolve-se limitação ao fluxo aéreo quando se reduz a pressão nasal, diminuindo o gradiente de pressão. Nesta condição de limitação ao fluxo, a pressão nasal é maior que a pressão traqueal, que é igual P_{crit} . A limitação ao fluxo persistirá até que a pressão nasal se iguale a P_{crit} , quando o fluxo cessa.

Reduzindo-se a pressão nasal até a cessação do fluxo, determina-se a P_{crit} . Esta medida fornece informações importantes sobre o componente anatômico na AOS, bem como do componente funcional com a ativação da musculatura dilatadora da faringe. A P_{crit} de um indivíduo acordado é mais negativa que durante o sono e mais positiva durante a anestesia ou paralisia muscular. (76)

A P_{crit} passiva é mensurada titulando-se o gerador de fluxo com pressão positiva contínua na via aérea (CPAP) até a "*holding pressure*" (ausência de limitação ao fluxo) e reduz-se a pressão nasal por algumas respirações, realizando-se a avaliação da limitação ao fluxo sem que haja tempo para ativar a musculatura dilatadora da faringe. Após alguns minutos, a avaliação é feita com a ativação da musculatura dilatadora (P_{crit} ativa). (77)

A P_{crit} é progressivamente positiva em indivíduos normais, com ronco, hipopnéias e apnéias e pode variar em diversas situações como diferença entre gêneros, entre jovens e idosos, posição corporal e fases do sono. Para que ocorra a obstrução da VAS, é necessário a interação entre predisposição anatômica (P_{crit}) e o distúrbio no mecanismo neuromuscular dilatador da faringe. (77)

Assim, indivíduos obesos, com Pcrit elevada, se tiverem compensação neuromuscular adequada, podem não apresentar AOS. Por outro lado, indivíduos magros, com Pcrit pouco alterada podem desenvolver AOS, caso tenham compensação neuromuscular reduzida.

Os indivíduos obesos ou com alterações crânio-faciais tem maior predisposição para AOS. No entanto, a anatomia desfavorável pode ser compensada pelo recrutamento da musculatura dilatadora da faringe. Assim, a anatomia desfavorável e a deficiência no sistema de controle neuromuscular presentes simultaneamente, contribuem para o desenvolvimento da AOS. Mais recentemente, diversos estudos têm mostrado a importância destes fatores anatômicos e não anatômicos na etiopatologia da AOS. (78)

A presença de uma faringe reduzida ou mais colapsável (Pcrit alta ou mais positiva), uma responsividade reduzida do músculo genioglosso durante o sono (mínimo aumento do EMG ao aumento da pressão negativa na faringe), um baixo limiar de despertar à redução do calibre da faringe (despertar prematuro e instabilidade ventilatória), um drive ventilatório central hipersensível (alto *loop gain* - resposta ventilatória aumentada a um estímulo menor).

Portanto, a gravidade da AOS pode ser reduzida através de intervenções que diminuam a Pcrit, aumentem o limiar para despertar, reduzem o *loop gain* e aumentem a atividade neuromuscular do genioglosso. (76-79)

Recentemente, alguns estudos se aprofundaram neste discurso e grupos maiores de pacientes estão sendo estudados. Em 2013, um estudo com o objetivo de avaliar a contribuição dos diversos fatores, anatômicos e não anatômicos, na fisiopatologia da AOS foi realizado envolvendo 90 pacientes (69 com AOS e 21 controles). Os pacientes com AOS apresentavam um índice de massa corporal (IMC) de 35 ± 6 kg/m² e um IAHL mediano de 39 (19, 67).

Um estudo observou que a Pcrit é mais positiva em pacientes com AOS, comparado aos controles e, que pacientes com Pcrit menor que 2cmH₂O

apresentaram AOS acentuada (IAH > 30), pacientes com Pcrit < -5 cmH₂O não apresentaram AOS (IAH < 10). Entretanto, houve considerável sobreposição na Pcrit entre os pacientes com AOS e controles na variação subatmosférica entre -2 e -5 cmH₂O.

Segundo os autores, o limiar respiratório para despertar foi significativamente maior (mais negativa) em pacientes com AOS comparado aos controles, sendo que 1/3 destes pacientes apresentaram um baixo limiar para despertar, responsividade reduzida do músculo genioglosso e grande *loop gain*. (80)

Foram descritos quatro fenótipos e novas sugestões terapêuticas baseadas nas alterações fisiopatológicas encontradas. A categoria 1, composta de pacientes com alta Pcrit (positiva >2), 23% do total dos pacientes, invariavelmente com AOS grave e 2/3 com vulnerabilidade em uma ou mais alterações não anatômicas (responsividade muscular do genioglosso, limiar para despertar e *loop gain*). (80)

Para a categoria 1, foi indicado o uso de CPAP ou intervenção cirúrgica. Na categoria 2, composta por 58% da amostra envolvida no estudo, pacientes com Pcrit entre +2 e -2, moderada colapsibilidade e AOS moderadamente grave. Esta categoria foi dividida em 2 subgrupos: A) ausência de alteração não anatômica predispondo a AOS (36%). Além do uso do CPAP alguma intervenção anatômica pode ser requerida, como aparelho intraoral, cirurgia da faringe, perda de peso e terapia posicional.

O sub grupo B, composto por pacientes com alterações funcionais exercendo papel principal na gênese da AOS e as intervenções sendo dirigidas a correção dos fatores não anatômicos. Neste sub grupo B, a oxigenoterapia, reduz o *loop gain*, que se encontra aumentado, melhorando a gravidade da AOS em até 50%. A acetazolamida também reduz o *loop gain* e a gravidade da AOS em até 50%. A reinalação de CO₂ reduz gravidade da AOS em até 30% diminuindo o *controller gain*. O uso do eszopiclone pode aumentar o limiar para despertar em pacientes com baixo limiar e melhorar a AOS em até 45%.

Na categoria 3, encontravam-se 19% dos pacientes com AOS, apresentando uma Pcrit menor que -2 a -5 cmH₂O, em geral com formas leves ou moderadas de AOS. Nesta categoria, combinam-se diversas alterações fisiológicas não anatômicas e o tratamento deve associar terapias como o uso de oxigênio ou consolidação do sono. (80)

3 TESTE DE PRESSÃO NEGATIVA EXPIRATÓRIA – PNE

Inicialmente, o método foi utilizado na avaliação da limitação ao fluxo expiratório (LFE) intratorácico em pacientes sob ventilação mecânica invasiva em terapia intensiva. (81) Posteriormente, o teste foi utilizado em pacientes com DPOC, em respiração espontânea, sendo considerados fluxo-limitados quando a aplicação da PNE não mostrava um incremento no fluxo durante a porção terminal do volume corrente expiratório comparado com valores prévios da curva fluxo volume. (82, 83) Entretanto, foi observado posteriormente em um estudo com indivíduos roncadores e outro envolvendo pacientes com obstrução de VAS durante o sono, que o teste poderia levar a um colapso da via aérea extratorácica, com uma queda do fluxo expiratório abaixo dos volumes normais verificados na expiração controle precedente. (84, 85)

Mais recentemente, o teste da PNE também foi utilizado para verificar as propriedades das VAS em sujeitos obesos e/ou AOS, sugerindo que, na ausência de obstrução aérea intratorácica, a resposta à aplicação da PNE poderia refletir o grau de colapsabilidade da VAS. (86-91)

O teste é realizado aplicando uma pressão negativa na cavidade oral durante a expiração, com o paciente acordado, sentado ou em decúbito dorsal. O teste é de fácil realização, requerendo mínima cooperação do paciente. A PNE está baseada no princípio de que, na ausência de LFE, o aumento no gradiente de pressão entre os alvéolos e a via aérea superior aberta causada pela pressão negativa pode resultar em um aumento do fluxo expiratório. (90)

A aplicação da PNE mostra um aumento rápido no fluxo, principalmente pela compressão dinâmica da via aérea, caindo devido à complacência oral e das estruturas do pescoço, determinada através do modo comum de razão de rejeição do transdutor diferencial de pressão utilizado para avaliar o fluxo, seguido de uma queda no fluxo, denominada delta fluxo ($\Delta V'$) 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. (92)

4 JUSTIFICATIVA

A AOS é um DRS de alta prevalência na população mundial, com uma importante implicação social relacionada à acidentes de trânsito e de trabalho além de potencializar os riscos cardiovasculares, com implicações neuropsicológicas e consequente aumento da utilização dos recursos de saúde. A PSG, diagnóstico padrão-ouro para a AOS, é um exame complexo realizado durante a noite o qual demanda um laboratório bem equipado com técnico especializado para realização e leitura do exame. É, portanto, um exame de alto custo e de disponibilidade limitada. A identificação de novos marcadores para a AOS pode ser de grande utilidade e aplicação clínica.

A utilização do teste de PNE na detecção da LFE permite a identificação de sujeitos portadores de AOS e seu grau de gravidade. Trata-se de uma técnica não invasiva, de fácil aplicação, baixo custo e que requer o mínimo de cooperação do sujeito podendo ser utilizada como ferramenta de screening na identificação de sujeitos portadores de AOS.

Propõe-se uma metodologia de baixo custo, rápida aplicabilidade e realizado em vigília, com a finalidade de uma nova estratégia de intervenção preventiva que busque uma redução do impacto desta doença em pacientes com MG podendo se estender para outras doenças neuromusculares.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Verificar se o método de pressão negativa expiratória pode ser utilizado como *screening* para a AOS em pacientes com MG.

5.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar a função pulmonar e as pressões máximas inspiratória e expiratória em pacientes com MG;
2. Identificar a qualidade do sono, presença de sonolência excessiva, risco para AOS e prevalência de distúrbios do sono em pacientes com MG;
3. Investigar se os valores do volume expirado em 0,2s após a aplicação das pressões negativas expiratórias de 6 e 10cmH₂O na via aérea superior estão associados com a presença e gravidade da AOS em pacientes com MG.

6 MÉTODO

6.1 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo observacional transversal, no Laboratório de Sono do Programa de Pós-Graduação Mestrado e Doutorado em Ciências da Reabilitação da Universidade Nove de Julho – UNINOVE. O desenho, condução e divulgação deste estudo seguiram as normas do “*Standards for the Reporting of Diagnostic accuracy studies (STARD) statement*”. (Figura 1).

6.2 Considerações éticas

A presente pesquisa obedeceu aos princípios da Declaração de Helsinque e às Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos formuladas pelo Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde estabelecida em dezembro de 2012 no Brasil. Este protocolo de estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (Brasil), sob processo n. 360.488 e está registrada junto a Organização Mundial da Saúde (OMS) em Universal Trial Number

(UTN) U1111-1147-7853 e o Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC) RBR-7ckpdd. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi exigido para a realização de todos os procedimentos, sendo permitido o afastamento a qualquer tempo sem ônus.

Todos os procedimentos deste protocolo de pesquisa de diagnóstico da eventual presença da AOS e de sugestão terapêutica são de característica pessoal e reservada, típica da relação terapeuta/paciente. Os pacientes que foram diagnosticados com AOS foram encaminhados ao serviço de Medicina do Sono e orientados imediatamente quanto a um tratamento adequado e idôneo no sentido de corrigir o distúrbio do sono.

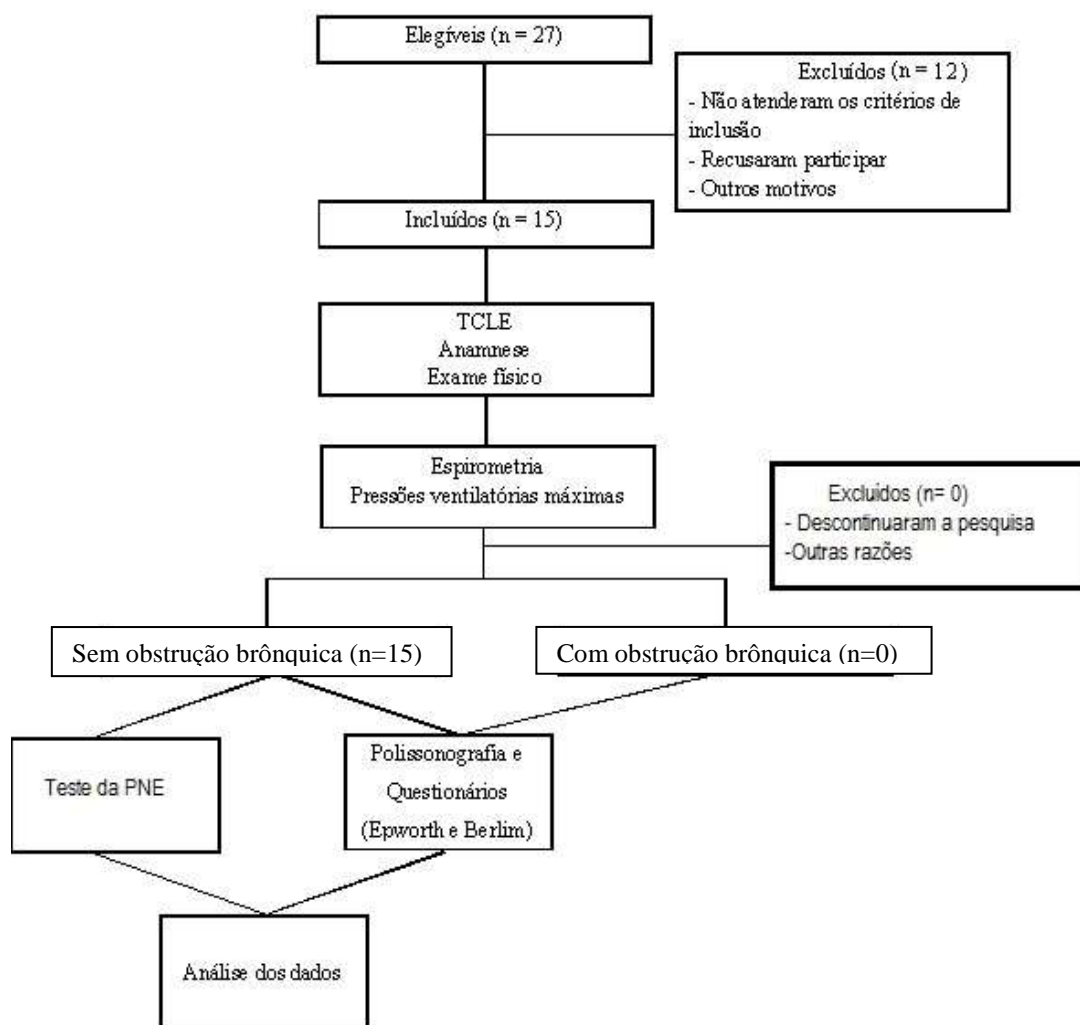


Figura 1. Fluxograma do estudo.

6.3 População

Foram envolvidos pacientes com MG recrutados prospectivamente do Setor de Investigação de Doenças Neuromusculares da Universidade Federal de São Paulo e encaminhados ao Laboratório de Sono da UNINOVE. Como critérios de inclusão, foram observados que a amostra fosse composta por pacientes com MG, de ambos os sexos, na faixa etária de 18 a 75 anos, aceitando participar voluntariamente do estudo, através da leitura e assinatura do TCLE.

Foram excluídos da pesquisa sujeitos com doenças agudas ou crônicas cardiopulmonares que tenham sido submetidos a procedimentos cirúrgicos recentes na região da caixa torácica, padrão ventilatório obstrutivo, história de acidente vascular cerebral, usuários de drogas e abuso no consumo alcoólico.

6.4 Protocolo

Inicialmente, todos os pacientes encaminhados ao Laboratório do Sono da UNINOVE foram convidados a participar do estudo, sendo esclarecidos sobre todos os procedimentos. Os pacientes foram submetidos a uma consulta médica com aprofundamento anamnésico, exame físico contendo aferição da pressão arterial periférica, dados antropométricos, medidas de circunferências (quadril, abdômen e pescoço), índice de Mallampati e avaliação de tonsilas.

Após a consulta médica, os participantes deste estudo foram submetidos a provas de função pulmonar (espirometria), manovacuometria, teste de PNE, realização de PSG basal noturna e responderam alguns questionários de sono. O teste de PNE foi realizado no laboratório do Sono da Universidade Nove de Julho no mesmo dia da PSG.

6.5 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 utilizando a classificação da Organização

Mundial da Saúde (OMS). (93) Para a avaliação dos índices de tonsilas e Mallampati modificados, os sujeitos, em posição sentada, foram instruídos a abrir a boca e protruir a língua ao máximo possível. (94, 95)

A circunferência abdominal foi mensurada com o paciente em posição ereta, em pé, no ponto médio entre a margem costal e a crista ilíaca, ao final da expiração normal. A circunferência de quadril foi verificada com o paciente na mesma posição, ao nível do trocanter maior. A circunferência de pescoço mensurada com o paciente na posição sentada, ao nível da borda anterior da cartilagem cricóide, com o pescoço em posição neutra.

6.6 Espirometria

As provas de função pulmonar foram realizadas durante o dia, com o paciente sentado em posição cômoda, com corpo ereto, sem apoio de membros superiores, por meio do espirômetro KoKo PFT System Versão 4.11 (*nSpire Health*, Inc; Louisville, CO, USA) de acordo com as diretrizes nacionais para a realização de provas de função pulmonar da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (96) e *European Respiratory Society*. (97)

Todos os exames foram realizados por fisioterapeutas e/ou médicos treinados para obter a cooperação necessária do paciente e operar apropriadamente o equipamento visando assegurar resultados acurados e reprodutíveis.

6.7 Manovacuometria

A verificação das pressões máximas ventilatórias inspiratória (PI_{max}) e expiratória (PE_{max}) constitui o teste mais fisiologicamente adequado na determinação da força muscular gerada pelos músculos ventilatórios. A PI_{max} é um indicador da capacidade de ventilação no desenvolvimento de insuficiência respiratória, sendo indicado na avaliação do grau de anormalidade e monitorização do enfraquecimento dos músculos inspiratórios na evolução de pacientes. (98)

Os testes ocorreram no mesmo dia em que os pacientes realizaram a espirometria, utilizando um manovacuômetro aneróide analógico (GER-AR ® Comércio Produtos Médicos Ltda, SP, Brasil) com faixa de operação de 0 a \pm 300 cmH₂O. Os pacientes se encontravam sentados confortavelmente, com o tronco em um ângulo de 90 graus em relação às coxas e respirando em repouso utilizando um clipe nasal. Foi utilizado um adaptador de bocal, equipado com um orifício de cerca de 2 mm de diâmetro e 15 mm de comprimento, a fim de proporcionar uma fuga de ar e, assim, impedir o aumento de pressão na cavidade oral, gerado pela contração dos músculos orbiculares e bucinadores, evitando interferência nos resultados, como recomendado. (99)

A P_Imax foi verificada a partir da condição de volume residual (VR), solicitando uma inspiração máxima após uma expiração máxima. A P_Emax foi obtida partir da capacidade pulmonar total (CPT) após o paciente realizar uma inspiração máxima. Os pacientes respiravam por alguns instantes em repouso.

A P_Emax foi determinada por uma expiração forçada súbita após uma inspiração máxima, atingindo a capacidade pulmonar total. Em cada caso, os esforços foram mantidos por pelo menos 1 segundo, sendo repetidos pelo menos 3 vezes sendo considerado a melhor prestação, desde que este não seja superior a 10% ao valor da manobra anterior. (99)

6.8 Teste da PNE

O teste da PNE foi realizado através da aplicação de uma pressão negativa na cavidade oral do paciente durante a expiração. É um teste prático, realizado durante a vigília e requer pouca cooperação do sujeito. É baseado no princípio que, na ausência de LFE, o aumento da pressão entre o alvéolo e a via aérea aberta causado pela PNE resulta em um aumento do fluxo expiratório.

A PNE é gerada por um dispositivo Venturi circular (*AeroMech Devices; Almonte, ON, Canadá*) acoplado a um torpedo de ar comprimido conectado a

uma válvula solenóide (Norgren Ltd model 95004, Vimercate, MI, Italy) operada eletricamente. A válvula solenóide possui um tempo de abertura de 50 ms, sendo automaticamente ativada no início da expiração e permanecendo aberta por 2s controlada por um software (*DirecWin 2.18A*; *Raytech Instruments*; Vancouver, BC, Canadá) (Figura 2).

O pneumotacógrafo (modelo 3830, *Hans Rudolph, Kansas City, MO*) é conectado à peça bucal. O fluxo e pressão na boca também foram mensurados pelo pneumotacógrafo acoplado a um hardware (*DirecNEP 200A*; *Raytech Instruments*) conectado ao software. As pressões negativas de 10cmH₂O são realizadas pela oclusão total do pneumotacógrafo para o ajuste do fluxo do ar comprimido para o sistema de Venturi.

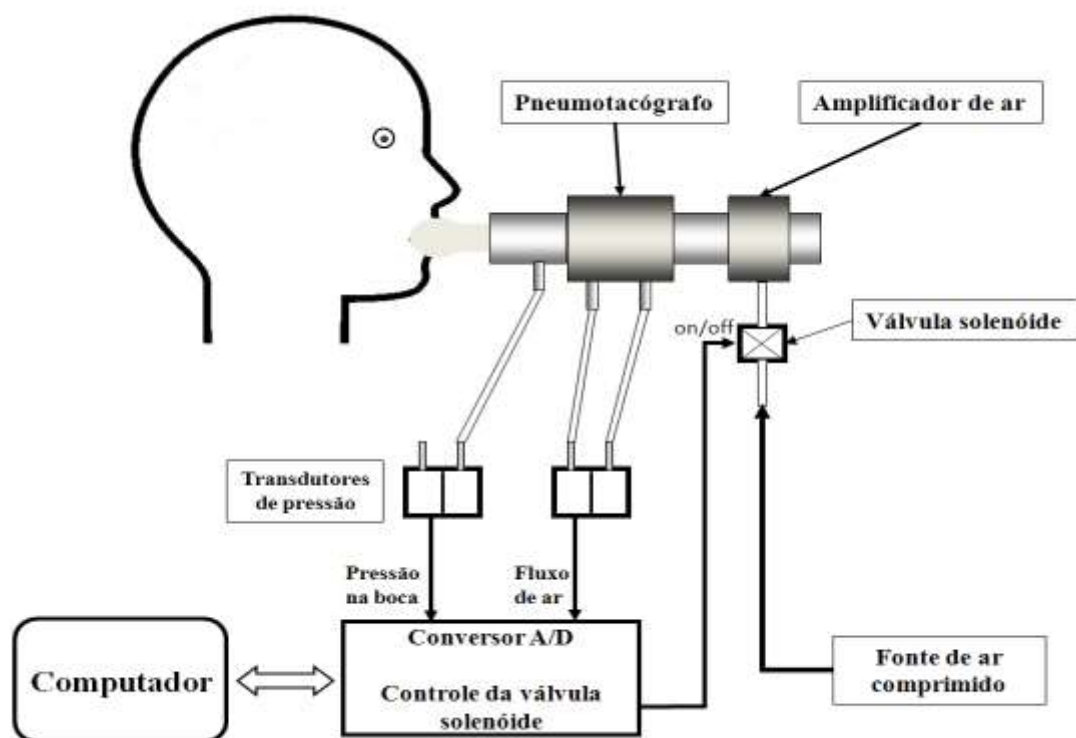


Figura 2. Esquema do teste da Pressão Negativa Expiratória.

Para este estudo, foram realizadas 10 manobras de aplicação de PNE, sendo que cada uma realizada após pelo menos quatro respirações regulares, para estabilização do padrão ventilatório. Os testes aconteceram com o paciente na posição sentada confortavelmente em uma cadeira, tomando-se o cuidado para que os pacientes mantivessem uma posição cômoda e o pescoço em posição neutra e relaxada, uma vez que a posição da cabeça possui influência sobre a colapsabilidade da via aérea superior. (100)

Todas as manobras foram executadas durante respiração tranquila, com um clipe nasal e com os pacientes acordados. O sinal de fluxo e pressão na boca é filtrado e mostrado a 200 Hz. Ambos os sinais digitais foram exibidos em tempo real na tela e armazenados no computador para posterior análise.

A aplicação da PNE durante o volume corrente produz um pico de fluxo imediato, seguido por uma queda repentina de grau variável. A colapsabilidade da via aérea superior é avaliada pelo valor de queda de fluxo ($\Delta V'$) expressa em porcentagem do pico de fluxo imediatamente após a aplicação da PNE. Para evitar reações reflexas e voluntárias ao estímulo da PNE, o fluxo mínimo é identificado nos primeiros 200ms da aplicação da PNE. (92)

A colapsabilidade da via aérea superior também foi avaliada pela medida do volume expirado a 0,2s ($V_{0,2}$) imediatamente após a aplicação da PNE (Figura 3). Estes valores são expressos como porcentagem do volume inspiratório médio das três respirações precedentes à aplicação da PNE. Os volumes mensurados serão aceitos somente se as diferenças entre inspiração e expiração de cada uma das três respirações precedentes forem abaixo de 10%. Os valores de $V_{0,2}$ e $\Delta V'$ (%) são calculados como a média de 7 manobras (31).

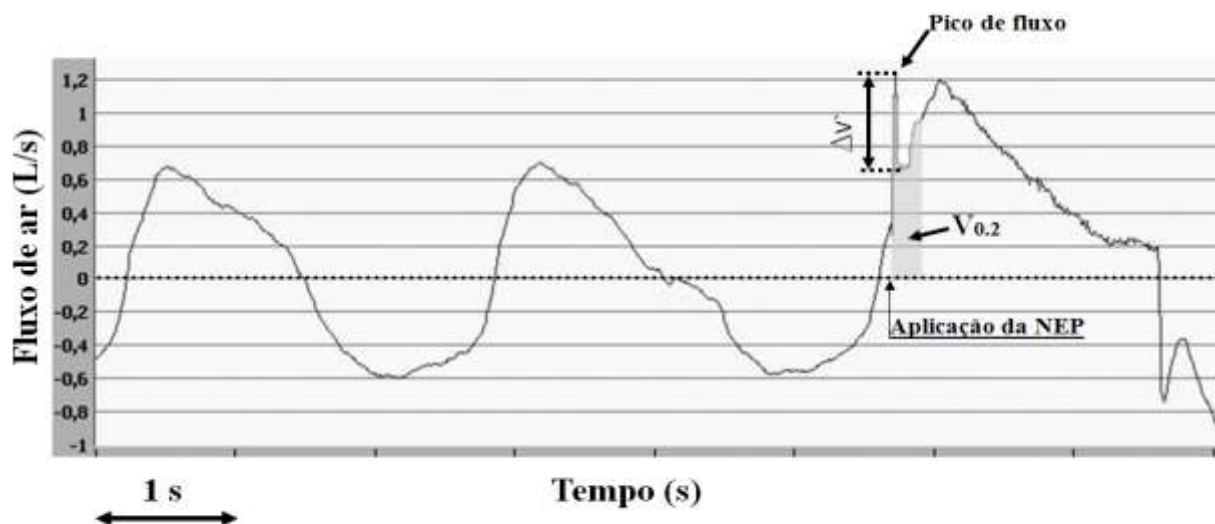


Figura 3. Gráfico do teste de Pressão Negativa Expiratória

Nota: $\Delta V'$ - delta de queda de fluxo; $V_{0,2}$ – volume expirado a 0,2 segundos após aplicação da PNE.

6.9 Polissonografia basal noturna

O exame de PSG (monitorização padrão – nível 1) foi realizado utilizando-se um sistema de análise de sono modelo *Embla Somnologica Studio* – EMBLA A10, versão 3.1.2. (*Flaga hf. Medical Devices*, Islândia) composto de 16 canais referentes à eletroencefalograma, eletrooculograma, eletromiografia submentoniano e tibial, eletrocardiograma, incluindo canais para oximetria digital, canal para respiração nasal (cânula), canal para transdutor de pressão, canais para movimentos respiratórios (cintas torácicas e abdominais do modelo *Xtrace*) e canal de posição corporal.

Os pacientes foram orientados a ficar de maneira mais relaxada possível, tranquilos e que adormecessem naturalmente, como se estivessem em casa. Todos os sinais foram gravados continuamente durante todo o período do exame de cada paciente. Durante toda a noite de estudo, os pacientes foram acompanhados por um experiente técnico em PSG, o qual permanecerá monitorando o paciente durante toda a noite do exame. A leitura dos exames foi realizada segundo as Diretrizes da *American Academy of Sleep*

Medicine – AASM (38, 39) e critérios da Sociedade Brasileira de Sono, manualmente por um técnico leitor especializado e os laudos dos exames foram dados por médico especialista em Medicina do Sono.

6.10 Questionário clínico de Berlim

O questionário clínico de Berlim foi utilizado para identificar o risco de AOS. Este questionário, de reconhecida eficácia clínica, distingue indivíduos com alto risco para AOS, em 10 itens, organizados em três categorias: ronco e apnéia (5 itens), sonolência excessiva diurna (4 itens) e hipertensão arterial sistêmica e obesidade. Todas as respostas marcadas são consideradas positivas. A pontuação é dividida nas seguintes categorias: categoria 1 é considerado positiva quando há duas ou mais respostas positivas aos itens 1 a 5; categoria 2, quando há duas ou mais respostas positivas aos itens 6 a 8; e na categoria 3, quando a resposta ao item 9 é "sim" ou com IMC ≥ 30 kg / m². Duas ou mais categorias positivas indicam um alto risco de AOS. (101)

6.11 Escala de Epworth

A escala de Epworth é uma escala simples, auto-administrada com itens que abordam situações que envolvem as atividades da vida diária e a possível ocorrência de sonolência excessiva diurna em adultos. Os pacientes foram instruídos a classificar a sua probabilidade de cochilar ou dormir em oito situações cotidianas em uma escala de 0 a 3 (0, sem chance de cochilar; 1, pequena chance de cochilar, 2, possibilidade moderada de cochilar e 3, forte chance de cochilar). (102)

6.12 Cálculo amostral e análise estatística

O cálculo amostral foi baseado no estudo de Quera Salva realizado em 1992, entre MG e índice de distúrbios respiratórios (IDR), sendo calculado o tamanho da amostra em 19 pacientes, adotando-se um alfa 0,05 e um beta 0,2 com poder 80%. Foram acrescentados mais três pacientes considerando-se as possíveis perdas amostrais, totalizando uma amostra de vinte e dois pacientes. (18) Devido a especificidade e ao fato de não termos encontrado estudo

semelhante na literatura, será feito um novo cálculo amostral para o desfecho PNE ($V_{0,2s}$ e do ΔV %) e IAH baseado nos resultados de um estudo piloto.

A normalidade dos dados foi testada pelo Shapiro Wilk, e quando paramétrico foram apresentados em média \pm dp, quando não paramétricas apresentados em mediana (IQ 25-75%). Os valores de $V_{0,2s}$ e do ΔV (%) foram correlacionados linearmente com o IAH, assim como com outras variáveis polissonográficas, utilizando os testes de correlação de Pearson ou de Spearman, de acordo com a distribuição da amostra. Para análise dos resultados do teste da PNE, também será realizada regressão logística para análise de fatores contínuos com respostas categóricas. A análise estatística foi realizada com o software *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) considerando-se um valor de significância de 5% em um intervalo de confiança de 95%.

7 RESULTADOS

Foram avaliados 15 pacientes com diagnóstico de MG, sendo 12 mulheres (80%). A Tabela 1 contém dos dados demográficos e clínicos da população estudada. Os dados das provas de função pulmonar e testes de pressões máximas ventilatórias estão demonstradas nas tabelas 2 e 3.

Tabela 1. Características antropométricas e clínicas.

Variáveis	Valores (n=15)
Idade (a)	41 \pm 11
Peso (kg)	78,4 \pm 15,8
Genero (f/m)	12/3
IMC (Kg/cm ²)	29,3 \pm 5,4
Circ. Pescoço	41,8 \pm 16,2
Circ. abdominal	96,7 \pm 12,1
Tempo de diagnóstico (a)	10 (4,0 – 23,0)

Nota: IMC: índice de massa corpórea; a: anos. Dados paramétricos expressos em média e desvio padrão e os dados não paramétricos expressos em mediana e intervalo interquartilico.

Tabela 2. Variáveis espirométricas.

Pacientes	CVF Prev.	CVF obtido	CVF % do prev.	VEF1 Prev.	VEF1 obtido	VEF1 % do prev.	FEV1/CVF prev.	FEV1/CVF obtido	FEV1/CVF % do prev.
LC	3,32	2,95	89%	2,7	2,47	91%	0,81	0,84	104
JCG	5,06	2,09	41%	4,3	1,51	35%	0,86	0,72	84
SCF	4,53	3,86	85%	3,78	3,15	83	0,83	0,82	98
EFS	3,75	3,84	102%	3,18	3,26	102%	0,85	0,85	100
PCF	3,50	3,57	102%	2,9	3,01	104%	0,82	0,84	102
MO	2,72	2,99	110%	2,23	2,52	113%	0,81	0,84	104
JB	3,07	2,64	86%	2,66	2,15	81%	0,85	0,81	95
TSR	3,29	3,35	102%	2,99	3,26	109%	0,94	0,97	104
MJS	3,66	3,03	83%	3,02	2,63	87%	0,82	0,87	106
ASC	3,33	2,67	80%	2,9	2,29	79%	0,87	0,86	98
MHA	4,11	3,56	87%	3,51	2,78	79%	0,87	0,78	90
MFS	2,76	1,56	57%	2,23	1,28	57%	0,8	0,82	1,02
MCS	3,14	3,47	110%	2,58	2,93	114%	0,81	0,84	104
KO	3,26	2,94	90%	2,72	2,62	96%	0,83	0,89	108
ADF	4,56	4,75	104%	3,76	3,73	99%	0,82	0,79	96
Média(dp)		3,1 ± 0,7	87,6 ± 21		2,6 ± 0,6	99,4 ± 6,4			99,4 ± 6,4

Nota: CVF- Capacidade Vital Forçada; VEF₁ - Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo;

Tabela 3. Pressões máximas ventilatórias.

Pacientes	P _I max	P _E max
LC	50	50
JCG	52	40
SCF	65	120
EFS	60	60
PCF	46	42
MO	56	60
JB	30	50
TSR	52	40
MJS	36	24
ASC	52	16
MHA	20	16
MFS	24	8
MCS	50	60
KO	50	40
ADF	60	70

Previsto (Neder et al. 1999) ⁽⁹⁹⁾

- homens (40-49 anos) 115.8 ± 87.0 126.3 ± 18.0

- mulheres (40-49 anos) 87.0 ± 9.1 85.4 ± 13.6

Nota: P_Imax – pressão inspiratória máxima; P_Emax – pressão expiratória máxima.

Os dados das variáveis fisiológicas do sono, obtidos através da PSG, podem ser visualizados na tabela 4. Em relação ao questionário clínico de Berlim, dos quinze pacientes avaliados apenas um apresentou baixo risco para AOS. Quanto a escala de sonolência de Epworth (ESE), de acordo com a classificação proposta por Mitler, Carskadon e Hirshkowitz (2005), observamos que seis pacientes (40%) não apresentaram sonolência excessiva diurna, três (20%) apresentaram leve sonolência, cinco moderada (33,4%) e apenas um paciente (6,6%) foi classificado com sonolência excessiva diurna grave com um escore de 22 para um máximo de 24 pontos. [103]

A tabela 5 apresenta os valores referentes ao volume expirado no 0,2s com pressões negativas expiratórias de -6 e -10 cm/H₂O. Estes valores são expressos em porcentagem da média do volume inspirado nos três ciclos respiratórios anteriores a manobra.

Tabela 4: Parâmetros fisiológicos da polissonografia.

Variável	Normal	Média
TTR (min)	-	417,9±46,8
TTS (min)	-	353,9±76,3
Lat. Sono (min)	~ 20	33±57,5
Lat. REM (min)	90-110	142,5±56,6
Eficiência (%)	> 85	84,6±16,2
NREM1 (%TTS)	3-5	4,5±1,8
NREM2 (%TTS)	45-50	53,9±12,7
NREM3 (%TTS)	18-20	28,8±13,8
REM (%TTS)	20-25	12,6±4,2
IAH/h	0-5	17,5±21,7
Apneia Obstrutiva	-	21,2±61,6
Apneia Central	-	5,6±9,7

Hipopneia	-	80,4±115,7
SpO₂ basal (%)	>94%	95,4±2,8
SpO₂ média (%)	>92%	94,7±3,04
SpO₂ min (%)	-	81,6±10,9
SpO₂ < 90% (t)	-	9±22,77
FC média (bpm)	-	66,93±9,11
FC min (bpm)	-	50,2±12,45
FC máx (bpm)	-	88,13±19,24
T ronco (min)	-	53,7±89,3
ESE	-	9,07±5,05
Berlim	-	Alto risco (93,33%)

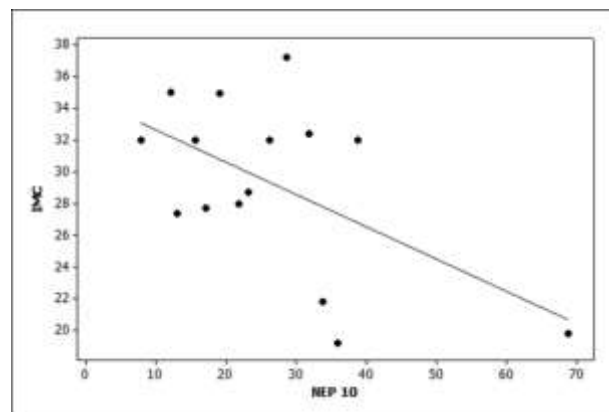
Nota: TTR: tempo total de registro, TTS: tempo total de sono, E1: Estágio do sono 1, NREM: Estágio do sono sem movimento rápido dos olhos, REM: Estágio do sono com movimento rápido dos olhos, IAH: índice de apneia e hipopneia, min: minutos. SpO₂: saturação periférica da oxihemoglobina, med: média, min: mínima. Bpm: batimentos por minuto. ESE: Escala de sonolência Epworth. Dados paramétricos expressos em média e desvio padrão e os dados não paramétricos expressos em mediana e intervalo interquartilico.

Tabela 5. Volume expirado no 0,2s em relação ao volume inspirado

<i>Pacientes</i>	<i>V0,2/-6cmH₂O (%)</i>	<i>V0,2/-10cmH₂O (%)</i>
LC	19,36	21,85
JCG	25,4	17,14
SCF	10,67	12,07
EFS	26,69	28,55
PCF	35,85	35,94
MO	11,85	7,9
JB	10,55	26,16
TSR	49,16	68,75
MJS	35,1	19
ASC	14,82	15,56
MHA	16,4	23,18
MFS	37,1	38,73
MCS	33,28	33,76
KO	13,57	12,95
ADF	31,31	33,73
Media (dp)	24,74 ± 11,5	26,22 ± 14,46

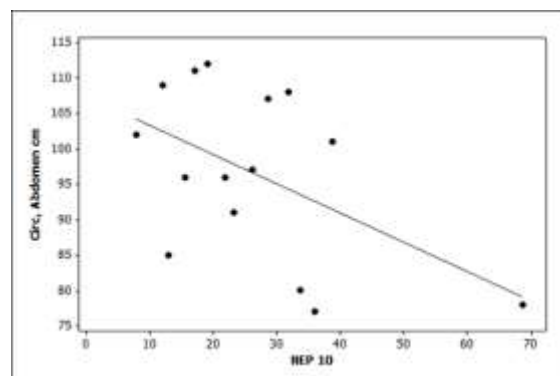
Nota: V0,2: volume expirado no 0,2 segundo; dp: desvio padrão.

As análises estatísticas para verificação da existência de correlação entre as variáveis antropométricas, fisiológicas da PSG, escala de Epworth e questionário de Berlim mostram valores significativos apenas para o IMC/PNE -10cm/H₂O (R -0,55/p= 0,03), circunferência abdominal/PNE -10cm/H₂O (R -0,51/p= 0,05). Quando correlacionamos os valores obtidos no teste de PNE com pressões de -6 e -10cm/H₂O observamos uma excelente correlação de R = 0,825 com um p = 0,0000.



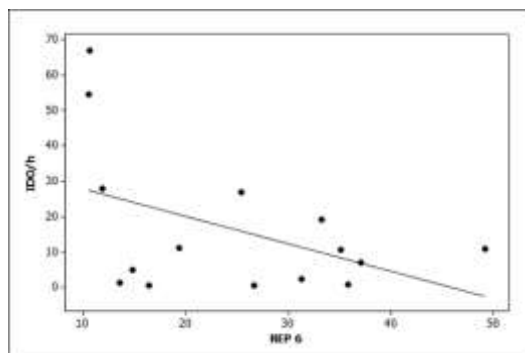
Nota: $r=-0,55$ e $p= 0,03$

Figura 4: Correlação entre IMC e PNE 0,2s/-10cm/H₂O



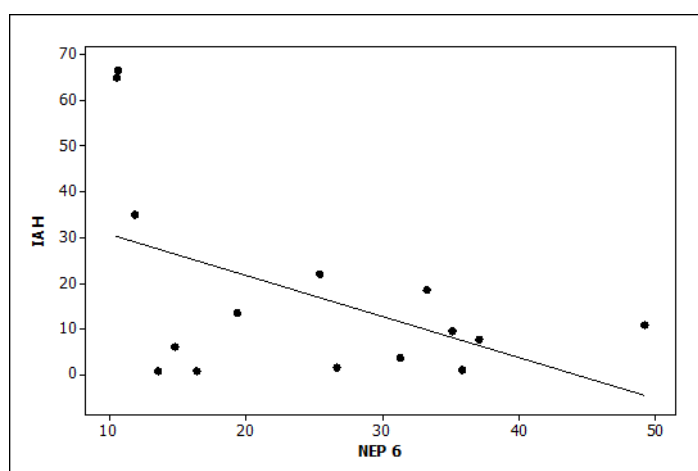
Nota: $r=-0,51$ e $p= 0,05$

Figura 5: Correlação entre circunferência abdominal e PNE 0,2s/-10cm/H₂O



Nota: $r=-0,45$ e $p= 0,08$

Figura 6: Correlação entre IMC e PNE 0,2s/-6cm/H₂O



Nota: $r=-0,49$ e $p= 0,06$

Figura 7: Correlação entre IAH e PNE 0,2s/-6cm/H₂O

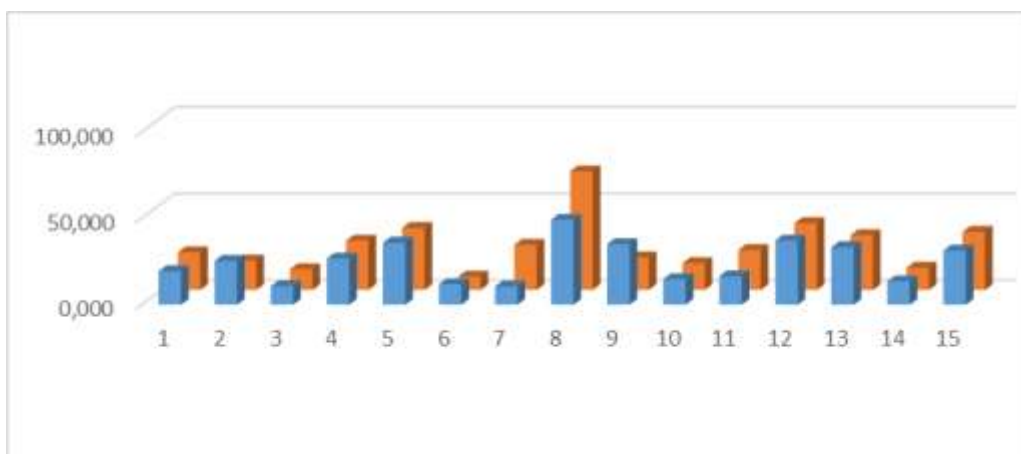
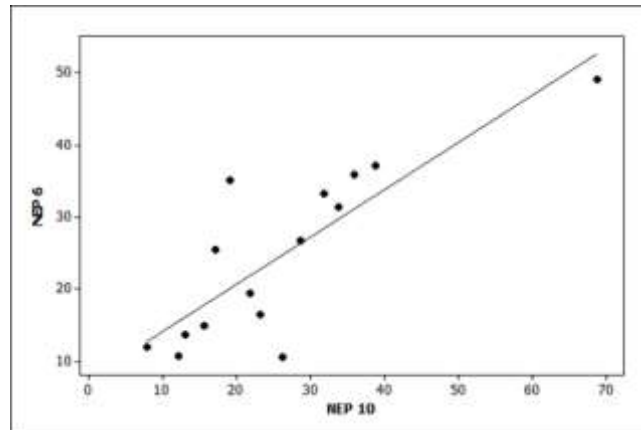


Figura 8: PNE 0,2s/-6cm/H₂O e PNE 0,2s/-10cm/H₂O

Nota: valores expressos em porcentagem.



Nota: $r=-0,82$ e $p= 0,000$

Figura 9: Correlação entre PNE 0,2s/-6cm/H₂O e 0,2s/-10cm/H₂O

8. DISCUSSÃO

A MG é uma doença crônica, autoimune, caracterizada pela fraqueza progressiva dos músculos esqueléticos, devido a uma alteração na junção sináptica entre os nervos e as fibras musculares. Esta doença é caracterizada por fraqueza e fadiga da musculatura esquelética podendo comprometer os músculos respiratórios. O quadro de comprometimento muscular progressivo vai gerar uma alteração ventilatória, inicialmente de caráter restritivo, com a instalação de uma insuficiência respiratória por hipoventilação.

Em relação a função pulmonar, pacientes com MG geralmente apresentam um “Padrão Miastênico” caracterizado por redução dos volumes ventilatórios e reduzida endurance muscular. Este comprometimento muscular ventilatório vai interferir na realização das atividades físicas e de vida diária dos pacientes. (104,105)

A função pulmonar se correlaciona cientificamente com a morbidade e a expectativa de vida, revelando o estado geral de saúde sob o aspecto cardiopulmonar. (106) A espirometria é recomendada na prática clínica pneumológica como meio complementar na decisão quanto à severidade da doença e indicação terapêutica. Portanto, a avaliação da função ventilatória e da força muscular ventilatória são de extrema importância e utilidade no sentido

de monitorar a evolução da doença, prevenir e identificar precocemente alterações da ventilação perfusão.

Neste estudo, 02 pacientes eram do tipo MG congênita e os demais apresentavam a forma auto imune adquirida. Na espirometria, apenas dois pacientes apresentaram alteração do padrão ventilatório, sendo um padrão restritivo moderado (57% do previsto para CVF e VEF1) e outro paciente, com a forma congênita, apresentou um padrão restritivo grave (41% do previsto para CVF e 35% do previsto para VEF1). Não foram observados padrões ventilatórios obstrutivos. A média de nossos resultados da espirometria, referentes a CVF foi de 94% do previsto para os demais pacientes.

No estudo de Fregonesi et al. (106) envolvendo 20 pacientes com MG generalizada, com média de idade de 64 ± 11 foi observado um valor médio de CVF de $2,7 \pm 0,7$ e VEF1 de $2 \pm 0,6$. Keenan et al. (107) avaliaram 17 pacientes com MG com média de idade de 46 ± 18 anos observando uma CVF média de $3,4 \pm 0,6$ e um VEF1 de $2,8 \pm 0,5$. Estes valores são semelhantes aos nossos, entretanto os observados por Fregonesi et al. são inferiores, considerando que os pacientes eram mais velhos. Em ambos os estudos também não foram observados padrões obstrutivos, assim como em nosso estudo.

A Pimax e a Pemax constituem fisiologicamente o mais adequado teste para verificação da capacidade dos músculos ventilatórios, podendo ser indicada como primeira opção. A avaliação das pressões máximas geradas pelos músculos ventilatórios é um método simples, prático e não invasivo de verificar a função muscular em várias condições patológicas pulmonares e neuromusculares. (108, 109) A Pimax é um indicativo da capacidade ventilatória e do desenvolvimento de insuficiência respiratória, sendo bastante indicado na avaliação do grau de anormalidade e monitorar o enfraquecimento dos músculos inspiratórios individualmente na evolução de pacientes. (110)

É importante lembrar que, o que realmente se mensura é a pressão e não a força. Portanto, terminologias que utilizam a expressão força deveriam ser abandonadas. Em relação a pressão máxima gerada pelos músculos

ventilatórios, foi observado o valor médio para a P_Imax de 45,5 cmH₂O entre as mulheres e o valor de 56 cmH₂O para os homens. Para a P_Emax observamos o valor médio de 45 cmH₂O para as mulheres e 55 cmH₂O para os homens.

Os valores obtidos em nosso estudo para as pressões máximas ventilatórias estão bem abaixo dos valores de normalidade para pessoas saudáveis da mesma idade e sexo. No estudo de Munhoz-Fernandez (111) envolvendo 61 pacientes com MG clinicamente estáveis foi observado o valor de 66,9 cmH₂O para a P_Emax e de 52 cmH₂O para a P_Imax.

Keenan et al. (107) avaliaram 17 pacientes com MG, sendo treze com a forma generalizada e observaram os valores de 67cmH₂O para a P_Imax e de 86cmH₂O para a P_Emax. Os nossos valores são muito coincidentes com estes estudos, mostrando uma considerável redução de pressões ventilatórias em pacientes com MG.

De acordo com os resultados da função pulmonar e manovacuometria, acreditamos que a espirometria isolada não seja um marcador de deterioração da condição clínica nestes pacientes, pois pacientes com prova de função pulmonar normal apresentaram considerável redução nas pressões máximas ventilatórias.

Uma das falhas de nosso estudo foi não ter realizado a prova de função pulmonar tipo ventilação máxima voluntária no sentido de investigar os níveis de fadiga da musculatura ventilatória. A disfunção muscular ventilatória predispõe o surgimento do padrão miastênico, caracterizado pela redução dos volumes pulmonares, colaborando para a piora do quadro clínico geral com repercussões respiratórias e consequente comprometimento da qualidade de vida. (104, 105)

Portanto, podemos afirmar que a avaliação da pressão máxima gerada pelos músculos ventilatórios é de extrema importância na avaliação e seguimento de pacientes com MG. Mais estudos são necessários no sentido de mostrar os efeitos de programas de treinamento muscular ventilatório.

Especula-se que o mecanismo mais provável para a AOS em MG é o mecanismo de fraqueza e fadiga dos músculos dilatadores da faringe.

A AOS é um distúrbio cardiorrespiratório do sono de alta prevalência na população mundial, com uma importante implicação social em relação à qualidade de vida relacionada a saúde e consequente aumento da utilização dos recursos de saúde. A PSG, diagnóstico padrão-ouro para a AOS, é um exame complexo realizado durante a noite o qual demanda um laboratório bem equipado com técnico especializado para realização e leitura do exame. É, portanto, um exame de alto custo e de disponibilidade limitada. A identificação de novos marcadores para a AOS é de grande utilidade e aplicação clínica.

As variáveis fisiológicas do sono observadas na PSG de nossos pacientes chamam a atenção para os valores de saturação periférica mínima de oxigênio, para a latência e tempo total de sono REM, IAH e tempo de ronco. A média do IAH foi de $17,5 \pm 21,7$ sendo a maioria dos eventos de origem obstrutiva. Porém, quatro dos nossos pacientes também apresentaram apneia central.

Estes resultados coincidem com os de Amino et al. (112) que realizaram a PSG em 12 pacientes com MG (quatro homens), observando a presença de DRS em 09 pacientes considerando um IAH médio de $10,9 \pm 6,3$, sendo que sete destes pacientes também apresentaram apnéias centrais. Estes valores de IAH correlacionaram positivamente com o tempo de diagnóstico da doença.

Destacamos também o estudo da Teramoto et al., que investigaram o envolvimento dos músculos das vias aéreas superiores, especialmente a laringe, em pacientes com MG, que resultaram na fraqueza de abdução e adução das cordas vocais. Os autores chamam a atenção para os sintomas clínicos respiratórios, presença de voz grave, aumento da fraqueza muscular e distúrbios de fonação que se acentuaram com evolução da doença. (113)

Portanto, podemos dizer que a debilidade muscular dos dilatadores da faringe irá aumentar as chances de colapso da VAS predispondo a um quadro de AOS, especialmente durante o sono REM, devido atonia e hipotonia.

A presença de distúrbios do sono em pacientes com doenças neuromusculares ainda não está bem documentada na literatura científica e muitas vezes os sintomas como a sonolência diurna e fadiga são atribuídos a doença neurológica de base, além do que os médicos estão pouco treinados em identificar a AOS e o acesso aos métodos diagnósticos é pouco disponível. Atualmente, existem poucos estudos realizados através de PSG que evidenciam a presença dos DRS em pacientes com MG. (18, 19)

Nossos dados referentes ao IAH confrontam com os de Prudlo et al. , que realizaram a PSG em uma amostra de 19 pacientes com MG clinicamente estáveis (11 mulheres), com idade média de $55,4 \pm 11,99$ anos. (114) Este estudo não observou a presença de apnéia central e AOS foi detectada em apenas 4 pacientes. Os autores também observaram uma saturação basal média da oxihemoglobina de $95,3 \pm 1,4\%$, e saturação mínima de $89,7 \pm 5\%$, enquanto que nossos valores foram de $94,7 \pm 3,4\%$ para a saturação basal média da oxihemoglobina e de $81,6 \pm 10,9 \%$ de saturação mínima.

Podemos observar que os nossos pacientes apresentaram uma maior queda da saturação de oxihemoglobina durante o sono, plenamente justificáveis devido ao maior IAH registrado. Em relação ao IAH de nossos pacientes, cinco (33,33%) não apresentaram eventos apneicos, cinco (33,33%) apresentaram um IAH leve (05 a 15) e cinco pacientes apresentaram moderado a grave, maior que 15 eventos por hora.

De Lapiscina et al., avaliaram a qualidade do sono através do questionário de Pitsburg, ESS e qualidade de vida utilizando o MG-QOL 15 em 23 pacientes com MG, com média de idade de $62,7 \pm 15,9$. Quanto a sonolência excessiva diurna, os nossos resultados também foram discretamente mais elevados ($9,1 \pm 0,05$). quando comparados a este estudo ($7,2 \pm 4,2$). Porém, a nossa população é mais jovem ($41,66 \pm 11,32$) e geralmente, idosos já se encontram aposentados, tendo possibilidade de dormir durante o dia, apresentando menor chance de cochilos. (115)

Devido o reduzido numero de pacientes na composição amostral, não foi realizado a curva ROC, para otimizar a sensibilidade e especificidade do teste da PNE em relação ao IAH. As análises estatísticas para verificação da existência de correlação entre as variáveis antropométricas, fisiológicas da PSG, escala de Epworth e questionário de Berlim mostram valores significativos apenas para o IMC/PNE $-10\text{cm}/\text{H}_2\text{O}$ ($R -0,44/p= 0,09$), circunferência abdominal/PNE $-10\text{cm}/\text{H}_2\text{O}$ ($R -0,51/p= 0,05$), e para a PNE/IAH $-6\text{cm}/\text{H}_2\text{O}$ ($R -0,5/p= 0,06$), PNE/IDO/h $-6\text{cm}/\text{H}_2\text{O}$ ($R - 0,45/p= 0,08$). Quando correlacionamos os valores obtidos no teste de PNE com pressões de -6 e $-10\text{cm}/\text{H}_2\text{O}$ observamos uma excelente correlação de $R = 0,825$ com um $p = 0,0000$.

Os valores obidos da PNE em nosso estudo, embora não foram significantes, mostraram que 4 pacientes classificados com um IAH $>20/h$ (média $47/h$) apresentaram $V_{0,2} <20\%$ (porcentagem da média de três inspirações precedentes) indicando uma alta colapsabilidade de vias aéreas superiores, correlacionando-se com um menor tempo de saturação mínima da oxihemoglobina, maior tempo de saturação da oxihemoglobina $<90\%$.

Foram observados também dois pacientes com valores de IAH ($<5/h$), considerados normais, com $V_{0,2}$ reduzidas ($<20\%$), sugerindo a participação de outros componentes não anatômicos, funcionais, que provavelmente protegem esses pacientes. Devemos considerar também que nossa amostra é composta por pacientes com disfunção neuromuscular, que pode comprometer a musculatura ventilatória quanto a musculatura da farínge, em graus variados e que certamente influenciaram nosso dados.

Observamos um paciente com apneia moderada (IAH $22/h$), com intensa dessaturação noturna, apresentando um tempo de saturação noturna $<90\%$ de $89,6$ minutos do tempo total de sono, que corresponde a hipoventilação grave por fraqueza muscular ventilatória e um acentuada redução da qualidade de sono (ESE= 22), com clara indicação para suporte pressórico noturno com dois níveis de pressão (BIPAP).

9 CONCLUSÃO

Ao final deste estudo podemos concluir que pacientes com MG apresentam valores reduzidos de pressões máximas ventilatória inspiratórias e expiratórias associado a função pulmonar normal. Também apresentam um considerável índice de distúrbios respiratórios do sono associados a queda da saturação da oxihemoglobina e redução do sono REM, com consequente presença de sonolência excessiva diurna e alto risco para AOS.

Embora não obtivemos uma correlação significativa entre o teste do PNE com o IAH, nossos dados mostram que pacientes com AOS moderada-grave apresentam grande redução do V_{O_2} (<20%), sendo que dois indivíduos com IAH <5/h, apresentaram resultados reduzidos de V_{O_2} , indicando que o componente anatômico é menos importante na fisiopatologia da OSA nestes pacientes.

É importante ressaltar que a população apresentada neste estudo foi composta por um pequeno número de pacientes, pelo fato de alguns apresentarem dificuldades de locomoção e outros pela gravidade da doença, ainda mais pela necessidade de dormirem uma noite no Laboratório do Sono.

O teste da PNE é rápido, diurno, de baixo custo, pode ser executado em posição sentada ou deitada, sendo pouco incômodo. Pode ser confiável para identificar AOS moderada e grave, como em nosso estudo, embora o pequeno número de pacientes não tenha permitido a identificação de pacientes com AOS leve e indivíduos normais.

Espera-se dar continuidade a este protocolo de pesquisa com o objetivo de encontrar valores preditivos para a AOS por meio do teste da PNE, contribuindo para o diagnóstico precoce e de menor custo possibilitando assim o acesso mais rápido, reduzindo o seu impacto e suas complicações na população em geral.

Contudo, são necessários mais estudos que avaliam a sensibilidade e especificidade do teste PNE com amostras maiores em indivíduos com distúrbios neuromusculares, especialmente nos pacientes com miastenia gravis.

10. REFERENCIAS

1. Drachman D. Myasthenia gravis. In: Rose N, Mackay I. The autoimmune diseases. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1998:637–62.
2. Vincent A, Clover L, Buckley C, Grimley Evans J, Rothwell PM, UK Myasthenia Gravis Survey. Evidence of underdiagnosis of myasthenia gravis in older people. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74:1105–8.
3. Christensen PB, Jensen TS, Tsiropoulos I, Sorensen T, Kjaer M, Hojer-Pedersen E, et al. Mortality and survival in myasthenia gravis: A Danish population based study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 1998;64(1):78-83.
4. Phillips LH, Torner JC, Anderson MS, Cox GM. The epidemiology of myasthenia gravis in central and western Virginia. *Neurology*. 1992;42:1883-93.
5. Jaretzki A, Barohn RJ, Ernstoff RM, Kaminski HJ, Keeseey JC, Penn AS, et al. Myasthenia gravis: recommendations for clinical research standards. Task Force of the Medical Scientific Advisory Board of the Myasthenia Gravis Foundation of America. *Neurology*. 2000;55:16-23.
6. Batocchi AP, Majolini L, Evoli A, Lino MM, Minisci C, Tonali P. Course and treatment of myasthenia gravis during pregnancy. *Neurology*. 1999;52:447-452.
7. Vincent A, Bowen J, Newsom-Davis J, McConville J. Seronegative generalized myasthenia gravis: clinical features, antibodies, and their targets. *Lancet Neurology*. 2003;2:99-106.
8. Osserman KE, Genkins G. Studies in myasthenia gravis: review of a twenty year of experience in over 1200 patients. *Mt Sinai J Med*. 1971;38:497–537.
9. Vincent AMA. Myasthenia Gravis and Myasthenic Syndromes. *Neurobiology of Disease*; 2007, 935-945.
10. AAM Quality Assurance Committee. Literature review of the usefulness of repetitive nerve stimulation and single fiber EMG in the electrodiagnostic evaluation of patients with suspected myasthenia gravis or Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *Muscle Nerve*. 2001;24(9):1239–1247.

11. Mertens HG, Balzereit F, Leipert M. The treatment of severe myasthenia gravis with immunosuppressive agents. *Eur Neurol.* 1969;2:321–39.
12. Protti DA, Reisin R, Mackinley TA, Uchitel OD. Calcium channel blockers and transmitter release at the normal human neuromuscular junction. *Neurology.* 1996;46:1391–6.
13. Blalock A. Thymectomy in the treatment of myasthenia gravis. Report of twenty cases. *J Thorac Surg.* 1944;13:316–39.
14. Ferri FF. *Ferri's clinical advisor: Instant diagnosis and treatment.* St. Louis, MO: Mosby; 2003.
15. Foulks MCJ. Myasthenia gravis presenting as laryngeal stridor after exposure to chlorine gas. *South Med J.* 1981;74:1423-24.
16. Schmidt-Nowara WW, Marder EJ, Feil PA. Respiratory failure in myasthenia gravis due to vocal cord paresis. *Arch Neurol.* 1984;41:567-68.
17. Marlowe FI, D'Angelo AJ. Respiratory failure as the initial presentation of myasthenia gravis. *Ear Nose Throat J.* 1989;68:472-73.
18. Quera-Salva MA, Guilleminault C, Chevret S, Troche G, Fromageot C, Crowe McCann C, et al. Breathing disorders during sleep in myasthenia gravis. *Ann. Neurol.* 1992; 31:86-92.
19. Shintani S, Shiozawa Z, Shindo K, Matsui T, Tsunoda S. Sleep apnea in well-controlled myasthenia gravis. *Rinsho Shinkeigaku.* 1989;29(5):547-553.
20. Sushanth B, Divya G, Sudhansu C. Sleep Disorders in Neuromuscular Diseases. *Neurol Clin.* 2012;30:1359-87.
21. 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.
22. Punjabi NM. The epidemiology of adult obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc.* 2008 Feb 15;5(2):136-143.
23. 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.

24. Sassani A, Findley LJ, Kryger M, Goldlust E, George C, Davidson TM. Reducing motor-vehicle collisions, costs, and fatalities by treating obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep*. 2004 May 1;27(3):453-8.
25. 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.
26. Peker Y, Hedner J, Kraiczi H, Loth S. Respiratory disturbance index: an independent predictor of mortality in coronary artery disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Jul;162(1):81-6.
27. 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.
28. Flemons WW, Tsai W. Quality of life consequences of sleep-disordered breathing. *J Allergy Clin Immunol*. 1997 Feb;99(2):S750-6.
29. 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.
30. 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.
31. Gold AR, Schwartz AR. The pharyngeal critical pressure. The whys and hows of using nasal continuous positive airway pressure diagnostically. *Chest*. 1996;110(4):1077-1088.
32. Fogel RB, Malhotra A, White DP. Sleep. 2: Pathophysiology of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *Thorax*. 2004;59(2):159-163.
33. Bradley TD, Brown IG, Grossman RF, Zamel N, Martinez D, Phillipson EA, et al. Pharyngeal size in snorers, nonsnorers, and patients with obstructive sleep apnea. *N Engl J Med*. 1986;315(21):1327-1331.

34. Schwab RJ, Geffer WB, Hoffman EA, Gupta KB, Pack AI. Dynamic upper airway imaging during awake respiration in normal subjects and patients with sleep disordered breathing. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148(5):1385-1400.
35. Anch AM, Remmers JE, Sauerland EK, Degroot WJ. Oropharyngeal patency during walking and sleep in the Pickwickian syndrome: electromyographic activity of the tensor veli palatini. *Electromyogr Clin Neurophysiol.* 1981;21(2-3):317-330.
36. Jeffries B, Brouillette RT, Hunt CE. Electromyographic study of some accessory muscles of respiration in children with obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis.* 1984;129(5):696-702.
37. Brennick MJ, Pack AI, Ko K, Kim E, Pickup S, Maislin G, et al. Altered upper airway and soft tissue structures in the New Zealand Obese mouse. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179(2):158-169.
38. American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the scoring of sleep and associated events. Rules, terminology and technical specifications. 2014. p. 3-59
39. Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology: techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. In *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. Volume 55. Los Angeles: Brain Information Service/Brain Research Institute. 1968; 2001:305-310.
40. Eckert D, Malhotra A, Jordan A. Mechanisms of apnea. *Prog Cardiovasc Dis.* 2009;51:313-323.
41. Patil S, Schneider H, Schwartz A, Smith P. Adult obstructive sleep apnea- pathophysiology and diagnosis. *Chest.* 2007;132:325-337
42. Morgan TD, Remmers JE. Phylogeny and animal models: An uninhibited survey. In: Kushida CA editor. *Obstructive sleep apnea*. New York, NY: Informa Healthcare; 2007.
43. Bacon W, Krieger J, Turlot J, Stierle J. Craniofacial characteristics in patients with obstructive sleep apneas syndrome. *Cleft Palate J* 1988;25:374-378.

44. Lam B, Ooi C, Peh W, Lauder I, Tsang K, Lam W, et al. Computed tomographic evaluation of the role of craniofacial and upper airway morphology in obstructive sleep apnea in chinese. *Respir Med.* 2004;98:301-307.
45. Rivlin J, Hoffstein V, Kalbfleisch J, McNicholas W, Zamel N, Bryan A. Upper airway morphology in patients with idiopathic obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis.* 1984;129:355-360.
46. Riha R, Brander P, Vennelle M, Douglas N. A cephalometric comparison of patients with the sleep apnea/hypopnea syndrome and their siblings. *Sleep.* 2005;28:315-320.
47. Fregosi R, Quan S, Kaemingk K, Morgan W, Goodwin J, Cabrera R, et al. Sleep-disordered breathing, pharyngeal size and soft tissue anatomy in children. *J Appl Physiol.* 2003;95:2030-38.
48. Mortimore I, Marshall I, Wraith P, Sellar R, Douglas N. Neck and total body fat deposition in nonobese and obese patients with sleep apnea compared with that in control subjects. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:280-283.
49. Simpson L, Mukherjee S, Cooper MN, Ward KL, Lee JD, Fedson AC, et al. Sex differences in the association of regional fat distribution with the severity of obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2010;33:467-474.
50. Brennick M, Pack A, Ko K, Kim E, Pickup S, Maislin G, et al. Altered upper airway and soft tissue structures in the new zealand obese mouse. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:158-169.
51. Nashi N, Kang S, Barkdull GC, Lucas J, Davidson TM. Lingual fat at autopsy. *Laryngoscope.* 2007;117:1467-1473.
52. Watanabe T, Isono S, Tanaka A, Tanzawa H, Nishino T. Contribution of body habitus and craniofacial characteristics to segmental closing pressures of the passive pharynx in patients with sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:260-265.
53. Redolfi S, Yumino D, Ruttanaumpawan P, Yau B, Su MC, Lam J, et al. Relationship between overnight rostral fluid shift and obstructive sleep apnea in nonobese men. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:241-46.

54. Dempsey J, Veasey S, Morgan B, O'Donnell C. Pathophysiology of sleep apnea. *Physiol Rev.* 2010;90:47-112.
55. Owens RL, Malhotra A, Eckert DJ, White DP, Jordan AS. The influence of end- expiratory lung volume on measurements of pharyngeal collapsibility. *J Appl Physiol.* 2010;108:445-451.
56. Pien, GW; Schwab, RJ. Sleep disorders during pregnancy. *Sleep;* 2004, 27:1405–1417.
57. Izci-Balserak, B, Pien, GW et al. Sleep-disordered breathing and pregnancy: potential mechanisms and evidence for maternal and fetal morbidity. *Curr Opin Pulm Med* 2010, Vol.16, 6, 574-582.
58. Suratt P, McTier R, Wilhoit S. Upper airway muscle activation is augmented in patients with obstructive sleep apnea compared with that in normal subjects. *Am Rev Respir Dis.* 1988;137:889-894.
59. Mezzanotte W, Tangel D, White D. Waking genioglossal electromyogram in sleep-apnea patients versus normal controls (a neuromuscular compensatory mechanism). *J Clin Invest.* 1992;89:1571-1579.
60. Eckert D, Malhotra A, Lo Y, White D, Jordan A. The influence of obstructive sleep apnea and gender on genioglossus activity during rapid eye movement sleep. *Chest.* 2009;135:957-964.
61. Lindman R, Stal P. Abnormal palatopharyngeal muscle morphology in sleep- disordered breathing. *J Neurol Sci.* 2002;195:11-23.
62. Eckert DJ, Jordam AS, Malhotra A, White DP, Wellman A. Defining Phenotypic Causes of Obstructive Sleep Apnea. *Am J Resp Crit Care Med.* 2013;188:996-1004.
63. White DP. Pathogenesis of Obstructive and Central Sleep Apnea. 2005;172:1363-70.
64. Wellman A, Malhotra A, Jordan A, Stevenson K, Gautam S, White D. Effect of oxygen in obstructive sleep apnea: Role of loop gain. *Respir Physiol Neurobiol.* 2008;162:144-151.
65. Badr MS, Toiber F, Skatrud JB, Dempsey J. Pharyngeal narrowing/occlusion during central sleep apnea. *J Appl Physiol.* 1995;78:1806-1815.

66. Young T, Peppard P, Gottlieb D. Epidemiology of obstructive sleep apnea - a population heal. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:1217-39.
67. Jordan A, Wellman A, Edwards J, Schory K, Dover L, MacDonald M, et al. Respiratory control stability and upper airway collapsibility in men and women with obstructive sleep apnea. *J Appl Physiol.* 2005;99:2020-27.
68. Kirkness J, Schwartz A, Schneider H, Punjabi N, Maly J, Laffan A, et al. Contribution of male sex, age, and obesity to mechanical instability of the upper airway during sleep. *J Appl Physiol.* 2008;104:1618-24.
69. Malhotra A, Huang YQ, Fogel RB, Pillar G, Edwards JK, Kikinis R, et al. The male predisposition to pharyngeal collapse - importance of airway length. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:1388-1395
70. Millman R, Carlisle C, McGarvey S, Eveloff S, Levinson P. Body fat distribution and sleep apnea severity in women. *Chest.* 1995;107:362-66.
71. Whittle A, Marshall I, Mortimore I, Wraith P, Sellar R, Douglas N. Neck soft tissue and fat distribution: Comparison between normal men and women by magnetic resonance imaging. *Thorax.* 1999;54:323-28.
72. Zhou X, Shahabuddin S, Zahn B, Babcock M, Badr M. Effect of gender on the development of hypocapnic apnea/hypopnea during nrem sleep. *J Appl Physiol.* 2000;89:192-199.
73. Eikermann M, Jordan A, Chamberlin N, Gautam S, Wellman A, Lo Y, et al. The influence of aging on pharyngeal collapsibility during sleep. *Chest.* 2007;131:1702-1709.
74. Malhotra A, Huang Y, Fogel R, Lazic S, Pillar G, Jakab M, et al. Aging influences on pharyngeal anatomy and physiology: The predisposition to pharyngeal collapse. *Am J Med.* 2006;119:72.e79-14.
75. 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.
76. 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;143:1300-1303.

77. 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 1;120(12):505-14.
78. Younes M. Pharyngeal anatomy and severity of obstructive apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Sep 15;170(6):716.
79. Younes M. Role of respiratory control mechanisms in the pathogenesis of obstructive sleep disorders. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Nov;105(5):1389-405.
80. Eckert, White, Jordan, Malhotra e Wellman. *Am J Resp Crit Care Med* Vol 188, pp996-1004, 2013).
81. 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.
82. 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, 8(2):306-313.
83. 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;82:723–731.
84. 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*. 1999 Sep;87(3):969-76.
85. Liistro G, Veriter C, Dury M, Aubert G, Stanescu D. Expiratory flow limitation in awake sleep-disordered breathing subjects. *Eur Respir J*. 1999;14(1):185-190.
86. Pankow W, Podszus T, Gutheil T, Penzel T, Peter J, Von Wichert P. Expiratory flow limitation and intrinsic positive end-expiratory pressure in obesity. *J Appl Physiol*. 1998; 85:1236–1243.
87. 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.

88. Ferretti A, Giampiccolo P, Cavalli A, Milic-Emili J, Tantucci C. Expiratory flow limitation and orthopnea in massively obese subjects. *Chest*. 2001;119:1401–1408.
89. 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;57(5):423-428.
90. 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;125(1):98-105.
91. 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;59(10):883-888.
92. 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.
93. WHO: Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. In WHO Technical Report Series 894. Geneva World Health Organization; 2000.
94. Brodsky L. Modern assessment of tonsils and adenoids. *Pediatr Clin North Am*. 1989 Dec; 36(6):1551-69.
95. Mallampati SR, Gatt SP, Gugino LD, Desai SP, Waraksa B, Freiburger D, et al. A clinical sign to predict difficult tracheal intubation: a prospective study. *Can Anaesth Soc J*. 1985 Jul;32(4):429-34.
96. Pereira CAC. Il Consenso Brasileiro de Espirometria. *J Pneumol*. 2002;28(supl3):S1-S82.
97. Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J Suppl*. 1993 Mar; 16:5-40.

98. Neder JA, Andreoni S, Lerario MC, Nery LE. Reference values for lung function tests. II. Maximal respiratory pressures and voluntary ventilation. *Braz J Med Biol Res.* 1999; 32:719-27.
99. Ambrosino N, Opasich C, Crotti P, reathing pattern, ventilatory drive and respiratory muscle strenght in patients with chronic heart failure. *Eur Respir J.* 1994; 7:17-22.
100. 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.* 2004 Jul; 97(1):339-46.
101. 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.
102. Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep.* 1991 Dec;14(6):540-5.
103. Mitler MM, Carskadon MA, Hirshkowitz M. Evaluating sleepiness. In *Principles and Practice of Sleep Medicine. Fourth Edition*, Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, USA, 2005.
104. Saraiva, PAP, Assis JL, Marchiori PE. Evaluation of the Respiratory function in Myasthenia gravis. *Arq. Neuropsiquiatr* 1996; 54(4) :601-607.
105. Heliopoulos I, Patlakas G, Vadikolias K, Artemis N, kleopa KA, Maltezos E, Piperidou H. Maximal voluntary ventilation in myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 27: 715–719, 2003.
106. Fregonezi GFA, Regiane-Resqueti V, Pradas J, Vigil L, Casan P. Relación entre función pulmonar y calidad de vida relacionada con la salud en la miastenia gravis generalizada. *Arch Bronconeumol.* 2006;42(5):218-224.
107. Keenan SP, Alexander D, Road JD, Ryan CF, Oger J, Wilcox PG. Ventilatory muscle strength and endurance in myasthenia gravis. *Eur Respir J*, 1995, 8, 1130–1135.
108. Fiz JZ, Carreras A, Rosell A. Measurement of maximal expiratory pressure: effect of holding the lips. *Thorax*, v. 47, p. 961-63, 1992.
109. Rubinstein I, Slutsky AS, Rebuck AS et al. Assessment of maximal expiratory pressure in healthy adults. *J Appl Physiol*, v. 64, n. 5, p. 2215-2219, 1988.

110. Karvonen J, Saarelainen S, Nieminem MM. Measurement of respiratory muscle forces based on maximal inspiratory and expiratory pressures. *Respiration*, v. 61, p. 28-31, 1994.
111. Munõz-Fernandez C, Díez-Tejedor E, Frank A, Pino JM, Pérez C, Barreiro P. Maximal respiratory pressures in myasthenia gravis. Relation to single fiber electromyography. *Acta Neurol Scand* 2001; 103: 392–395.
112. Amino A, Shiozawa Z, Nagasaka T, Shindo K, Ohashi K, Tsunoda S, Shintani S. Sleep apnoea in well-controlled myasthenia gravis and the effect of thymectomy. *J Neurol* (1998) 245: 77–80.
113. Teramoto K, Kuwabarab M, Matsubara Y. Respiratory Failure due to Vocal Cord Paresis in Myasthenia gravis. *Respiration* 2002;69:280–282.
114. Prudlo J, Koenig J, Ermert S, Juhász J. Sleep disordered breathing in medically stable patients with myasthenia gravis. *European Journal of Neurology* 2007, 14:321-326.
115. De Lapiscina EHM, Aguirre MEE, Blanco TA, Pascual IJ, Myasthenia gravis: sleep quality, quality of life, and disease severity. *Muscle Nerve* 2012; 46: 174–180.

11. ANEXOS

11.1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – CoEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo do sono, da função pulmonar, da força muscular ventilatória, da mecânica respiratória, da colapsabilidade da via aérea superior, do comportamento da atividade nervosa autonômica e qualidade de vida em pacientes com miastenia gravis.

Pesquisador: Luis Vicente Franco de Oliveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 13957713.7.0000.5511

Instituição Proponente: Universidade Nove de Julho - UNINOVE

Patrocinador Principal: Universidade Nove de Julho - UNINOVE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 360.488

Data da Relatoria: 14/08/2013

Apresentação do Projeto:

Estudo do sono, da função pulmonar, da força muscular ventilatória, da colapsabilidade da via aérea superior e do comportamento da atividade nervosa autonômica em pacientes com Miastenia Gravis. Um estudo clínico, descritivo prospectivo e cego

Objetivo da Pesquisa:

Este estudo tem o objetivo de avaliar a capacidade pulmonar, a força dos músculos da respiração, o comportamento do sistema nervoso, o fechamento das vias aéreas superiores, a qualidade do sono e a ansiedade, depressão e qualidade de vida em pacientes com miastenia gravis.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são mínimos por se tratarem de procedimentos clínicos de diagnósticos comuns e consagrados na prática clínica. Todos os procedimentos de diagnóstico serão realizados por médicos e fisioterapeutas devidamente capacitados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sem pendência

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9059

CEP: 01.504-001

E-mail: comitedeetica@uninove.br



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



Continuação do Parecer: 360.488

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sem pendência

Recomendações:

Recomendo a aprovação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

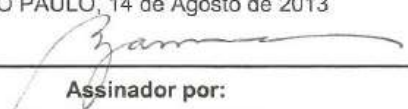
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Foram realizadas as solicitações de correção do TCLE, como descrição do número de questionários, número de perguntas em cada questionário e tempo de aplicação.

SAO PAULO, 14 de Agosto de 2013



Assinador por:
Stella Regina Zamuner
(Coordenador)

11.2. Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC)

RBR-7ckpdd

Estudo do sono, da função pulmonar, da força muscular ventilatória, da mecânica respiratória, da colapsabilidade da via aérea superior, do comportamento da atividade nervosa autonômica e qualidade de vida em pacientes com Miastenia Gravis

Data de registro: 9 de Set. de 2013 às 13:49

Last Update: 30 de Out. de 2013 às 09:01

Tipo do estudo:

Estudos Observacionais

Campos de Estudos Observacionais:

Temporalidade: Prospective

Desenho do estudo observacional: N/A

Título científico:

PT-BR

Estudo do sono, da função pulmonar, da força muscular ventilatória, da mecânica respiratória, da colapsabilidade da via aérea superior, do comportamento da atividade nervosa autonômica e qualidade de vida em pacientes com Miastenia Gravis

EN

Evaluation of sleep, lung function, respiratory muscle strength, respiratory mechanics, collapsibility of the upper airway, autonomic nervous activity, and quality of life in patients with Myasthenia Gravis

Identificação do ensaio

Número do UTN: U1111-1147-7853

Título público:

PT-BR

Estudo da qualidade do sono, da força dos pulmões, da força dos músculos da respiração, do fechamento da garganta, do sistema nervoso e da qualidade de vida em pacientes com Miastenia Gravis

EN

Study of sleep quality, the strength of the lungs, the strength of the muscles of breathing, closing of the throat, nervous system and quality of life in patients with Myasthenia Gravis

Acrônimo científico:

Acrônimo público:

Identificadores secundários:

360.488/2013

Órgão emissor: Comitê de Ética em Pesquisa - CEP - Universidade Nove de Julho - UNINOVE

13957713700005511

Órgão emissor: CAAE

Patrocinadores

Patrocinador primário: Universidade Nove de Julho - UNINOVE

Patrocinadores secundários:

Instituição: Universidade Nove de Julho - UNINOVE

Fontes de apoio financeiro ou material:

Instituição: Universidade Nove de Julho - UNINOVE

Condições de saúde

Condições de saúde ou problemas:

Miastenia gravis	PT-BR	myasthenia Gravis	EN
------------------	-------	-------------------	----

Descritores gerais para as condições de saúde:

C10: Doenças do sistema nervoso	PT-BR	C10: Enfermedades del sistema nervoso	ES	C10: Nervous system diseases
---------------------------------	-------	---------------------------------------	----	------------------------------

Descritores específicos para as condições de saúde:

C10.114.656: Miastenia Gravis	PT-BR	C10.114.656: Miastenia Gravis	ES	C10.114.656: Myasthenia Gravis
-------------------------------	-------	-------------------------------	----	--------------------------------

Intervenções

Categorias das intervenções

Other

Intervenções:

<p>Os pacientes serão submetidos a uma avaliação clínica do tipo entrevista, exame do sono realizado através de polissonografia basal de noite inteira, provas de função pulmonar, teste de força muscular ventilatória, teste de pressão negativa expiratória durante a respiração espontânea, análise da atividade nervosa autonômica através da análise da variabilidade da frequência cardíaca durante o sono e aplicação de questionários específicos para a apnéia do sono, sonolência diurna excessiva e qualidade de vida. Os exames serão realizados apenas uma vez.</p>	PT-BR	<p>Patients will undergo a clinical interview-type examination conducted by sleep a standard overnight polysomnography, pulmonary function, respiratory muscle strength test, test negative expiratory pressure during spontaneous breathing, analysis of autonomic nervous activity through analysis of heart rate variability during sleep and questionnaires specific to sleep apnea, excessive daytime sleepiness and quality of life. The tests will be performed only once.</p>	EN
---	-------	---	----

11.3. – Artigo publicado

Nacif SR, Fonseca NT, Oliveira EF, Faria Junior NS, Urbano JJ, Apostólico N, da Palma RK, Leitão Filho FSS, Salvaggio A, Romano S, Insalaco G, Oliveira LVF. **Med Sci Tech**, 2013; 54: 151-157.

**NEGATIVE EXPIRATORY PRESSURE TEST: A NEW METHOD TO DETECT
UPPER AIRWAY FLOW LIMITATION – A REVIEW.**

Received: 2013.10.16
Accepted: 2013.11.06
Published: 2013.11.21

Authors' Contribution:

- A** Study Design
- B** Data Collection
- C** Statistical Analysis
- D** Data Interpretation
- E** Manuscript Preparation
- F** Literature Search
- G** Funds Collection

Negative expiratory pressure test: A new method to detect upper airway flow limitation – a review

Sergio R. Nacif¹, Nina T. Fonseca², Ezequiel F. Oliveira¹,
Newton S. Faria Júnior¹, Jéssica J. Urbano¹, Ismael S. Dias¹,
Nádua Apostólico¹, Renata Kelly da Palma¹, Fernando S.S. Leitão Filho³,
Adriana Salvaggio⁴, Salvatore Romano⁴, Giuseppe Insalaco⁴,
Luis Vicente F. Oliveira¹

¹ Sleep Laboratory, Rehabilitation Sciences Master's and PhD Degree Program, Nove de Julho University - UNINOVE, Sao Paulo, (SP), Brazil

² Physical Therapy School, Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas - UNICISA, Maceió, (AL), Brazil

³ Pulmonology Department, Medicine School of Fortaleza University - UNIFOR, Fortaleza, (CE), Brazil

⁴ National Research Council of Italy - Institute of Biomedicine and Molecular Immunology "Alberto Monroy", Palermo, Italy

Source of support: This study received financial support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazilian National Council for Scientific and Technological Development; Research Productivity Grant no. 307618/2010-2)

Summary

The negative expiratory pressure (NEP) technique is used to assess upper airway collapsibility in patients with obstructive sleep apnea (OSA). Expiratory flow limitation (EFL) has been described as a transient or sustained decrease in expiratory flow during the application of the NEP test. The aim of this article was to describe the application of a new NEP method for assessing EFL during spontaneous breathing to identify patients at risk for OSA.

Upper airway collapsibility was evaluated by measuring decreases in flow and expired volume during the first 0.2 s after the application of NEP at 10 cmH₂O. The NEP test was easily applied to evaluate EFL caused by upper airway obstruction in patients with OSA.

The NEP is a method for detecting upper airway flow limitation and has been used worldwide over the past 2 decades. Authors have applied the NEP in a number of different subjects including healthy individuals, patients with chronic obstructive pulmonary disease, obese individuals, and those with sleep disorders such as OSA, to detect airflow limitation.

A number of studies have been performed in different populations and have shown that NEP is a reliable method for detecting upper airway collapsibility and can be used as a screening method for diagnosing OSA.

key words: negative expiratory pressure • upper airways • obstructive sleep apnea • screening test

Full-text PDF: <http://www.ceml-online.com/download/index/idArt/889916>

Word count: 2994

Tables: 1

Figures: 2

References: 31

Author's address: Luis Vicente F. Oliveira, Rua Itapicuru 380, apto 111, Perdizes, São Paulo, SP, Brazil. CEP 05006-000, e-mail: oliveira.lvf@uninove.br

BACKGROUND

Obstructive sleep apnea (OSA) is a common medical condition and is a form of sleep disordered breathing (SDB) characterized by repetitive complete and/or partial collapses (apnea and hypopnea, respectively) of the upper airways. The disease is classified as mild, moderate, or severe based on the number of episodes of apnea and/or hypopnea per hour of sleep, known as the apnea-hypopnea index (AHI). The gold standard assessment for sleep disorders is basal nocturnal polysomnography (PSG), which provides simultaneous recordings of physiological variables during sleep [1].

OSA can also be defined as a combination of symptoms such as excessive sleepiness, cognitive-behavioral or respiratory disorders, as well as repeated episodes of upper airway obstruction during sleep [2].

This disease is characterized by pharyngeal collapse and occlusion during sleep, which causes intermittent hypoxia, sudden reduction of intrathoracic pressure, and frequent awakenings with subsequent sleep fragmentation [3]. The disorder is the most important and widespread respiratory disease and affects approximately 4% of middle-aged men and 2% of middle-aged women [4]. A recent study found that the disorder affects 3% to 7% of the male population and 2% to 5% of the female population aged between 40 and 65 years in the Western hemisphere [5]. According to an epidemiological study conducted in the city of São Paulo (Brazil), the prevalence of moderate OSA is 24.8% among men and 9.6% among women [6].

Moreover, OSA has important social implications related to accidents [7], cardiovascular risk [8,9], neuropsychological impairment [10], reduction in quality of life [11], and increased health-care utilization [12,13]. It is associated with significant morbidity and mortality [14,15].

Unfortunately, OSA diagnostic procedures are expensive and predictive criteria are unsatisfactory. Identifying new predictive tools with widespread applications would therefore be useful

[16]. Increased upper airway collapsibility is one of the main determinants of OSA [17–19] and it has been suggested that responses to NEP may reflect upper airway collapsibility [20].

The NEP test is performed by applying negative pressure at the mouth during expiration. It is easy to perform and requires minimal subject cooperation. The test is based on the principle that in the absence of expiratory flow limitation (EFL) the increase in the pressure gradient between the alveoli and the airway opening caused by NEP should result in increased expiratory flow [15].

The NEP technique been first applied and validated in mechanically ventilated ICU patients by concomitant determination of isovolume flow-pressure relationships [21].

The NEP technique has also been used to assess upper airway collapsibility in patients with OSA. In these patients, EFL presents as a transient or sustained decrease in expiratory flow (frequently below the control tidal expiratory flow) during the application of NEP. Dyspnea in obese individuals is related to the increased work of breathing due to a decrease in functional residual capacity and a resultant increase in intrathoracic EFL as well as intrinsic positive end-expiratory pressure, increased respiratory drive, and intermittent narrowing or collapse of the upper airway, which is made worse upon assuming the supine position [22].

During the test, NEP is generated by a circular Venturi device (AeroMech Devices; Almonte, ON, Canada) attached to a tank of compressed air. The Venturi device includes a solenoid valve with an opening time of 50 ms; it is automatically activated by software during early expiration and remains open for 2 s (DirecWin version 2.18a; Raytech Instruments Inc., Vancouver, BC, Canada). A pneumotachograph (model 3830; Hans Rudolph, Kansas City, MO, USA) is connected to the mouthpiece. As shown in Figure 1, flow and mouth pressure are also measured (DirecNEP model 200A; Raytech Instruments Inc.). The NEP value of 10 cmH₂O is assessed by occluding the mouthpiece with a stopper and adjusting the compressed air flow [14,15].

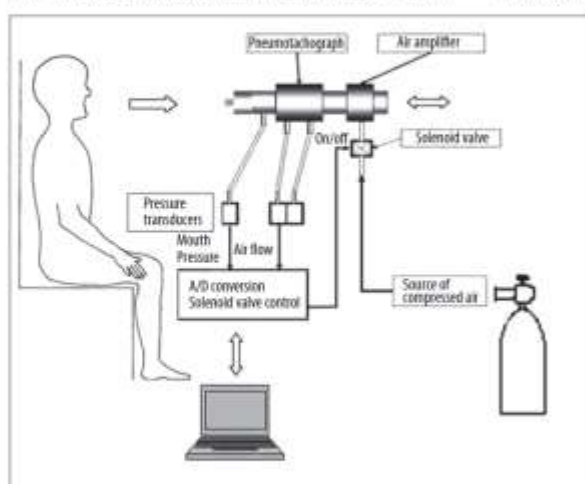


Figure 1. Experimental setup of negative expiratory pressure (NEP) test.

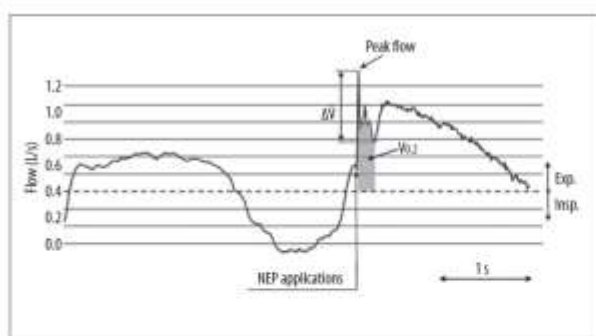


Figure 2. Upper airway collapsibility evaluated by negative expiratory pressure test as expiratory volume in 0.2 seconds (mean inspiratory volume of the three breaths preceding NEP application) and as the flow drop ΔV .

The application of NEP during early expiration produces an immediate peak flow and is followed by a sudden decrease of variable intensity. Upper airway collapsibility is evaluated by measuring flow limitation as ΔV and is expressed as a percentage of the peak flow immediately after NEP application. The minimum flow is identified in the first 200 ms of NEP application to avoid reflex and voluntary reactions to the NEP stimulus. ΔV % values are calculated using the highest of 7 measurements. Upper airway collapsibility is also evaluated by measuring the expired volume during the first 0.2 s ($V_{0.2}$) after NEP application. These values are expressed as a percentage of the mean inspiratory volume of the 3 breaths preceding NEP application. Measured volumes are accepted only when differences between inspiration and expiration for each of the 3 previous breaths are less than 10%. $V_{0.2}$ values are calculated as the mean of 7 measurements [14,15] (Figure 2).

NEP was initially introduced as a test to evaluate intrathoracic EFL in patients with obstructive lung disease. Over the years, researchers have used the NEP test in different populations of patients to identify the best use of the technique.

Kolouris et al. [20] initially proposed a simple technique that did not require a body plethysmograph or patient cooperation to verify flow limitation during rest in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The technique involved the application of a negative pressure at the mouth during tidal expiration. Patients in whom NEP elicited an increase in flow throughout the expiration were considered not to be flow limited and patients in whom the application of NEP did not elicit an increase in flow during most or part of the tidal expiration were considered to be flow limited. The authors assessed 26 patients with COPD, 11 of whom presented with flow limitation when seated as well as supine; 8 presented with flow limitation only when supine, and 7 did not present with flow limitation.

Tantucci et al. [23] studied 12 healthy men with no historical evidence of sleep disturbance, nocturnal apnea, hypersomnolence, or upper airway abnormality to determine whether NEP might increase upper airway resistance to such an extent as to mask any clue suggesting intrathoracic flow limitation during the NEP test. Bed partners were interviewed and completed a questionnaire assessing any history of snoring, nocturnal awakening, and excessive daytime sleepiness to identify snorers (6 subjects who only snored occasionally were designated as non-snorers) and habitual snorers (6

almost nightly snorers). Among the non-snorers, the flow was consistently higher during the application of NEP than before NEP in both the seated and supine positions. In contrast, the snorers exhibited a smaller increase in expiratory flow with NEP independent of the level of NEP applied,

Baydur et al. [24] studied obese subjects without a history of obstructive sleep apnea (OSA) or snoring in a supine position and noted that a NEP <5 cmH₂O can be used to assess intrathoracic EFL. Since consistent upper airway flow limitation throughout expiration was rare with NEP, they concluded that a NEP of 5 cmH₂O can be used to assess intrathoracic EFL in a non-OSA population.

Van Meerhaeghe et al. [25] studied snoring in 238 patients with suspected OSA and found a correlation between the degree of flow limitation measured by NEP in the seated and supine positions and the AHI; the correlation was significantly higher in the supine position where an expiratory flow limitation cut-off value of $>27.5\%$ of the tidal volume produced a sensitivity of 81.9% and a specificity of 69.1% for predicting OSA.

Tamisier et al. [26] investigated upper airway dynamics during negative pressure in healthy patients as well as those with upper airway resistance syndrome, moderate OSA, and severe OSA. They reported that abnormal flow-volume curves were significantly more frequently observed among patients with SDB breathing compared with healthy subjects in both the seated and supine positions (-10 cmH₂O). Moreover, the quantitative index decreased with the severity of SDB independent of age, body mass index (BMI), and expiratory reserve volume.

Insalaco et al. [15] studied a population of 37 male subjects with suspected OSA and with normal spirometric values underwent nocturnal polysomnography and diurnal NEP testing at -5 cmH₂O and -10 cmH₂O in seated and supine positions. They noticed that in the supine position a NEP of -10 cmH₂O was the best indicator of OSA severity and may be particularly helpful for non-severely obese subjects.

Ferreti et al. [27] determined that the volume exhaled during early application of NEP at the onset of quiet expiration at rest differed among OSA patients, snorers, and normal subjects. Forty-eight subjects with different severities of OSA and 7 healthy subjects were subjected to NEP at -5 and -7 cmH₂O in the seated and supine positions while awake

after a sleep study. Upper airway collapsibility was assessed by computing the volume exhaled during the first 0.5 s and 1 s following the application of NEP. The researchers noticed that patients with severe (AHI >30) and mild-to-moderate (AHI <30 and >5) OSA had a lower $V_{NEP_{0.5}}$ than snorers. They concluded that the technique appeared to have limited usefulness as a clinical tool for routine screening of OSA patients while awake.

Romano et al. [28] investigated whether NEP could be used as a screening test for severe OSA. They compared the use of NEP in 24 patients with severe OSA and 24 normal subjects. For the first time, they measured the $V_{0.2}$ (%) value beyond the traditional ΔV and found that OSA patients experienced a greater decrease in flow than normal subjects. In addition, patients with severe OSA exhaled during the first 0.2 s of NEP application an average of only 11.2% of the inspired volume compared with 34.2% among normal subjects.

In the same year, Romano et al. [29] carried out a study aiming to investigate the use of NEP as a method to rule out obstructive sleep apnea. In this study, 155 subjects were involved: 29 had normal AHI, 28 had mild, 34 had moderate, and 64 had severe OSA. They found that the mean expiratory volume at 0.2 s and 0.5 s were statistically higher in healthy subjects than in all obstructive sleep apnea groups.

The NEP test thus appears to be a suitable method for detecting upper airway flow limitation in a number of different disorders. Numerous studies using the NEP test have been performed worldwide over the past 2 decades and have identified diseases at different levels of severity for which the technique can be used to provide an accurate diagnosis (Table 1).

The most vulnerable section of the upper airway is that located behind the base of the tongue and the soft palate, where rigid skeletal support is absent. Here, airway patency is determined by a balance of forces determined by the interplay of anatomical factors and dilator muscle activation [30].

During sleep, a progressive loss of upper airway muscle tone occurs, leaving the pharynx vulnerable to the negative collapsing pressures that occur during inspiration. This loss of tone is thought to contribute to the development of OSA. Sensory receptors in the upper airway mucosa are activated by the negative transmural pressures during inspiration and cause a reflex increase in the activity of upper airway dilating muscles. This reflex response likely plays a role in preventing upper airway narrowing or collapse during sleep [31].

NEP was initially introduced as a test to evaluate intrathoracic EFL in patients with obstructive lung disease. Subjects were considered to be flow limited when NEP application did not elicit an increase in flow (ΔV) during the terminal portion of the tidal expiration compared with the previous flow-volume loop. Using the NEP technique, researchers determined the prevalence of EFL during resting breathing in a group of stable COPD patients with varying degrees of airway obstruction. The measurements were made in both the seated and supine positions and revealed a high prevalence of flow limitation in COPD patients at rest, particularly when supine. They concluded that the NEP technique provides a simple, rapid, and reliable method for detection of

expiratory flow limitation in spontaneously breathing subjects, which does not require the patient's co-operation, and can be applied in different body positions both at rest and during muscular exercise [20].

Years later, Tammucci et al. [23] assessed whether NEP might increase upper airway resistance to such an extent as to mask any indication of intrathoracic flow limitation during the NEP test. The authors determined the effects of different levels of NEP on expiratory flow resistance in healthy subjects (both snorers and non-snorers) when awake. At the conclusion of the study they indicated that during wakefulness snorers have upper airways that are more collapsible than in non-snorers.

Baydur et al. [24] were among the first to study the application of the NEP test in obese subjects as well as those with obstructive and restrictive disorders rather than patients with COPD alone. They assessed the effects of increasing NEP levels on upper airway patency and determined the factors that predispose individuals to intrathoracic flow limitation or upper airway collapse during NEP application in different postures. Their subjects included healthy non-obese and obese subjects as well as patients with obstructive and restrictive respiratory disorders. NEP was applied at levels of 5 cmH₂O, 10 cmH₂O, and 15 cmH₂O with the subjects in seated and supine positions and the EFL was compared between patients with COPD, simple chronic bronchitis, or asthma and healthy non-obese and obese subjects. Subjects in almost all of the subgroups exhibited a transient decrease of flow below the control level immediately after the application of NEP during occasional breathing in both the seated and supine positions. As the NEP increased, the number of subjects who exhibited this response during all breaths increased.

One of the first studies to evaluate the application of the NEP test in snorers that included a large number of patients was that of Van Meerhaeghe et al. [25] full laboratory polysomnography was performed and a NEP of -5 cmH₂O was applied to 238 patients with normal spirometric values. A significant correlation between the degree of flow limitation measured by NEP while in the seated and supine positions was observed, with the AHI being significantly higher in the supine position. The degree of instability of the upper airway measured by NEP was found to be correlated with the severity of OSA with a moderate sensitivity and specificity. The researchers suggested that it could be useful for predicting the presence of OSA in a clinic-based population.

The Tamisier et al. [26] study divided subjects into groups based on the severity of sleep disorders to determine whether NEP could be used to anticipate SDB severity. Fifty subjects from 2 centres in France were evaluated; a NEP of -5 cmH₂O and -10 cmH₂O was used with the subjects in both the seated and supine positions. The researchers found that abnormal flow-volume curves were significantly more frequent among patients with SDB compared with healthy subjects for both negative pressures in the seated position and for -10 cmH₂O in the supine position. However, they concluded that the application of NEP should be confirmed by a prospective study in the general population.

Insalacco et al. [15] assessed upper airway flow limitation in a population with suspected OSA, and concluded that

Table 1. Studies included in the review.

Title	Authors	Subjects	Main results
A simple method to detect expiratory flow limitation during spontaneous breathing	Koulouris et al. (1995, Canada)	COPD (n=26)	<ul style="list-style-type: none"> The NEP technique provides a simple, rapid, and reliable method for detection of expiratory flow limitation in spontaneously breathing subjects, which does not require the patient's co-operation, and can be applied in different body positions both at rest and during muscular exercise The results also indicate a high prevalence of flow limitation in COPD patients at rest, particularly when supine
Effect of negative expiratory pressure on respiratory system flow resistance in awake snorers and nonsnorers	Tantucci et al. (1999, Italy, France and Canada)	Nonsnorers (n=6); Nonapneic snorers (n=6)	<ul style="list-style-type: none"> During wakefulness snorers have more collapsible upper airways than non-snorers
Extrathoracic Expiratory Flow Limitation in Obesity and Obstructive and Restrictive Disorders	Baydur et al. (2004, USA)	Obese and restrictives and obstructives diseases (n=139)	<ul style="list-style-type: none"> Both seated and supine, subjects exhibited a transient decrease of flow below control immediately after the application of NEP in occasional breaths As NEP increased, the number of subjects who exhibited this response in occasional breaths declined, while the number of subjects who displayed this pattern in all breaths increased
Operating characteristics of the negative expiratory pressure technique in predicting obstructive sleep apnoea syndrome in snoring patients	Van Meerhaeghe et al. (2004, Belgium)	Snoring or suspicious of OSA (n=282)	<ul style="list-style-type: none"> The degree of instability of the upper airway measured by NEP is correlated with the severity of OSA NEP had moderate sensitivity and specificity and may be useful in predicting OSA in a clinic based population
Awake flow limitation with negative expiratory pressure in sleep disordered breathing	Tamisier et al. (2005, France)	Healthy subjects (n=15); Sleep-disordered breathing (n=35)	<ul style="list-style-type: none"> Abnormal flow-volume curves were significantly more frequent in patients with SDB than in healthy subjects The quantitative index decreased with the severity of SDB, independently of confounding factors (age, body mass index (BMI) and expiratory reserve volume (ERV))
A New Method of Negative Expiratory Pressure Test Analysis Detecting Upper Airway Flow Limitation To Reveal obstructive Sleep Apnea	Insalaco et al. (2005, Italy)	Obese subjects (n=37)	<ul style="list-style-type: none"> NEP of $-10 \text{ cmH}_2\text{O}$ in supine position was the best indicator of OSA severity and could be adopted as a screening test
Upper airway dynamics during negative expiratory pressure in apneic and non-apneic awake snorers	Ferretti et al. (2006, Italy)	Control (n=7); Snorers (n=14); OSAmild (n=15); OSAsevere (n=19)	<ul style="list-style-type: none"> The NEP technique appears to have a limited usefulness as clinical tool for routine screening of the OSA patients during wakefulness
Upper airway collapsibility evaluated by a negative expiratory pressure test in severe obstructive sleep apnea	Romano et al. (2011, Brazil and Italy)	Normal (n=24); Severe OSA (n=24)	<ul style="list-style-type: none"> $\Delta V(\%)$ and $V_{0.2}(\%)$ values were statistically different between normal and OSA subjects. OSA patients showed a greater decrease in flow than normal subjects The NEP technique is valuable for detecting severe OSA in association with anamnestic data, such as snoring and hypersomnolence
A negative expiratory pressure test during wakefulness for evaluating the risk of obstructive sleep apnea in patients referred for sleep studies	Romano et al. (2011, Italy)	Healthy subjects (n=29); OSA (n=126)	<ul style="list-style-type: none"> Mean expiratory volumes at 0.2 and 0.5 s were statistically higher ($p < 0.01$) in healthy subjects than in all obstructive sleep apneic groups NEP appears to be a useful screening test for suspected obstructive sleep apnea

the finding of a high ΔV (%V peak) value after NEP application during tidal expiration in patients with suspected OSA may reinforce the suspicion of OSA, while traditional

analysis by EFL (%Vt) gives much more approximate indications. With ΔV (%V peak) in the supine position, a NEP of $-10 \text{ cmH}_2\text{O}$ was the best indicator of OSA severity and

Review Paper

could be adopted as a screening test for the evaluation of suspected OSA patients.

Ferreti et al. [27] also studied the NEP technique in OSA patients, but with a NEP of -5 cmH₂O and -7 cmH₂O. The measurements were taken in the seated and supine positions while awake after a sleep study. Patients with severe and mild-to-moderate OSA were found to have lower V_T , NEP0.5 compared to snorers and controls in the supine position with NEP -5 cmH₂O, although less significant differences among the different groups for V_T , NEP0.5 were observed in the seated position with NEP -5 cmH₂O and in both positions with NEP -7 cmH₂O. The authors concluded that the NEP technique appears to have limited usefulness as a clinical tool for routine screening of OSA patients during wakefulness.

One of the most recent studies of NEP in severe OSA is that of Romano et al. [28]. Their aim was to investigate the usefulness of measurement of upper airway collapsibility with the application of NEP to determine its efficacy as a screening test for severe OSA. They compared the outcomes of the application of NEP in normal subjects and those with severe OSA and found that upper airway collapsibility can be evaluated by ΔV and $V_{0.2}$ during the NEP test. They determined that these measurements are valuable for detecting severe OSA and suggested that the diagnosis could be even more powerful in association with anamnestic data such as snoring and hypersomnolence; further analyses of a more heterogeneous population could also be useful.

Romano et al. [29] performed another study in the same year with the same population as the previous study (healthy subjects and OSA) but with a higher number of subjects. They applied a NEP of -10 cmH₂O for 7 times, and a minimum of 4 valid measures of expiratory volumes at 0.2, 0.5, and 1.0 were averaged for each subject. They concluded that measurement by $V_{0.2}$ (%) during wakefulness may be a very reliable method to identify obstructive sleep apnea. Furthermore, they also concluded that NEP appears to be a useful screening test for suspected obstructive sleep apnea.

CONCLUSIONS

The NEP test can be adopted as a screening test for the evaluation of suspected OSA because it appears to be a very reliable diurnal test that can objectively predict OSA. It may be even more useful when combined with anamnestic data such as symptoms of snoring and hypersomnolence.

Acknowledgements

This study was carried out under the auspices of the Graduate Masters and PhD Program in Rehabilitation Sciences, Nove de Julho University, São Paulo, Brazil and National Research Council of Italy - Institute of Biomedicine and Molecular Immunology "Alberto Monroy", Palermo, Italy.

REFERENCES:

- Mirakhorov AE, Secombaez T, Mirakhorov EM: Prevalence of obstructive sleep apnea in Asian adults: a systematic review of the literature. *BMC Pulm Med*, 2013; 13: 10
- Corral-Peñafiel J, Pepin JL, Barbe F: Ambulatory monitoring in the diagnosis and management of obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir Rev*, 2013; 22(129): 512-24
- 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(5): 667-89
- Young T, Palta M, Dempsey J et al: The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med*, 1993; 328(17): 1230-35
- Punjabi NM: The epidemiology of adult obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc*, 2008; 5(2): 136-43
- Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bontempo LR: Obstructive sleep apnoea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Med*, 2010; 11(5): 441-46
- Sassani A, Fintley LJ, Kryger M et al: Reducing motorcycle collisions, costs, and fatalities by treating obstructive sleep apnoea syndrome. *Sleep*, 2004; 27: 453-58
- Nieto FJ, Young TB, Lind BK et al: Association of sleep-disordered breathing, sleep apnoea, and hypertension in a large community-based study: Sleep Heart Health Study. *JAMA*, 2006; 295: 1829-36
- Peker Y, Hedner J, Kraiczi H et al: Respiratory disturbance index: an independent predictor of mortality in coronary artery disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000; 162: 81-86
- Kim HC, Young T, Matthews CG et al: Sleep-disordered breathing and neuropsychological deficits: a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997; 156: 1813-19
- Fleming WW, Tai W: Quality of life consequences of sleep-disordered breathing. *J Allergy Clin Immunol*, 1997; 99: S750-56
- Smith R, Ronald J, Delisle K et al: What are obstructive sleep apnoea patients being treated for prior to this diagnosis? *Chest*, 2002; 121: 164-72
- Onaka K, Delisle K, Walid R et al: Cardiovascular medication use in patients with undiagnosed obstructive sleep apnoea. *Thorax*, 2002; 57: 417-22
- Oliveira LV, Romano S, Hirata RP et al: Negative expiratory pressure test: a new, simple method to identify patients at risk for obstructive sleep apnoea. *J Bras Pneumol*, 2011; 37(5): 650-65
- 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 apnoea. *Chest*, 2005; 128(4): 2159-65
- Romano S, Salvaggio A, Lu Bue A et al: A negative expiratory pressure test during wakefulness for evaluating the risk of obstructive sleep apnoea in patients referred for sleep studies. *Clinics (Sao Paulo)*, 2011; 66(11): 1887-94
- Gold AR, Schwartz AR: The pharyngeal critical pressure: the whys and hows of using continuous positive pressure diagnostically. *Chest*, 1996; 110: 1077-88
- Fogel RB, Malhotra A, White DP: Sleep 2: pathophysiology of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *Thorax*, 2004; 59: 159-63
- Malhotra A, Pillar G, Fogel R et al: Upper-Airway Collapsibility: Measurements and Sleep Effects. *Chest*, 2001; 120: 156-61
- Koulouris NG, Vata P, Lawie A et al: A simple method to detect expiratory flow limitation during spontaneous breathing. *Eur Respir J*, 1995; 8: 306-13
- Koulouris NG, Kalsakas G, Palamidis AE, Geminiana SA: Methods for assessing expiratory flow limitation during tidal breathing in COPD patients. *Pulm Med*, 2012; 2012: 234145
- Bandur 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
- Tanucci C, Dagues A, Ferranti A et al: Effect of negative expiratory pressure on respiratory system flow resistance in awake snorers and non-snorers. *J Appl Physiol* (1985), 1999; 87(3): 969-76
- Bandur A, Wilkinson L, Mehdi R et al: Extrathoracic expiratory flow limitation in obesity and obstructive and restrictive disorders: effects of increasing negative expiratory pressure. *Chest*, 2004; 125(1): 98-105
- Van Meerhaeghe A, Delpire P, Sermit P, Kerkhofs M: Operating characteristics of the negative expiratory pressure technique in predicting obstructive sleep apnoea syndrome in snoring patients. *Thorax*, 2004; 59(10): 883-88
- Tamisier R, Wryan J, Nicole I et al: Awake flow limitation with negative expiratory pressure in sleep disordered breathing. *Sleep Med*, 2005; 6(3): 205-13

-
27. Ferrenti A, Giampiccolo P, Redolfi S et al: Upper airway dynamics during negative expiratory pressure in apneic and non-apneic awake smokers. *Respir Res*, 2006; 7: 54
 28. Romano S, Salvaggio A, Hirata RP et al: Upper airway collapsibility evaluated by a negative expiratory pressure test in severe obstructive sleep apnea. *Clinics (Sao Paulo)*, 2011; 66(4): 567-72
 29. 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(11): 1887-94
 30. Pierce R, White D, Malhoira A et al: Upper airway collapsibility, dilator muscle activation and resistance in sleep apnoea. *Eur Respir J*, 2007; 30(2): 345-53
 31. Doherty LS, Nolan P, McNicholas WT: Effects of topical anaesthesia on upper airway resistance during wake-sleep transitions. *J Appl Physiol* (1985), 2005; 99(2): 549-55

11.4. Anexo 4 – Artigo enviado – Revisão sistemática NEP

Luis Vicente Franco de Oliveira

De: ees.sleep.0.2ddf9b.f6c3e864@eesmail.elsevier.com em nome de Sleep Medicine <sleep@elsevier.com>
Enviado em: sexta-feira, 12 de dezembro de 2014 05:48
Para: Luis Vicente Franco de Oliveira; oliveira.lvf@pq.cnpq.br
Assunto: A manuscript number has been assigned SLEEP-D-14-00729

Dear Prof. Oliveira,

Your submission entitled "Negative Expiratory Pressure technique as screening to obstructive sleep apnea: A systematic review." has been assigned the following manuscript number: SLEEP-D-14-00729.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Elsevier Editorial Systems as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/sleep/>.

Your username is: oliveira.lvf@uninove.br If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/sleep/automail_query.asp

For guidelines on how to track your manuscript in EES please go the following address: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/p/7923/a_id/89

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Sleep Medicine

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

Elsevier Editorial System(tm) for Sleep Medicine
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Negative Expiratory Pressure technique as screening to obstructive sleep apnea: A systematic review.

Article Type: Review Article

Keywords: Negative expiratory pressure; upper airways; sleep; obstructive sleep apnea; screening test.

Corresponding Author: Prof. Luis Vicente Franco Oliveira, PhD

Corresponding Author's Institution: Nove de Julho University - UNINOVE

First Author: Sergio R Nacif, MD

Order of Authors: Sergio R Nacif, MD; Nadua Apostolico, Student; Ezequiel F Oliveira, Student; Nina T Fonseca, Student; Jessica J Urbano, Student; Salvatore Romano, PhD; Giuseppe Insalaco, PhD; Luis Vicente Franco Oliveira, PhD

Abstract: Background: Obstructive sleep apnea (OSA) is a type of sleep-disordered breathing characterized by recurrent partial or complete upper airway collapse during sleep. Several diagnostic techniques have been proposed to assess the collapsibility of the upper airway in awake humans, but sleep-wake comparisons have rarely been attempted, and there are few studies comparing OSA patients and control subjects. The aim of this article was to describe the negative expiratory pressure NEP, a new method assessing expiratory flow limitation during spontaneous breathing used to identify patients at risk for obstructive sleep apnea. Material and Methods: A bibliographic reference research was conducted in the main base of journals indexed data, published between January 1, 1994 (when the technique was started) and December 1, 2014 using NEP technique in subjects with respiratory sleep disorders. Results: The NEP is a new method to detect upper airway flow limitation and has been disseminated worldwide over two decades of research. Authors have applied the NEP in different subjects such as healthy individuals, patients with chronic obstructive pulmonary disease, obesity and sleep disorders obstructive sleep apnea to detect airflow limitation. Conclusion: Some studies have been conducted under different population and have shown that this new method is reliable to detect upper airway collapsibility and could be used as a screening method for diagnostic obstructive sleep apnea (OSA).

Negative Expiratory Pressure technique as screening to obstructive sleep apnoea: A systematic review.

Sergio R. Nacif¹, Nina T. Fonsêca¹, Ezequiel F. Oliveira¹, Nadua Apostólico¹, Israel R. Santos¹, Jessica J. Urbano¹, Salvatore Romano², Adriana Salvaggio², Giuseppe Insalaco², Luis Vicente F. Oliveira¹.

¹Sleep Laboratory, Rehabilitation Sciences Master's and PhD Degree Program, Nove de Julho University - UNINOVE, Sao Paulo, (SP), Brazil.

²National Research Council of Italy – Institute of Biomedicine and Molecular Immunology “Alberto Monroy”, Palermo, Italy.

Correspondence to:

Luis Vicente F. Oliveira. Rua Itapicuru 380, apto 111, Perdizes, São Paulo, SP, Brazil. CEP 05006-000
email : oliveira.lvf@uninove.br Fax number: 0055 11 38681681

ABSTRACT

Background: Negative expiratory pressure (NEP) technique is used to assess upper airway collapsibility in patients with obstructive sleep apnea, in which expiratory flow limitation has been described as a transient or sustained decrease in expiratory flow during application of NEP. **Objectives:** The aim of this systematic review was to describe the NEP test, a new method to assess expiratory flow limitation during spontaneous breathing used to identify patients at risk for obstructive sleep apnea. **Material and Methods:** A bibliographic reference research was conducted in the main base of journals indexed data, published between January 1, 1994 (when the technique was started) and March 1, 2015 using NEP technique in subjects with respiratory sleep disorders. **Results:** The NEP test has been disseminated worldwide over two decades of research. Authors have applied the NEP in different subjects such as healthy individuals, patients with chronic obstructive pulmonary disease, obesity and obstructive sleep apnea (OSA) to detect upper airway flow limitation. **Conclusion:** Some studies have been conducted under different population and have shown that this NEP test is reliable to detect upper airway collapsibility and could be used as a screening method for diagnostic OSA.

Keywords: Negative expiratory pressure, upper airways, sleep, obstructive apnea, screening test.

INTRODUCTION

The negative expiratory pressure (NEP) method was introduced nearly 20 years back in 1994 as a method of detecting limited human intrathoracic expiratory flow under various conditions. NEP uses negative pressure (typically between -2 and -10 cm H₂O) during quiet tidal exhalation to increase the pressure difference between the alveoli and airway opening; in the absence of flow limitation, the expiratory flow increases ⁽¹⁾. The expiratory flow does not increase at any point during expiration tidal in patients with a flow limitation. The usually transient application of a small NEP at the onset of resting expiration does not elicit the gag reflex in the genioglossus or change the upper airway resistance in awake subjects ⁽²⁻³⁾.

Obstructive sleep apnea (OSA) is a type of sleep-disordered breathing characterized by recurrent partial or complete upper airway collapse during sleep. Sleep apnea is defined as the complete cessation of airflow for longer than 10 seconds and is considered obstructive when it is airflow ⁽⁴⁾. Several diagnostic techniques have been proposed to assess the collapsibility of the upper airway in awake humans, but sleep-wake comparisons have rarely been attempted, and there are few studies comparing OSA patients and control subjects ⁽³⁾.

This systematic review describes the methods and techniques used over the past 20 years to verify the presence of negative expiratory pressure, focusing on the diagnosis of OSA.

Definition

The NEP technique was first introduced by Valta et al. in 1994 ⁽⁵⁾. According to Koulouris et al. ⁽¹⁾, in the following year, Valta proposed an alternative technique to detect intrathoracic expiratory flow limitation that did not require patients to perform forced expiratory maneuvers. Koulouris et al. then examined the prevalence of expiratory flow limitation during resting breathing in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD); they showed that the NEP technique was a simple, rapid, and reliable method, and found a high prevalence of flow limitation in COPD patients.

During the NEP test, negative pressure is applied at the mouth during a tidal expiration, and the resulting flow-volume (V'-V) curve is compared to the curve generated during the previous control expiration. The NEP technique is based on the principle that, in the absence of flow limitation, the increased pressure gradient between the alveoli and airway opening caused by NEP should result in an increased expiratory flow. NEP does not require forced vital capacity (FVC) maneuvers or a specific slot;

the required patient cooperation is minimal, and the technique can be used during exercise and in the intensive care unit (ICU). NEP was first applied and validated in ICU patients receiving ventilator support (6-10).

The NEP test was introduced to assess the limitation expiratory flow (EFL) intrathoracic in patients with obstructive lung disease. These subjects are regarded as flow-limiting implementation of the NEP did not show an increase in flow during the terminal portion of the expiratory tidal volume compared with previous values of the flow volume curve. More recently, the NEP test was also used to verify the properties of the upper airways of subjects with obesity and / or OSA, suggesting that in the absence of intrathoracic airways obstruction in response to the application of the NEP could reflect airway collapsibility higher⁽⁹⁾.

The test is performed applying a negative pressure in the oral cavity during exhalation. This is an easy maneuver to perform and requires minimal cooperation of the patient. NEP is based on the principle that, in the absence of LPE, the increase in pressure gradient between the alveoli and the upper airway open caused by the NEP may result in an increase in expiratory flow⁽¹¹⁾.

The application of NEP shows a rapid increase in the flow, especially for dynamic airway compression, dropping due to compliance and the oral structures of the neck, determined by the common mode rejection ratio of the differential pressure transducer used to measure flow, followed by a drop in the flow, called delta flow ($\Delta V'$) variable degree between subjects. The sudden fall of the flow is caused by increased resistance in the oropharyngeal region, reflecting the collapsibility of the upper airway (extrathoracic EFL). Block diagram of the instrument for the analysis of airflow limitation by the negative expiratory pressure technique showed in Figure1. ^(12, 13).

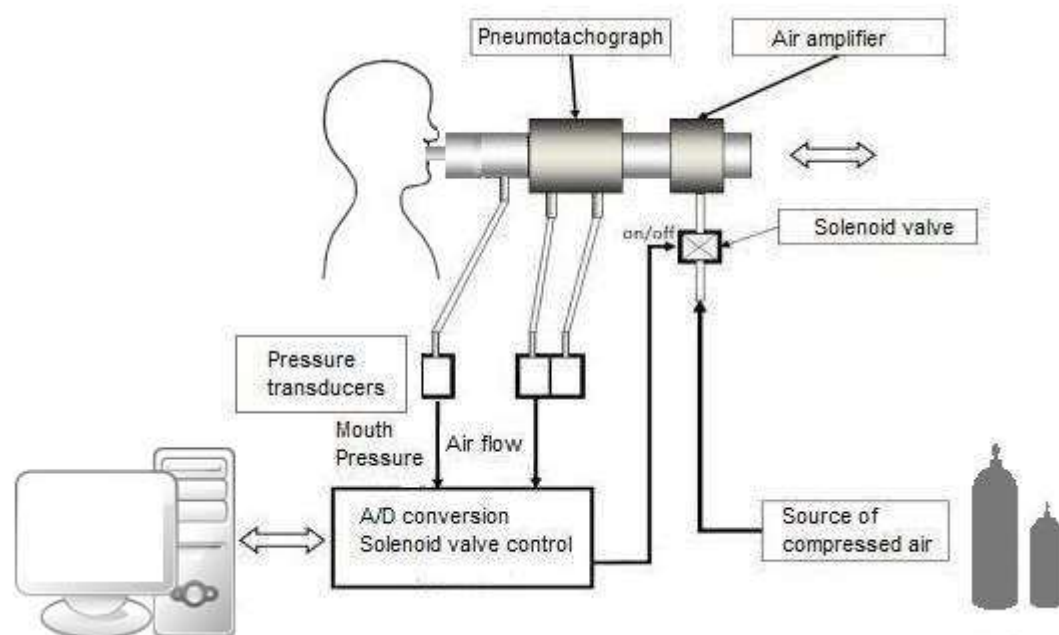


Figure 1: Negative expiratory pressure technique set up.

NEP is usually set to approximately -5 cm H₂O but can be adjusted with a potentiometer in vacuum devices or by adjusting the Venturi device. When normal breathing is resumed, a number of test cycles are performed with regular cycles interspersed between, with NEP is applied at the beginning of expiration and maintained during the entire expiration. Importantly, subjects should be observed during testing to ensure that there are no leaks in the nozzle. Only tests without air leaks were considered valid (9,11-13).

The NEP technique has been used to assess the expiratory flow limitation in COPD during exercise (14), the bronchodilator reversibility in COPD (15), and airway hyper-reactivity (16). The influence of the NEP technique on spirometry has also been examined (17). Three studies utilized NEP to detect expiratory flow limitation in children, aged 1.5 to 20 months (10), 1.0 to 6.8 years (18), and 6 to 14 years (19).

Despite these other applications of the NEP technique, it has been used primarily to assess upper airway collapsibility. The first study of this kind using NEP technique was conducted by Tantucci et al. (4), who examined whether NEP could increase the upper airway resistance in a manner that masked intrathoracic flow limitation during the examination.

Although the NEP technique has great scientific and clinical potential, it is limited by technical difficulties and has yet to receive widespread use. In this context, this systematic review describes the new flexible, open architecture of current NEP instruments. Design details, diagnostic accuracy, and experimental results in normal subjects, in patients with COPD, obesity, cystic fibrosis, bronchiectasis, asthma, heart disease, and OSA, and in children and athletes are discussed.

METHODS

Search strategy

The MEDLINE, EMBASE, SciELO (Scientific Electronic Library Online), LILACS (Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde [Centro Latinoamericano y del Caribe de Información en Ciencias de la Salud]), PUB MED CENTRAL, and Cochrane Central Register of Controlled Trials databases were searched for eligible studies. The title, abstract, text, and keywords according to MeSH (Medical Subject Headings) and DECs (Descritores em Ciências da Saúde) were searched using the following terms: Obstructive Sleep Apnea OR Obstructive Sleep Apnea; Sleep

Breathing Disorders; Expiratory flow limitation OR flow limitation; Negative expiratory technique OR Negative Expiratory pressure OR Negative expiratory method. The last day of the database search was March 1, 2015.

Study selection

Two independent reviewers performed the initial database search based on the title, abstract, and keywords of potentially eligible studies. Disagreements between the reviewers were settled in consensus by a third reviewer. After the articles were identified in the initial search, they were read individually. Studies were included in the analysis according to the following criteria: controlled and non-controlled studies (assessing the diagnostic accuracy of the NEP technique in measuring the upper airway collapsibility) published between January 1, 1994 (when the technique was started) and March 1, 2015. Review articles, overviews, methodology only, letters to the editor, case reports, and articles in languages other than English were excluded.

Assessment of methodological quality

This systematic review followed the criteria outlined in the PRISMA ⁽²⁰⁾ statement, which comprises a checklist and flow diagram (reference the PRISMA). The included articles were analyzed according to the evaluation criteria outlined in the second STARD ⁽²¹⁾ statement. The objective of the STARD initiative is to improve the accuracy and completeness in studies of diagnostic accuracy to allow readers to assess the potential for bias in a particular study (internal validity) and evaluate its generalizability (external validity).

RESULTS

About 84 studies published between January 1, 1994 and December 1, 2014 were initially identified. Six articles were excluded because they were written in languages other than English (Table 1). An additional 21 articles were excluded from the critical analysis for being reviews, descriptive articles, study protocols, case reports, and editorials, for addressing pathologies other than OSA, or for failing to meet the eligibility criteria proposed by the STARD statement. Sixteen studies evaluating the diagnostic accuracy of the NEP technique for OSA were eligible. The flow diagram of study selection showed in Figure 2.

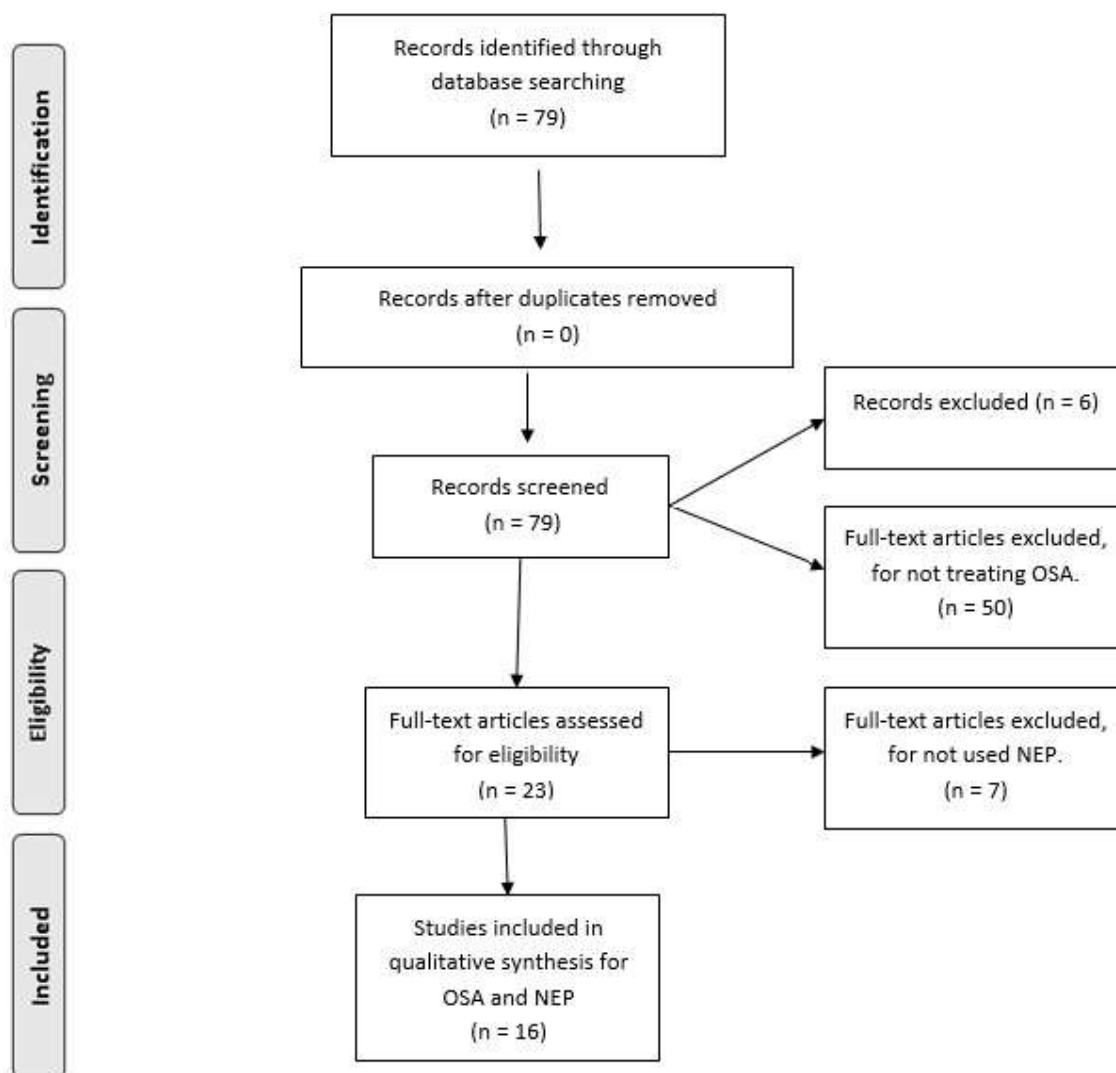


Figure 2. Selection process for studies included in this systematic review.

The NEP technique articles included in this systematic review are shown in figure 3. Figure 4 show the main results of the NEP in studies of diagnostic accuracy for OSA patients.

STUDY	AUTHOR
COPD	<i>Koulouris et al. (1995)⁽¹⁾; Baydur et al. (1997)⁽²²⁾ Koulouris et al (1997)⁽¹⁴⁾; Murciano et al. (2000)⁽¹³⁾ Diaz et al (2000)⁽²³⁾; Ninane et al. (2001)⁽²⁴⁾ Diaz et al (2001)⁽²⁵⁾; Alvisi et al. (2003)⁽²⁶⁾ Stevenson et al. (2005)⁽²⁷⁾; Walker et al. (2007)⁽²⁸⁾ Tantucci et al. (2013)⁽²⁹⁾; Chiari et al. (2013)⁽³⁰⁾ Chiari et al. (2014)⁽³¹⁾; Puente-Maestu et al (2006)⁽³²⁾ Koulouris et al. (2012)⁽³³⁾; Zhang et al. (2006)⁽³⁴⁾ Chen et al. (2007)⁽³⁵⁾; Boni et al. (2002)⁽³⁶⁾ Gold et al. (1996)⁽³⁷⁾; Calverley et al. (2005)⁽³⁸⁾ Teixeira et al. (2010)⁽³⁹⁾</i>
Asthma	<i>Boczkowski et al. (1997)⁽⁴⁰⁾; Zhang et al. (2006)⁽³⁴⁾ Kosmas et al (2004)⁽⁴¹⁾; Tantucci et al. (1999)⁽³⁾</i>
Bronchiectasy	<i>Koulouris et al (2003)⁽⁴²⁾</i>
Cystic fibrosis	<i>Braggion et al (1998)⁽⁴³⁾; Goetghebeur et al (2002)⁽⁴⁴⁾ Tauber et al (2003)⁽⁴⁵⁾; Holland et al (2006)⁽⁴⁶⁾</i>

Acuter respiratory failure	Armaganidis et al. (2000) ⁽⁴⁷⁾
Bronchodilator	Boni et al (2002) ⁽³⁶⁾ ; Hadcroft et al.(2001) ⁽¹⁵⁾ Dellacà et al.(2007) ⁽⁴⁸⁾ ; Tantucci et al.(1999) ⁽³⁾ Sulc et al (1999) ⁽⁴⁹⁾ ; Tantucci et al (1998) ⁽²⁾ Ping-Huai Wang et al.(2003) ⁽¹⁶⁾
Heart disease	Duguet et al. (2000) ⁽⁵⁰⁾ ; Chiari et al. (2013) ⁽³⁰⁾
Obesity	<i>Koutsoukou et al. (2004)⁽⁵¹⁾; Baydur et al. (2004)⁽⁵²⁾</i> <i>Pankow et al. (1998)⁽⁵³⁾</i>
Elderly	Vanpee et al (2002) ⁽¹⁷⁾ ; Marangoni et al. (2012) ⁽⁵⁴⁾ Guillot et al. (2010) ⁽⁵⁵⁾ ; Vanpee et al. (2005) ⁽⁵⁶⁾
Children	Jiricková et al.(2009) ⁽¹⁸⁾ ; Jones et al.(2000) ⁽¹⁰⁾ D'Angelo et al (2000) ⁽¹⁹⁾ ; Tauber et al. (2003) ⁽⁴⁴⁾
Athletes	<i>Mota et al (1999)⁽⁵⁷⁾; Guenette et al (2007)⁽⁵⁸⁾</i>
Healthy subjects	<i>Tantucci et al. (1998)⁽²⁾; Sulc et al (1999)⁽⁴⁸⁾</i>
Spinal Cord injury	<i>Alvisi et al. (2012)⁽⁵⁹⁾</i>
Sleep	Liistro et al.(1999) ⁽⁶⁰⁾ ; Tantucci et al.(1999) ⁽³⁾ Verin et al.(2002) ⁽⁶¹⁾ ; <i>Van Meerhaeghe et al.(2004)⁽⁶²⁾</i> Tamisier et al.(2005) ⁽⁶³⁾ ; <i>Insalaco et al.(2005)⁽⁶⁴⁾</i> Ferretti et al.(2006) ⁽⁶⁵⁾ ; <i>Rouatbi et al.(2009)⁽⁶⁶⁾</i> <i>Carrera et al. (2011)⁽⁶⁷⁾; Romano et al.(2011)^{1 (68)}</i> <i>Romano et al.(2011)^{2 (69)}; Baydur et al.(2012)⁽⁷⁰⁾</i> <i>Montemurro et al. (2012)⁽⁷¹⁾; Corda et al. (2008)⁽⁷²⁾</i> <i>Guillot et al. (2010)⁽⁵⁶⁾; Hirata et al. (2011)⁽⁷³⁾</i> <i>Oliveira et al. (2011)⁽⁷⁴⁾; Insalaco et al. (2012)^{1 (75)}</i> <i>Insalaco et al. (2012)^{2 (76)}; Handa et al. (2012)⁽⁷⁷⁾</i> <i>Togero et al. (2010)⁽⁷⁸⁾; Ayappa et al.(2003)⁽⁷⁹⁾</i> Malhotra et al. (2001) ⁽⁸⁰⁾

Figure 3. Studies about NEP test in various conditions.

<i>Authors</i>	<i>Classification and Subjects</i>	<i>Results and Conclusion</i>
Romano, 2011	Controlled Study (n=24 OSA; n= 24 control)	OSA patients showed a greater decrease in flow than normal subjects. Sensitivity and specificity for V0,2 and DV proved precision for severe OSA using NEP test (95.8 and 91.7 respectively)
Carrera, 2011	Controlled Study (n=20 children whit snoring; n= 20 with OSA; n=20 control)	NEP compared to tidal breathing (RatioNEP)= in both the seated and supine positions; P < 0.0001 for all (e.g., RatioNEP at -5 cm H2O, seated: 1.8 ± 0.5, 2.1 ± 0.4, and 3.0 ± 0.6 for OSAS, snorers, and controls, respectively). NEP technique does not elicit a different Upper Airway muscle activity response between controls and children with SDB.
Rouatbi, 2009	Cross-sectional study, (n=108) 42 OSA patients and 34 with snorers and 32 healthy subjects.	Apneic patients had lower Drop flow in both positions with a number of oscillations on the expiratory curve obtained with NEP and an EFL in the supine position higher than that of other groups (p < 0.05).NEP constitutes a simple and useful tool for the screening

		OSA by EFL.
<i>Ferreti, 2006</i>	Prospective, randomized study (n= 34 OSA; n=14 snoring; n= 7 control)	An inverse correlation with AHI was found for V,NEP0.5 in the supine position with NEP -5 cmH2O (rs = -0.46, p < 0.05) in severe OSAH patients.. The NEP technique, however, appears to have a limited usefulness as clinical tool for routine screening of the OSA patients during wakefulness.
<i>Tamisier, 2005</i>	Controlled study (n= 35 SDB; n= 15 control)	Abnormal flow-volume curves were significantly more frequent in patients with SDB in both negative pressures and positions. In the supine position, (-5cmH2O and -10cmH2O), thresholds of less than 160 and 180% respectively identified in 96.6% of SDB, whereas thresholds of greater than 160 and 180% were adequately classified in 76.9% of controls. NEP flow-volume curves during wakefulness is useful method to detect upper airway collapsibility.
<i>Tamtucci, 1999</i>	Controlled study, (n= 12 control; n= 6 Nonapneics snorers; n=6 snorers).	In Non-snoring group was both spontaneously as with NEP test will -5cmH2O, a similar increase V '(3.10 ± 0.19 and 3.30 ± 0.18 cm H2O, respectively) and the snoring group there was an the resistance of the respiratory system at all levels of NEP (p <0.05). In S, V Increased much less than with NEP in NS and was sometimes lower than without NEP, Especially in the supine position. This study Indicates that During wakefulness nonapneic S have more collapsible upper airways than the NS, reflected by the marked Increase in Rint, rs with NEP.
<i>Insalaco, 2005.</i>	Cross-sectional (n= 37 obese patients with OSA)	AHI correlated with ΔV (peak v%) in both sitting and supine positions during application of NEP. ΔV (% V peak) EFL (% VT) can be a marker of OSA.
<i>Guillot, 2010.</i>	Cohort study (n=448 with OSA)	Low sensitivity (31.4%) and specificity (67.7%) in predicting OSA. The prevalence of EFL is elevated in healthy individuals and may not be used to predict the presence of sleep-related in an older population disturbances.
<i>Liistro, 1999.</i>	Cross-sectional (n= 22 OSA)	The close correlation between % FL supine during wakefulness and DI during sleep (r = 0.84, p <0.001). All subjects had obstructive sleep apnea > 30% FL supine. The implementation of NEP appears to be a useful method and this study suggests that upper airway

		collapsibility can be detected.
Meerhaeghe, 2008.	Cross-sectional study (n= 238) in patients with OSA.	Significant correlation between the degree of FL measured by NEP in both positions and the AHI. This correlation was significantly higher in the supine position (p, 0.0001). NEP had moderate sensitivity and specificity and may be useful in predicting OSA in a population with clinical basis.
Romano, 2011.	Cross-sectional (n= 155 OSA)	The V0.2 (%) for the detection of predictive parameters were OSA sensitivity (81.1%), specificity (93.1%), VPP (98.1%), and NPV (52.9%). Sensitivity (96.9%) and NPV (93.2%) for severe OSA. The NEP seems to be a screening test for suspected OSA.
Corda, 2009.	Clinical trial non controlled (n=10 obese patients)	V NEP 0.5 was 290 ± 73 ml at the start, 291 ± 65 ml after one week and 338 ± 67 ml after 6 months (6 months vs. basal p <0.05; one weeks vs. six months p <0.01). The data suggest that treatment with CPAP may be effective in patients with OSA by inducing an improvement in aspects of upper airway that can be observed during the (early) anatomical vigil.
Verin, 2002.	Cross-sectional (n= 19 OSA)	Significant correlation between the degree of FL and the AHI (p <0.05 for both pressure levels) and DI (p <0.05, a - 10 cm H2O). NEP technique can detect the EFL of the thoracic and extrathoracic origin.
Montemurro, 2012.	Controlled study (n= 10 moderate or severe OSA; n= 10 snorers without OSA; n= 29 without OSA)	Snorers → V,NEP0.5 320 ± 33 mL (62 ± 12% predicted) and Pcrit of -0.6 ± 0.3 cmH2O, while V had OSAHS patients, NEP0.5 295 ± 67 mL (48 ± 12% of predicted) and Pcrit of 1.0 ± 1.0 cmH2O. V, NEP 0.5 expressed as percent predicted according NF Pcrit reflects strongly in a wide range of values and may be used as a substitute for Pcrit evaluate UA collapsibility.
Baydur, 2012.	Cohort study (n= 139 OSA and DPOC)	All patients exhibited %EFL values significantly higher than control subjects, corrected for age and gender. %AUC/%EFL was significantly higher in mild-moderate OSA than in COPD only while seated. %AUC or %AUC/%EFL did not discriminate amongst other cohorts in either posture. Computation of %AUC and %AUC/%EFL is useful in determining the magnitude of extrathoracic FL in individuals with obesity and OSA, but does not distinguish between cohorts.

Figure 4 – Studies with NEP test in OSA patients.

Note- OSA: Obstructive sleep apnea; $V_{0.2}$: exhaled volume at 0.2 seconds; $d\dot{V}$: Flow drop; NEP: Negative expiratory pressure; SBD: sleep breathing disorder; EFL: Expiratory Flow limitation; AHI: Apnea–Hypopnea Index; DI: Desaturation index; CPAP: Continuous positive airway pressure; Pcrit: critical pressure pharyngeal closure; UA: Upper airway; %AUC: NEP curve.

In Table 1 we can identify studies of diagnostic accuracy along with their evaluation by the STARD statement.

Table 1. Studies of diagnostic accuracy and the STARD classification

<i>STUDY</i>	<i>STARD SCORE</i>
<i>Carrera et al. (2011)</i>	16/25
<i>Rouatbi et al. (2009)</i>	14/25
<i>Romano et al. (2011)</i>	16/25
<i>Tamisier et al. (2005)</i>	18/25
<i>Tantucci et al. (1999)</i>	17/25
<i>Insalaco et al. (2005)</i>	20/25
<i>Guillot et al. (2010)</i>	24/25
<i>Liistro et al., (1999)</i>	19/25
<i>Meerhaeghe et al.(2008)</i>	21/25
<i>Romano et al. (2011)</i>	21/25
<i>Corda et al. (2009)</i>	21/25
<i>Veri et al. (2002)</i>	16/25
<i>Montemurro et al.(2012)</i>	22/25
<i>Baydur et al. (2012)</i>	22/25
<i>Ferreti et al. (2006)</i>	24/25
<i>Malhotra et al. (2001)</i>	24/25

DISCUSSION

NEP in chronic obstructive respiratory disease (COPD)

A total 21 studies examined the NEP technique in patients with COPD. All 14 studies performed NEP at -5 cmH₂O in patients with mild to severe COPD; one study was a controlled clinical trial ⁽¹³⁾ and used the NEP technique to detect Expiratory Flow Limitation (EFL) during exercise. Two studies verified the presence of flow limitation at rest only, with more than 50% of the subjects presenting expiratory flow

limitation^(23,25). Two studies assessed the flow limitation while patients were seated and supine; at least 50% of subjects in these two studies showed flow limitation when supine or seated^(1,28).

An interesting study by Murciano et al. (2000)⁽¹³⁾ used NEP to evaluate the flow limitation, hyperinflation, and dyspnea during global exercise in patients who underwent single lung transplantation (SLT). They found that patients who received SLT for COPD did not exhibit expiratory flow limitation and experienced minimal dyspnea at rest. During the study period, the mean \pm standard deviation (SD) of forced expiratory volume in 1 second (FEV₁), forced vital capacity (FVC), functional residual capacity (FRC), and total lung capacity (TLC) were $55 \pm 14\%$, $67 \pm 12\%$, $137 \pm 16\%$, and $110 \pm 11\%$ predicted, respectively.

At rest, none of the patients experienced expiratory flow limitation and dyspnea. At peak exercise, the maximum mechanical power and maximal oxygen consumption were $72 \pm 20\%$ and $65 \pm 8\%$ predicted, respectively, with a maximum Borg dyspnea score of 6 ± 3 . All except one patient experienced flow limitation and dynamic hyperinflation, and the end-expiratory lung volume (EELV) and end-inspiratory lung volume (EILV) totaled $74 \pm 5\%$ and $95 \pm 9\%$ of TLC, respectively. Murciano et al. concluded that most COPD patients undergoing SLT experience expiratory flow limitation and dynamic hyperinflation during exercise, though the maximum dyspnea varies.

A 2001 study assessed a new method of diagnosing expiratory flow limitation, manual compression of the abdominal wall (MCA) during expiration⁽²⁴⁾. Spontaneous breathing was assessed in 12 patients with stable COPD and five healthy subjects in supine and sitting postures at rest. In the normal subjects, MCA was associated with a decreased abdominal AP dimension (mean \pm SD: $-27 \pm 6\%$) and increased PGA (14.7 ± 7.4 cm H₂O), P_{PL} (6.2 ± 2.2 cm H₂O), and expiratory flow.

MCA caused similar changes in the abdominal AP dimension and sitting pressures in the COPD patients, but in six COPD patients (50%), including four patients with an FEV₁ < 1 L, the expiratory flow did not increase. When the patients were in the supine posture, MCA caused an increased expiratory flow in normal subjects, but four of the COPD patients showed evidence of flow limitation. MCA invariably increased expiratory flow in patients with OSA while the NEP method suggested a flow limitation in certain cases. Ninane et al. (2001)⁽²⁴⁾ concluded that MCA is a very simple method permitting detection of flow limitation in different positions.

In a recent review, Tantucci et al. (2013)⁽²⁹⁾ examined the findings of over 15 years of NEP experimental and clinical studies. Slight NEP (usually 5 cm H₂O) was applied at the mouth at the start of

expiration to establish a pressure gradient between the alveoli and airway opening; the maneuver was maintained during the entire exhalation. In any circumstances, the authors report that EFL predisposes to pulmonary dynamic hyperinflation and its unfavorable effects such as increased elastic work of breathing, inspiratory muscles dysfunction, and progressive neuro ventilatory dissociation.

The NEP method has been validated by pressure curves constructed from the iso-volume stream. NEP does not require cooperation from the patient and can be performed during rest, in any position, and during exercise. NEP is generally devoid of interpretive problems. NEP is limited only by upper airway collapse, which may be induced by the technique itself; this can occur in patients with snoring and OSA and can be partially controlled by repeating the maneuver at less negative pressure. Excessive change during spontaneous breath-by-breath EELV may produce unclear results using NEP ^(13,14, 22-39).

NEP in cystic fibrosis (CF)

Four studies were performed in patients with cystic fibrosis (CF). One clinical controlled study ⁽⁴⁵⁾ applied a NEP of -3 cmH₂O, -5 cmH₂O, and -7 cmH₂O to CF patients, asthma patients, and healthy children. Four of 17 CF patients experienced flow limitation, while none of the asthmatic and control patients showed flow limitation. A second controlled study ⁽⁴⁶⁾ applied a NEP of -5 cmH₂O to 102 CF patients and 20 control subjects who were randomly assigned to a sitting or supine position. In the CF group, 16 patients showed flow limitation during application in the supine position, and 18 patients showed flow limitation both while seated and supine position.

Flow limitation was also associated with a lower FEV₁ when sitting, though patient age also contributed to the flow limitation. None of the control subjects showed flow limitation. A third study ⁽⁴³⁾ evaluated 10 infants aged 35 ± 14 months. The infants were sedated with chloral hydrate, and NEP was applied at approximately -4 cmH₂O in the supine position. Only one infant experienced flow limitation. The fourth study ⁽⁴⁴⁾ evaluated 22 CF patients aged 6 to 30 years. NEP was applied at -3 cmH₂O in the sitting position, and only three patients experienced expiratory flow limitation. These patients were unique in showing particularly low FEV₁ values (16–27% predicted) and very severe dyspnea.

Recently, a study was conducted in Italy at the Respiratory Medicine Unit, Department of Medical and Surgical Sciences of the University of Brescia with the goal of determining whether expiratory flow limitation is a functional marker more associated with pulmonary emphysema rather than with chronic bronchiolitis in COPD patients with moderate to severe flow obstruction. Forty consecutive stable COPD

patients with an FEV₁ between 59 and 30% predicted were evaluated. Thirteen patients (33%) in the sitting position showed flow limitation, and 27 had no limitation. Only the FEV₁/FVC, FEV₁%, and MEF₂₅₋₇₅ differed between the patients with and without flow limitation ($p < 0.01$).

Among the seated patients without flow limitation, those who later developed expiratory flow limitation had significantly lower DLCO and KCO ($p < 0.05$) and higher MMRC ($p < 0.01$) than those who did not develop expiratory flow limitation; the FEV₁ was similar between the patients. The authors concluded that in COPD patients, the expiratory flow limitation while in the sitting position is highly dependent on the severity of airflow obstruction. Moreover, the occurrence of expiratory flow limitation while supine is associated with the highest KCO and DLCO, and with chronic dyspnea, which reflects the prevalent phenotype in emphysematous patients with moderate to severe COPD ⁽³⁰⁾.

NEP in heart disease

Two studies examined NEP in heart disease patients. Orthopnea is a typical symptom of acute left heart failure (LHF), but its mechanisms are not completely understood. As airway obstruction is common in acute LHF, postural flow limitation may contribute to orthopnea. Duguet et al. (2000) examined 12 patients with acute LHF aged 40–98 years in both seated and supine positions, and compared them to 10 age-matched healthy subjects. Flow limitation was assessed during quiet breathing by applying NEP at the mouth throughout tidal expiration, and airflow limitation was assumed when the expiratory flow did not increase during NEP.

Compared with the control subjects, the LHF patients showed rapid, shallow breathing with slightly increased minute ventilation and mean inspiratory flow. Expiratory flow limitation was common in the LHF patients, particularly those with orthopnea. In another study by Chiari et al. (2013), expiratory flow limitation was assessed in 15 patients with stable chronic systolic heart failure using the NEP technique. Flow limitation was absent at baseline but was detected during each stage of an exercise load in all patients examined by NEP ^(30,50).

NEP in obesity

Three controlled studies examined obese patients. In one study by Koutsoukou et al. 2004 ⁽⁵¹⁾, the prevalence of expiratory flow limitation was assessed using NEP in 15 postoperative morbidly obese subjects who were mechanically ventilated. They found that most of the patients ventilated on zero

positive end-expiratory pressure (PEEP) showed expiratory flow limitation. The flow limitation, and the risk of low lung volume injury, dissipated in patients ventilated at appropriate PEEP levels. Impaired gas exchange was common in all the patients, likely due to atelectasis.

In a second study ⁽⁵²⁾, 56 patients with obstructive airway disease (21 patients with COPD, 16 patients with simple chronic bronchitis, and 19 patients with asthma) were compared to patients without a history of snoring or OSA (47 patients with restrictive respiratory disorders, 20 non-obese and healthy subjects, and nine obese subjects [body mass index [BMI] > 30]). NEP was applied at -5 cmH₂O, -10 cmH₂O, and -15 cmH₂O. Only three patients with asthma and four patients with COPD experienced flow limitation when supine, and three COPD patients experienced flow limitation both in sitting and supine positions. Ten patients (18%) with obstructive airway disease (including seven COPD patients) exhibited expiratory flow limitation at an NEP of -5 cm H₂O.

None of the patients with restrictive disorders or the healthy obese and non-obese subjects showed expiratory flow limitation at an NEP of -5 cm H₂O. The authors concluded that increased NEP only rarely caused sustained decreased flow below baseline, and in subjects without OSA, intrathoracic expiratory flow limitation can be validly assessed with NEP in nearly all situations ⁽⁵²⁾.

The third study ⁽⁵³⁾ applied NEP in eight obese subjects (mean BMI, 44 ± 5 km/m²) and six age-matched normal-weight control subjects. All obese subjects previously underwent polysomnography, and five obese subjects were diagnosed with mild OSA. Five obese subjects experienced flow limitation only when supine, while two subjects showed flow limitation in both the supine and sitting positions. None of the normal weight subjects experienced flow limitation. Obesity appears to promote expiratory flow limitation with concurrent dynamic hyperinflation, intrinsic PEEP (PEEP_i), and risks low lung volume injury, but the prevalence and magnitude of these respiratory abnormalities have not been studied in mechanically ventilated morbidly obese subjects ⁽⁵³⁾.

NEP in elderly patients

Four studies examining the use of NEP in the elderly were found ^(17, 54-56). In clinical practice, lack of patient cooperation makes assessment of lung function in elderly patients difficult. Vanpee examined the utility of NEP during spontaneous breathing in 15 hospitalized elderly patients who were unable to perform the classic forced expiration maneuver due to poor coordination or cognitive disturbance. In these patients, NEP was easily and quickly applied during rest without causing collateral damage. During

the NEP maneuver (-5 cmH₂O and -10 cmH₂O), expiratory flow limitation was observed in 6 and 5 of 15 patients, respectively. The mean flow limitation was $60 \pm 9\%$ and $70 \pm 15\%$, respectively, and was reproducible with repeated NEP testing. The authors concluded that NEP is a simple method for detecting expiratory flow limitation during spontaneous breathing in uncooperative elderly patients.⁷⁾

Vanpee continued his research in a 2005 study⁽⁵⁶⁾ that examined whether expiratory flow limitation measured by NEP during tidal expiration can evaluate respiratory compromise in elderly patients. NEP was applied at -5 and -10 cm H₂O during tidal expiration in 67 consecutive hospitalized elderly patients. Patients were stratified into two categories according to the NEP results (flow limitation and not flow limited). The elderly patients were also divided into three groups according to conventional pulmonary functional parameters (normal, obstructive, restrictive).

The sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values for diagnosing an obstructive syndrome associated with a flow limitation during NEP (-5 cm H₂O) were 53, 74, 45, and 79%, respectively, and during -10 cm H₂O were 58, 83, 58, and 83%, respectively. These results indicated a poor correlation between flow limitation on NEP during spontaneous breathing despite a strong correlation with the dyspnea score. In clinical examination of dyspneic elderly patients, evaluation of flow limitation by the NEP technique before attempting conventional maximal expiratory maneuvers appears to be unreliable for detecting an obstructive functional impairment or identifying the origin of dyspnea.

NEP in bronchiectasis

Bronchiectasis is characterized by irreversible airway destruction, due primarily to chronic infection. Although this condition is currently rare in developed countries, particularly in North American countries, bronchiectasis remains common in underdeveloped countries and causes considerable morbidity and mortality. Koulouris et al. (2003)⁽⁴²⁾ investigated whether expiratory flow limitation during tidal breathing occurred in patients with bilateral bronchiectasis and whether this limitation was correlated with the severity of chronic dyspnea (Medical Research Council [MRC] dyspnea scale), exercise capacity (maximal mechanical power output, WR_{max}), and disease severity as assessed by high-resolution computed tomography (HRCT). NEP at -3.5 cmH₂O was performed in 23 patients with bronchiectasis. In five patients, flow limitation was only observed in a supine position, while four patients showed flow

limitation in both seated and supine positions. Of the nine patients with flow limitation, two had obstructive airway disease and seven showed mixed lung defects.

NEP in athletes

Two studies evaluating athletes were found. In both studies, NEP was applied at -10 cmH₂O during an incremental cycle test to exhaustion. The first study⁽⁵⁷⁾ performed NEP in 10 male competitive cyclists with normal lung function. Only the eldest subject (33 years old) exhibited flow limitation during peak exercise. The second study⁽⁵⁸⁾ evaluated 18 endurance athletes (10 women and eight men). Expiratory flow limitation occurred in three men and nine women during the final stage of exercise. The single woman who did not develop flow limitation had the largest lung volume with a FVC at 134% predicted.

NEP in children

Four studies in children were included in the present review^(10, 18, 19, 44). In the sole controlled study⁽¹⁸⁾, NEP at -5 cmH₂O was administered to children with and without respiratory symptoms who were matched in age, height, body weight, and BMI. The frequency of tidal flow limitation was significantly higher in children with respiratory symptoms. The other two studies^(10, 19) examined whether NEP could be used to assess the performance of forced expiratory maneuvers. In one study⁽¹⁰⁾, NEP was applied at -5 cmH₂O in four infants aged between 1.5 to 20 months, and the other study⁽¹⁹⁾ performed NEP at -10 cmH₂O in 177 normal children aged 6 to 14 years.

In all children in both studies, the peak expiratory flow (PEF) and FEV₁ increased during NEP, indicating that PEF occurred during the effort-dependent portion of the forced vital capacity (FVC). The PEF decreased significantly with increased age (50–20% of FVC from 6–14 y). These findings suggested that the decreased PEF was due primarily to the poorer coordination of specialized motor acts in young children, who have an incomplete morphological and lack functional maturity of the central nervous system (CNS).

In a study by Jirickova et al. (2009)⁽¹⁸⁾, flow limitation was observed in 48% of children with respiratory symptoms. None of the patients in the non-respiratory group exhibited flow limitation, with the difference statistically significant ($p < 0.001$). The frequency of upper airway collapse was higher in the respiratory symptoms group ($n = 12$) than in children without any respiratory symptoms ($n = 5$).

The studies concluded that the NEP technique can detect limited expiratory flow in newborns and pre-school age children and can assess the performance of FVC maneuvers.

NEP in patients administered bronchodilators

The literature search identified seven articles that used NEP to investigate the expiratory flow limitation in patients administered bronchodilators ^(2, 3,15,16,36,48,49). Bronchodilator agents are commonly used in patients with COPD to reduce airway obstruction. Although many COPD patients experience substantially increased air flow after inhaling a bronchodilator, one third of patients do not exhibit significant acute spirometric changes. However, it is commonly believed that exercise capacity and symptoms can improve even in the absence of spirometric improvement ⁽¹⁶⁾.

During expiratory flow limitation, expiratory flow can be increased simply by breathing in the upper lung volume. Thus, expiratory flow limitation promotes dynamic lung hyperinflation, a condition in which the lung volume at the end of expiration is greater than the amount of stretch or relaxation to equilibrium (V_r). As a result, PEEP is present in the alveoli (known as intrinsic PEEP [PEEPi]) and acts as an inspiratory threshold load. Dynamic hyperinflation is not only associated with increased inspiratory work due to PEEPi, but also with impaired respiratory muscle function ⁽¹⁶⁾.

An Italian study ⁽²⁾ examined whether the administration of a bronchodilator (short-acting β_2 -agonist) to patients with moderate to severe COPD abolished expiratory flow limitation or reduced the lung volume at the end of expiration during tidal breathing. The pulmonary function and NEP ($-3.5 \text{ cmH}_2\text{O}$) were examined in 18 patients (age $65 \pm 2 \text{ y}$; $\text{FEV}_1 = 45 \pm 4\%$ predicted) at rest in a sitting position before and 20 min after inhaling 400 μg of salbutamol. Expiratory flow limitation was detected in 11 patients and persisted after salbutamol administration. After bronchodilator treatment, patients with flow limitation exhibited a significantly decreased functional residual capacity (FRC) associated with an increased inspiratory capacity (IC). By contrast, the seven patients without flow limitation did not experience any changes in the FRC and IC after salbutamol administration. Except for one non-flow limited patient, the other 17 patients (six non-flow limited and 11 flow limited) did not show reversibility of their bronchial obstruction ($\Delta\text{FEV}_1 < 10\%$ predicted). The authors concluded that patients with COPD and expiratory flow limitation may benefit from bronchodilator treatment, even those with nonresponsive FEV_1 values, because treatment allows these patients to breath from the lower lung, though in a flow-limited manner.

To establish whether achieving a maximal flow rate during tidal expiration elicited a dynamic elevation in the lung volume at the end of expiration, Tantucci et al. (1999) ⁽⁵⁹⁾ examined the breathing pattern, change in lung volume at the end of expiration (as indicated by the IC), and the occurrence of expiratory flow limitation (as indicated by NEP) in 10 stable asthmatic subjects during methacholine-induced, progressive bronchoconstriction in a seated position. The maximum FEV₁ decreased a mean 45.2% ($p < 0.001$ vs. control), while the IC decreased 29.2%, (0.89 ± 0.07 L, $p < 0.01$ vs. control).

In seven subjects, the lung volume at the end of expiration started to increase before the flow limitation occurred. The authors concluded that during acute methacholine-induced bronchoconstriction, dynamic hyperinflation may occur in the absence of expiratory flow limitation and is not triggered by this flow limitation. In these patients, dyspnea appears to be associated with the increase in end-expiratory lung volume and not with the onset of expiratory flow limitation.

Sulc et al. (1999) ⁽⁴⁹⁾ conducted a study assessing whether healthy supine subjects developed tidal expiratory flow limitation and hyperinflation during standard methacholine challenge (up to 128 mg/mL), and whether the onset of tidal flow limitation was associated with dyspnea. Flow limitation was assessed using NEP and hyperinflation based on the decrease in IC in eight healthy subjects. Seven patients experienced flow limitation at mean methacholine doses of 4 ± 64 mg/mL, with flow limitation encompassing $34 \pm 84\%$ of the control tidal volume.

In six out of seven patients, the onset of tidal flow limitation was associated with little or no dyspnea and modest hyperinflation ($IC < -0.4$ L). In one subject, however, the onset of flow limitation was associated with a substantial reduction in IC (0.58 L) and moderately severe dyspnea. In all seven subjects, the flow limitation transiently reversed after an IC maneuver. The authors concluded that most healthy subjects may develop flow limitation and hyperinflation during the methacholine challenge in a supine position, and the onset of flow limitation is associated with minimal or no dyspnea, suggesting that the onset of dynamic airway compression may not elicit significant dyspnea.

In a randomized clinical trial, Hadcroft (2000) ⁽¹⁵⁾ examined 20 patients with clinically stable COPD (mean age 69.9 ± 1.5 years, 15 men, FEV₁ = $29.5 \pm 1.6\%$ predicted) with tidal flow limitation as assessed by the maximum flow-volume loop. The tidal volume and mean expiratory flow increased significantly after administering patients with a variety of bronchodilators, but dyspnea decreased significantly only after patients received the combination treatment. The initial NEP score was unrelated to the change in lung volume. The authors concluded that NEP is not an appropriate measure of acute bronchodilator

responsiveness. Changes in IC were significantly larger than those in FEV₁ and can be more easily detected. However, there is no evidence for separating patients with reversible and irreversible disease, regardless of the measured outcome.

In a study conducted by Boni (2002) ⁽³⁶⁾, 20 subjects (mean age 65 years [range 43–77 years]) with COPD and a FEV₁ of 47 ± 18% predicted were examined before and after inhaling salbutamol (400 µg). Expiratory flow limitation was assessed by NEP, and changes in the end expiratory lung volume (EELV) were inferred from changes in the IC. Flow limitation occurred in 11 of 20 patients. The IC did not change in patients without flow limitation following salbutamol treatment, but increased 24% (95% CI 15 to 33) in flow limited patients (p < 0.001). The maximal inspiratory pressure (PI_{max}) improved at the end of expiration from 45 (95% CI 26 to 63) to 55 (95% CI 31 to 79) cm H₂O (p < 0.05) after salbutamol treatment in patients with flow limitation but remained unchanged in patients without flow limitation. The workload performed during exercise was similar in both groups, at 34 watts (95% CI 27 to 41) and 31 watts (95% CI 21 to 40) in patients without and with expiratory flow limitation, respectively. COPD patients with expiratory flow limitation may experience less dyspnea after using a bronchodilator than those without flow limitation, at least during light exercise. This beneficial effect, which was closely correlated to an increased IC at rest, occurred even in the absence of any significant improvement in FEV₁ and was associated with a higher PI_{max}.

Lastly, Dellaca in 2007 ⁽⁴⁶⁾ examined NEP and the forced oscillation technique (FOT) in 21 COPD patients; 15 patients were administered a bronchodilator, and the tests were repeated afterwards. Five NEP tests were performed in each patient and condition, and the results were independently scored by three operators unaware of the FOT results. The author concluded that the NEP and FOT showed good agreement. As FOT is automatic and can measure multiple breaths over long periods, it is more suitable for continuously monitoring expiratory flow limitation and identifying patients approaching the onset of expiratory flow limitation, as intermittent sampling may be insufficient.

Acute respiratory failure and NEP

One study evaluated the static intrinsic positive end-expiratory pressure (PEEP), and expiratory flow limitation in 32 consecutive acute respiratory failure (ARF) patients who were mechanically ventilated with a commercial ventilator able to perform NEP. Twelve of 32 patients exhibited tidal expiratory flow limitation, indicated by the absence of an increase in expiratory flow despite application of an NEP over

all or part of the baseline expiratory flow-volume curve. The authors concluded that NEP assessment at bedside could provide useful information on the respiratory function in mechanically ventilated patients (47).

Healthy subjects and the NEP technique

NEP at the end of expiration causes reflex-mediated activation of the genioglossus muscle in awake humans. We found two studies (2,48) examining the NEP technique in healthy subjects. The first study used NEP to examine whether the pharyngeal dilator muscles contracted reflexively in response to early expiration. The effect on the genioglossus muscle reflex activity was assessed in 10 normal awake subjects at rest who were administered a 500 ms NEP pulse 0.2 s after the onset of expiration and during the end-expiratory pause. NEP administered at the end-expiratory pause elicited a consistent reflex response on electromyography in seven subjects (mean latency of 68 ± 5 ms). Reflex activity of the genioglossus was elicited much more frequently when NEP was performed at the end of expiration rather than at the onset. These findings suggest that reflex-mediated genioglossus activation may not occur when NEP is applied during early expiration to detect the intrathoracic flow limitation in the absence of upper airway collapse, and vice versa (2).

A Canadian study in 1999 investigated the use of NEP in healthy supine patients by assessing whether patients developed tidal expiratory flow limitation and hyperinflation during standard methacholine challenge (up to 128 mg/mL) and whether the onset of tidal flow limitation was associated with dyspnea(48). The authors found that most healthy subjects developed flow limitation and hyperinflation during the methacholine challenge but experienced minimal to no dyspnea at the onset of flow limitation, suggesting that the onset of dynamic airway compression does not automatically elicit significant dyspnea; most likely, significant dyspnea only occurs during marked dynamic hyperinflation.

Spinal cord injury and the NEP technique

The presence of tidal expiratory flow limitation in patients with low lung volume can indicate cyclic opening/closing of peripheral airways, which can cause chronic lung injury and inflammation that contribute to the progressive development of peripheral airway disease. One study was conducted in patients with spinal cord injury and aimed to characterize the changes in respiratory mechanics using the NEP technique in patients with middle cervical spinal cord injury (SCI) and to examine the correlation

with posture. The authors detected expiratory flow limitation in 32% of supine patients and 9% of semi-recumbent patients. They concluded that patients with middle cervical SCI can develop tidal expiratory flow limitation. The presence of flow limitation, which is associated with increased airway resistance, could increase the work of breathing in patients with respiratory muscles less able to respond to the increased load ⁽⁶⁰⁾.

NEP in respiratory sleep disorders

A total 16 articles examined NEP in sleep-disordered breathing patients, including 10 controlled trials ^(3, 55, 61-81). The studies applied different magnitudes of NEP from -1–10 cmH₂O, and 10 studies evaluated subjects both in seated and supine positions. Most of the subjects experienced expiratory flow limitation both while seated and while supine; however, a high percentage of subjects with OSA showed flow limitation while supine only. Several studies in awake subjects compared healthy subjects with sleep-disordered breathing, especially with OSA, and found that the greater the OSA severity, the greater the expiratory flow limitation ^(62-64,66,69-71). Studies by Baydur et al. (2012) ⁽⁷¹⁾ and Insalaco et al. (2005) ⁽⁶⁵⁾ also found that OSA was correlated with BMI, and as the OSA severity and BMI increased, the presence of flow limitation increased. Several studies comparing snoring patients and healthy non-snoring patients observed a higher prevalence of expiratory flow limitation in snoring patients ^(3,61,67,68).

In patients with OSA, the upper airway resistance is increased, and the upper airway size is significantly reduced, which favors collapse due to inflammation, edema, and fat accumulation in the pharyngeal walls ⁽⁵⁵⁾. In a 2008 report, Corda et al. examined the change in airway size before and after continuous positive airway pressure (CPAP) treatment in 10 obese patients (nine men; 55 ± 9 years; BMI 35.1 ± 6.1; Epworth sleepiness scale 12.3 ± 3.6 points; AHI 58.8 ± 27.1). The oropharyngeal junction (OPJ) area, the mean area of the pharynx (AP_{mean}), the maximum area of the pharynx (AP_{max}) by acoustic pharyngometry, and the expired volume during the first 0.5 s after NEP at -5 cmH₂O (V_{NEP} [0.5]) were measured during wakefulness in the supine position at baseline and after 1 week and 6 months of CPAP treatment ⁽⁷³⁾.

The mean OPJ was 0.74 ± 0.28 cm² at baseline, 0.90 ± 0.24 cm² after 1 week, and 1.05 ± 0.31 cm² after 6 months (1 week to 6 months vs baseline p < 0.05). The AP_{max} was 2.28 ± 0.74 cm² at baseline, 2.79 ± 0.90 cm² after 1 week, and 2.94 ± 0.33 cm² after 6 months (1 week to 6 months vs baseline p < 0.05). the AP_{mean} was 1.43 ± 0.46 cm² at baseline, 1.82 ± 0.45 cm² after 1 week, and 1.94 ± 0.35 cm²

after 6 months (1 week vs baseline $p < 0.01$; 6 months vs. baseline, $p < 0.05$). The V, NEP (0.5) was 290 ± 73 ml at baseline, 291 ± 65 ml after 1 week, and 338 ± 67 ml after 6 months (6 months vs. baseline $p < 0.05$, 1 week vs. six months $p < 0.01$).

The data suggested that CPAP treatment may be effective in patients with OSA not only because it creates a mechanical splint in the upper airway, but also by improving respiratory function during the (early) and functional (anatomical vigil later).⁽⁷³⁾

Montemurro et al. (2012)⁽⁷²⁾ evaluated the V, NEP (0.5) in 20 normal subjects (eight women; mean age, 39 ± 16 years). The baseline V, NEP (0.5) was 387 ± 103 ml ($100.1 \pm 13\%$ predicted), and the Pcrit was -3.7 ± 2.0 cm H₂O. In snoring patients, the V, NEP (0.5) was 320 ± 33 mL ($62 \pm 12\%$ predicted), and the Pcrit was -0.6 ± 0.3 cm H₂O, while in the OSA patients, the V, NEP (0.5) was 295 ± 67 mL ($48 \pm 12\%$ predicted), and the Pcrit was 1.0 ± 1.0 cmH₂O. The linear regression analysis showed a strong and significant correlation between the V, NEP (0.5) and Pcrit predicted ($r^2 = 0.79$, $p < 0.001$). However, the authors concluded that the V, NEP (0.5), expressed in the percent predicted according to the NF Pcrit, reflected a wide range of values and may be used as a substitute for Pcrit in evaluating the collapsibility of the upper airway, regardless of airway size and patient sex.

CONCLUSION

Numerous studies have been conducted in a variety of patient populations and show that NEP is a reliable method for detecting upper airway collapsibility. The NEP test is fast and could serve as a screening test to evaluate with suspected OSA and those with severe OSA as it appears to be a very reliable diurnal test that objectively predicts this respiratory disorder. NEP could be even more powerful in combination with the clinical history data, such as snoring and excessive sleepiness. Further analysis in a more heterogeneous population may also be useful.

REFERENCES

1. Koulouris NG, Valta P, Lavoie A, Corbeil C, Chassé M, Braidy J, Milic-Emili J. A simple method to detect expiratory flow limitation during spontaneous breathing. *Eur Respir J.* 1995 Feb;8(2):306-13.

2. Tantucci C, Mehiri S, Duguet A, Similowski T, Arnulf I, Zelter M, Derenne JP, Milic-Emili J. Application of negative expiratory pressure during expiration and activity of genioglossus in humans. *J Appl Physiol* (1985). 1998 Mar;84(3):1076-82.
3. Tantucci C, Duguet A, Ferretti A, Mehiri S, Arnulf I, Zelter M, Similowski T, Derenne JP, Milic-Emili J. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Koutsoukou A, Armaganidis A, Stavrakaki-Kalergi C, et al. Expiratory flow limitation and intrinsic positive end-expiratory pressure at zero positive end-expiratory pressure in patients with adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1590–1596.
7. Stubbings DG, Pengelly LD, Morse JLC, et al. Pulmonary mechanics during exercise in subjects with chronic airflow obstruction. *J Appl Physiol* 1980; 49: 511–515.
8. 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.
9. Boczkowski J, Murciano D, Pichot M-H, et al. Expiratory flow limitation in stable asthmatic patients during resting breathing. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 752–757.
10. Jones MH, Davies SD, Kisling JA, et al. Flow limitation in infants assessed by negative expiratory pressure. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 713–717.
11. Dimitroulis J, Bisirtzoglou D, Retsou S, et al. Effect of posture on expiratory flow limitation in spontaneously breathing stable COPD patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: A410.
12. Kosmas EN, Milic-Emili J, Polychronaki A, et al. Exercise-induced flow limitation, dynamic hyperinflation and exercise capacity in patients with bronchial asthma. *Eur Respir J* 2004; 24: 378–384.
13. Murciano D, Ferretti A, Boczkowski J, et al. Flow limitation and dynamic hyperinflation during exercise. *J Appl Physiol* (1985).
14. Koulouris NG, Dimopoulou I, Valta P, Finkelstein R, Cosio MG, Milic-Emili J.. Detection of expiratory flow limitation during exercise in COPD patients. 1997 Mar;82(3):723-31

15. Hadcroft J, Calverley PM. Alternative methods for assessing bronchodilator reversibility in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2001 Sep;56(9):713-20.
16. Wang PH, Kuo PH, Hsu CL, Wu HD, Chang YS, Kuo SH, Yang PC. Diagnostic value of negative expiratory pressure for airway hyperreactivity. *Chest*. 2003 Nov;124(5):1762-7.
17. Vanpee D, Swine Ch, Delwiche JP, Jamart J, Delaunois L. Does negative expiratory pressure influence performances of spirometry in older patients? *Eur Respir J*. 2002 Sep;20(3):674-8.
18. Jirickova A, Sulc J, Pohunek P, Kittnar O, Dohnalova A, Kofranek J. Prevalence of tidal expiratory flow limitation in preschool children with and without respiratory symptoms: application of the negative expiratory pressure (NEP) method. *Physiol Res*. 2009;58(3):373-82. Epub 2008 Jul 18.
19. D'Angelo E, Carnelli V, D'Angelo E, Milic-Emili J. Performance of forced expiratory manoeuvre in children. *Eur Respir J*. 2000 Dec;16(6):1070-4.
20. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche P, et al. and the PRISMA Group (2009) The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: Explanation and elaboration. *PLoS Med* 6: e1000100. doi:10.1371/journal.pmed.1000100.
21. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, Moher D, Rennie D, de Vet HC, Lijmer JG. Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Annals of internal medicine*, V 138. DOI: 10.7326/0003-4819-138-1-200301070-00012-w1.
22. Baydur A, Milic-Emili J. Expiratory flow limitation during spontaneous breathing: comparison of patients with restrictive and obstructive respiratory disorders. *Chest*. 1997 Oct;112(4):1017-23.
23. Diaz O, Villafranca C, Ghezzi H, Borzone G, Leiva A, Milic-Emil J, Lisboa C. Role of inspiratory capacity on exercise tolerance in COPD patients with and without tidal expiratory flow limitation at rest. *Eur Respir J*. 2000 Aug;16(2):269-75.
24. Ninane V, Leduc D, Kafi SA, Nasser M, Houa M, Sergysels R. Detection of expiratory flow limitation by manual compression of the abdominal wall. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 May;163(6):1326-30.
25. Díaz O, Villafranca C, Ghezzi H, Borzone G, Leiva A, Milic-Emili J, Lisboa C. Breathing pattern and gas exchange at peak exercise in COPD patients with and without tidal flow limitation at rest. *Eur Respir J*. 2001 Jun;17(6):1120-7.

26. Alvisi V, Romanello A, Badet M, Gaillard S, Philit F, Guérin C. Time course of expiratory flow limitation in COPD patients during acute respiratory failure requiring mechanical ventilation. *Chest*. 2003 May;123(5):1625-32.
27. Stevenson NJ, Walker PP, Costello RW, Calverley PM. Lung mechanics and dyspnea during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Dec 15;172(12):1510-6. Epub 2005 Sep 15.
28. Walker R, Paratz J, Holland AE. Reproducibility of the negative expiratory pressure technique in COPD. *Chest*. 2007 Aug;132(2):471-6. Epub 2007 Jun 15.
29. Tantucci C. Expiratory Flow Limitation Definition, Mechanisms, Methods, and Significance. *Pulm Med*, Volume 2013 (2013), Article ID 749860, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/749860>.
30. Chiari S, Torregiani C, Boni E, Bassini S, Vizzardì E, Tantucci C. Dynamic pulmonary hyperinflation occurs without expiratory flow limitation in chronic heart failure during exercise. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013 Oct 1;189(1):34-41. doi: 10.1016/j.resp.2013.06.017. Epub 2013 Jul 9.
31. Chiari S, Bassini S, Braghini A, Corda L, Boni E, Tantucci C. Tidal expiratory flow limitation at rest as a functional marker of pulmonary emphysema in moderate-to-severe COPD. *COPD*. 2014 Feb;11(1):33-8. doi: 10.3109/15412555.2013.813929. Epub 2013 Oct 8.
32. Puente-Maestu L, Stringer WW. Hyperinflation and its management in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. Dec 2006; 1(4): 381–400.
33. Koulouris NG, Kaltsakas G, Palamidas AF, Gennimata SA. Methods for Assessing Expiratory Flow Limitation during Tidal Breathing in COPD Patients. *Pulm Med* Volume 2012 (2012), Article ID 234145. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/234145>.
34. Zhang NF, Chen AH, Chen RC, Li JM, Liu Q, Zhong NS. Expiratory flow limitation detected by negative expiratory pressure in patients with bronchial asthma. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2006 Dec;29(12):816-20.
35. Chen R, Chen RC, Chen L, Chen AH. A new method to detect expiratory flow limitation in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2007 Feb 13;87(7):448-50.
36. Boni E, Corda L, Franchini D, Chirolì P, Damiani GP, Pini L, Grassi V, Tantucci C. Volume effect and exertional dyspnoea after bronchodilator in patients with COPD with and without expiratory flow limitation at rest. *Thorax*. 2002 Jun;57(6):528-32.

37. 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.
38. Calverley PM, Koulouris NG. Flow limitation and dynamic hyperinflation: key concepts in modern respiratory physiology. *Eur Respir J*. 2005 Jan;25(1):186-99.
39. Teixeira I, Nunes LG, Melo PL. Instrumentation for the analysis of airflow limitation by the negative expiratory pressure technique. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2010;2010:919-22. doi: 10.1109/IEMBS.2010.5627508.
40. Boczkowski J, Murciano D, Pichot MH, Ferretti A, Pariente R, Milic-Emili J. Expiratory flow limitation in stable asthmatic patients during resting breathing. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Sep;156(3 Pt 1):752-7.
41. Kosmas EN, Milic-Emili J, Polychronaki A, Dimitroulis I, Retsou S, Gaga M, Koutsoukou A, Roussos Ch, Koulouris NG. Exercise-induced flow limitation, dynamic hyperinflation and exercise capacity in patients with bronchial asthma. *Eur Respir J*. 2004 Sep;24(3):378-84.
42. Koulouris NG. Negative expiratory pressure: a new tool. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2002 Feb;57(1):69-75.
43. Braggion C, Polese G, Fenzi V, Carli MV, Pradal U, Milic-Emili J. Detection of tidal expiratory flow limitation in infants with cystic fibrosis: a pilot study. *Pediatr Pulmonol*. 1998 Mar;25(3):213-5.
44. Goetghebeur D, Sarni D, Grossi Y, Leroyer C, Ghezzi H, Milic-Emili J, Bellet M. Tidal expiratory flow limitation and chronic dyspnoea in patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2002 Mar;19(3):492-8.
45. Tauber E, Fazekas T, Eichler I, Eichstill C, Gartner C, Koller DY, Frischer T. Negative expiratory pressure: a new tool for evaluating lung function in children? *Pediatr Pulmonol*. 2003 Mar;35(3):162-8.
46. Holland, AE, Denehy, L, Wilson, JW Does expiratory flow limitation predict chronic dyspnoea in adults with cystic fibrosis? *Eur Respir J* 2006;28,96-101.
47. Armaganidis A, Stavrakaki-Kallergi K, Koutsoukou A, Lymberis A, Milic-Emili J, Roussos C. Intrinsic positive end-expiratory pressure in mechanically ventilated patients with and without tidal expiratory flow limitation. *Crit Care Med*. 2000 Dec;28(12):3837-42.

48. Dellacà RL, Duffy N, Pompilio PP, Aliverti A, Koulouris NG, Pedotti A, Calverley PM. Expiratory flow limitation detected by forced oscillation and negative expiratory pressure. *Eur Respir J*. 2007 Feb;29(2):363-74. Epub 2006 Nov 1.
49. Sulc J, Volta CA, Ploysongsang Y, Eltayara L, Olivenstein R, Milic-Emili J. Flow limitation and dyspnoea in healthy supine subjects during methacholine challenge. *Eur Respir J*. 1999 Dec;14(6):1326-31.
50. Duguet A, Tantucci C, Lozinguez O, Isnard R, Thomas D, Zelter M, Derenne JP, Milic-Emili J, Similowski T. Expiratory flow limitation as a determinant of orthopnea in acute left heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Mar 1;35(3):690-700.
51. Koutsoukou A, Koulouris N, Bekos B, et al. Expiratory flow limitation in morbidly obese postoperative mechanically ventilated patients. *Anesthesiologica Scandinavica* 2004; 48: 1080–1088.
52. 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.
53. Pankow W, Podszus T, Gutheil T, Penzel T, Peter J, Von Wichert P. Expiratory flow limitation and intrinsic positive end-expiratory pressure in obesity. *J Appl Physiol* (1985). 1998 Oct;85(4):1236-43.
54. Marangoni E, Alvisi V, Ragazzi R, Mojoli F, Alvisi R, Caramori G, Astolfi L, Volta CA. Respiratory mechanics at different PEEP level during general anesthesia in the elderly: a pilot study. *Minerva Anesthesiol*. 2012 Nov;78(11):1205-14. Epub 2012 Jul 6.
55. Guillot M, Costes F, Sforza E, Maudoux D, Bertoletti L, Barthélémy JC, Roche F. Is tidal expiratory flow limitation predictive of sleep-related disorders in the elderly? *Eur Respir J*. 2010 Oct;36(4):842-8. doi: 10.1183/09031936.00078009. Epub 2010 Apr 8.
56. Vanpee D, Delwiche JP, Swine C, Jamart J, Delaunois L. Does negative expiratory pressure (NEP) during spontaneous breathing predict respiratory impairment in elderly? *Respir Med*. 2005 Jan;99(1):66-9.
57. Mota S, Casan P, Drobic F, Giner J, Ruiz O, Sanchis J, Milic-Emili J. Expiratory flow limitation during exercise in competition cyclists. *J Appl Physiol* (1985). 1999 Feb;86(2):611-6.
58. Guenette JA, Witt JD, McKenzie DC, Road JD, Sheel AW. Respiratory mechanics during exercise in endurance-trained men and women. *J Physiol*. 2007 Jun 15;581(Pt 3):1309-22. Epub 2007 Apr 5.

59. C Tantucci, M. Ellaffi, A Duguet et al. Dynamic hyperinflation and flow limitation during methacholine-induced bronchoconstriction in asthma. *Eur Resp Journal*, Volume 14, Issue 2, page no, August 1999.
60. Alvisi V, Marangoni E, Zannoli S, Uneddu M, Uggento R, Farabegoli L, Ragazzi R, Milic-Emili J, Belloni GP, Alvisi R, Volta CA. Pulmonary function and expiratory flow limitation in acute cervical spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 2012 Nov;93(11):1950-6. doi: 10.1016/j.apmr.2012.04.015. Epub 2012 Apr 27.
61. 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.
62. 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.
63. 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.
64. Tamisier R, Wuyam B, Nicolle I, Pépin JL, Orliaguet O, Perrin CP, Lévy P. Awake flow limitation with negative expiratory pressure in sleep disordered breathing. *Sleep Med*. 2005 May;6(3):205-13. Epub 2005 Jan 24.
65. 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.
66. Ferretti A, Giampiccolo P, Redolfi S, Mondini S, Cirignotta F, Cavalli A, Tantucci C. Upper airway dynamics during negative expiratory pressure in apneic and non-apneic awake snorers. *Respir Res*. 2006 Mar 30;7:54.
67. Rouatbi S, Tabka Z, Dogui M, Abdelghani A, Guénard H. Lung. Negative expiratory pressure (NEP) parameters can predict obstructive sleep apnea syndrome in snoring patients. 2009 Jan-Feb;187(1):23-8. doi: 10.1007/s00408-008-9122-6. Epub 2008 Oct 16.
68. Carrera HL, McDonough JM, Gallagher PR, Pinto S, Samuel J, DiFeo N, Marcus CL. Upper Airway Collapsibility During Wakefulness in Children with Sleep Disordered Breathing, as Determined by the Negative Expiratory Pressure Technique. *Sleep*. Jun 1, 2011; 34(6): 717–724.

69. 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.
70. Romano S, Salvaggio A, Hirata RP, Lo Bue A, Picciolo S, Oliveira LV, Insalaco G. Upper airway collapsibility evaluated by a negative expiratory pressure test in severe obstructive sleep apnea. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(4):567-72
71. 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.
72. Montemurro LT, Bettinzoli M, Corda L, Redolfi S, Novali M, Braghini A, Tantucci C. Influence of upper airway size on volume exhaled under negative pressure during evaluation of upper airway collapsibility. *Sleep Breath*. 2012 Jun;16(2):399-404. doi: 10.1007/s11325-011-0511-3. Epub 2011 Mar 23.
73. 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. doi: 10.1007/s11325-008-0219-1. Epub 2008 Sep 25.
74. Hirata RP, Aguiar IC, Nacif SR, Giannasi LC, Leitão Filho FS, Santos IR, Romano S, Faria NS Jr, Nonaka PN, Sampaio LM, Oliveira CS, Carvalho PT, Lorenzi-Filho G, Braghiroli A, Salvaggio A, Insalaco G, Oliveira LV. Observational study on efficacy of negative expiratory pressure test proposed as screening for obstructive sleep apnea syndrome among commercial interstate bus drivers--protocol study. *BMC Pulm Med*. 2011 Dec 7;11:57. doi: 10.1186/1471-2466-11-57.
75. Oliveira LV, Romano S, Hirata RP, Faria Júnior NS, Giannasi LC, Nacif SR, Leitão Filho FS, Insalaco G. Negative expiratory pressure test: a new, simple method to identify patients at risk for obstructive sleep apnea. *J Bras Pneumol*. 2011 Sep-Oct;37(5):659-63
76. Insalaco G, Romano S, Salvaggio A, Gregoretti C. Screening tools to identify subjects at risk of obstructive sleep apnea: where are we? *Minerva Anesthesiol*. 2012 Aug;78(8):967-8. Epub 2012 Feb 13.
77. Insalaco G (2012) Obstructive Sleep Apnea: A Big Issue. The Need for Screening Tools. *J Sleep Disorders Ther* 1:e114. doi:10.4172/2167-0277.1000e114.

78. Handa H, Miyazawa T, Murgu SD, Nishine H, Kurimoto N, Huang J, Colt HG. Novel multimodality imaging and physiologic assessments clarify choke-point physiology and airway wall structure in expiratory central airway collapse. *Respir Care*. 2012 Apr;57(4):634-41. doi: 10.4187/respcare.01363. Epub 2011 Oct 13.
79. Togeiro SM, Chaves CM Jr, Palombini L, Tufik S, Hora F, Nery LE. Evaluation of the upper airway in obstructive sleep apnoea. *Indian J Med Res*. (2010)
80. Ayappa I, Rapoport DM. The upper airway in sleep: physiology of the pharynx. *Sleep Med Rev*. 2003 Feb;7(1):9-33.
81. Malhotra A, Pillar G, Fogel R, Beauregard J, Edwards J, White DP. Upper-airway collapsibility: measurements and sleep effects. *Chest*. 2001 Jul;120(1):156-61.