



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO-SENSU EM CIRURGIA

GUILHERME LEAL DANTAS

HISTOMORFOMETRIA DA INERVAÇÃO PROPRIOCEPTIVA FARÍNGEA NA
APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO: ESTUDO CASO-CONTROLE

FORTALEZA

2023

GUILHERME LEAL DANTAS

HISTOMORFOMETRIA DA INERVAÇÃO PROPRIOCEPTIVA FARÍNGEA NA APNEIA
OBSTRUTIVA DO SONO: ESTUDO CASO-CONTROLE

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do grau de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante

Coorientadora: Profa. Dra. Erika Ferreira Gomes

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- D212h Dantas, Guilherme.
Histomorfometria da inervação proprioceptiva faríngea na apneia obstrutiva do sono : estudo caso-
controle / Guilherme Dantas. – 2023.
153 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Médico-Cirúrgicas, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante.
Coorientação: Profa. Dra. Erika Ferreira Gomes.
1. Apneia Obstrutiva do Sono. 2. Músculos Faríngeos. 3. Terminações Nervosas. 4. Mecanorreceptores.
5. Imunofluorescência. I. Título.

CDD 617

GUILHERME LEAL DANTAS

HISTOMORFOMETRIA DA INERVAÇÃO PROPRIOCEPTIVA FARÍNGEA NA APNEIA
OBSTRUTIVA DO SONO: ESTUDO CASO-CONTROLE

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do grau de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Aprovada em ___ / ___ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Erika Ferreira Gomes
Hospital Geral de Fortaleza (HGF)

Prof. Dr. Sebastião Diógenes Pinheiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. André Alencar Araripe Nunes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Daniel Chung
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Dedico este trabalho a Deus, que sempre foi o autor da minha vida e do meu destino.

Ao meu pai, Fernando Antônio Barreto Dantas, pelo seu exemplo de vida e por ter me ensinado os princípios da ética, da integridade e da dedicação ao trabalho; à minha mãe, Raimunda Lilá Leal Dantas, símbolo de amor, luz e bondade, por ter sido o meu porto seguro em todos os momentos da minha vida; às minhas irmãs, Fernanda Leal Dantas Sales Pimentel e Patrícia Leal Dantas Lobo, pelo companheirismo eterno; à minha amada esposa e alma gêmea, Diana Gondim Leal Dantas, pelo amor incondicional e pela oportunidade de dividir os meus sonhos e a minha vida; e às minhas queridas filhas, as princesinhas Larissa Lilah Gondim Leal Dantas e Maria Isabella Gondim Leal Dantas, que deram outra dimensão à minha existência.

AGRADECIMENTOS

À coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, em nome da Professora Doutora Maria Luzete Costa Cavalcante.

Ao Professor Titular José Alberto Dias Leite, ex-coordenador do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, que muito contribuiu durante a sua gestão para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Professora Doutora Maria Luzete Costa Cavalcante, pela orientação constante, pela dedicação irrestrita, pela doação pessoal e pela atenção dedicadas a este projeto.

À Professora Doutora Erika Ferreira Gomes, uma de minhas referências acadêmicas, pelo imensurável apoio na idealização do projeto e na realização do trabalho, da orientação, do incentivo e dos valorosos ensinamentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação que muito contribuíram com suas aulas.

À Sra. Maria Luciene Vieira de Oliveira e ao Sr. Marcelo Igor Barbosa da Paixão, secretários do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio irrestrito para o êxito deste trabalho.

À Professora Doutora Margarida Maria de Lima Pompeu, do serviço de Patologia da Universidade Federal do Ceará, por ter cedido a utilização do criostato para o corte das peças e pela ajuda na leitura das lâminas e do processamento das imagens analisadas.

À Central Analítica da Universidade Federal do Ceará, na figura da Professora Doutora Rosemayre Souza Freire, por proporcionar a aquisição de imagens dos tecidos estudados com o microscópio confocal.

À Doutora Conceição da Silva Martins, integrante do Núcleo de Estudos em Microscopia e Processamento de Imagem (NEMPI) da Universidade Federal do Ceará, pela valorosa contribuição na análise da densidade nervosa dos espécimes estudados.

Ao Doutor Howard Lopes Ribeiro Junior, pelo imprescindível auxílio na análise estatística do trabalho.

Ao coordenador da residência de Otorrinolaringologia do Hospital Universitário Walter Cantídio, Dr. André Alencar Araripe Nunes, por concordar com a metodologia deste trabalho e viabilizar a realização das etapas ambulatoriais e cirúrgicas do projeto com os pacientes envolvidos na pesquisa.

Aos acadêmicos de Medicina José Victor de Vasconcelos Coelho, Antônio Anderson Fonseca de Sousa e Marcus Vinicius Macedo Oliveira, pelo auxílio no corte e na coloração das lâminas.

À Professora Doutora Silvia Bona do Nascimento, pelo auxílio na coleta do material durante os procedimentos cirúrgicos.

RESUMO

A Apneia Obstrutiva do Sono é um distúrbio caracterizado por colapsos recorrentes da região faríngea durante o sono, resultando em redução da saturação de oxigênio e risco elevado de doenças cardiovasculares. A parede lateral da faringe tem importante papel no colapso da via aérea superior nos episódios apneicos. O mecanismo fisiopatológico ainda permanece incerto. Evidências sugerem que alterações na inervação proprioceptiva faríngea podem contribuir para o aparecimento da doença. O objetivo principal do trabalho é estudar a inervação sensorial qualiquantitativa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe em um grupo Controle com função sensorial normal e sem apneia obstrutiva do sono e um grupo de pacientes apneicos. Os espécimes foram colhidos *in vivo* através de tonsilectomia das palatinas no grupo Controle e faringoplastia lateral no grupo Caso. A histomorfometria das terminações nervosas foi avaliada por coloração com hematoxilina-eosina e métodos de imunofluorescência. No grupo Controle, foram visualizados fusos musculares no músculo palatoglosso e identificaram-se terminações nervosas livres e complexas nos três músculos estudados, incluindo formações tipo Meissner, Golgi e Ruffini, além de estruturas nervosas em *spiral-wharves* nos músculos palatoglosso e constritor superior da faringe. No grupo Caso, foram observadas anormalidades morfológicas nos corpúsculos sensoriais, com grande prevalência de formações nervosas complexas não classificáveis, e redução do plexo perivascular. As formações nervosas *spiral-wharves* foram observadas em todos os músculos dos pacientes apneicos. O músculo constritor superior da faringe foi o mais afetado no grupo Caso, evidenciando-se uma menor variedade de formações nervosas. Observou-se uma diminuição na densidade das fibras nervosas dos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe do grupo Caso em relação ao Controle. Houve uma forte correlação diretamente proporcional entre a densidade nervosa do músculo palatofaríngeo e o nadir da saturação da oxiemoglobina. A densidade nervosa do músculo constritor superior da faringe mostrou correlação inversamente proporcional com o índice de apneia-hipopneia e percentual do tempo total de sono com saturação de oxiemoglobina abaixo de 90%. O estudo da inervação sensorial proprioceptiva faríngea amplia a compreensão da fisiopatologia, auxilia na determinação de fatores de gravidade e prognóstico da apneia obstrutiva do sono e poderá influenciar a seleção terapêutica e o desenvolvimento de novas terapias farmacológicas.

Palavras-chave: Apneia Obstrutiva do Sono; Músculos Faríngeos; Terminações Nervosas; Mecanorreceptores; Imunofluorescência.

ABSTRACT

Obstructive Sleep Apnea is a disorder characterized by recurrent collapses of the pharynx during sleep, resulting in reduced oxygen saturation and a high risk of cardiovascular diseases. The lateral pharyngeal walls play a crucial role in the collapse of the upper airway during apneic episodes. The pathophysiological mechanism still remains uncertain. Evidence suggests that changes in proprioceptive sensory innervations of the pharynx may contribute to the development of the disease. The main objective of this study is to investigate the qualitative and quantitative sensory innervation of the palatoglossus, palatopharyngeus, and superior pharyngeal constrictor muscles in a control group with normal sensory function and no obstructive sleep apnea, and a group of apneic patients. The specimens were collected *in vivo* through tonsillectomy in the control group and lateral pharyngoplasty in the case group. Histomorphometry of nerve endings was assessed using hematoxylin-eosin staining and immunofluorescence methods. In the control group, muscle spindles were visualized in the palatoglossus muscle, and free, complex nerve endings were identified in all three muscles, including Meissner, Golgi, and Ruffini-like formations, as well as spiral-wharves nerve structures in the palatoglossus and superior pharyngeal constrictor muscles. In the case group, morphological abnormalities were observed in the sensory corpuscles, with a high prevalence of unclassifiable complex nerve formations, and a reduction in the perivascular plexus. Spiral-wharves nerve formations were observed in all muscles of the apneic patients. Superior pharyngeal constrictor muscle was the most affected in the case group, showing a lower variety of nerve formations. There was a decrease in nerve fiber density in the palatopharyngeus and superior pharyngeal constrictor muscles of the case group compared to the control. There was a strong and directly proportional correlation between the nerve density of the palatopharyngeus muscle and the nadir of oxyhemoglobin saturation. The nerve density of the superior pharyngeal constrictor muscle showed an inversely proportional correlation with the apnea-hypopnea index and the percentage of total sleep time with oxyhemoglobin saturation below 90%. The study of pharyngeal proprioceptive sensory innervation expands the understanding of pathophysiology, aids in determining severity factors and prognosis of obstructive sleep apnea and may influence therapeutic selection and the development of new pharmacological therapies.

Keywords: Obstructive Sleep Apnea; Pharyngeal Muscles; Nerve Endings; Mechanoreceptors; Immunofluorescence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Toque do pilar tonsilar anterior (A) com abaixador de língua durante teste de sensibilidade faríngea; B, pilar tonsilar posterior; C, parede posterior da orofaringe; T, tonsila palatina.....	40
Figura 2	– Registro de tonometria arterial periférica com Watch-PAT.....	41
Figura 3	– Relatório principal emitido pelo Watch-PAT.....	42
Figura 4	– Fluxograma de triagem dos pacientes.....	43
Figura 5	– Triagem dos pacientes.....	44
Figura 6	– Etapas da técnica de faringoplastia expansora modificada: Tonsilectomia (A). Incisão horizontal para dividir os fascículos anteriores do músculo palatofaríngeo (B). Túnel palatal criado, estendendo-se superolateralmente das fibras arqueadas do músculo palatoglosso em direção ao palato mole (C). A porção isolada do músculo palatofaríngeo é unida às fibras arqueadas do palato mole (D). Visão final demonstrando a tensão criada e aumento do espaço entre as paredes laterais da faringe (E).....	47
Figura 7	– Visão do cirurgião durante procedimento cirúrgico e ressecção das amostras dos três músculos. PG, Palatoglosso; PF, Palatofaríngeo; MCSF, Músculo Constritor Superior da Faringe; U, úvula; L, língua...	48
Figura 8	– Obtenção da amostra relativa ao músculo palatoglosso no grupo Controle. Local de ressecção da amostra (seta); PG, fragmento do músculo palatoglosso (3mm x 10mm); TP, tonsila palatina.....	49
Figura 9	– Medição da amostra.....	50
Figura 10	– Pesagem da amostra.....	50
Figura 11	– Secção da peça no criostato.....	51
Figura 12	– Etapa de lavagens durante imunofluorescência.....	52
Figura 13	– Imagem tridimensional em mosaico representativa das amostras dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe (MCSF).....	53
Figura 14	– Figura representativa do processo de medição da densidade nervosa do músculo palatofaríngeo. Passo 1 - Imagem panorâmica captada	

	com microscópio confocal (Área total) (A). Passo 2 - Delimitação da região a ser calculada a densidade das fibras nervosas (Mensuração da área de imunofluorescência) (B).....	54
Figura 15	– Representações gráficas dos dados antropométricos, clínicos e polissonográficos nos grupos de pacientes sem e com AOS.....	57
Figura 16	– Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (E), Tecido Conjuntivo Denso (TCD) e camada muscular (M).....	59
Figura 17	– Terminações nervosas (setas) dentro do tecido conjuntivo subepitelial relacionadas aos vasos sanguíneos (vs) (A). Filamento nervoso dentro do feixe muscular (B). Filamento nervoso (N) em tecido conjuntivo (C) que penetra entre as fibras musculares (M) (C).....	59
Figura 18	– Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (E), tecido conjuntivo (TC) e camada muscular (M) (A). Invaginação epitelial (seta) e glândulas seromucosas vacuolizadas (círculos) formando cistos epidermóides intraepiteliais (B). Infiltrado inflamatório no espaço subepitelial (asterisco) (C).....	60
Figura 19	– Fibras musculares com diferentes calibres (A). Fibras musculares atroficas (seta), com maior densidade nuclear (B). Hipertrofia muscular compensatória (seta) (C).....	61
Figura 20	– Fibras nervosas (setas) imersas em camada muscular próximo a vasos sanguíneos (vs) (A). Feixe vasculonervoso (seta) (B). Fibra nervosa degenerada (N) próximo à fibra muscular (m) (C e D).....	62
Figura 21	– Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso (E), tecido conjuntivo (TC) e feixes musculares (M).....	63
Figura 22	– Vários filetes nervosos (setas) entre as fibras musculares (A). Numerosas glândulas acinares mucossecretoras (G) à esquerda e filete nervoso (seta) entre as fibras musculares à direita (B).....	64
Figura 23	– Imagem panorâmica da peça evidenciando tecido conjuntivo (TC) e camada muscular (M) com fibras esparsas e desconectadas (A). Célula gigante de Langerhans (retângulo) em tecido conjuntivo (B).....	65

Figura 24	– Corpúsculo sensorial em menor (A) e maior (B) aumento (seta). Estrutura neural complexa (retângulo) acompanhada de vasos sanguíneos dentro do tecido conjuntivo (C).....	66
Figura 25	– Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (E), tecido conjuntivo (TC) com várias glândulas acinares mucossecretoras e fibras musculares (M).....	67
Figura 26	– Filete nervoso longo no tecido conjuntivo subepitelial (A). Filete nervoso (setas) próximo a vaso sanguíneo (VS) em tecido conjuntivo (B).....	67
Figura 27	– Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (E), tecido conjuntivo (TC) com processo inflamatório e camada muscular (M) com fibras assimétricas (A). Glândulas mucoacinares (G) interpostas entre as fibras musculares (M) no tecido conjuntivo (B).....	68
Figura 28	– Processo inflamatório intenso (asterisco) na submucosa (A). Acúmulo linfóide (setas) no tecido conjuntivo (B). Infiltrado linfo-histiocitário (retângulo) entre as fibras musculares (C).....	69
Figura 29	– Corpúsculo sensorial (asteriscos) e fibras nervosas (setas) próximo a vaso sanguíneo (VS) e fibra muscular (M).....	70
Figura 30	– Terminações nervosas livres em diferentes sentidos no tecido conjuntivo subepitelial. E, epitélio (A). Relação das terminações nervosas livres com vasos sanguíneos (B).....	71
Figura 31	– Feixes nervosos entrelaçados e paralelos às fibras musculares (A). Feixes nervosos emitindo ramificações perpendiculares às fibras musculares (B).....	71
Figura 32	– Formação nervosa tipo <i>network</i>	72
Figura 33	– Formação arborizada não encapsulada <i>Ruffini-like</i>	73
Figura 34	– Terminações nervosas com formato cônico <i>Golgi-like</i>	74
Figura 35	– Corpúsculo <i>Meissner-like</i> no tecido conjuntivo próximo à musculatura.....	75
Figura 36	– Fusos musculares distribuídos esparsamente pelo tecido muscular.....	76

- Figura 37 – Estruturas nervosas alongadas com formato em espiral (*spiral-wharves*) correndo paralelamente às fibras musculares..... 77
- Figura 38 – Fibras nervosas em diferentes sentidos e maior concentração na camada subepitelial. Formação nervosa tipo network (em destaque) (A). Terminação nervosa livre individualizada de aspecto ondulado (B). Feixes nervosos entrelaçados, paralelos às fibras musculares e relacionados a vasos sanguíneos e glândulas seromucosas (C). VS, vaso sanguíneo, G, glândula seromucosa..... 78
- Figura 39 – Fibras nervosas subepiteliais paralelas às fibras musculares com redução progressiva do calibre (A). Corpúsculo sensorial *Ruffini-like* observado como: cluster de 3 corpúsculos sensoriais de aspecto arboriforme (destaque A), cluster de 2 corpúsculos nas extremidades da fibra nervosa, em íntima relação com a musculatura (B) ou emaranhado corpuscular de aspecto fusiforme nas extremidades da fibra nervosa (C)..... 79
- Figura 40 – Formações nervosas spiral-wharves imersas em fibras musculares esparsas (A e destaque B). Fibras nervosas perpendiculares às fibras musculares (B)..... 80
- Figura 41 – Terminações nervosas livres (seta) finas e tortuosas no epitélio, caminhando em direção aos vasos sanguíneos. E - epitélio; VS - vaso sanguíneo (A). Terminações nervosas livres paralelas às fibras musculares (B). Padrão entrelaçado de feixes nervosos cruzando as fibras musculares (C). Formação nervosa tipo *network* (D). Formação nervosa complexa *Golgi-like* (E). Formação nervosa complexa *Ruffini-like* (F)..... 81
- Figura 42 – Fibras nervosas em várias direções e mais concentradas no espaço subepitelial (A). Na camada muscular, finas terminações nervosas livres perpendiculares e entre as fibras musculares (A e B). Feixe nervoso penetrando entre as fibras musculares (seta B). Fibras nervosas atravessam perpendicularmente às fibras musculares, formando uma rede neuronal com várias conexões (*network*) (C)..... 82

Figura 43	–	Formação nervosa complexa não classificável com emaranhado em região central (A) e com aspecto multidirecional (B). Formação nervosa com formato cônico <i>Golgi-like</i> (C). Corpúsculo <i>Meissner-like</i> próximo à musculatura. Na periferia, observa-se um emaranhado de terminações nervosas enoveladas (D). <i>Spiral-wharves</i> (E).....	83
Figura 44	–	Terminações nervosas livres alongadas e finas partindo do tecido conjuntivo em direção à mucosa e camada muscular (A). Terminações nervosas livres em proximidade a glândulas seromucosas (B). Feixe nervoso (C). Fibra nervosa deixando o fascículo em direção às fibras musculares (D). Formação nervosa complexa <i>Ruffini-like</i> envolvida por fibras musculares (E). Formação nervosa complexa oval (F). Terminação nervosa complexa não classificável (G). <i>Spiral-wharves</i> (H).....	84
Figura 45	–	Formação nervosa tipo <i>network</i> (dentro do retângulo) e terminação nervosa livre logo abaixo (A). Fibras nervosas emaranhadas sob fibras musculares esparsas (B).....	85
Figura 46	–	Formação nervosa complexa não classificável (A e B), exibindo uma maior concentração de fibras nervosas com ramificações radiais na periferia (B). Corpúsculo sensorial de aspecto arboriforme <i>Ruffini-like</i> , que emite ramificações ao longo do músculo (C). <i>Spiral-wharves</i> (D).....	86
Figura 47	–	Porcentagem da área imunomarcada nas fibras nervosas dos músculos constritor superior da faringe, palatoglosso e palatofaríngeo.....	88
Figura 48	–	Comparação da densidade nervosa dos músculos constritor superior da faringe (A), palatofaríngeo (B) e palatoglosso (C) entre o grupo não apneico (controle) e o grupo apneico (caso) através do cálculo de porcentagem da área imunomarcada por PGP 9.5. CT = grupo Controle, AP = grupo apneico, MCSF = músculo constritor superior da faringe, PF = palatofaríngeo, PG = palatoglosso.....	89
Figura 49	–	Análise de correlação da densidade nervosa do músculo palatofaríngeo com Nadir O2.....	92
Figura 50	–	Análise de correlação da densidade nervosa do MCSF.....	93
Figura 51	–	Análise de correlação da densidade nervosa do MCSF com TTS.....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Comparação das médias de dados antropométricos, clínicos e polissonográficos entre os dois grupos de pacientes.....	56
Tabela 2	– Dados morfológicos gerais dos espécimes avaliados no grupo Controle.....	57
Tabela 3	– Dados morfológicos gerais dos espécimes avaliados no grupo Caso.....	58
Tabela 4	– Resultados dos questionários aplicados aos indivíduos do grupo Caso.....	58
Tabela 5	– Distribuição das terminações nervosas entre os músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe do grupo Controle.....	87
Tabela 6	– Distribuição das terminações nervosas entre os músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe do grupo Caso.....	87
Tabela 7	– Média da densidade das fibras nervosas dos músculos constritor superior da faringe, palatoglosso e palatofaríngeo, expressas em termos percentuais.....	88
Tabela 8	– Comparação da média da densidade das fibras nervosas dos músculos constritor superior da faringe, palatoglosso e palatofaríngeo entre pacientes do grupo Controle e Caso, expressas em termos percentuais.....	90
Tabela 9	– Análise de correlação entre idade e densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF utilizando o teste de correlação de Spearman. PTGLOSSO , palatoglosso; PTFARÍNGEO , palatofaríngeo; MCSF , músculo constritor superior da faringe.....	90
Tabela 10	– Correlação entre a densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF e os índices polissonográficos indicativos de gravidade da doença (IAH, Nadir O2, TTS 90). Correlações estatisticamente significativas estão em negrito. PTGLOSSO , palatoglosso; PTFARÍNGEO , palatofaríngeo; MCSF , músculo constritor superior da faringe; IAH , índice de apneia-hipopneia;	

Nadir O2, saturação mínima de oxiemoglobina; TTS 90, percentual do tempo total de sono com saturação de oxiemoglobina abaixo de 90%.....	91
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AASM	Academia Americana de Medicina do Sono (em inglês)
AOS	Apneia Obstrutiva do Sono
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DP	Desvio Padrão
ECG	Eletrocardiograma
EEG	Eletroencefalograma
EMG	Eletromiografia
EOG	Eletro-oculograma
ESSE	Escala de Sonolência de Epworth
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
IAH	Índice de Apneia e Hipopneia
IDO	Índice de Dessaturação da Oxihemoglobina
IDR	Índice de Distúrbio Respiratório
IER	Índice de Eventos Respiratórios
IMC	Índice de Massa Corporal
MCSF	Músculo Constritor Superior da Faringe
MCVL	Microscopia Confocal com Varredura a Laser
PAP	<i>Positive Airway Pressure</i>
PGP	<i>Protein Gene Product</i>
PTF	Palatofaríngeo
PTG	Palatoglosso
RERA	Esforço respiratório relacionado ao despertar
SUS	Sistema Único de Saúde
TAP	Tonometria Arterial Periférica
TP	Tonsila Palatina
TTS 90	Tempo Total de Sono com saturação de oxigênio abaixo de 90%
UFC	Universidade Federal do Ceará
VAS	Via Aérea Superior

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	20
1.1	A importância do sono.....	20
1.2	Apneia Obstrutiva do Sono.....	20
<i>1.2.1</i>	<i>Diagnóstico.....</i>	<i>22</i>
<i>1.2.2</i>	<i>Fisiopatologia.....</i>	<i>25</i>
<i>1.2.3</i>	<i>Tratamento.....</i>	<i>28</i>
1.3	Anatomia e fisiologia da faringe.....	29
<i>1.3.1</i>	<i>Músculo palatoglosso.....</i>	<i>31</i>
<i>1.3.2</i>	<i>Músculo palatofaríngeo.....</i>	<i>31</i>
<i>1.3.3</i>	<i>Músculo Constritor Superior da Faringe.....</i>	<i>32</i>
1.4	Inervação sensorial microscópica proprioceptiva da faringe humana	
1.5	Imunofluorescência e microscopia confocal a laser.....	33
1.6	Mecanorreceptores.....	34
1.7	Relevância e justificativa.....	36
2	OBJETIVOS.....	38
2.1	Geral.....	38
2.2	Específicos.....	38
3	CASUÍSTICA E MÉTODO.....	39
3.1	Avaliação clínica e triagem dos pacientes.....	39
<i>3.1.1</i>	<i>Grupo Controle.....</i>	<i>39</i>
<i>3.1.2</i>	<i>Grupo Caso.....</i>	<i>44</i>
3.2	Obtenção das amostras.....	45
3.3	Preparo da amostra.....	49
3.4	Preparo dos cortes para imunofluorescência.....	49
3.5	Coloração com Hematoxilina-Eosina.....	51
3.6	Imunofluorescência.....	51
3.7	Análise histomorfométrica.....	52
3.8	Análise estatística.....	55
4	RESULTADOS.....	56
4.1	Coloração Hematoxilina-Eosina.....	58
<i>4.1.1</i>	<i>Palatoglosso.....</i>	<i>58</i>

4.1.1.1	<i>Grupo Controle</i>	58
4.1.1.2	<i>Grupo Caso</i>	60
4.1.2	<i>Palatofaríngeo</i>	62
4.1.2.1	<i>Grupo Controle</i>	62
4.1.2.2	<i>Grupo Caso</i>	64
4.1.3	<i>Músculo constritor superior da faringe</i>	66
4.1.3.1	<i>Grupo Controle</i>	66
4.1.3.2	<i>Grupo Caso</i>	68
4.2	Imunofluorescência para Anticorpo Primário Anti-Pgp 9,5	70
4.2.1	<i>Palatoglosso</i>	70
4.2.1.1	<i>Grupo Controle</i>	70
4.2.1.2	<i>Grupo Caso</i>	77
4.2.2	<i>Palatofaríngeo</i>	80
4.2.2.1	<i>Grupo Controle</i>	80
4.2.2.2	<i>Grupo Caso</i>	81
4.2.3	<i>Músculo constritor superior da faringe</i>	82
4.2.3.1	<i>Grupo Controle</i>	82
4.2.3.2	<i>Grupo Caso</i>	84
4.3	Densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe	87
4.3.1	<i>Grupo Controle</i>	87
4.3.2	<i>Grupo Controle versus Caso</i>	89
4.4	Análises de correlação entre variáveis clínicas quantitativas	90
4.4.1	<i>Análise de correlação entre densidade nervosa dos músculos e idade</i>	90
4.4.2	<i>Análise de correlação entre densidade nervosa dos músculos e indicadores polissonográficos</i>	90
4.4.2.1	<i>Densidade nervosa em pixels do músculo palatofaríngeo x Nadir O2</i>	91
4.4.2.2	<i>Densidade nervosa em pixels do MCSF x IAH</i>	92
4.4.2.3	<i>Densidade nervosa em pixels do MCSF x TTS 90 (%)</i>	93
5	DISCUSSÃO	95
6	CONCLUSÃO	108
	REFERÊNCIAS	109

APÊNDICE A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP PARA ESTUDO DO GRUPO CONTROLE.....	120
APÊNDICE B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP PARA ESTUDO DO GRUPO CASO.....	124
APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA ESTUDO DO GRUPO CONTROLE.....	129
APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA ESTUDO DO GRUPO CASO.....	132
APÊNDICE E – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS.....	136
APÊNDICE F – DADOS GERAIS DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO CONTROLE.....	141
APÊNDICE G – DADOS GERAIS E POLISSONOGRÁFICOS DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO CASO.....	142
APÊNDICE H – GRÁFICOS COMPARATIVOS ENTRE GRUPO CONTROLE E CASO.....	143
APÊNDICE I – ANÁLISES DE CORRELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS QUANTITATIVAS UTILIZANDO O TESTE DE <i>SPEARMAN</i>.....	145
ANEXO A – ANATOMIA DA OROFARINGE.....	146
ANEXO B – PALATOGLOSSO.....	147
ANEXO C – PALATOFARÍNGEO.....	148
ANEXO D – MÚSCULO CONSTRITOR SUPERIOR DA FARINGE.....	149
ANEXO E – QUESTIONÁRIO STOP-BANG.....	150
ANEXO F – QUESTIONÁRIO DE BERLIM.....	151
ANEXO G – ESCALA DE SONOLÊNCIA DE <i>EPWORTH</i>.....	152

1 INTRODUÇÃO

1.1 Importância do sono

Sono de duração e qualidade adequada são fatores essenciais para uma vida saudável. Um importante estudo realizado em 1964 demonstrou, pela análise de milhares de participantes, que dormir mais ou menos do que sete horas por noite se associa com aumento da mortalidade (Hammond, 1964). Estudos atuais têm descrito a mesma relação em forma de “U” entre a duração do sono e a incidência de obesidade, hipertensão, doença coronariana e diabetes, independentemente das muitas variáveis confundidoras (Trenell *et al.*, 2007).

O sono está associado a uma série de propriedades fisiológicas e não corresponde a uma função única. Nesse sentido, têm sido propostas várias hipóteses para explicar as variadas funções do sono:

[...] desempenharia uma função essencial no que diz respeito: (1) à conservação de energia e à promoção de processos anabólicos; (2) seria importante para mecanismos de termorregulação central; (3) para a “desintoxicação” do cérebro; e (4) para a produção de certas citocinas, assim, estimular a atividade do sistema imunológico específico; teria (5) um papel fundamental no desenvolvimento e maturação do cérebro, e (6) na plasticidade do cérebro e, portanto, na formação e consolidação da memória (Silva, 2014, p. 8).

Um dos maiores problemas de saúde pública da atualidade são as doenças cardiovasculares. Entre os fatores que contribuem para o risco cardiometabólico, estão dieta inadequada, sedentarismo e estresse, porém uma explicação adicional que tem sido mostrada é a redução na qualidade ou na quantidade do sono (Knutson, 2010). Em vários países, incluindo Estados Unidos e Brasil, evidências mostram que, concomitante ao aumento de obesidade e diabetes, há um maior número de pessoas com sono insuficiente, seja por questões sociais, econômicas, lazer, seja, ainda, decorrente de doenças como insônia e Apneia Obstrutiva do Sono (AOS).

1.2 Apneia Obstrutiva do Sono

A Apneia Obstrutiva do Sono (AOS) é um distúrbio comum, caracterizado por colapsos recorrentes da região faríngea durante o sono, o que resulta em redução substancial do fluxo aéreo (apneia ou hipopneia), apesar dos esforços respiratórios, evoluindo com hipoxemia e hipercapnia (Eckert; Malhorta, 2008). Uma revisão sistemática avaliou uma prevalência de 9% a 38% de AOS na população geral (Senaratna *et al.*, 2017). Outro estudo epidemiológico

demonstrou uma elevada prevalência de AOS (32,8%) na população adulta de São Paulo (Tufik *et al.*, 2010).

A AOS resulta em ativação neuro-hormonal, liberação de mediadores inflamatórios como citocinas e proteína C-reativa, aumento da expressão de moléculas de adesão (aumentando a adesão de leucócitos no endotélio) e aumento do estresse oxidativo (Arnardottir *et al.*, 2009). Todas essas alterações bioquímicas e celulares são responsáveis pelo aumento da inflamação endotelial, pela redução do fluxo sanguíneo cerebral e coronariano e pela redução da distribuição de oxigênio. A hipoxemia reduz a distribuição de oxigênio pelo miocárdio e gera a ativação do sistema nervoso simpático e a vasoconstricção das arteríolas pulmonares. A reoxigenação que ocorre após a hipoxemia leva à liberação de radicais livres. A hipercapnia causa vasoconstricção coronariana e tem ação arritmogênica.

Em virtude dos mecanismos de hipoxia intermitente, oscilação de pressão intratorácica e fragmentação do sono, a AOS pode causar doenças crônicas em múltiplos órgãos. Alterações sistêmicas podem ocorrer, tais como aumento da aterosclerose e rigidez arterial, disfunção metabólica (dano de células beta pancreáticas, resistência insulínica, aumento de ácidos graxos livres circulantes) e disfunção imunológica, com risco de infecções virais, câncer e doenças autoimunes (Lee *et al.*, 2021).

Os distúrbios do sono, incluindo a AOS, cursam com uma série de consequências para o indivíduo e para a sociedade e tornaram-se um problema de saúde pública (Pandi-Perumal *et al.*, 2006). Os sinais e os sintomas mais comuns da AOS são ronco, sonolência excessiva diurna, pausas respiratórias durante o sono e alterações cardiovasculares, como Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), doença cardíaca isquêmica, doença cerebrovascular, insuficiência cardíaca, arritmias e morte súbita (Kim *et al.*, 2004). Prejuízos das funções cognitivas, a exemplo da concentração, da atenção e da memória, e da função executiva são frequentemente observados, além de alterações de humor, como irritabilidade, depressão e ansiedade (Choi *et al.*, 2010). As consequências da AOS incluem alterações nas funcionalidades e também geram repercussões socioeconômicas, a exemplo do aumento de acidentes automobilísticos e de gastos públicos e privados, além de prejuízos ocupacionais e sociais (Barbé *et al.*, 1998).

Os fatores de risco para AOS incluem obesidade, sexo masculino, idade, alterações craniofaciais e etnicidade (raça ou etnia). Provavelmente, o principal fator de risco para AOS é a obesidade, que causa deposição de gordura na língua, reduzindo o calibre da Via Aérea Superior (VAS) e aumentando a probabilidade de colapso faríngeo (Wang *et al.*, 2020). O sexo masculino é um fator de risco independente para AOS, com uma prevalência estimada de 1,5:1

em relação ao sexo feminino (Theorell-Haglöw *et al.*, 2018). Essa maior prevalência ocorre em virtude de diferenças anatômicas, tais como colapsibilidade aumentada da via aérea e maior deposição de gordura em abdome e pescoço de indivíduos do sexo masculino, assim como o efeito protetivo dos hormônios femininos, tais como estrógeno e progesterona (Laouafa *et al.*, 2017).

A prevalência de AOS aumenta progressivamente com a idade (Tufik *et al.*, 2010). O exato mecanismo ainda é desconhecido, mas tem sido proposto, ao longo dos anos, que o aumento na incidência dos distúrbios respiratórios obstrutivos do sono em indivíduos mais velhos ocorre por problemas no controle ventilatório e por alterações anatômicas (Eckert; Malhorta, 2008).

Além disso, conforme Neelapu *et al.* (2017), certos fenótipos faciais são também associados ao risco aumentado de AOS. Um estudo utilizando ressonância nuclear magnética para avaliar estruturas faciais específicas encontrou uma alta correlação entre volume da língua e dimensões faciais com AOS (Lee *et al.*, 2010).

Etnicidade também é outro importante fator de risco. Um estudo global multicêntrico recente demonstrou que sul-americanos e asiáticos são mais suscetíveis aos efeitos da obesidade na severidade da AOS, enquanto afro-americanos são os menos impactados (Sutherland *et al.*, 2019).

1.2.1 Diagnóstico

Alguns métodos de baixo custo e fácil aplicação nos ambulatórios são utilizados para aferir o risco de AOS em diferentes populações, como os questionários de Berlim (Netzer *et al.*, 1999) e STOP-BANG (Chung *et al.*, 2012), que analisam variáveis como ronco, fadiga, sonolência excessiva diurna, hipertensão arterial sistêmica e obesidade.

O questionário de Berlim, uma das ferramentas mais conhecidas e utilizadas no rastreio da AOS, é validado na língua portuguesa e apresenta sensibilidade de 86% e especificidade de 77% (Sharma *et al.*, 2006). O questionário STOP-BANG, por sua vez, originalmente elaborado e validado por anestesiólogos para uso em pacientes submetidos à cirurgia, apresentou sensibilidade de 83,5%, especificidade de 45,5% e acurácia de 75,2%, mostrando-se uma ferramenta eficaz para o diagnóstico do transtorno (DUARTE *et al.*, 2017).

A polissonografia tipo 1 ou laboratorial é considerada o “padrão ouro” no diagnóstico da AOS – sendo realizada em laboratório com a supervisão de um técnico do sono – e combina a monitorização noturna das fases do sono com o registro contínuo de fluxo aéreo,

movimentos ventilatórios torácico e abdominal, ritmo cardíaco, saturação de oxigênio, ronco, tônus muscular e movimento das pernas. A seguinte combinação de sensores é utilizada para a análise de seus parâmetros correspondentes: 1) para determinar os estágios do sono (N1, N2, N3 e REM) e vigília, uma combinação de eletroencefalograma (EEG), eletro-oculograma (EOG) e eletromiografia do queixo (EMG) é utilizada; 2) respiração durante o sono é avaliada por oximetria de pulso, sinais de fluxo aéreo (via transdutor de pressão nasal ou termistor oronasal) e cintas toracoabdominais (via pletismografia de indutância); 3) movimento de pernas é detectado por eletromiografia do músculo tibial anterior; e 4) frequência e ritmo cardíacos são monitorados por um sensor de eletrocardiograma (ECG) (AASM, 2020).

Os eventos respiratórios obstrutivos podem ser identificados pela redução do fluxo respiratório com continuado esforço respiratório toracoabdominal, frequentemente acompanhado por dessaturação de oxigênio. O número de eventos (apneias e hipopneias) por hora de sono é conhecido como Índice de Apneia e Hipopneia (IAH), sendo largamente utilizado para avaliar a gravidade da doença (Ayas *et al.*, 2003). O Índice de Distúrbio Respiratório (IDR) corresponde ao IAH, mas também inclui os eventos de esforço respiratório relacionado ao despertar (RERA), que ocorrem na síndrome de resistência de vias aéreas superiores. Pelo valor do IDR ou do IAH, pode-se classificar os pacientes em: ronco primário: IAH < 5 por hora de sono; AOS leve: IAH entre 5 e 15 por hora de sono (se houver presença de sintomas); AOS moderada: IAH entre 15 e 30 por hora de sono; AOS grave: IAH > 30 por hora de sono.

Além do IAH, a dessaturação do oxigênio pode ser utilizada para mensurar os impactos da AOS a longo prazo em um paciente. As frequentes flutuações na saturação da oxiemoglobina podem ocasionar dano endotelial e gerar um estado inflamatório. Há muitas formas de medir a saturação do oxigênio em um estudo do sono. Provavelmente a mais comum é observar a saturação mais baixa do oxigênio (nadir) relacionada a um evento respiratório. Outra forma de avaliar a saturação do oxigênio é através da mensuração do percentual do tempo total de sono com saturação abaixo de 90% (TTS 90). Quanto maior esse índice, pior o prognóstico. A última maneira de avaliar a saturação de oxigênio é através do Índice de Dessaturação de Oxiemoglobina (IDO), que representa a quantidade de vezes em que a saturação de oxigênio declina 3%, 4% ou mais, por hora. Essa informação é muito importante no estudo do sono, já que um IDO de 4%, por exemplo, pode ter correlação com risco de eventos cardiovasculares (Punjabi *et al.*, 2008).

Pelos critérios diagnósticos do *International Classification of Sleep Disorders* (ICSD 3, 2014) para definir a presença de AOS, é necessário pelo menos um dos seguintes

critérios: 1) queixas de sonolência, sono não restaurador, fadiga ou insônia; 2) paciente que acorda com apneia, engasgos ou sobressalto; 3) parceiro que relata ronco, apneias ou ambos durante o sono; 4) paciente com diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica, depressão, disfunção cognitiva, doença coronariana, insuficiência cardíaca, fibrilação atrial ou diabetes mellitus tipo 2. Além dos critérios clínicos expostos, é necessário que a polissonografia ou a monitorização cardiorrespiratória demonstre $IDR > 5$ por hora de sono. Outra possibilidade diagnóstica é a evidência polissonográfica de $IDR > 15$ por hora de sono, não sendo necessário, neste caso, nenhum critério adicional.

A polissonografia tem custo elevado pela estrutura de equipamento e pessoal especializado. Dispositivos portáteis, os quais possibilitam a realização do exame no próprio domicílio, vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de reduzir os custos e manter a mesma eficiência. Em 2017, a Academia Americana de Medicina do Sono (AASM, em inglês) publicou *guidelines* recomendando a polissonografia domiciliar para o diagnóstico de pacientes com alta probabilidade de AOS moderada a severa (definida pela presença de hipersonolência diurna na maioria dos dias e pelo menos dois dos seguintes sintomas: ronco, pausas respiratórias ou HAS) (Kapur *et al.*, 2017), sendo contraindicado em pacientes com significativa doença cardiopulmonar, neurológica ou distúrbios do sono concomitantes, como insônia (Collop *et al.*, 2007).

A pandemia de Covid-19 e o conseqüente fechamento dos laboratórios do sono decorrente das restrições sanitárias ampliaram os limites da utilização da polissonografia domiciliar para o diagnóstico dos distúrbios do sono. Na polissonografia domiciliar tipo III, é tipicamente utilizado um aparelho portátil modificado para detecção de apneia do sono, com mensuração de fluxo aéreo, esforço respiratório, saturação de oxigênio e frequência cardíaca, excluindo-se a monitorização do EEG e EMG, não sendo possível, assim, a avaliação dos estágios do sono e a detecção do movimento de pernas.

Como não é possível analisar o tempo total de sono, utiliza-se como parâmetro o tempo total de registro para o cálculo da frequência dos eventos respiratórios, obtendo-se o Índice de Eventos Respiratórios (IER). Apesar de a utilização do tempo total de registro frequentemente subestimar a severidade ou a presença dos distúrbios respiratórios do sono, a especificidade e a sensibilidade da polissonografia domiciliar são consideradas aceitáveis. Em uma metanálise de oito estudos utilizando polissonografia domiciliar tipo III, quando utilizado ponto de corte do $IER \geq 15$, encontrou-se sensibilidade e especificidade de 79% (El-Shayeb *et al.*, 2014).

Alguns desses dispositivos domiciliares, como o Watch-PAT®, avaliam a Tonometria Arterial Periférica (TAP), um sinal fisiológico das alterações do sistema nervoso autônomo que ocorrem durante o sono. Além da TAP, esses monitores portáteis avaliam a frequência cardíaca, a saturação do oxigênio, a actigrafia, o ronco e a posição. O algoritmo automático analisa a amplitude do sinal TAP que, associada às variações da frequência cardíaca e da saturação do oxigênio, identifica os eventos respiratórios. Segundo Barone (2005), o resultado desse algoritmo determina o IAH usando padrões específicos de sinal. Um estudo de metanálise evidenciou alta correlação do IAH ($r=0,889$; $p < 0,01$) entre os dispositivos portáteis utilizando TAP e a polissonografia (Yalamanchali *et al.*, 2013). Logo, essa tecnologia representa uma alternativa viável à polissonografia para confirmar a suspeita clínica de AOS.

1.2.2 Fisiopatologia

O colapso faríngeo é multifatorial e inclui anormalidades da anatomia da via aérea superior, alteração da resposta neuromuscular e alterações em receptores da via aérea superior (Palombini, 2010). O reflexo da via aérea superior se opõe às forças de colapso geradas pela pressão negativa durante a inspiração e é acompanhado da ativação dos músculos dilatadores da faringe, que podem aumentar a patência da via aérea. A aferência sensorial para esse reflexo é proveniente dos mecanorreceptores da via aérea superior através dos centros respiratórios centrais. Durante as apneias e hipopneias, receptores distais à obstrução detectam e transmitem informação acerca das mudanças pressóricas resultantes (Broderick; Guilleminault, 2008).

A esse respeito, estudos em humanos demonstraram aumento da resistência ao fluxo aéreo na faringe após aplicação de lidocaína tópica, comprometendo a patência da via aérea superior em indivíduos durante sono normal e vigília (Deweese; Sullivan, 1988). Dano na aferência sensorial palatal também foi evidenciado em pacientes com AOS (Guilleminault *et al.*, 2005), bem como alterações neurogênicas foram observadas em pacientes com AOS como resultado da denervação e da reinervação, estando associadas à severidade da hipóxia intermitente que ocorre durante o sono (Saboisky *et al.*, 2012).

Carlos *et al.* (2015) exploraram a hipótese de que alterações na inervação da faringe, especialmente na inervação mecanossensorial, podem contribuir para a AOS. Essa hipótese foi testada pela análise da inervação da faringe humana em indivíduos normais e em indivíduos clinicamente diagnosticados com AOS. Usando imuno-histoquímica para axônios e células de Schwann, assim como duas mecanoproteínas (ASIC2 e TRPV4), observou-se uma significativa

redução na densidade das fibras nervosas na submucosa de pacientes com AOS, assim como anormalidades morfológicas nos corpúsculos sensoriais. Esses estudos sugeriram que um defeito na via aferente dos reflexos protetores para manter a patência da via aérea superior podem contribuir para a fisiopatologia da AOS.

Na AOS, há uma correlação entre inflamação local e denervação da faringe, associada a dano sensorial, que pode reduzir a eficácia dos reflexos protetivos faríngeos, contribuindo para o colapso. Boyd *et al.* (2004) encontraram evidências de um processo ativo de denervação e reinervação e um aumento de células inflamatórias, principalmente linfócitos T, em amostras de músculos dos pilares tonsilares e/ou palato mole dos pacientes com AOS, em relação aos controles não roncadores, envolvendo tanto a submucosa como a camada muscular. O próprio músculo esquelético pode produzir citocinas pró-inflamatórias em resposta a algum dano ou uso excessivo (Shindoh *et al.*, 1995). As citocinas expressas pelas fibras musculares podem, por sua vez, desencadear a ativação de células inflamatórias e a migração para áreas afetadas do músculo (Nagaraju *et al.*, 1998). Também é importante reconhecer que a infiltração de células inflamatórias no músculo esquelético, juntamente com a produção de mediadores pró-inflamatórios, tais como citocinas e radicais livres de oxigênio, pode causar fraqueza muscular significativa. Como exemplo, o fator de necrose tumoral TNF- α e o óxido nítrico são reconhecidos pelo efeito inibitório direto na capacidade de geração de força das fibras musculares (Reid; Lännergren; Westerblad, 2002). Além disso, foi estabelecido, em modelos de neuropatia periférica, que a presença de células T CD8 + não específicas da neuróglia podem induzir ou agravar a neuropatia (Spies *et al.*, 1995). Nestas condições, a toxicidade neural parece ser mediada por uma lesão axonal direta induzida por células T citotóxicas e citocinas, como o TNF- α , que podem induzir a degeneração walleriana (Créange *et al.*, 1998). Por conseguinte, esses distúrbios neurais eferentes poderiam produzir disfunção contrátil e fraqueza muscular, contribuindo para a fisiopatologia da AOS.

Nessa mesma perspectiva, Sekosan *et al.* (1996) também identificaram um aumento da contagem de células inflamatórias na mucosa da úvula de pacientes com AOS, supondo-se que a inflamação contribuía para a oclusão da via aérea superior durante o sono nestes pacientes. Molina *et al.* (2011), por sua vez, estudaram as características morfológicas e histoquímicas do músculo palatofaríngeo em 30 pacientes com AOS divididos de acordo com a gravidade (10 grau leve, 10 grau moderado, 10 grau acentuado) e 10 pacientes do grupo Controle, visualizando-se por microscopia eletrônica significativa redução do diâmetro das fibras musculares e aumento das metaloproteinases de acordo com o aumento da gravidade da AOS.

Acredita-se que a AOS está diretamente associada à inabilidade dos músculos faríngeos de responder adequadamente à pressão negativa da via aérea durante a inspiração, o que poderia resultar no colapso das estruturas da via aérea durante o sono. Alguns autores sugeriram que o estresse crônico nos tecidos faríngeos decorrente da vibração anormal das estruturas da faringe evidenciada na respiração durante o sono poderia resultar em alterações musculares secundárias à lesão neural (Friberg *et al.*, 1998; Edström; Larsson; Larsson, 1992). Portanto, uma injúria que envolve tanto fibras motoras (músculos dilatadores da faringe) quanto sensoriais (mecanorreceptores e receptores de mucosa) nessa área poderia potencialmente ocasionar o aparecimento da AOS (Guilleminault *et al.*, 2009).

Muitos estudos têm sugerido, ainda, que a AOS é provavelmente o estágio final de uma doença progressiva, iniciando com ronco. Um dos mecanismos sugeridos nesse processo é a lesão neurogênica dos músculos palatais (Edström; Larsson; Larsson, 1992; Lindman; Stal, 2002). Como a atividade funcional dos músculos da via aérea superior é importante para a manutenção da estabilidade e da patência da via aérea durante a inspiração, uma disfunção muscular pode ser uma das causas da AOS.

Edström, Larsson e Larsson (1992) analisaram amostras do músculo palatofaríngeo em oito pacientes submetidos à uvulopalatofaringoplastia por AOS e em sete indivíduos do grupo Controle sem história clínica de AOS submetidos à amigdalectomia por amigdalite crônica. Verificaram que os pacientes apneicos apresentavam aumento do padrão dispersivo das fibras musculares, atrofia fascicular, estrutura interna irregular das fibras musculares e desordem muscular neurogênica. No estudo de Lindman e Stal (2002), alterações histopatológicas (denervação e degeneração) foram detectadas no músculo palatofaríngeo de 11 pacientes com AOS submetidos à uvulopalatofaringoplastia.

As marcantes anormalidades estruturais e o diferente padrão do tipo de fibras encontrados nos músculos dos pacientes com AOS indicam um componente neuromuscular de instabilidade e colapso da via aérea superior. Um estudo evidenciou que o grau do dano neurogênico do músculo palatofaríngeo em pacientes adultos era diretamente proporcional ao grau do distúrbio respiratório (Friberg *et al.*, 1998), sugerindo que uma lesão neurogênica progressiva local causada pelo trauma do ronco pode ser um fator potencial para a oclusão da via aérea superior. Foram investigados sinais de neuropatia aferente na mucosa do palato mole através de imunofluorescência em 11 pacientes não roncadores, 11 roncadores habituais e 10 pacientes com AOS, sendo visualizado aumento no número de terminações nervosas varicosas, dispersas no epitélio da mucosa do palato mole de pacientes com AOS e roncadores. Dentre os pacientes com AOS, o menor número de terminações nervosas foi visualizado em pacientes

com o maior Índice de Dessaturação da Oxiemoglobina (IDO), enquanto o pico de terminações nervosas varicosas foi visualizado em pacientes com IDO leve a moderado.

Em um estudo observacional prospectivo, Bassiouny *et al.* (2009) estudaram fibras nervosas da úvula de 10 pacientes com AOS, 10 roncoadores simples e cinco autópsias do grupo Controle através de microscopia eletrônica. Os espécimes do grupo Controle evidenciaram fibras nervosas com arquitetura normal e sem alterações degenerativas, enquanto, no grupo de pacientes com AOS, visualizaram-se essas alterações em fibras mielinizadas e não mielinizadas em todos os pacientes, incluindo quatro casos de degeneração severa total de todas as fibras nervosas. Alterações degenerativas similares, porém em menor grau, foram observadas em seis dentre os 10 espécimes coletados do grupo dos roncoadores simples.

Shi *et al.* (2016) analisaram o Músculo Constritor Superior da Faringe (MCSF) aderidos às tonsilas palatinas retiradas em cirurgias faríngeas de 28 homens, sendo 18 portadores de AOS e 10 com amigdalite crônica. O objetivo do estudo foi identificar gotículas de lipídeos no interior das fibras musculares visualizadas por meio de microscopia eletrônica em coloração de azul de metileno. Como conclusão, verificaram que o grupo de indivíduos apneicos possuía significativamente quantidade maior de gotículas de gordura no interior das fibras musculares e que essa quantidade era diretamente proporcional ao IAH, concluindo, assim, que essa infiltração gordurosa poderia contribuir para a redução da contratilidade desse músculo.

1.2.3 Tratamento

O tratamento ideal para a AOS deve objetivar a eliminação dos eventos respiratórios obstrutivos e, com isso, restaurar o padrão de sono normal e a adequada oxigenação arterial (Veasey *et al.*, 2006; Morgenthaler *et al.*, 2006). Dentre as modalidades de tratamentos, destacam-se os aparelhos geradores de fluxo de pressão positiva (*Positive Airway Pressure* (PAP)), aparelhos intraorais de reposicionamento mandibular, exercícios orofaríngeos miofuncionais e cirurgias modificadoras de via aérea.

Entre as opções cirúrgicas, destaca-se a faringoplastia expansora, descrita inicialmente para o tratamento de incompetência velofaríngea em pacientes com fenda palatina (Orticochea, 1968). Raymond *et al.* (2004) modificaram a técnica de Orticochea (1968), isolando o músculo palatofaríngeo bilateralmente, posicionando-os mais superiormente, e suturando em Z-plastia os defeitos da parede lateral da faringe. A técnica de faringoplastia expansora consiste basicamente em tonsilectomia, faringoplastia propriamente dita e rotação

anterior, superior e lateral do músculo palatofaríngeo, permitindo, assim, aumentar o espaço velofaríngeo e criar a tensão necessária na parede lateral da faringe para prevenir o colapso e reduzir o número de episódios apneicos.

Pang e Woodson (2007) realizaram um estudo prospectivo randomizado em pacientes com AOS comparando a técnica de faringoplastia expansora com a técnica de uvulopalatofaringoplastia, observando, no primeiro grupo, uma redução no IAH de $44,2 \pm 10,2$ para $12,0 \pm 6,6$ ($p < 0,005$) e melhora no nadir da saturação de oxigênio de $78,4 \pm 8,52$ para $85,2 \pm 5,1$ ($p = 0,003$).

Uma terapia inovadora para o tratamento da AOS consiste na neuroestimulação do nervo hipoglosso através de um implante terapêutico, projetado especificamente para restaurar o tônus dos principais músculos da língua, efetivamente controlando o fluxo das vias aéreas superiores e reduzindo significativamente ou eliminando a apneia (Schwartz, 2014). Assim, o sistema parece e opera de maneira similar a um marcapasso cardíaco, exceto que, em vez de enviar impulsos para o coração, ele envia leves impulsos ao nervo hipoglosso no pescoço. Em média, 75 a 80% dos pacientes apresentam sucesso nessa modalidade de tratamento. Alguns fatores anatômicos e funcionais são considerados desfavoráveis, mas ainda não existem estudos suficientes acerca disso.

O tratamento “padrão ouro” para AOS consiste atualmente na utilização dos aparelhos geradores de pressão positiva contínua (CPAP), porém no mínimo 30% dos pacientes não toleram essa modalidade terapêutica, favorecendo a ampliação dos estudos sobre tratamento farmacológico. Nesse contexto, foi desenvolvida uma pesquisa utilizando um ativador neuronal tóxico bloqueador do canal de potássio (AVE0118), através de um modelo de avaliação de colapsabilidade de via aérea superior em porcos anestesiados, capaz de sensibilizar e mudar o limiar de resposta dos mecanorreceptores do músculo genioglosso, amplificando os níveis pressóricos locais e aumentando, assim, a atividade dos músculos dilatadores da faringe, indicando que o reflexo de pressão negativa envolvendo os mecanorreceptores superficiais localizados na via aérea superior poderia ser um importante alvo de intervenção farmacológica para prevenir o colapso faríngeo. O efeito do AVE0118 foi abolido pela anestesia tóxica com lidocaína (Wirth; Steinmeyer; Ruetten, 2013).

1.3 Anatomia e fisiologia da faringe

A faringe, essencialmente um tubo musculofibroso, estende-se da base do crânio à borda inferior da cartilagem cricoide. A parte superior, tanto da parede posterior como da

lateral, é quase totalmente formada de músculo. Já a parede anterior tem pouco músculo por causa da abertura para as cavidades nasal e oral. Posteriormente, a faringe se encontra sobre a superfície anterior do arco do atlas e do corpo das cinco vértebras cervicais subsequentes com um tecido conjuntivo formando o espaço retrofaríngeo.

A faringe é dividida em três partes: nasal (nasofaringe), oral (orofaringe) e laríngea (hipofaringe). A mucosa da parte nasal da faringe é revestida por epitélio colunar ciliado similar ao da cavidade nasal. As partes oral e laríngea apresentam epitélio estratificado escamoso. Numerosas glândulas mucosas, principalmente na parte superior, encontram-se na profundidade da membrana mucosa (Sakae, 2011).

A orofaringe está localizada posteriormente à cavidade oral e se estende do palato mole até o nível do osso hioide (C3). Ela é composta por cinco camadas: mucosa, submucosa, fáschia faringobasilar, músculo constritor e fáschia bucofaríngea (Duvvuri; Myers, 2009). Cada parede lateral contém a tonsila palatina situada entre o arco palatoglosso anteriormente e o arco palatofaríngeo posteriormente; o restante da parede posterior é formado pelo músculo constritor da faringe (Anexo A). Histologicamente, o palato mole e a parede posterior da orofaringe são delimitados por um epitélio escamoso estratificado não queratinizado, apoiados por uma lâmina própria subjacente e uma camada muscular (Ross; Pawlina, 2011).

A via aérea da faringe humana compreende uma série de músculos cuja integração funcional é essencial para muitas funções complexas, tais como deglutição, fala e respiração. De acordo com a perspectiva respiratória, o objetivo primário desses músculos é manter a via aérea aberta. Essa atividade é frequentemente diminuída durante o sono, tornando a via aérea mais estreita e aumentando a propensão ao colapso (Worsnop *et al.*, 1998).

Em indivíduos saudáveis, os músculos faríngeos são capazes de compensar adequadamente o aumento da resistência das vias aéreas para manter a via pérvia. Com base em sua função e anatomia, os músculos faríngeos são divididos em quatro grupos primários: músculos extrínsecos da língua, músculos palatais, músculos que controlam a posição do osso hioide e músculos constritores da faringe (superior, médio e inferior). Há cinco músculos palatais: levantador do véu palatino, tensor do véu palatino, palatoglosso, palatofaríngeo e músculos da úvula (Edwards; White, 2011). Os músculos palatoglosso e palatofaríngeo aumentam seu disparo em resposta a breves pulsos de pressão negativa ou carga resistiva inspiratória (Mortimore; Douglas, 1997). Um estudo sugeriu que o palatoglosso aumenta sua atividade fásica em resposta à hipercapnia (Tangel; Mezzanotte; White, 1995).

Dentre os diferentes padrões obstrutivos demonstrados em exames de imagem da faringe e de sonoendoscopia, na maioria dos pacientes com AOS, observa-se a participação do

palato mole e/ou de parede lateral da faringe (Schwab *et al.*, 1995; Huon *et al.*, 2016). Anatomicamente, a parede lateral da faringe representa o local de inserção do palato mole na faringe. Não há nenhuma estrutura rígida para sustentar os músculos nessa região, representando claramente uma vulnerabilidade à respiração, principalmente durante a redução do tônus muscular que ocorre no sono. A parede lateral da faringe é formada majoritariamente pelos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe.

1.3.1 Músculo palatoglosso

O palatoglosso é uma faixa delgada de músculo recoberto com túnica mucosa que forma o arco palatoglosso. Há controvérsia na literatura acerca de sua procedência. Enquanto alguns autores o consideram classicamente um músculo extrínseco da língua (Moore; Dalley; Agur, 2011; Willians, 1995), outros o têm considerado como pertencente ao palato (Fehrenbach; Herring, 1998; Martini, 2009).

O músculo palatoglosso tem origem na superfície inferior da aponeurose palatina e inserção na região posterolateral da língua (Madeira, 1997). Apesar de controvérsias, numerosos estudos concluíram que o músculo palatoglosso é inervado pelo nervo vago, e não pelo nervo hipoglosso ou glossofaríngeo. Ele eleva a região posterior da língua e puxa o palato mole em direção à língua, fechando o istmo orofaríngeo e auxiliando no início da deglutição (Anexo B).

1.3.2 Músculo palatofaríngeo

O palatofaríngeo é um músculo fino e achatado, também recoberto com túnica mucosa, formando o arco palatofaríngeo, e estende-se por todo o comprimento da faringe (Anexo C). Em um estudo de 50 cadáveres, o músculo palatofaríngeo foi subdividido em longitudinal e transversal. O palatofaríngeo longitudinal era composto de quatro fascículos: dois destes emparelhando o músculo elevador do véu palatino imediatamente após a origem na aponeurose palatina; um fascículo originado na úvula e outro, no músculo salpingofaríngeo. Os quatro fascículos unidos continuavam através do arco palatofaríngeo e se inseriam na cartilagem tireoidea e abaixo da mucosa da hipofaringe. O palatofaríngeo transversal ocupava uma localização de transição entre o músculo palatofaríngeo e constritor superior da faringe, onde se originava da aponeurose palatina e passava dorsalmente para envolver o istmo faríngeo e alcançar a rafe faríngea (Sumida; Yamashita; Kitamura, 2012). O músculo palatofaríngeo

estende o palato mole e puxa as paredes da faringe superior, anterior e medialmente durante a deglutição, promovendo o encurtamento da faringe, ação que tem um papel crítico na depuração dos resíduos alimentares retidos nos seios piriformes (Dejaeger *et al.*, 1997). O músculo palatofaríngeo também atua como esfíncter nasofaríngeo ao fechar o istmo da faringe e tem papel relevante durante a fala (Fritzell, 1969; Moon *et al.*, 1994). É inervado pelo plexo faríngeo com contribuições dos nervos glossofaríngeo e vago. Há uma contribuição menos significativa do nervo palatino menor (Shimokawa *et al.*, 2005).

1.3.3 Músculo Constrictor Superior da Faringe

O Músculo Constrictor Superior da Faringe (MCSF) forma a parte principal da parede lateral e posterior da faringe (Anexo D) e está intimamente associado ao movimento normal das vias aéreas superiores durante a fala, a deglutição e a respiração (Carlos *et al.*, 2013). Emerge do hêmulo do osso pterigoideo medial (parte pterigofaríngea), da rafe pterigomandibular (parte bucofaríngea), da mandíbula (parte milofaríngea) e da raiz da língua (parte glossofaríngea) (Sakae, 2011). Tem inervação de ramos do plexo faríngeo, derivados dos nervos cranianos glossofaríngeo e vago, e uma pequena contribuição do nervo facial (Shimokawa *et al.*, 2004). Ele está organizado em camadas funcionais de fibras, evidenciado pela inervação motora distinta, assim como pela distribuição de fibras nervosas especializadas (Mu; Sanders, 2007).

1.4 Inervação sensorial microscópica proprioceptiva da faringe humana

A inervação motora dos músculos da faringe humana, incluindo as variações regionais na sua densidade, é bem conhecida. Entretanto, os estudos sobre inervação sensorial são muito escassos e centrados nas fibras sensoriais intraepiteliais da mucosa faríngea. Em um trabalho, foi determinado que a maior parte das fibras sensitivas procede do nervo glossofaríngeo (Yoshida *et al.*, 2000).

A região orofaríngea participa de múltiplas funções que têm em sua base atividades reflexas: deglutição, sucção, respiração, fala, mastigação, náuseas e vômitos, tosse ou ronco (Miller, 2002). A maioria desses reflexos protegem a integridade tissular da cavidade oral e da língua, prevenindo a aspiração de alimento para a via aérea inferior. Os receptores sensoriais da faringe respondem a alterações táteis, pressóricas e estímulos químicos. Essa informação sensorial da faringe envia permanentemente sinais para o sistema nervoso central, controlando

a contração dos músculos constritores da faringe. As respostas reflexas simples incluem proteção da faringe e vias respiratórias altas (reflexo nauseoso, reflexo apneico e reflexo da aspiração), reflexos respiratórios e reflexos cardiovasculares. As respostas reflexas complexas incluem respiração oral, manutenção da permeabilidade faríngea, transporte e proteção da faringe (deglutição e vômito). Algumas dessas atividades têm seu ponto de partida em estiramentos e/ou alargamentos dos próprios músculos faríngeos (sensibilidade proprioceptiva); portanto, é esperado que os proprioceptores, receptores que desencadeiam esses estímulos, sejam estruturas nervosas capazes de executar a transdução de estímulos de encurtamento-estiramento muscular e convertê-los em impulsos nervosos

Na maioria dos músculos esqueléticos, as estruturas responsáveis pela função proprioceptiva são os fusos musculares. Em 1967, Bossy e Vidic questionaram a existência de fusos musculares na faringe humana, e Seto (1963), em seu livro *Estudos sobre a inervação sensorial (sensibilidade humana)*, não descreve a presença de fusos musculares nos músculos dessa região. Classicamente, admite-se que os músculos faríngeos da maioria dos mamíferos são desprovidos de fusos musculares (Kuehn; Templeton; Maynard, 1990), apesar de estes estarem presentes em outros músculos da região, tais como genioglosso, tensor do véu palatino, palatoglosso e alguns músculos da língua. Em 1978, um estudo em macacos (*Macaca irus*) demonstrou, pela primeira vez, a presença de fusos musculares no músculo constritor inferior da faringe (Sengupta; Sengupta, 1978).

Evidências sugerem que alterações na inervação sensorial proprioceptiva da faringe podem contribuir para o desenvolvimento da AOS. Acredita-se que, se os axônios motores, anatomicamente mais profundos, são afetados pela vibração, os nervos sensoriais aferentes, mais próximos à superfície, seriam também impactados. Uma variedade de técnicas revelou potencial de dano sensorial na AOS. A detecção de vibração, fluxo aéreo e temperatura pela via aérea superior está alterada em pacientes com AOS, assim como a capacidade de detectar e avaliar o grau de resistência inspiratória durante a respiração. Edema na via aérea está presente em pacientes com AOS não tratada e pode também impactar a função sensorial da via aérea (McNicholas *et al.*, 1984; Tun *et al.*, 2000; Clerk; Dunan; Guilleminault, 1994).

1.5 Imunofluorescência e microscopia confocal a laser

A maioria dos estudos sobre inervação sensorial da faringe se limita a textos de mais de 50 anos (Seto, 1963), em que se utilizavam técnicas de impregnação argêntica ou tetróxido de ósmio-yoduro de zinco para marcar os elementos nervosos. Recentemente, diversas

técnicas imuno-histoquímicas têm sido desenvolvidas para realçar especificamente tecidos nervosos e, assim, melhorar o potencial de análise das imagens.

O anticorpo primário do Produto Gênico Proteico 9.5 (PGP 9.5) é um marcador pan-axonal que marca nervos e mecanorreceptores, já descrito na literatura em trabalhos com pregas vocais de recém-nascidos (Leite *et al.*, 2016), mucosa da epiglote e da prega vestibular de humanos (Ruoppolo *et al.*, 2014), faringe humana (Carlos *et al.*, 2013), cavidade oral humana (Hilliges *et al.*, 1996; Ramieri *et al.*, 1992), ligamentos do punho de humanos (Jew *et al.*, 2003), mucosa laríngea de cavalos (Yamamoto *et al.*, 2001) e mucosa do palato duro de ratos (Mitsui *et al.*, 2000).

Marcações por imunofluorescência, com utilização de anticorpos primários seletivos para estruturas neurais, são mais eficientes que as clássicas colorações com prata e ouro por serem mais específicas. A marcação do anticorpo primário PGP 9.5 com fluoróforo conjugado Alexa flúor 488 permite o uso da Microscopia Confocal com Varredura a Laser (MCVL). Esta é uma técnica de aquisição de imagens que permite o seccionamento óptico de um espécime através da convergência do feixe de raios luminosos para um plano focal ao longo da direção axial da lente do microscópio. Ela gera um conjunto de dados que representam a distribuição de marcadores fluorescentes depositados ao longo de um objeto em estudo. Dessa forma, detalhes de finas estruturas são facilmente distinguidos e a resolução das imagens obtidas é excelente. As imagens ópticas podem ser remontadas com mínima deterioração, sendo possível reconstruir tridimensionalmente a estrutura interessada. Portanto, esse método é ideal e confiável para a avaliação morfológica e quantitativa de terminações nervosas (Leite *et al.*, 2016).

1.6 Mecanorreceptores

Os mecanorreceptores são um grupo de receptores que são estimulados por uma variedade de estímulos externos, tais como toque, alterações de pressão e vibração, desempenhando uma importante função na manutenção da homeostase intracelular (Wu *et al.*, 2009). Os mecanorreceptores estão presentes na pele e em outras partes do corpo, como articulações e superfícies mucosas, e são formados por terminações das fibras nervosas sensoriais. Algumas dessas fibras terminam em expansões encapsuladas denominadas corpúsculos, que contêm mitocôndria e vesículas (Hamann, 1995). Os mecanorreceptores são classificados em cinco tipos de acordo com sua morfologia: Merkel, Ruffini, Meissner, corpúsculos de Pacini e terminações nervosas livres (Scott; Miller Jr.; Griffin, 2000). Os quatro

primeiros corpúsculos são terminações nervosas complexas e encapsuladas, enquanto as terminações nervosas livres são estruturas não encapsuladas.

As terminações nervosas livres estão sob o epitélio e enviam projeções através da membrana basal, dentro do epitélio. Acredita-se que sejam receptores de tração rapidamente adaptáveis e receptores da fibra-C e que iniciam reflexos da tosse e da apneia. As terminações nervosas complexas têm sido frequentemente descritas com as mais variadas nomenclaturas e apresentam diversos diâmetros, podendo algumas estruturas lamelares e corpusculares chegarem a medir entre 200 e 350 micrômetros (μm). As suas funções não foram estabelecidas, entretanto, por analogia com a pele, parecem responder à pressão, ao toque e ao frio (Widdicombe, 2001).

Freeman e Wyke (1967) descreveram uma classificação para terminações articulares, dividindo-se em quatro tipos: Tipo I: possuem morfologia globulares ou corpúsculo ovoide, localização nas cápsulas fibrosas, diâmetro das fibras entre 5-8 μm (pouco mielinizadas), função principal de mecanorreceptor (baixo limiar, adaptação lenta) e são conhecidos como Ruffini, terminação de Golgi Mazzoni ou Meissner; Tipo II: possuem morfologia cilíndricas ou corpúsculos cônicos, localização nas cápsulas fibrosas, diâmetro das fibras entre 8-12 μm (intermediariamente mielinizadas), função principal de mecanorreceptor (baixo limiar, adaptação rápida) e são conhecidos como Paccini, corpos de Golgi-Mazzoni ou Meissner; Tipo III: possuem morfologia fusiformes, localização nos ligamentos e tendões, diâmetro das fibras entre 13-17 μm (muito mielinizadas), função principal de mecanorreceptor (alto limiar, adaptação muito lenta) e são conhecidos como terminações de Golgi e corpúsculo de Golgi-Mazzoni; Tipo IV: possuem morfologia de terminações nervosas livres não mielinizadas, localização variadas, diâmetro das fibras menores que dois micrômetros (não mielinizadas), função principal de receptores algícos e são conhecidos como terminações nervosas livres.

Um estudo de terminações nervosas do ligamento meniscotibial medial do joelho com imunofluorescência e microscopia confocal identificou mecanorreceptores do tipo I (Ruffini-like) e do tipo IV (terminações nervosas livres), variando desde fibras paralelas até fibras em formato enovelado. Foram encontradas, ainda, terminações nervosas não classificadas, com formatos diversos e irregulares (Alencar Neto *et al.*, 2023).

Um estudo histomorfométrico das terminações nervosas das conchas nasais inferiores de humanos por imunofluorescência e microscopia confocal a laser evidenciou terminações nervosas livres, principalmente nas camadas mais superficiais da lâmina própria, algumas bem próximas à membrana basal, que mantinham relação íntima com glândulas

seromucosas, bem como com vasos sanguíneos, sobretudo, em suas porções mais profundas, apontando para o papel que possuem na neuromodulação dos fenômenos de secreção glandular e controle vasomotor (Peixoto *et al.*, 2017).

As terminações nervosas livres também foram descritas por Ruoppolo *et al.* (2014) na mucosa da epiglote e da prega vestibular de adultos humanos. Na cavidade oral humana, já foram identificadas estruturas lamelares similares aos corpúsculos de Meissner (Hilliges *et al.*, 1996). Na mucosa gengival e palatal humana, foi possível corar o corpúsculo de Merkel (Ramieri *et al.*, 1992).

No estudo de inervação proprioceptiva em pregas vocais de recém-nascidos, observaram-se terminações nervosas livres, feixes nervosos e terminações glomerulares na mucosa da prega vocal. Nos músculos intrínsecos da laringe, foram identificadas terminações complexas glomerulares, corpúsculo tipo-Meissner e fusos musculares (Leite *et al.*, 2016).

Carlos *et al.* (2013) demonstraram, em seu estudo em cadáveres sobre inervação sensorial da faringe humana, a ocorrência de numerosos e diferentes mecanorreceptores na faringe humana, que presumivelmente detectam alterações mecânicas nas vias aéreas superiores e substituem fusos musculares na função de propriocepção, fundamental para a fisiologia das vias aéreas superiores. Entre as estruturas encontradas, é possível mencionar os corpúsculos Pacini-like, Golgi-like e Ruffini-like e uma ampla variedade de formações sensoriais sem classificação morfológica. Em todos os casos, elas foram bem diferenciadas dos tecidos vizinhos e demonstraram imunorreatividade para marcadores neuronais e células de Schwann.

Nesse mesmo estudo, também foi descrito um tipo especial de estrutura nervosa com formato em *spiral-wharves*, paralela às fibras musculares do MCSF, que eram longas, formadas por axônios recobertos por células de Schwann e isoladas por uma cápsula. Esses axônios eram imunorreativos ao anticorpo contra neurofilamento 200kDa, indicando sua origem em neurônios mecanossensitivos e proprioceptivos (Lawson; Waddell, 1991). Formações nervosas espiroideas imunorreativas à enolase neuronal específica também foram descritas por García (2012). Leite *et al.* (2016) também observaram longos feixes nervosos entrelaçados, que corriam paralelamente aos feixes musculares, entre os tecidos cartilagosos da laringe de recém-nascidos, semelhantes à formação tipo *spiral-wharves*. Acredita-se que essas estruturas, pelas suas características anatômicas, possam desempenhar uma importante função estratégica de propriocepção.

1.7 Relevância e justificativa

Nos últimos anos, tornou-se evidente que a variação morfológica e quantitativa das estruturas nervosas sensitivas é específica a cada órgão e a cada espécie animal, portanto são necessários estudos individualizados para as diferentes regiões do organismo humano. Há uma escassez na literatura de trabalhos sobre a inervação sensorial da faringe humana. Nesse sentido, o estudo descritivo das terminações nervosas da faringe é fundamental porque respostas sensoriais anormais têm sido encontradas em algumas condições patológicas como na via aérea superior de pacientes com AOS (Guilleminault, 2005), doença com elevada morbimortalidade cardiovascular e grande impacto para a saúde pública e que ainda apresenta fisiopatologia incerta.

O estudo da inervação proprioceptiva faríngea é fundamental para a hipótese neurogênica da AOS, colaborando, de forma significativa, para os conhecimentos vigentes acerca de sua complexa fisiopatologia e influenciando o prognóstico da doença, o desenvolvimento de técnicas cirúrgicas e a seleção da modalidade terapêutica adequada para cada indivíduo.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Comparar a morfologia e a distribuição das terminações nervosas da faringe de adultos com e sem AOS;

2.2 Específicos

- Descrever as terminações nervosas dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe em pacientes adultos com inervação sensorial normal e sem AOS;
- Descrever as terminações nervosas dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe em pacientes com AOS;
- Avaliar a anatomia microscópica da parede lateral da faringe em pacientes com e sem AOS através de coloração com hematoxilina-eosina;
- Calcular a densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF em pacientes com e sem AOS;
- Comparar os resultados qualitativos e quantitativos da inervação sensorial proprioceptiva faríngea entre pacientes com e sem AOS;
- Estabelecer uma correlação entre os valores de densidade nervosa dos músculos da parede lateral da faringe e indicadores polissonográficos de gravidade da doença;
- Avaliar a aplicabilidade da técnica de imunofluorescência com uso do PGP 9.5 e microscopia confocal de varredura a laser no estudo da inervação da faringe em humanos.

3 CASUÍSTICA E MÉTODO

A pesquisa foi desenvolvida pelo programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC), com a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará/PROPESQ-UFC, conforme pareceres números 1.645.613 e 3.753.125 (Apêndices A e B).

Trata-se de um estudo do tipo caso-controle prospectivo, envolvendo a pesquisa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF, obtidos de um grupo Controle com seis pacientes adultos não apneicos e com função sensorial normal, submetidos à tonsilectomia das palatinas, e um grupo Caso com sete pacientes adultos apneicos com indicação cirúrgica prévia de faringoplastia para tratamento da AOS. Cada paciente assinou o termo de consentimento, constando todos os procedimentos envolvidos na pesquisa, desde a obtenção do material até a divulgação dos resultados, os objetivos do estudo e os riscos experimentais.

3.1 Avaliação clínica e triagem dos pacientes

3.1.1 Grupo Controle

Para a pesquisa do grupo Controle, foram analisados cinco indivíduos do sexo feminino e um indivíduo do sexo masculino com idades variando entre 22 e 35 anos. A triagem foi realizada no ambulatório de Otorrinolaringologia do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), dentre os pacientes que já tinham indicação cirúrgica prévia de tonsilectomia das palatinas para tratamento de tonsilite crônica ou tonsilite de repetição, durante a consulta pré-operatória, a partir da realização de exame físico para avaliação de sensibilidade faríngea e aplicação dos questionários STOP-BANG e Berlim. A confirmação da ausência de AOS foi realizada por intermédio do exame de Tonometria Arterial Periférica (TAP) durante o sono com o dispositivo portátil Watch-PAT-200® (Itamar Medical Ltda., Caesarea, Israel) em uma data distinta da consulta.

A presunção de sensibilidade faríngea normal ocorreu durante a orofaringoscopia do exame físico otorrinolaringológico, considerada positiva na presença de contração e/ou reflexo nauseoso ao toque dos pilares tonsilares anterior e posterior e da parede posterior da orofaringe com abaixador de língua (Figura 1).

Figura 1 – Toque do pilar tonsilar anterior (A) com abaixador de língua durante teste de sensibilidade faríngea; B, pilar tonsilar posterior; C, parede posterior da orofaringe; T, tonsila palatina



Fonte: elaborada pelo autor.

No questionário STOP-BANG (acrônimo em inglês para *Snoring, Tiredness, Observed apnea, high blood Pressure, Body mass index, Age, Neck circumference, and Gender*), algumas perguntas simples eram feitas sobre o ronco: se era alto a ponto de ser ouvido além de uma porta, por exemplo; se a pessoa ficava cansada ou dormia ao longo do dia; se tinha pressão arterial elevada; sobre índice de massa corpórea acima de 35 kg/m^2 ; se tinha idade acima dos 50 anos; se a circunferência do pescoço estava acima dos 40cm e se era do sexo masculino. Menos do que três respostas positivas indicavam que a pessoa tinha baixo risco de ser portador de AOS, enquanto três ou mais indicavam alto risco (Chung *et al.*, 2012) (Anexo E).

O risco de AOS também foi avaliado através do Questionário de Berlim (Netzer *et al.*, 1999). Os pacientes foram divididos em alto e baixo risco de AOS, com base nas respostas de perguntas de sintomas agrupadas em três categorias. Um paciente era considerado de alto risco para AOS se dois dos três seguintes critérios fossem observados: 1) ronco com duas das seguintes características: mais alto do que a fala, pelo menos 3 a 4 vezes por semana, reclamações de outros sobre o ronco, pausas respiratórias testemunhadas pelo menos 3 a 4 vezes

por semana; 2) fadiga no início da manhã e durante o dia, mais de 3 a 4 vezes por semana ou adormecer ao volante; e 3) presença de hipertensão ou obesidade (Anexo F).

Os pacientes com baixo risco de AOS constatados nos questionários STOP-BANG e Berlim foram submetidos ao exame de sono com o equipamento Watch-PAT, que inclui a Tonometria Arterial Periférica (TAP), oximetria de pulso, actigrafia, sensores de ronco e posição, e frequência de pulso. O Watch-PAT consiste em um dispositivo colocado no pulso da mão não dominante do paciente, conectado a um sensor posicionado no dedo indicador do mesmo lado do paciente (*probe*). Os sensores de ronco e posição são fixados com adesivos na fúrcula esternal e no tórax, e o oxímetro é colocado no dedo anelar também da mão não dominante do paciente, de acordo com o modelo apresentado na figura cedida pela Itamar Ltda (Figura 2).

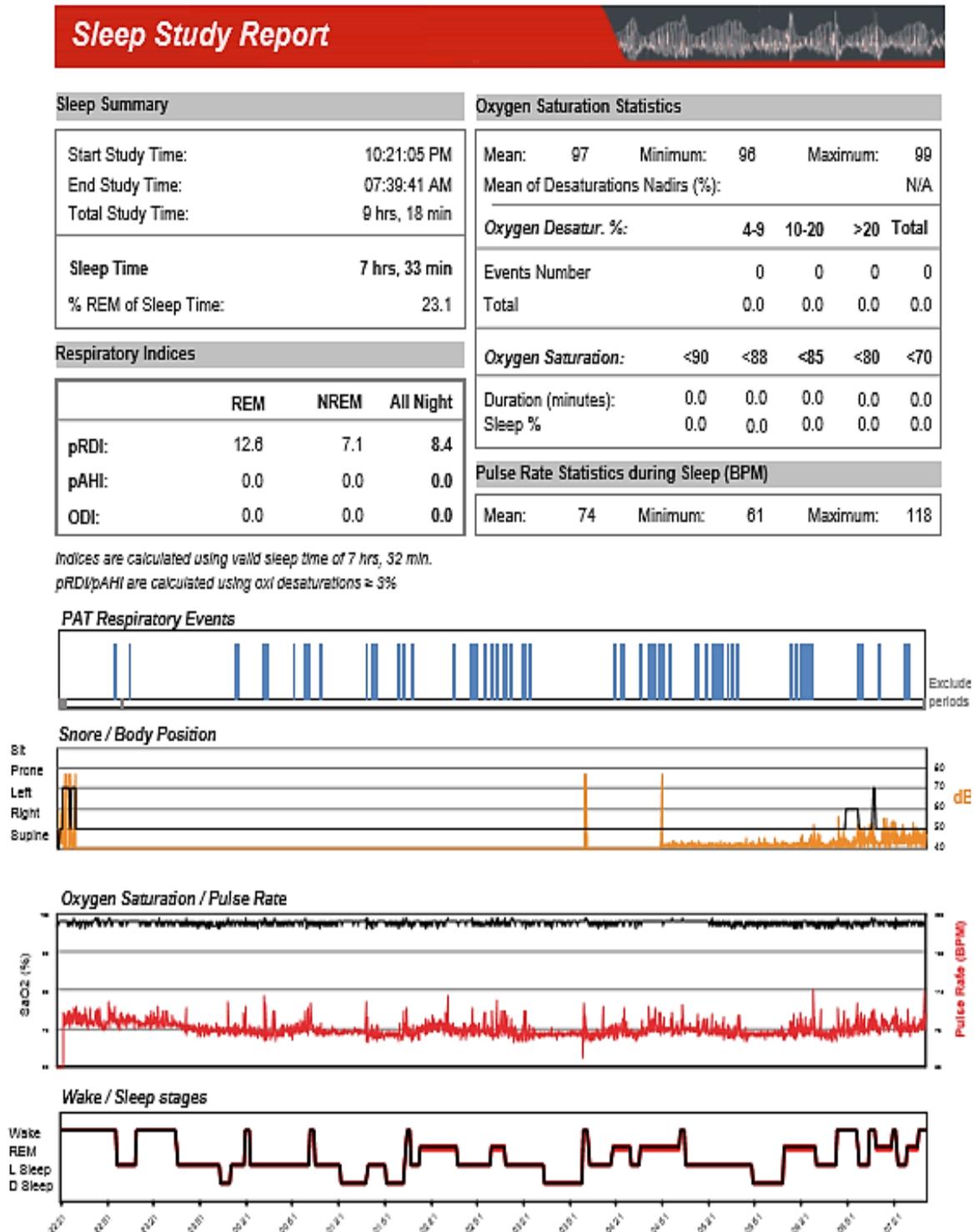
Figura 2 – Registro de Tonometria Arterial Periférica com Watch-PAT



Fonte: cedida por Itamar Medical.

O *software* específico do aparelho (*zzzPATR*) faz a leitura do exame. O algoritmo do *zzzPATR* é baseado em 14 características extraídas de duas séries da amplitude da Tonometria Arterial Periférica e dos períodos interpulso (PIP). Esses dados, associados à actigrafia, permitem o estadiamento do sono em vigília, sono leve, sono profundo e sono REM (Pinto *et al.*, 2015) (Figura 3).

Figura 3 – Relatório principal emitido pelo Watch-PAT

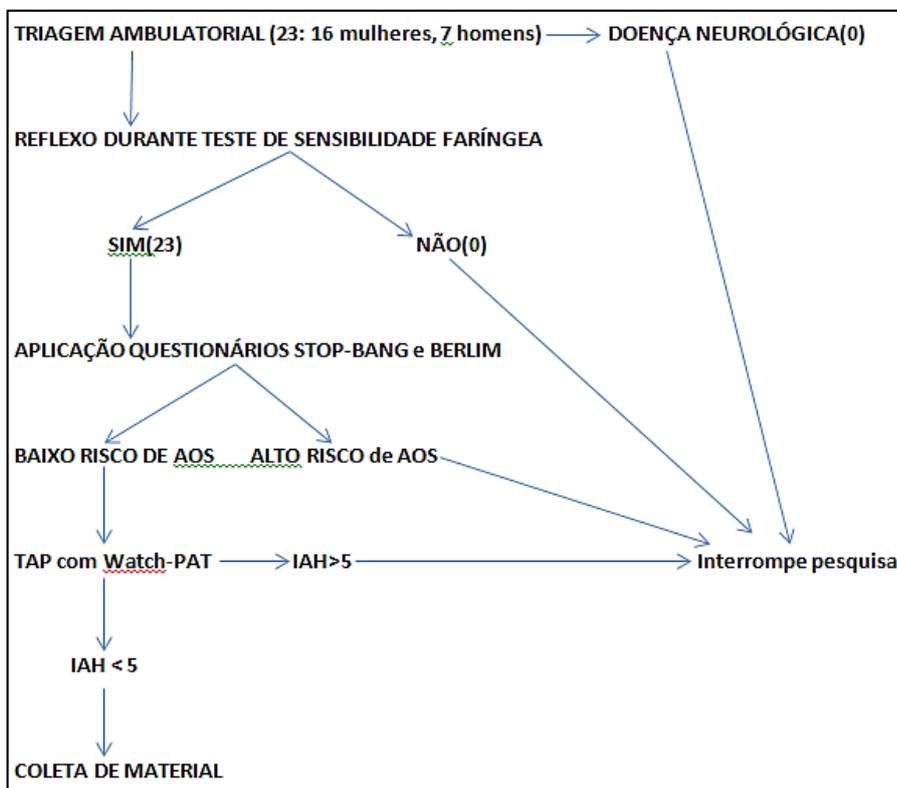


Fonte: elaborada pelo autor.

Foram incluídos na pesquisa pacientes entre 18 e 65 anos, presença de reflexo durante o teste de sensibilidade faríngea, questionários STOP-BANG e Berlim indicativos de baixo risco de AOS e IAH < 5 no registro da TAP com Watch-PAT. Foram excluídos pacientes com doença neurológica e história de AVC (Figura 4). Ademais, foi devidamente enfatizado ao

paciente que os procedimentos seriam realizados apenas para fins científicos conforme Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice C).

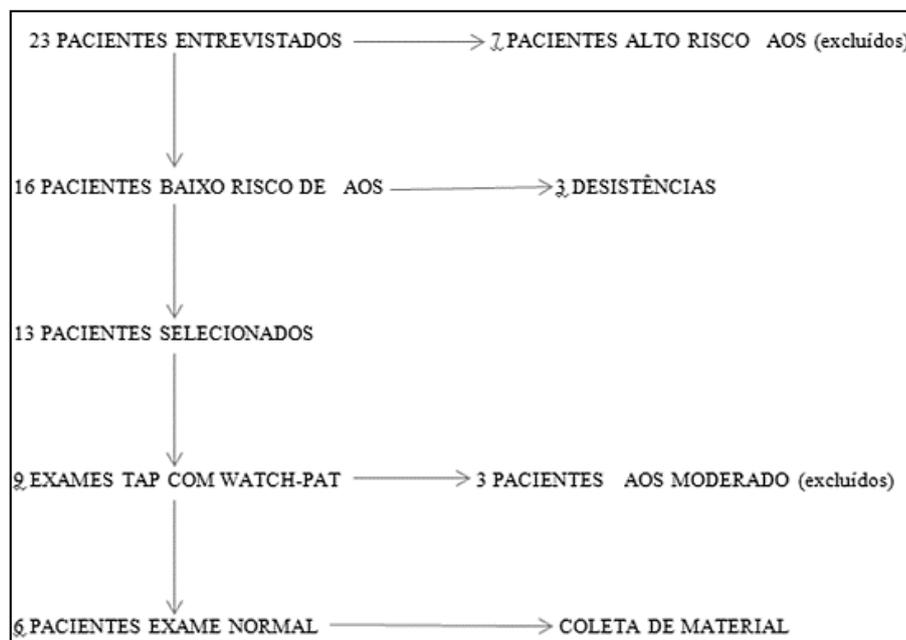
Figura 4 – Fluxograma de triagem dos pacientes



Fonte: elaborada pelo autor.

Os questionários STOP-BANG e Berlim foram aplicados em 23 pacientes durante a consulta pré-operatória. Destes, sete foram excluídos da pesquisa em virtude do alto risco de AOS. Dentre os 16 pacientes restantes com baixo risco de AOS, três desistiram de participar das etapas seguintes da pesquisa. Treze pacientes foram então selecionados, dentre os quais nove realizaram o exame de TAP com Watch-PAT. Cinco pacientes realizaram o exame no hospital durante o internamento um dia antes da cirurgia, enquanto os outros quatro realizaram-no em seus próprios domicílios. Três pacientes foram excluídos após a constatação de AOS moderado pelo dispositivo (IAH: 16,1; 19,6; 28,5). Finalmente, os seis pacientes que apresentaram ausência de AOS pelo exame (IAH < 5) foram selecionados para a coleta do material (Figura 5).

Figura 5 – Triagem dos pacientes



Fonte: elaborada pelo autor.

3.1.2 Grupo Caso

Para a pesquisa do grupo Caso, foram analisados indivíduos do sexo masculino exclusivamente, entre 18 e 41 anos, portadores de AOS, diagnosticados por polissonografia, IMC < 35 Kg/m², e indicação prévia de cirurgia faríngea para tratamento do distúrbio respiratório obstrutivo do sono. Foram excluídos indivíduos com doenças neuromusculares, deformidades maxilomandibulares e hipotireoidismo não tratado ou com tratamento iniciado há menos de um ano da proposta terapêutica, indivíduos em uso de medicações com ação no sistema nervoso central e pacientes que realizaram cirurgias orofaríngeas prévias. Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice D).

A avaliação clínica foi realizada em consulta pré-operatória com aplicação do instrumento de coleta de dados (Apêndice E), contendo os seguintes dados: escala de sonolência de Epworth e escalas gradativas de 1 (irrelevante) a 10 (severamente afetado) para avaliar as seguintes variáveis: ronco, cefaleia matinal e impacto geral na qualidade de vida. Foram documentados os parâmetros de polissonografia. No exame físico, foram graduados a posição do palato e o tamanho das tonsilas palatinas de acordo com a classificação proposta (Friedman; Ibrahim; Joseph, 2004) e foi realizado o cálculo de Índice de Massa Corporal (IMC) (massa do indivíduo dividido pelo quadrado de sua altura em kg/m²).

Para analisar a escala de sonolência de Epworth, foi aplicado um questionário que avalia a probabilidade de o indivíduo cochilar ou dormir através de uma escala gradativa de 0 a 3 (0 = nunca cochilar; 1 = pequena probabilidade de cochilar; 2 = probabilidade média de cochilar; 3 = grande probabilidade de cochilar) em oito situações diferentes envolvendo atividades cotidianas: 1) sentado e lendo; 2) assistindo à TV; 3) sentado, quieto, em um lugar público (por exemplo, em um teatro, uma reunião ou uma palestra); 4) andando de carro por uma hora sem parar como passageiro; 5) ao deitar-se à tarde para descansar, quando possível; 6) sentado conversando com alguém; 7) sentado quieto após o almoço sem ingerir álcool; 8) em um carro parado no trânsito por alguns minutos. Uma pontuação acima de 10 pontos foi considerada indicativa de sonolência diurna (Johns, 1991) (Anexo G).

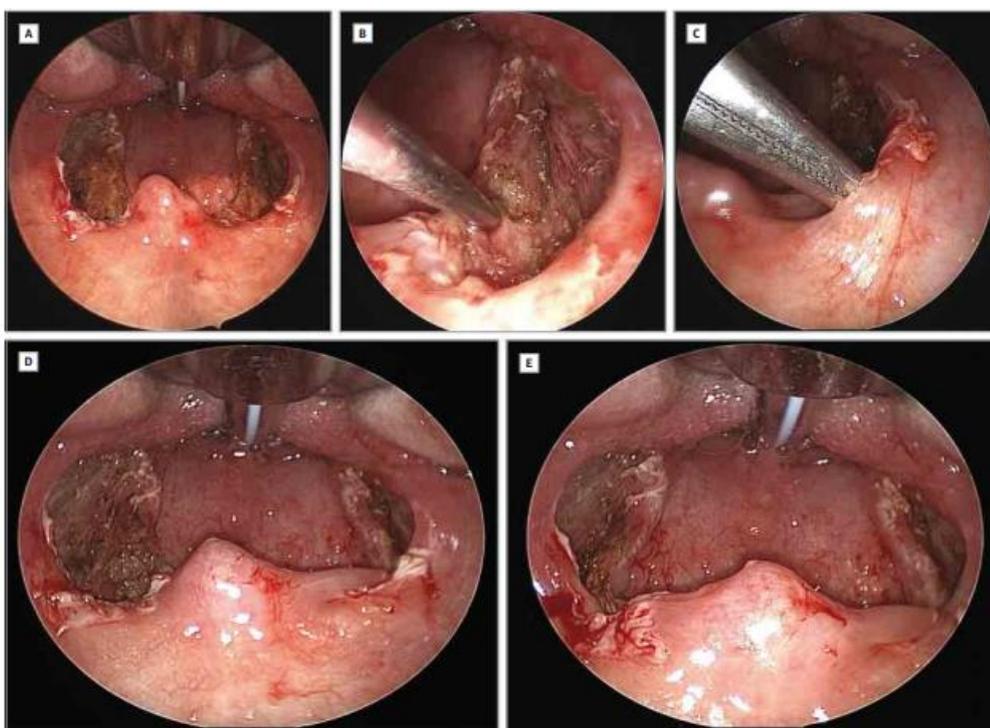
Todos os indivíduos do grupo Caso foram submetidos à polissonografia no período pré-operatório. Cinco desses pacientes realizaram polissonografia durante a noite inteira tipo 1, e dois realizaram polissonografia domiciliar tipo 3. Foram utilizadas as mais recentes definições recomendadas de apneias e hipopneias da Academia Americana de Medicina do Sono. Os exames foram analisados por médicos treinados em leitura de polissonografia. As variáveis avaliadas incluíram: IAH, média e menor saturação da oxiemoglobina, o tempo total de sono com saturação abaixo de 90%, e o percentual do sono nos estágios N3 e REM (polissonografia tipo 1).

3.2 Obtenção das amostras

As amostras dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF do grupo Controle foram obtidas durante procedimento de tonsilectomia das palatinas convencional, previamente indicado no serviço de Otorrinolaringologia do HUWC. Foi realizada dissecação extracapsular das tonsilas palatinas bilateralmente com pinças frias e cauterização com cautério bipolar para hemostasia das lojas tonsilares.

Todos os pacientes do grupo Caso foram submetidos ao procedimento cirúrgico de faringoplastia expansora modificada para tratamento de AOS (Ulualp, 2014), realizado em um hospital estadual do SUS e em dois hospitais da rede privada. Nessa modalidade terapêutica, realiza-se inicialmente a tonsilectomia bilateral; o músculo palatofaríngeo é identificado e seus fascículos anteriores são seccionados horizontalmente na junção entre o terço superior e o terço médio; as fibras superficiais do terço superior do músculo palatofaríngeo são dissecadas, mantendo-se sua superfície posterior parcialmente presa ao MCSF; um túnel palatal é então criado, estendendo-se superolateralmente a partir das fibras arqueadas do músculo palatoglosso em direção ao palato mole; a porção isolada do músculo palatofaríngeo é então rotacionada em sentido superior, anterior e lateral para dentro do túnel palatal enquanto a tensão da parede lateral é observada; então, a porção isolada do músculo palatofaríngeo é ligada às fibras musculares arqueadas do palato mole através de sutura com vycril, Os mesmos passos são repetidos no lado contralateral (Figura 6).

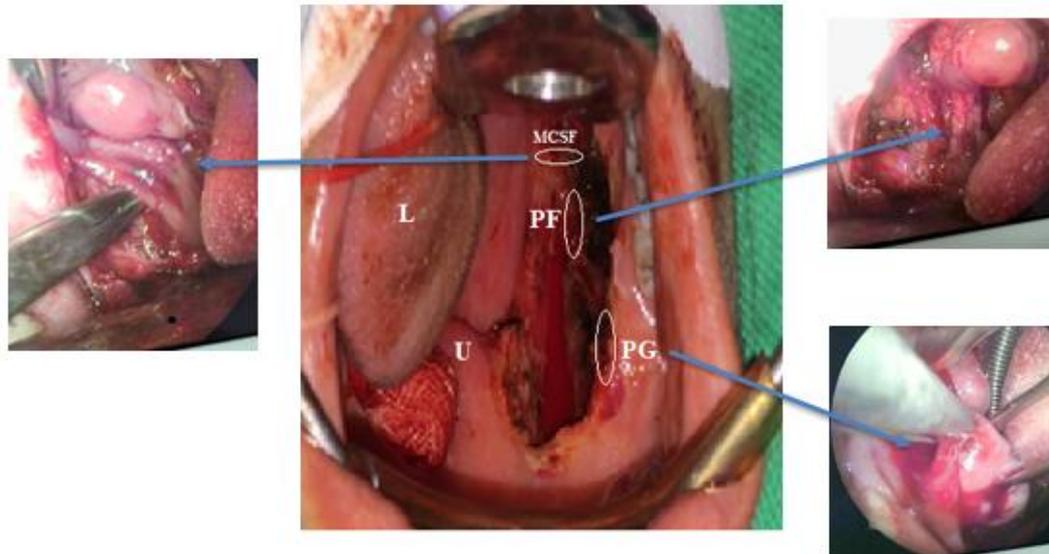
Figura 6 – Etapas da técnica de faringoplastia expansora modificada: Tonsilectomia (A). Incisão horizontal para dividir os fascículos anteriores do músculo palatofaríngeo (B). Túnel palatal criado, estendendo-se superolateralmente das fibras arqueadas do músculo palatoglosso em direção ao palato mole (C). A porção isolada do músculo palatofaríngeo é unida às fibras arqueadas do palato mole (D). Visão final demonstrando a tensão criada e aumento do espaço entre as paredes laterais da faringe (E)



Fonte: Ulualp (2014).

Os procedimentos cirúrgicos nos dois grupos foram realizados sob anestesia geral, com intubação orotraqueal, em decúbito dorsal horizontal com hiperextensão cervical (posição de *Rose*). Os espécimes foram obtidos no intraoperatório e consistiram de fragmentos de aproximadamente 1cm de comprimento e 0,3cm de largura e espessura. A retirada das amostras foi um procedimento adicional à cirurgia previamente indicada, com padronização do local da coleta das amostras dos três músculos em todos os indivíduos, optando-se pelo lado direito dos pacientes, em virtude da maior facilidade da técnica para o cirurgião dextro. Todos os procedimentos foram realizados pelo mesmo cirurgião, e não houve intercorrências cirúrgicas (Figura 7).

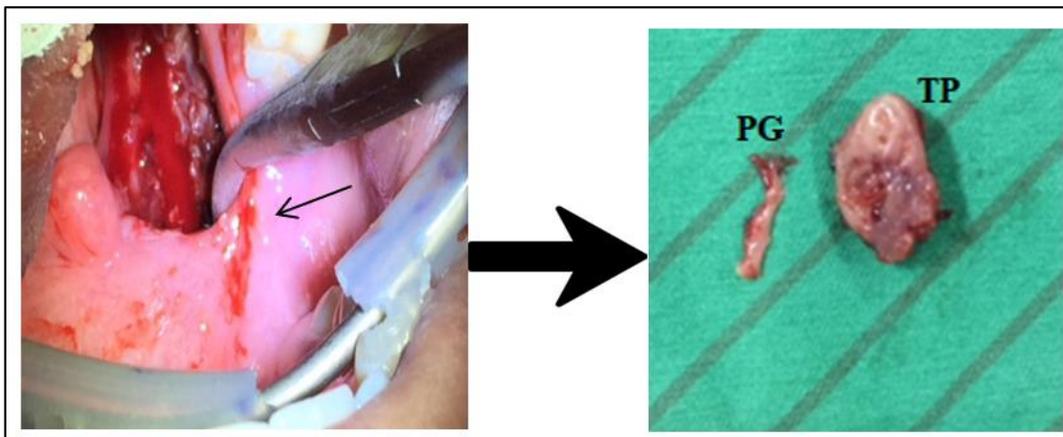
Figura 7 – Visão do cirurgião durante procedimento cirúrgico e ressecção das amostras dos três músculos. PG, Palatoglosso; PF, Palatofaríngeo; MCSF, Músculo Constritor Superior da Faringe; U, úvula; L, língua



Fonte: elaborada pelo autor.

Após a dissecação da tonsila direita, um pequeno fragmento da porção cranial do músculo palatoglosso era obtido após incisão longitudinal do arco palatoglosso, superiormente (Figura 8), repetindo-se o mesmo procedimento no arco palatofaríngeo, inferiormente, representado pelo músculo palatofaríngeo em sua porção caudal. Próxima a essa incisão, uma terceira amostra era obtida após ressecção transversal da parede posterior da orofaringe, permitindo, assim, a obtenção do MCSF. A hemostasia com eletrocautério bipolar era realizada somente após a etapa de coleta para evitar dano estrutural aos músculos.

Figura 8 – Obtenção da amostra relativa ao músculo palatoglosso no grupo Controle. Local de ressecção da amostra (seta); PG, fragmento do músculo palatoglosso (3mm x 10mm); TP, tonsila palatina



Fonte: elaborada pelo autor.

Foram, então, obtidos 18 espécimes da faringe do grupo Controle, seis oriundos do músculo palatoglosso, seis, do músculo palatofaríngeo e seis, do MCSF; enquanto no grupo Caso foram obtidos 21 espécimes, sendo sete oriundos de cada músculo. Realizava-se a marcação com fio Nylon® para identificar a parte superior das peças. Todos os espécimes foram protocolados, com dados de identificação do paciente, sob guarda do Laboratório de Cirurgia Experimental da UFC.

3.3 Preparo da amostra

As amostras eram colocadas em recipientes com solução de paraformaldeído a 4%, onde permaneciam por 48 a 72 horas sob refrigeração. Em seguida, as peças eram transferidas para recipientes com solução de sucrose a 20% e acondicionadas em *freezer* a -70°C até serem cortadas e coradas.

3.4 Preparo dos cortes para imunofluorescência

As amostras eram posicionadas com suas porções superiores voltadas para cima e porções mediais voltadas para a direita, sendo, então, tomadas as suas medidas: altura e comprimento relativos a seus maiores eixos (Figura 9).

Figura 9 – Medição da amostra



Fonte: elaborada pelo autor.

Em seguida, elas eram pesadas em balança de precisão (Figura 10).

Figura 10 – Pesagem da amostra



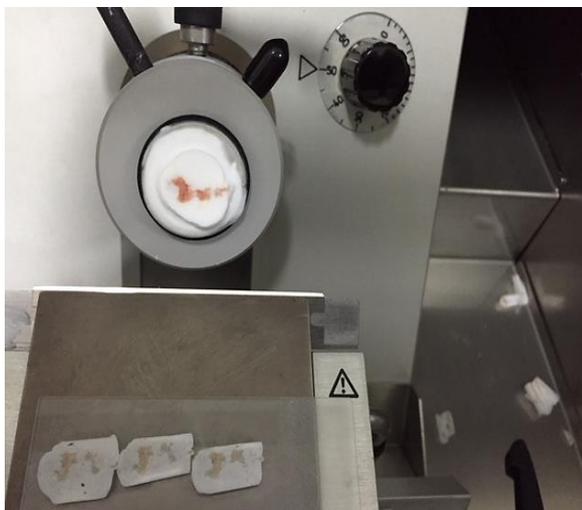
Fonte: elaborada pelo autor.

A peça era, então, ajustada na base do criostato, com sua face superior alinhada ao marco de referência e fixada com Jung Tissue Freezing Medium® (Leica Microsystems, Nussloch, Germany), assegurando-se a correta identificação das regiões da peça na lâmina (Figura 11).

Realizaram-se cortes longitudinais nas amostras relativas aos músculos palatoglosso e palatofaríngeo e cortes transversais nas amostras do MCSF com espessura de

50 μ m, em criostato Leica® modelo CM1850 (LeicaMicrosystems, Nussloch, Germany), à temperatura de -18 a -20°C.

Figura 11 – Secção da peça no criostato



Fonte: elaborada pelo autor.

3.5 Coloração com Hematoxilina-Eosina

Os cortes das amostras foram colocados em lâminas Immunoslides® (Easypath®, São Paulo, SP). Foi confeccionada imediatamente após o corte de cada amostra uma lâmina corada com hematoxilina de Harris (Laborclin®, Pinhais, PR) e com eosina amarelada (Inlab®, Diadema, SP) para avaliar a preservação e a integridade dos tecidos e para servir de referência nos estudos histomorfométricos. O restante das lâminas foi arquivado em caixa própria, em congelador à temperatura -70°C até o momento da coloração.

3.6 Imunofluorescência

A preparação das lâminas seguiu o método de imunofluorescência com anticorpo primário PGP 9,5 e anticorpo secundário Alexa flúor 488, descrito por JEW e colaboradores (Jew *et al.*, 2003). As secções foram lavadas quatro vezes por 15 minutos com solução fria de tampão fosfato-salino a 0,1 mol (0,1M TFS, Laborclin®, Pinhais, PR) contendo 3% de Triton X-100 (TX-100, Inlab®, Diadema, SP), seguidas de incubação por duas horas na temperatura ambiente, com solução de bloqueio contendo 4% de soro normal de cabra (Jackson Immuno Research Inc., West Grove, PA), 0,25% de albumina sérica bovina (Inlab®, Diadema, SP), 2% de TX-100 e 0,1M TFS.

Os tecidos foram lavados por 15 minutos, quatro vezes com 0,1M TFS gelado e incubado com anticorpo primário por 18 a 20 horas a 4° C. O anticorpo primário foi o PGP 9,5 (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL), diluído em 1:200 em solução consistindo de 0,5% TX-100 em 0,1M TFS. Em seguida, foi lavado quatro vezes por 15 minutos em 0,1M TFS e, então, incubado no escuro por duas horas na temperatura ambiente com o segundo anticorpo marcador fluorescente Alexa Flúor 488 – IgG (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL), diluído em 1:200 com os diluentes do anticorpo primário. As lâminas foram protegidas da luz, e foi realizada uma série de lavagens: duas vezes por 15 minutos com 0,1M TFS frio, uma vez por 20 minutos com 0,05M TFS frio e uma vez com água destilada (Figura 12). As lâminas foram cobertas com lamínulas, colocadas em estojos e estocadas em refrigerador a -70° C.

Figura 12 – Etapa de lavagens durante imunofluorescência



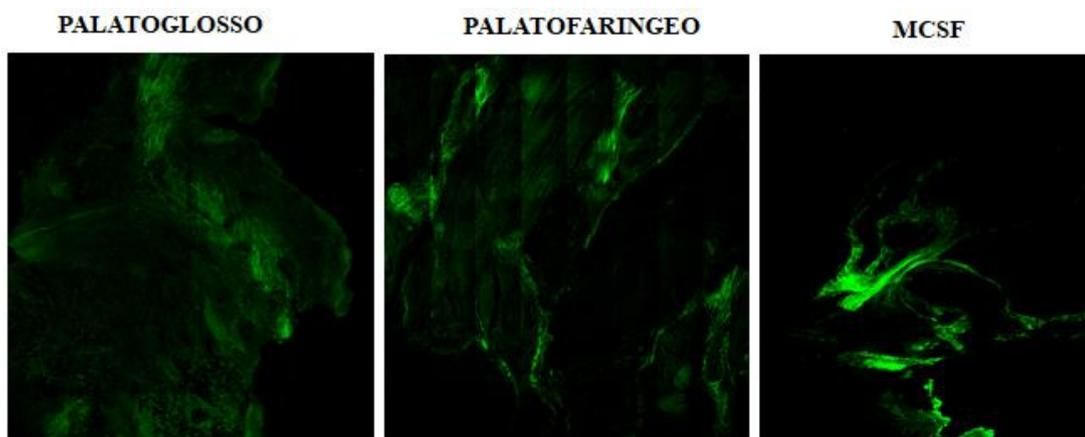
Fonte: elaborada pelo autor.

3.7 Análise histomorfométrica

Avaliaram-se nove cortes de cada peça dos seis indivíduos do grupo Controle e sete do grupo Caso. As secções preparadas com imunofluorescência foram examinadas com microscópio confocal a laser equipado com epifluorescência (modelo LSM 710, Carl Zeiss Inc., Jena, Alemanha). As secções foram vistas com epifluorescência, usando um filtro de excitação (492-630nm) para emissão de feixe (520-525nm) Dualexis-flúor 488. Cada corte foi examinado no aumento de 100 vezes para avaliar a orientação dos tecidos e mapear as estruturas de interesse. Quando identificadas, foram utilizados aumentos de 200 vezes e 400 vezes para ver maiores detalhes. As estruturas identificadas nas lâminas estudadas de cada indivíduo foram fotografadas e suas dimensões, conformações e localização relativa foram avaliadas.

Foram, então, obtidas quatro imagens panorâmicas de secções selecionadas de cada músculo estudado. Escolheram-se os cortes com menor número de artefatos e melhor fluorescência, e procedeu-se à aquisição de imagem com o método de mosaico e tridimensional (Figura 13).

Figura 13 – Imagem tridimensional em mosaico representativa das amostras dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe (MCSF)

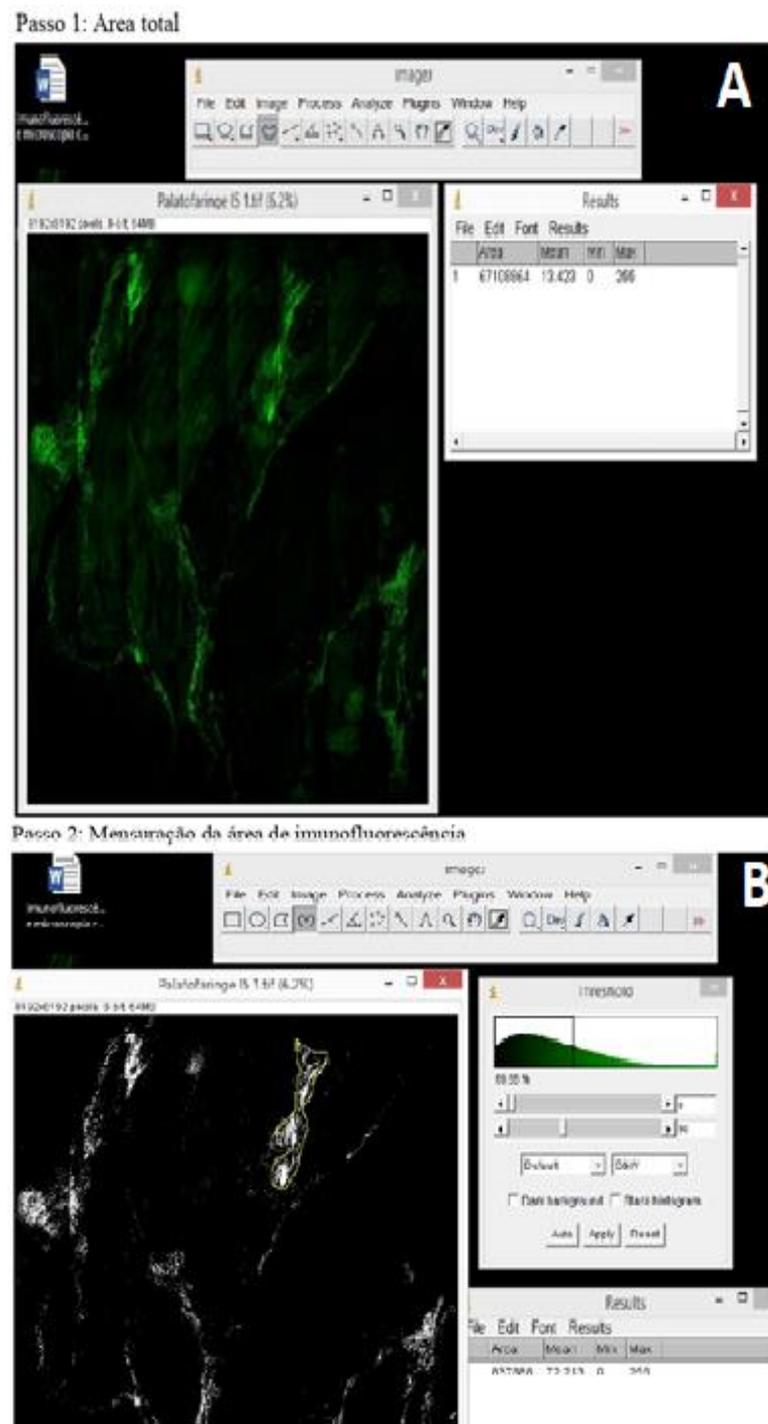


Objetiva com aumento de 40x.

Fonte: elaborada pelo autor.

A imunofluorescência foi realizada também com a finalidade de obter dados quantitativos da marcação de anticorpo PGP 9.5 nas amostras (Ahmed *et al.*, 2007). Para análise qualitativa, as micrografias foram feitas delimitando as áreas de interesse. A quantificação da marcação nas fotomicrografias foi analisada pela obtenção de densidade e pela marcação de histogramas (pixels) em razão da área total, sendo expressa em termos percentuais (Figura 14). A intensidade de imunofluorescência para PGP 9.5 nos espécimes foi mensurada por meio do ImageJ (NIH, Bethesda, EUA). Dessa forma, calculou-se a média da densidade através da porcentagem da área imunomarcada das fibras nervosas dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF dentre as imagens panorâmicas selecionadas previamente.

Figura 14 – Figura representativa do processo de medição da densidade nervosa do músculo palatofaríngeo. Passo 1 - Imagem panorâmica captada com microscópio confocal (Área total) (A). Passo 2 - Delimitação da região a ser calculada a densidade das fibras nervosas (Mensuração da área de imunofluorescência) (B)



Fonte: elaborada pelo autor.

A partir do cálculo da densidade nervosa dos músculos nos dois grupos, foi realizada a comparação de cada músculo entre o grupo Controle e o grupo Caso. Além disso, procurou-se estabelecer uma correlação dos valores da densidade nervosa dos músculos estudados com idade e indicadores polissonográficos de gravidade, tais como IAH, nadir de saturação da oxiemoglobina e tempo total de sono com saturação de oxiemoglobina abaixo de 90% (TTS 90).

3.8 Análise estatística

Os dados quantitativos foram expressos em média±desvio padrão (dp). Foram verificadas as distribuições dos dados utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. Dados de parâmetros com $p < 0.05$ para o teste de Shapiro-Wilk foram considerados com distribuição não paramétrica. Foi também realizado o teste T seguido do teste de Wilcoxon para os dados não paramétricos. Utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste Dunn's para comparações múltiplas no grupo Controle.

Os grupos Controle e Caso foram associados utilizando-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Os dados qualitativos (ex. sexo) foram descritos em número absoluto (n) e porcentagem (%). O teste de correlação de Spearman foi utilizado para a obtenção dos valores de p-valor e r, que demonstra a influência de cada variável quantitativa sobre outra na população avaliada, buscando demonstrar se são reguladas concomitantemente.

Para estabelecer o grau de correlação entre as variáveis, foi utilizada a seguinte graduação: 0,9 para mais ou para menos indica uma correlação muito forte; 0,7 a 0,9 positivo ou negativo indica uma correlação forte; 0,5 a 0,7 positivo ou negativo indica uma correlação moderada; 0,3 a 0,5 positivo ou negativo indica uma correlação fraca; 0 a 0,3 positivo ou negativo indica uma correlação desprezível.

As análises foram efetuadas com recurso do *software* SPSS para Windows (versão 20.0), e os gráficos foram desenvolvidos com os recursos do *software* GraphPad Prism (versão 8.0). Para todas as análises, foi considerado estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

Seis indivíduos foram selecionados para o estudo do grupo Controle após os procedimentos de exclusão, compondo a amostra da seguinte forma: cinco indivíduos do sexo feminino e um do sexo masculino com idades variando entre 22 e 35 anos. O exame de Tonometria Arterial Periférica (TAP) por Watch-PAT dos seis indivíduos que participaram da pesquisa registrou valores de Índice de Apneia e Hipopneia (IAH) que oscilaram entre 0 e 2,1/hora (Apêndice F). Em relação ao grupo Caso, foram selecionados sete indivíduos do sexo masculino com idades variando entre 18 e 41 anos e registros polissonográficos de IAH entre 7,8 e 76,4 (Apêndice G).

O grupo de indivíduos portadores de AOS apresentou idade mais elevada, porém sem significância estatística ($p=1,000$). O grupo de pacientes portadores de AOS apresentou um IMC mais elevado que os não apneicos ($p=0,014$). Os dados polissonográficos evidenciaram diferença estatisticamente significativa em todos os parâmetros avaliados entre os grupos de apneicos e não apneicos. As características antropométricas, clínicas e polissonográficas dos pacientes dos dois grupos estudados estão descritos na Tabela 1, e as representações gráficas desses dados na Figura 15. Os demais gráficos comparativos entre os dois grupos foram registrados no Apêndice H.

Tabela 1 – Comparação das médias de dados antropométricos, clínicos e polissonográficos entre os dois grupos de pacientes

DADOS	GRUPOS		p**
	SEM AOS*	COM AOS*	
Idade (anos)	29,83±6,43	30,71±7,63	1,000
IMC (Kg/m ²)	26,17±1,47	30,57±3,41	0,014
Sexo (M/F)	1/5	7/0	
IAH (eventos/hora)	0,72±0,96	37,51±21,15	0,001
Nadir O ₂ (%)	94±1,79	77,14±14,26	0,002
O (TTS 90) min	0±0	18,95±23,84	0,015

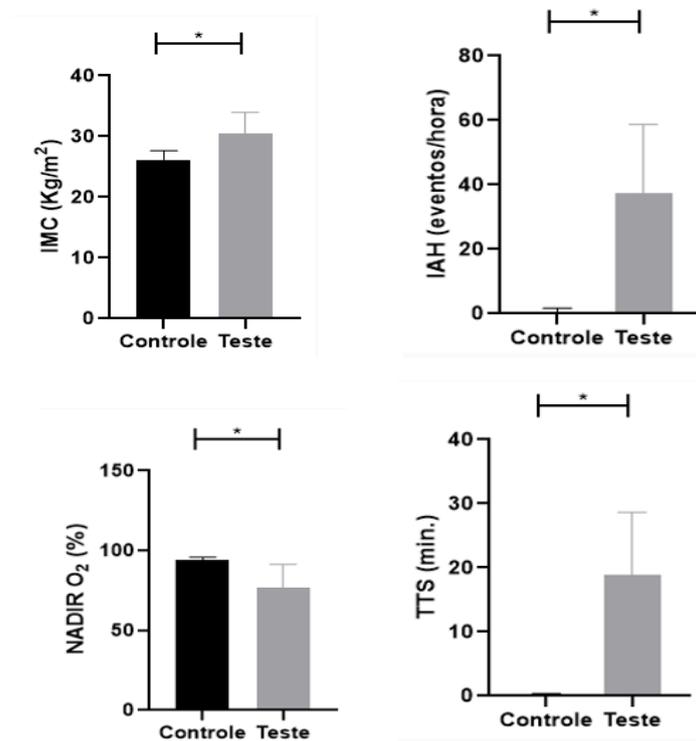
IMC = Índice De Massa Corpórea; IAH = Índice De Apneia-Hipopneia; Nadir O₂ = saturação mínima de oxiemoglobina; O (TTS 90) = tempo de oxigenação abaixo de 90% em minutos

*valor correspondente à média e ao desvio padrão

**teste *Mann-Whitney*

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 15 – Representações gráficas dos dados antropométricos, clínicos e polissonográficos nos grupos de pacientes sem e com AOS



Fonte: elaborada pelo autor.

Os dados morfológicos gerais das peças anatômicas estudadas foram descritos nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 – Dados morfológicos gerais dos espécimes avaliados no grupo Controle

DADOS	Ind 1	Ind 2*	Ind 3	Ind 4	Ind 5	Ind 6	Média ± DP
Peso PTG	0,21g	0,70g	0,56g	0,57g	0,74g	0,77g	0,59 ± 0,19
Largura PTG	1,3cm	1,2cm	0,9cm	1,0cm	0,8cm	0,9cm	1,02 ± 0,18
Comprimento PTG	0,8cm	0,6cm	0,8cm	0,7cm	0,7cm	0,6cm	0,7 ± 0,08
Peso PTF	0,20g		0,79g	0,75g	0,72g	0,77g	0,65 ± 0,22
Largura PTF	1,3cm		1,2cm	1,0cm	0,9cm	0,6cm	1 ± 0,24
Comprimento PTF	0,7cm		0,6cm	0,7cm	0,9cm	0,6cm	0,7 ± 0,11
Peso MCSF	0,23g	0,10g	0,79g	0,56g	0,64g	0,63g	0,49 ± 0,24
Largura MCSF	1,0cm	1,0cm	0,6cm	0,8cm	1,0cm	1,0cm	0,9 ± 0,15
Comprimento MCSF	0,5cm	0,5cm	0,4cm	0,7cm	0,3cm	0,5cm	0,48 ± 0,12

Ind, indivíduo; PTG, palatoglossos; PTF, palatofaríngeo; MCSF, músculo constritor superior da faringe; DP, desvio padrão.

Ind 2*: a peça relativa ao músculo palatofaríngeo do indivíduo 2 foi considerada inviável.

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 3 – Dados morfológicos gerais dos espécimes avaliados no grupo Caso

DADOS	Ind 1	Ind 2	Ind 3	Ind 4	Ind 5	Ind 6	Ind 7	Média± DP
Peso PTG	0,051g	0,058g	0,076g	0,042g	0,063g	0,045g	0,056g	0,56±0,12
Largura PTG	0,4cm	0,5cm	0,5cm	0,4cm	0,5cm	0,3cm	0,4cm	0,43±0,08
Comp PTG	0,9cm	1,0cm	1,0cm	1,0cm	0,9cm	0,9cm	1,0cm	0,96±0,05
Peso PTF	0,056g	0,049g	0,048g	0,036g	0,053g	0,062g	0,132g	0,45±0,16
Largura PTF	0,5cm	0,4cm	0,5cm	0,5cm	0,5cm	0,5cm	0,6cm	0,5±0,06
Comp PTF	0,9cm	1,0cm	0,8cm	1,3cm	1,0cm	0,8cm	1,5cm	1,04±0,26
Peso MCSF	0,041g	0,039g	0,043g	0,0043g	0,025g	0,018g	0,062g	0,39±0,14
Largura MCSF	0,4cm	0,4cm	0,3cm	0,3cm	0,4cm	0,3cm	0,5cm	0,37±0,08
Comp MCSF	0,9cm	0,8cm	0,9cm	0,9cm	0,8cm	0,6cm	0,7cm	0,8±0,12

Ind, indivíduo; comp, comprimento; PTG, palatoglossos; PTF, palatofaríngeo; MCSF, músculo constritor superior da faringe; DP, desvio padrão.

Fonte: elaborada pelo autor.

Os resultados dos questionários de avaliação clínica (ronco, cefaleia matinal, impacto geral da qualidade de vida e escala de sonolência de Epworth) aplicados aos indivíduos do grupo Caso estão detalhados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados dos questionários aplicados aos indivíduos do grupo Caso

	Ronco	Cefaleia matinal	Impacto qualidade de vida	ESE*
	(1 a 10)	(1 a 10)	(1 a 10)	(0 a 24)
Paciente 1	10	5	8	16
Paciente 2	10	1	10	19
Paciente 3	9	7	10	8
Paciente 4	8	1	9	7
Paciente 5	5	3	5	5
Paciente 6	10	8	10	12
Paciente 7	9	7	9	8
MÉDIA±DP	8,71±1,8	4,57±2,94	8,71±1,8	10,71±5,15

*ESE, escala de sonolência de Epworth

Fonte: elaborada pelo autor.

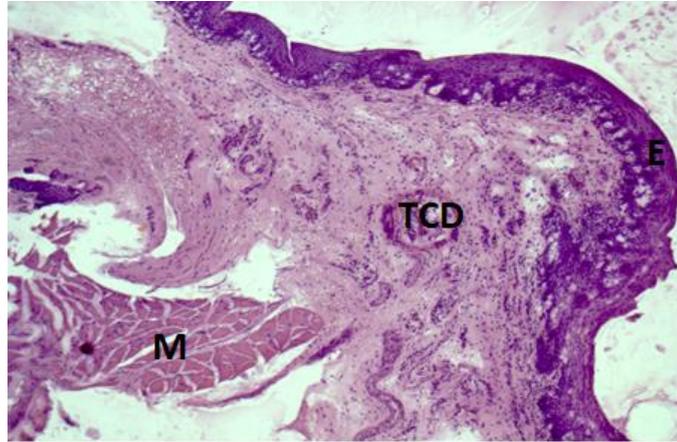
4.1 Coloração Hematoxilina-Eosina

4.1.1 Palatoglossos

4.1.1.1 Grupo Controle

Delimitado por um epitélio estratificado pavimentoso, visualizou-se tecido conjuntivo com vascularização intensa e feixes musculares (Figura 16).

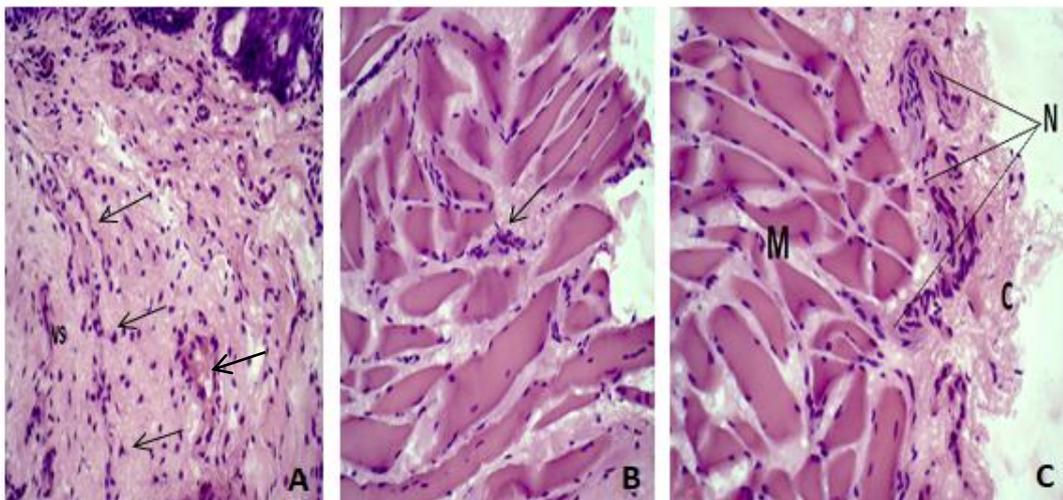
Figura 16 – Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (E), Tecido Conjuntivo Denso (TCD) e camada muscular (M)



Objetiva com aumento de 50x.
Fonte: elaborada pelo autor.

Foram visualizados filamentos nervosos em tecido conjuntivo subepitelial relacionados aos vasos sanguíneos e entre as fibras musculares (Figura 17).

Figura 17 – Terminações nervosas (setas) dentro do tecido conjuntivo subepitelial relacionadas aos vasos sanguíneos (vs) (A). Filamento nervoso dentro do feixe muscular (B). Filamento nervoso (N) em tecido conjuntivo (C) que penetra entre as fibras musculares (M) (C)

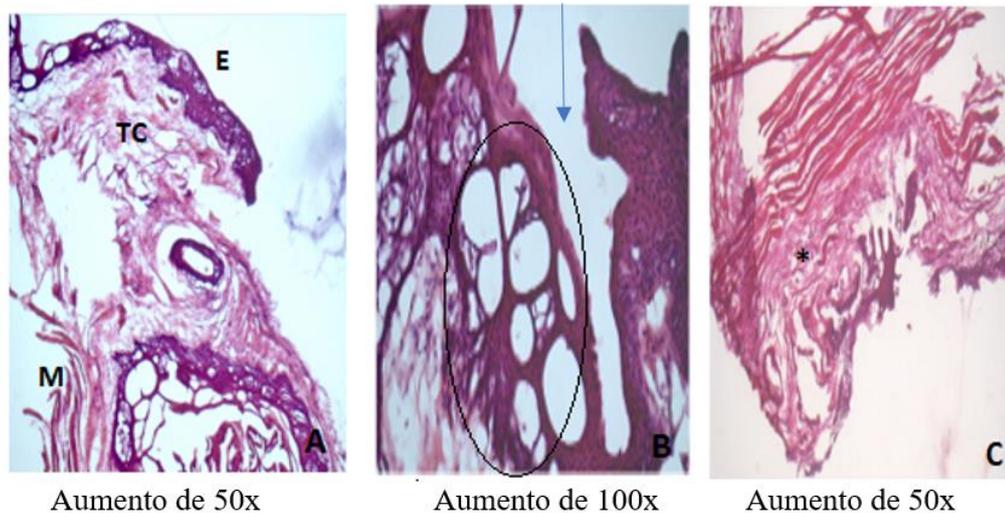


Objetiva com aumento de 200x.
Fonte: elaborada pelo autor.

4.1.1.2 Grupo Caso

Assim como no grupo Controle, observou-se epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (paraceratose) com glândulas seromucosas vacuolizadas decorrentes de degeneração lipídica, formando cistos epidermóides dentro do epitélio e, eventualmente, invaginação epitelial (caseum). Foi observado infiltrado inflamatório no espaço subepitelial (Figura 18).

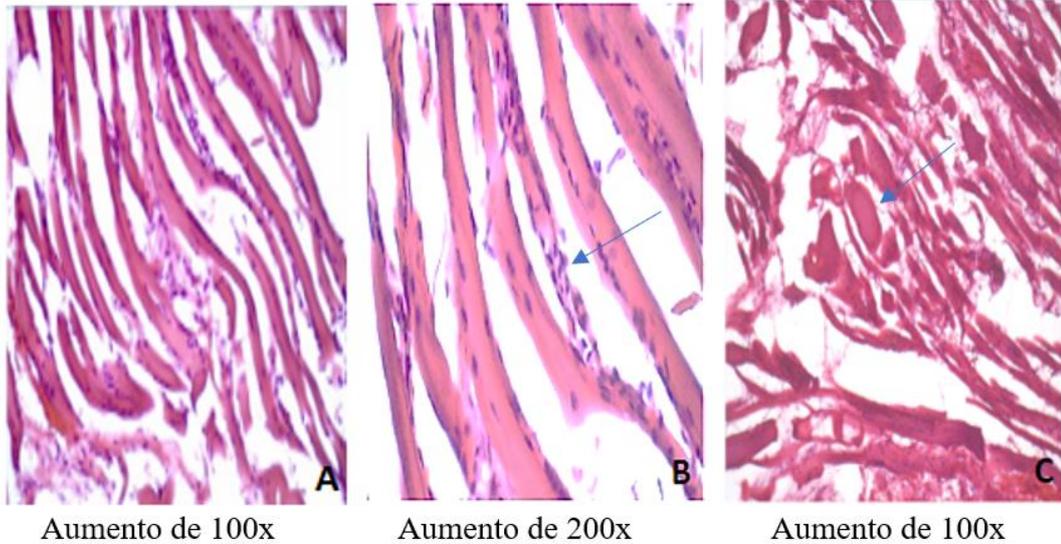
Figura 18 – Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (E), tecido conjuntivo (TC) e camada muscular (M) (A). Invaginação epitelial (seta) e glândulas seromucosas vacuolizadas (círculos) formando cistos epidermóides intraepiteliais (B). Infiltrado inflamatório no espaço subepitelial (asterisco) (C)



Fonte: elaborada pelo autor.

No tecido conjuntivo, observou-se importante variabilidade no tamanho de fibras musculares, incluindo fibras atróficas, com maior densidade nuclear, e hipertrofia muscular compensatória, com núcleos mais centralizados (Figura 19).

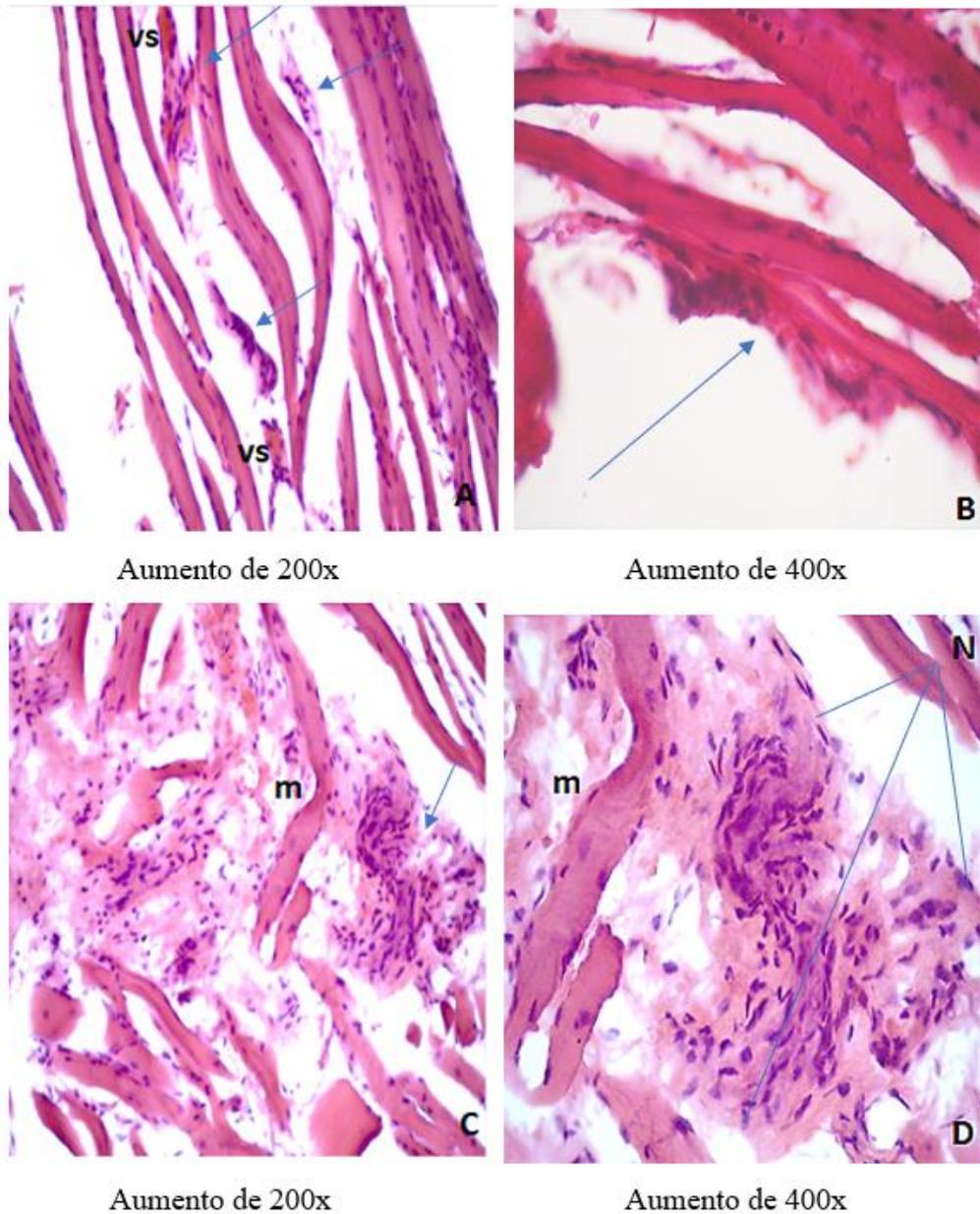
Figura 19 – Fibras musculares com diferentes calibres (A). Fibras musculares atroficas (seta), com maior densidade nuclear (B). Hipertrofia muscular compensatória (seta) (C)



Fonte: elaborada pelo autor.

Observou-se franca redução na visualização de fibras nervosas que, além da menor frequência, se encontravam degeneradas, com padrão dismorfe, em contraste com a musculatura, tendendo a formar filetes nervosos. Raramente, foram visualizados feixes vasculonervosos (Figura 20).

Figura 20 – Fibras nervosas (setas) imersas em camada muscular próximo a vasos sanguíneos (vs) (A). Feixe vasculonervoso (seta) (B). Fibra nervosa degenerada (N) próximo à fibra muscular (m) (C e D)



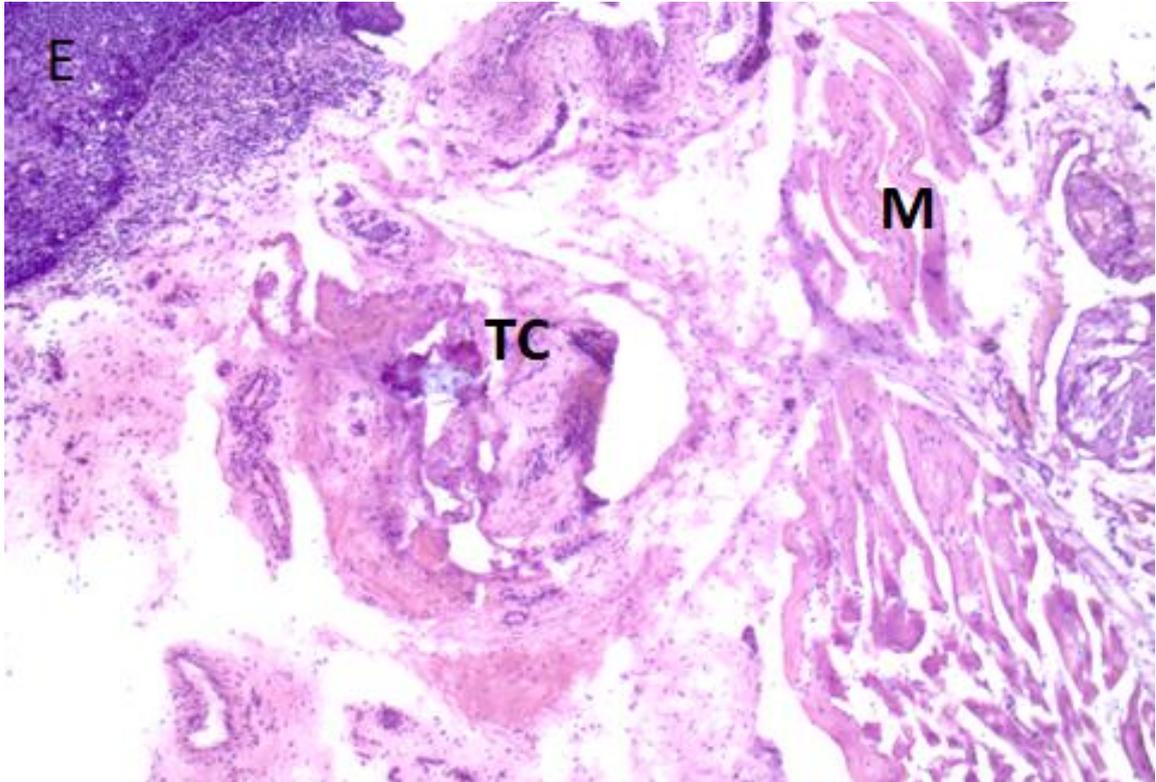
Fonte: elaborada pelo autor.

4.1.2 Palatofaríngeo

4.1.2.1 Grupo Controle

A análise das lâminas demonstrou epitélio estratificado pavimentoso, tecido conjuntivo com intensa vascularização nas camadas mais profundas, muitas glândulas acinares mucossecretoras e camada muscular com fibras musculares desconectadas (Figura 21).

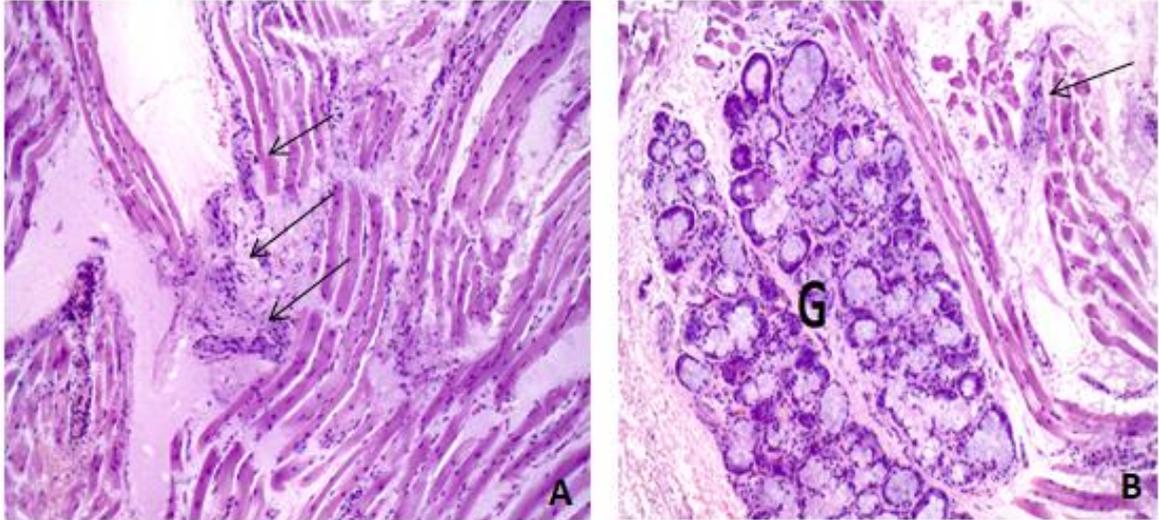
Figura 21 – Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso (E), tecido conjuntivo (TC) e feixes musculares (M)



Objetiva com aumento de 50x.
Fonte: elaborada pelo autor.

Foram visualizados vários filetes nervosos entre os feixes musculares (Figura 22).

Figura 22 – Vários filetes nervosos (setas) entre as fibras musculares (A). Numerosas glândulas acinares mucossecretoras (G) à esquerda e filete nervoso (seta) entre as fibras musculares à direita (B)

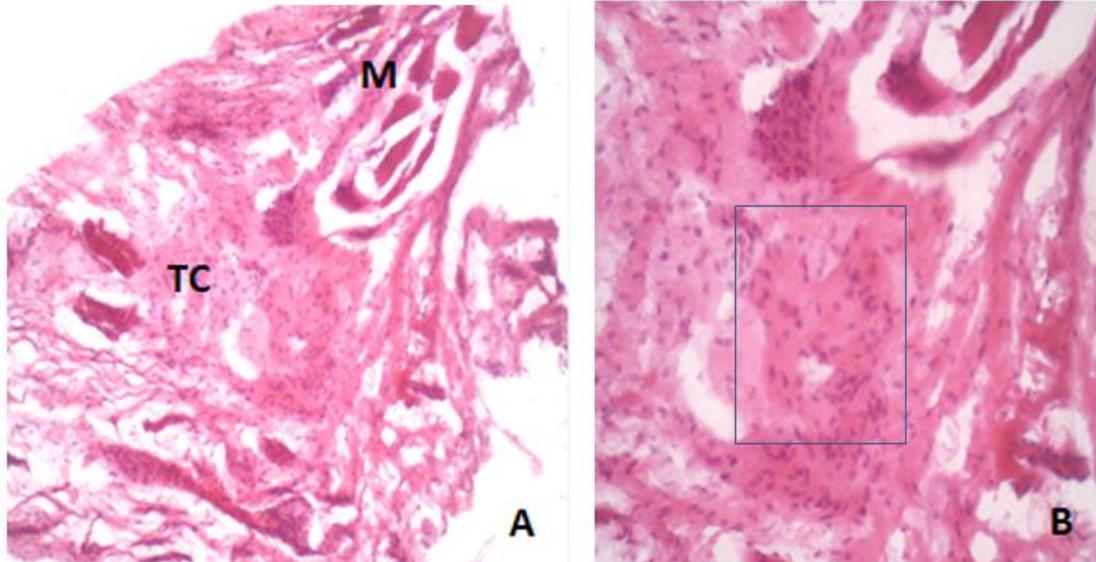


Objetiva com aumento de 100x.
Fonte: elaborada pelo autor.

4.1.2.2 Grupo Caso

Não foi possível identificar o epitélio nas amostras estudadas. Foram visualizadas fibras musculares esparsas e desconectadas. No tecido conjuntivo, observou-se processo inflamatório, sendo possível visualizar, inclusive, célula gigante de Langerhans em uma das amostras (Figura 23).

Figura 23 – Imagem panorâmica da peça evidenciando tecido conjuntivo (TC) e camada muscular (M) com fibras esparsas e desconectadas (A). Célula gigante de Langerhans (retângulo) em tecido conjuntivo (B)



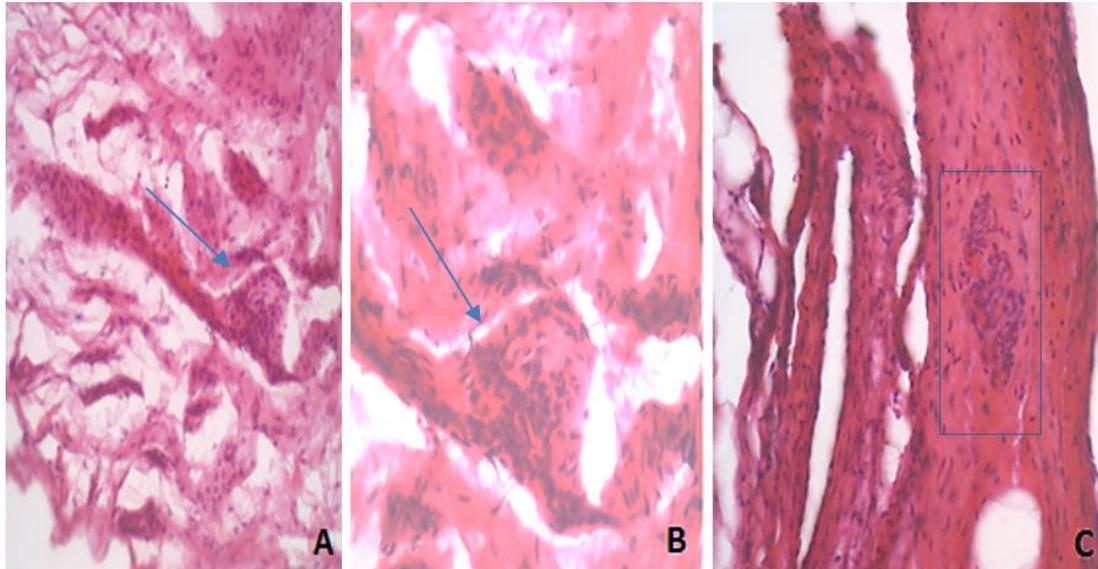
Aumento de 100x

Aumento de 200x

Fonte: elaborada pelo autor.

As raras estruturas nervosas foram exibidas como corpúsculos sensoriais ou em feixes vasculonervosos através de estruturas neurais complexas próximas a vasos sanguíneos dentro do tecido conjuntivo. Foram também observados filetes nervosos em continuidade com estrutura granulomatosa gigante (Figura 24).

Figura 24 – Corpúsculo sensorial em menor (A) e maior (B) aumento (seta). Estrutura neural complexa (retângulo) acompanhada de vasos sanguíneos dentro do tecido conjuntivo (C)



Aumento de 200x

Aumento de 400x

Aumento de 200x

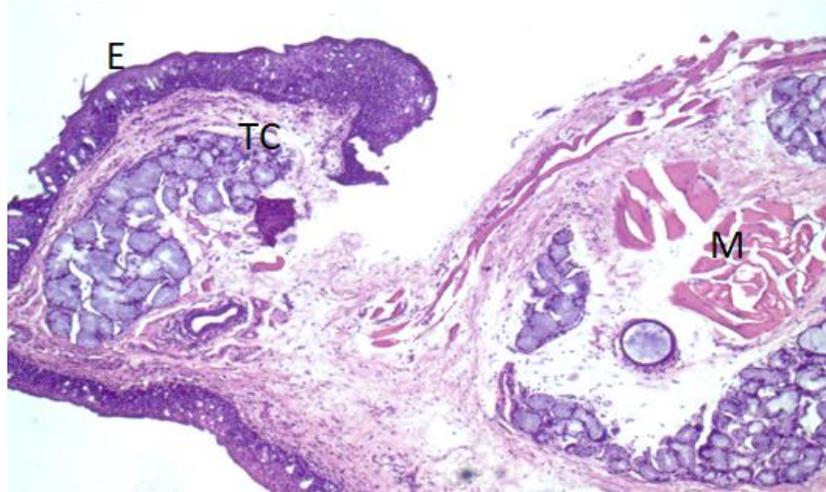
Fonte: elaborada pelo autor.

4.1.3 Músculo constritor superior da faringe

4.1.3.1 Grupo Controle

Nas amostras relativas ao MCSF, visualizou-se epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, tecido conjuntivo com vasos e terminações nervosas e um aglomerado de glândulas acinares mucossecretoras (Figura 25).

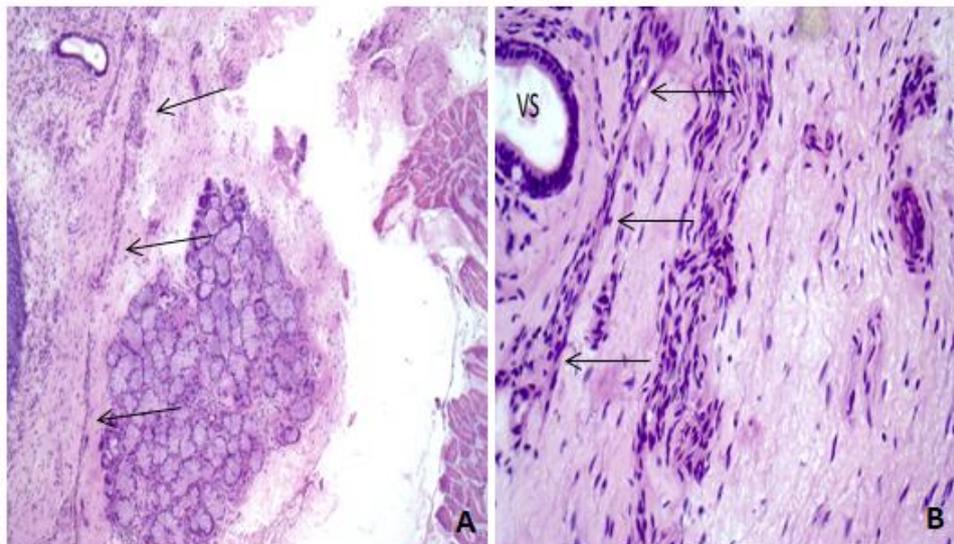
Figura 25 – Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (E), tecido conjuntivo (TC) com várias glândulas acinares mucossecretoras e fibras musculares (M)



Objetiva com aumento de 50x.
Fonte: elaborada pelo autor.

Foram visualizados longos filetes nervosos no tecido conjuntivo subepitelial (Figura 26).

Figura 26 – Filete nervoso longo no tecido conjuntivo subepitelial (A). Filete nervoso (setas) próximo a vaso sanguíneo (VS) em tecido conjuntivo (B)

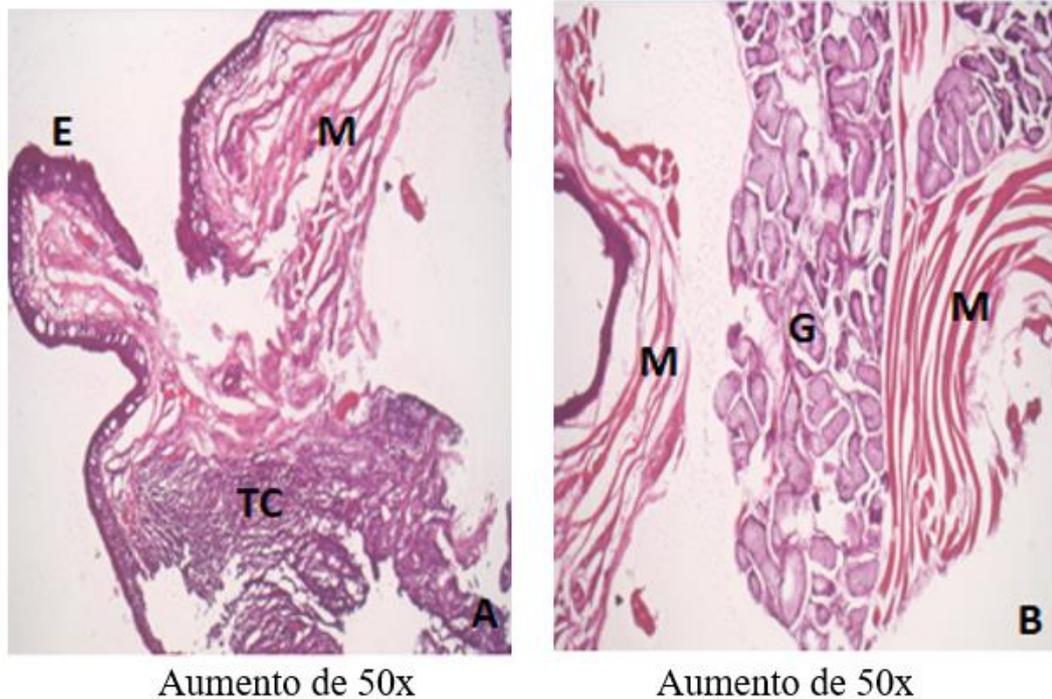


Objetiva com aumento de 50x (A) e aumento de 200x (B).
Fonte: elaborada pelo autor.

4.1.3.2 Grupo Caso

No grupo Caso, também foi observado epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado. Assim como nos outros músculos estudados, foram encontradas fibras musculares assimétricas, com diferentes calibres e diâmetros, indicando atrofia muscular. Observaram-se glândulas mucoacinares interpostas entre as fibras musculares no tecido conjuntivo (Figura 27).

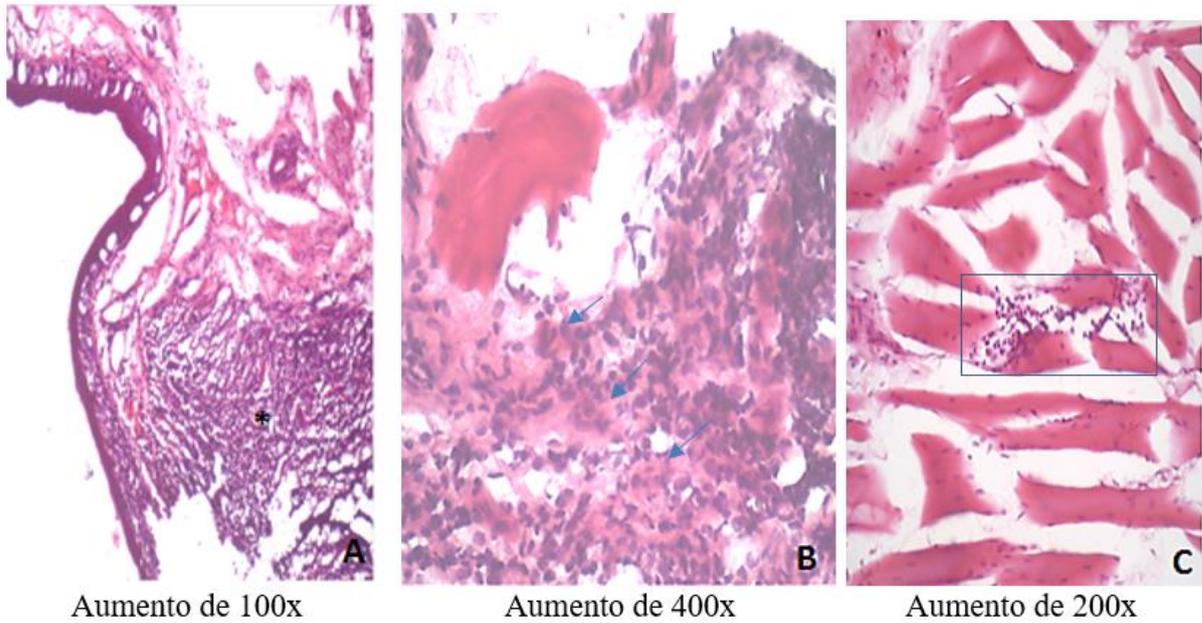
Figura 27 – Imagem panorâmica da peça evidenciando epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (E), tecido conjuntivo (TC) com processo inflamatório e camada muscular (M) com fibras assimétricas (A). Glândulas mucoacinares (G) interpostas entre as fibras musculares (M) no tecido conjuntivo (B)



Fonte: elaborada pelo autor.

Visualizou-se processo inflamatório intenso na submucosa, com importante acúmulo linfóide no tecido conjuntivo subepitelial, incluindo linfócitos, plasmócitos, macrófagos e eosinófilos, com destaque para um infiltrado linfo-histiocitário entre as fibras musculares (Figura 28).

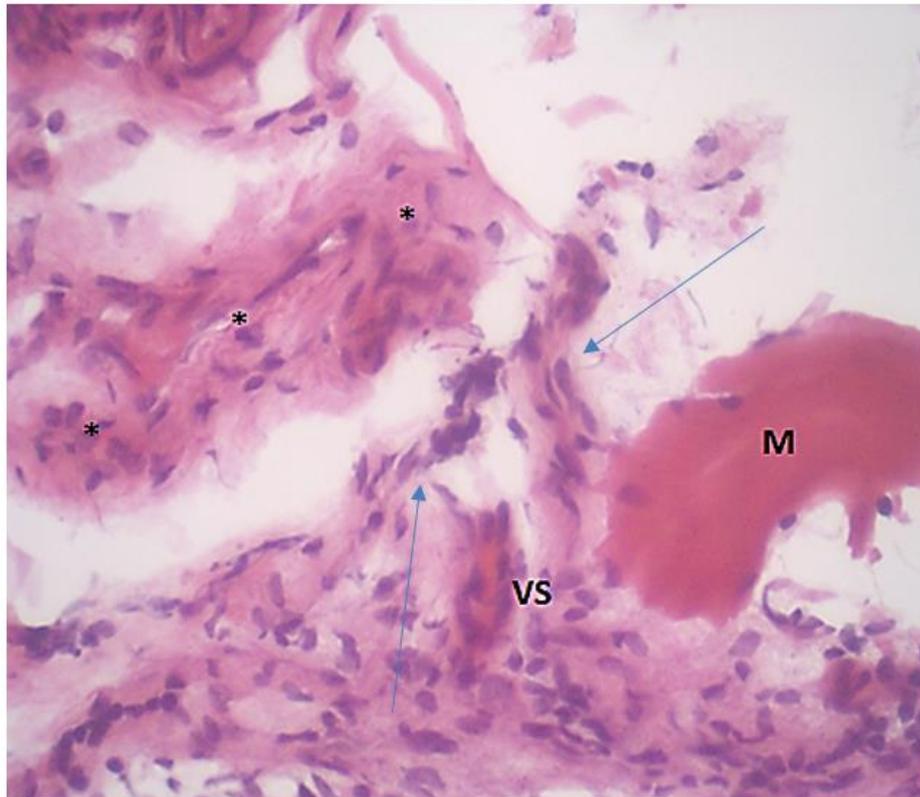
Figura 28 – Processo inflamatório intenso (asterisco) na submucosa (A). Acúmulo linfoide (setas) no tecido conjuntivo (B). Infiltrado linfo-histiocitário (retângulo) entre as fibras musculares (C)



Fonte: elaborada pelo autor.

Dentre os três músculos estudados, o MCSF evidenciou a escassez mais importante de estruturas nervosas, visualizando-se, eventualmente, corpúsculos sensoriais e algumas fibras nervosas próximo a vasos sanguíneos e fibras musculares (Figura 29).

Figura 29 – Corpúsculo sensorial (asteriscos) e fibras nervosas (setas) próximo a vaso sanguíneo (VS) e fibra muscular (M)



Objetiva com aumento de 400x
Fonte: elaborada pelo autor.

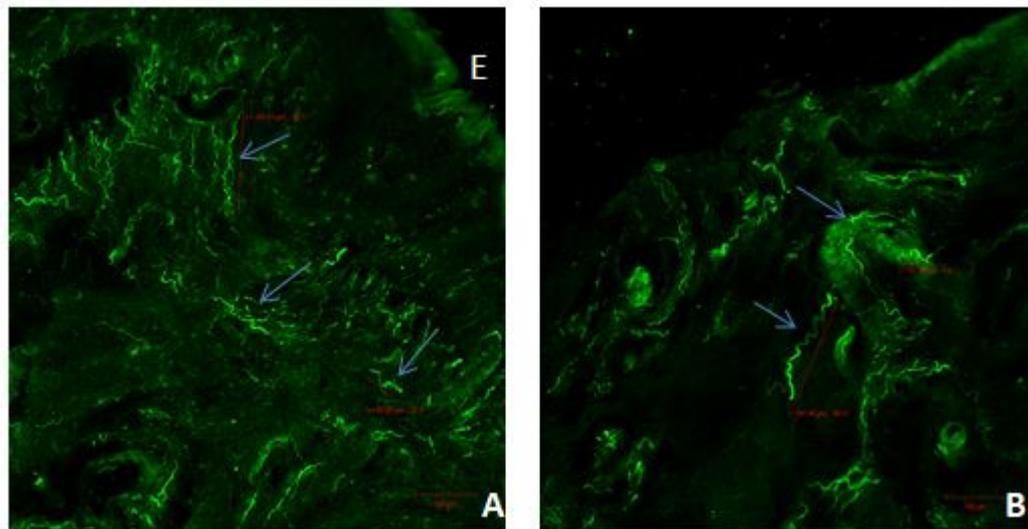
4.2 Imunofluorescência para anticorpo primário Anti-Pgp 9.5

4.2.1 *Palatoglossa*

4.2.1.1 *Grupo Controle*

A análise das lâminas preparadas com imunofluorescência sob Microscopia Confocal de Varredura a Laser (MCVL) revelou a presença de terminações nervosas livres finas em diferentes sentidos em meio ao tecido conjuntivo subepitelial, que mediam em comprimento entre 60 e 167 μm , e na camada muscular, paralelas às fibras musculares. A relação das terminações nervosas com os vasos sanguíneos também foi constatada na análise por MCVL (Figura 30).

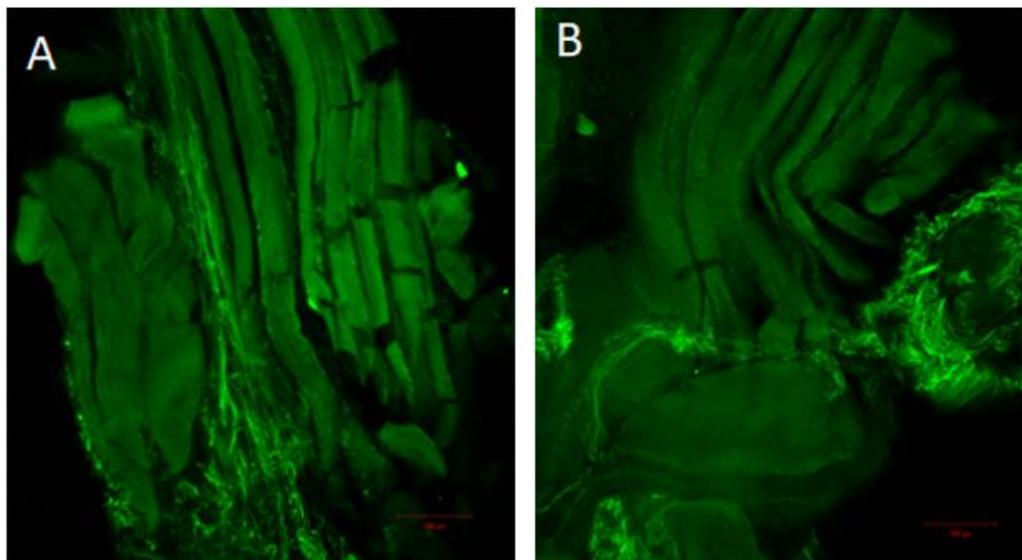
Figura 30 – Terminações nervosas livres em diferentes sentidos no tecido conjuntivo subepitelial. E, epitélio (A). Relação das terminações nervosas livres com vasos sanguíneos (B)



Barra = 100 μ m e objetiva com aumento de 10x com ZOOM
Fonte: elaborada pelo autor.

Observaram-se feixes nervosos de diferentes calibres, alguns entrelaçados e paralelos às fibras musculares; outros feixes volumosos emitiam ramificações perpendiculares às fibras musculares (Figura 31).

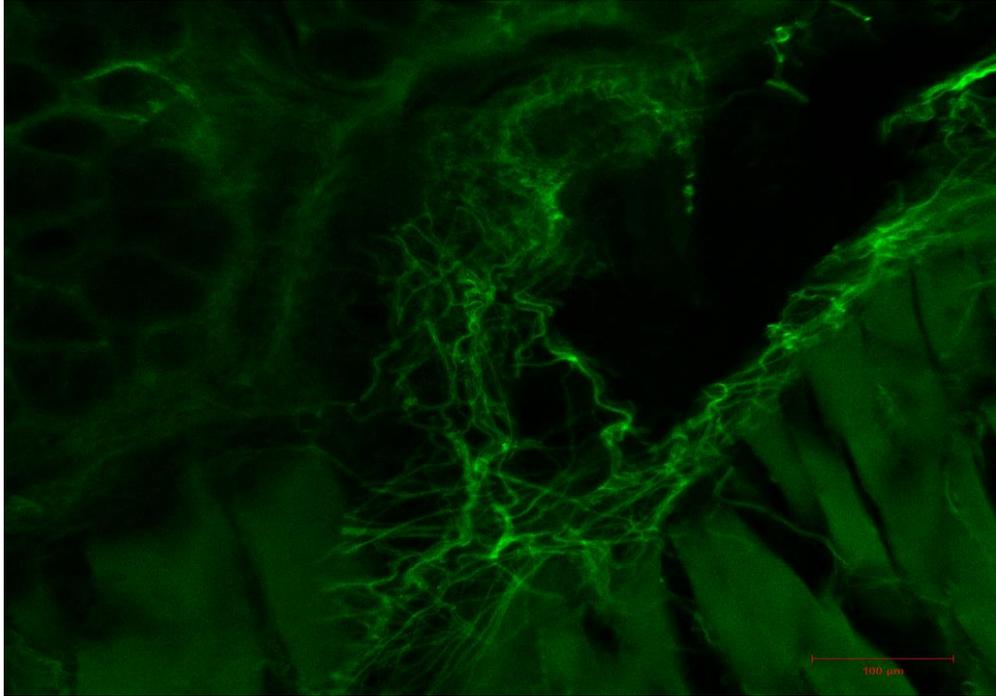
Figura 31 – Feixes nervosos entrelaçados e paralelos às fibras musculares (A). Feixes nervosos emitindo ramificações perpendiculares às fibras musculares (B)



Barra = 100 μ m e objetiva com aumento de 20x.
Fonte: elaborada pelo autor.

Foram visualizadas ainda terminações nervosas em rede (*network*) (Figura 32).

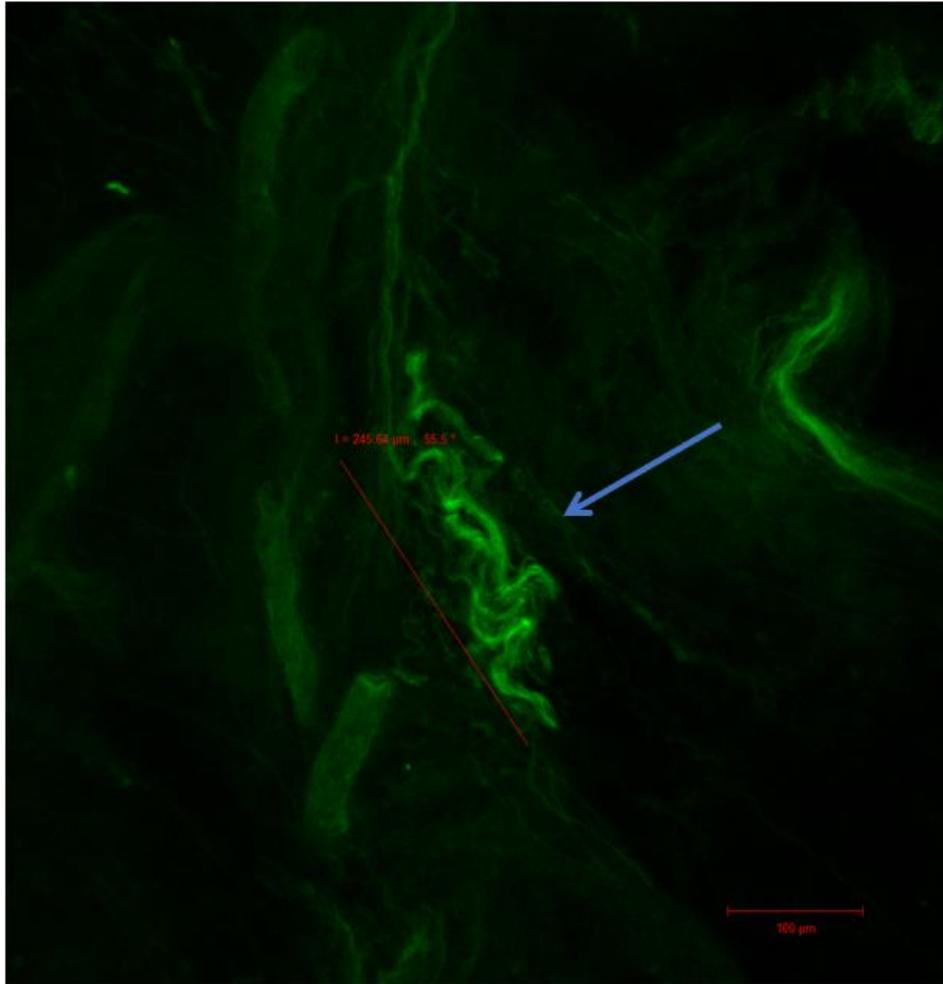
Figura 32 – Formação nervosa tipo *network*



Barra = 100 µm e objetiva com aumento de 20x.
Fonte: elaborada pelo autor.

Dentro da camada muscular, também foram identificadas terminações nervosas complexas de diferentes tamanhos e formatos. Entre essas estruturas, visualizou-se uma formação arborizada não encapsulada *Ruffini-like*, de 245 µm em seu maior diâmetro (Figura 33).

Figura 33 – Formação arborizada não encapsulada *Ruffini-like*

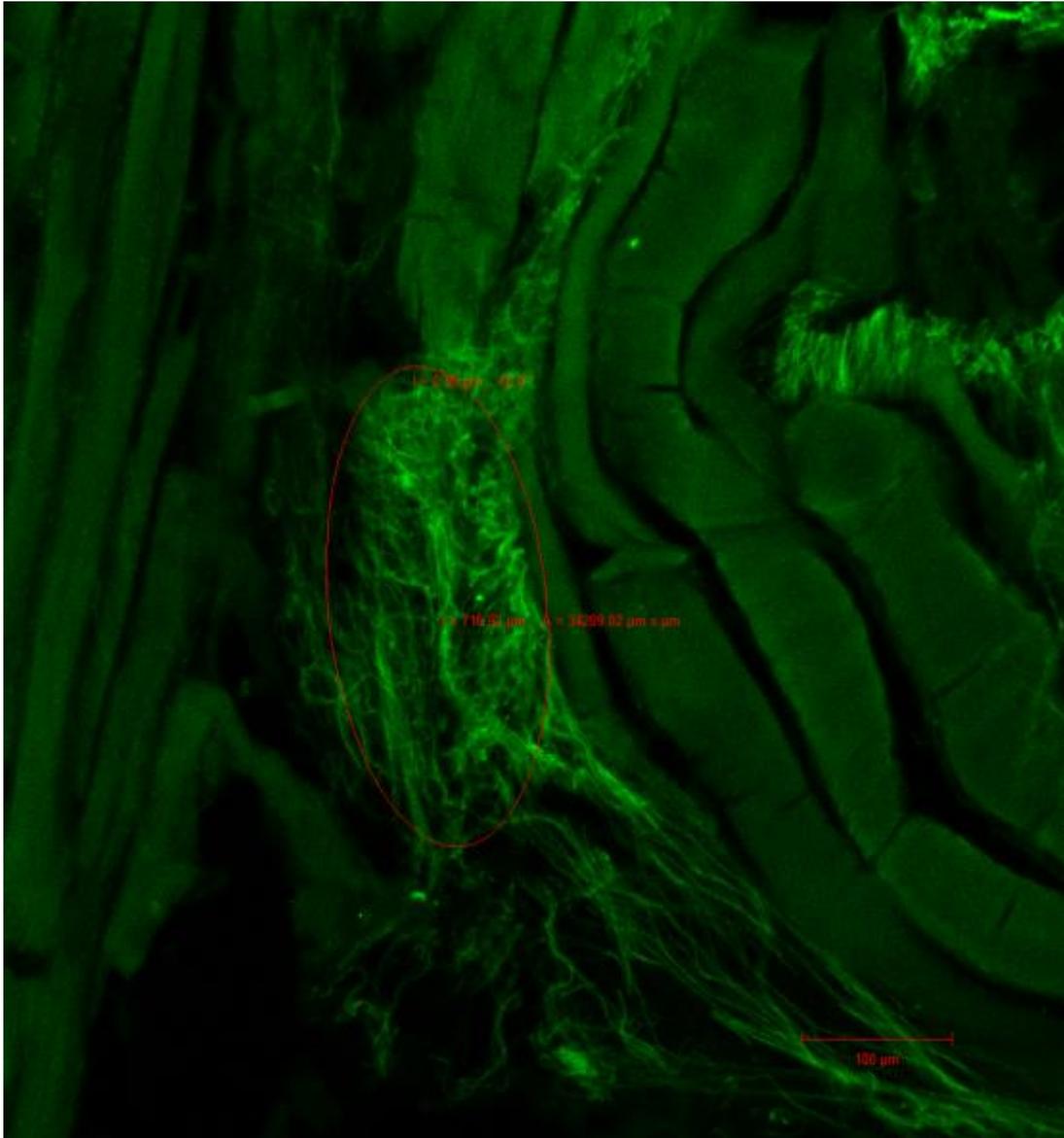


Barra = 100 µm e objetiva com aumento de 20x

Fonte: elaborada pelo autor.

Ainda na camada muscular, foi visualizado um emaranhado de fibras nervosas com formato cônico *Golgi-like* de aproximadamente 716 µm em seu maior diâmetro (Figura 34).

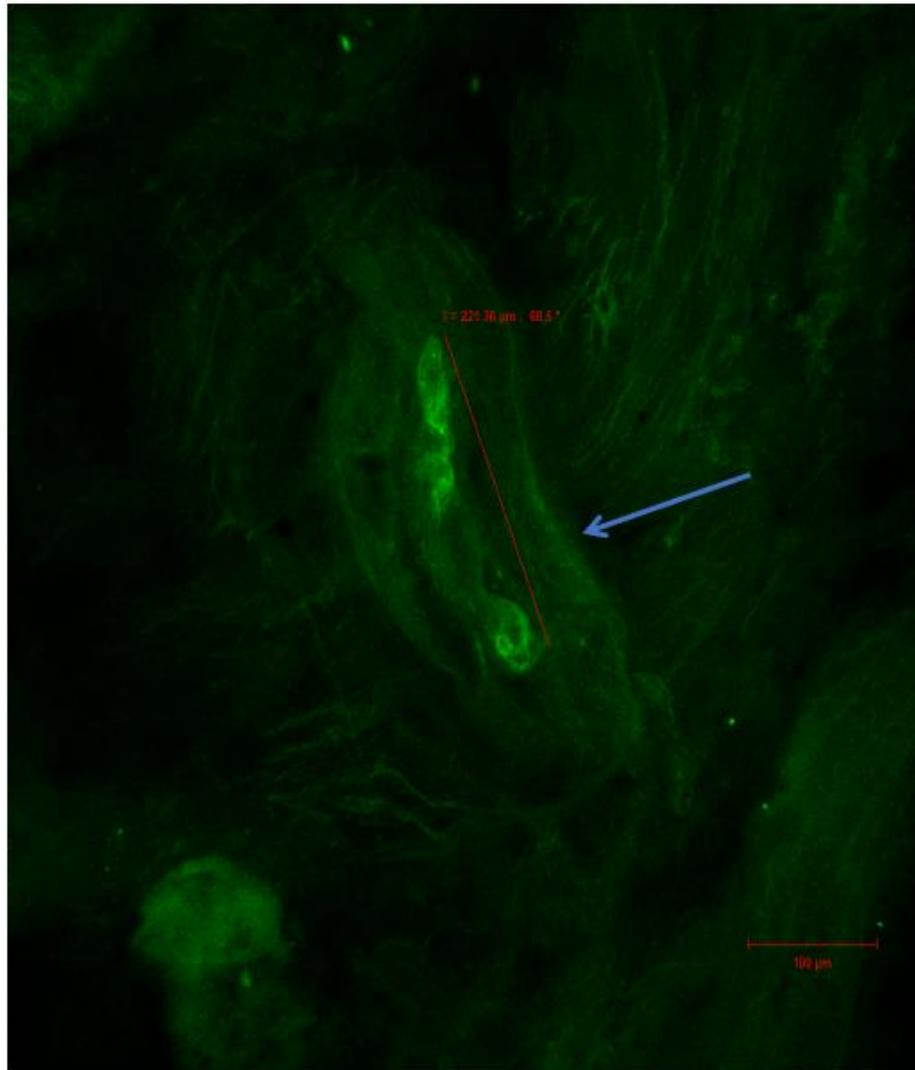
Figura 34 – Terminações nervosas com formato cônico *Golgi-like*



Barra = 100 μm e objetiva com aumento de 20x
Fonte: elaborada pelo autor.

Observaram-se, ainda, estruturas cilíndricas *Meissner-like* no tecido conjuntivo próximo à musculatura, medindo 221 μm em seu maior diâmetro (Figura 35).

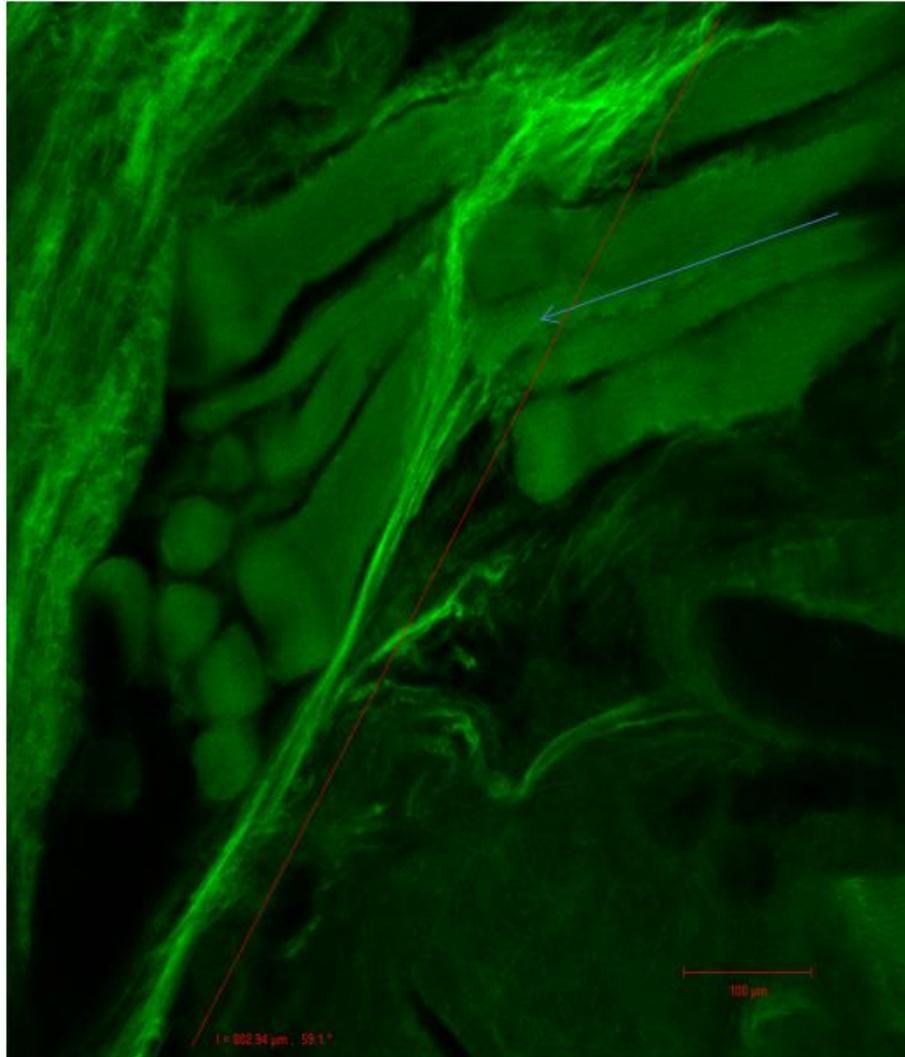
Figura 35 – Corpúsculo *Meissner-like* no tecido conjuntivo próximo à musculatura



Barra = 100 µm e objetiva com aumento de 20x
Fonte: elaborada pelo autor.

Identificaram-se fusos musculares, distribuídos esparsamente pelo tecido muscular, medindo 802 µm de comprimento (Figura 36).

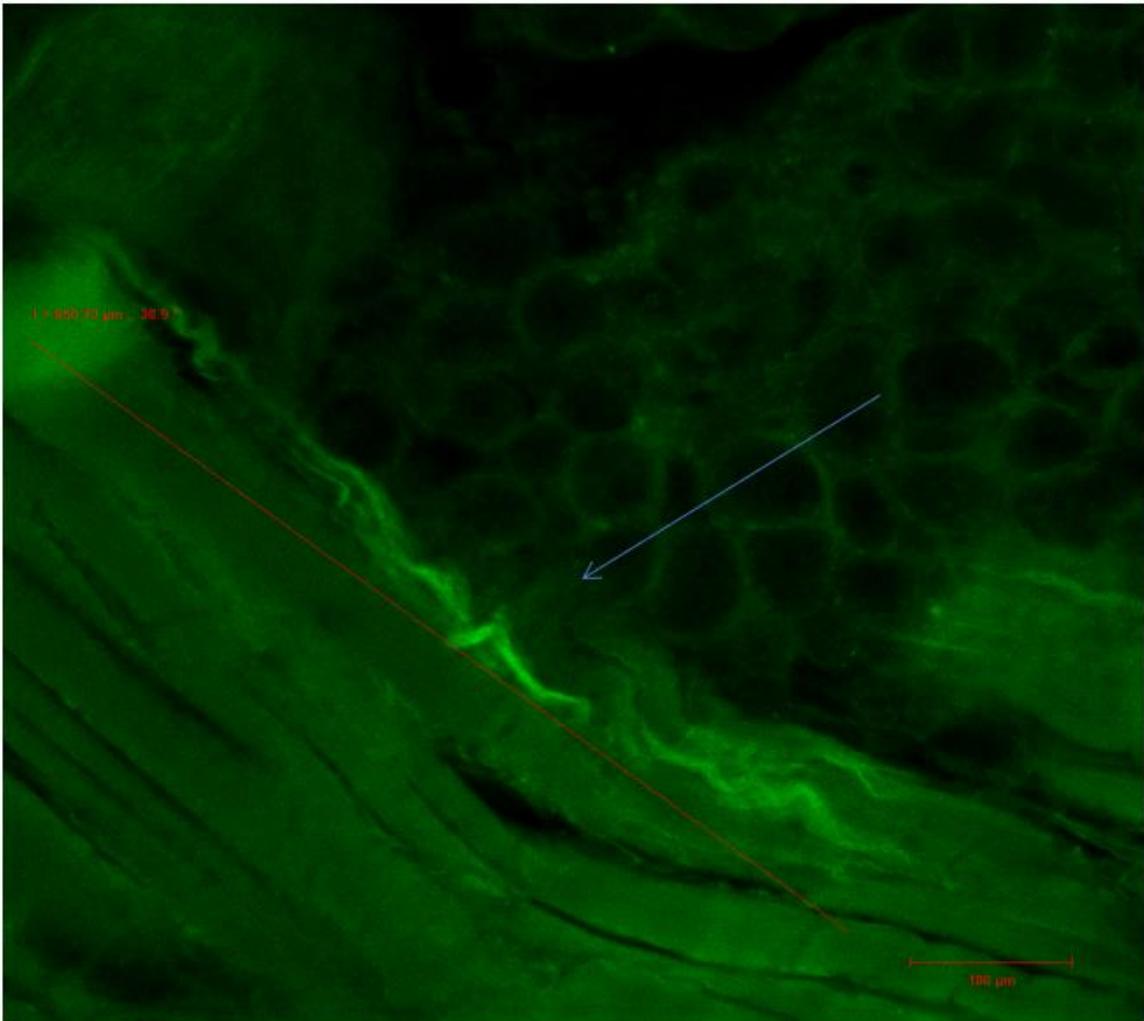
Figura 36 – Fusos musculares distribuídos esparsamente pelo tecido muscular



Barra = 100 µm e objetiva com aumento de 20x
Fonte: elaborada pelo autor.

Foram encontradas estruturas nervosas alongadas com formato em espiral (*spiral-wharves*), de 650 µm de comprimento, que corriam paralelamente às fibras musculares (Figura 37).

Figura 37 – Estruturas nervosas alongadas com formato em espiral (*spiral-wharves*) correndo paralelamente às fibras musculares



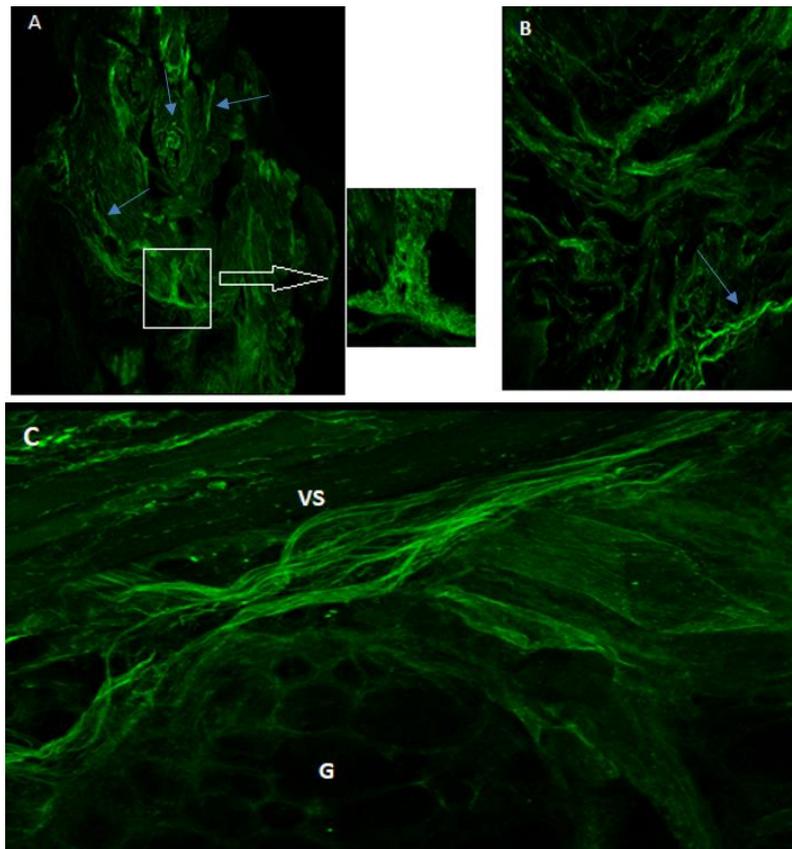
Barra = 100 µm e objetiva com aumento de 20x
Fonte: elaborada pelo autor.

4.2.1.2 Grupo Caso

Foram visualizadas fibras nervosas, em sua maioria terminações nervosas livres, com diferentes calibres e direções, paralelas ou perpendiculares às fibras musculares, em formato circular ou sinuosamente individualizadas, notabilizando-se uma maior concentração de fibras na camada periférica subepitelial que na camada muscular, além de aumento do espaço intercelular e do espaço entre as fibras musculares. Eventualmente, essas fibras nervosas se bifurcavam constituindo uma formação nervosa em rede (*network*). Observaram-se feixes nervosos entrelaçados paralelos às fibras musculares e relacionados a vasos sanguíneos e

glândulas seromucosas. Entretanto, esses feixes vasculonervosos foram raramente observados em relação ao grupo Controle (Figura 38).

Figura 38 – Fibras nervosas em diferentes sentidos e maior concentração na camada subepitelial. Formação nervosa tipo network (em destaque) (A). Terminação nervosa livre individualizada de aspecto ondulado (B). Feixes nervosos entrelaçados, paralelos às fibras musculares e relacionados a vasos sanguíneos e glândulas seromucosas (C). VS, vaso sanguíneo, G, glândula seromucosa

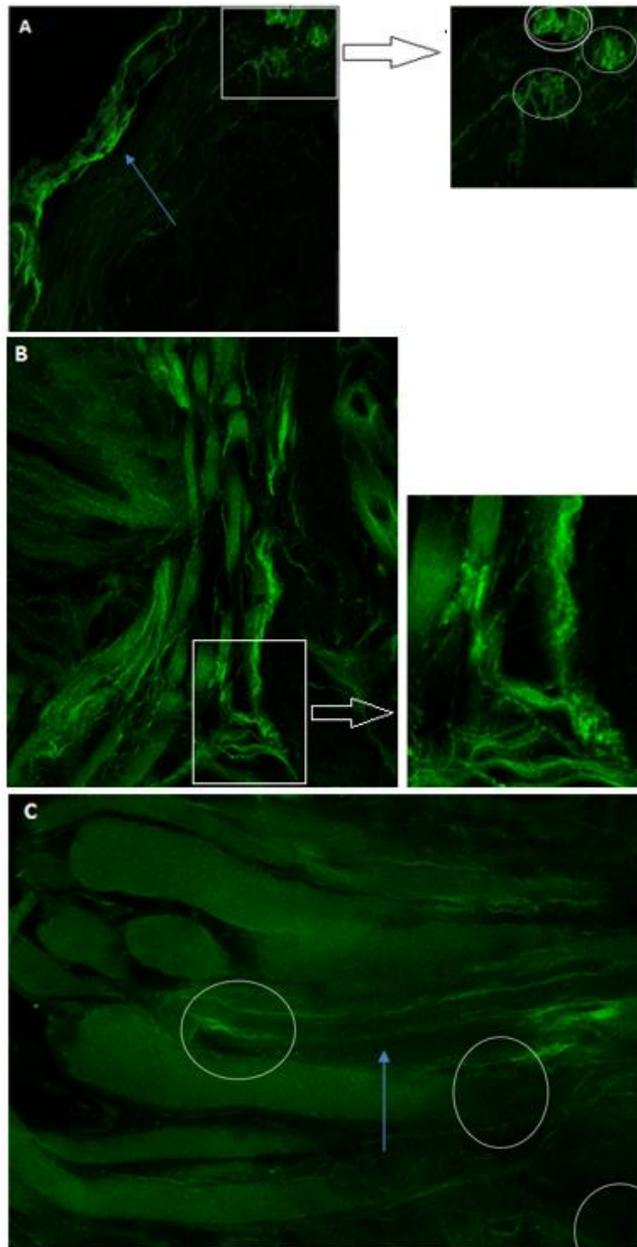


Barra = 100µm e objetiva com aumento de 10x (A) e 20x (B, C, imagem destacada)

Fonte: elaborada pelo autor.

Dentro da camada muscular, foram visualizados corpúsculos sensoriais tipo Ruffini-like de aspecto irregular e arboriforme, destacando-se como um emaranhado nervoso nas extremidades da fibra nervosa ou em clusters de 3 corpúsculos. Apesar da semelhança qualitativa, essas formações apresentaram menores dimensões e aspecto hipotrófico ou dismórfico quando comparados ao grupo Controle (Figura 39).

Figura 39 – Fibras nervosas subepiteliais paralelas às fibras musculares com redução progressiva do calibre (A). Corpúsculo sensorial *Ruffini-like* observado como: cluster de 3 corpúsculos sensoriais de aspecto arboriforme (destaque A), cluster de 2 corpúsculos nas extremidades da fibra nervosa, em íntima relação com a musculatura (B) ou emaranhado corpuscular de aspecto fusiforme nas extremidades da fibra nervosa (C)

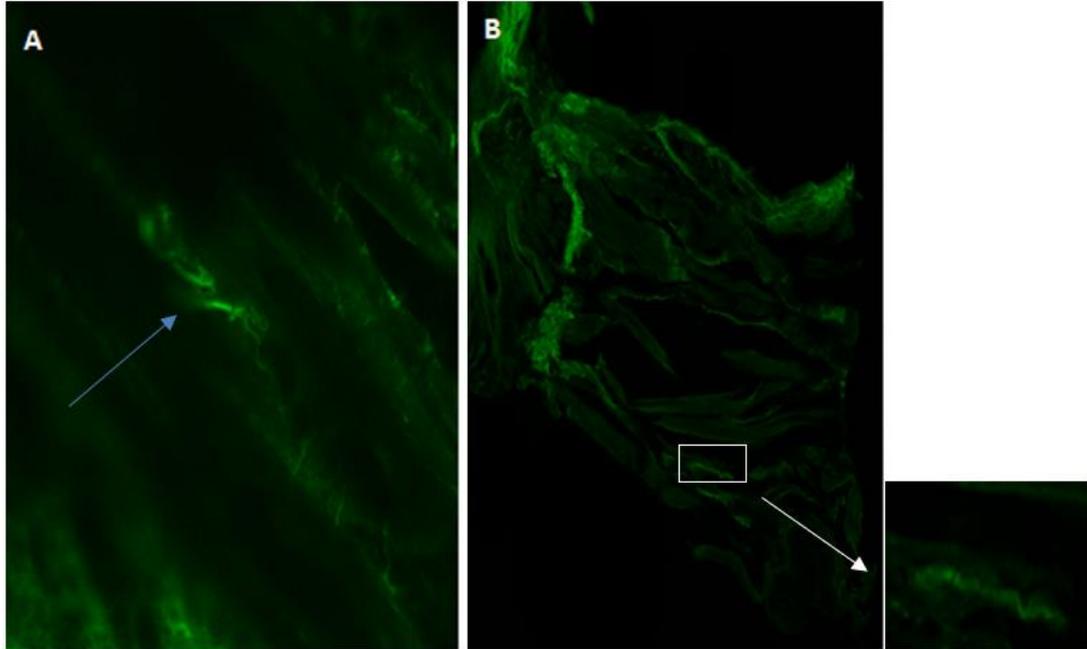


Barra = 100 μm e objetiva com aumento de 10x (A, B) e 20x (C)

Fonte: elaborada pelo autor.

Também foram visualizadas na camada muscular formações nervosas *spiral-wharves* com aspecto muito semelhante àqueles encontrados no grupo Controle (Figura 40).

Figura 40 – Formações nervosas spiral-wharves imersas em fibras musculares esparsas (A e destaque B). Fibras nervosas perpendiculares às fibras musculares (B)



Barra = 100 μ m e objetiva com aumento de 10x (B) e 20x (A)
Fonte: elaborada pelo autor.

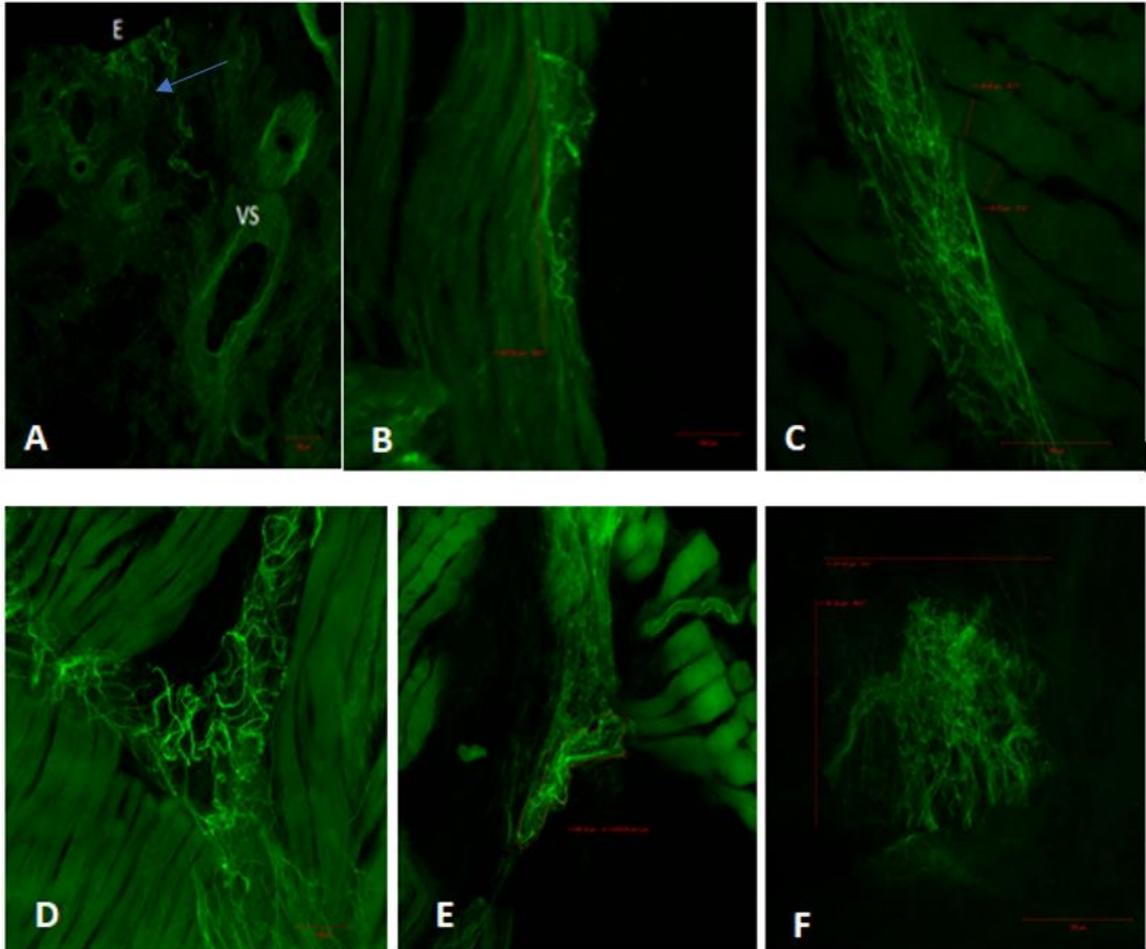
4.2.2 Palatofaríngeo

4.2.2.1 Grupo Controle

A análise das lâminas com microscopia confocal de varredura a laser mostrou a presença de terminações nervosas livres bem finas e tortuosas no epitélio, caminhando em direção aos vasos sanguíneos, que mediam em comprimento 390 μ m, e, na camada muscular, paralelas às fibras musculares, medindo em comprimento entre 278 e 407 μ m.

Na camada muscular, foi visualizado um padrão entrelaçado de feixes nervosos cruzando as fibras musculares que mediam em comprimento entre 30 e 75 μ m e terminações nervosas tipo *network*. Identificaram-se terminações nervosas complexas *Golgi-like* dentro da camada muscular com comprimento de cerca de 680 μ m em seu maior diâmetro e área de 12.000 μ m² e formações complexas com padrão *Ruffini-like*, de 211 μ m em seu maior diâmetro (Figura 41).

Figura 41 – Terminações nervosas livres (seta) finas e tortuosas no epitélio, caminhando em direção aos vasos sanguíneos. E - epitélio; VS - vaso sanguíneo (A). Terminações nervosas livres paralelas às fibras musculares (B). Padrão entrelaçado de feixes nervosos cruzando as fibras musculares (C). Formação nervosa tipo *network* (D). Formação nervosa complexa *Golgi-like* (E). Formação nervosa complexa *Ruffini-like* (F)



Barra = 100µm e objetiva com aumento de 10x (A), 20x (B – E) e 40x (F)

Fonte: elaborada pelo autor.

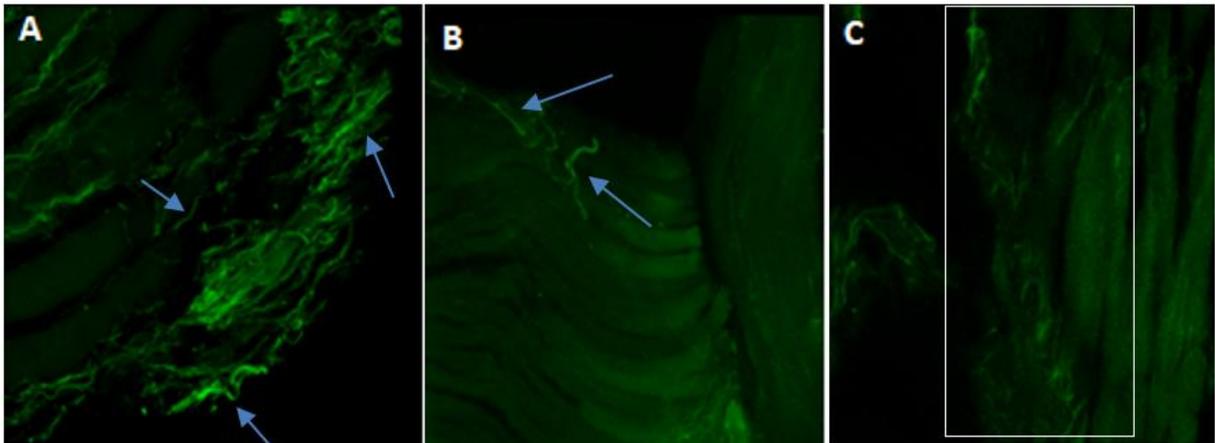
4.2.2.2 Grupo Caso

A análise das lâminas relativas ao músculo palatofaríngeo dos pacientes com AOS evidenciou uma maior variedade de formações nervosas e diversidade de corpúsculos sensoriais em relação ao músculo palatoglosso.

Foram observadas fibras nervosas em várias direções, tanto paralelas como perpendiculares às fibras musculares, e mais concentradas na periferia (espaço subepitelial), assim como no músculo palatoglosso. Na camada muscular, também foram visualizadas terminações nervosas livres perpendiculares ao músculo e outras entre as fibras musculares.

Eventualmente, essas fibras nervosas se organizavam como feixes nervosos ou como rede neuronal (*network*) com várias conexões e íntima relação com a musculatura (Figura 42).

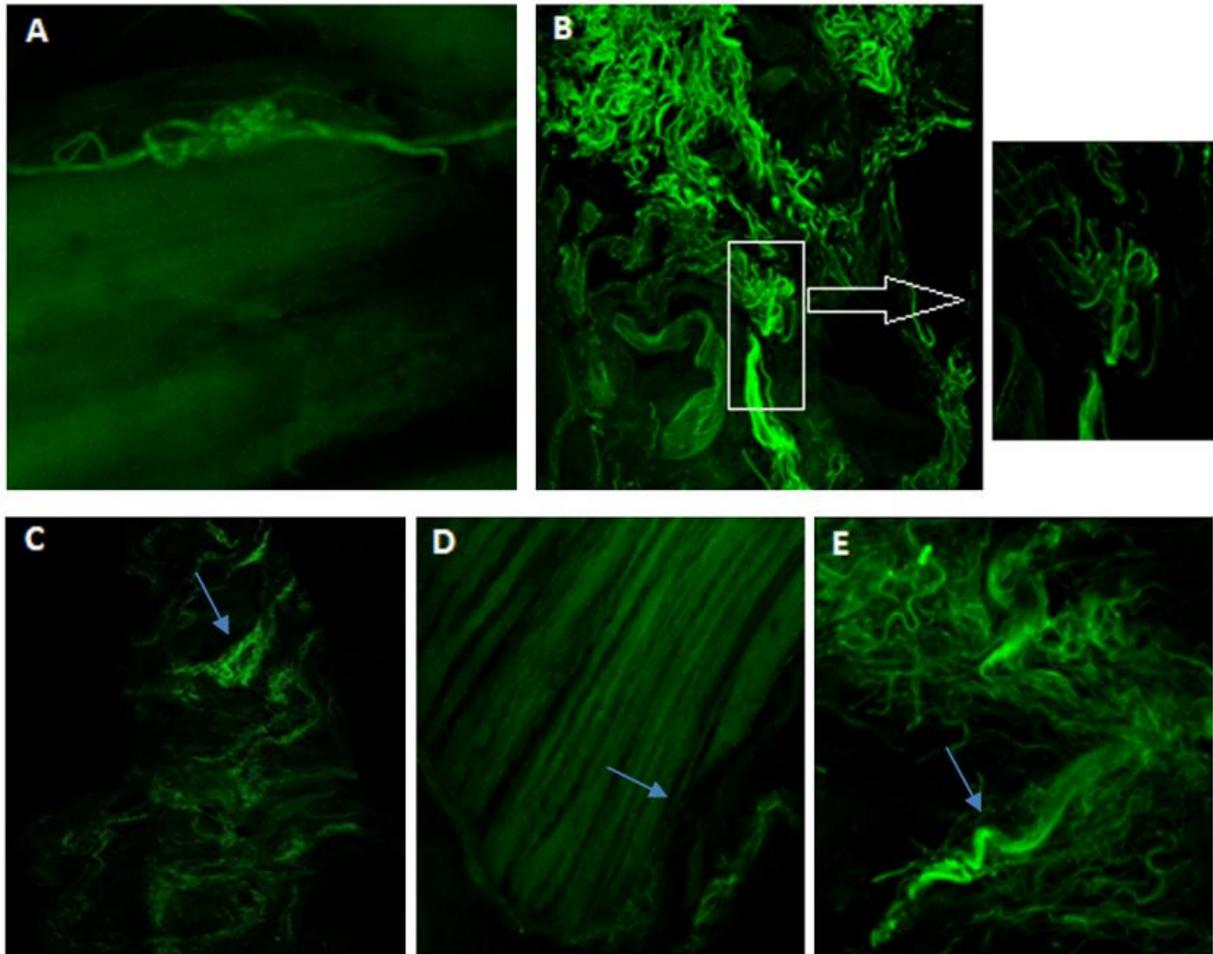
Figura 42 – Fibras nervosas em várias direções e mais concentradas no espaço subepitelial (A). Na camada muscular, finas terminações nervosas livres perpendiculares e entre as fibras musculares (A e B). Feixe nervoso penetrando entre as fibras musculares (seta B). Fibras nervosas atravessam perpendicularmente às fibras musculares, formando uma rede neuronal com várias conexões (*network*) (C)



Barra = 100µm e objetiva com aumento de 20x
Fonte: elaborada pelo autor.

Dentre os corpúsculos sensoriais, observaram-se principalmente formações nervosas complexas não classificáveis, mas também foram evidenciados corpúsculos *Golgi-like*, *Meissner-like* e *spiral-wharves* (Figura 43).

Figura 43 – Formação nervosa complexa não classificável com emaranhado em região central (A) e com aspecto multidirecional (B). Formação nervosa com formato cônico *Golgi-like* (C). Corpúsculo *Meissner-like* próximo à musculatura. Na periferia, observa-se um emaranhado de terminações nervosas enoveladas (D). *Spiral-wharves* (E)



Barra = 100 μ m e objetiva com aumento de 10x (C, D), 20x (A, E) e 40x (B)

Fonte: elaborada pelo autor.

4.2.3 *Músculo constritor superior da faringe*

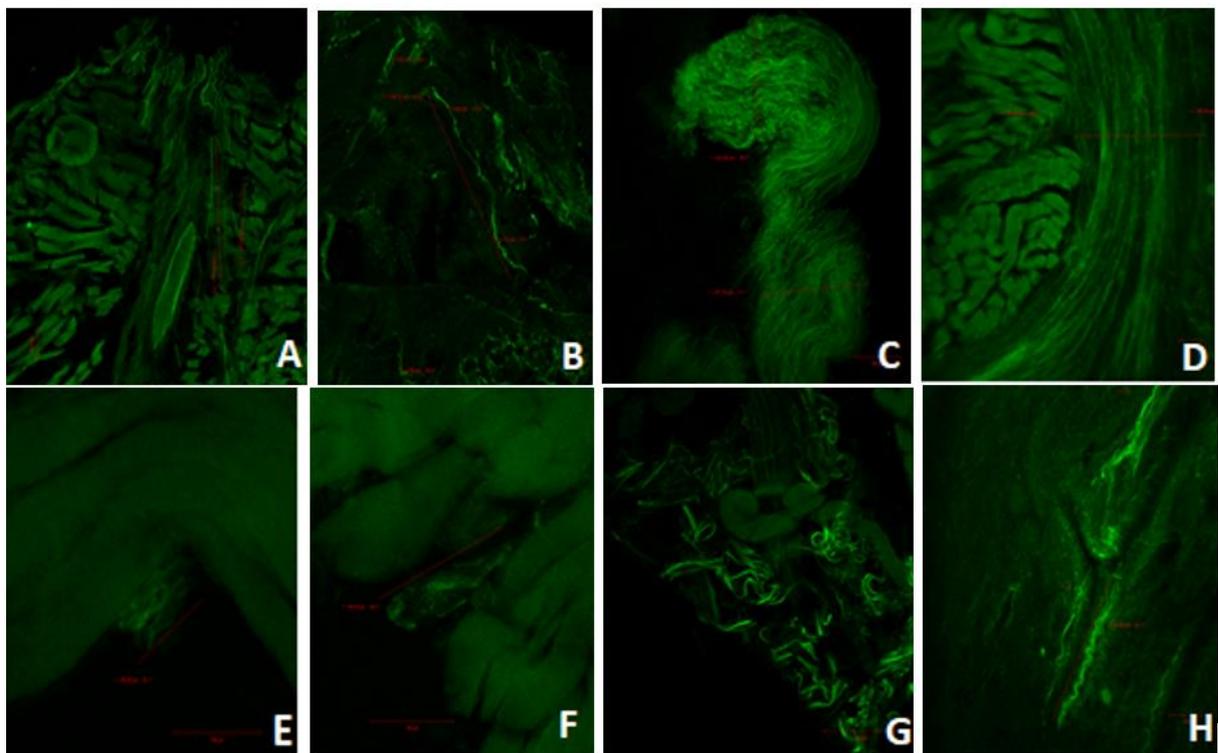
4.2.3.1 *Grupo Controle*

A análise das lâminas com microscopia confocal de varredura a laser evidenciou um padrão bastante innervado. Foram visualizadas várias terminações nervosas livres alongadas e finas partindo do tecido conjuntivo em direção à mucosa e à camada muscular, que mediam em comprimento entre 110 e 516 μ m. Observaram-se terminações nervosas livres e complexas mantendo íntima relação com glândulas seromucosas. Nas camadas mais profundas da lâmina própria, foram identificados feixes nervosos calibrosos, medindo mais de 200 μ m de espessura.

Foram também observados fascículos nervosos medindo mais de 500 μ m, que tendiam a se ramificar entre as fibras musculares, com redução progressiva de seu calibre.

Dentre as terminações nervosas complexas, observaram-se, na camada muscular, formações *Ruffini-like*, de 90 μ m em seu maior diâmetro, envolvidas por fibras musculares. Identificaram-se também na camada muscular formações ovais, de 164 μ m em seu maior diâmetro, e formações não classificáveis. Foram visualizadas formações espiroideas (*spiral-wharves*) que mediam em comprimento até 305 μ m, com intensa ramificação (Figura 44).

Figura 44 – Terminações nervosas livres alongadas e finas partindo do tecido conjuntivo em direção à mucosa e camada muscular (A). Terminações nervosas livres em proximidade a glândulas seromucosas (B). Feixe nervoso (C). Fibra nervosa deixando o fascículo em direção às fibras musculares (D). Formação nervosa complexa *Ruffini-like* envolvida por fibras musculares (E). Formação nervosa complexa oval (F). Terminação nervosa complexa não classificável (G). *Spiral-wharves* (H)



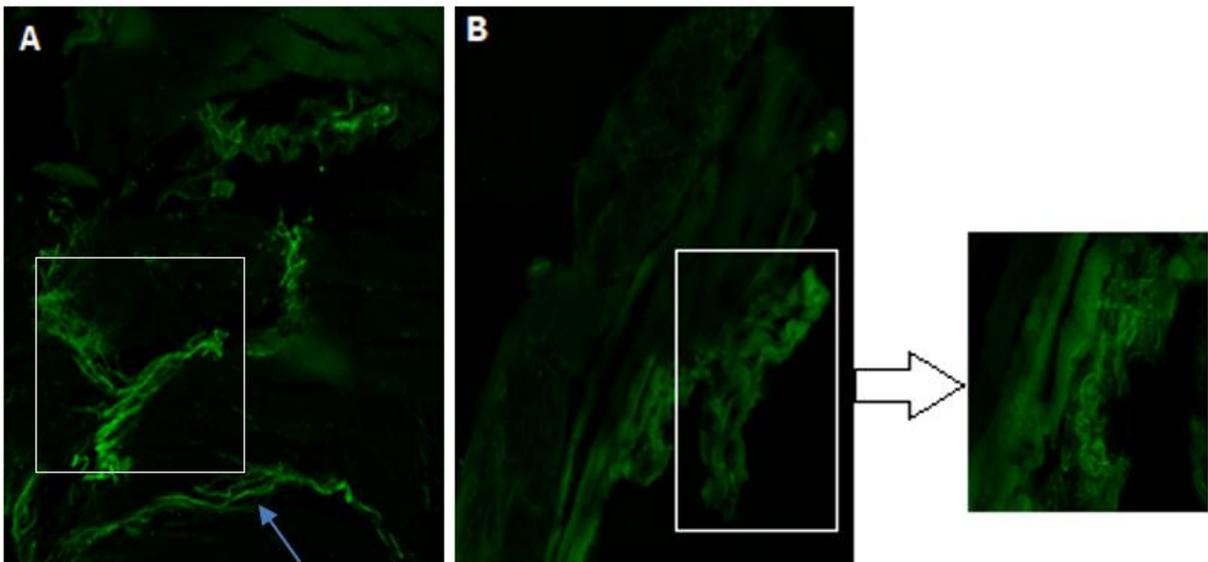
Barra = 100 μ m e objetiva com aumento de 10x (A, D), 20x (B,C,G,H) e 40x (E, F)
Fonte: elaborada pelo autor.

4.2.3.2 Grupo Caso

Dentre os três músculos do grupo Caso analisados, o MCSF demonstrou a menor variedade de formações nervosas, em contraste ao que foi observado no grupo Controle. Evidenciou-se o mesmo padrão de dispersão de fibras musculares do músculo palatoglosso.

Foram visualizadas formações nervosas tipo *network* e fibras nervosas emaranhadas, concentrando-se principalmente sob as fibras musculares, diferentemente dos músculos anteriores estudados, que tinham localização predominante na periferia (Figura 45).

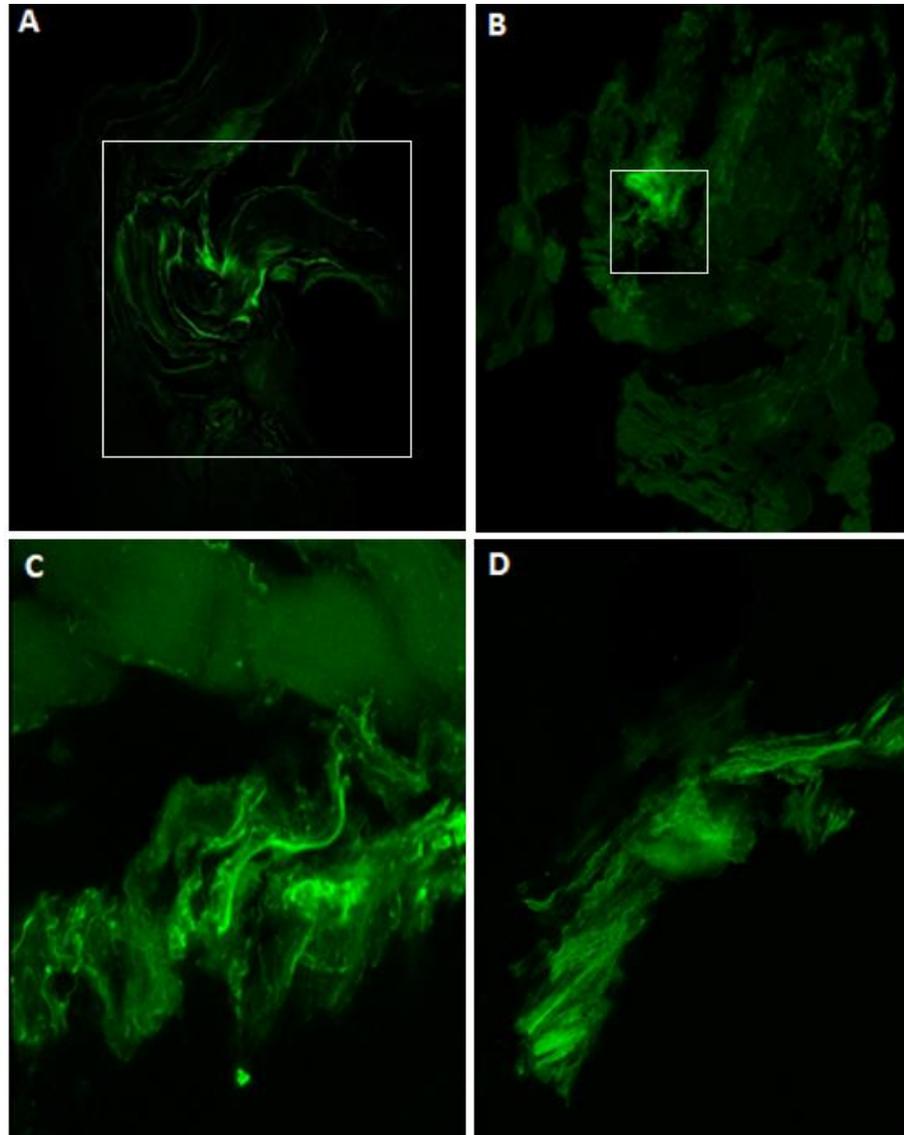
Figura 45 – Formação nervosa tipo *network* (dentro do retângulo) e terminação nervosa livre logo abaixo (A). Fibras nervosas emaranhadas sob fibras musculares esparsas (B)



Barra = 100µm e objetiva com aumento de 10x (B) e 20x (A)
 Fonte: elaborada pelo autor.

Os corpúsculos sensoriais não demonstraram a mesma nitidez e riqueza de detalhes observados no grupo Controle. Foram visualizadas terminações nervosas complexas com emissão de ramificações radiais e formações nervosas *Ruffini-like*. As estruturas *spiral-wharves* também foram ilustradas, entretanto com padrão dismórfico e hipotrófico (Figura 46).

Figura 46 – Formação nervosa complexa não classificável (A e B), exibindo uma maior concentração de fibras nervosas com ramificações radiais na periferia (B). Corpúsculo sensorial de aspecto arboriforme *Ruffini-like*, que emite ramificações ao longo do músculo (C). *Spiral-wharves* (D)



Barra =100 μ m e objetiva com aumento de 10x (A e B) e 20x (C e D)
Fonte: elaborada pelo autor.

Os diversos tipos de terminações nervosas encontradas nas amostras relativas aos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF dos grupos controle e caso podem ser visualizados na Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 – Distribuição das terminações nervosas entre os músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe do grupo Controle

Terminações Nervosas	Palatoglosso	Palatofaríngeo	Músculo Constritor Superior da Faringe
Terminações Nervosas Livres	X	X	X
Formação Ruffini-like	X	X	X
Formação Golgi-like	X	X	
Formação Meissner-like	X		
Formação complexa oval			X
Spiral-wharves	X		X
Formação Network	X	X	
Formação complexa não classificável			X
Feixes Nervosos	X	X	X
Fascículos Nervosos			X
Fusos Musculares	X		

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 6 – Distribuição das terminações nervosas entre os músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe do grupo Caso

Terminações Nervosas	Palatoglosso	Palatofaríngeo	Músculo Constritor Superior da Faringe
Terminações Nervosas Livres	X	X	X
Formação Ruffini-like	X		X
Formação Golgi-like		X	
Formação Meissner-like		X	
Formação Network	X	X	X
Spiral-wharves	X	X	X
Feixes Nervosos	X	X	
Formação complexa não classificável		X	X

Fonte: elaborada pelo autor.

4.3 Densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe

4.3.1 Grupo Controle

Os resultados foram expressos de acordo com o percentual de área imunomarcada pelo anticorpo PGP 9.5 das fibras nervosas conforme Figura 40. A média da densidade das fibras nervosas aferida no grupo Controle foi 0,06% no músculo palatoglosso, 0,12% no músculo palatofaríngeo e 0,21% no MCSF. Quando foram comparadas as médias da densidade das fibras nervosas das amostras selecionadas, observou-se uma diminuição da densidade das fibras nervosas na região de palatoglosso quando comparada ao grupo do MCSF (Tabela 7). As representações gráficas foram expressas na Figura 47.

Tabela 7 – Média da densidade das fibras nervosas dos músculos constritor superior da faringe, palatoglosso e palatofaríngeo, expressas em termos percentuais

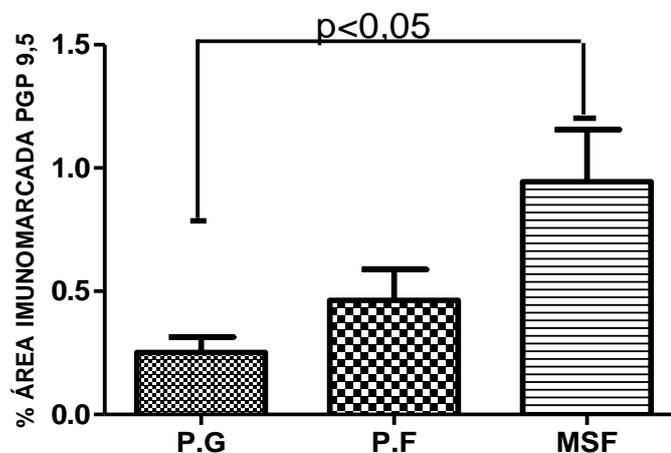
MCSF	Palatoglosso	Palatofaríngeo
0,21(0,54±1,32)	0,06(0,09±0,54)*	0,12 (0,16±1,25)

Os dados representam média±EPM (erro padrão de média) e foram analisados por meio do teste de Kruskal– Wallis (dados não paramétricos) e pós-teste de Dunn's, onde * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo MCSF.

MCSF= Músculo Constritor Superior da Faringe.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 47 – Porcentagem da área imunomarcada nas fibras nervosas dos músculos constritor superior da faringe, palatoglosso e palatofaríngeo



Os dados representam média±EPM (erro padrão de média) da área imunomarcada, analisados por meio do teste de Kruskal– Wallis (dados não paramétricos) e pós teste de Dunn's.

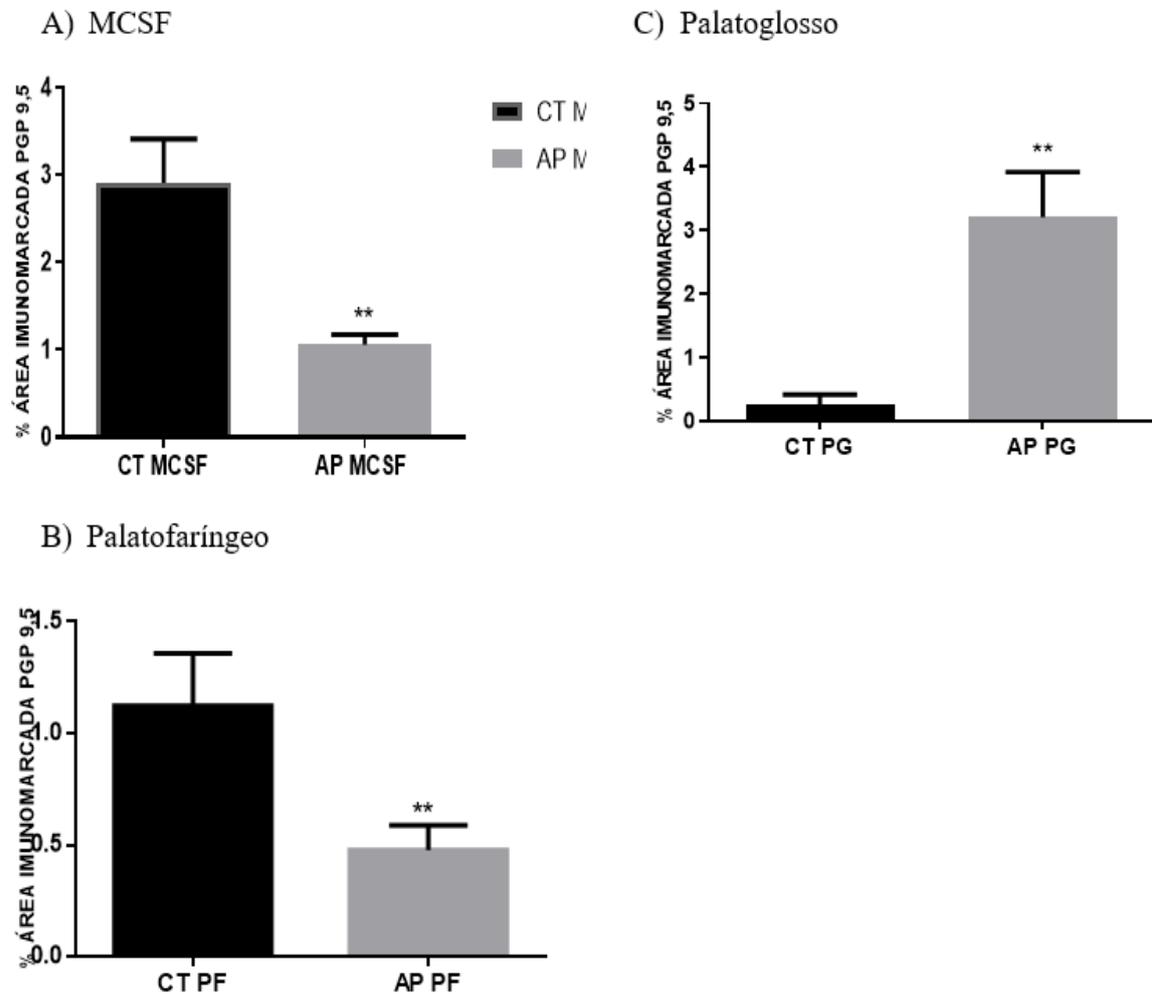
PG = Palatoglosso; PF = Palatofaríngeo; MSF = Músculo Constritor Superior da Faringe.

Fonte: elaborada pelo autor.

4.3.2 Grupo Controle versus Caso

Quando as densidades das fibras nervosas dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF do grupo Caso foram comparadas em relação ao grupo Controle, observou-se uma diminuição na densidade das fibras nervosas dos músculos palatofaríngeo e MCSF, considerando $p < 0,05$ versus controle. Curiosamente, foi observado um aumento da densidade nervosa no grupo palatoglosso em relação ao Controle (Figura 48 e Tabela 8).

Figura 48 – Comparação da densidade nervosa dos músculos constritor superior da faringe (A), palatofaríngeo (B) e palatoglosso (C) entre o grupo não apneico (controle) e o grupo apneico (caso) através do cálculo de porcentagem da área imunomarcada por PGP 9.5. CT = grupo Controle, AP = grupo apneico, MCSF = músculo constritor superior da faringe, PF = palatofaríngeo, PG = palatoglosso



Legenda: Todos os dados foram apresentados como média + EPM onde $*=p < 0.05$ quando comparado com o grupo Controle. Foi utilizado o teste Mann-Whitney.

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 8 – Comparação da média da densidade das fibras nervosas dos músculos constritor superior da faringe, palatoglosso e palatofaríngeo entre pacientes do grupo Controle e Caso, expressas em termos percentuais

CONT vs MCSF	CONT vs Palatoglosso	CT vs Palatofaríngeo
0,5018 (1,350±4,346)**	0,06169 (0,0910±0,5440)**	0,2359 (0,3490±2,249)**

Legenda: Os dados representam média ± EPM (erro padrão da média e foram analisados por meio do teste de Mann-Whitney, onde * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo Controle. CONT=controle, MCSF=músculo constritor superior da faringe.

Fonte: elaborada pelo autor.

4.4 Análises de correlação entre variáveis clínicas quantitativas

4.4.1 Análise de correlação entre densidade nervosa dos músculos e idade

Não foram identificadas correlações significativas entre as densidades nervosas dos músculos palatoglosso ($p=0,215$), palatofaríngeo ($p=0,760$) e MCSF ($p=0,939$) e a idade dos pacientes (Tabela 9).

Tabela 9 – Análise de correlação entre idade e densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF utilizando o teste de correlação de *Spearman*. PTGLOSSO, palatoglosso; PTFARÍNCEO, palatofaríngeo; MCSF, músculo constritor superior da faringe

	r	p-valor
PTGLOSSO	- 0,536	0,215
PTFARÍNCEO	- 0,143	0,760
MCSF	- 0,036	0,939

Fonte: elaborada pelo autor.

4.4.2 Análise de correlação entre densidade nervosa dos músculos e indicadores polissonográficos

Para as análises de correlação entre a densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF e os indicadores polissonográficos de gravidade da AOS (IAH, nadir O₂ e TTS 90), foi utilizado o teste de correlação de *Spearman*, a fim de avaliar a influência da densidade nervosa dos três músculos no prognóstico da doença (Tabela 10).

Não foram identificadas correlações significativas entre a densidade nervosa do músculo palatoglosso e os índices de polissonografia analisados. Todas as correlações entre as variáveis clínicas da pesquisa podem ser observadas no Apêndice I.

Tabela 10 – Correlação entre a densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF e os índices polissonográficos indicativos de gravidade da doença (IAH, Nadir O2, TTS 90). Correlações estatisticamente significativas estão em negrito. PTGLOSSO, palatoglosso; PTFARÍNGEO, palatofaríngeo; MCSF, músculo constritor superior da faringe; IAH, índice de apneia-hipopneia; Nadir O2, saturação mínima de oxiemoglobina; TTS 90, percentual do tempo total de sono com saturação de oxiemoglobina abaixo de 90%

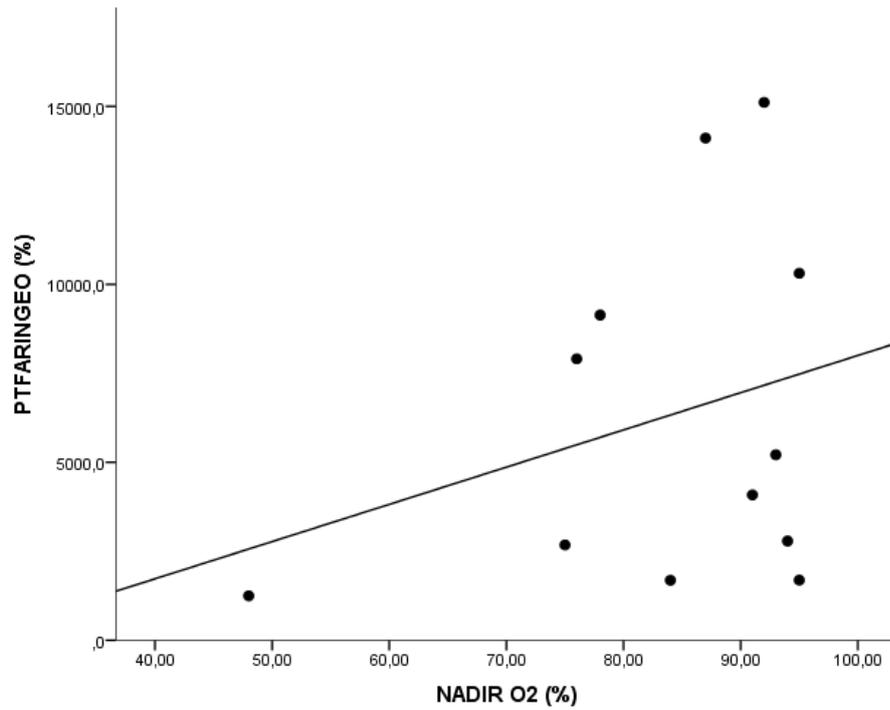
		IAH	NADIR O2	TTS 90 (%)
PTGLOSSO	r	-0,643	0,357	-0,2
	p-valor	0,119	0,432	0,704
PTFARÍNGEO	r	-0,75	0,786	-0,543
	p-valor	0,052	0,036	0,266
MCSF	r	-0,929	0,679	-0,829
	p-valor	0,003	0,094	0,042

Fonte: elaborada pelo autor.

4.4.2.1 Densidade nervosa em pixels do músculo palatofaríngeo x Nadir O2

Houve uma forte correlação diretamente proporcional entre a densidade nervosa do músculo palatofaríngeo e o nadir da saturação da oxiemoglobina (Nadir O2) ($r=0,786$; $p=0,036$), podendo inferir-se que uma menor densidade nervosa do músculo palatofaríngeo está correlata a um menor valor do nadir O2, que é a saturação mínima da oxiemoglobina observada durante o exame (Figura 49).

Figura 49 – Análise de correlação da densidade nervosa do músculo palatofaríngeo com Nadir O2

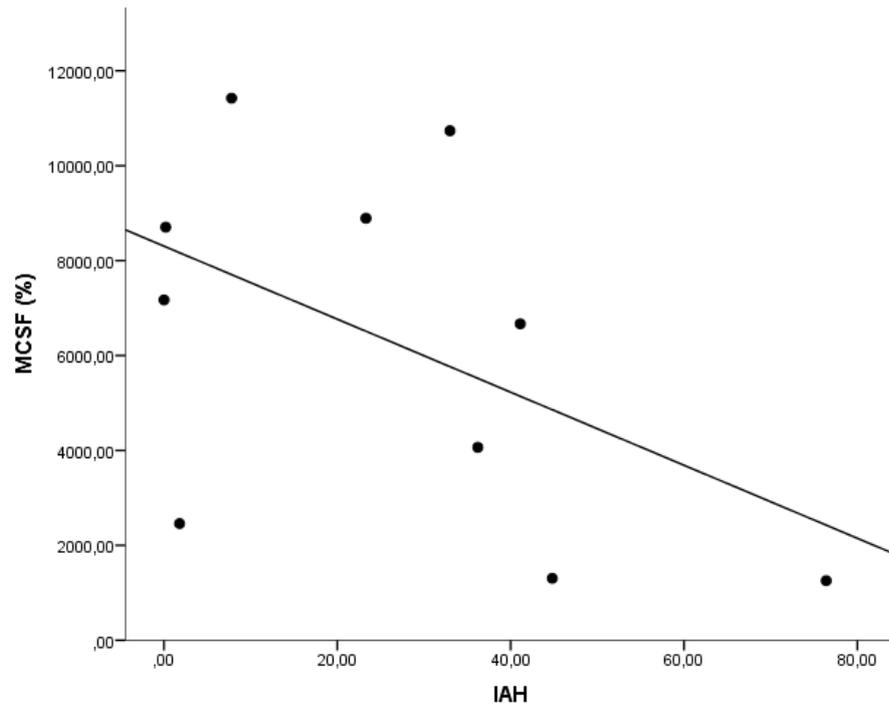


Fonte: elaborada pelo autor.

4.4.2.2 Densidade nervosa em pixels do MCSF x IAH

Observou-se uma correlação muito forte e inversamente proporcional entre a densidade nervosa do MCSF e o IAH ($r = -0,929$; $p = 0,003$). No caso, quanto mais deficiente a densidade nervosa encontrada no músculo, maior o IAH observado (Figura 50).

Figura 50 – Análise de correlação da densidade nervosa do MCSF com IAH

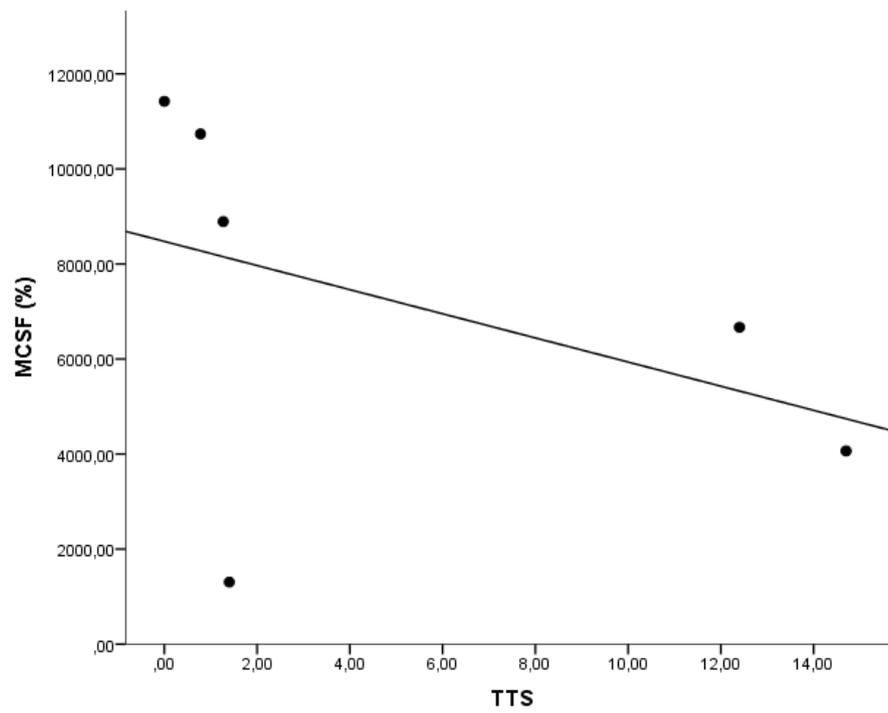


Fonte: elaborada pelo autor.

4.4.2.3 Densidade nervosa em pixels do MCSF x TTS 90 (%)

Constatou-se uma forte correlação inversamente proporcional ($r=-0,829$; $p=0,042$) entre a densidade nervosa do MCSF e o índice polissonográfico indicativo de gravidade da doença, no caso o percentual do tempo total de sono no qual a saturação de oxiemoglobina ficou abaixo de 90% (TTS 90) (Figura 51).

Figura 51 – Análise de correlação da densidade nervosa do MCSF com TTS 90 (%)



Fonte: elaborada pelo autor.

5 DISCUSSÃO

A regulação neuronal coordenada dos músculos da faringe é fundamental para o controle adequado do tamanho e da resistência das Vias Aéreas Superiores (VAS). O mecanismo fisiopatológico para o colapso das VAS em pacientes com AOS ainda não está completamente elucidado. Vários trabalhos mostraram a ocorrência de neuropatia faríngea em pacientes portadores de AOS. Considerando a participação da parede lateral da faringe no colapso da via aérea superior durante o episódio de apneia, infere-se a importância do estudo da inervação sensorial proprioceptiva dos músculos que a compõem, notadamente o palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe. Esses músculos são classificados como esqueléticos e se possuem um padrão de inervação sensorial proprioceptiva, este ainda não foi profundamente estudado e publicado.

Nessa perspectiva, duas teorias têm sido propostas para explicar a fisiopatologia da AOS: a teoria obstrutiva, que postula que a hipertrofia muscular e a hiperplasia linfóide ocasionam um estreitamento da VAS, e a teoria neurogênica, a qual postula que a degeneração nervosa periférica decorrente do trauma do estiramento dos tecidos faríngeos ou de doenças sistêmicas ocasiona atrofia muscular e colapso (Saboisky *et al.*, 2012; Tsai *et al.*, 2013). Em pacientes com AOS, há alterações em sensibilidade, propriedades musculares e tônus neural da via aérea superior. Porém, enquanto as fibras musculares e as fibras nervosas motoras em pacientes com AOS têm sido profundamente estudadas (Lindman; Stal, 2002; Boyd *et al.*, 2004; Saboisky *et al.*, 2012), o potencial papel do dano nervoso sensorial na AOS não tem sido suficientemente investigado (Kimoff *et al.*, 2001; Nguyen *et al.*, 2005).

A integridade funcional dos músculos que compõem a parede lateral e posterior da faringe é importante para a manutenção da estabilidade e da patência da VAS durante a inspiração. Dentre as variáveis identificadas na condição fisiopatológica da apneia, destaca-se a habilidade desses músculos em responder a alterações respiratórias (hipoxemia e hipercapnia) e à pressão negativa e a capacidade de trabalhar de forma coordenada para proteger a VAS do colapso (Jordan *et al.*, 2007). Reconhecida a importância do estudo sensorial para compreensão da fisiopatologia da AOS, o objetivo do estudo foi caracterizar as terminações nervosas dos músculos da parede lateral da faringe e verificar se pacientes com AOS apresentam alterações nos padrões histomorfométricos de inervação sensorial proprioceptiva nesses músculos se comparados a pacientes não apneicos.

Alguns estudos tentaram demonstrar alterações histológicas do músculo palatofaríngeo em pacientes com AOS, porém observaram-se conclusões conflitantes e

metodologias bastante diferentes entre si, tanto na escolha do grupo de estudo quanto nas preparações histológicas das amostras estudadas (Woodson; Garancis; Toohill, 1991; Edström; Larsson; Larsson, 1992; Friberg *et al.*, 1998; Lindman *et al.*, 2002; VUONO *et al.*, 2007). Em relação aos trabalhos sobre inervação proprioceptiva faríngea, os estudos são ainda mais escassos e foram realizados em cadáveres, focando principalmente no MCSF em virtude do papel proprioceptivo desse músculo para a fisiologia da VAS (Carlos *et al.*, 2013; García *et al.*, 2012). Apesar de pouco estudado na literatura, o músculo palatoglosso também apresenta relevância proprioceptiva, já que foram encontrados fusos musculares em estudos prévios com coloração de Gomori (Liss, 1990). Não obstante, as novas técnicas cirúrgicas para o tratamento de AOS (faringoplastia lateral e faringoplastia expansora) atuam sobre os músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF. Nesse contexto, identificou-se uma lacuna no conhecimento: pesquisas incluindo os músculos da parede lateral da faringe.

A triagem no grupo Controle foi rigorosa, com a exclusão de 17 pacientes da amostra inicial, para minimizar os vieses da pesquisa. A metodologia para a constituição dos critérios de inclusão e exclusão dos pacientes no grupo de estudo foi semelhante à utilizada no trabalho de Duarte *et al.* (2016), que comparou a análise histológica das fibras dos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe entre indivíduos com e sem AOS.

A triagem dos pacientes com ausência de AOS para o grupo Controle foi baseada na aplicação de questionários ambulatoriais e no exame de Tonometria Arterial Periférica (TAP). O questionário STOP-BANG também foi aplicado por ser considerado ideal para triagem de AOS, especialmente por sua grande sensibilidade e pelo alto valor preditivo negativo (Ong *et al.*, 2010). O questionário de Berlim também foi utilizado como questionário de triagem. Chung *et al.* (2008) realizaram um estudo para prever o risco de AOS e validar o questionário de Berlim como uma ferramenta de triagem. Assim, eles concluíram que a maior parte dos diagnosticados (80%) tinha alto risco para AOS e que o instrumento pode ser aplicado para diagnóstico. Todavia, ele pode ser complementado com questionários associados a dados da história dos pacientes.

Optou-se pelo exame de TAP para este propósito, por se tratar de um dispositivo portátil de fácil manuseio e maior comodidade para o paciente, já que dispensa a sua realização em um laboratório de sono, cujos resultados são prontamente disponibilizados e interpretados, além de possuir um algoritmo automatizado que minimiza variações de resultado examinador dependente. Há vários estudos de validação da TAP como método diagnóstico de AOS. Schnall *et al.* (1999) relataram uma alta correlação entre os valores de IAH na polissonografia laboratorial e da TAP ($r=0,92$, $p < 0,0001$). Já Pang *et al.* (2007) encontraram uma boa

correlação do IAH ($r = 0,9288$, $p < 0,0001$) e da saturação mínima de oxigênio ($r = 0,9891$, $p < 0,0001$) entre a polissonografia e o monitor portátil que avalia a TAP. Outros autores também encontraram alta correlação entre os valores de IAH da TAP e da polissonografia laboratorial (Bar *et al.*, 2003; Ayas *et al.*, 2003; Bresler *et al.*, 2008; Choi *et al.*, 2010; Hedner *et al.*, 2011). A grande diferença entre esse monitor portátil e os demais existentes é que a identificação dos eventos respiratórios, tais como apneia e hipopneia, é realizada por meio de variação do sinal do tônus arterial periférico, sem necessidade de medidas convencionais de fluxo aéreo e esforço respiratório (Hedner *et al.*, 2004).

Para a confirmação do diagnóstico de AOS nos pacientes do grupo Caso, todos realizaram exame de polissonografia. O intuito inicial era que todos os pacientes desse grupo realizassem a polissonografia tipo 1 por se tratar do *gold standard* para o diagnóstico dos distúrbios do sono e ser um exame mais completo; entretanto, dentre os sete pacientes, dois realizaram polissonografia domiciliar, tendo como motivação principal a pandemia de Covid-19 e as restrições sanitárias dos laboratórios do sono. Acredita-se que não houve influência na preservação da uniformidade do grupo, já que os estudos de metanálise envolvendo polissonografia tipo III demonstraram especificidade e sensibilidade bem satisfatórias, não afetando, assim, a confiabilidade dos resultados (El-Shayeb *et al.*, 2014).

A maioria dos estudos histológicos envolvendo AOS na literatura não utilizaram nenhuma modalidade de exame de polissonografia para descartar a doença em pacientes do grupo Controle. Em um estudo dos efeitos neurogênicos do músculo palatofaríngeo em pacientes com AOS, o grupo Controle incluía sete indivíduos do sexo masculino e era baseado apenas na história clínica de roncos ou outros sintomas sugestivos de AOS, sem a realização de exames complementares de maior acurácia diagnóstica (Edström; Larsson, Larsson, 1992). No estudo de Boyd *et al.* (2004), que avaliou denervação de pacientes com e sem AOS, o rastreamento ocorreu por meio de questionários. Há, portanto, a possibilidade de tais estudos subestimarem a magnitude das alterações reportadas.

Um estudo histológico do músculo palatofaríngeo em crianças com ronco e AOS (Vuono *et al.*, 2007) utilizou critérios polissonográficos para dividir os pacientes em três grupos: grupo I (exame normal), grupo II (ronco primário) e grupo III (AOS). Outro estudo que buscou avaliar a relação entre as alterações estruturais do músculo palatofaríngeo e AOS também utilizou a polissonografia no grupo Controle de 17 pacientes com tonsilite crônica para descartar AOS (Shi *et al.*, 2013). Em uma revisão sistemática de trabalhos avaliando o papel da injúria neural na patogênese da AOS (Saboisky *et al.*, 2012), a avaliação polissonográfica como

critério para triagem dos pacientes foi observada em apenas quatro estudos, dentre os quais está o de Vuono *et al.* (2007).

Tendo em vista que a incidência da AOS aumenta com avanço da idade e que esta pode influenciar as análises morfológicas de músculos em humanos, houve um cuidado especial na seleção dos grupos de estudo. O pareamento por faixa etária nesse tipo de estudo gera muita dificuldade, já que controles não apneicos com indicação de tonsilectomia para tratamento de tonsilite de repetição ou tonsilite crônica caseosa são em geral pacientes jovens, enquanto que portadores de AOS grave costumam ter faixa etária mais elevada (Tufik *et al.*, 2010). Outros estudos com foco na análise histológica de músculos faríngeos também demonstraram grupos de apneicos com faixa etária mais elevada que os controles (Woodson; Garancis; Toohill, 1991; Edström; Larsson; Larsson, 1992; Friberg *et al.*, 1998; Lindman; Stal, 2002; Dantas *et al.*, 2012). Apesar de a idade ser um importante fator considerado na patogênese da AOS, não foi identificada correlação com a densidade nervosa dos três músculos estudados na presente pesquisa. No estudo de Carlos *et al.* (2015), a inervação da faringe também não demonstrou ter influência da faixa etária, observando-se que a densidade nervosa da orofaringe e da hipofaringe permanece constante com a idade tanto no grupo Controle como no grupo Caso.

Durante a decisão da escolha do grupo de estudo da presente pesquisa, optou-se por selecionar pacientes com características anatômicas faríngeas e craniofaciais homogêneas, a fim de minimizar o possível viés da alteração anatômica na análise dos resultados, haja vista que deformidades craniofaciais significativas, como retrognatia, retrusão maxilar ou retrusão maxilo-mandibular, aumentam o risco de distúrbios respiratórios obstrutivos do sono (Eckert; Malhorta, 2008). Dessa forma, acredita-se que as características de faixa etária, como IMC, anatomias faríngea e craniofacial, e dados polissonográficos dos grupos com e sem AOS demonstraram que a seleção dos indivíduos foi adequada, permitindo uma análise consistente dos resultados obtidos.

Dentre os 23 indivíduos avaliados durante a triagem inicial para o grupo Controle, 16 foram do sexo feminino e sete, do sexo masculino. Considerando a elevada prevalência de AOS em homens, houve uma limitação na inclusão de indivíduos do sexo masculino, sem apneia, neste grupo Controle. Extenso estudo realizado na comunidade por Young *et al.*, em 1993, demonstrou prevalência de AOS de 9% em mulheres e 24% em homens, usando como critério o Índice de Apneia e Hipopneia (IAH) > 5 , em indivíduos de 30 a 60 anos. Houve ainda uma proporção de homens para mulheres de 3:1. No grupo avaliado no estudo de inervação sensorial proprioceptiva da faringe em cadáveres, nos trabalhos de Carlos *et al.* (2013) e García *et al.* (2012), constavam sete indivíduos, sendo quatro do sexo masculino no primeiro estudo e

cinco no segundo estudo. Não foi evidenciada distinção morfológica das formações nervosas entre os sexos. Em outro estudo de temática semelhante na literatura, comparando indivíduos com e sem AOS, também não foi verificada influência do sexo do indivíduo no padrão de inervação da orofaringe e hipofaringe (Carlos *et al.*, 2015). Para a constituição do grupo Caso, todos os indivíduos foram do sexo masculino, buscando, dessa forma, manter a homogeneidade do grupo e evitar a influência do viés do sexo na análise dos resultados nesse grupo. Por outro lado, não foi possível estabelecer correlações estatísticas envolvendo a variável sexo do indivíduo, como a correlação com a densidade nervosa dos músculos da parede lateral da faringe, sendo essa uma importante limitação do trabalho. Essa estratégia de utilizar todos os indivíduos do sexo masculino no grupo de apneicos também foi utilizada no trabalho de Duarte *et al.* (2016). Além disso, como a incidência de AOS no sexo feminino aumenta principalmente após a menopausa, há uma restrição maior nas indicações cirúrgicas em virtude da faixa etária.

A avaliação histológica pela coloração hematoxilina-eosina no grupo Controle demonstrou que as diversas camadas não haviam sofrido alterações importantes, garantindo a integridade dos tecidos analisados. No estudo das lâminas do grupo Controle, não foi constatada a presença de processos inflamatórios nas amostras estudadas, assegurando-se, assim, que a inflamação crônica das tonsilas não interferiu na análise das terminações nervosas sensitivas dos tecidos analisados. No presente estudo, observaram-se fibras musculares desconectadas, mas que mantinham um padrão regular de coloração com hematoxilina-eosina.

Em relação ao estudo com coloração de hematoxilina-eosina do grupo Caso, foram encontradas nos três músculos alterações histológicas relacionadas à AOS. No músculo palatoglosso, merece destaque a intensa vacuolização das glândulas decorrente de degeneração lipídica, indicando a ocorrência de estresse e fatores agressores típicos de eventos obstrutivos do sono, assim como alterações na arquitetura do tecido muscular, como atrofia e hipertrofia muscular compensatória, características relacionadas à fisiopatologia da AOS. As fibras musculares demonstraram importante variabilidade de tamanho e aumento do espaço entre as fibras, compatível com os estudos de Woodson *et al.* (1991), Edström, Larsson e Larsson (1992), Molina *et al.* (2010) e Duarte (2017).

Também se constatou a presença de inflamação nos três músculos estudados, destacando-se a presença de células de Langerhans no músculo palatofaríngeo e intenso processo inflamatório no MCSF, onde foi verificada a maior variabilidade de células inflamatórias, como infiltrado linfo-histiocitário. Sabe-se que a inflamação crônica pode desempenhar importante papel na patogênese da AOS, corroborando os estudos de Sekosan *et al.* (1996) e Boyd *et al.* (2004).

Houve uma redução significativa na visualização das estruturas nervosas de todos os músculos em relação ao grupo Controle, principalmente no MCSF, provavelmente o mais afetado. Observaram-se corpúsculos sensoriais, estruturas nervosas degeneradas e dismórficas e raros feixes vasculonervosos. Um padrão de denervação das fibras nervosas também foi evidenciado em estudos de temática semelhante de Lindman e Stal (2002), Boyd *et al.* (2004), Saboisky *et al.* (2012) e Bassiony (2014), observando-se, neste último, inclusive, degeneração severa total de todas as fibras nervosas em amostras de úvula de pacientes com AOS.

Outros trabalhos também tiveram a preocupação de estudar a histologia com hematoxilina-eosina para verificar a integridade da amostra (Leite *et al.*, 2016; Peixoto, 2017). Em um estudo histológico do músculo palatofaríngeo que buscava avaliar a hipótese de progressão da doença em pacientes roncoadores, foram obtidas biópsias de 21 pacientes com ronco habitual e AOS e 10 indivíduos não roncoadores do grupo Controle. Neste, foram visualizadas, através da coloração com hematoxilina-eosina, variações ligeiramente maiores no tamanho das fibras, com ocorrência de fibras atroficas arredondadas, aumento na incidência de núcleos localizados centralmente e coloração irregular das fibras (Friberg *et al.*, 1998). A análise histológica dos músculos da parede lateral da faringe é fundamental para fornecer *insights* sobre as possíveis alterações estruturais e funcionais dos músculos nessa condição patológica.

Para este estudo, foi selecionado o anticorpo primário marcador pan-axonal antiproduto gênico proteico PGP 9.5 em virtude de sua característica de ser um marcador neural mais geral, não restrito a subpopulações de células nervosas, resultando em uma visão mais ampla da inervação do tecido analisado, verificado em estudos realizados em tecidos humanos (Jew *et al.*, 2003; Hilliges *et al.*, 1996; Johnson; Eller; Jafek, 1997) e de animais (Yamamoto *et al.*, 1998; Johnson, 2000). O fluoróforo Alexa Fúor 488 foi conjugado ao PGP 9.5.

O uso da imunofluorescência para avaliar estruturas nervosas e suas terminações foi inicialmente proposto em modelo experimental com ligamentos do punho (Jew *et al.*, 2003), sendo aplicado posteriormente no ligamento dorsal radiocarpal (Tomita *et al.*, 2007), na articulação interfalangeana proximal e na articulação interfalangeana distal (Chikenji *et al.*, 2010). A maior vantagem desse método é a possibilidade de ser utilizada a Microscopia Confocal com Varredura a Laser (MCVL). Na microscopia convencional, é necessário o uso de cortes finos, haja vista que cortes mais espessos, maiores que três a cinco micrômetros, após a magnificação, produzem imagens ruins com menor contraste e resolução, em virtude da dissipação da luz por regiões não focadas, resultando em imagens que correspondem a planos de foco combinados. A microscopia confocal a laser possui a propriedade de focar a imagem

adquirida com grande resolução e mínima perda do contraste no plano desejado, possibilitando a análise detalhada de estruturas nervosas em sua quase totalidade, sendo, pois, o método ideal para descrever e quantificar receptores sensitivos. No presente trabalho, a técnica de imunofluorescência foi a mesma utilizada por Jew e colaboradores (2003), diferenciando-se pela diluição do anticorpo primário, que foi alterada de 1:400 para 1:200, já que essa concentração se mostrou mais adequada para a marcação das estruturas nervosas de interesse. A metodologia proposta se mostrou efetiva para avaliar com detalhes a morfologia das terminações nervosas da faringe.

Consistentemente, os músculos faríngeos foram considerados livres de fusos musculares (Kuehn; Templeton; Maynard, 1990; Liss, 1990). No presente estudo do grupo Controle, não foram encontradas evidências morfológicas e imuno-histoquímicas para a presença de fusos musculares nos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe, corroborando a análise de Carlos *et al.* (2013) e García *et al.* (2012), que focaram principalmente no MCSF. Entretanto, foram visualizados fusos musculares no músculo palatoglosso, o que está de acordo com dados da literatura (Bossy; Vidic, 1967; Sengupta; Sengupta, 1978). Isso poderia ser explicado pela procedência controversa do músculo palatoglosso, considerado por vários autores como um músculo extrínseco da língua (Moore; Dalley; Agur, 2011; Willians, 1995), e não como um músculo da faringe. Lazarov (2007) afirma que o nervo trigêmeo é responsável pela inervação sensorial proprioceptiva em todos os músculos cefálicos. Como a faringe não tem inervação do nervo trigêmeo, foi considerada a possibilidade de existir um sistema proprioceptivo atípico capaz de substituir os fusos musculares nessa função. Não foram visualizados fusos musculares no estudo dos músculos do grupo Caso.

Na presente pesquisa, foram identificadas terminações nervosas complexas nos três músculos estudados do grupo Controle, incluindo formações tipo Meissner, no músculo palatoglosso; tipo Golgi, nos músculos palatoglosso e palatofaríngeo; e tipo Ruffini, nos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF. Com base apenas em sua morfologia, essas estruturas nervosas sensoriais podem ser identificadas como mecanorreceptores, entretanto não podem ser assimiladas funcionalmente àquelas presentes em outras localizações do corpo, especialmente na pele. Carlos *et al.* (2013) analisaram amostras da faringe humana utilizando os marcadores como anticorpo contra PGP 9.5, anticorpo contra enolase neuronal específica, anticorpo contra neurofilamento 200kDa e anticorpo contra proteína S100. Foram visualizadas diferentes formas de receptores sensitivos nas paredes da faringe, incluindo formações corpusculares complexas tipo Pacini, tipo Ruffini e tipo Meissner. Em trabalho semelhante de

García (2012), observaram-se, na camada muscular da faringe humana, diferentes morfotipos de formações nervosas sensitivas, com muitos casos tipo Ruffini. Trabalhos realizados em humanos, avaliando a mucosa da cavidade oral e da laringe, também identificaram a presença de terminações nervosas corpusculares (Hilliges *et al.*, 1996; Villaverde *et al.*, 1994; Leite *et al.*, 2016).

Os corpúsculos sensoriais também foram encontrados no grupo Caso, porém menores, muitos com aspecto atrófico ou hipotrófico, sugerindo uma distorção anatômica causada pelas AOS. A maior variedade dessas estruturas foi observada no músculo palatofaríngeo, e, dentre as formações corpusculares clássicas, as terminações nervosas tipo Ruffini foram as mais encontradas. Enquanto o MCSF demonstrou um padrão de inervação bastante robusto e diversificado no grupo Controle, o mesmo não foi observado no grupo Caso, parecendo ter sido o músculo mais afetado dentre os três estudados. Em vista da importância crucial desse músculo para a fisiologia da faringe e a manutenção da estabilidade da parede lateral durante o sono, esse comprometimento sensorial qualitativo parece ter relevância significativa na compreensão da fisiopatologia da AOS.

As estruturas mais importantes e promissoras identificadas na pesquisa foram certamente as formações nervosas *spiral-wharves*, identificadas no grupo Controle como longas estruturas nervosas que corriam paralelas às fibras musculares dos músculos palatoglosso e MCSF. Essas estruturas também foram encontradas em todos os músculos estudados no grupo Caso. Pela sua disposição, é possível hipotetizar que essas formações nervosas são passíveis de encurtamento ou alongamento, dependendo das atividades dos músculos da faringe, para desencadear reflexos que adaptam o tônus da musculatura faríngea a uma situação específica. Essas estruturas foram raramente descritas na literatura, destacando-se estudos envolvendo a parede lateral da faringe (Carlos *et al.*, 2013) e pregas vocais de recém-nascidos (Leite *et al.*, 2016). Em estudo comparativo de inervação sensorial da faringe entre pacientes com e sem AOS, as formações nervosas *spiral-wharves* também foram encontradas em ambos os grupos (Carlos *et al.*, 2015), tal qual o presente trabalho. Acredita-se que essas formações, pela sua conformação estratégica, são os principais candidatos a substituir os fusos musculares na função proprioceptiva da faringe.

As terminações nervosas livres foram as formações nervosas mais prevalentes do estudo, sendo encontradas em todas as amostras estudadas e mantendo um padrão de distribuição dos nervos em região submucosa e camada muscular. Fibras nervosas intraepiteliais foram evidenciadas apenas no músculo palatofaríngeo do grupo Controle, e não foram observadas no grupo Caso. No trabalho de Carlos *et al.* (2015), que realizou uma análise

de inervação sensorial qualiquantitativa da orofaringe e hipofaringe, não foram encontradas fibras intraepiteliais em nenhum dos dois grupos. Os aspectos histomorfométricos das terminações nervosas livres identificadas na presente pesquisa são muito semelhantes às características descritas nas publicações de Carlos *et al.* (2013) e Leite *et al.* (2016). Ruoppolo *et al.* (2014) analisaram amostras da epiglote e prega vestibular de adultos corados com PGP 9.5, e foram visualizadas terminações nervosas livres no epitélio das regiões avaliadas. O estudo também evidenciou que a densidade das fibras nervosas era maior na prega vestibular que na epiglote. Os achados do presente trabalho indicam no grupo Controle uma estreita relação entre as terminações nervosas livres e as glândulas seromucosas presentes na lâmina própria e com os vasos sanguíneos, refletindo o importante papel da neuromodulação nos fenômenos de secreção glandular e controle vasomotor. Também foram visualizados nesse grupo feixes nervosos, fascículos e terminações nervosas tipo *network*.

A grande variedade e complexidade das formações nervosas encontradas no grupo Controle da presente pesquisa podem ser explicadas pela metodologia aplicada e pelo fato de o estudo ter englobado, também, os músculos palatoglosso e palatofaríngeo, enquanto os principais trabalhos que abordaram inervação sensorial proprioceptiva da faringe (Carlos *et al.*, 2013; García, 2012) focaram especificamente no MCSF. No grupo Caso, por outro lado, não foi observada essa abrangência e variedade de formações nervosas. Nesse grupo, observou-se um padrão de distribuição das fibras nervosas notadamente concentradas na periferia e a maior parte do plexo vascular ausente ou severamente reduzida, em concordância com o trabalho de Carlos *et al.* (2015). Outro achado interessante foi a grande prevalência de formações nervosas complexas não classificáveis em relação ao grupo Controle. Acredita-se que a distorção anatômica das estruturas ocasionada pela AOS gerou uma dificuldade de identificar os corpúsculos sensoriais mais clássicos, que, ao assumir um padrão dismorfe, foram enquadrados nessa modalidade de classificação dos mecanorreceptores.

Todos os resultados deste trabalho demonstram que os músculos faríngeos estudados são dotados de diferentes tipos de mecanorreceptores, que presumivelmente trabalham como proprioceptores e participam do controle neuronal da via aérea superior e que foram bastante impactados no grupo de pacientes apneicos.

A metodologia aplicada no presente estudo se mostrou bastante eficaz na determinação da porcentagem da área imunomarcada das fibras nervosas pelo PGP 9.5 nos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF. Em relação ao grupo Controle, a média da densidade das fibras nervosas do MCSF foi maior que no músculo palatofaríngeo, o qual, por sua vez, foi superior à média do músculo palatoglosso. A média da densidade nervosa se

mostrou quase três vezes maior no MCSF que no músculo palatoglosso, sendo essa diferença estatisticamente significativa. Isso poderia ser justificado pela relevância fisiológica do MCSF, que forma a parte principal da parede lateral e posterior da faringe e está intimamente associado ao movimento normal das vias aéreas superiores durante a fala, a deglutição e a respiração. Ruoppolo *et al.* (2014) avaliaram a densidade de terminações nervosas aferentes na mucosa da epiglote e da prega vestibular de adultos humanos por microscopia imunoeletrônica utilizando técnicas de imuno-histoquímica coradas pelo PGP 9.5. Com o intuito de avaliar a densidade nervosa da lâmina própria de pregas vocais de recém-nascidos, Leite *et al.* (2016), que também seguiram o método de imunofluorescência com anticorpo primário PGP 9.5, avaliaram as estruturas de interesse através da sua cor e calcularam a densidade em termos percentuais, definida pelo quociente entre a área ocupada pela estrutura de interesse e a área total do campo estudado.

Após estudo comparativo entre os dois grupos, observou-se uma redução na densidade nervosa dos músculos palatofaríngeo e MCSF no grupo de pacientes apneicos. Carlos *et al.* (2015) determinaram a densidade das fibras nervosas da parede lateral da faringe (submucosa e camada muscular) de indivíduos do grupo Controle e com AOS através da avaliação da área imunorreativa para S100P, NSE, ASIC2 e TRPV4 e também constataram uma redução significativa da densidade das fibras nervosas da submucosa e da camada muscular de indivíduos com AOS quando comparados ao grupo Controle. Essa redução da densidade nervosa observada nos músculos palatofaríngeo e MCSF poderia resultar em dano sensorial proprioceptivo, interferindo na eficiência dos reflexos protetivos da VAS e, portanto, contribuindo para o colapso faríngeo, a principal base fisiopatológica para a AOS. Curiosamente, constatou-se um aumento da densidade nervosa no músculo palatoglosso do grupo Caso em relação ao Controle, provavelmente decorrente de questões técnicas, haja vista que as imagens desse músculo foram fortemente impactadas por *backgrounds* pela técnica de imunofluorescência.

Procurou-se analisar a influência da densidade nervosa dos músculos da parede lateral da faringe no prognóstico da AOS através da correlação dos valores quantitativos de densidade nervosa com indicadores polissonográficos de gravidade da doença. Uma menor densidade nervosa do músculo palatofaríngeo mostrou-se fortemente correlata com o menor valor de saturação da oxiemoglobina observado durante o exame, enquanto que, no MCSF, uma densidade nervosa mais deficiente esteve correlata tanto a maiores valores de IAH, considerado o principal indicador de gravidade da doença, quanto a maiores valores percentuais de tempo total de sono com saturação abaixo de 90%. Concluiu-se, assim, que uma menor densidade

nervosa dos músculos palatofaríngeo e MCSF teve correlação estatisticamente significativa com desfechos polissonográficos negativos de AOS. O estudo de Friberg *et al.* (1998) também buscou fazer correlação de alterações histológicas do músculo palatofaríngeo com indicadores polissonográficos, no caso o Índice de Distúrbio Respiratório (IDR), além de verificar em pacientes com AOS um menor número de terminações nervosas em pacientes com maior índice de dessaturação da oxiemoglobina.

Acredita-se, assim, que a inervação sensorial anormal da faringe e a redução da densidade nervosa demonstrada no grupo dos pacientes apneicos podem resultar no comprometimento da função proprioceptiva do reflexo de dilatação da via aérea mediada pelas terminações nervosas aferentes da mucosa faríngea, além de influenciar o prognóstico da doença. Os resultados demonstraram alterações quali-quantitativas das terminações nervosas da parede lateral da faringe, redução do plexo perivascular e corpúsculos sensoriais anormais na camada muscular, assim como desfechos polissonográficos negativos correlatos à densidade nervosa, corroborando a hipótese neurogênica da AOS, objeto de estudo da presente pesquisa. Tais achados estão em concordância com os estudos de Bassiouny *et al.* (2009) e De Bellis *et al.* (2012) na úvula humana de roncoadores apneicos, mas diverge de outros trabalhos, que constataram um elevado número de fibras nervosas na mucosa e nos músculos (Friberg *et al.*, 1997; Boyd *et al.* 2004).

Uma melhor compreensão da fisiopatologia a partir da teoria neurogênica da AOS permite uma maior assertividade na seleção terapêutica ideal para cada indivíduo, como a neuroestimulação do nervo hipoglosso. Um terço dos pacientes com AOS que realizam esse procedimento respondem de forma incompleta apesar de cuidadosa seleção dos pacientes, baseada em critérios antropométricos, tais como IAH, IMC e sonoendoscopia. Um estudo procurou ampliar esses horizontes de indicação a partir da inclusão de conhecimentos da fisiopatologia, demonstrando, em um grupo de pacientes, que uma redução na eficácia dessa modalidade terapêutica estaria associada a uma compensação menos efetiva da musculatura faríngea. Acredita-se, assim, que as informações de inervação mecanossensorial no presente estudo poderiam ter relevância significativa para uma melhor compreensão desses mecanismos envolvidos no sucesso terapêutico (Beeck *et al.*, 2021).

Outro exemplo de aplicação dos conhecimentos dos mecanorreceptores ocorre na farmacoterapia. Wirth, Steinmeyer e Ruetten (2013) investigaram um novo princípio farmacológico efetivo baseado na sensibilização farmacológica dos mecanorreceptores de pressão negativa da via aérea. A administração tópica de um bloqueador de canal de potássio

(AVE0118) em porcos demonstrou potencial para tratar AOS pela sensibilização do reflexo dos mecanorreceptores, abolindo a colapsibilidade da via aérea por mais de quatro horas.

A tonsilectomia das palatinas é uma das mais tradicionais cirurgias realizadas, indicadas, por exemplo, para o tratamento de AOS em crianças, tonsilite recorrente, abscessos peritonsilares de repetição e tonsilite crônica caseosa, além de ser uma das etapas da faringoplastia. A técnica de dissecação extracapsular é atualmente a mais difundida, na qual é realizada a incisão de acesso à loja tonsilar no bordo marginal mediano do músculo palatoglosso, em toda a sua extensão. Como foram visualizados fusos musculares, importantes proprioceptores, no músculo palatoglosso do presente estudo, parece razoável inferir a hipótese de que tratamentos cirúrgicos mais conservadores, com a preservação do pilar amigdaliano anterior, poderiam talvez resultar em maior preservação dessas formações nervosas, com menor impacto da função proprioceptiva.

Optou-se pela técnica de faringoplastia expansora para o tratamento cirúrgico dos pacientes apneicos. No estudo de metanálise de Pang e Woodson (2015), essa cirurgia demonstrou ter resultados clínicos melhores que os métodos tradicionais de tratamento de AOS, com significância estatística. Além disso, é um procedimento seguro de executar por cirurgiões treinados; é anatomicamente correto, com mínimas complicações e excelente resultado pós-operatório.

Acredita-se que o estudo da densidade nervosa dos músculos da parede lateral da faringe em pacientes submetidos à faringoplastia para tratamento de AOS pode ser utilizado em trabalhos futuros com o fito de que se possa correlacionar as alterações quantitativas da inervação sensorial proprioceptiva da faringe com o resultado pós-operatório clínico e polissonográfico, postulando-se, dessa forma, uma influência da inervação sensorial no sucesso terapêutico cirúrgico a despeito das correções anatômicas obstrutivas.

O estudo apresenta, entretanto, algumas limitações que precisam ser esclarecidas para ulteriores trabalhos envolvendo o tema. A pesquisa foi realizada *in vivo*, limitando, dessa forma, a realização de dissecações mais extensas. Além disso, o número de amostras avaliadas foi limitado, e apenas um anticorpo neuronal foi utilizado. Portanto, torna-se necessário um estudo mais abrangente, com mais indivíduos, além de uma maior variedade de anticorpos neuronais e materiais de diferentes regiões da faringe, claramente identificadas e bem dissecadas. Outrossim, a detecção imuno-histoquímica de mecanoproteínas nos músculos faríngeos em futuros estudos poderia ampliar os conhecimentos vigentes das bases moleculares envolvidas na mecanotransdução. Outra limitação do estudo está relacionada ao viés do fator sexo na análise dos resultados. O grupo Controle foi composto majoritariamente por mulheres,

enquanto o grupo Caso foi exclusivo de homens, minimizando o viés intragrupo, porém influenciando as análises comparativas entre os dois grupos.

O estudo da inervação sensorial proprioceptiva faríngea amplia a compreensão da fisiopatologia, auxilia na determinação de fatores de gravidade e no prognóstico da AOS e poderá influenciar a seleção terapêutica e o desenvolvimento de novas terapias farmacológicas. Existem pacientes que respondem de forma diferenciada à determinada modalidade terapêutica, sendo postulada uma influência dos mecanorreceptores para justificar essa diferente responsividade. O estudo descritivo das terminações nervosas da faringe em pacientes com AOS pode contribuir significativamente para a seleção do tratamento considerado ideal para cada indivíduo, evitando a realização de procedimentos desnecessários e aumentando a chance de sucesso terapêutico.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou detalhadamente as diferentes morfologias das terminações nervosas da faringe em humanos com e sem AOS.

No grupo Controle, foram visualizados fusos musculares no músculo palatoglosso e terminações nervosas livres e complexas nos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF.

Foram identificadas também formações nervosas tipo Meissner, no músculo palatoglosso; tipo Golgi, nos músculos palatoglosso e palatofaríngeo; e tipo Ruffini, nos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF.

Foram encontradas longas estruturas nervosas que corriam paralelamente às fibras musculares dos músculos palatoglosso e MCSF, que correspondem à estrutura nervosa tipo *spiral-wharves*. Foram evidenciadas terminações nervosas livres em todas as camadas histológicas dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e MCSF, sendo a formação nervosa mais prevalente nesse grupo.

No grupo Caso, foram observadas anormalidades morfológicas nos corpúsculos sensoriais, com grande prevalência de formações nervosas complexas não classificáveis, e redução do plexo perivascular. As formações nervosas *spiral-wharves* foram observadas em todos os músculos dos pacientes apneicos. O MCSF foi o mais afetado no grupo Caso, evidenciando-se uma menor variedade de formações nervosas.

Observou-se também uma diminuição na densidade das fibras nervosas dos músculos palatofaríngeo e MCSF do grupo Caso em relação ao Controle. Houve uma forte correlação diretamente proporcional entre a densidade nervosa do músculo palatofaríngeo e o nadir da saturação da oxiemoglobina. A densidade nervosa do MCSF mostrou correlação inversamente proporcional com IAH e o percentual do tempo total de sono com saturação de oxiemoglobina abaixo de 90%.

A integridade das estruturas anatômicas da parede lateral da faringe foi demonstrada através da hematoxilina-eosina à microscopia convencional.

O uso da microscopia confocal de varredura a laser e técnica de imunofluorescência com o anticorpo primário PGP 9.5 possui boa aplicabilidade no estudo histomorfométrico das terminações nervosas da faringe de humanos.

REFERÊNCIAS

- AASM. American Academy of Sleep Medicine. Rules, terminology and technical specifications. *In*: BERRY, R.; QUAN, S.; ABREU, A. **The AASM manual for the scoring of sleep and associated events**: rules, terminology and technical specifications, version 2.6. Illinois: Darien, 2020.
- AHMED, Zeshan *et al.* Actin-binding proteins Coronin-1a and IBA-1 are effective microglial markers for immunohistochemistry. **J Histochem Cytochem**, v. 55, n. 7, p. 687-700, mar. 2007.
- ALENCAR NETO, Jonatas Brito de *et al.* Study of the nerve endings and mechanoreceptors of the medial meniscotibial ligament of the knee: a structural and distribution analysis. **The Knee**, v. 42, p. 28-36, 2023.
- ARNARDOTTIR, Erna S. *et al.* Molecular signatures of obstructive sleep apnea in adults: a review and perspective. **Sleep**, v. 32, n. 4, p. 447-470, abr. 2009.
- AURORA, R. Nisha; PATIL, Susheel P.; PUNJABI, Naresh M. Portable sleep monitoring for diagnosing sleep apnea in hospitalized patients with heart failure. **Chest**, v. 154, n. 1, p. 91-98, 2018.
- AYAS, Najib T. *et al.* Assessment of a wrist-worn device in the detection of obstructive sleep apnea. **Sleep Med**, v. 4, n. 4, p. 435-442, set. 2003.
- BAR, Amir *et al.* Evaluation of a portable device based on peripheral arterial tone for unattended home sleep studies. **Chest**, v. 123, n. 3, p. 695-703, mar. 2003.
- BARBÉ, Ferran *et al.* Automobile accidents in patients with sleep apnea syndrome. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 158, n. 1, p. 18-22, jul. 1998.
- BARONE, David. **The Watch-Pat in the sleep laboratory**. Cesareia: Itamar Medical Ltda., 2005.
- BASSIOUNY, A. Heleil *et al.* Electron microscopy study of peripheral nerves in the uvulae of snorers and obstructive sleep apnoea patients. **J Laryngol Otol**, v. 123, n. 2, p. 203-207, fev. 2009.
- BEECK, Sara *et al.* Endotypic mechanisms of successful hypoglossal nerve stimulation for obstructive sleep apnea. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 203, n. 6, mar. 2021.
- BOSSY, J.; VIDIC, B. Does proprioceptive innervation of the muscles of the pharynx exist in man?. **Arch Anat Histol Embryol**, v. 50, n. 5, p. 273-284, 1967.
- BOYD, John H. *et al.* Upper airway muscle inflammation and denervation changes in obstructive sleep apnea. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 170, n. 5, p. 541-546, set. 2004.

- BRESLER, Ma'ayan *et al.* Differentiating between light and deep sleep stages using an ambulatory device based on peripheral arterial tonometry. **Physiol Meas**, v. 29, n. 5, p. 571-84, mai. 2008.
- BRODERICK, Meredith; GUILLEMINAULT, Christian. Neurological aspects of obstructive sleep apnea. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1142, p. 44-57, out. 2008.
- CAMPOS, Deivis de *et al.* Palatoglossus muscle neuroanatomy: a review. **Journal of Morphological Sciences**, v. 29, n. 3, p. 123-124, jan. 2012.
- CARLOS, Félix de *et al.* Reduced innervation in the human pharynx in patients with obstructive sleep apnea. **Histology and Histopathology**, v. 30, n. 8, p. 865-874, jul. 2015.
- CARLOS, Félix de *et al.* The sensory innervation of the human pharynx: searching for mechanoreceptors. **The anatomical record**, v. 296, n. 11, p. 1735-1746, nov. 2013.
- CHANG, Yuan *et al.* Validation of the Nox-T3 portable monitor for diagnosis of obstructive sleep apnea in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **J Clin Sleep Med**, v. 15, n. 4, p. 587-596, 2019.
- CHIKENJI, Takako *et al.* Distribution of nerve endings in human distal interphalangeal joint and surrounding structures. **The Journal of Hand Surgery**, v. 35, n. 8, p. 1286-1293, ago. 2010.
- CHOI, Ji Ho *et al.* Validation study of portable device for the diagnosis of obstructive sleep apnea according to the new AASM scoring criteria: watch- PAT 100. **Acta Otolaryngol**, v. 130, n. 7, p. 838-43, jul. 2010.
- CHUNG, Frances *et al.* High STOP-Bang score indicates a high probability of obstructive sleep apnoea. **Br J Anaesth**, v. 8, n. 5, p. 768-775, mai. 2012.
- CHUNG, Frances *et al.* Validation of the Berlin questionnaire and American Society of Anesthesiologists checklist as screening tools for obstructive sleep apnea in surgical patients. **Anesthesiology**, v. 108, n. 5, p. 822-830, 2008.
- CLERK, A. A.; DUNAN, S. R.; GUILLEMINAULT, Christian. Load detection in subjects with sleep-induced upper airway obstruction. **Am. J. Respir. Crit. CareMed.**, v. 149, p. 727-730, 1994.
- COLLOP, Nanci A. *et al.* Clinical guidelines for the use of unattended portable monitors in the diagnosis of obstructive sleep apnea in adult patients portable monitoring task force of the American Academy of Sleep Medicine. **J Clin Sleep Med**, v. 3, n. 7, p. 737-747, 2007.
- CRÉANGE, Alain *et al.* Cytokines and peripheral neuropathies. **Rev. Neurol.**, v. 154, n. 3, p. 208-216, 1998.
- DANTAS, Danielle Andrade *et al.* The extracellular matrix of the lateral pharyngeal wall in obstructive sleep apnea. **Sleep**, vol. 35, n. 4, p. 483-90, 2012.

DE BELLIS Mauro *et al.* Immunohistochemical and histomorphometric study of human uvula innervation: a comparative analysis of non-snorers versus apneic snorers. **Sleep Breath**, v. 16, p. 1033-1040, 2012.

DEJAEGER, Eddy *et al.* Mechanisms involved in post deglutition retention in the elderly. **Dysphagia**, v. 12, n. 2, p. 63-67, 1997.

DEWEESE, E. L.; SULLIVAN, T. Y. Effects of upper airway anesthesia on pharyngeal patency during sleep. **J Appl Physiol**, v. 64, n. 4, p. 1346-1353, abr. 1988.

DUARTE, Bruno Bernardo. **Comparação histológica entre as fibras dos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe em indivíduos com e sem apneia obstrutiva do sono**. 2017. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

DUARTE, Ricardo Luiz M. *et al.* Validação do questionário STOP-Bang para a identificação de apneia obstrutiva do sono em adultos no Brasil. **J Bras Pneumol**, v. 43, n. 6, p. 456-63, 2017.

DUVVURI, Umamaheswar; MYERS, Jeffrey N. Contemporary management of oropharyngeal cancer: anatomy and physiology of the oropharynx. **Curr Probl Surg**, v. 46, n. 2, p. 119-184, fev. 2009.

ECKERT, Danny J.; MALHORTA, Atul. Pathophysiology of adult obstructive sleep apnea. **Proc AM Thorac Soc**, v. 5, n. 2, p. 144-153, fev. 2008.

EDSTRÖM, L.; LARSSON, L.; LARSSON, H. Neurogenic effects of the palatopharyngeal muscle in patients with obstructive sleep apnea: a muscle biopsy study. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 55, n. 10. P. 916-920, out. 1992.

EDWARDS, Bradley A.; WHITE, David P. Control of the pharyngeal musculature during wakefulness and sleep: implications in normal controls and sleep apnea. **Head & neck**, v. 33, n. 1, p. 37-45, out. 2011.

EL-SHAYEB, Mohamed *et al.* Diagnostic accuracy of level 3 portable sleep tests versus level 1 polysomnography for sleepdisordered breathing: a systematic review and meta-analysis. **CMAJ**, v. 186, n. 1, p. 25-51, 2014.

FEHRENBACH, Margaret J.; HERRING, Susan W. **Anatomia ilustrada da cabeça e do pescoço**. São Paulo: Manole, 1998.

FREEMAN, M. A. R.; WYKE, B. The innervation of the ankle joint. An anatomical and histological study in the cat. **Cells Tissues Organs**, v. 68, n. 3, p. 321-333, 1967.

FRIBERG, Danielle *et al.* Histological indications of a progressive snorers disease in a upper airway muscle. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 157, n. 2, p. 586-593, fev. 1998.

FRIEDMAN, Michael; IBRAHIM, Hani; JOSEPH, Ninos J. Staging of obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome: a guide to appropriate treatment. **The Laryngoscope** v. 114, n. 3, p. 454-459, 2004.

FRITZELL, Bernard. The velopharyngeal muscles in speech. An electromyographic and cineradiographic study. **Acta Otolaryngol**, v. 5, suppl. 250, 1969.

GARCÍA, Cristina A. **Inervación propioceptiva de la faringe**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ortodontia e Ortopedia Facial Facial) – Universidade de Oviedo, Asturias, 2012.

GUERRERO Arnoldo *et al.* Management of sleep apnea without high pretest probability or with comorbidities by three nights of portable sleep monitoring. **Sleep**, v. 37, n. 8, p. 1363-1373, 2014.

GUILLEMINAULT, Christian *et al.* Is obstructive sleep apnea syndrome a neurological disorder? A continuous positive airway pressure follow-up study. **Ann Neurol**, v. 58, n. 6, p. 880-887, dez. 2005.

GUILLEMINAULT, Christian; RAMAR, Kannan. Neurologic aspects of sleep apnea: is obstructive sleep apnea a neurologic disorder?. **Semin Neurol**, v. 29, n. 4, p. 68-71, set. 2009.

HAMANN, Wolfgang C. Mammalian cutaneous mechanoreceptors. **Prog Biophys Mol Biol**, v. 64, n. 1, p. 81-104, 1995.

HAMMOND, E. C. Some preliminary findings on physical complaints from a prospective study of 1.064.004 men and women. **Am J Public Health Nations Health**, v. 54, p. 11-23, 1964.

HEDNER, Jan *et al.* A novel adaptive wrist actigraphy algorithm for sleep-wake assessment in sleep apnea patients. **Sleep**, v. 27, n. 8, p. 1560-1566, dez. 2004.

HEDNER, Jan *et al.* Sleep staging based on autonomic signals: a multi-center validation study. **J Clin Sleep Med**, v. 7, n. 3, p. 301-306, jun. 2011.

HILLIGES, Marita *et al.* Protein gene product 9.5-immunoreactive nerves and cells in human oral mucosa. **The Anatomical Record**, v. 245, n. 4, p. 621-632, ago. 1996.

HUON, Leh-Kiong *et al.* Dynamic upper airway collapse observed from sleep MRI: BMI-matched severe and mild OSA patients. **Eur Arch Otorhinolaryngol.**,v. 273, n. 11, p. 4021-4026, nov. 2016.

JEN Rachel *et al.* Accuracy of watchPAT for the diagnosis of obstructive sleep apnea in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **COPD**, v. 17, n. 1, p. 34-39, 2020.

JEW, Jean Y. *et al.* Fluorescence immunohistochemistry and confocal scanning laser microscopy: a protocol for studies of joint innervation. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 74, n. 6, p. 689-696, dez. 2003.

JOHNS, Murray W. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale". **Sleep**, v. 14, n. 6, p. 540-5, 1991.

JOHNSON, E. W.; ELLER, P. M.; JAFEK, B. W. Protein gene product 9.5-like and calbindin-like immunoreactivity in the nasal respiratory mucosa of perinatal humans. **The Anatomical Record**, v. 247, n. 1, p. 38-45, jan. 1997.

- JOHNSON, Edward W. Immunocytochemical characteristics of cells and fibers in the nasal mucosa of young and adult macaques. **The Anatomical Record**, v. 259, n. 2, p. 215-228, jun. 2000.
- JORDAN, Amy S. *et al.* Mechanisms used to restore ventilation after partial upper airway collapse during sleep in humans. **Thorax**, v. 62, n. 10, p. 861-867, out. 2007.
- KAPUR, Vishesh K. *et al.* Clinical practice guideline for diagnostic testing for adult obstructive sleep apnea: an American academy of sleep medicine clinical practice guideline. **J Clin Sleep Med** v. 13, n. 3, p. 479-504, 2017.
- KIM, JinKwan *et al.* Prevalence of sleep-disordered breathing in middle-aged Korean men and women. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 170, n. 10, p. 1108-13, set. 2004.
- KIMOFF, Richard J. *et al.* Upper airway sensation in snoring and obstructive sleep apnea. **Am. J. Respir. Crit. Care Med**, v. 164, p. 250-255, 2001.
- KNUTSON, Kristen L. Sleep duration and cardiometabolic risk: a review of the epidemiologic evidence. **Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 24, n. 5, p. 731-43, 2010.
- KUEHN, David P.; TEMPLETON, Pamela J.; MAYNARD, Jerry A. Muscle spindles in the velopharyngeal musculature of humans. **J Speech Hear Res**, v. 33, n. 3, p. 488-493, set. 1990.
- LAOUAFA, Sofien *et al.* Estradiol protects against cardiorespiratory dysfunctions and oxidative stress in intermittent hypoxia. **Sleep**, v. 40, n. 8, p. 1-13, 2017.
- LAWSON, Sally N.; WADDELL, Pamela J. Soma neurofilament immunoreactivity is related to cell size and fibre conduction velocity in rat primary sensory neurons. **J Physiol**, v. 435, p. 41-63, abr. 1991.
- LAZAROV, Nikolai E. Neurobiology of orofacial proprioception. **Brain Res Rew**, v. 56, n. 2, p. 362-383, set. 2007.
- LEE, Richard. W. *et al.* Relationship between surface facial dimensions and upper airway structures in obstructive sleep apnea. **Sleep**, v. 33, n. 9, p.1249-1254, 2010.
- LEE, Janet J.; SUNDAR, Krishna M. Evaluation and management of adults with obstructive sleep apnea syndrome. **Lung**, v. 199, p. 87-101, abri. 2021.
- LEITE, Janaina Gonçalves S. *et al.* Morphology of nerve endings in vocal fold of human newborn. **Inter Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 89, p. 55-59, out. 2016.
- LINDMAN, Rolf; STAL, Per S. Abnormal palatopharyngeal muscle morphology in sleep-disordered breathing. **J Neurol Sci**, v. 195, n. 1, p.11-23, mar. 2002.
- LISS, Julie M. Muscle spindles in the human levator veli palatini and palatoglossus muscles. **Journal of Speech and Hearing Research**, v. 33, n. 4, p. 736-746, dez. 1990.

MADEIRA, Miguel Carlos. **Anatomia da face**: bases anátomo-funcionais para a prática odontológica. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1997.

MARTINI, Frederic H. **Anatomia humana**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

MCNICHOLAS, Walter T. *et al.* Impaired detection of added inspiratory resistance in patients with obstructive sleep apnea. **Am. Ver. Respir. Dis.** 129, 45-48, 1984.

MILLER, Arthur J. Oral and pharyngeal reflexes in the mammalian nervous system: their diverse range in complexity and the pivotal role of the tongue. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 13, n. 5, p. 409-425, 2002.

MITSUI, Chihiro *et al.* Immunohistochemical demonstration of nerve terminals in the whole hard palate of rats by use of an antiserum against Protein Gene Product 9.5. **Archives of Histology and Cytology**, v. 63, n. 5, p. 401-410, 2000.

MOLINA, Fernando D. *et al.* Microscopical evaluation of extracellular matrix and its relation to the palatopharyngeal muscle in obstructive sleep apnea. **Microsc Res Tech**, v. 74, n. 5, p. 430-439, 2011.

MOON, Jerald B. *et al.* Coordination of velopharyngeal muscle activity during positioning of the soft palate. **Cleft Palate Craniofac J**, v. 31, n. 1, p.45-55, jan. 1994.

MOORE, Keith L.; DALLEY, Arthur F.; AGUR, Anne M. R. **Anatomia orientada para a clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

MORGENTHALER, Timothy I. *et al.* Practice parameters for the medical therapy of obstructive sleep apnea. **Sleep**, v. 29, n.8, p. 1031-1035, ago. 2006.

MORTIMORE, I. L.; DOUGLAS, N. J. Palatal muscle EMG response to negative pressure in awake sleep apneic and control subjects. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 156, n. 3, p. 867-873, set. 1997.

MU, Liancai; SANDERS, Ira. Neuromuscular specializations within human pharyngeal constrictor muscles. **Ann Otol Rhinol Laryngol**, v. 116, n. 8, p. 604-617, ago. 2007.

NAGARAJU, K. *et al.* A variety of cytokines and immunologically relevant surface molecules are expressed by normal human skeletal muscle cells under proinflammatory stimuli. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 113, p. 407-414, 1998.

NEELAPU, Bala Chakravarthy *et al.* Craniofacial and upper airway morphology in adult obstructive sleep apnea patients: a systematic review and meta-analysis of cephalometric studies. **Sleep Med Rev**, v. 31, p. 79-90, 2017.

NETZER, Nikolaus C. *et al.* Using the Berlin Questionnaire to identify patients at risk for the sleep apnea syndrome. **Ann Intern Med**, v. 131, n. 7, p. 485-491, out. 1999.

NGUYEN, Anh Tu Duy *et al.* Laryngeal and velopharyngeal sensory impairment in obstructive sleep apnea. **Sleep**, v. 28, p. 585-593, 2005.

- OLIVEIRA, Márcia G. *et al.* Diagnostic accuracy of home-based monitoring system in morbidly obese patients with high risk for sleep apnea. **Obes. Surg.**, v. 25, n. 5, p. 845-851, 2015.
- ONG, Thun How *et al.* Simplifying STOP-BANG: use of a simple questionnaire to screen for OSA in an Asian population. **Sleep Breath**, v. 14, n. 4, p. 371-6, dez. 2010.
- ORTICOCHEA, Miguel. Construction of a dynamic muscle sphincter in cleft palates. **Plast Reconstr Surg**, v. 41, p. 323-327, 1968.
- PALOMBINI, Luciana. O. Fisiopatologia dos distúrbios respiratórios do sono. **J Bras Pneumol**, v. 36, supl. 2, p. 4-9, 2010.
- PANDI-PERUMAL, Seithikurippu R. *et al.* Sleep disorders, sleepiness and traffic safety: a public health menace. **Braz J Med Biol Res**, v. 39, n. 7, p.863-871, jul. 2006.
- PANG, Kenny P., WOODSON, B. Tucker. Expansion sphincter pharyngoplasty: a new technique for the treatment of obstructive sleep apnea. **Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 137, n.1, p. 110-114, 2007.
- PANG, Kenny P.; GOURIN, Christine G.; TERRIS, David J. A comparison of polysomnography and the WatchPAT in the diagnosis of obstructive sleep apnea. **Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 137, n. 4, p. 665-668, out. 2007.
- PEIXOTO, Magno Eric Barbosa. **Histomorfometria das terminações nervosas das conchas nasais inferiores de humanos por imunofluorescência e microscopia confocal a laser**. 2016. 64f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
- PINTO, José Antonio *et al.* Accuracy of peripheral arterial tonometry in the diagnosis of obstructive sleep apnea. **Braz J Otorhinolaryngol**, v. 81, n. 5, p. 473-478, set./out. 2015.
- PUNJABI, N. M. *et al.* Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: an outcome-based definition of hypopneas. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 177, n. 10, p. 1150-1155, 2008.
- RAMIERI, Guglielmo *et al.* Non-innervated Merkel cells and Merkel - neurite complexes in human oral mucosa revealed using antiserum to protein gene product 9.5. **Archives of Oral Biology**, v. 37, n. 4, p. 263-269, abr. 1992.
- RAYMOND, Christel Saint *et al.* Sphincter Pharyngoplasty as a treatment of velopharyngeal incompetence in young people: a prospective evaluation of effects on sleep structure and sleep respiratory. **Chest**, v. 125, p. 864-871, 2004.
- REID, Michael B.; LÄNNERGRÉN, Jan; WESTERBLAD, Hakan. Respiratory and limb muscle weakness induced by tumor necrosis factor-alpha: involvement of muscle myofilaments. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 166, n. 4, p. 479-484, 2002.
- ROSS, Michael H.; PAWLINA, Wojciech. **Histology: a text and atlas with correlated cell and molecular biology**. Baltimore: Lippincott Williams e Wilkins, 2011.

- RUOPPOLO, Giovanni *et al.* Afferent nerve ending density in the human laryngeal mucosa: potential implications on endoscopic evaluation of laryngeal sensitivity. **Dysphagia**, v. 30, n. 2, p. 1-6, dez. 2014.
- SABOISKY, Julian P. *et al.* Functional role of neural injury in obstructive sleep apnea. **Front Neurol**, v. 3, n. 95, jun. 2012.
- SABOISKY, Julian P. *et al.* Neurogenic changes in the upper airway of obstructive sleep apnea patients. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 185, n. 4, p. 322–329, abr. 2015.
- SAKAE, F. A. Anatomia da boca e faringe. *In*: CALDAS NETO, S. *et al.* (ed.). **Tratado de otorrinolaringologia**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2011. vol. 1. p. 705-709
- SATEIA, Michael J. International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications. **Chest**, v. 146, n. 5, p. 1387-1394, nov. 2014.
- SCHNALL, Robert P. *et al.* Periodic, pro- found peripheral vasoconstriction - a new marker of obstructive sleep apnea. **Sleep**, v. 22, n. 7, p. 939-946, nov. 1999.
- SCHWAB, R. J. *et al.* Upper airway and soft tissue anatomy in normal subjects and patients with sleep-disordered breathing: significance of the lateral pharyngeal walls. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 152, n. 5, p. 1, nov, 1995.
- SCHWARTZ, Alan R. Hypoglossal nerve stimulation-optimizing its therapeutic potential in obstructive sleep apnea. **J Neurol Sci**, v. 346, n. 1-2, p. 1-3, nov. 2014.
- SCOTT, Danny W.; MILLER JR., William H.; GRIFFIN, Craig E. **Small Animal Dermatology**. 6. ed. China: Saunders, 2000.
- SEKOSAN, Marin *et al.* Inflammation in the uvula mucosa of patients with obstructive sleep apnea. **Laryngoscope**, v. 106, n. 8, p. 1018-1120, 1996.
- SENARATNA, Chamara V. *et al.* Prevalence of obstructive sleep apnea in the general population: a systematic review. **Sleep Med Rev**, v. 34, p. 70-81, 2017.
- SENGUPTA, Bani N.; SENGUPTA, Sarthak. Muscle spindles in the inferior constrictor pharyngis muscle of the crab-eating monkey (*Macaca irus*). **Acta Anat (Basel)**, v. 100, n. 1, p. 132-135, 1978.
- SETO, Hachiro. Sensibility of the digestive organs (Chaper 8). *In*: SETO, Hachiro. **Studies on the sensory innervation (Human sensibility)**. Tokyo: Igaku Shoin Ltd., 1963. p 104-217
- SHARMA, Sunil K. *et al.* Validation of the Berlin Questionnaire to identify patients at risk for obstructive sleep apnea syndrome. **Indian J Med Res**, v. 124, n. 3, p.281-290, 2006.
- SHI, Lin *et al.* Pharyngeal constrictor muscle fatty change may contribute to obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome: a prospective observational study. **Acta Otolaryngol.**, v. 6489, p. 1-6, jul. 2016.

SHI, Song *et al.* The relationship between structural/MHC changes in upper airway palatopharyngeal muscle morphology and obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. **Eur Arch. Otorhinolaryngol.**, v. 271, n. 1, p. 109-116, jan. 2014.

SHIMOKAWA, Takashi *et al.* An anatomical study of the levator veli palatini and superior constrictor with special reference to their nerve supply. **Surg. Radiol. Anat.**, v. 26, n. 2, p. 100-105, out. 2004.

SHIMOKAWA, Takashi; YI, Shuangquin; TANAKA, Shigenori. Nerve supply to the soft palate muscles with special reference to the distribution of the lesser palatine nerve. **Cleft Palate Craniofac J**, v. 42, n. 5, p.495-500, set. 2005.

SHINDOH, C. *et al.* TNF- α mRNA expression in diaphragm muscle after endotoxin administration. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 152, n. 5, p. 1690-1696, 1995.

SILVA, Henrique Lopes da. Funções do sono. *In*: PAIVA, Teresa; ANDERSEN, Monica Levy; TUFIK, Sergio (coords.). **O sono e a Medicina do Sono**. Barueri: Minha Editora, 2014.

SPIES, J. M. *et al.* Intraneural activated T cells cause focal breakdown of the blood-nerve barrier. **Brain**, v. 118, n. 4, p. 857-868, 1995.

SUMIDA, Kaori; YAMASHITA, Kikuji; KITAMURA, Seiichiro. Gross anatomical study of the human palatopharyngeus muscle throughout its entire course from origin to insertion. **Clin. Anat.**, v. 25, n. 3, p. 314-323, abr. 2012.

SUTHERLAND, Kate *et al.* A global comparison of anatomic risk factors and their relationship to obstructive sleep apnea severity in clinical samples. **J. Clin. Sleep Med.**, v. 15, n. 4, p. 629-639, 2019.

TANGEL, D. J.; MEZZANOTTE, W. S.; WHITE, D. P. Respiratory-related control of palatoglossus and levator palatini muscle activity. **J. Appl. Physiol.**, v. 78, n. 2, p. 680-688, fev. 1995.

THEORELL-HAGLÖW, Jenny *et al.* Gender differences in obstructive sleep apnoea, insomnia and restless legs syndrome in adults: what do we know? A clinical update. **Sleep Med Rev**, v. 38, p. 28-38, 2018.

TOMITA, Kazunari *et al.* Distribution of nerve endings in the human dorsal radiocarpal ligament. **The Journal of Hand Surgery**, v. 32, n. 4, p. 466-473, abr. 2007.

TRENELL, Michael I.; MARSHALL, Nathaniel S.; ROGERS, Naomi L. Sleep and metabolic control: waking to a problem? **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 34, n. 1-2, p. 1-9, 1997.

TSAI, Yi-Ju *et al.* Peripheral neuropathology of the upper airway in obstructive sleep apnea syndrome. **Sleep Med Rev**, v. 17, n. 2, p.161-168, abr. 2013.

TUFIK, Sergio *et al.* Obstructive sleep apnea syndrome in the São Paulo epidemiologic sleep study. **Sleep Med**, v. 11, n. 5, p.441-446, mai. 2010.

TUN, Ye *et al.* Inspiratory effort sensation to added resistive loading in patients with obstructive sleep apnea. **Chest**, v. 118, p. 1332-1338, 2000.

ULUALP, Seckin O. Modified expansion sphincter pharyngoplasty for treatment of children with obstructive sleep apnea. **JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 140, n. 9, set. 2014.

VEASEY, Sigrid C. *et al.* Medical therapy for obstructive sleep apnea: a review by the medical therapy for obstructive sleep apnea task force of the standards of practice committee of the american academy of sleep medicine. **Sleep**, v. 29, n. 8, p. 1036-1044, ago. 2006.

VILLAVERDE, Ramon *et al.* Nerve endings in the epithelium and submucosa of human epiglottis. **Acta oto-laryngologica**, v. 114, n. 4, p. 453-457, jul. 1994.

VUONO, Isabela Mattos De *et al.* Histological analysis of palatopharyngeal muscle from children with snoring and obstructive sleep apnea syndrome. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 71, n. 2, p. 283-290, fev. 2007.

WANG, Stephen H. *et al.* Effect of weight loss on upper airway anatomy and the apnea-hypopnea index. The importance of tongue fat. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 201, n. 6, p. 718-727, 2020.

WIDDICOMBE, John. Airway receptors. **Respiration Physiology**, v. 125, n. 1, p. 3-15, mar. 2001.

WILLIAMS, Peter L (ed). **Gray's anatomy**. 37. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

WIRTH, Klaus; STEINMEYER, Klaus; RUETTEN, Hartmut. Sensitization of upper airway mechanoreceptors as a new pharmacologic principle to treat obstructive sleep apnea: investigations with AVE0118 in anesthetized pigs. **Sleep**, v. 36, n. 5, 2013.

WOODSON; B. T.; GARANCIS, J. C.; TOO HILL, R. J. Histopathologic changes in snoring and obstructive sleep apnea syndrome. **Laryngoscope**, v. 101, n. 2, p. 1318-1322, 1991.

WORSNOP, C. *et al.* Activity of respiratory pump and upper airway muscles during sleep onset. **J Appl Physiol**, v. 85, n. 3, p. 908-920, set. 1998.

WU, Miaozong *et al.* Effect of aging on cellular mechanotransduction. **Ageing Res Rev**, v. 10, n. 1, p. 1-15, nov. 2009.

YALAMANHALI, Sreya *et al.* Diagnosis of obstructive sleep apnea by peripheral arterial tonometry: meta-analysis. **JAMA Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 139, n. 12, p. 1343-1350, out. 2013.

YAMAMOTO, Yoichi *et al.* Morphology of intraepithelial corpuscular nerve endings in the nasal respiratory mucosa of the dog. **Journal of Anatomy**, v. 193, n. 04, p. 581-586, nov. 1998.

YAMAMOTO, Yoichi *et al.* Morphology of the nerve endings in laryngeal mucosa of the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, n. 2, p. 150-158, mar. 2001.

YOSHIDA, Yoshikazu *et al.* Sensory innervation of the pharynx and larynx. **Am J Med**, v. 108, p. 51S-61S, mar. 2000. Supplement 4a.

YOUNG, Terry *et al.* The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. **N Engl J Med**, v. 328, n. 17, p. 1230-1235, abr. 1993.

APÊNDICE A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP PARA ESTUDO DO GRUPO CONTROLE

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
WALTER CANTÍDIO - HUWC /
UFC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: HISTOMORFOMETRIA DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS LIVRES E MECANORRECEPTORES DO MÚSCULO CONSTRITOR SUPERIOR DA FARINGE EM HUMANOS

Pesquisador: GUILHERME LEAL DANTAS

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 54607516.7.0000.5045

Instituição Proponente: Universidade Federal do Ceará/HOSPITAL UNIVERSITARIO WALTER

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.545.513

Apresentação do Projeto:

Este é um projeto de pesquisa para Mestrado em cirurgia de Guilherme Leal Dantas, médico Otorrinolaringologista, com orientação da Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante, professora da Unichristus e a participação de uma equipe composta por, Érika Ferreira Gomes (médica) e dois alunos de graduação (Pedro de Castro Neto e Matheus de Souza Santos). Referido projeto foi submetido ao CNPQ no Edital – MCT/CNPQ No 01/2016. O estudo busca compreender a fisiopatologia da síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS) que é um distúrbio comum, caracterizado por colapsos recorrentes da região faríngea durante o sono, que resulta na redução do fluxo aéreo (apneia ou hipopneia). Está associada a diversos sintomas e comorbidades, que incluem sonolência excessiva diurna, problemas cognitivos, redução da qualidade de vida, elevação significativa do risco de acidentes laborais e de trânsito, sendo um fator independente de risco para doenças cardiovasculares. A inervação motora dos músculos da faringe humana, incluindo as variações regionais na densidade das inervações, é bem conhecida, mas há uma escassez, na literatura, de trabalhos sobre a inervação sensorial. A regulação neuronal coordenada dos músculos das vias aéreas superiores é básica para o controle do tamanho e resistência das vias aéreas. O músculo constritor superior da faringe forma a parte principal da parede lateral e posterior da faringe, e tipicamente é desprovido dos fusos musculares, principal

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, nº 1200

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-370

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3388-8813

Fax: (85)3381-4951

E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
WALTER CANTÍDIO - HUWC /
UFC



Continuação do Parecer: 1.645.013

tipo de proprioceptor. Como a propriocepção do músculo constritor superior da faringe é potencialmente importante

para a fisiologia das vias aéreas superiores, faz-se necessário um estudo mais abrangente da inervação sensorial da faringe. A análise morfológica dos receptores sensitivos do músculo constritor superior da faringe é de fundamental importância para o estudo de afecções da via aérea superior com hipótese de patogênese neurológica, como a apneia obstrutiva do sono. O objetivo principal da pesquisa é avaliar a morfologia e distribuição dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres do músculo constritor superior da faringe em 10 pacientes adultos com função sensorial presumivelmente normal, triados na durante a consulta pré-operatória de tonsilectomia, a partir da avaliação da sensibilidade faríngea, durante o exame físico, no ambulatório de otorrino do HUWC. Caso o paciente aceite, serão aplicados dois questionários e confirmada a ausência de SAOS através de exame de polissonografia. Caso aceite participar, será retirado um fragmento do músculo constritor superior da faringe (1-2 cm²), durante a remoção das amígdalas palatinas. O cronograma é de dois anos de estudo e o orçamento é de R\$ 47.022,00

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL: Avaliar a morfologia e distribuição dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres do músculo constritor superior da faringe em adultos com inervação sensorial presumivelmente normal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Descrever os diferentes mecanorreceptores do músculo constritor superior da faringe em adultos;
- Fazer a contagem das terminações nervosas livres em diferentes regiões do músculo constritor superior da faringe

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O autor assim descreve:

- Os riscos são mínimos inerentes ao procedimento cirúrgico de amigdalectomia, o mais comum seria um discreto sangramento. Não há benefício direto para o participante. Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício para a ciência. No caso, esperamos que o estudo da inervação do músculo da garganta possa ajudar a entender melhor a doença da apneia do sono.

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, nº 1290
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-370
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3368-8613 Fax: (85)3281-4951 E-mail: caphuwc@huwc.ufc.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
WALTER CANTÍDIO - HUWC /
UFC



Continuação do Parecer: 1.045.013

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa interessante para compreensão da morfologia e da distribuição dos mecanorreceptores e das terminações nervosas livres do músculo constritor superior da faringe, no entanto, carece de muita atenção e cuidado na abordagem dos participantes tendo em vista que, nenhum benefício poderá ser oferecido aos participante. A estes caberá apenas, os risco, mesmo que mínimos, e a satisfação de colaborar para o desenvolvimento das ciências.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador apresentou:

- folha de rosto
- projeto
- carta de anuência
- orçamento
- TCLE
- Carta de apresentação ao Comitê de Ética
- Curriculum dos pesquisadores

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Tendo atendido as pendências postas por este CEP, o projeto se encontra apto para ser iniciado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador deverá apresentar a este CEP, relatório ao término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PE_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_676644.pdf	01/07/2016 12:20:13		Aceito
Outros	CV_Erika_Ferreira_Gomes.pdf	01/07/2016 12:16:06	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	Instrumento_de_coleta_de_dados.docx	01/07/2016 12:13:29	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	metodologia_novo.docx	01/07/2016 12:10:39	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	declaracaopolissono_serjio.jpg	01/07/2016 12:09:17	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, nº 1290

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-370

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-0013

Fax: (85)3361-4961

E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
WALTER CANTÍDIO - HUWC /
UFC



Continuação do Parecer: 1.645.013

Outros	declaracao_medeiros.jpeg	01/07/2016 12:08:19	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	carta_corrigida.jpeg	01/07/2016 12:07:38	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	apresentacao_projeto_novo.doc	01/07/2016 12:06:54	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
TGLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	03_TGLE_NOVO.doc	01/07/2016 12:06:31	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_Guilherme_Leal.PDF	16/03/2016 09:28:16	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Cronograma	08_CRONOGRAMA.docx	10/03/2016 09:06:52	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	07_Declaracao_concordancia.jpeg	10/03/2016 09:06:38	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	06_CV_DraLuzete.pdf	10/03/2016 09:05:59	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	06_CV_Guilherme.pdf	10/03/2016 09:05:41	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	05_termo_ciencia_loca_pesquisa.jpeg	10/03/2016 09:05:18	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Orçamento	04_orcamento.docx	10/03/2016 09:04:26	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Neecessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 22 de Julho de 2016

Assinado por:
Maria de Fátima de Souza
(Coordenador)

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, nº 1290
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-370
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (05)3266-0813 Fax: (05)3261-4061 E-mail: cephuwo@huwo.ufc.br

APÊNDICE B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP PARA ESTUDO DO GRUPO CASO

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: HISTOMORFOMETRIA DA INERVAÇÃO SENSORIAL PROPRIOCEPTIVA DA FARINGE HUMANA EM PACIENTES COM APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO SUBMETIDOS À FARINGOPLASTIA EXPANSORA E SUA RELAÇÃO COM O RESULTADO PÓS-OPERATÓRIO

Pesquisador: GUILHERME LEAL DANTAS

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 19409519.2.0000.5054

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.753.125

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo do tipo caso-controle, descritivo e prospectivo, envolvendo 10 pacientes adultos com indicação cirúrgica prévia de faringoplastia para tratamento da apneia obstrutiva do sono. Os pacientes serão submetidos à faringoplastia expansora, com a coleta de fragmentos dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe. Cada paciente irá assinar o termo de consentimento, constando todos os procedimentos envolvidos na pesquisa, desde a obtenção do material até a divulgação dos resultados, os objetivos do estudo e os riscos experimentais. Serão incluídos no estudo indivíduos do sexo masculino exclusivamente, entre 18 e 55 anos, com IAH > 30 e mais de 5 anos da doença, diagnosticados por polissonografia de noite inteira tipo 1, IMC < 35 Kg/m², e indicação prévia de cirurgia faríngea para tratamento do distúrbio respiratório obstrutivo do sono. Serão excluídos indivíduos portadores de doenças neuromusculares, deformidades maxilomandibulares significativas e hipotireoidismo não tratado ou com tratamento iniciado há menos de 1 ano da proposta terapêutica, indivíduos em uso de medicações com ação no sistema nervoso central e pacientes que realizaram cirurgias orofaríngeas prévias. A avaliação clínica será realizada em consulta pré-operatória e em consulta 6 meses após a cirurgia, no ambulatório de Otorrinolaringologia do Hospital Universitário Walter Cantídio através de anamnese com aplicação do questionário de instrumento de coleta de dados e escala de

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

UF: CE

Município: FORTALEZA

CEP: 60.430-275

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 3.753.125

sonolência de Epworth. No questionário, também serão aplicadas escalas gradativas de 1 (irrelevante) a 10 (severamente afetado) para avaliar as seguintes variáveis: ronco, cefaleia matinal e impacto geral na qualidade de vida. Serão devidamente

documentadas todas as informações contidas no exame de polissonografia realizada no pré-operatório. No exame físico, iniciado pela oroscopia, serão graduados a posição do palato e o tamanho das tonsilas palatinas de acordo com a classificação proposta (Friedman; Ibrahim; Joseph, 2004). Serão realizados o cálculo de IMC e a medição de circunferência cervical. As amostras dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe serão obtidas no intraoperatório, com ressecção de fragmentos de aproximadamente 1cm de comprimento e 0,3 cm de largura e espessura. A retirada das amostras será um procedimento adicional à cirurgia de faringoplastia, com padronização do local de coleta dos três músculos em todos os indivíduos, optando-se pelo lado direito dos pacientes. A histomorfometria das terminações nervosas será avaliada por métodos de imunofluorescência e coloração com hematoxilinaeosina, análise morfológica das formações nervosas através de microscopia confocal de varredura a laser e cálculo da densidade nervosa. Os resultados qualitativos e quantitativos da inervação sensorial proprioceptiva do estudo serão confrontados com os resultados observados em pesquisa prévia em um grupo controle através de metodologia laboratorial idêntica. Todos os indivíduos serão submetidos à polissonografia noturna em um centro de sono de forma padronizada 6 meses após as cirurgias. As variáveis avaliadas irão incluir: IAH, média e menor saturação da oxi-hemoglobina, e o percentual do tempo total de sono nos estágios N3 e REM. Essas variáveis serão comparadas no pré e pós-operatório para avaliar se há correlação da densidade nervosa dos músculos com os resultados polissonográficos. Para se considerar sucesso terapêutico, será selecionado um limite arbitrário de redução de 50% do IAH e $IAH < 15$. Procurar-se-á estabelecer um valor quantitativo da densidade nervosa a partir do qual serão observados os resultados polissonográficos de sucesso terapêutico. Será também estabelecida uma correlação entre os valores da densidade nervosa dos músculos estudados e a gravidade da doença através do IAH observado no exame de polissonografia do pré-operatório.

Critério de Inclusão:

Serão incluídos no estudo indivíduos do sexo masculino exclusivamente, entre 18 e 55 anos, com $IAH > 30$ e mais de 5 anos da doença, diagnosticados por polissonografia de noite inteira tipo 1, $IMC < 35 \text{ Kg/m}^2$, e indicação prévia de cirurgia faríngea para tratamento do distúrbio respiratório

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 3.753.125

obstrutivo do sono.

Critério de Exclusão:

Serão excluídos indivíduos portadores de doenças neuromusculares, deformidades maxilomandibulares significativas e hipotireoidismo não tratado ou com tratamento iniciado há menos de 1 ano da proposta terapêutica, indivíduos em uso de medicações com ação no sistema nervoso central e pacientes que realizaram cirurgias orofaríngeas prévias.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Avaliar a morfologia e a distribuição das terminações nervosas da faringe de adultos com apneia obstrutiva do sono submetidos à faringoplastia expansora;
- Correlacionar prospectivamente as alterações quali-quantitativas da inervação sensorial proprioceptiva da faringe humana com o resultado pós-operatório clínico e polissonográfico

Objetivo Secundário:

- Descrever as terminações nervosas dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe em pacientes com AOS;
- Avaliar a anatomia microscópica da parede lateral da faringe em pacientes com AOS através da coloração com hematoxilina-eosina;
- Calcular a densidade nervosa dos músculos palatoglosso, palatofaríngeo e constritor superior da faringe em pacientes com AOS;
- Comparar os resultados qualitativos e quantitativos da inervação sensorial proprioceptiva da faringe humana em pacientes com AOS com os resultados observados em pesquisa prévia em um grupo controle através de metodologia laboratorial idêntica;
- Estabelecer uma correlação entre os valores de densidade nervosa dos músculos da parede lateral da faringe e a gravidade da doença através do índice de apneia e hipopneia (IAH) observado no exame de polissonografia no pré-operatório;
- Estabelecer um valor quantitativo da densidade nervosa (ponto de corte) a partir do qual seriam observados os melhores resultados no pós-operatório.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos são mínimos, inerentes à cirurgia de faringoplastia. O mais comum seria um discreto sangramento. Além disso, o paciente pode sentir desconforto durante a realização de exame de

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 3.753.125

polissonografia, exame que será realizado 6 meses após a cirurgia. As complicações do exame de polissonografia são raríssimas. O efeito colateral mais comum seria uma irritação da pele causada pelos adesivos utilizados para anexar os eletrodos na pele.

Benefícios:

O estudo da inervação sensorial proprioceptiva da faringe humana pode ajudar a prever os pacientes com risco de ter maior gravidade da AOS, influenciando o prognóstico da doença, ou ainda ajudar na melhor compreensão da fisiopatogenia e, conseqüentemente, no desenvolvimento de terapias farmacológicas ou na seleção de pacientes que se beneficiariam de neuroestimulação. Existem pacientes que respondem, de forma diferenciada, à determinada modalidade terapêutica, sendo postulada uma influência dos mecanorreceptores para justificar essa diferente responsividade. O estudo descritivo das terminações nervosas da faringe em pacientes com AOS poderia ainda contribuir significativamente para a seleção do tratamento considerado ideal para cada indivíduo, evitando a realização de procedimentos desnecessários e aumentando a chance de sucesso terapêutico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Todas as pendências foram devidamente atendidas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram todos devidamente apresentados.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado, s.m.j. desse C.E.P..

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador deve enviar o relatório final ao concluir a pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1396342.pdf	04/11/2019 08:01:36		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_versao2.docx	04/11/2019 07:59:40	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 3.753.125

Folha de Rosto	_folharosto_carimbada.pdf	21/08/2019 10:51:10	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	03_TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO.docx	25/07/2019 08:32:36	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	02_PROJETO_DOUTORADO_WORD.doc	25/07/2019 08:32:27	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	09_Anuencia_HUWC.pdf	25/07/2019 08:28:35	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	07_Declaracao_concordancia.pdf	25/07/2019 08:26:36	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	06_CV_Guilherme_Leal_Dantas.pdf	25/07/2019 08:26:29	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	05_Autorizacao_OTOS.pdf	25/07/2019 08:26:18	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Cronograma	08_Cronograma.pdf	25/07/2019 08:26:07	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Orçamento	04_Orçamento.pdf	25/07/2019 08:25:57	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	00_Carta_encaminhamento_UFC.pdf	25/07/2019 08:25:31	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	00_Carta_de_Encaminhamento_modelo.docx	25/07/2019 08:25:20	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito
Outros	00_Carta_de_encaminhamento_huwc.pdf	25/07/2019 08:25:07	GUILHERME LEAL DANTAS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 09 de Dezembro de 2019

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA ESTUDO DO GRUPO CONTROLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada: **Histomorfometria das terminações nervosas livres e mecanorreceptores do músculo constritor superior da faringe em humanos**, sob a responsabilidade dos pesquisadores **Guilherme Leal Dantas, Erika Ferreira Gomes e Maria Luzete Costa Cavalcante**.

Nesta pesquisa, nós estamos buscando entender como é e como funciona um músculo da garganta que fica próximo da amígdala.

Em relação à sua participação na pesquisa, você irá fazer um exame da garganta com uma palheta e responderá algumas perguntas simples sobre ronco, cansaço, pressão arterial. O seu pescoço será medido com uma fita, e iremos medir também o seu peso e altura. Essa etapa da pesquisa terá duração de cerca de 30 (trinta) minutos. Você poderá sentir vontade de vomitar durante o exame da garganta com a palheta e ficará totalmente à vontade para não responder alguma pergunta do questionário se ficar constrangido ou incomodado. Um dos objetivos da pesquisa é escolher pacientes que têm chance pequena de ter uma doença chamada **apneia do sono**, que é a diminuição ou parada da respiração durante o sono por causa do fechamento da garganta que pode acontecer enquanto você dorme. Antes da cirurgia, será necessário a realização de um exame em outro dia chamado polissonografia durante uma noite. O objetivo é confirmar que você não tem apneia do sono. **A polissonografia** é o exame usado para a investigação de várias doenças do sono. Você deve dormir com fios colados por adesivos sobre o corpo, que irão registrar as ondas cerebrais, respiração, batimentos cardíacos, ronco, esforço para respirar e a movimentação das pernas e olhos. Você poderá se movimentar normalmente durante o exame. O exame não doi. Não se usam agulhas ou instrumentos semelhantes. Você poderá sentir um pouco de desconforto com os fios ou ficar incomodado por não dormir na sua casa, atrapalhando assim o seu sono. Não haverá absolutamente nenhuma despesa referente à pesquisa, e você será devidamente compensado em relação a transporte, alimentação e dia não trabalhado. Se for necessário para fins de emprego, você receberá uma declaração ou atestado, de forma que você não será prejudicado. A cirurgia da amígdala que foi indicada pelo médico no ambulatório de otorrino será feita da forma que é realizada normalmente. Na hora da cirurgia, depois que tirar a amígdala, será retirado também um pedacinho do músculo que fica bem

próximo, do tamanho da metade do seu dedo mínimo e da largura de um palito de fósforo. Isso não vai mudar em nada o resultado da sua cirurgia. Esse material utilizado para a pesquisa será guardado com total segurança e examinado em outro dia através de um microscópio. O tempo necessário para tirar esse pedacinho do músculo é de um minuto e os riscos são mínimos, inerentes à cirurgia de retirada das amígdalas. O mais comum seria um discreto sangramento.

Não há benefício direto para você. A sua colaboração é para o desenvolvimento da ciência, o que lhe poderá ser útil ou não em algum momento da sua vida. Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício para a ciência. No caso, esperamos que o estudo do músculo da garganta possa ajudar a entender melhor a doença da apneia do sono.

Você tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem prejuízo para seu tratamento nesse hospital, ou seja, se desejar não participar, sua cirurgia será realizada da mesma forma.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas.

Não há despesas pessoais para você em qualquer fase do estudo. Você também não receberá para participar. Se precisar vir outra vez, você será compensado.

O material será guardado e se for necessário para outros estudos, entraremos em contato com você para autorização.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr **Guilherme Leal Dantas**, que pode ser encontrado na Rua Eduardo Salgado, 411, apt 200, telefones: 30386092 (residencial) e 999913157 (celular).

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC – Rua Capitão Francisco Pedro 1290, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8589 – E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br”

Caso você se sinta suficientemente informado a respeito das informações que leu ou que foram lidas para você sobre os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes e que sua participação é voluntária, que não há remuneração para participar do estudo e se você concordar em participar solicitamos que assine no espaço abaixo.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha Data ____ / ____ / ____

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

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____

APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA ESTUDO DO GRUPO CASO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada: **Histomorfometria da inervação sensorial proprioceptiva da faringe humana em pacientes com apneia obstrutiva do sono submetidos à faringoplastia expansora e sua relação com o resultado pós-operatório**, sob a responsabilidade dos pesquisadores **Guilherme Leal Dantas**, médico otorrinolaringologista e aluno da pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, **Erika Ferreira Gomes**, médica otorrinolaringologista do Hospital Universitário Walter Cantídio (UFC) pela EBSEH, e **Maria Luzete Costa Cavalcante**, médica ortopedista, professora da graduação da disciplina de Ortopedia e da pós-graduação do departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará.

Nesta pesquisa, nós estamos buscando estudar as características dos nervos e algumas estruturas que fazem parte de 3 músculos da garganta, que ficam perto das amígdalas, e saber se isso tem alguma relação com os resultados da cirurgia que você irá fazer, chamada de faringoplastia, que tem como objetivo aumentar o espaço da sua garganta, diminuindo assim a chance de ela fechar enquanto você dorme, podendo ajudar no tratamento da sua doença, a apneia do sono.

Em relação à sua participação na pesquisa, você irá fazer um exame da garganta com uma palheta, que é um pedacinho de madeira, do tamanho de um palito de picolé, usado para abaixar a língua, permitindo dessa forma visualizar a sua garganta, e responderá algumas perguntas simples em um questionário a respeito da chance de você cochilar em algumas situações do dia a dia, como, por exemplo: 1) sentado e lendo, 2) vendo televisão, 3) sentado em um lugar público (sala de espera, cinema, reunião), 4) como passageiro de carro ou ônibus andando uma hora sem parar, 5) deitado para descansar à tarde, 6) sentado e conversando com alguém, 7) sentado, calmamente, após almoço sem álcool, 8) se estiver de carro, enquanto para por alguns minutos no trânsito intenso. O seu pescoço será medido com uma fita, e iremos medir também o seu peso e altura. Essa etapa da pesquisa terá duração de cerca de 30 (trinta) minutos. Você poderá sentir vontade de vomitar durante o exame da garganta com a palheta e ficará totalmente à vontade para não responder alguma pergunta do questionário se ficar constrangido ou incomodado. Um dos objetivos da pesquisa é entender melhor uma doença chamada **apneia do sono**, que é a diminuição ou parada da respiração durante o sono por causa do fechamento da garganta que pode acontecer enquanto você dorme.

6 meses depois dessa cirurgia que você vai fazer para aumentar o espaço da garganta, a faringoplastia, você irá para uma nova consulta no mesmo local das consultas anteriores, com o objetivo de saber como você está se sentindo 6 meses depois da cirurgia, só que, diferente das outras consultas,

dessa vez você irá preencher um questionário para saber se houve melhora dos sintomas que você sentia antes da cirurgia, e o grau dessa melhora.

Será necessário também nessa época marcar a realização do exame do sono (polissonografia) durante uma noite em outra data a ser combinada com você, de acordo com a sua conveniência. Nesse exame, você deve dormir com fios colados por adesivos sobre o corpo, que irão registrar as ondas do cérebro, respiração, batimentos do coração, ronco, esforço para respirar e a movimentação das pernas e olhos. O objetivo é avaliar como está o grau da apneia do sono e comparar com o grau que era antes da cirurgia. O exame será realizado em uma clínica particular de Fortaleza, sem custos. O local é seguro. Haverá outros pacientes também fazendo o exame durante a noite, cada um no seu próprio quarto. O exame é realizado em uma cama; você dormirá vestido (a) e não vai sujar a roupa nem o cabelo, mas deve levar sua própria roupa para dormir. Você poderá se movimentar durante o exame e deve dormir de preferência de “barriga para cima” ou de lado. Deve-se evitar dormir de bruços, pois pode comprometer o registro da respiração. Os quartos têm ar condicionado, banheiro e você poderá tomar banho se quiser. Você poderá se levantar durante o exame para ir ao banheiro, por exemplo, sem problemas. Sugere-se chegar na clínica em torno de 19:00 para se preparar para o exame, que será realizado durante a noite enquanto você dorme e termina em torno de 06:00. Haverá um lanche antes do exame e quando o exame terminar pela manhã. Os exames são realizados todos os dias, exceto domingo e feriados. O exame não dói. Não se usam agulhas ou instrumentos semelhantes. As complicações são raríssimas. A situação desagradável mais comum seria uma irritação da pele causada pelo adesivo usado para colar os fios do exame na pele. Você poderá sentir um pouco de desconforto com os fios ou ficar incomodado por não dormir na sua casa, atrapalhando assim o seu sono. Se você se sentir bastante incomodado e quiser interromper o exame em qualquer momento, poderá fazer. Basta informar ao técnico, que é o profissional encarregado de passar a noite na clínica para supervisionar os exames. Os pacientes que tiverem esse exame (polissonografia) alterado serão encaminhados novamente ao ambulatório de Otorrinolaringologia do Hospital Universitário Walter Cantídio para seguimento e tratamento da doença, de acordo com a necessidade de cada paciente, sendo garantida a continuidade da assistência e acompanhamento quando terminar a pesquisa ou mesmo se o paciente desistir antes de terminar a pesquisa.

Não haverá absolutamente nenhuma despesa referente à pesquisa, e você será devidamente compensado em relação a transporte, alimentação e dia não trabalhado. Se for necessário para fins de emprego, você receberá uma declaração ou atestado, de forma que você não será prejudicado.

Na hora da cirurgia, depois que tirar a amígdala, será retirado também um pedacinho de três músculos que ficam bem próximo, do tamanho da metade do seu dedo mínimo e da largura de um palito de fósforo. Os riscos são mínimos, que já fazem parte de qualquer cirurgia de garganta para tratar a apneia do sono. O risco mais comum seria um discreto sangramento. Isso não vai mudar em nada o resultado da sua cirurgia nem terá qualquer alteração na função desses

músculos. O objetivo de retirar um pedacinho desses músculos é estudar as características dos nervos e algumas estruturas que fazem parte desses músculos, e saber se isso tem alguma relação com os resultados da cirurgia que você irá fazer, chamada de faringoplastia. O tempo necessário para tirar esse pedacinho do músculo é de um minuto. Esse material utilizado para a pesquisa será guardado com total segurança e examinado em outro dia através de um microscópio. O material, no caso os fragmentos dos músculos que serão retirados durante a cirurgia, será guardado em um laboratório da Universidade Federal do Ceará, o Laboratório de Cirurgia Experimental, e se for necessário para outros estudos, entraremos em contato com você para autorização.

Não há benefício direto para você com a participação na pesquisa. A sua colaboração é para o desenvolvimento da ciência, o que lhe poderá ser útil ou não em algum momento da sua vida. Somente no final do estudo poderemos saber se haverá ou não algum benefício para a ciência. No caso, esperamos que o estudo dos músculos da garganta possa ajudar a entender melhor a doença da apneia do sono.

Você tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem prejuízo para seu tratamento nesse hospital, ou seja, se desejar não participar, sua cirurgia será realizada da mesma forma.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr **Guilherme Leal Dantas**, que pode ser encontrado na Rua Eduardo Salgado, 411, apt 200, telefone (85) 999913157 (celular). É garantido ao paciente que aceitar participar da pesquisa o recebimento de uma via desse documento que está sendo apresentado agora, chamado de termo de consentimento livre e esclarecido.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC – Rua Capitão Francisco Pedro 1290, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8589 – E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br” ou o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 – Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344. (Horário: 08:00 – 12:00 de segunda a sexta-feira). O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

APÊNDICE E – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Identificação

1-Prontuário: _____

2-Telefones: _____ / _____

3-Sexo: 1- Masculino; 2- Feminino

4-Idade (anos): _____

5-Ocupação: 1- Desempregado; 2- Assalariado; 3- Autônomo; 4- Aposentado

6-Procedência: 1- Fortaleza; 2- Região metropolitana; 3-Interior; 4- Outro Estado

7-Anos de estudo: _____

8-Hábitos

8.1 Tabagismo: 1-sim; 2-não

8.2 Etilismo: 1-sim; 2-não

8.3 Drogas Ilícitas: 1-sim; 2-não

9- Comorbidades/História patológica pregressa:

9.1 – Diabetes: 1-sim; 2-não

9.2 - IRC: 1-sim; 2-não

9.3 – ICC: 1-sim; 2-não

9.4 – Hipotireoidismo: 1-sim; 2-não.

Caso sim, especificar tempo de uso da medicação

9.5 – Asma: 1-sim; 2-não

9.6 – DPOC: 1-sim; 2-não

9.7 – Depressão: 1-sim; 2-não

9.8 – Doença Coronariana: 1-sim; 2-não

9.9 - Dislipidemias: 1-sim; 2-não

9.10 – Doenças neuromusculares

9.11 - Deformidades maxilomandibulares significativas

9.12 – Cirurgias orofaríngeas prévias

9.13 – Outros _____

10- Uso de Medicamentos:

10.1 - Benzodiazepínico: 1-sim; 2-não

10.2 - Antidepressivos: 1-sim; 2-não

10.3 – Relaxante Muscular: 1-sim; 2-não

10.4 – Outras medicações com ação no SNC: 1-sim; 2-não _____

11- Uso de Medicamentos Antihipertensivos:

11.1- Diuréticos tiazídico (hidroclorotiazina): 1-sim; 2-não

11.2- Diuréticos de alça (furosemida): 1-sim; 2-não

11.3- IECA (captopril, enalapril): 1-sim; 2-não

11.4- Bloq Receptor Angiotensina (losartana, valsartana): 1-sim; 2-não

11.5- Beta-bloqueador (propranolol, carvedilol): 1-sim; 2-não

11.6-Bloq. Canais Ca⁺⁺ (nifedipina, anlodipina, verapamil): 1-sim; 2-não

11.7-Alfa2-agonista (clonidina): 1-sim; 2-não

11.8-Ação central (metildopa): 1-sim; 2-não

11.9-Outros: 1-sim; 2-não _____

12-Medidas Antropométricas

12.1-Altura _____

12.2-Peso _____

12.3- Circunferência abdominal _____

12.4-Circunferência cervical _____

12.5-Circunferência do quadril _____

13- Medidas de Pressão Arterial na consulta

13.1-PAs _____

13.2-PAd _____

14- Medidas de Pressão Arterial Média no MAPA inicial

- 14.1- PAs-total _____
- 14.2- PAd-total _____
- 14.3- PAs-vigília _____
- 14.4-PAd-vigília _____
- 14.5- PAs-sono _____
- 14.6- PAd-sono _____

15- Medidas de Pressão Arterial Média no MAPA de 6 meses

- 15.1- PAs-total _____
- 15.2- PAd-total _____
- 15.3- PAs-vigília _____
- 15.4-PAd-vigília _____
- 15.5- PAs-sono _____
- 15.6- PAd-sono _____

16. – Dados Polissonográficos: pré e pós-operatório (6 meses)

- 16.1 TTR – Tempo total de registro (min) _____
- 16.2 TTS – Tempo total de sono (min) _____
- 16.3 TTR – Tempo total de registro (min) _____
- 16.4 TW – Tempo acordado (min) _____
- 16.5 ES – Eficiência do sono (%) _____
- 16.6 E1 – Estágio 1 do sono (%) _____
- 16.7 E2 – Estágio 2 do sono (%) _____
- 16.8 E3– Estágio 3 do sono (%) _____
- 16.9 REM - Estágio REM do sono (%) _____
- 16.10 LNREM – Latência do sono não REM (min) _____
- 16.11 LREM – Latência do sono REM (min) _____
- 16.12 ID – Índice de despertares (n/h) _____
- 16.13 SaO₂B - Saturação de O₂ basal (%) _____
- 16.14 SaO₂M - Saturação de O₂ média (%) _____
- 16.15 SaO₂B SaO₂MIN mínima (%) _____
- 16.16 SaO₂90 - Saturação de O₂ <90% (min) _____
- 16.17 AC – Apnéia central (eventos) _____
- 16.18 AO – Apnéia obstrutiva (eventos) _____
- 16.19 AM Apnéia mista (eventos) _____
- 16.20 Apnéia - número de eventos de apneia (AC + AO + AM) _____
- 16.21 Hipopnéia – Número de eventos de hipopnéia _____
- 16.22 EVENTOS - Número de eventos respiratórios (A + HIP) _____
- 16.23 IAH – Índice de apneia hipopneia (EVENTOS/TTS) _____

17 - Exames Laboratoriais Iniciais:

- 17.1-Glicemia de jejum _____
- 17.2-Colesterol total _____
- 17.3-LDL _____
- 17.4-VLDL _____
- 17.5-HDL _____
- 17.6-Triglicerídeos _____
- 17.7- P-NE _____
- 17.8-U-NEd _____
- 17.9-U-NEn _____
- 17.10-VMA _____
- 17.11-MN _____
- 17.12-ARP _____
- 17.13-CAP _____
- 17.14-Sódio24h _____

17.15-Creatinina24h _____

17.16- Aldosterona24h _____

18 - Exames Laboratoriais 6 meses após a cirurgia:

18.1-Glicemia de jejum _____

18.2-Colesterol total _____

18.3-LDL _____

18.4-VLDL _____

18.5-HDL _____

18.6-Triglicerídeos _____

18.7- P-NE _____

18.8-U-NEd _____

18.9-U-NEen _____

18.10-VMA _____

18.11-MN _____

18.12-ARP _____

18.13-CAP _____

18.14-Sódio24h _____

18.15-Creatinina24h _____

18.16- Aldosterona24h _____

19. ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPWORTH

0 = nenhuma chance de cochilar

1 = pequena chance de cochilar

2 = moderada chance de cochilar

3 = alta chance de cochilar

SITUAÇÃO

CHANCE DE COCHILAR

19.1 Sentado lendo ()

19.2 Vendo televisão ()

19.3 Sentado em local público, sala de espera,cinema,teatro,igreja ()

19.4 Deitado após o almoço sem beber álcool ()

19.5 Como passageiro de carro, ônibus ou trem andando 1 hora sem parar ()

19.6 Sentado e conversando calmamente após almoço sem tomar álcool ()

19.7 Se estiver de carro, enquanto para por alguns minutos pegando trânsito intenso ()

20. Escala gradativa de 1 (irrelevante) a 10 (severamente afetado) para avaliação das seguintes variáveis:

20.1 Ronco ()

20.2 Cefaleia matinal ()

20.3 Impacto geral na qualidade de vida ()

Avaliação Otorrinolaringológica**21- Nariz**

- 0- Septo centrado em pós operatório
 - 1- Centrado, cartilagem/osso de assoalho normal, <10% obstrução
 - 2- 10-50% de obstrução no pior lado
 - 3- 50-90% de obstrução no pior lado
 - 4- 90-100% de obstrução no pior lado ou pólipos nasais obstrutivos
- Obs- rinite alérgica acrescenta um ponto, não exceder total de 5 pontos.

22 – Mallampati

- 1- Toda a úvula e tonsilas/pilares
- 2- Parcialmente a úvula e parcialmente tonsilas/pilares
- 3- Base da úvula
- 4- Úvula não visualizada

23- Tonsila palatina

- 0- Tonsilectomia
- 1- Dentro dos pilares
- 2- Fora dos pilares, <25% da via aérea
- 3- 25-75% da via aérea
- 4- >75% da via aérea

24- Tonsila lingual

- 0- Nenhuma
- 1- Pequena
- 2- Média
- 3- Grande

25- Tonsila faríngea

- 0- Pós-operatório
- 1- <10% de obstrução
- 2- 10-50% de obstrução
- 3- 50-90% de obstrução
- 4- >90% de obstrução

26- Úvula

- 0- Ausente
- 1- $U < 50\text{mm}^2$ (5x10mm)
- 2- $50\text{mm}^2 < U < 112.5\text{mm}^2$ (7,5x15mm)
- 3- $112,6\text{mm}^2 < U < 200\text{mm}^2$ (10x20mm)
- 4- $U > 200\text{mm}^2$

27- Língua (naso, paciente sentado, boca aberta)

- 1- Valécula livre
- 2- Valécula preenchida pela língua
- 3- Epiglote posteriorizada
- 4- Epiglote tocando parede posterior da faringe secundário a uma pressão da base da língua

28- Laringe

- 0- normal
- 1- Qualquer obstrução da via aérea ou deformidade da epiglote não abordada nos demais tópicos

29- Manobra de Müller retropalatal:

- 1 - negativa ; 2 - 0-25% ; 3- 25-50% ; 4 - 50-75% ; 5 >75%

30- Manobra de Müller retrolingual:

- 1 - negativa ; 2 - 0-25% ; 3- 25-50% ; 4 - 50-75% ; 5 >75%

31 – Classificação de Fugita

- 1 – I; 2 – IIA; 3 – IIB; 4 – III

32 – Palato web: 1- sim; 2 - não**33 - Palato Ogival:** 1- sim; 2 - não**34 - Palato posteriorizado:** 1- sim; 2 - não

35 - Mordida cruzada: 1- sim; 2 - não

36 - Impressão dos dentes na língua: 1- sim; 2 - não

37 - Retroposicionamento de mandíbula: 1- sim; 2 – não

Dados da cirurgia:

38. Data da cirurgia:

39. Cirurgião:

40. Tamanho do material (cm²):

41. Intercorrências cirúrgicas: 1- sim 2-não

Caso sim, especifique:

APÊNDICE F – DADOS GERAIS DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO CONTROLE

DADOS	Ind 1	Ind 2	Ind 3	Ind 4	Ind 5	Ind 6
Sexo	Fem	Fem	Masc	Fem	Fem	Fem
Idade	29 anos	22 anos	23 anos	29 anos	29 anos	35 anos
IAH	0	0	0,2/hora	2,1/hora	1,8/hora	0,2/hora

Ind, indivíduo; IAH, índice de apneia e hipopneia registrado em exame de tonometria arterial periférica com *Watch-PAT*

Fonte: elaborada pelo autor.

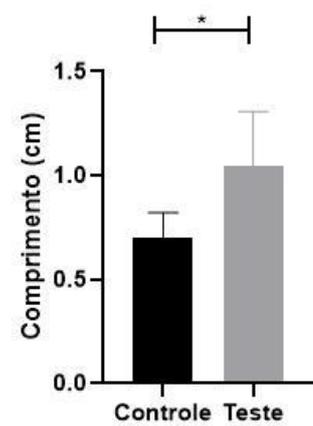
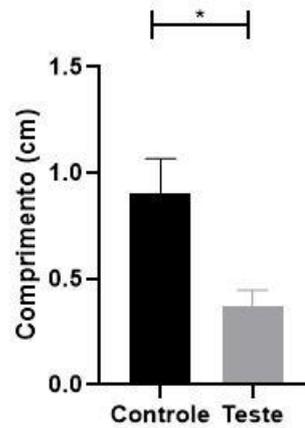
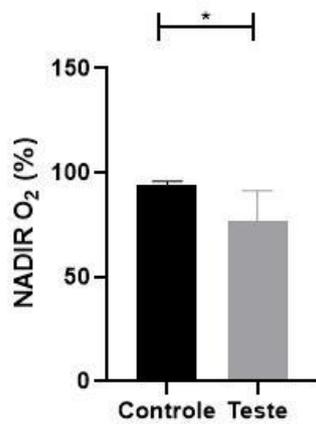
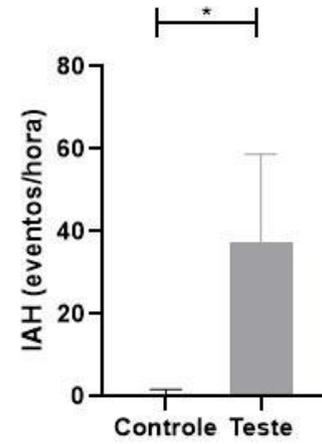
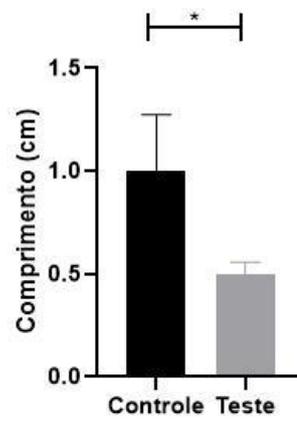
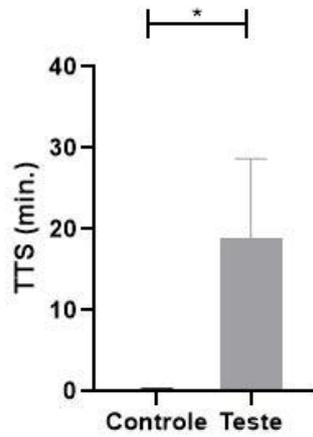
**APÊNDICE G – DADOS GERAIS E POLISSONOGRÁFICOS DOS INDIVÍDUOS
DO GRUPO CASO**

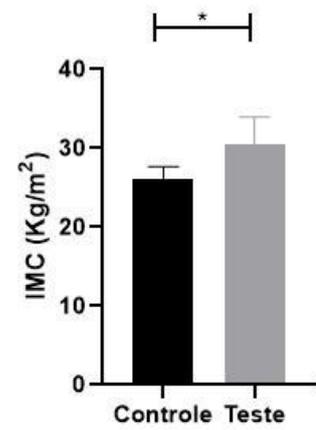
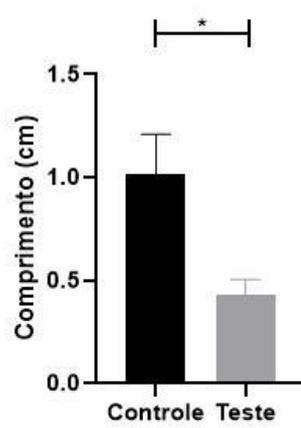
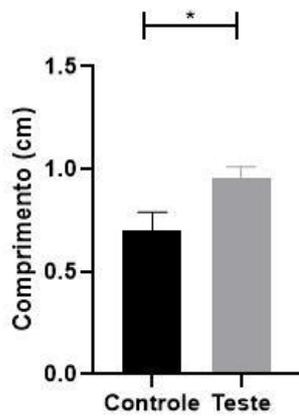
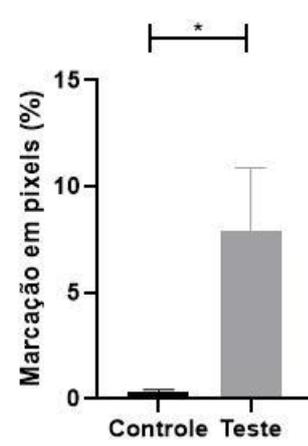
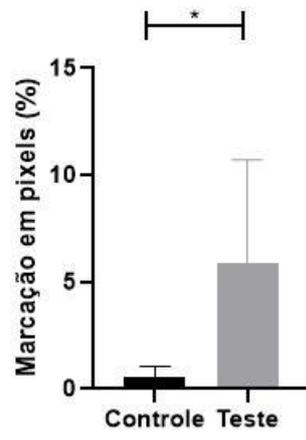
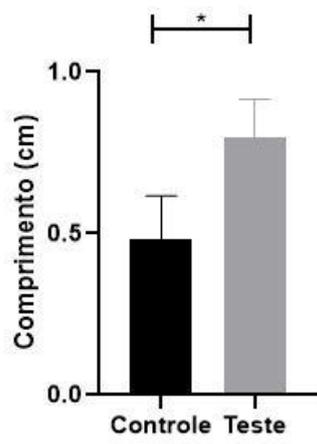
DADOS	Ind 1	Ind 2	Ind 3	Ind 4	Ind 5	Ind 6	Ind 7
Idade	35	28	41	37	29	18	27
IMC	27	33	30	35	8	27	34
IAH	44,8	76,4	41,1	23,3	7,8	33	36,2
Nadir O2 (%)	84	48	78	75	92	87	76
TTS 90 (min)	5,8	55,8	46,5	5,8	0	3,1	52,5

Ind, indivíduo; IMC=índice de massa corpórea; IAH=índice de apneia-hipopneia; Nadir O2=saturação mínima de oxi-hemoglobina; O (TTS 90) = tempo de oxigenação abaixo de 90%

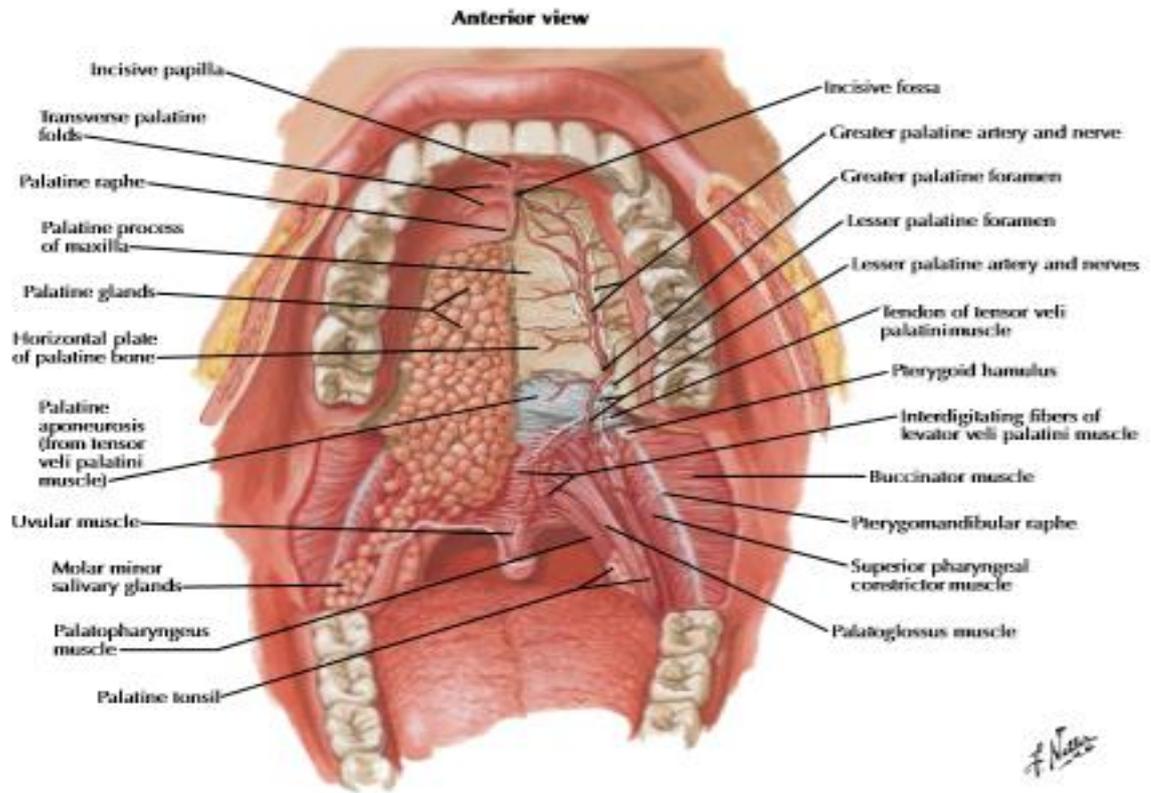
Fonte: elaborada pelo autor.

APÊNDICE H – GRÁFICOS COMPARATIVOS ENTRE GRUPO CONTROLE E CASO



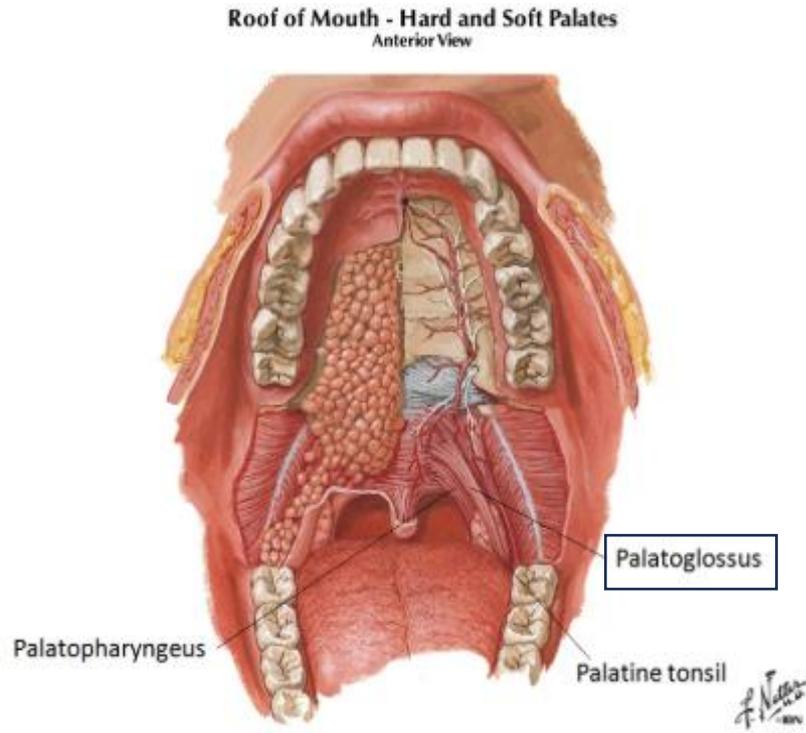


ANEXO A – ANATOMIA DA OROFARINGE



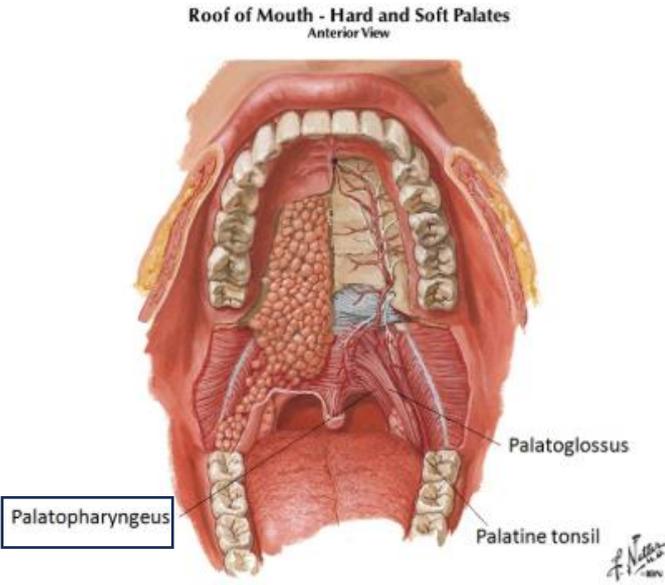
Fonte: Netter (2007)

ANEXO B – PALATOGLOSSO



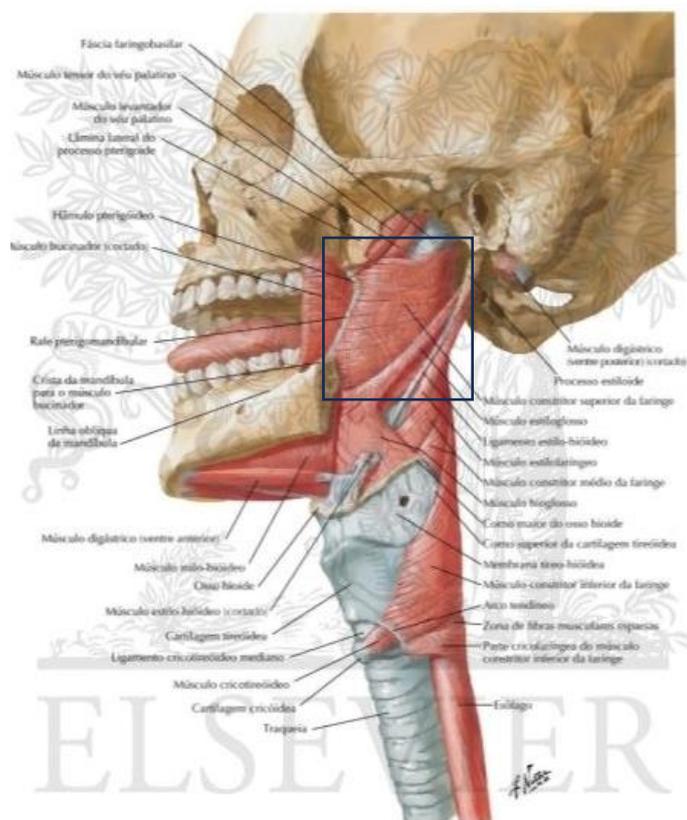
Fonte: Netter (2007)

ANEXO C – PALATOFARÍNGEO



Fonte: Netter (2007)

ANEXO D – MÚSCULO CONSTRITOR SUPERIOR DA FARINGE



Fonte: Netter (2007)

ANEXO E – QUESTIONÁRIO STOP-BANG

Questionário STOP-BANG

1. **Snore** – Ressoa alto (audivel através de porta fechada)?
 Sim Não
2. **Tired** – Durante o dia sente-se frequentemente cansado ou sonolento?
 Sim Não
3. **Observed** – Já alguém reparou que para de respirar durante o sono?
 Sim Não
4. **Pressure** – Tem ou é medicado para hipertensão arterial?
 Sim Não
5. **Body Mass Index** – Índice de massa corporal acima de 35?
 Sim Não
6. **Age** – Idade superior a 50 anos?
 Sim Não
7. **Neck** – Perímetro cervical superior a 40 cm?
 Sim Não
8. **Gender** – Sexo masculino?
 Sim Não

Questionário adaptado de: Chung F et al. *Anesthesiology* 2008; 108: 812-821, e Chung F et al *Br J Anaesth.* 2012; 108: 768-775.

ANEXO F – QUESTIONÁRIO DE BERLIM

Questionário de Berlim	
<p>Categoria 1</p> <p>1. Você ronca?</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p><input type="checkbox"/> Não sei</p> <p>2. Seu ronco é:</p> <p>Pouco mais alto que sua respiração?</p> <p>Tão mais alto que sua respiração?</p> <p>Mais alto do que falando?</p> <p>Muito alto que pode ser ouvido nos quartos próximos?</p> <p>3. Com que frequência você ronca?</p> <p>Praticamente todos os dias</p> <p>3-4 vezes por semana</p> <p>1-2 vezes por semana</p> <p>Nunca ou praticamente nunca</p> <p>4. O seu ronco incomoda alguém?</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p>5. Alguém notou que você para de respirar enquanto dorme?</p> <p>Praticamente todos os dias</p> <p>3-4 vezes por semana</p> <p>1-2 vezes por semana</p> <p>Nunca ou praticamente nunca</p>	<p>Categoria 2</p> <p>6. Quantas vezes você se sente cansado ou com fadiga depois de acordar?</p> <p>Praticamente todos os dias</p> <p>3-4 vezes por semana</p> <p>1-2 vezes por semana</p> <p>Nunca ou praticamente nunca</p> <p>7. Quando vc está acordado você se sente cansado, fadigado ou não sente bem?</p> <p>Praticamente todos os dias</p> <p>3-4 vezes por semana</p> <p>1-2 vezes por semana</p> <p>Nunca ou praticamente nunca</p> <p>8. Alguma vez você cochilou ou caiu no sono enquanto dirigia?</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p>Categoria 3</p> <p>9. Você tem pressão alta?</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p><input type="checkbox"/> Não sei</p> <p>IMC=</p>
<p>Pontuação das perguntas: Qualquer resposta circulada é considerada positiva.</p> <p>Pontuação das categorias: Categoria 1 é positiva com 2 ou mais respostas positivas para as questões 1-5; Categoria 2 é positiva com 2 ou mais respostas positivas para as questões 6-8; Categoria 3 é positiva se a resposta para a questão 9 é positiva ou o IMC > 30.</p> <p>Resultado final: 2 ou mais categorias positivas indicam alto risco para AOS.</p>	

Referência: 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.

ANEXO G – ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPWORTH

TABLE 1. *The Epworth sleepiness scale*

THE EPWORTH SLEEPINESS SCALE

Name: _____
 Today's date: _____ Your age (years): _____
 Your sex (male = M; female = F): _____

How likely are you to doze off or fall asleep in the following situations, in contrast to feeling just tired? This refers to your usual way of life in recent times. Even if you have not done some of these things recently try to work out how they would have affected you. Use the following scale to choose the *most appropriate number* for each situation:

0 = would *never* doze
 1 = *slight* chance of dozing
 2 = *moderate* change of dozing
 3 = *high* chance of dozing

Situation	Chance of dozing
Sitting and reading	_____
Watching TV	_____
Sitting, inactive in a public place (e.g. a theater or a meeting)	_____
As a passenger in a car for an hour without a break	_____
Lying down to rest in the afternoon when circumstances permit	_____
Sitting and talking to someone	_____
Sitting quietly after a lunch without alcohol	_____
In a car, while stopped for a few minutes in the traffic	_____

Thank you for your cooperation

Fonte: Johns (1991).