

**BRUNO BERNARDO DUARTE**

**Comparação histológica entre as fibras dos músculos  
palatofaríngeo e constritor superior da faringe em indivíduos  
com e sem apneia obstrutiva do sono**

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

Programa de: Otorrinolaringologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Ubirajara  
Sennes

**São Paulo  
2017**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Duarte, Bruno Bernardo

Comparação histológica entre as fibras dos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe em indivíduos com e sem apnéia obstrutiva do sono / Bruno Bernardo Duarte. -- São Paulo, 2017.

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

Programa de Otorrinolaringologia.

Orientadora: Luiz Ubirajara Sennes.

Descritores: 1.Apneia do sono tipo obstrutiva 2.Fibras musculares  
3.Faringe/histologia 4.Músculo esquelético 5.Músculos faríngeos 6.Músculo palatofaríngeo

USP/FM/DBD-135/17

*Aos meus pais, **Edmundo e Fabiola**, pelo apoio e incentivo incondicionais em todos os momentos. Minha admiração pelo caráter, pela honestidade e pela família que formamos, exemplo diário e inspiração na minha vida pessoal e profissional.*

*À minha tia **Marilu**, minha segunda mãe.*

*À **Gabi**, companheira, amada, conselheira e apoiadora incondicional nesta caminhada.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao **Prof. Dr. Luiz Ubirajara Sennes**, orientador desta tese, responsável pelo programa de pós-graduação da disciplina de otorrinolaringologia da FMUSP, agradeço pelos conselhos, pelas orientações e pelos incentivos a esta tese.

Ao **Prof. Dr. Michel Burihan Cahali**, idealizador, orientador e incentivador desta tese, ao qual tenho grande admiração, agradeço pela imensa dedicação e ajuda na realização deste trabalho.

À **Prof. Dra. Suely Kazue Nakahashi Marie**, responsável pelo LIM-15 do Departamento de Neurologia da FMUSP, orientadora, exemplo de competência e conhecimento imensos na área da pesquisa, agradeço por ter depositado confiança no meu trabalho e por ter disponibilizado sem restrições o laboratório, sem o qual esta pesquisa não teria sido realizada.

Ao **Prof. Dr. Gilberto Guanaes Simões Formigoni**, responsável pelo ambulatório de ronco e apneia do sono do HCFMUSP, agradeço pelos ensinamentos na área de Medicina do Sono, e pelas sugestões e pelas orientações durante a realização desta pesquisa e durante o exame de qualificação.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Ferreira Bento**, professor titular da disciplina de otorrinolaringologia do HCFMUSP, pela oportunidade de ingressar nesta pós-graduação.

Aos **Prof. Dr. Pedro Genta** e **Prof. Dr. Rui Imamura**, pelas valiosas e pertinentes sugestões no exame de qualificação.

Ao **Prof. Dr. Silvio A. M. Marone**, professor titular da disciplina de otorrinolaringologia da Faculdade e Medicina da PUC-Campinas, pelo exemplo de profissional, responsável pela minha formação em Otorrinolaringologia, e grande incentivador desta tese.

A todos os membros do LIM-15, especialmente **Eliene Dutra e Thais Galatro**, pela ajuda com todos os processos de fixação, congelação e confecção das lâminas dos fragmentos coletados, além de todos os ensinamentos laboratoriais fundamentais para a realização desta tese.

Ao **Dr. Danilo Ferrucci**, agradeço pelos ensinamentos, pela dedicação e pelo apoio técnico na realização desta tese.

Às secretárias **Marilede, Lucy e Márcia**, pelas orientações quantos aos procedimentos burocráticos desta empreitada.

Aos médicos residentes e *fellows* que me ajudaram em diversas etapas da elaboração desta tese.

## NORMALIZAÇÃO ADOTADA

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

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

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

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

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>2</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Fisiopatologia da SAOS</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1.1 Fatores anatômicos</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1.2 Limiar para despertar</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1.3 Instabilidade ventilatória</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1.4 Redução do volume pulmonar</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1.5 Fatores Genéticos</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1.6 Mecanismos fisiológicos subjacentes aos fatores epidemiológicos para a SAOS</b> .....	<b>10</b>
2.1.6.1 Obesidade.....	11
2.1.6.2 Sexo masculino.....	11
2.1.6.3 Idade.....	12
<b>2.1.7 Fator neuromuscular</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1.8 Fator muscular</b> .....	<b>16</b>
2.1.8.1 Morfologia do músculo esquelético .....	16
2.1.8.1.1 <i>Tipos de fibras musculares</i> .....	17
2.1.8.1.2 <i>Distribuição dos tipos de fibras musculares</i> .....	20
2.1.8.1.3 <i>Mutabilidade dos tipos de fibras</i> .....	21
2.1.8.1.4 <i>Miosina e suas Isoformas</i> .....	22
2.1.8.2 Estrutura da parede lateral da faringe.....	23
2.1.8.3 Colapsabilidade da faringe.....	24

2.1.8.4 Alterações histológicas na musculatura da parede lateral da faringe em pacientes apneicos .....	25
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>31</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Casuística .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1.1 Grupo de estudo (apneicos) .....</b>	<b>33</b>
4.1.1.1 Critérios de inclusão .....	33
4.1.1.2 Critérios de exclusão.....	34
<b>4.1.2 Grupo-controle (não apnéicos).....</b>	<b>34</b>
4.1.2.1 Critérios de Inclusão .....	34
4.1.2.2 Critérios de exclusão.....	35
<b>4.2 Métodos .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2.1 Avaliação pré-operatória.....</b>	<b>36</b>
<b>4.2.2 Procedimentos cirúrgicos.....</b>	<b>37</b>
<b>4.2.3 Coleta do material e preparação histológica.....</b>	<b>37</b>
4.2.3.1 Estudo histológico .....	40
4.2.3.2 Estudo imuno-histoquímico.....	41
4.2.3.3 Histograma da distribuição dos tipos de fibras musculares por meio de análise imuno-histoquímica.....	42
4.2.3.4 Análise do espaço intercelular .....	44
<b>4.2.4 Análise estatística dos dados .....</b>	<b>45</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>48</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>6.1 Estrutura histológica do MPF e do MCSF em indivíduos sem SAOS.....</b>	<b>62</b>
<b>6.2 Comparação da estrutura histológica do MPF e do MCSF entre indivíduos com e sem SAOS .....</b>	<b>66</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>72</b>
<b>8 ANEXOS.....</b>	<b>74</b>
<b>8.1 ANEXO A - Aprovação CAPPesq.....</b>	<b>74</b>
<b>8.2 ANEXO B - Termo de Ciência Livre e Esclarecido (grupo-controle).....</b>	<b>75</b>
<b>8.3 ANEXO C - Termo de Ciência Livre e Esclarecido (grupo de estudo).....</b>	<b>78</b>
<b>8.4 ANEXO D - Escala de Sonolência de Epworth .....</b>	<b>81</b>
<b>9 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>83</b>
<b>10 APÊNDICE</b>	

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.U.	<i>arbitrary unity</i>
ABS	complexo avidina-biotina-peroxidase
ATPase	adenosinatrifosfatase
CPAP	<i>continuous positive airway pressure</i>
EMG	eletromiografia
F.M.	<i>fast myosin</i>
FG	<i>fast-twich glycolytic</i>
FL	faringoplastia lateral
FOG	<i>fast-twich oxidative-glycolytic</i>
GG	músculo genioglosso
Gomori	tricômio de Gomori modificado
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HE	hematoxilina-eosina
IAH	índice de apneia-hipopneia
IMC	índice de massa corpórea
LIM	laboratório de investigações médicas
MCSF	músculo constritor superior da faringe
MEC	matriz extracelular
MHCI	cadeia pesada de miosina I
MHCII	cadeia pesada de miosina II
MPF	músculo palatofaríngeo
MyHC	isoforma de miosina de cadeia pesada
NadirO <sub>2</sub>	saturação mínima de oxiemoglobina
PaCO <sub>2</sub>	pressão parcial de dióxido de carbono
Pcrit	pressão crítica de fechamento da faringe
RNM	ressonância nuclear magnética

S.M.	<i>slow myosin</i>
SAOS	síndrome da apneia do sono
SNC	sistema nervoso central
SO	<i>slow-twich oxidative</i>
TC	tomografia computadorizada
UPFP	uvulopalatofaringoplastia
VAS	via aérea superior

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	percentual
<	menor que
=	igual a
Cm	centímetro
cmH <sub>2</sub> O	centímetros de água
Kg	quilograma
M <sup>2</sup>	metro quadrado
O	graus Celsius
>	maior que
$\mu$ m	micrômetro

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Principais diferenças histoquímicas, bioquímicas e metabólicas entre as fibras do músculo esquelético.....	20
--	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Localização da coleta do fragmento do músculo constritor superior da faringe (retângulo de cor vermelha) .....38
- Figura 2** - Local da ressecção do fragmento do músculo palatofaríngeo (retângulo de cor vermelha).....39
- Figura 3** - Fragmentos musculares obtidos no intraoperatório e colocados em gazes umedecidas com soro fisiológico 0,9% para serem transportados e congelados em menos de 3 horas após a remoção.....39
- Figura 4** - Processos de fixação em rolha de cortiça e congelação em nitrogênio líquido. ....40
- Figura 5** - Espaço intercelular classificado como grau 0 na coloração de Gomori.....44
- Figura 6** - Espaço intercelular classificado como grau 3 na coloração de Gomori.....45
- Figura 7** - Exemplo da classificação dos 4 quadrantes e da média aritmética final (quadrante 1=2, quadrante 2=2, quadrante 3=2, quadrante 4=1, *score* final= 1,75. ....45
- Figura 8** - Comparação dos músculos constritor superior da faringe e palatofaríngeo quanto à distribuição dos tipos de fibras musculares e quanto ao valor do espaço intercelular das fibras musculares em indivíduos sem SAOS.....52
- Figura 9** - Comparação dos grupos de indivíduos apneicos e não apneicos no MPF quanto à distribuição dos tipos de fibras musculares e quanto ao valor do espaço intercelular das fibras musculares 55
- Figura 10** - Comparação dos grupos de indivíduos apneicos e não apneicos no MCSF quanto à distribuição dos tipos de fibras musculares e quanto ao valor do espaço intercelular das fibras musculares 57

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Representações gráficas dos dados antropométricos, clínicos e polissonográficos nos grupos de pacientes sem e com SAOS.....49

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Dados antropométricos, clínicos e polissonográficos dos dois grupos de pacientes.....48
- Tabela 2** – Número total de fibras musculares contadas nos MPF e MCSF em indivíduos sem SAOS nas duas reações imuno-histoquímicas.....50
- Tabela 3** - Número total de fibras musculares contadas nas reações imuno-histoquímicas para miosina lenta (tipo I) e miosina rápida (tipo II) nos dois músculos estudados (MPF e MCSF) em indivíduos sem e com SAOS. ....50
- Tabela 4** - Distribuição dos tipos de fibras musculares nos MPF e MCSF em indivíduos sem SAOS. ....51
- Tabela 5** - Distribuição dos tipos de fibras musculares nos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe em indivíduos com e sem SAOS. ....54
- Tabela 6** - Dados dos valores da medida do espaço intercelular nos MPF e MCSF em pacientes sem e com SAOS.....54
- Tabela 7** - Valores do número de indivíduos sem e com SAOS com fibras híbridas nos MPF e MCSF.....58

## RESUMO

Duarte BB. *Comparação histológica entre as fibras dos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe em indivíduos com e sem apneia obstrutiva do sono* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

**Introdução:** A parede lateral da faringe tem importante papel no colapso da via aérea superior nos episódios de apneia obstrutiva do sono (AOS). Os dois principais músculos que formam esta região são o músculo palatofaríngeo (MPF) e o músculo constritor superior da faringe (MCSF). Estes músculos são classificados como esqueléticos e não possuem um padrão histológico de normalidade estabelecido. Os objetivos do estudo foram verificar a estrutura histológica das fibras do MPF e do MCSF em indivíduos controles sem síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS), e avaliar se indivíduos portadores de SAOS apresentam alterações histológicas nestes músculos em comparação aos controles. **Métodos:** Foram avaliados 28 indivíduos adultos (faixa etária entre 18 e 55 anos de idade), sendo 17 portadores de SAOS grave e 11 controles. Destes 11 controles, 7 eram portadores de ronco primário, e 4 não apresentavam roncos e AOS. Coletaram-se fragmentos de MPF e de MCSF em cirurgia de faringoplastia lateral para os roncadores primários e apneicos graves, e em cirurgia de tonsilectomia das palatinas para os indivíduos com tonsilite crônica caseosa. Os espécimes musculares coletados foram congelados em nitrogênio líquido em até 3 horas após o procedimento cirúrgico. Por meio de colorações histológicas e imuno-histoquímicas, avaliou-se a histologia das fibras musculares no que tange a sua morfologia, a distribuição dos tipos de fibras, as dimensões do espaço intercelular, e a prevalência de fibras híbridas nos 2 músculos e em ambos os grupos. **Resultados:** O grupo-controle apresenta predomínio de fibras do tipo II, de contração rápida e alta fatigabilidade, nos MPF e MCSF, não havendo diferença estatística entre os dois músculos. Encontramos prevalência elevada de fibras híbridas no grupo-controle (45,45% no MPF e 27,27% no MCSF), sem diferença estatística entre os dois músculos. Quanto à comparação entre os grupos controle e SAOS, verificamos redução do percentual de fibras do tipo II do MCSF nos indivíduos com SAOS ( $p=0,04$ ) quando comparados aos controles. Não houve diferença estatística na

distribuição dos tipos de fibras musculares entre os 2 grupos no MPF. **Conclusões:** Os MPF e MCSF possuem composição histológica com predomínio de fibras do tipo II e prevalência elevada de fibras híbridas nos indivíduos sem SAOS. Os indivíduos portadores de SAOS possuem redução do percentual de fibras do tipo II no MCSF em comparação aos indivíduos sem SAOS, e isso pode ter implicações na redução da eficiência desta musculatura, podendo contribuir na etiopatogenia da AOS.

**Descritores:** 1. Apneia obstrutiva do sono 2. Fibras musculares 3. Faringe/histologia 4. Músculo esquelético 5. Músculo constritor superior da faringe 6. Músculo palatofaríngeo.

## ABSTRACT

Duarte BB. *Histological comparison between fibers of the palatopharyngeal and superior pharyngeal constrictor muscles in individuals with and without obstructive sleep apnea [Thesis]*. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

**Introduction:** The lateral pharyngeal muscular wall plays an important role in upper airway collapse in obstructive sleep apnea (OSA) episodes. The two main muscles that form this anatomical site are the palatopharyngeal muscle (PPM) and the superior pharyngeal constrictor muscle (SPCM). These muscles are classified as skeletal and do not have an established normal histological pattern in literature. The objectives of the study were: verify the histological structure of PPM and SPCM fibers in control subjects without obstructive sleep apnea syndrome (OSAS), and evaluate whether OSAS individuals demonstrate histological changes in these muscles compared to controls. **Methods:** Twenty-eight adults (age range between 18 to 55 years old) were evaluated, 17 with severe OSAS and 11 controls. On the control group, 7 had primary snoring and 4 had no snoring or OSA. PPM and SPCM fragments were collected in lateral pharyngoplasty surgery for the primary snoring and severe OSAS patients and a palatine tonsillectomy was executed in individuals with chronic caseous tonsillitis. The collected muscles specimens were frozen in liquid nitrogen within 3 hours after the surgical procedure. Histological and immunohistochemical staining were used to evaluate the histology of muscle fibers concerning their morphology, the distribution of fiber types, the size of the intercellular space and the prevalence of hybrid fibers in the two muscles in both groups. **Results:** The control group showed predominance of type II fibers (fast contraction and high fatigability) in PPM and SPCM, without statistical difference between the two muscles. We found a high prevalence of hybrid fibers in the control group (45.45% in PPM and 27.27% in SPCM), without statistical difference between the two muscles. Regarding the comparison between the control and OSAS groups, we verified a reduction in the percentage of SPCM type II fibers in individuals with OSAS ( $p = 0.04$ ) when compared to controls. There was no statistical difference in the percentage of muscle fiber types between the 2 groups in PPM. **Conclusions:** PPM and SPCM have histological composition with

predominance of type II fibers and high prevalence of hybrid fibers in individuals without OSAS. Patients with OSAS have a reduction in the percentage of type II fibers in SPCM compared to controls, and this may have implications in the efficiency of this muscular function, which may contribute to the etiopathogenesis of OSAS.

**Descriptors:** 1. Obstructive sleep apnea 2. Pharynx / etiopathogenesis 3. Pharynx / histology 4. Skeletal muscle 5. Superior pharyngeal constrictor muscle 6. Palatopharyngeal muscle.

# **1 INTRODUÇÃO**

---

## 1 INTRODUÇÃO

Os colapsos repetidos na via aérea superior durante o sono caracterizam os eventos obstrutivos da síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS). Dentre os diferentes padrões obstrutivos demonstrados em exames de imagem da faringe e de sonoendoscopia, na maioria dos pacientes, observa-se a participação do palato mole e/ou 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 fixar ou sustentar os músculos nesta região. Embora isso possa ser importante para os movimentos de deglutição, constitui uma clara vulnerabilidade à nossa respiração, particularmente durante a redução do tônus muscular que ocorre no sono. Até o momento, as características morfológicas e funcionais das fibras musculares desta região são muito pouco conhecidas.

Como fatores já comprovados que influenciam a fisiopatologia da SAOS, têm-se: anatomia desfavorável da via aérea superior, alteração no limiar para despertar, instabilidade ventilatória, redução do volume pulmonar, fatores genéticos, obesidade, faixa etária elevada e alterações neuromusculares (Eckert; Malhotra, 2008).

A parede lateral da faringe é formada majoritariamente pelos músculos palatofaríngeo (MPF) e constritor superior da faringe (MCSF). Esses músculos são classificados como esqueléticos e ainda não possuem um padrão histológico de normalidade estabelecido.

Alguns estudos tentaram demonstrar características do MPF em pacientes portadores de SAOS, porém, ainda assim, observam-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, 1991; Edström; Larsson; Larsson, 1992; Friberg *et al.*, 1998; Stål; Lindman, 2000; Lindman; Stål, 2002).

O MCSF foi ainda menos estudado, provavelmente pelas dificuldades técnicas de obtenção das amostras durante cirurgias faríngeas. Há um estudo que demonstrou alterações na matriz extracelular (MEC) de pacientes apneicos quando comparados a indivíduos normais, porém a análise histológica da composição dos tipos de fibras musculares não foi objeto de estudo ((Dantas *et al.*, 2012). Outro estudo demonstrou a presença de gotas de lipídeos presentes no interior das fibras musculares de indivíduos apneicos visualizadas ao microscópio eletrônico na coloração de azul de metileno, enquanto que o grupo-controle não continha essas gotículas. Além disso, verificou que a quantidade de infiltração de lipídeos nas fibras musculares era diretamente proporcional ao índice de apneia hipopneia (IAH) (Shi *et al.*, 2016).

Sabendo-se a importância da elucidação do componente muscular para entendimento da etiopatogenia da SAOS, o objetivo do estudo foi caracterizar as fibras musculares do MPF e do MCSF, e verificar se pacientes com SAOS apresentam sinais de lesão ou transformação nestes músculos em relação a pacientes não apneicos.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

---

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Fisiopatologia da SAOS**

O colapso da via aérea superior (VAS) durante o sono, basicamente, é resultante de um desbalanço entre a atividade dos músculos dilatadores da faringe e a pressão intraluminal negativa durante a inspiração. Fatores que tendem a estreitar a luz da faringe incluem as forças adesivas da mucosa, o tônus vasomotor, a flexão do pescoço, a abertura e o deslocamento inferior da mandíbula, a força da gravidade, a resistência nasal aumentada, o efeito de Bernoulli e o aumento da complacência dinâmica. Forças que dilatam a faringe incluem a tração caudal torácica pelo aumento do volume pulmonar, a extensão do pescoço e a contração dos músculos dilatadores da faringe (Eckert; Malhotra, 2008).

Apesar de variações consideráveis entre os indivíduos, existem componentes da fisiopatologia da doença já comprovados, que incluem alterações na anatomia da via aérea superior, variações na capacidade dos músculos dilatadores da via aérea superior de responder às adversidades respiratórias durante o sono, propensão ao despertar cortical durante um aumento da pressão negativa inspiratória, variações na estabilidade do sistema de controle respiratório, mudanças do volume pulmonar e alteração histológica dos músculos que compõem a estrutura muscular faríngea (Eckert; Malhotra, 2008).

#### **2.1.1 Fatores anatômicos**

A faringe humana é uma estrutura única e com múltiplas funções, que incluem a fala, a deglutição e a passagem de ar durante a respiração. Anatomicamente, pode-se dividir a faringe em 4 subsegmentos: nasofaringe

(das coanas até o início do palato mole), velofaringe ou região retropalatal (do início do palato mole até a úvula), orofaringe ou área retroglossal (da úvula até o ápice da epiglote) e hipofaringe (do ápice da epiglote até a região cranial das pregas vocais) (Schwab *et al.*, 1995). A estrutura anatômica e o controle neural da via aérea superior são fundamentais para a adequada realização de suas funções. Como não há suporte de tecidos rígidos na faringe, observa-se uma área colapsável que se estende do palato duro até a região laríngea. Apesar da capacidade da via aérea superior de mudar de configuração e, por alguns momentos, se fechar ser essencial para funções como a fala e a deglutição durante a vigília, esta peculiaridade funcional também pode facilitar o colapso em momentos inoportunos, como na respiração durante o sono (Eckert; Malhotra, 2008).

Por uma perspectiva puramente anatômica, uma via aérea mais estreita é mais propensa ao colapso que uma mais larga. De maneira geral, a área seccional da via aérea medida por meio de visualização direta ou de imagens de tomografia computadorizada (TC) e ressonância nuclear magnética (RNM) durante a vigília e durante o sono está reduzida em pacientes com SAOS em comparação a indivíduos saudáveis (Schwab *et al.*, 1995; Huon *et al.*, 2016). Ademais, também foi demonstrado que o volume dos tecidos moles das vias aéreas superiores é significativamente maior em pacientes com SAOS quando comparados com indivíduos normais (Schwab *et al.*, 1995).

Além disso, já está comprovado que mudanças na estrutura dos tecidos moles da via aérea superior e alterações na estrutura craniofacial predis põem indivíduos a ter distúrbios respiratórios obstrutivos do sono. Análises cefalométricas têm demonstrado a existência de anormalidades craniofaciais em pacientes portadores de SAOS em comparação aos indivíduos controles. Essas análises têm também demonstrado que pacientes com SAOS têm uma mandíbula menor e mais retroposicionada, espaço faríngeo látero-lateral mais estreito, dimensões maiores da língua, tecidos moles mais abundantes, osso hioide posicionado em posição mais inferior e maxila retroposicionada (Eckert; Malhotra, 2008).

Avaliações com ressonância nuclear magnética da região faríngea corroboram esses resultados, demonstrando, de forma significativa, que o volume das paredes laterais da faringe, da língua e dos tecidos moles que envolvem a faringe são mais volumosos em pacientes com SAOS, quando comparados com controles normais ajustados por sexo, idade, etnia, composição craniofacial e tecido gorduroso perifaríngeo (Schwab *et al.*, 1996; Huon *et al.*, 2016).

Quando se realiza a avaliação endoscópica da VAS durante o sono induzido farmacologicamente (sonoendoscopia), verifica-se, apesar das divergências na literatura, que a região retropalatal representa o principal sítio de obstrução durante o sono em pacientes portadores de SAOS. Entretanto, evidencia-se, também, que, em cerca de 70% dos apneicos, há um colapso multinível da faringe (Dempsey *et al.*, 2010).

Um estudo com tomografia computadorizada da região faríngea em pacientes normais e apneicos durante a vigília verificou que a área seccional da via aérea superior era menor em pacientes portadores de SAOS em relação aos indivíduos normais, e que a configuração geométrica da faringe também se mostrou diferente entre os grupos. O grupo de pacientes apneicos possuía configuração elíptica com maior eixo ântero-posterior, ou seja, estreitamento faríngeo látero-lateral (Schwab *et al.*, 1995). Outro estudo de imagem dos mesmos autores com RNM da VAS durante a vigília em indivíduos normais e pacientes apneicos teve como foco os tecidos moles perifaríngeos. Os resultados demonstraram que a área de maior estreitamento da faringe é a retropalatal e que a área seccional faríngea em corte axial é menor em apneicos, com redução das dimensões laterais, corroborando os estudos anteriores. No entanto, verificou-se que este estreitamento látero-lateral se dá pelo espessamento da musculatura da parede lateral da faringe, sem alteração do volume das bolsas de gordura parafaríngeas. Neste estudo, ratificou-se a fundamental participação da parede lateral da faringe na fisiopatologia da SAOS ((Schwab *et al.*, 1995).

Um estudo com RNM dinâmica da VAS durante o sono natural foi realizado em 30 pacientes portadores de SAOS leve e grave. Verificaram que

o colapso da parede lateral da faringe foi preponderante nos 2 grupos quando comparado aos colapsos retroglossal e retropalatal ântero-posterior, sendo mais evidente no grupo de apneicos graves (Huon *et al.*, 2016).

### **2.1.2 Limiar para despertar**

A capacidade do organismo em promover um despertar cortical para encerrar um evento respiratório obstrutivo do sono parece ser um importante mecanismo para reabertura da via aérea (Dempsey *et al.*, 2010). Por outro lado, se o despertar cortical fosse o único meio de se encerrar uma apneia ou uma hipopneia, não seria possível haver sono estável em indivíduos com um SAOS (Eckert; Malhotra, 2008).

Isto posto, seria evidente que um limiar baixo para o despertar (despertar cortical que ocorre como resposta a um estímulo respiratório mínimo) tornar-se-ia um problema, já que não haveria tempo suficiente para se recrutar os músculos dilatadores da faringe durante o sono.

Existem dados da literatura comprovando que há uma variação bastante importante no limiar para o despertar após eventos respiratórios entre os indivíduos, tornando-se um dado fisiopatológico importante na SAOS (Dempsey *et al.*, 2010).

### **2.1.3 Instabilidade ventilatória**

O controle da ventilação durante o sono é apenas químico, dependendo dos quimiorreceptores centrais e periféricos (Wellman *et al.*, 2008).

Durante a transição vigília-sono, oscilações da ventilação podem provocar uma apneia central pela redução da pressão parcial de dióxido de carbono no sangue ( $\text{PaCO}_2$ ) abaixo do limiar de apneia. Porém, embora na apneia de origem central não haja obstrução mecânica da VAS, ocorre uma redução do tônus da musculatura dilatadora da faringe. Assim, um episódio

de apneia central pode terminar como um evento respiratório obstrutivo (apneia mista) (Genta *et al.*, 2014). Por outro lado, o despertar associado à apneia obstrutiva pode levar à hiperventilação, com redução da PaCO<sub>2</sub> e possibilidade de novo evento central (Badr *et al.*, 1995). Dessa forma, a estabilidade do sistema respiratório durante o sono depende do ganho do sistema de controle. O “*loop gain*” representa a razão entre a resposta ventilatória e o distúrbio ventilatório que a gerou. Em outras palavras, ele mede a tendência de instabilidade do sistema de controle. Assim, quando a resposta ventilatória é menor do que o distúrbio que a gerou (“*loop gain*” menor que 1), ocorre o retorno à ventilação basal com o passar do tempo. Por outro lado, quando a resposta ventilatória é maior que o distúrbio que a gerou (“*loop gain*” maior ou igual a 1), há instabilidade ventilatória (Wellman *et al.*, 2008).

#### **2.1.4 Redução do volume pulmonar**

A interação entre o lúmen da faringe e o volume pulmonar pode ser um fator que contribui para o desenvolvimento ou para a piora da SAOS. Isto decorre, basicamente, porque alterações no volume pulmonar pode interferir no diâmetro da área seccional da faringe em indivíduos acordados e durante o sono (Dempsey *et al.*, 2010). Ainda não se sabe certamente como isso ocorre em humanos, indagando-se o conceito da redução da tração caudal nas estruturas da VAS com a diminuição do volume pulmonar, resultando em uma faringe mais colapsável (Dempsey *et al.*, 2010).

Resumindo, quando o volume pulmonar está reduzido, há um deslocamento do diafragma e do tórax rumo à cabeça. Este movimento resulta em perda da tração caudal da faringe, resultando em maior predisposição ao colapso faríngeo.

### 2.1.5 Fatores genéticos

Estudos têm enfatizado o fato da SAOS ser uma doença familiar (Dempsey *et al.*, 2010; Eckert; Malhotra, 2008; Jordan; White, 2008). Entretanto, a presença de agregados familiares não implica necessariamente na presença de fatores genéticos. A SAOS é mais incidente em parentes de primeiro grau de portadores desse distúrbio, quando comparados com indivíduos saudáveis (Eckert; Malhotra, 2008). Contudo, esses dados não são suficientes para se recomendar uma triagem de familiares assintomáticos. Indaga-se a possibilidade de genes controlando o desenvolvimento craniofacial, já que características relacionadas a uma via aérea mais estreita estão presentes em famílias portadoras de SAOS (Ronen; Malhotra; Pillar, 2007). Outro aspecto genético que pode ser envolvido no desenvolvimento da SAOS está relacionado à sensibilidade dos quimiorreceptores para resposta ventilatória à hipóxia e hipercapnia (Dempsey *et al.*, 2010).

Sendo assim, indaga-se fortemente que várias características como o calibre da via aérea superior, a distribuição dos tecidos moles da faringe, as anormalidades do controle ventilatório, a resposta respiratória à resistência aumentada da faringe e a estrutura craniofacial, podem ter bases genéticas. Não obstante, são necessários trabalhos adicionais para determinar como os genes influenciam os mecanismos fisiopatológicos da SAOS (Eckert; Malhotra, 2008).

### 2.1.6 Mecanismos fisiológicos subjacentes aos fatores epidemiológicos para a SAOS

Os maiores fatores de risco para SAOS são idade, sexo masculino e obesidade, apesar dos exatos mecanismos ainda não estarem totalmente esclarecidos (Tufik *et al.*, 2010). Como verificar-se-á a seguir, esses fatores de risco são plausíveis para explicar o aumento no comprometimento anatômico da faringe, redução na função dos músculos dilatadores da faringe,

redução do limiar para o despertar cortical, aumento na instabilidade do controle ventilatório e redução do volume pulmonar.

#### 2.1.6.1 Obesidade

Apesar de já estar comprovado que obesidade é um fator importante para o desenvolvimento da SAOS, e que reduções do peso corporal podem melhorar a severidade da SAOS, o exato mecanismo fisiopatológico ainda não é totalmente compreendido. Deposição de gordura nas paredes laterais da faringe, na língua ou nos tecidos moles faríngeos é plausível para explicar uma redução na área seccional da faringe em pacientes com SAOS, tornando-os mais susceptíveis ao colapso durante o sono ((Zancanella *et al.*, 2014). O aumento de tecido gorduroso na região abdominal pode levar a uma redução da capacidade pulmonar residual funcional, que poderia levar a uma redução do volume pulmonar e, assim, influenciar no aumento da colapsabilidade da via aérea. Essa possível redução no volume pulmonar poderia também ser associada com redução no armazenamento de oxigênio, o que poderia contribuir para uma instabilidade no controle ventilatório. Finalmente, obesidade tem sido associada ao comprometimento funcional dos músculos da VAS, verificado com estudos histológicos, tornando esses músculos mais susceptíveis ao colapso durante o sono (Dempsey *et al.*, 2010).

#### 2.1.6.2 Sexo masculino

De forma similar à obesidade, não está totalmente claro porque a SAOS é mais comum em homens do que em mulheres (Eckert; Malhotra, 2008). Exames de imagem têm revelado que os homens possuem mais deposição de gordura em torno da faringe quando comparados com mulheres (Mcginley *et al.*, 2008). Além disso, observa-se que os homens possuem um comprimento maior da faringe que mulheres. Um estudo com crianças na

puberdade sugere que há um alongamento da via aérea de garotos em comparação com garotas, independente do crescimento sistêmico. Além disso, a região faríngea é mais longa em mulheres pós-menopausa que em mulheres em idade fértil (Schneider *et al.*, 1986; Ronen; Malhotra; Pillar, 2007).

Deste modo, mudanças no comprimento da faringe podem explicar algumas das diferenças de incidência da SAOS nos sexos antes da menopausa. Apesar do enorme número de estudos comparando a anatomia da via aérea nos sexos, não há estudos consistentes comparando o grau de colapsabilidade faríngea entre homens e mulheres (Eckert; Malhotra, 2008).

Diferenças hormonais têm sido propostas para explicar a maior propensão das mulheres desenvolverem SAOS após a menopausa. Realmente, administração de testosterona em homens com hipogonadismo pode induzir apneia do sono em alguns pacientes (Schneider *et al.*, 1986). Entretanto, tentativas de alterar a gravidade da SAOS com base em administração de hormônios não têm mostrado benefícios significativos (Zancanella *et al.*, 2014).

A resposta ventilatória para o despertar é mais intensa em homens que em mulheres, sugerindo que homens estão mais propensos à respiração cíclica. Diferenças entre os sexos no limiar para o despertar e no volume pulmonar não têm sido sistematicamente avaliados até o momento. No entanto, sabe-se que homens tendem a ter acúmulo de tecido adiposo distribuído de forma mais significativa na região central, o que poderia alterar o volume pulmonar, deixando-os mais susceptíveis ao colapso da via aérea por redução na tração caudal da faringe (Schneider *et al.*, 1986; Jordan; White, 2008).

#### 2.1.6.3 Idade

A prevalência da SAOS aumenta progressivamente com a idade (Tufik *et al.*, 2010). Ao longo dos anos, tem sido proposto 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; Malhotra, 2008).

Susceptibilidade anatômica para SAOS parece aumentar com a idade e poder-se-ia explicar isso com o aumento da deposição de gordura em torno da faringe que ocorre com o envelhecimento e com a diminuição da eficiência dos músculos faríngeos para manter a via aérea patente durante o sono. Além disso, o reflexo do músculo genioglosso em resposta ao aumento da pressão negativa faríngea vai se deteriorando com a idade (Schneider *et al.*, 1986).

### 2.1.7 Fator neuromuscular

A manutenção da abertura da via aérea superior depende de diversos fatores e o controle neuromuscular possui participação importante dentro deste contexto. O músculo genioglosso (GG) é o principal músculo responsável pela dilatação da faringe e é também o mais estudado. Quando há uma contração do músculo genioglosso, tende-se a haver a abertura da faringe (Sériès, 2002).

A atividade dos músculos da VAS e dos motoneurônios dos músculos respiratórios estão conectados por meio da ação coordenada entre os nervos hipoglosso e frênico. As ações destes músculos possuem padrões máximos durante a inspiração, justamente pelo fato deste ser um momento crucial para a manutenção da abertura da via aérea, frente à pressão negativa intratorácica (Sériès, 2002).

A atividade dos músculos dilatadores da faringe durante o sono é determinada pelo controle central (*drive* respiratório) e pelo controle local (reflexo da pressão negativa), desempenhando um papel importante da respiração (Genta *et al.*, 2014).

Hiperventilação induzida metabolicamente está associada com um progressivo aumento da atividade eletromiográfica do GG e do músculo

diafragmático. Os músculos do palato mole também demonstram este aumento de atividade durante a hipóxia/hipercapnia (Sériès, 2002).

A pressão negativa intrafaríngea elevada também é um fator determinante na atividade dos músculos da VAS, já que as atividades fásicas e tônicas do GG aumentam com a maior negatividade da pressão da VAS (Genta *et al.*, 2014; Sériès, 2002). Estas mudanças na atividade do GG são observadas na ausência de alteração da atividade diafragmática. São vários os circuitos envolvidos neste reflexo, estimulado pelo aumento da pressão negativa, incluindo o ramo laríngeo do nervo vago (estímulo laríngeo) e os nervos glossofaríngeo e trigêmeo (estímulo nasofaríngeo) (Genta *et al.*, 2014; Sériès, 2002).

Diversos estudos demonstraram, por meio de eletromiografia (EMG), especialmente do GG, que as atividades fásicas e tônicas dos músculos dilatadores faríngeos estão aumentadas nos pacientes apneicos durante a vigília, quando comparados com controles saudáveis (Mezzanotte; Tangel; White, 1992; Carlson *et al.*, 1995). Estes autores teorizaram que esta resposta aumentada da atividade destes músculos pode ser resultante de um possível mecanismo compensatório dos pacientes apneicos para sustentar uma via aérea anatomicamente mais estreita ou com uma musculatura menos eficiente.

Mezzanotte, Tangel e White (1992) fizeram um estudo eletromiográfico em 11 pacientes apneicos e 14 controles normais, e verificaram que a atividade eletromiográfica dos apneicos no GG foi significativamente maior durante a vigília e que, após uso de CPAP com máscara nasal, houve uma queda significativa nos valores, chegando quase aos valores dos pacientes controles normais. Isso supostamente demonstraria que o mecanismo de hiperfunção do GG nos apneicos poderia ser uma consequência da SAOS. Outros estudos utilizando CPAP para verificar a redução da atividade da EMG do GG foram realizados posteriormente comprovando este mecanismo (Mezzanotte; Tangel; White, 1996; Jordan; White, 2008).

Os efeitos do sono NREM sobre o mecanismo neuromuscular em pacientes saudáveis e apneicos são controversos na literatura (Mezzanotte;

Tangel; White, 1996). Sériès (2002) relatou que o efeito do sono NREM não foi uniforme com os diferentes músculos da VAS, com o GG demonstrando redução eletromiográfica não significativa nos apneicos em relação aos saudáveis, diferentemente dos músculos tensor do véu palatino, elevador do véu palatino, palatoglosso e gênio-hioideo, os quais demonstraram redução das atividades fásicas e tônicas de forma significativa nos apneicos em relação aos controles normais. Este mesmo autor demonstrou que a latência para a contração dos músculos da VAS frente à pressão negativa foi menor em pacientes normais que em apneicos (38 para 75ms), o que poderia influenciar na gênese da SAOS.

Mcginley *et al.* (2008) demonstraram em um estudo com 10 apneicos e 09 controles normais de ambos os sexos que as respostas tônicas à pressão negativa eram significativamente maiores nos controles quando comparados aos apneicos durante o sono NREM, sendo que as fásicas não demonstraram diferenças significativas entre os dois grupos.

Sabe-se que a faringe possui múltiplas funções, além daquela de se manter pérvia durante a respiração (Tsumori *et al.*, 2007; Okuda *et al.*, 2008). Kuna (2000) demonstrou as funções dos músculos faríngeos, como aquela de fechar a VAS durante a deglutição e alterar sua conformação durante a fonação. Os músculos constritores da faringe possuem ações diferentes dependendo da necessidade, dilatando a faringe durante a inspiração e fechando a faringe durante a deglutição (Kuna; Smickley, 1997).

Carrera *et al.* (1999) realizaram biópsias de congelação nos músculos GG em 16 apneicos (9 biopsiados no momento do diagnóstico e 7 após um ano de tratamento com CPAP) e em 11 indivíduos controles. Verificaram, então, que os pacientes apneicos pré-tratamento apresentavam uma porcentagem significativamente maior de fibras musculares do tipo II (contração rápida e maior fatigabilidade) quando comparados aos controles. Após um ano de tratamento com CPAP, os pacientes apneicos tratados (sem biópsias anteriores) apresentaram uma distribuição de fibras semelhantes aos controles, com redução significativa das fibras do tipo II. Segundo os autores, isto demonstraria que esta alteração com predomínio de fibras tipo II seria

uma consequência de uma atividade maior deste músculo, e que esta distribuição retorna à normalidade após o tratamento com CPAP.

### **2.1.8 Fator muscular**

#### **2.1.8.1 Morfologia do músculo esquelético**

O tubo muscular faríngeo é composto por músculos estriados esqueléticos (Smirne *et al.*, 1991). Os músculos esqueléticos são formados por feixes de células longas, cilíndricas e multinucleadas que apresentam estriações transversais, as fibras musculares. Essas fibras são originadas do sincício de células embrionárias, os mioblastos (Matsunaga, 2009).

As variações no diâmetro das fibras musculares esqueléticas dependem de vários fatores, como a região do músculo considerado e a consequente atividade executada, a idade, o gênero, o estado de nutrição do indivíduo e o exercício físico (Matsunaga, 2009).

A composição histológica normal dos músculos faríngeos ainda não está estabelecida na literatura, alguns poucos estudos compararam o diâmetro do músculo palatofaríngeo com de outras regiões do corpo humano, demonstrando que, em geral, o músculo faríngeo apresenta menor diâmetro das fibras musculares observadas sob microscopia óptica (Woodson; Garancis; Toohill, 1991; Edström; Larsson; Larsson, 1992; Friberg *et al.*, 1998; Stål; Lindman, 2000; Lindman; Stål, 2002).

As fibras musculares permanecem unidas pelo tecido conjuntivo que as envolve, permitindo que a força de contração gerada pela fibra atue sobre o músculo inteiro. Esse tecido conjuntivo delimita as seguintes camadas: o endomísio, camada que envolve cada fibra muscular; o perimísio, camada que envolve um conjunto de fibras musculares já delimitadas pelo endomísio; e o epimísio, que envolve um feixe de conjuntos de fibras musculares (Matsunaga, 2009).

O citoplasma da fibra muscular compõe-se, principalmente, por fibras paralelas, as miofibrilas. Essas miofibrilas são cilíndricas e acompanham as fibras longitudinalmente. Apresentam faixas claras, Banda I, e faixas escuras, Banda A. A estriação da miofibrila ocorre devido à repetição dos sarcômeros. O sarcômero é a unidade funcional da miofibrila, localizado entre duas linhas Z, contendo uma Banda A e duas semibandas I. No centro da Banda A, há uma região mais clara, chamada de Banda H (Piovesan *et al.*, 2009).

A Banda I é formada, basicamente, por filamentos finos de actina. A Banda A compõe-se do prolongamento dos filamentos finos de actina e por filamentos grossos de miosina. No centro da Banda A, existe a Banda H, composta somente de filamentos grossos de miosina. Na Banda I, observam-se, além dos filamentos finos compostos por actina, tropomiosina e troponina, a nebulina e a titina. A nebulina promove estabilidade ao filamento de actina e previne sua destruição, enquanto que a titina promove a ação semelhante a uma mola bidirecional, estabilizando a fibra muscular, sendo responsável pela tensão muscular passiva (Matsunaga; Piovesan *et al.*, 2009).

De acordo com sua estrutura e composição bioquímica, as fibras musculares podem ser identificadas como do tipo I, ou fibras de contração lenta, e do tipo II, ou fibras de contração rápida.

#### 2.1.8.1.1 Tipos de fibras musculares

Estudos científicos datados do século XIX já tentavam achar explicações para a variação na cor da fibra muscular, em relação à sua fisiologia e à sua estrutura. Em sua grande maioria, as pesquisas eram realizadas em coelhos e outros pequenos mamíferos, e já sugeriam uma diferença fisiológica entre as fibras vermelhas e brancas, correlacionando-as com contração lenta (ST-*slow twitch*) e rápida (FT-*fast twitch*), respectivamente, verificando um maior suprimento vascular nos músculos vermelhos em comparação aos brancos (Matsunaga, 2009).

Em 1884, Grützner afirmou que os músculos de todos os vertebrados eram compostos de dois tipos de fibras: uma fina e escura, e outra larga e clara; definindo a cor escura como grânulos no sarcoplasma.

Paul, Sperling (1952) demonstraram que músculos brancos tinham uma menor quantidade de mitocôndria e baixa atividade respiratória, enquanto os músculos vermelhos eram ricos em mitocôndria e apresentavam alta atividade respiratória.

O desenvolvimento das técnicas histoquímicas possibilitou estudar o sistema enzimático, os componentes celulares das fibras musculares e correlacionar as atividades funcionais de cada fibra com sua morfologia (Matsunaga, 2009).

Dubowitz, Sewry e Fitzsimons (1985) subdividiram as fibras musculares de humanos e animais em dois tipos: tipo I com alta atividade oxidativa e baixa glicolítica; e tipo II com baixa atividade oxidativa e alta glicolítica. A atividade enzimática das fibras intermediárias não foi considerada como outro tipo de fibra.

As fibras intermediárias ou híbridas são fibras que se coram tanto nas colorações específicas que tentam identificar proteínas para miosina lenta quanto naquelas que tentam identificar proteínas para miosina rápida. Estas fibras intermediárias possuem a capacidade de se transformar em fibras musculares rápidas ou lentas dependendo da demanda fisiológica do músculo em questão. Elas estão presentes em situações convencionais até os 3 anos de idade. Todavia, dependendo da demanda do músculo ou de algumas doenças musculares, elas podem estar presentes após essa idade (Fitts; Widrick, 1996).

As fibras de contração rápida podem ser subdivididas em dois subtipos: tipo IIA e IIB. As fibras IIA possuem características contráteis rápidas com capacidade oxidativa-glicolítica (FOG), enquanto que as fibras IIB são chamadas de verdadeiras fibras de contração rápida, pois suas propriedades metabólicas possuem alta capacidade glicolítica (FG). O comportamento fisiológico de um músculo está relacionado a uma unidade motora (UM). A inervação da fibra muscular tem origem nos neurônios dispostos no corno

anterior da espinha dorsal. O neurônio localizado no corno anterior da medula irá ramificar-se para suprir várias fibras do músculo esquelético (Dubowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985).

As fibras de contração rápida podem ainda ser subdivididas em IIA, IIB e IIC, dependendo do conteúdo de ATPase miofibrilar identificado histoquimicamente em Ph com amplitude baixa. As fibras dos tipos IIA e IIB têm propriedades cinéticas similares, porém com padrões transitórios distintos quanto às propriedades da miosina (Matsunaga, 2009). As características das fibras IIC não são tão conhecidas em relação às demais. Discute-se que as fibras tipo IIC podem ser uma fibra intermediária que permite a transformação de fibras tipo IIA e IIB em fibras do tipo I.

Pette e Staron (1997) demonstraram que sete tipos de fibras musculares podem ser classificadas, de acordo com a capacidade da relação ativação/inativação da m-ATPase de cada fibra após pré-incubação em Ph específico: I, IC, IIC, IIAC, IIA, IIAB, IIB. As fibras mais similares às fibras do tipo I são do tipo IC; aquelas fibras mais semelhantes às fibras do tipo II são do tipo IIAC. Algumas fibras permanecem com coloração oculta por meio das amplitudes do Ph (Ph 10.4, PH 4.3 E PH 4.6), sendo denominadas fibras do tipo IIC.

Os tipos de fibras de um músculo são determinados pela unidade motora, e o motoneurônio que inerva a fibra muscular determina o seu tipo. No entanto, se a fibra muscular for inervada por outro motoneurônio, diferente do original, esta irá mudar as suas características de acordo com a inervação atual. Isto indica a flexibilidade e adaptação dos tipos de fibras (Hoh, 2005).

Outros fatores também podem influenciar o tipo de fibra muscular, como, por exemplo, exercício físico aeróbio tende a aumentar a proporção de fibras do tipo I no músculo exercitado (Fitts; Widrick, 1996).

As principais diferenças histoquímicas, bioquímicas, fisiológicas e metabólicas, entre os tipos de fibras, podem ser observadas na Quadro 1.

**Quadro 1** - Principais diferenças histoquímicas, bioquímicas e metabólicas entre as fibras do músculo esquelético.

Métodos de classificação das fibras	Terminologia da classificação das fibras	
-Histoquímico	Tipo I	Tipo II
- Coloração	Vermelha	Branca
- Bioquímico	SO	FG/FOG
- Fisiológico	Contração Lenta	Contração rápida
- Limiar de fadiga	Alta resistência à fadiga	Baixa/Moderada resistência a fadiga
- Imuno-histoquímico	MCHI	MHCII
- pH	Ácido	Básico

SO: *slow-twitch oxidative* (metabolismo oxidativo), FG: *fast-twitch glycolytic* (metabolismo glicolítico), FOG: *fast-twitch oxidative-glycolytic* (metabolismo oxidativo-glicolítico), MCHI (Cadeia pesada de Miosina I) e MHCII (Cadeia Pesada de Miosina II).

#### 2.1.8.1.2 Distribuição dos tipos de fibras musculares

Nos músculos de membros (bíceps braquial, deltoide, tríceps, quadríceps, vasto lateral, gastrocnêmio, sóleo), as fibras do tipo I e II possuem, aproximadamente, o mesmo diâmetro (Eriksson *et al.*, 1982; Dubowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985; Stål *et al.*, 1987).

Segundo Eriksson *et al.* (1982), a proporção de fibras musculares do bíceps braquial de um indivíduo saudável é: Tipo I (41,7%), IIB (29%), IIA (19,4%), IIAB (9,4%) e IIC (0,5%), sendo bastante semelhante à proporção nos outros músculos dos membros. Os músculos sóleo e gastrocnêmio possuem distribuições diferente da do bíceps, devido às suas funções de contrações mais lentas e menos fatigáveis, com predomínio de fibras do tipo I. As proporções médias do músculo sóleo de um indivíduo saudável são: Tipo I (92%), IIA (7%) e IIX (1%), enquanto que as do músculo gastrocnêmio são: Tipo I (62%), IIA (22%) e IIX (16%).

Eriksson *et al.* (1982) publicaram a distribuição média do músculo masseter em indivíduos saudáveis: Tipo I (67%), Tipo IIB (22%), IIM (7%), IIC (3%) e IIA (1%).

### 2.1.8.1.3 Mutabilidade dos tipos de fibras

Brooke, Williamson e Kaiser (1971) observaram a produção de grandes agrupamentos de fibras do tipo I e II sob condições de reinervação, afirmando que isto seria uma evidência indireta de que as unidades motoras são uniformes e que a inervação determina o tipo de fibras. Sugeriram que as fibras do tipo IIA e IIB eram independentemente inervadas. As fibras do tipo IIC não foram encontradas no processo de reinervação, sugerindo que seria um tipo primitivo de fibra.

As unidades motoras de músculos lentos são mais constantemente ativadas com uma frequência menor de disparo que os músculos rápidos. Isto sugere que as diferenças entre as características mecânicas destes músculos são decorrentes de diferenças do padrão de atividade de seus nervos motores (Dubowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985).

Os efeitos de exercícios físicos no padrão histoquímico do músculo esquelético são complexos, variáveis e dependem de diversos fatores externos, incluindo o tipo de atividade física exercida, a intensidade, a duração, o músculo estudado e a herança genética (Fitts; Widrick, 1996).

Por meio de técnicas histoquímicas, um estudo analisou amostras musculares de fetos humanos e observaram que, até a 20ª semana de gestação, 100% das fibras musculares ainda eram indiferenciadas. Notou-se que o número de fibras indiferenciadas diminuía proporcionalmente ao surgimento de fibras tipo I. Após o nascimento, ocorria a continuação do processo de maturação e diferenciação das fibras musculares, sendo mais evidente no 1º ano de vida e estabilizando-se na vida adulta (Matsunaga, 2009).

#### 2.1.8.1.4 Miosina e suas isoformas

A tipagem das fibras musculares pode ser realizada pela análise da composição das proteínas contráteis (miosina, actina, tropomiosina e troponina).

A miosina corresponde a 54% das proteínas miofibrilares e é a principal constituinte do filamento grosso, sendo altamente polimórfica. A molécula de miosina é um hexâmero, constituído de 2 cadeias pesadas (PM: 200kDa) e 4 cadeias leves (PM: 20kDa). Ela é concomitantemente uma proteína estrutural e uma enzima, responsável pela atividade da ATPase. Suas funções são o ancoramento da linha Z e a contração muscular. As fibras musculares são classificadas de acordo com a sua característica fisiológica mais importante: a velocidade de contração. As fibras musculares podem ser de 2 tipos: de contração lenta e de contração rápida. Existem diferentes isoformas quimiomecânicas de miosina e ela constitui um bom marcador para distinção dos diferentes tipos de fibras funcionais. Portanto, no músculo adulto, as fibras do tipo I de contração lenta expressam miosina lenta, enquanto as fibras do tipo II de contração rápida expressam miosina rápida ( Dubowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985; Bottinelli; Reggiani, 2000).

As fibras musculares apresentam alterações fenotípicas em resposta ao padrão do impulso nervoso, mas se admite também a existência de uma regulação miogênica na sua determinação fenotípica. A regulação miogênica durante o desenvolvimento ocorre da seguinte forma: mioblastos lentos primários apresentam miosina embrionária e lenta, persistindo apenas a miosina lenta na fibra muscular adulta. Já os mioblastos rápidos primários apresentam miosina embrionária e perinatal que são trocadas pelas isoformas rápidas nas fibras maduras. Portanto, a diferenciação entre fibras lentas e rápidas já ocorre na fase de mioblastos, época de inervação múltipla, apontando evidências de que exista uma regulação miogênica para esta diferenciação (Gambke; Rubinstein, 1984; Kelly; Rubinstein, 1994).

A marcação pela isoforma da miosina de cadeia pesada (MyHC) pode fornecer a indicação precisa das propriedades das fibras melhor que no

processo enzimático histoquímico pela adenosinatrifosfatase (ATPase). O método da ATPase, particularmente no pH alcalino, detecta a atividade enzimática associada a mais de uma isoforma de miosina. Portanto, torna-se difícil a determinação da dupla-marcação por histoquímica enzimática, sendo necessária análise por imuno-histoquímica (Piovesan *et al.*, 2009).

#### 2.1.8.2 Estrutura da parede lateral da faringe

Hollinshead (1994) se referiu aos músculos constritores superior, médio e inferior da faringe como os principais componentes das paredes posterior e lateral da faringe. Detalhou que são músculos pares que se reúnem e se inserem na linha média posterior formando a rafe faríngea. Estes músculos são recobertos externamente por uma delgada fáscia chamada bucofaríngea, enquanto que, na superfície interna ou luminal, são recobertos pela fáscia faringobasilar, a qual se apresenta bem marcada na região mais alta da faringe, tornando-se quase inexistente no nível abaixo das tonsilas palatinas. Descreveu, ainda, que o músculo constritor superior da faringe se insere na base do crânio e na rafe faríngea posterior, caminhando na direção ântero-inferior para se inserir na rafe pterigomandibular, mandíbula e porção lateral da base da língua, formando os fascículos pterigofaríngeo, bucofaríngeo, milofaríngeo e glossofaríngeo.

Okuda *et al.* (2008) realizaram um minucioso estudo de dissecação em cadáveres visando descrever a anatomia do músculo palatofaríngeo (MPF). Neste trabalho, demonstraram que o MPF se origina nas regiões cranial e caudal do palato mole, sendo conectado à aponeurose palatal e à região mediana do palato mole. Evidenciou-se, também, que há variações anatômicas sutis, porém, pode-se afirmar que esse músculo tem íntima relação com os músculos elevador e tensor do véu palatino, o músculo constritor superior da faringe e o esôfago.

Kuna e Smickley (1997) investigaram, por meio de eletromiografia, a ação do músculo constritor médio da faringe em 18 pacientes com SAOS

grave e notaram que a atividade deste músculo decresce, ou desaparece, no início das apneias e também durante o uso do CPAP nasal, e, ao término dos episódios obstrutivos, apresenta ativação durante a inspiração, semelhante ao comportamento dos dilatadores faríngeos. Salientaram o conceito de que a contração dos constritores faríngeos não é necessária para causar apneias e sugeriram que, com a faringe fechada, a contração do músculo constritor poderia reduzir a sua própria espessura e, paradoxalmente, dilatar a VAS.

### 2.1.8.3 Colapsabilidade da faringe

A colapsabilidade da faringe depende de fatores musculares e neuromusculares. Sabe-se que a colapsabilidade faríngea é maior em indivíduos apneicos quando comparados aos pacientes normais (Genta *et al.*, 2014). Isto se verifica em estudos que avaliam a pressão crítica de fechamento da faringe (Pcrit), a qual é uma forma de medir a tendência ao colapso da faringe. A Pcrit avalia as propriedades mecânicas da faringe e de tecidos circunjacentes, refletindo o componente anatômico que predispõe ao colapso da via aérea. Porém, mecanismos de compensação neuromuscular também estão envolvidos na gênese da Pcrit (Younes, 2003).

A faringe é um tubo colapsável interposto entre dois segmentos rígidos (nariz e laringe). Desta forma, determinantes mecânicos do calibre da faringe durante o sono se assemelham àqueles que determinam o calibre de qualquer tubo colapsável. Um modelo de resistor de *Starling* (tubo colapsável dentro de uma caixa selada, interposto por duas extremidades rígidas) foi proposto para explicar a relação entre pressão e fluxo da VAS (Genta *et al.*, 2014).

A Pcrit é definida como a pressão aplicada no nariz em que ocorre o colapso da faringe. A pressão dentro da caixa e fora do tubo colapsável (estruturas ósseas e tecidos moles ao redor da faringe) é constante e consiste na pressão tecidual (desde que não haja atividade da musculatura dilatadora da faringe). Quando a pressão da faringe é menor que a pressão tecidual,

ocorre o colapso. Assim, a pressão tecidual é igual à Pcrit (Gold; Schwartz, 1996).

Em analogia com o IAH para estratificação da gravidade da SAOS, também foi descrito um espectro da Pcrit progressivamente positivo em indivíduos normais, portadores de ronco, hipopneias e apneias. Como indivíduos normais possuem uma Pcrit próxima de  $-8\text{cmH}_2\text{O}$ , estima-se que seja necessária uma diferença entre a pressão nasal e a Pcrit de, pelo menos,  $8\text{cmH}_2\text{O}$  a fim de abolir a apneia obstrutiva do sono (AOS) (Gold; Schwartz, 1996).

Isono *et al.* (1997) realizaram um estudo com 17 pacientes normais que iriam se submeter a procedimentos sob anestesia geral não relacionados à AOS, 18 pacientes apneicos leves/moderados (grupo 1) e 22 com AOS grave (grupo 2) que iriam se submeter à uvulopalatofaringoplastia para tratamento de distúrbios respiratórios obstrutivos do sono. Após relaxamento muscular completo proveniente da anestesia geral, determinou a Pcrit destes pacientes, assim com a área seccional máxima nestas condições em que foi abolido controle neuromuscular. Observaram então que o Pcrit foi de  $-4,35\text{cmH}_2\text{O}$  em normais, de  $0,56\text{cmH}_2\text{O}$  no grupo 1 e de  $2,23\text{cmH}_2\text{O}$  no grupo 2, além de verificarem que a área seccional máxima foi maior nos indivíduos não apneicos. Verificou-se, então, que, sob condições em que o controle neuromuscular foi abolido, a colapsabilidade faríngea é maior em indivíduos apneicos.

#### 2.1.8.4 Alterações histológicas na musculatura da parede lateral da faringe em pacientes apneicos

Smirne *et al.* (1991) estudaram o músculo constritor médio da faringe em 13 homens submetidos à laringectomia total por carcinoma laríngeo. Todos eram fumantes, 4 com história prévia de roncos habituais e 9 não roncadores. Verificaram predomínio de fibras do tipo IIA nos 2 grupos, sendo que o grupo de roncadores possuía uma proporção significativamente maior desse tipo de fibra muscular. Ao comparar esta distribuição com a do músculo de membros

em indivíduos normais, notou-se que a proporção dos tipos de fibras era semelhante, porém com o diâmetro da fibra muscular diminuído no constritor médio da faringe.

Woodson, Garancis e Toohill (1991) estudaram amostras de úvula e parte distal de palato mole (músculo palatoglosso) de 8 pacientes divididos entre roncadores sem SAOS e com SAOS grave submetidos à uvulopalatofaringoplastia, e de 4 cadáveres sem história prévia de roncos contínuos. Demonstraram alterações musculares como fibrose intersticial, com atrofia e/ou hipertrofia das fibras musculares, tantos nos pacientes roncadores como nos apneicos, sem diferença estatisticamente significativa dos achados entre os grupos. Sugeriram que estas alterações seriam consequentes ao trauma vibratório causado pelo ronco, e que a hipertrofia muscular, se ocorrer de forma disseminada, poderia espessar as paredes musculares, afetando a permeabilidade da faringe.

Edström, Larsson e Larsson (1992) analisaram amostras de músculo palatofaríngeo em 8 pacientes submetidos à uvulopalatofaringoplastia por SAOS e em 7 indivíduos controles sem história clínica de SAOS submetidos à amigdalectomia por amigdalite crônica. Verificaram que os pacientes apneicos possuíam aumento do padrão dispersivo das fibras musculares, atrofia fascicular, estrutura interna irregular das fibras musculares e desordem muscular neurogênica.

Sériès *et al.* (1996) analisaram músculos da úvula e genioglosso em 17 pacientes apneicos e em 11 roncadores primários coletados em uvulopalatofaringoplastia. Verificaram que a distribuição dos tipos de fibras musculares no músculo da úvula foi semelhante entre os grupos, com claro predomínio de fibras do tipo II, especialmente fibras do tipo IIA. Não se verificou diferença da distribuição dos tipos de fibras entre os grupos quando se analisou o GG, porém notaram predomínio de fibras do tipo II e IIA, embora em magnitude menor quando comparado ao músculo da úvula.

Sekosan *et al.* (1996) identificaram um aumento da contagem de células inflamatórias na mucosa da úvula de pacientes com SAOS. Supuseram que a

inflamação contribuía para a oclusão da VAS durante o sono nestes pacientes.

Ferini-Strambi *et al.* (1998) analisaram morfológicamente o músculo constritor médio da faringe, por meio de biópsias em 22 pacientes com SAOS e sem história de roncos ou AOS, com neoplasia de laringe durante laringectomia total. Notaram uma desproporção entre os tipos de fibras musculares, com alto percentual de fibras de contração rápida, tipo IIA e baixo percentual de fibras de contração lenta, tipo I, nos pacientes com SAOS. Acrescentaram ao estudo a análise da biópsia do músculo vasto lateral, e verificaram proporcionalidade na distribuição dos tipos de fibras entre os dois grupos. Inferiram, então, que essa patologia muscular seletiva da faringe de pacientes com SAOS fosse decorrente de uma adaptação das fibras musculares induzida pela sobrecarga de atividade requerida nestes pacientes.

Friberg *et al.* (1998) realizaram biópsias do músculo palatofaríngeo em 21 pacientes com roncos e/ou SAOS submetidos à uvulopalatofaringoplastia e em 10 pacientes controles submetidos à tonsilectomia. Todos do sexo masculino. As amostras foram fixadas a partir do método de congelação. A análise morfológica mostrou grande variabilidade no tamanho das fibras musculares e de fibras rompidas, além de sinais específicos de lesão neurogênica, denotada pela atrofia muscular, em grau significativamente aumentado nos doentes, enquanto que os controles exibiram anormalidades leves. Mostraram que o grau destas alterações morfológicas se correlacionou diretamente com o tempo de ronco durante a noite, concluindo que essas alterações eram originadas do trauma vibratório do ronco nesses pacientes. Quando se verificou a distribuição dos tipos de fibras musculares, não se notou diferença estatística entre os grupos.

Stål e Lindman (2000) estudaram amostras dos músculos palatofaríngeo, da úvula, elevador do véu palatino, tensor do véu palatino, bíceps braquial, músculo do primeiro interósseo distal e zigomático maior, de 2 homens e 3 mulheres. Essas amostras foram coletadas *post mortem*, e os pacientes não tinham história de distúrbios respiratórios obstrutivos do sono.

Verificaram que, nos músculos palatofaríngeo, da úvula e zigomático, existia um predomínio significativo de fibras do tipo II. Concluíram, então, que cada músculo faríngeo possuía característica individualizada, com semelhanças histológicas maiores com os músculos faciais em comparação aos músculos dos membros.

Lindman e Stål (2002) analisaram os músculos palatofaríngeo e da úvula de 11 pacientes submetidos à uvulopalatofaringoplastia com roncos e/ou SAOS e 5 cadáveres como controles, e perceberam uma distribuição patológica dos tamanhos das fibras musculares, aumento da proporção de fibras musculares tipo IIA e achados compatíveis com miopatia, com sinais de injúria e regeneração tecidual, nos pacientes apneicos.

Boyd *et al.* (2004) encontraram evidências de um processo ativo de denervação e reinervação, e um aumento de células inflamatórias em amostras de músculos dos pilares tonsilares e/ou palato mole dos pacientes com SAOS, em relação aos controles não roncoadores. Sugeriram que estes distúrbios neurais eferentes poderiam produzir disfunção contrátil e fraqueza muscular, contribuindo para a etiopatogenia da SAOS.

Sériès, Chakir e Boivin (2004) compararam morfologicamente, por meio de análise histoquímica, a musculatura da úvula em pacientes com SAOS e em roncoadores, e notaram que, apesar dos pacientes com SAOS exibirem uma alta proporção de fibras tipo IIA, a frequência de distribuição por área das fibras musculares entre os dois grupos foi semelhante. Sugeriram que as apneias não pareciam causar um dano adicional à via aérea, comparado ao trauma vibratório do ronco independentemente.

Dantas *et al.* (2012) realizaram um estudo com 38 pacientes portadores de SAOS e com 13 controles não roncoadores e não apneicos, todos realizaram polissonografia de noite inteira, não eram obesos e eram de ambos os sexos. Analisaram a MEC de fragmentos de MCSF obtidos por meio de cirurgias faríngeas; faringoplastia lateral e uvulopalatofaringoplastia em apneicos, e amigdalectomia nos pacientes controles. Os fragmentos musculares eram retirados das tonsilas palatinas extraídas nas 3 cirurgias, já que o MCSF fica aderido às amígdalas após o procedimento. Após a fixação

deste músculo, analisou-se a MEC por meio de análises histoquímica, imuno-histoquímica e morfológica. Os principais achados do estudo foram que o colágeno tipo I estava aumentado na MEC dos apneicos de forma estatisticamente significativa. Sabe-se que o colágeno tipo I aumenta com a idade, porém, ao se realizar regressão logística, verificaram que, independentemente da faixa etária, o colágeno tipo I estava aumentado em apneicos. Este artigo ganhou editorial da revista *Sleep* justamente por incluir um dado importante no fator muscular para tentar entender a fisiopatologia da SAOS. A partir deste achado, os autores formularam a hipótese de que o aumento do colágeno no MCSF poderia deixar a faringe com menos elasticidade. Esta redução da propriedade elástica deste músculo, à semelhança daquela observada no miocárdio com mais colágeno tipo I, a qual apresenta menor enchimento ventricular, poderia reduzir a expansão faríngea na expiração, levando a um menor volume da VAS durante a inspiração subsequente, contribuindo para o colapso faríngeo durante os eventos obstrutivos da AOS

Shi *et al.* (2016) analisaram o MCSF aderidos às tonsilas palatinas retiradas em cirurgias faríngeas de 28 homens, sendo 18 portadores de SAOS e 10 portadores de amigdalite crônica. O foco do estudo foi identificar gotículas de lipídeos no interior das fibras musculares visualizadas por meio de microscopia eletrônica em coloração de azul de metileno. 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. As fibras musculares dos pacientes controles não apresentaram essas gotículas. Os grupos possuíam IMC similares e os autores concluíram que essa infiltração gordurosa poderia contribuir para diminuir a eficiência contrátil desse músculo e, portanto, contribuir para a etiopatogenia da SAOS.

## **3 OBJETIVOS**

---

### 3 OBJETIVOS

Verificar se a constituição estrutural dos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe pode ter implicações na fisiopatologia da SAOS por meio de:

1. Caracterização da distribuição dos tipos de fibras musculares e do espaço intercelular; e prevalência de fibras híbridas na musculatura de pacientes sem SAOS;
2. Caracterização da distribuição dos tipos de fibras musculares e do espaço intercelular; e prevalência de fibras híbridas na musculatura de pacientes com SAOS;
3. Análise das possíveis alterações nos tipos de fibras musculares, no espaço intercelular e na prevalência de fibras híbridas dos pacientes com SAOS em relação aos sem SAOS.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

---

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Este é um estudo prospectivo e individualizado realizado pela Clínica Otorrinolaringológica do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, com aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq), Protocolo Número 0698/11, no dia 14/12/2011 e publicado no dia 16/12/2011 (ANEXO A).

### **4.1 Casuística**

O estudo contou com 17 pacientes portadores de SAOS grave, 7 pacientes portadores de Ronco Primário, e 4 controles não roncadores e não apneicos, atendidos na Divisão Otorrinolaringológica do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo.

#### **4.1.1 Grupo de estudo (apneicos)**

##### **4.1.1.1 Critérios de Inclusão**

- 1- Portadores de SAOS grave (IAH > 30), diagnosticados por polissonografia de noite inteira tipo 1;
- 2- Sexo masculino exclusivamente;
- 3- Índice de Massa Corporal menor que 35 (IMC < 35 Kg/m<sup>2</sup>);
- 4- Anatomia faríngea que apresente qualquer classificação de Malampatti Modificado por Friedmann com tonsilas palatinas classificadas com grau 1 ou 2. Essa classificação seguiu os parâmetros publicados (Friedman; Ibrahim; Joseph, 2004).

- 5- Pacientes que aceitaram participar da pesquisa, e que assinaram os Termos de Ciência e Consentimento (TCC) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO C);
- 6- Faixa etária entre 18 e 55 anos de idade;
- 7- Pacientes com indicação de cirurgia faríngea (Faringoplastia Lateral) para tratamento do Distúrbio Respiratório Obstrutivo do Sono. No momento da indicação cirúrgica, que seguiu os critérios adotados pela literatura, foram oferecidos outros tratamentos não cirúrgicos. Os pacientes com indicação de cirurgia faríngea optaram pelo tratamento cirúrgico após minuciosa orientação quantos aos riscos/benefícios de todos os tratamentos adequados (cirúrgicos e não cirúrgicos) para a doença do paciente em questão.

#### 4.1.1.2 Critérios de exclusão

- 1- Pacientes que utilizavam medicações com ação no Sistema Nervoso Central (SNC);
- 2- Pacientes que optaram por tratamento não cirúrgico;
- 3- Portadores de doenças neuromusculares;
- 4- Portadores de hipotireoidismo não tratado ou com tratamento iniciado há menos de 1 ano da proposta terapêutica;
- 5- Pacientes que realizaram cirurgias orofaríngeas prévias.

#### 4.1.2 Grupo-controle (não apneicos)

##### 4.1.2.1 Critérios de inclusão

- 1- Pacientes do sexo masculino;
- 2- Faixa etária entre 18 e 55 anos de idade;

- 3- Portadores de Ronco Primário, com índice de apneia-hipopneia (IAH)  $\leq 5$ , sem sonolência excessiva diurna; com indicação de cirurgia faríngea (Faringoplastia Lateral) para tratamento do Distúrbio Respiratório Obstrutivo do Sono. No momento da indicação cirúrgica, que seguiu os critérios adotados pela literatura, foram oferecidos outros tratamentos não cirúrgicos. Os pacientes com indicação de cirurgia faríngea optaram pelo tratamento cirúrgico após minuciosa orientação quanto aos riscos/benefícios de todos os tratamentos adequados (cirúrgicos e não cirúrgicos) para a doença do paciente em questão.
- 4- Pacientes com indicação de amigdalectomia por amigdalite crônica caseosa que foram submetidos à polissonografia tipo 1, com IAH $<5$  e roncos ausentes;
- 5- Anatomia faríngea com qualquer classificação de Malampatti modificado e com tonsilas palatinas classificadas como grau 1 ou 2 (Friedman; Ibrahim; Joseph, 2004);
- 6- Escala de Sonolência de Epworth menor que 10 (Anexo 2);
- 7- Pacientes que aceitaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido acerca da pesquisa proposta (Anexo 3).

#### 4.1.2.2 Critérios de exclusão

- 1- História prévia de roncos noturnos relatados pelo companheiro de quarto para os pacientes portadores de amigdalite crônica caseosa com indicação de amigdalectomia;
- 2- Portadores de doenças neuromusculares;
- 3- Pacientes que utilizavam medicações com ação no SNC;
- 4- Pacientes portadores de deformidades craniofaciais evidentes ao exame clínico;
- 5- Portadores de Hipotireoidismo não tratado ou com início de tratamento há menos de 1 ano da cirurgia proposta;

- 6- Pacientes que não aceitaram participar da pesquisa;
- 7- Pacientes que dormiam sem a presença de um companheiro de quarto no caso dos portadores de amigdalite crônica caseosa não roncadores e não apneicos.

#### **ESCLARECIMENTO:**

Os pacientes tanto do grupo de estudo quanto do grupo-controle foram previamente convocados ao ambulatório da Clínica Otorrinolaringológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), em que foram explicados ao paciente todos os procedimentos envolvidos na pesquisa, desde a obtenção do material de estudo até a divulgação dos resultados, conforme explicitados nos termos de consentimentos livres e esclarecidos.

## **4.2 Métodos**

### **4.2.1 Avaliação pré-operatória**

POLISSONOGRRAFIA DE NOITE INTEIRA TIPO 1: foi realizada em todos os pacientes no período pré-operatório. Os exames de polissonografia foram realizados no Instituto do Sono da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo e no Laboratório do Sono da clínica otorrinolaringológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo Sistema Único de Saúde.

AVALIAÇÃO CLÍNICA: foi realizada por meio da anamnese e da aplicação da Escala de sonolência de Epworth. No exame físico, iniciado pela oroscopia, foram graduados a posição do palato e o tamanho das tonsilas palatinas de acordo com a classificação proposta (Friedman; Ibrahim; Joseph, 2004). O IMC foi calculado (massa do indivíduo dividido pelo quadrado de sua altura em kg/m<sup>2</sup>).

#### 4.2.2 Procedimentos cirúrgicos

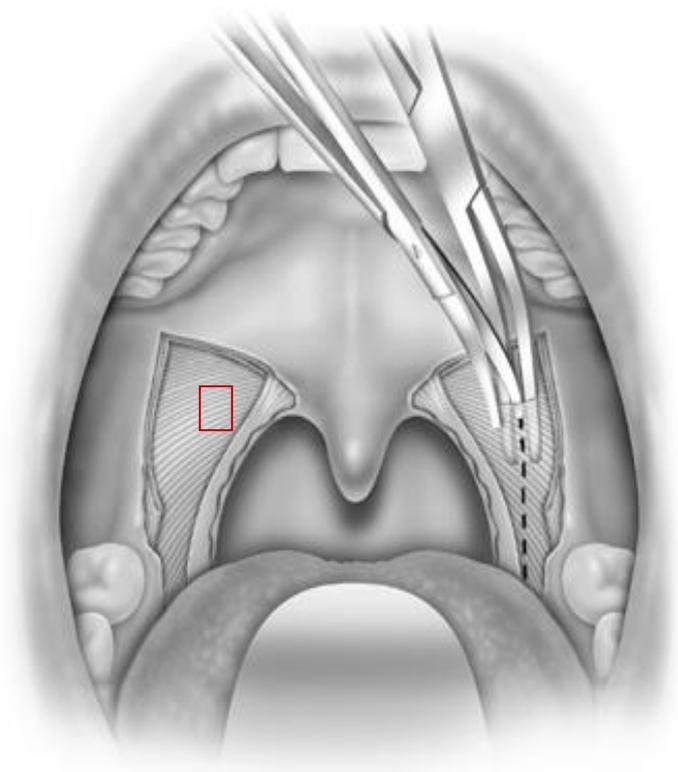
TONSILECTOMIA PALATINA: realizou-se dissecação extracapsular das tonsilas palatinas bilateralmente com pinças frias, e fez-se cauterização com cautéreo bipolar para hemostasia das lojas tonsilares. A sutura entre os pilares anterior e posterior foram feitas com fio vycril 2.0, sem tensão e bilateralmente, em todos os pacientes.

FARINGOPLASTIA LATERAL (FL): a técnica realizada incluiu tonsilectomia bilateral e a remoção do canto palatal incluindo mucosa e músculo palatoglosso, para exposição da parede lateral. Cria-se um plano de dissecação entre os músculos constritor superior da faringe e palatofaríngeo, separando-os. Realiza-se a miotomia do músculo constritor superior da faringe até a região medial da loja tonsilar e a miotomia do músculo palatofaríngeo em sua porção mais caudal. Sutura-se a loja tonsilar, aplica-se cola de fibrina no espaço entre as suturas e faz-se a incisão de alívio com bisturi de lâmina fria bilateralmente entre a parede posterior e lateral da faringe (Cahali, 2003; Cahali *et al.*, 2004).

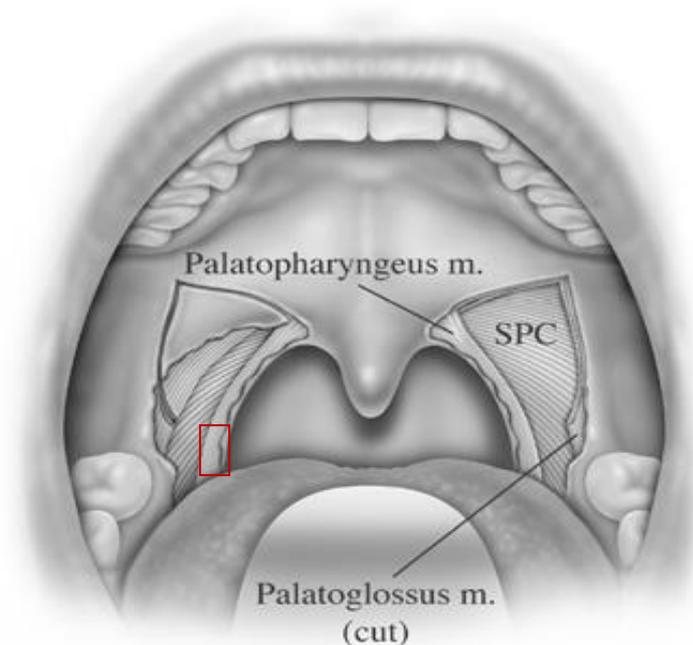
#### 4.2.3 Coleta do material e preparação histológica

O material estudado (músculo constritor superior da faringe – MCSF – e músculo palatofaríngeo – MPF) foi obtido no intraoperatório, por meio da remoção de um fragmento do músculo constritor superior da faringe e do músculo palatofaríngeo. É importante salientar que a coleta dos fragmentos musculares ocorreu em músculos já manipulados nas cirurgias, sendo incluídos nas suturas da tonsilectomia das palatinas e seccionados na FL, sempre do lado direito. Os materiais estudados tinham dimensões de, aproximadamente, 0,4cm de largura, 0,8cm de comprimento e 0,4cm de espessura, e foram transportados em gazes levemente umedecidas com solução fisiológica 0,9% e congelados em tempo menor que 3 horas (Figura 3). Todos os fragmentos musculares foram retirados do lado direito do

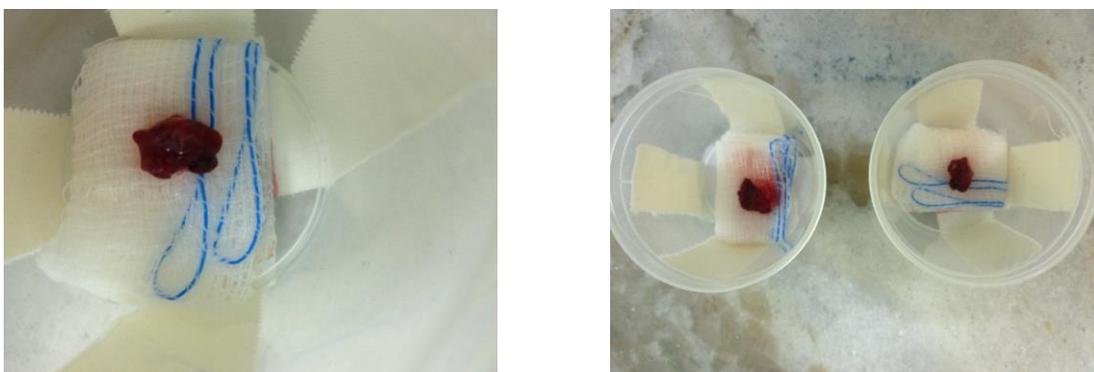
paciente e, aproximadamente, na mesma localização (Figuras 1 e 2). O processo de congelação muscular foi realizado com o posicionamento longitudinal do fragmento muscular, sendo seccionado em cortes transversais resultando, em média, três a seis blocos. Estes fragmentos foram fixados com cola plástica em rolhas de cortiça devidamente numeradas no verso, seccionadas no sentido transversal das fibras musculares, envolvidos em talco e congelados em nitrogênio líquido (- 170 graus Celsius) (Figura 4), sendo armazenados em frascos plásticos devidamente identificados em tambores de nitrogênio líquido. Os cortes histológicos sequenciais foram obtidos em criostato a uma temperatura de -25 graus Celsius com uma espessura de 6micra, fixados em lâminas que foram previamente preparadas com polilissina e armazenados em freezer com temperatura de -80 graus Celsius.



**Figura 1** - Localização da coleta do fragmento do músculo constritor superior da faringe (retângulo de cor vermelha) (adaptado de Cahali MB. *Lateral Pharyngoplasty*. In Friedman M. *Snoring and Sleep Apnea*, 2008) (Friedman, 2008)



**Figura 2** - Local da ressecção do fragmento do músculo palatofaríngeo (retângulo de cor vermelha) (adaptado de Cahali MB. *Lateral Pharyngoplasty In Friedman M. Snoring and Sleep Apnea, 2008*) (Friedman, 2008)



**Figura 3** - Fragmentos musculares obtidos no intraoperatório e colocados em gazes umedecidas com soro fisiológico 0,9% para serem transportados e congelados em menos de 3 horas após a remoção.



**Figura 4** - Processos de fixação em rolha de cortiça e congelação em nitrogênio líquido.

#### 4.2.3.1 Estudo histológico

O estudo histopatológico foi realizado com as seguintes colorações histológicas: hematoxilina e eosina (HE) e tricômio de Gomori modificado (Gomori). Estas reações foram realizadas por ocasião do diagnóstico, permitindo analisar a morfologia das fibras musculares e elementos não contráteis como tecido adiposo, tecido conjuntivo, nervos, vasos sanguíneos, núcleo e estruturas anormais nas fibras musculares (Duowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985).

Hematoxilina-Eosina é uma técnica de coloração histológica utilizada para avaliar o padrão geral das fibras musculares, tanto na organização básica do tecido quanto nas estruturas celulares. A coloração por HE mostra as fibras em rosa, o tecido conjuntivo em rosa claro e o núcleo em azul (Dubowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985).

Na coloração Tricômico de Gomori modificado, observam-se as fibras musculares em azul esverdeado, o colágeno um pouco mais claro e o núcleo em violáceo. A mielina do nervo em tons de vermelho e os axônios azulados. As mitocôndrias distinguem-se pelo pontilhado vermelho (Dubowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985).

#### 4.2.3.2 Estudo imuno-histoquímico

O estudo imuno-histoquímico das fibras musculares foi realizado por método de imunoperoxidase StreptABComplex/HRP (kit Dako), por meio de anticorpos comerciais primários específicos (antimiosina rápida e antimiosina lenta) para as proteínas estudadas.

A titulação para cada anticorpo foi determinada pela experimentação de diluições realizadas nos músculos dos controles normais. As reações de imunoperoxidase foram feitas em todos os músculos dos pacientes dos grupos de estudo e em todos os músculos dos controles normais.

A técnica de imunoperoxidase StreptABComplex/HRP (kit Dako) foi realizada em material de biópsia muscular congelado em nitrogênio líquido, em cortes de 6 micrômetros em lâminas com poli-L-lisina (0,1%), dos tecidos congelados em nitrogênio líquido, na diluição 1:100, segundo o protocolo a seguir:

1. Bloqueio da peroxidase endógena com água oxigenada a 1% em PBS por 30 minutos;
2. Incubação com anticorpo primário (específico para o antígeno), diluído em solução de albumina a 1% e azida sódica a 0,1% em PBS, em câmara úmida durante 18 horas (*overnight*) a 4°C;
3. Lavagens (3x) em tampão PBS, durante 5 minutos cada banho;
4. Incubação com anticorpo secundário (específico para a espécie animal em que foi produzido o anticorpo primário), em câmara úmida: 30 minutos a 37°C. Na reação com Complexo Avidina-

- biotina-peroxidase (ABS), o anticorpo secundário deve estar biotilado;
5. Lavagens (3x) em tampão PBS;
  6. Lavagem durante 10 minutos com solução Tris;
  7. Revelação com substrato cromogênico (diaminobenzidina 60mg% em PBS + 2,0ml de água oxigenada 10 volumes); 3 a 5 minutos, a 37°C;
  8. Lavagens em água corrente e destilada;
  9. Contracoloração (leve) em Hematoxilina (de Harrys ou Mayer) durante 1 minuto;
  10. Lavagens em água corrente e destilada;
  11. Desidratação dos cortes em: álcool 70%, álcool 95%, álcool absoluto (3x), xilol (3x) e montagem com Enterllan.

#### 4.2.3.3 Histograma da distribuição dos tipos de fibras musculares por meio de análise imuno-histoquímica

Após realizar-se a preparação das lâminas de reação imuno-histoquímica específica para expressão das proteínas de miosina do tipo I (fibra lenta) e de miosina do tipo II (fibra rápida), fez-se a contagem das fibras musculares para se estabelecer a distribuição dos tipos de fibras musculares nas amostras. É importante salientar que, para se proceder essa análise, corta-se o fragmento muscular de forma subsequente, sendo que em uma lâmina se faz a reação imuno-histoquímica para miosina tipo I e, na seguinte, se faz para reação imuno-histoquímica para miosina do tipo II.

A determinação do histograma de distribuição do tipo de fibra muscular seguiu o seguinte protocolo:

- fotografaram-se todos os campos de cada fragmento coletado com objetiva de 40x;
- procedeu-se a contagem das fibras musculares em corte transversal de todos os campos fotografados;

- a contagem das fibras musculares procedeu-se da seguinte forma:
- contaram-se todas as fibras musculares positivamente reativas para miosina do tipo I ou do tipo II, respectivamente em cada preparação e todas as fibras não marcadas em cada fragmento. Ou seja, na lâmina preparada para reação do tipo I, contaram-se as fibras coradas para esta reação, e, na lâmina preparada para reação do tipo II, contaram-se as fibras coradas para esta reação. Foram contadas apenas as fibras parcialmente representadas em cada fotografia nas margens superior e direita, excluindo-se da contagem as fibras com exposição parcial das regiões inferior e esquerda;
- na reação para marcação imuno-histoquímica específica para miosina do tipo I ou do tipo II, contaram-se todas as fibras musculares marcadas e não marcadas pela reação;
- realizou-se o cálculo da proporção seguindo a seguinte fórmula:
- número de fibras marcadas pela reação (tipo I ou tipo II)/número total de fibras = proporção de fibras marcadas para tipo I ou II (%);
- a contagem foi realizada por 2 observadores, análise cega, sendo que as diferenças interobservadores e intraobservador foram menores que 10%.

Após a determinação da proporção dos tipos de fibras musculares, realizou-se a soma da porcentagem de fibras marcadas pela miosina lenta (fibras do tipo I) e pela miosina rápida (fibras do tipo II).

Quando a somatória dessas porcentagens ultrapassou 110%, considerou-se a presença de fibras híbridas, com marcação positiva para ambos anticorpos (miosina lenta e rápida).

#### 4.2.3.4 Análise do espaço intercelular

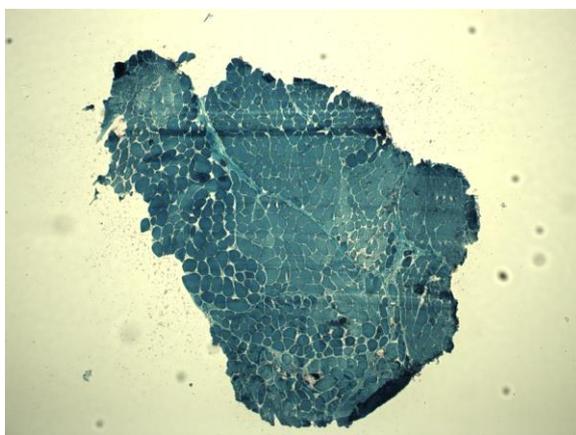
A coloração de Tricômio de Gomori modificada é especialmente útil para se analisar o espaço intercelular (tecido conjuntivo) dos tecidos musculares.

A análise quantitativa do espaço intercelular foi realizada por dois observadores independentes na coloração de Tricômio de Gomori modificado, segundo o seguinte protocolo:

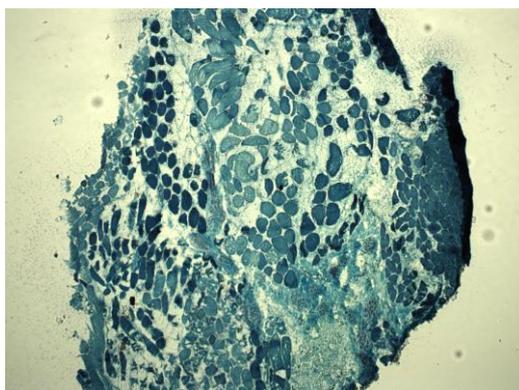
- aumento de 40x;
- dividiu-se o campo em quatro quadrantes;

- atribuiu-se grau 0 na ausência de aumento do espaço intercelular, estando as fibras musculares próximas umas às outras (Figura 5) e grau 3 (Figura 6) quando o espaço intercelular foi máximo após se analisar todos os cortes. A partir daí, determinaram-se os graus intermediários, denominados graus 1 e 2.

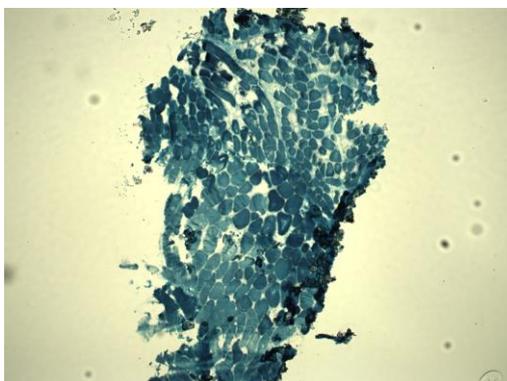
- o *score* final foi atribuído pela média aritmética do valor obtido em cada quadrante.



**Figura 5** - Espaço intercelular classificado como grau 0 na coloração de Gomori.



**Figura 6** - Espaço intercelular classificado como grau 3 na coloração de Gomori.



**Figura 7** - Exemplo da classificação dos 4 quadrantes e da média aritmética final (quadrante 1=2, quadrante 2=2, quadrante 3=2, quadrante 4=1, score final= 1,75).

#### 4.2.4 Análise estatística dos dados

A hipótese nula foi rejeitada com um nível de significância de até 0,05. Um valor de  $p$  inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Foi realizada análise descritiva com apresentação de medidas de posição e dispersão para variáveis numéricas para os dados gerais da amostra dos grupos.

Foram utilizados testes não paramétricos devido ao tamanho da amostra e ausência de distribuição normal das variáveis.

Para comparação de medidas numéricas avaliadas nos 2 músculos nos indivíduos sem SAOS, foi utilizado o teste de *Wilcoxon* para amostras relacionadas.

Para comparação de proporções, foi utilizado o teste exato de *Fisher*.

No que tange a comparação de medidas numéricas entre 2 grupos (apneicos e não apneicos), foi utilizado o teste de *Mann-Whitney*.

## **5 RESULTADOS**

---

## 5 RESULTADOS

As características antropométricas, clínicas e polissonográficas dos pacientes dos dois grupos estudados estão descritos na Tabela 1 e demonstradas no Gráfico 1.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos sem SAOS e com SAOS no que tange a faixa etária, sendo que o grupo de pacientes não apneicos tendeu a ser mais jovem que o grupo dos apneicos ( $p=0,0506$ ). Verificou-se que o IMC dos pacientes com SAOS foi mais elevado quando comparado ao dos não apneicos ( $p=0,0012$ ), sendo que os 2 grupos apresentaram média e mediana de IMC inferior a 30. Todos os dados polissonográficos analisados apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos. O IAH foi mais elevado no grupo portador de SAOS ( $p<0,0001$ ), a saturação mínima de oxiemoglobina foi mais baixa no grupo de pacientes apneicos ( $p<0,0001$ ) e a saturação média da oxiemoglobina também foi inferior no grupo com SAOS ( $p=0,004$ ).

**Tabela 1** - Dados antropométricos, clínicos e polissonográficos dos dois grupos de pacientes.

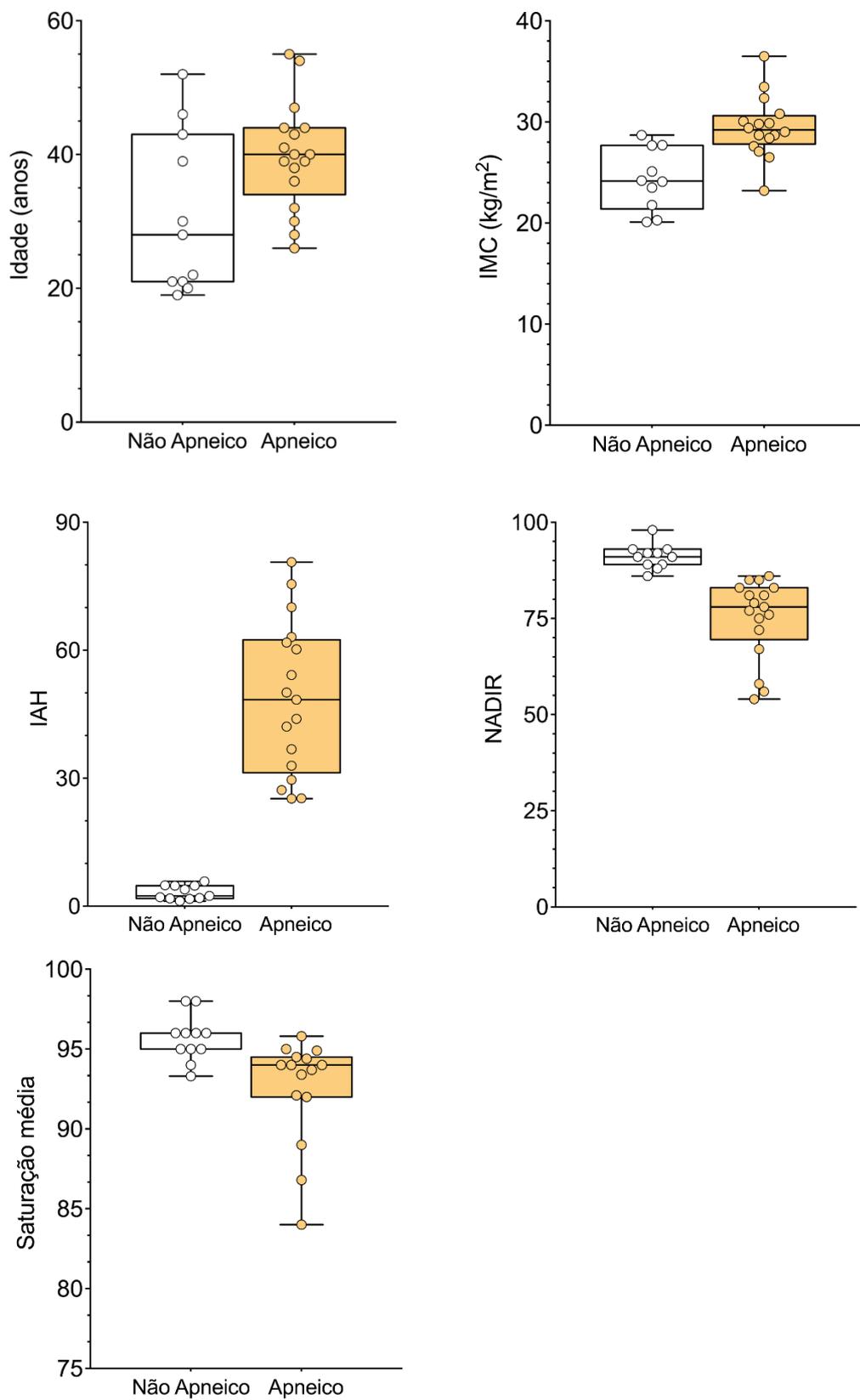
DADOS	GRUPOS		
	Sem SAOS*	Com SAOS*	p**
Idade (anos)	31	39,76	0,0506
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	24,31	29,47	0,0012
Sexo (M/F)	11/0	17/0	<0,0001
IAH (eventos/hora)	3,13	48,65	<0,0001
Nadir O <sub>2</sub> (%)	91,09	75,06	<0,0001
O <sub>2</sub> médio (%)	95,66	92,51	0,004

IMC = índice de massa corpórea; IAH = índice de apneia-hipopneia; Nadir O<sub>2</sub> = saturação mínima de oxiemoglobina; O<sub>2</sub> médio: saturação média de oxiemoglobina

\*valor correspondente à média

\*\*teste *Mann-Whitney*

**Gráfico 1** - Representações gráficas dos dados antropométricos, clínicos e polissonográficos nos grupos de pacientes sem e com SAOS.



Os dados referentes ao total de fibras musculares contadas em cada reação imuno-histoquímica (miosina lenta, tipo I e miosina rápida, tipo II) estão expostos nas tabelas 2 e 3. Calculou-se a média aritmética da contagem realizada pelos 2 observadores. Não houve diferenças estatísticas entre o número de fibras contadas em cada reação imuno-histoquímica entre os dois músculos analisados (MPF e MCSF) no grupo de pacientes sem SAOS (Tabela 2). Da mesma forma, não houve diferença estatística entre o número de fibras contadas dos mesmos músculos (MPF e MCSF) entre os grupos sem e com SAOS (Tabela 3).

**Tabela 2** – Número total de fibras musculares contadas nos MPF e MCSF em indivíduos sem SAOS nas duas reações imuno-histoquímicas.

Músculos			
Reação Imuno-histoquímica	MPF*	MCSF*	p**
Miosina 1	594,71	617,84	0,9658
Miosina 2	612,97	860,05	0,3652

MPF = músculo palatofaríngeo, MCSF = músculo constritor superior da faringe

\*valor correspondente à média

\*\*teste *Wilcoxon*

**Tabela 3** - Número total de fibras musculares contadas nas reações imuno-histoquímicas para miosina lenta (tipo I) e miosina rápida (tipo II) nos dois músculos estudados (MPF e MCSF) em indivíduos sem e com SAOS.

Músculos				
Reação Imuno-histoquímica	Músculos	Sem SAOS*	Com SAOS*	p**
Miosina 1	MPF	594,71	565,60	0,7067
	MCSF	617,84	808,78	0,5724
Miosina 2	MPF	612,97	906,22	0,2396
	MCSF	860,05	1088,24	0,7778

MPF = músculo palatofaríngeo, MCSF = músculo constritor superior da faringe

\*valor correspondente à média

\*\*teste *Mann-Whitney*

Com a finalidade de verificar se há diferenças entre os 2 músculos analisados (MPF e MCSF) em indivíduos sem SAOS, comparou-se a distribuição dos tipos de fibras musculares entre os 2 músculos. Os dados estão expostos na Tabela 4 e podem ser visualizados na Figura 8. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois músculos analisados no

que tange a distribuição dos tipos de fibras musculares, demonstrando que os dois músculos possuem composição de fibras semelhantes em indivíduos sem SAOS.

**Tabela 4** - Distribuição dos tipos de fibras musculares nos MPF e MCSF em indivíduos sem SAOS.

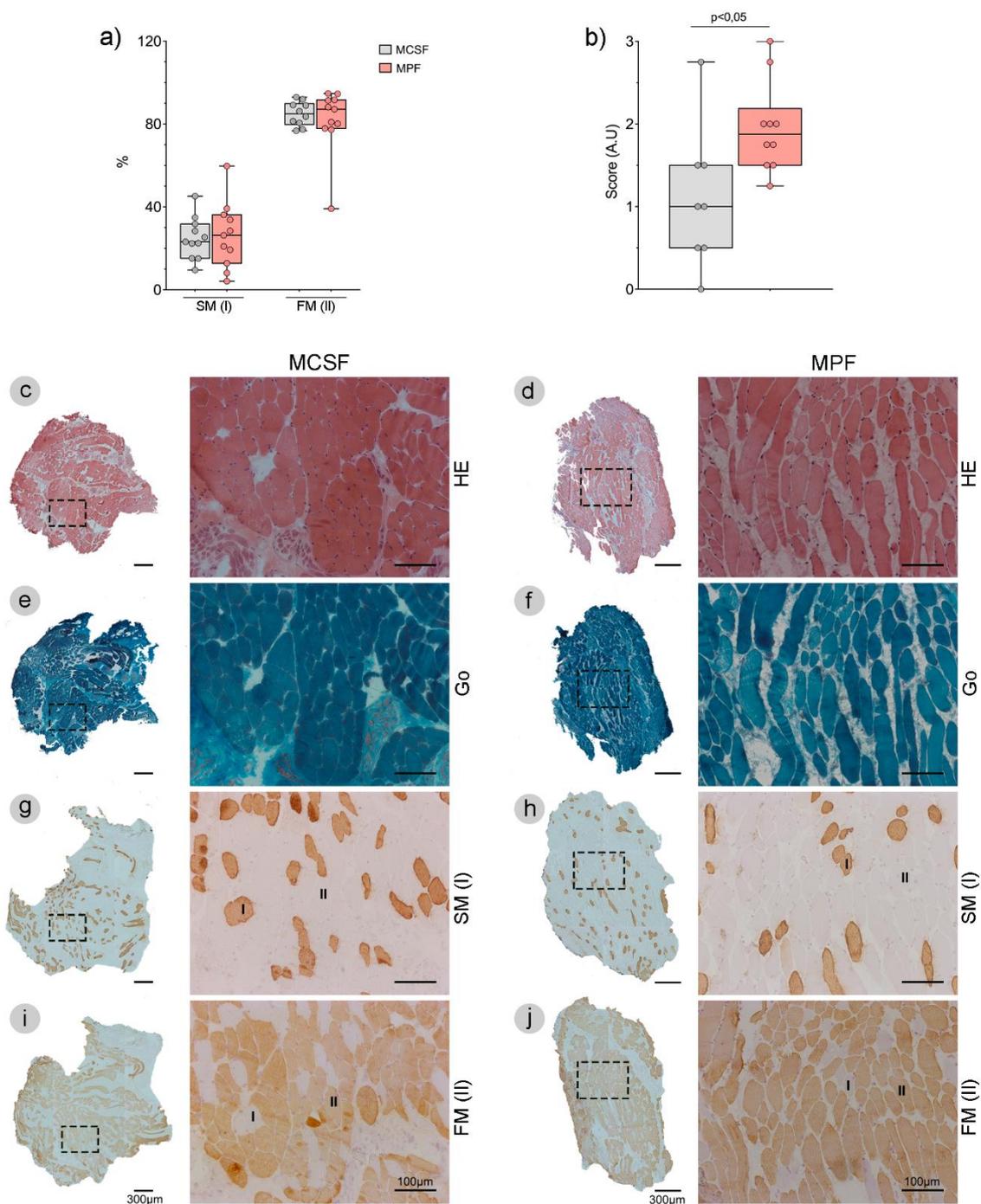
Reação-histoquímica	Músculos		
	MPF (%)*	MCSF (%)*	p**
Miosina 1	26,23	24,82	0,94
Miosina 2	82,06	84,85	0,97

MPF = músculo palatofaríngeo, MCSF = músculo constritor superior da faringe

\*valor correspondente à média

\*\*teste de *Wilcoxon*

Analisou-se o valor do espaço intercelular entre as fibras musculares dos MPF e MCSF nos indivíduos sem SAOS. O aumento no espaço intercelular significa maior presença de tecido conjuntivo e maior variabilidade do calibre das fibras musculares. Os resultados podem ser visualizados na Figura 8. A partir destes dados, verifica-se que o espaço entre as fibras musculares do MPF dos indivíduos sem SAOS é maior quando comparado ao do MCSF, com valor de p estatisticamente significativo ( $p=0,01$ ).



**Figura 8** - Comparação dos músculos constritor superior da faringe e palatofaríngeo quanto à distribuição dos tipos de fibras musculares e quanto ao valor do espaço intercelular das fibras musculares em indivíduos sem SAOS. Exemplos de comparação das lâminas entre os dois músculos coradas com HE, Gomori, Imuno-histoquímica para Miosina I e para Miosina II

- a) Comparação da distribuição dos tipos de fibras entre o MCSF e MPF;
- b) Comparação do espaço intercelular entre o MCSF e MPF;
- c) Lâmina de MCSF corada com HE;
- d) Lâmina de MPF corada com HE;
- e) Lâmina de MCSF corada com Gomori;
- f) Lâmina de MPF corada com Gomori;
- g) Lâmina de MCSF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina I;
- h) Lâmina de MPF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina I;
- i) Lâmina de MCSF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina II;
- j) Lâmina de MPF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina II.

\*valor de p calculado pelo teste de *Mann-Whitney*.

\*\*A.U. *Arbitrary Unity*; F.M. *Fast myosin*; S.M. *Slow myosin*

Analisou-se, também, a distribuição dos tipos de fibras musculares através de reação imuno-histoquímica para miosina lenta (tipo I) e para miosina rápida (tipo II) dos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe nos indivíduos com e sem SAOS. A comparação entre os 2 grupos no MPF está demonstrada na Tabela 5 e pode ser visualizada na Figura 2, enquanto que os resultados verificados no MCSF também se encontram na Tabela 6 e podem ser visualizados na Figura 3.

A distribuição dos tipos de fibras musculares no MPF foi similar entre os grupos ( $p=0,74$  para miosina lenta e  $p=0,34$  para miosina rápida). Quando se analisou a distribuição no MCSF, verificou-se que a porcentagem de fibras do tipo 1 foi semelhante estatisticamente ( $p=0,86$ ), porém, constatou-se uma tendência de redução de fibras do tipo 2 nos indivíduos apneicos, sem significância estatística ( $p=0,08$ ).

**Tabela 5** - Distribuição dos tipos de fibras musculares nos músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe em indivíduos com e sem SAOS.

Músculos	Reação	GRUPOS		p**
		Sem SAOS (%)	Com SAOS (%)	
MPF	Miosina 1	26,23	26,62	0,7419
	Miosina 2	82,06	74,23	0,32
MCSF	Miosina 1	24,82	24,92	0,86
	Miosina 2	84,85	78,62	0,04

Reação = reação imuno-histoquímica, MPF = músculo palatofaríngeo, MCSF = músculo constritor superior da faringe

\*valor correspondente à média

\*\*teste de *Mann-Whitney*

Os valores da medida do espaço intercelular dos MPF e MCSF em indivíduos não apneicos e apneicos são demonstrados na Tabela 6, e podem ser visualizados nas figuras 2 e 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos nos músculos analisados ( $p=0,27$  no MPF e  $p=0,21$  no MCSF). Vale ressaltar que cada músculo demonstrou comportamento diferente na comparação entre os grupos. O MPF evidenciou aumento do espaço intercelular no grupo de pacientes apneicos em comparação aos não apneicos, enquanto que o MCSF demonstrou maior espaço entre as fibras musculares no grupo de pacientes portadores de SAOS.

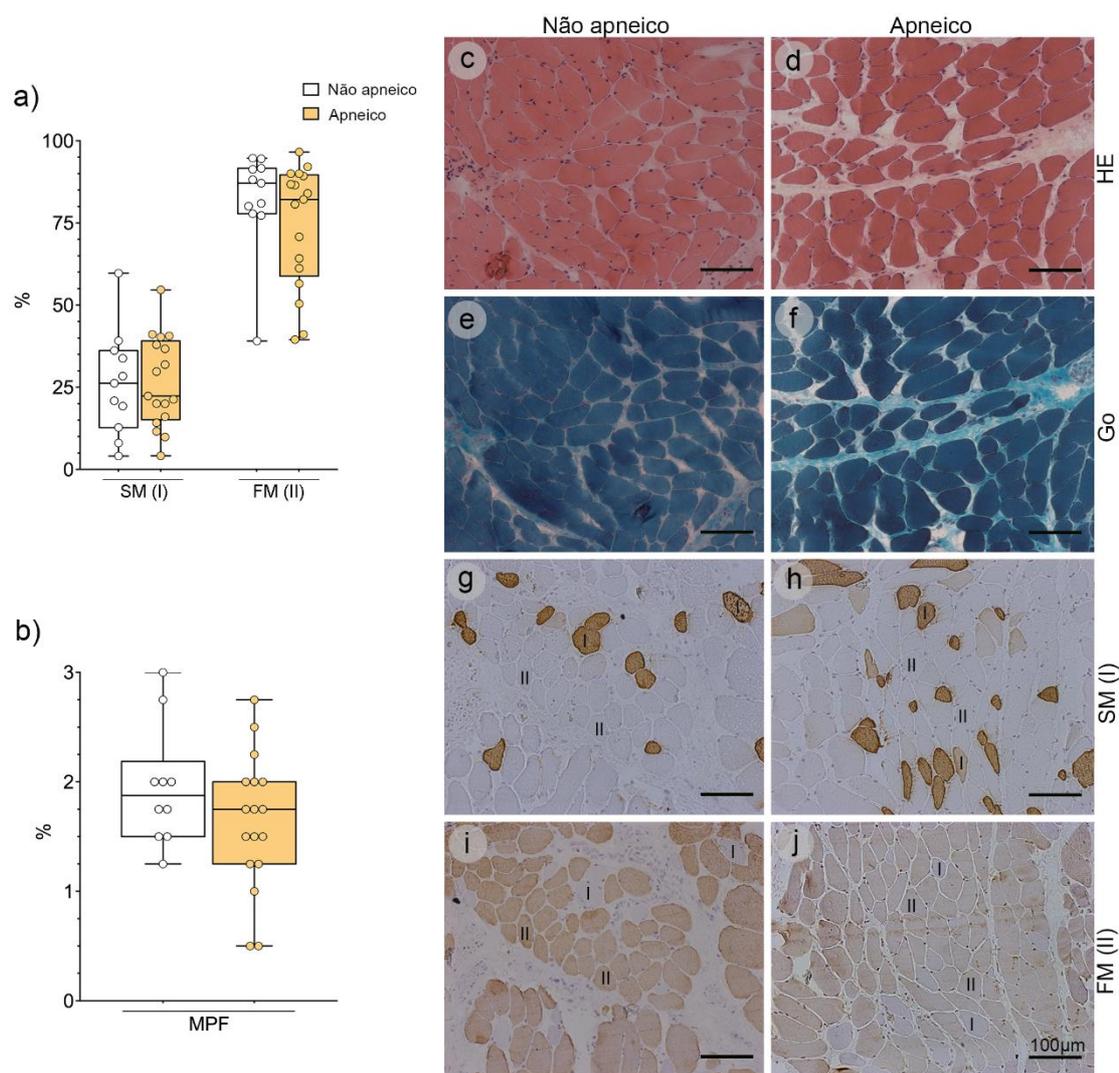
**Tabela 6** - Dados dos valores da medida do espaço intercelular nos MPF e MCSF em pacientes sem e com SAOS

Músculos	GRUPOS		p**
	Sem SAOS (A.U.)*	Com SAOS (A.U.)*	
MPF	1,95	1,63	0,2743
MCSF	1,09	1,44	0,3154

MPF = músculo palatofaríngeo, MCSF: músculo constritor superior da faringe, A.U. *arbitrary unity*;

\*valor correspondente à média

\*\*teste de *Mann-Whitney*

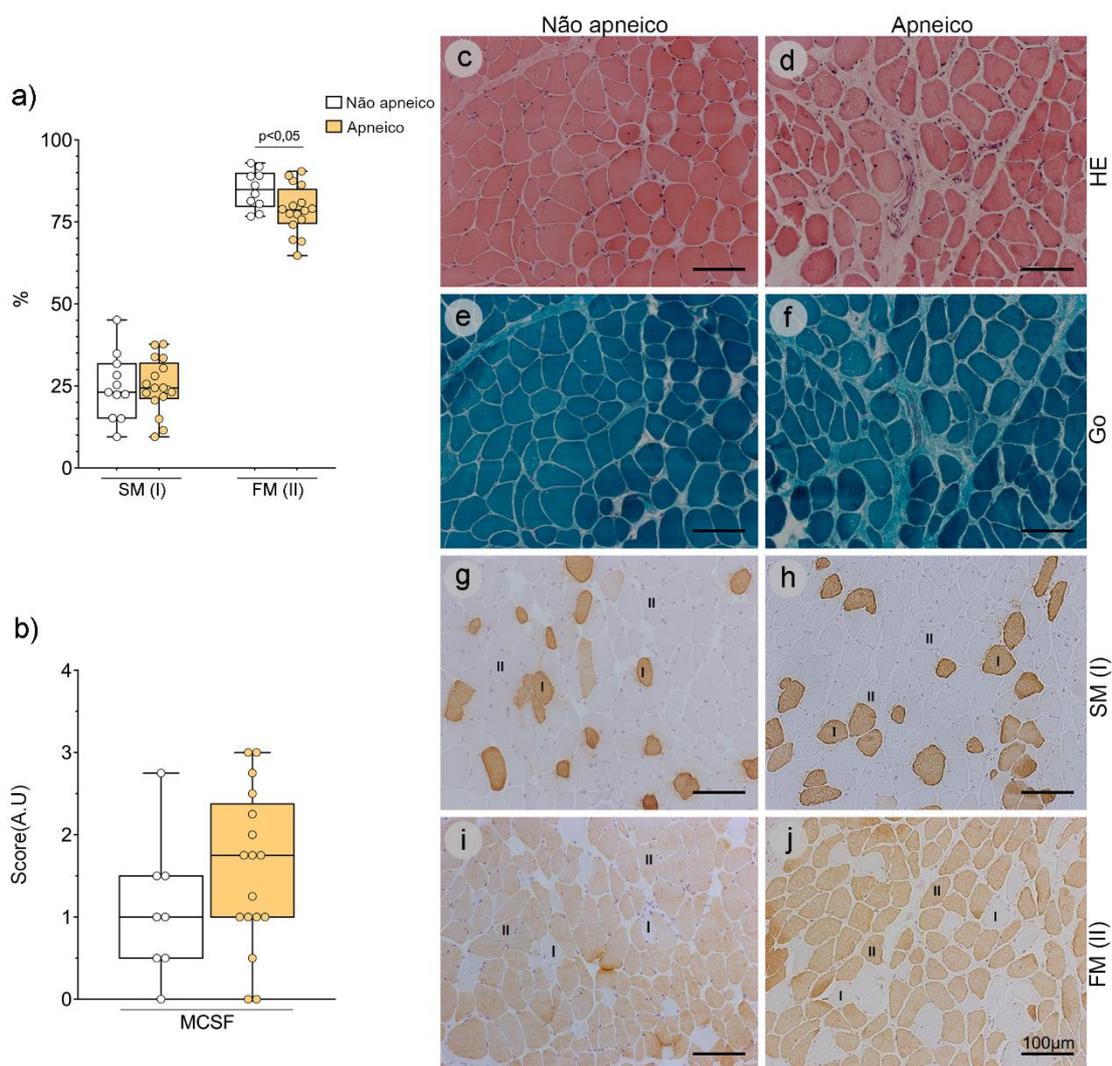


**Figura 9** - Comparação dos grupos de indivíduos apneicos e não apneicos no MPF quanto à distribuição dos tipos de fibras musculares e quanto ao valor do espaço intercelular das fibras musculares. Exemplos de comparação das lâminas entre os dois grupos estudados no MPF coradas com HE, Gomori, Imuno-histoquímica para Miosina lenta (I) e para Miosina rápida (II).

- a) Gráfico da comparação da distribuição dos tipos de fibras entre apneicos e não apneicos no MPF;
- b) Gráfico da comparação do valor do espaço intercelular entre apneicos e não apneicos no MPF;
- c) Lâmina de MPF corada com HE em indivíduo não apneico;
- d) Lâmina de MPF corada com HE em indivíduo apneico;
- e) Lâmina de MPF corada com Gomori em indivíduo não apneico;
- f) Lâmina de MPF corada com Gomori em indivíduo apneico;
- g) Lâmina de MPF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina Lenta (tipo I) em indivíduo não apneico;
- h) Lâmina de MPF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina Lenta (tipo I) em indivíduo apneico;
- i) Lâmina de MPF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina Rápida (tipo II) em indivíduo não apneico;
- j) Lâmina de MPF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina Rápida (tipo II) em indivíduo apneico.

\*valor de p calculado pelo teste de *Mann-Whitney*

\*\*A.U. *Arbitrary Unity*; F.M. *Fast myosin*; S.M. *Slow myosin*



**Figura 10** - Comparação dos grupos de indivíduos apneicos e não apneicos no MCSF quanto à distribuição dos tipos de fibras musculares e quanto ao valor do espaço intercelular das fibras musculares. Exemplos de comparação das lâminas entre os dois grupos estudados no MCSF coradas com HE, Gomori, Imuno-histoquímica para Miosina lenta (I) e para Miosina rápida (II).

- a) Gráfico da comparação da distribuição dos tipos de fibras entre apneicos e não apneicos no MCSF;
- b) Gráfico da comparação do valor do espaço intercelular entre apneicos e não apneicos no MCSF;
- c) Lâmina de MCSF corada com HE em indivíduo não apneico;
- d) Lâmina de MCSF corada com HE em indivíduo apneico;
- e) Lâmina de MCSF corada com Gomori em indivíduo não apneico;
- f) Lâmina de MCSF corada com Gomori em indivíduo apneico;
- g) Lâmina de MCSF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina Lenta (tipo I) em indivíduo não apneico;
- h) Lâmina de MCSF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina Lenta (tipo I) em indivíduo apneico;
- i) Lâmina de MCSF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina Rápida (tipo II) em indivíduo não apneico;
- j) Lâmina de MCSF corada na reação imuno-histoquímica para Miosina Rápida (tipo II) em indivíduo apneico.

\*valor de p calculado pelo teste de *Mann-Whitney*

\*\*A.U. *Arbitrary Unity*; F.M. *Fast myosin*; S.M. *Slow myosin*

Os valores do número de pacientes portadores de fibras híbridas (%M1+%M2>110%) estão demonstrados na Tabela 7. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos sem e com SAOS nos dois músculos analisados.

**Tabela 7** - Valores do número de indivíduos sem e com SAOS com fibras híbridas nos MPF e MCSF.

Músculos	GRUPOS		p**
	Sem SAOS (n=11)	Com SAOS (n=17)	
MPF	5/11 (45,45%)	6/17 (35,29%)	0,7011
MCSF	3/11 (27,27%)	4;17 (23,53%)	1,0000

MPF = músculo palatofaríngeo, MCSF = músculo constritor superior da faringe

\*teste exato de *Fisher*

## **6 DISCUSSÃO**

---

## 6 DISCUSSÃO

A SAOS é uma doença muito prevalente na população e aumenta sua incidência conforme existe aumento da idade dos indivíduos (Tufik *et al.*, 2010). Também sabemos que existem alterações nos músculos com o avanço da idade (Dubowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985). Dessa forma, houve um especial cuidado na escolha dos grupos de estudo, já que a idade pode influenciar as análises morfológicas de músculos em humanos. Sabe-se que algumas alterações tanto na matriz extracelular quanto na região intracelular podem acontecer especialmente quando as faixas etárias se distanciam mais de 1 década (Dubowitz; Sewry; Fitzsimons, 1985). O grupo de indivíduos portadores de SAOS possui idade mais elevada, porém isto não foi estatisticamente significativo. A média de idade dos indivíduos apneicos foi de 39,76 anos, enquanto que a média dos indivíduos não apneicos foi de 31 anos. O pareamento por faixa etária nesse tipo de estudo gera muitas dificuldades, já que controles não apneicos e não roncadores com indicação de tonsilectomia por tonsilite crônica caseosa geralmente são jovens, enquanto que portadores de SAOS grave costumam ter faixa etária mais elevada que os roncadores primários (Tufik *et al.*, 2010). Outros estudos com foco na análise histológica de músculos faríngeos demonstram grupos de apneicos com faixa etária mais elevada que os controles (Woodson; Garancis; Toohill, 1991; Edström; Larsson; Larsson, 1992; Friberg *et al.*, 1998; Lindman; Stål, 2002; Dantas *et al.*, 2012).

Embora o grupo de pacientes portadores de SAOS apresenta um IMC mais elevado que os não apneicos ( $p=0,0012$ ), o valor da média e da mediana dos grupos sem e com SAOS foi abaixo de 30Kg/m<sup>2</sup>.

Durante a decisão da escolha dos grupos controle e de estudo, optou-se por selecionar indivíduos com características anatômicas faríngeas e craniofaciais homogêneas, a fim de que se minimizasse o possível viés da alteração anatômica na análise dos resultados. Sabe-se que tonsilas palatinas

hipertróficas (graus 3 e 4) e deformidades craniofaciais significativas como retrognatia, retrusão maxilar ou retrusão maxilo-mandibular aumentam o risco de distúrbios respiratórios obstrutivos do sono (Eckert; Malhotra, 2008). Esses fatores anatômicos desfavoráveis não são determinantes para o desencadeamento da síndrome, no entanto, decidiu-se excluir indivíduos com estas características a fim de não se comparar a musculatura faríngea de pacientes com características anatômicas muito diferentes entre si.

A escala de sonolência subjetiva de *Epworth* foi utilizada em todos os indivíduos do estudo. Os indivíduos sem SAOS possuem *score* menor que 10 pontos, o que caracteriza ausência de sonolência excessiva diurna.

Conforme esperado, os dados polissonográficos demonstraram diferença estatisticamente significativa em todos os parâmetros avaliados entre os grupos de não apneicos e de apneicos.

Em nossa avaliação, as características de faixa etária, IMC, anatomias faríngea e craniofacial, e dados polissonográficos dos grupos com e sem AOS demonstraram que a seleção dos casos foi adequada, permitindo uma análise consistente dos resultados obtidos.

Os músculos palatofaríngeo e constritor superior da faringe são os principais componentes da parede lateral da faringe. Estudos com tomografia computadorizada da faringe durante a vigília e de ressonância nuclear magnética dessa região durante o sono foram realizados demonstrando preponderante papel da parede lateral da faringe nos episódios de colapso faríngeo durante os eventos de apneia (Huon *et al.*, 2016; Schwab *et al.*, 1995). Apesar disso, não se sabe exatamente qual a estrutura histológica normal desses músculos em indivíduos não portadores de SAOS.

Na literatura, encontramos estudos que analisaram a estrutura histológica do MPF, porém, em sua maioria, estudaram indivíduos portadores de SAOS e utilizaram metodologias distintas, tanto na escolha dos grupos quanto na coleta dos fragmentos, na forma de fixação e nas colorações utilizadas (Woodson; Garancis; Toohill, 1991; Edström; Larsson; Larsson, 1992; Friberg *et al.*, 1998; Stål; Lindman, 2000; Lindman; Stål, 2002).

O MCSF foi ainda menos estudado, possivelmente pela dificuldade para obtenção de amostras com qualidade para análise durante cirurgias faríngeas, especialmente em indivíduos sem SAOS.

No presente estudo, analisamos a distribuição dos tipos de fibras musculares que compõem esses músculos em indivíduos não apneicos, coletados do mesmo lado, na mesma região, sendo congelados em menos de 3 horas após o procedimento cirúrgico para uma adequada análise histológica.

### **6.1 Estrutura histológica do MPF e do MCSF em indivíduos sem SAOS**

Nos indivíduos sem SAOS, verificou-se que a proporção dos tipos de fibras musculares é bastante similar entre o MPF e o MCSF. Houve evidente predominância de fibras com miosina de contração rápida (tipo II) nos dois músculos, com média de 81,25% no MPF e de 81,15% no MCSF. A média da porcentagem de fibras de contração lenta (tipo I) foi de 26,23% no MPF e de 24,82% no MCSF. Esses dados são especialmente importantes dado que, para se procurar alterações na configuração histológica de tecidos, deve-se conhecer sua estrutura em indivíduos sem a doença. Ainda mais em uma estrutura muscular complexa, com diversas funções antagônicas durante a contração, dependendo da necessidade fisiológica exigida (respiração, deglutição e fonação).

As fibras do tipo II se caracterizam por terem contração rápida e com maior fatigabilidade. Isso é explicado porque esse tipo de fibra muscular possui menor quantidade de mitocôndrias e de mioglobina, utilizando-se de glicólise anaeróbia para obtenção de energia. As fibras do tipo I possuem contração lenta e fadiga difícil, dependendo de fosforilação oxidativa para obtenção de energia, sendo, portanto, ricas em mitocôndrias e mioglobina, a qual é um pigmento semelhante à hemoglobina com função de armazenamento e transporte de oxigênio no interior da fibra muscular (Matsunaga, 2009).

Kuna e Smickley (1997) estudaram o músculo constritor médio da faringe com eletromiografia. Demonstraram que a contração dessa musculatura estreita a faringe durante algumas funções, como a deglutição, porém, durante a inspiração, sua contração enrijeceria o tubo faríngeo, tornando-o menos susceptível ao colapso, especialmente durante o sono.

Apesar de se poder supor que fibras do tipo I poderiam ser mais úteis na manutenção da perviabilidade faríngea por manterem atividades por períodos prolongados com menor fadiga, a composição de ambos os músculos em nosso estudo apresentou predominância de fibras do tipo II.

A contração dos músculos que estabilizam a faringe, como o MPF e MCSF, e que dilatam a faringe, como o genioglosso, é determinada por uma conexão entre os motoneurônios dos músculos respiratórios, por meio de uma ação coordenada entre os nervos hipoglosso e frênico. As ações destes músculos possuem padrões máximos e contração durante a inspiração, justamente pelo fato deste ser um momento crucial para a manutenção da patência da via aérea, frente à pressão negativa intratorácica (Sériès, 2002; Genta *et al.*, 2014). Assim, há necessidade de uma contração rápida dessa musculatura imediatamente antes da contração dos músculos respiratórios (músculos intercostais e diafragma) para manter a via aérea pérvia e para que se inicie o fluxo inspiratório. Assim, a musculatura faríngea precisa se contrair a cada inspiração, de uma maneira rápida e fugaz, o que poderia justificar o predomínio de fibras de contração rápida, mesmo com alta fatigabilidade. Além disso, observamos uma prevalência de mais de 25% da presença de fibras híbridas nos MCSF e MPF, sugerindo capacidade de atuar em várias situações, o que poderia ser justificada pelas múltiplas funções (respiração, deglutição e fonação) que esses músculos desempenham.

Em indivíduos adultos jovens sem miopatias, verificam-se grandes diferenças na distribuição dos tipos de fibras de alguns músculos, sempre dependendo de sua função e de sua demanda fisiológica. Como exemplos, tem-se o bíceps braquial, que é um músculo de contração rápida, com predomínio de fibras do tipo II (58,3%), enquanto que grandes músculos com atividades menos fásicas, como o sóleo e gastrocnêmio, possuem

predominância de fibras do tipo I (92% e 62%, respectivamente) (Österlund; Thornell; Eriksson, 2011). Além disso, os músculos mastigatórios possuem diferenças na composição em relação à musculatura dos membros, em sua maioria, com predomínio de fibras lentas (masseter 64,3%) (Österlund; Thornell; Eriksson, 2011).

É interessante de se observar que o mesmo músculo, em diferentes regiões, pode possuir distribuição de tipos de fibras diferentes, como a musculatura massetéica e intrínseca da língua (Stål *et al.*, 2003). A média da distribuição dos tipos de fibras em 7 regiões da musculatura intrínseca da língua é de 60% para o tipo II. Porém, existem regiões, como a médio-posterior da língua, que apresentou 34% de fibras do tipo II, mostrando que o mesmo músculo, dependendo da localização, pode ter distribuição diferente dos tipos de fibras musculares (Stål *et al.*, 2003).

Não encontramos na literatura relatos sobre a distribuição dos tipos de fibras musculares no MCSF. Com relação ao MPF, Friberg *et al.* (1998) descreveram predomínio de fibras do tipo II (aproximadamente, 70%) em indivíduos com e sem SAOS, sem diferença estatística entre os grupos no que tange a composição dos tipos de fibras musculares. Esse resultado de predomínio de fibras de contração rápida no MPF corrobora os achados em nosso estudo. Stål e Lindman (2000) estudaram 5 indivíduos sem história prévia de SAOS e verificaram predomínio de fibras do tipo II no MPF (86,3%) com coleta *post mortem*. Outro estudo com MPF também demonstrou a predominância de fibras do tipo 2 em indivíduos apneicos (Lindman; Stål, 2002).

O músculo genioglosso, que é o mais importante músculo dilatador da faringe, possui composição de tipos de fibras musculares controversa na literatura. Sériès *et al.* (1996) demonstraram predomínio de fibras do tipo II em indivíduos roncadores primários (66,7%) e em indivíduos portadores de SAOS (66,9%), o que corroboraria com a distribuição encontrada nos MPF e MCSF em nosso estudo. No entanto, Carrera *et al.* (1999) verificaram que indivíduos não apneicos possuem predominância de fibras do tipo I (61%), enquanto que portadores de SAOS tinham predomínio de fibras do tipo II (59%). Ademais,

relataram que indivíduos portadores de SAOS tratados com CPAP durante um ano apresentavam predomínio de fibras do tipo I (60%) semelhante aos indivíduos não apneicos.

A análise das fibras musculares é ainda mais complexa porque existem fibras musculares denominadas híbridas, as quais reagem tanto na reação imuno-histoquímica para miosina lenta (tipo I) quanto para miosina rápida (tipo II), justamente por ter uma característica intermediária às fibras tipos I e II. Sabe-se que, dependendo da demanda fisiológica e da inervação, essa fibra pode se converter em algum tipo específico. Ademais, em indivíduos adultos sem miopatias, especialmente na musculatura dos membros, do tronco e da região mastigatória, tais fibras desaparecem até os 3 anos de idade (Matsunaga, 2009).

Alguns raros músculos esqueléticos no ser humano adulto possuem fibras híbridas, e isso é importante no desempenho de suas funções fisiológicas. Músculos intrínsecos da laringe chegam a apresentar 40% de fibras híbridas em indivíduos sem doenças sistêmicas (Hoh, 2005). Em nosso estudo, verificamos 45,45% de prevalência de fibras híbridas no MPF e 27,27% no MCSF em indivíduos sem SAOS. Não houve diferença estatisticamente significativa na prevalência de fibras híbridas entre esses 2 músculos.

Esse percentual de fibras híbridas pode ser explicado justamente pela peculiaridade anatômica e funcional dos músculos constritores faríngeos, que necessitam se contrair e fechar a faringe na deglutição, e se contrair e manter a via aérea pérvia durante a inspiração, especialmente durante o sono. Não encontramos na literatura estudos anteriores que tenham descrito a presença de fibras híbridas nesses músculos em indivíduos não apneicos.

Nas características histológicas dos músculos, também é importante analisar o espaço entre as fibras musculares. Observamos um maior espaço intercelular no MPF em relação ao MCSF ( $p < 0,05$ ) nos indivíduos sem SAOS. Essa análise não leva em conta os componentes específicos da matriz extracelular (MEC), que necessitam de colorações e reações específicas.

## 6.2 Comparação da estrutura histológica do MPF e do MCSF entre indivíduos com e sem SAOS

Quando se analisou a distribuição dos tipos de fibras musculares no MPF entre os grupos sem e com SAOS, verificou-se evidente predomínio de fibras do tipo II em ambos os grupos (média de 74,23% no grupo com SAOS e de 81,85% no grupo sem SAOS). Em relação às fibras do tipo I, observou-se a média de 26,23% em indivíduos sem SAOS e de 26,62% em indivíduos apneicos. Esses resultados vão ao encontro daqueles obtidos por (Friberg *et al.*, 1998), que também analisaram o MPF de pacientes apneicos com média de 70% de fibras do tipo II. Lindman e Stål (2002) demonstraram 77,9% de fibras do tipo II no MPF de indivíduos portadores de SAOS.

A partir destes dados, verificamos que há predomínio de fibras musculares de contração rápida e de alta fatigabilidade no MPF, e que, esse padrão de distribuição não se altera em pacientes com SAOS. Isso demonstra que, para realizar suas funções na faringe, necessita-se deste predomínio de fibras do tipo 2, e que não há alteração em indivíduos com SAOS. Essa inalteração de padrão parece demonstrar que uma suposta alteração na distribuição dos tipos de fibras musculares não deve estar relacionada à etiopatogenia da SAOS, tampouco como consequência dessa.

Alguns estudos (Woodson; Garancis; Toohill, 1991; Friberg *et al.*, 1998; Stål; Lindman, 2000) verificaram algumas alterações no aspecto das fibras musculares do MPF em pacientes portadores de SAOS, como mudanças no diâmetro normal das fibras e variáveis sinais histológicos de lesões neurogênicas (alterações nucleares e sinais de regeneração das fibras). A partir desses dados, esses autores concluíram que essas alterações eram provenientes do trauma vibratório do ronco, tanto nos apneicos como nos roncoadores não apneicos.

Desconhecemos na literatura a avaliação da distribuição dos tipos de fibras musculares do MCSF em indivíduos com e sem SAOS. Isso é especialmente importante pelo fato deste músculo ser o maior componente da parede faríngea. Quando comparamos a composição dos tipos de fibras musculares entre indivíduos apneicos e não apneicos, verificamos um

predomínio de fibras do tipo II em ambos os grupos. Ao compararmos a porcentagem de fibras do tipo I, verificamos valores superiores nos pacientes com SAOS (24,82% em não apneicos e 24,92% em apneicos) sem significância estatística ( $p=0,86$ ). No entanto, ao se analisar as fibras do tipo II, verificamos redução estatisticamente significativa na porcentagem desse tipo de fibra no grupo de portadores de SAOS ( $p=0,04$ ). Portanto, há uma redução na porcentagem de fibras do tipo II nos indivíduos com SAOS, sendo que as fibras do tipo I evidenciam um discreto aumento no grupo de apneicos.

Ao analisarmos a diferença entre a quantidade de fibras musculares híbridas entre o grupo de indivíduos sem e com SAOS nos MPF e MCSF não verificamos diferenças estatísticas entre os grupos em ambos os músculos. No MPF, constatou-se presença de 45,45% de fibras híbridas nos indivíduos não apneicos e de 35,29% nos apneicos. No MCSF, notou-se percentual de 27,27% de fibras híbridas no grupo sem SAOS e 23,53% no grupo com SAOS. Em ambos os músculos, há um menor percentual de fibras híbridas nos indivíduos com SAOS, porém sem diferença estatisticamente significativa. Desconhecemos estudos que analisaram a prevalência de fibras híbridas nos músculos da parede lateral da faringe.

Ao analisarmos o espaço intercelular do MCSF em indivíduos sem e com SAOS, não se observa diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,3154$ ), sendo que o tecido conjuntivo é mais espaçoso no grupo de indivíduos apneicos. Dantas *et al.* (2012) analisaram diversos componentes da MEC do MCSF em indivíduos sem e com SAOS, e verificaram aumento do colágeno tipo 1 no grupo de portadores de SAOS, independente da faixa etária. As reações imuno-histoquímicas para os componentes específicos da MEC não foram foco de análise em nosso estudo. Shi *et al.* (2016) fizeram análise intracelular das fibras do MCSF em indivíduos sem e com SAOS. O foco da análise, por meio de microscopia eletrônica em coloração de azul de metileno, foi a quantidade de gotículas de gordura no interior das fibras. Verificaram, então, que há maior quantidade de gotículas de lipídeos no interior das fibras musculares dos apneicos em relação aos controles, e que a magnitude é diretamente proporcional ao IAH. Vale ressaltar que os valores

do IMC dos grupos eram semelhantes e que os autores concluíram que a presença dessas gotículas poderia interferir no funcionamento dessa musculatura contribuindo para a gênese da SAOS. Em nosso estudo, não pesquisamos a presença dessas gotículas no interior das fibras musculares.

O grupo de indivíduos sem SAOS mostrou que o predomínio de fibras do tipo II é especialmente importante para as contrações rápidas exigidas a cada inspiração, especialmente durante o sono. O grupo de indivíduos portadores de SAOS demonstrou redução significativa da porcentagem desse tipo de fibra muscular. Essa redução poderia resultar em uma menor eficiência desta musculatura, e, portanto, contribuir para a AOS.

O MCSF é um músculo que não funciona como um verdadeiro constritor, porque está apoiado na coluna vertebral em sua porção posterior e não completa todo o diâmetro circular, como a musculatura constritora do esôfago, por exemplo. Sua inserção ocorre na rafe pterigomandibular, localizada na região lateral e anterior da faringe. A partir desses dados anatômicos, verifica-se que, estando apoiado na coluna vertebral posteriormente e na rafe pterigomandibular ântero-lateralmente, sua contração não reduz significativamente o lúmen da faringe, ao contrário de um constritor com funções peristálticas (Hollinshead WH, 1994). Durante seu mecanismo de contração, com suas fibras horizontalmente, essa musculatura tende a aproximar estruturas como a rafe pterigomandibular e a coluna vertebral, que são fixas. Portanto, seu efeito principal é de enrijecimento do tubo muscular faríngeo, especialmente da parede lateral (Kuna; Smickley, 1997; Kuna, 2000). Ao se verificar redução de fibras de contração rápida nessa musculatura, infere-se que há um suposto atraso na contração muscular que deve ocorrer imediatamente antes da inspiração, contribuindo para redução da estabilidade muscular dessa região no momento crucial de manutenção da perviabilidade da via aérea superior.

Sabe-se que as fibras do tipo I possuem menor diâmetro que as fibras do tipo II, portanto, seria esperado que uma redução de fibras do tipo II ( $p < 0,05$ ) e um aumento de fibras do tipo I ( $p > 0,05$ ), que ocorreu no MCSF em indivíduos apneicos, resultasse em um maior espaço intercelular. E isso

efetivamente ocorreu em nosso estudo. Além disso, houve uma redução na prevalência de fibras híbridas nos indivíduos com AOS.

O mecanismo para tal fenômeno poderia ser explicado pela perda de fibras musculares do tipo II no MCSF de indivíduos apneicos por morte celular e apoptose. A partir de então, as fibras híbridas, ao invés de se converterem em fibras do tipo II para compensar tal perda, parte delas converteram-se em fibras do tipo I. Isso talvez se corrobore pelo aumento não significativo do espaço intercelular no MCSF em indivíduos com SAOS.

Bradford e O'Halloran (2013), por meio de estudos com modelos animais expostos à hipóxia intermitente e reoxigenação, descreveram redução na função de músculos respiratórios (especialmente o diafragma) consequente a essa exposição. Verificaram transformação de fibras do tipo I em fibras do tipo II, e teorizaram que essa transformação pioraria os eventos de apneia obstrutiva, justamente por haver uma maior porcentagem de fibras de alta fatigabilidade. Essa suposta consequência da hipóxia e reoxigenação pioraria a função dos músculos respiratórios, contribuindo para agravar a colapsabilidade faríngea, criando um ciclo vicioso.

Shortt *et al.* (2013) encontraram achados semelhantes nos músculos esterno-hioideo e diafragma de ratos submetidos artificialmente à hipóxia e reoxigenação, porém em valores bastante discretos. Esses autores verificaram predomínio de fibras do tipo II em ambos os músculos, e uma discreta transformação de fibras de contração lenta para as fibras de contração rápida.

Nossos resultados não evidenciaram tais transformações, mesmo porque a musculatura analisada em nosso estudo foi a que compõe a parede lateral da faringe, e não o diafragma. Ademais, o que se estuda nesses modelos animais expostos à hipóxia intermitente e reoxigenação seria o efeito da apneia obstrutiva nessa musculatura, ou seja, seria a consequência de uma obstrução faríngea pré-existente, e que, em última instância, seria a causa primária da dessaturação. Sendo assim, verifica-se que os músculos que fazem o esforço respiratório, estudados em ratos, convertem-se de fibras

do tipo I para fibras do tipo II, em uma tentativa de compensação frente a essa dessaturação.

A dessaturação e reoxigenação verificada em pacientes portadores de apneia obstrutiva do sono ocorrem por uma deficiência na manutenção da via aérea pérvia na faringe. Portanto, uma deficiência primária na função da musculatura faríngea, com aumento da colapsabilidade, e consequente redução do fluxo de oxigênio para a via aérea inferior, levaria a uma sobrecarga dos músculos respiratórios, induzindo a essas transformações adaptativas, que poderiam alimentar o ciclo de piora com a disfunção muscular.

## **7 CONCLUSÕES**

---

## 7 CONCLUSÕES

Com relação à estrutura histológica dos músculos palatofaríngeo (MPF) e constritor superior da faringe (MCSF) nos indivíduos sem Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono (SAOS), concluímos que:

1. Houve predomínio de fibras musculares do tipo II no MPF e no MCSF em indivíduos sem SAOS;
2. Houve semelhança na distribuição dos tipos de fibras musculares no MPF e no MCSF em indivíduos sem SAOS;
3. A prevalência de fibras híbridas foi elevada nos MPF e MCSF em indivíduos sem SAOS, não havendo diferença estatística entre os dois músculos;
4. O valor do espaço intercelular do MPF foi significativamente maior que do MCSF em indivíduos sem SAOS.

Comparando indivíduos com e sem SAOS, concluímos que:

1. O MPF apresentou distribuição das fibras musculares com predomínio de fibras do tipo II, não havendo diferença estatística entre os grupos com e sem SAOS;
2. O MCSF apresentou redução significativa da porcentagem de fibras do tipo II nos indivíduos com SAOS, quando comparado aos indivíduos sem SAOS;
3. A redução da porcentagem de fibras do tipo II nos indivíduos com SAOS pode ter implicações na etiopatogenia da SAOS.



## 8 ANEXOS

### 8.1 ANEXO A - Aprovação CAPPesq



Hospital das Clínicas da FMUSP  
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa  
CAPPesq

**Nº Protocolo:** 0698/11

**Título:** ANÁLISE MORFOLÓGICA E FUNCIONAL DAS FIBRAS DA MUSCULATURA DA PAREDE LATERAL DA FARINGE EM PACIENTES COM RONCO PRIMÁRIO E PORTADORES DE SÍNDROME DA APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO GRAVE

**Pesquisador Responsável:** Dr. Michel Burihan Cahali

**Pesquisador Executante:** Bruno Bernardo Duarte

**Co-autores:** Dra. Suely Kazue Nagahashi Marie, Dr. Gilberto Guanaes Simões Formigoni

**Finalidade Acadêmica:** Doutorado

**Departamento:** OFTALMOLOGIA E OTORRINOLARINGOLOGIA

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 14/12/2011, o protocolo acima.

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) s elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

CAPPesq, 16 de Dezembro de 2011

  
**PROF. DR. LUIZ EUGÊNIO GARCEZ LEME**  
Vice-Coordenador  
Comissão de Ética para Análise de  
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

## 8.2 ANEXO B - Termo de Ciência Livre e Esclarecido (Grupo-controle)

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

### TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS -INFORMAÇÃO

#### I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

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

#### II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **ANÁLISE MORFOLÓGICA E FUNCIONAL DAS FIBRAS DA MUSCULATURA DA PAREDE LATERAL DA FARINGE EM PACIENTES COM RONCO PRIMÁRIO E PORTADORES DE SÍNDROME DA APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO GRAVE**
2. PESQUISADOR: **BRUNO BERNARDO DUARTE**  
CARGO/FUNÇÃO: MÉDICO ASSISTENTE DO SERVIÇO DE OTORRINOLARINGOLOGIA DA PUC-CAMPINAS E MÉDICO OBSERVADOR DO GRUPO DE RONCO E APNEIA DO SONO DA DISCIPLINA DE OTORRINOLARINGOLOGIA DO HCFMUSP. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 113.370  
UNIDADE DO HCFMUSP: DIVISÃO DE CLÍNICA OTORRINOLARINGOLÓGICA
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:  
  
SEM RISCO  RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO   
RISCO BAIXO  RISCO MAIOR   
(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)
4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 30 meses

### **III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:**

1. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

Este termo de consentimento livre esclarecido é direcionado aos pacientes que se submeterão à amigdalectomia por amigdalites de repetição ou amigdalite caseosa.

O objetivo da pesquisa é estudar o músculo da faringe (garganta) que se localiza posteriormente (atrás) das amígdalas e que é o principal responsável pelos Roncos e pela Apneia do Sono (parar de respirar ao dormir). Esta pesquisa pode ajudar a entender os defeitos do músculo que causam o Ronco e a Apneia do Sono, já que não se tem uma explicação totalmente correta até o momento. Durante a cirurgia será removido (retirado) um pequeno fragmento (pedaço) do músculo que se encontra atrás das amígdalas medindo aproximadamente 0,4cm de largura e de espessura, e 0,8cm de comprimento, de apenas um dos lados. É importante esclarecer que esse pequeno fragmento de músculo normalmente já é cauterizado (queimado) durante a operação para conter (parar) o sangramento que geralmente ocorre, e que este processo não aumentará em mais de 5 minutos do tempo total da cirurgia. Além disso, não haverá nenhum incômodo a mais do que já é esperado nestes procedimentos, como dor, dificuldade para comer nos primeiros 14 dias após a cirurgia. Não haverá também risco aumentado de sangramento no pós-operatório.

Depois de retirado este pequeno “pedaço de músculo” durante a cirurgia, o músculo será analisado minuciosamente para se tentar descobrir a origem destes problemas que ocorrem durante o sono.

Não haverá benefício direto e imediato para o paciente do estudo, porém, verificaremos se há defeitos no seu músculo que poderá causar o Ronco e a Apneia do Sono no futuro, podendo, assim, iniciar um tratamento ou uma possível prevenção a estas doenças.

### **IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:**

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

---

**V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

Dr. BRUNO BERNARDO DUARTE

Tel.: 3069-6288 (secretaria), 3069-6000 (ramal 6581) (pronto-socorro) e 3069-6385 (ambulatório)

---

**VI - OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES**

O paciente autoriza o pesquisador a divulgar os dados do estudo, incluindo os exames anátomo-patológicos e de exames pré e pós-operatórios e da cirurgia, preservando a identidade do paciente.

---

**VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO**

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo,.....de.....de

---

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

---

assinatura do pesquisador  
(carimbo ou nome legível)

**BRUNO BERNARDO DUARTE**

**CRM 113370**

### 8.3 ANEXO C - Termo de Ciência Livre e Esclarecido (Grupo de Estudo)

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

**TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS -INFORMAÇÃO**

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

**1. NOME DO PACIENTE.:**

.....  
DOCUMENTO DE IDENTIDADE N°: .....SEXO: M  F   
DATA NASCIMENTO:.....  
ENDEREÇO .....APTO:.....  
BAIRRO.....CIDADE.....  
CEP: .....TELEFONE: DDD (.....) .....

**2. RESPONSÁVEL LEGAL**

.....  
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....  
DOCUMENTO DE IDENTIDADE: ..... SEXO: M  F   
DATA NASCIMENTO: .....  
ENDEREÇO:.....N°  
...APTO:.....  
BAIRRO:.....CIDADE: .....  
CEP:.....TELEFONE: DDD (.....) .....

**II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA**

- 1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: ANÁLISE MORFOLÓGICA E FUNCIONAL DAS FIBRAS DA MUSCULATURA DA PAREDE LATERAL DA FARINGE EM PACIENTES COM RONCO PRIMÁRIO E PORTADORES DE SÍNDROME DA APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO GRAVE**
- 2. PESQUISADOR: BRUNO BERNARDO DUARTE**  
CARGO/FUNÇÃO: MÉDICO ASSISTENTE DO SERVIÇO DE OTORRINOLARINGOLOGIA DA PUC-CAMPINAS E MÉDICO OBSERVADOR DO GRUPO DE RONCO E APNEIA DO SONO DA DISCIPLINA DE OTORRINOLARINGOLOGIA DO HCFMUSP. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL N° 113.370  
UNIDADE DO HCFMUSP: DIVISÃO DE CLÍNICA OTORRINOLARINGOLÓGICA
- 3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:**  
  
SEM RISCO  RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO   
RISCO BAIXO  RISCO MAIOR   
(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)
- 4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 30 meses**

### **III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:**

1. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

Este termo de consentimento livre esclarecido é direcionado aos pacientes que se submeterão à cirurgia faríngea para Ronco Primário ou Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono.

O objetivo da pesquisa é estudar o músculo da faringe (garganta), que se localiza posteriormente (atrás) das amígdalas nos pacientes que já irão realizar cirurgias faríngeas (da garganta) para tratamento de Roncos e Apneia do Sono (parar de respirar ao dormir). Esta pesquisa pode ajudar a entender os defeitos do músculo que causam o Ronco e a Apneia do Sono, já que não se tem uma explicação totalmente correta até o momento. Nestes 2 tipos de cirurgia não são realizados cortes na região do pescoço, pois são realizadas por dentro da boca. As amígdalas necessariamente são removidas nas 2 cirurgias.

Durante a cirurgia será removido (retirado) um pequeno fragmento (pedaço) do músculo que se encontra atrás das amígdala medindo aproximadamente 0,4cm de largura e de espessura, e 0,8cm de comprimento, de apenas um dos lados. É importante esclarecer que esse pequeno fragmento de músculo normalmente já é cortado e cauterizado (queimado) durante a operação, e que este processo não aumentará em mais de 5 minutos do tempo total da cirurgia. Além disso, não haverá nenhum incômodo a mais do que já é esperado nestes procedimentos, como dor, dificuldade para comer nos primeiros 14 dias após a cirurgia.

Depois de retirado este pequeno “pedaço de músculo” durante a cirurgia, o músculo será analisado minuciosamente para se tentar descobrir a origem destes problemas que ocorrem durante o sono.

Não haverá benefício direto e imediato para o paciente do estudo, porém, tentaremos associar a composição do músculo com a doença do paciente, e isto pode ajudar a compreender melhor sua doença, o que poderá ajudar um futuro tratamento caso a cirurgia não atinja o sucesso esperado.

### **IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:**

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
  2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
  3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
  4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
  5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.
-

**V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO  
ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS  
E REAÇÕES ADVERSAS.**

Dr. BRUNO BERNARDO DUARTE

Tel: 3069-6288 (secretaria), 3069-6000 (ramal 6581) (pronto-socorro) e 3069-6385 (ambulatório)

---

**VI - OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES**

O paciente autoriza o pesquisador a divulgar os dados do estudo, incluindo os exames anátomo-patológicos e de exames pré e pós-operatórios e da cirurgia, preservando a identidade do paciente.

---

**VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO**

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo,.....de.....de.....de.....de

---

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

---

assinatura do pesquisador  
(carimbo ou nome legível)

**BRUNO BERNARDO DUARTE**

**CRM 113370**

#### 8.4 ANEXO D - Escala de Sonolência de Epworth

Situação	Chance de cochilar
1. Sentado e lendo .....	
2. Vendo TV .....	
3. Sentado em um lugar público, sem atividade .....	
(sala de espera, cinema, reunião)	
4. Como passageiro de trem, carro ou ônibus andando uma hora sem parar .....	
5. Deitado para descansar à tarde, quando as circunstâncias permitem .....	
6. Sentado e conversando com alguém .....	
7. Sentado, calmamente, após almoço sem álcool .....	
8. Se estiver de carro, enquanto pára por alguns minutos no trânsito intenso .....	
0-nenhuma chance de cochilar	
1- pequena chance de cochilar	
2- moderada chance de cochilar	
3- alta chance de cochilar	

## **9 REFERÊNCIAS**

---

## 9 REFERÊNCIAS

Badr MS, Toiber F, Skatrud JB, Dempsey J. Pharyngeal narrowing/occlusion during central sleep apnea. *J Appl Physiol*. 1995;78(5):1806–15.

Bottinelli R, Reggiani C. *Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity progress in biophysics and molecular biology*. *Prog Biophys Mol Biol*. 2000;73(2-4):195-262.

Boyd JH, Petrof BJ, Hamid Q, Fraser R, Kimoff RJ. Upper airway muscle inflammation and denervation changes in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170(5):541–6.

Bradford A, O'Halloran KD. *Obstructive sleep apnoea, intermittent hypoxia and respiratory muscle structure and function*. *Anatom Physiol*. 2013;3:e123.

Brooke MH, Williamson E, Kaiser KK. The behavior of four fiber types in developing and reinnervated muscle. *Arch Neurol*. 1971;25(4):360–6.

Cahali MB. Lateral pharyngoplasty: a new treatment for obstructive sleep apnea hypopnea syndrome. *Laryngoscope*. 2003;113(11):1961–8.

Cahali MB, Formigoni GG, Gebrim EM, Miziara ID. Lateral pharyngoplasty versus uvulopalatopharyngoplasty: a clinical, polysomnographic and computed tomography measurement comparison. *Sleep*. 2004;27(5):942–50.

Carlson ND, Onal E, Carley DW, Lopata M, Basner RC. Palatal muscle electromyogram activity in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(3):1022–7.

Carrera M, Barbé F, Sauleda J, Tomás M, Gómez C, Agustí AG. Patients with obstructive sleep apnea exhibit genioglossus dysfunction that is normalized after treatment with continuous positive airway pressure. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159(6):1960–6.

Dantas DA, Mauad T, Silva LF, Lorenzi-Filho G, Formigoni GG, Cahali MB. The extracellular matrix of the lateral pharyngeal wall in obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2012;35(4):483–90.

Dempsey JA, Veasey SC, Morgan BJ, O'Donnell CP. Pathophysiology of sleep apnea. *Physiol Rev*. 2010;90(1):47–112.

Dubowitz V, Sewry CA, Fitzsimons RB. Definition of pathological changes seen in muscle biopsies. *Muscle Biopsy. A Practical Approach*. 1985;2:82–128.

Eckert DJ, Malhotra A. Pathophysiology of adult obstructive sleep apnea. *Proc Am Thor Soc*. 2008;5(2):144–53.

Edström L, Larsson H, Larsson L. Neurogenic effects on the palatopharyngeal muscle in patients with obstructive sleep apnoea: a muscle biopsy study. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1992;55(10):916–20.

Eriksson PO, Eriksson A, Ringqvist M, Thornell LE. Histochemical fibre composition of the human digastric muscle. *Arch Oral Biol*. 1982;27(3):207–15.

Ferini-Strambi LJ, Smirne S, Moz U, Sferrazza B, Iannaccone S. Muscle fibre type and obstructive sleep apnea. *Sleep Res Online : SRO*. 1998;1(1):24–7.

Fitts RH, Widrick JJ. *Muscle mechanics: adaptations with exercise-training*. *Exerc Sport Sci Rev*. 1996;24:427-73.

Friberg D, Ansved T, Borg K, Carlsson-Nordlander B, Larsson H, Svanborg E. Histological indications of a progressive snorers disease in an upper airway muscle. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(2):586–93.

Friedman M. *Sleep apnea and snoring: surgical and non-surgical therapy*. [s.l.] Elsevier Health Sciences; 2008.

Friedman M, Ibrahim H, Joseph NJ. Staging of obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome: a guide to appropriate treatment. *Laryngoscope*. 2004;114(3):454–9.

Gambke B, Rubinstein NA. A monoclonal antibody to the embryonic myosin heavy chain of rat skeletal muscle. *J Biol Chemistry*. 1984;259:12092–100.

Genta PR, Owens RL, Edwards BA, Sands SA, Eckert DJ, Butler JP, Loring SH, Malhotra A, Jackson AC, White DP, Wellman A. Influence of pharyngeal muscle activity on inspiratory negative effort dependence in the human upper airway. *Respir Physiol Neurobiol*. 2014;201:55–9.

Gold AR, Schwartz AR. The pharyngeal critical pressure: the whys and hows of using nasal continuous positive airway pressure diagnostically. *Chest*. 1996;110(4):1077–88.

Hoh JFY. *Laryngeal muscle fibre typesacta physiologica scandinavica*. *Acta Physiol Scand*. 2005 Feb;183(2):133-49.

Huon LK, Liu SY, Shih TT, Chen YJ, Lo MT, Wang PC. Dynamic upper airway collapse observed from sleep MRI: BMI-matched severe and mild OSA patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(11):4021–6.

Isono S, Remmers JE, Tanaka A, Sho Y, Sato J, Nishino T. Anatomy of pharynx in patients with obstructive sleep apnea and in normal subjects. *J Appl Physiol*. 1997;82(4):1319–26.

Jordan AS, White DP. Pharyngeal motor control and the pathogenesis of obstructive sleep apnea. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008;160(1):1–7.

Kelly AM, Rubinstein NA. The diversity of muscle fiber types and its origin during development. *Myology*. AG Engel and C. Franzini-Armstrong, editors. McGraw-Hill, New York; 1994. p. 119–33.

Kuna ST. Respiratory-related activation and mechanical effects of the pharyngeal constrictor muscles. *Respir Physiol*. 2000 Feb;119(2-3):155-61.

Kuna ST, Smickley JS. Superior pharyngeal constrictor activation in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(3 I):874–80.

Lindman R, Stål PS. Abnormal palatopharyngeal muscle morphology in sleep-disordered breathing. *J Neurol Sci*. 2002;195(1):11–23.

Matsunaga EM. *Distribuição do tipo de fibras musculares e sua correlação genotípica na Doença de Pompe*. [s.l.]: Universidade de São Paulo; 2009.

McGinley BMM, Schwartz AR, Schneider H, Kirkness JP, Smith PL, Patil SP. Upper airway neuromuscular compensation during sleep is defective in obstructive sleep apnea. *J Appl Physiol*. 2008;105(1):197–205.

Mezzanotte WS, Tangel DJ, White DP. Waking genioglossal electromyogram in sleep apnea patients versus normal controls (a neuromuscular compensatory mechanism). *J Clin Invest*. 1992;89(5):1571–9.

Mezzanotte WS, Tangel DJ, White DP. Influence of sleep onset on upper-airway muscle activity in apnea patients versus normal controls. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153(6 Pt 1):1880–7.

Okuda S, Abe S, Kim HJ, Agematsu H, Mitarashi S, Tamatsu Y, Ide Y. Morphologic characteristics of palatopharyngeal muscle. *Dysphagia*. 2008;23(3):258–66.

Österlund C, Thornell LE, Eriksson PO. Differences in fibre type composition between human masseter and biceps muscles in young and adults reveal unique masseter fibre type growth pattern. *Anat Rec*. 2011;294(7):1158–69.

Pette D, Staron RS. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int Rev Cytol*. 1997;170:143–223.

Piovesan R, Martins MD, Fernandes KPS, Bussadori SK, Selistre-de-Araújo HS, Mesquita-Ferrari, RA. Uma revisão sobre a plasticidade do músculo esquelético: expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina e correlação funcional. *Fisioter Mov*. 2009;22(2):211–20.

Ronen O, Malhotra A, Pillar G. Influence of gender and age on upper-airway length during development. *Pediatrics*. 2007;120:e1028-34.

Schneider BK, Pickett CK, Zwillich CW, Weil JV, McDermott MT, Santen RJ, Varano LA, White DP. Influence of testosterone on breathing during sleep. *J Appl Physiol*. 1986;61(2):618–23.

Schwab RJ, Gupta KB, Gefer WB, Metzger LJ, Hoffman EA, Pack AI. Upper airway and soft tissue anatomy in normal subjects and patients with sleep-disordered breathing: Significance of the lateral pharyngeal walls. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(5 Pt 1):1673–89.

Schwab RJ, Pack AI, Gupta KB, Metzger LJ, Oh E, Getsy JE, Hoffman EA, Gefer WB. Upper airway and soft tissue structural changes induced by CPAP in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154(4 Pt 1):1106–16.

Sekosan M, Zakkar M, Wenig BL, Olopade CO, Rubinstein I. Inflammation in the uvula mucosa of patients with obstructive sleep apnea. *Laryngoscope*. 1996;106(8):1018–20.

Sériès F, Simoneau SA, St Pierre S, Marc I. Characteristics of the genioglossus and musculus uvulae in sleep apnea hypopnea syndrome and in snorers. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153(6 Pt 1):1870–4.

Sériès F. *Upper airway muscles awake and asleep* *Sleep Medicine Reviews*. 2002.

Sériès F, Chakir J, Boivin D. Influence of weight and sleep apnea status on immunologic and structural features of the uvula. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170(10):1114–9.

Shi L, Wang H, Wei L, Hong Z, Wang M, Wang Z. Pharyngeal constrictor muscle fatty change may contribute to obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome: a prospective observational study. *Acta Otolaryngol*. 2016 Jul;6489:1–6.

Shortt CM, Fredsted A, Bradford A, O'Halloran KD. Diaphragm muscle remodeling in a rat model of chronic intermittent hypoxia. *J Histochem Cytochem*. 2013;61(7):487–99.

Smirne S, Iannaccone S, Ferini-Strambi L, Comola M, Colombo E, Nemni R. Muscle fibre type and habitual snoring. *Lancet*. 1991;337(8741):597–9.

Stål P, Eriksson PO, Eriksson A, Thornell LE. Enzyme-histochemical differences in fibre-type between the human major and minor zygomatic and the first dorsal interosseus muscles. *Arch Oral Biol*. 1987;32(11):833–41.

Stål P, Marklund S, Thornell LE, De Paul R, Eriksson PO. Fibre composition of human intrinsic tongue muscles. *Cells Tissues Organs*. 2003;173(3):147–61.

Stål PS, Lindman R. Characterisation of human soft palate muscles with respect to fibre types, myosins and capillary supply. *J Anat.* 2000;197(Pt 2):275–90.

Tsumori N, Abe S, Agematsu H, Hashimoto M, Ide Y. Morphologic characteristics of the superior pharyngeal constrictor muscle in relation to the function during swallowing. *Dysphagia.* 2007;22(2):122–9.

Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LR. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo epidemiologic sleep study. *Sleep Med.* 2010;11(5):441–6.

Wellman A, Malhotra A, Jordan AS, Stevenson KE, Gautam S, White DP. Effect of oxygen in obstructive sleep apnea: role of loop gain. *Respir Physiol Neurobiol.* 2008;162(2):144–51.

Woodson BT, Garancis JC, Toohill RJ. Histopathologic changes in snoring and obstructive sleep apnea syndrome. *Laryngoscope.* 1991;101(2):1318–22.

Younes M. Contributions of upper airway mechanics and control mechanisms to severity of obstructive apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168(61):645–58.

Zancanella E, Haddad FM, Oliveira LAMP, Nakasato A, Duarte BB, Soares CFP, Cahali MB, Eckeli A, Caramelli B, Drager L, Ramos BR, Nóbrega M, Fagundes SC, Andrada NC. Apneia obstrutiva do sono e ronco primário: tratamento. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2014;80(1):Suppl 1.



## 10 APÊNDICES

### 10.1 APÊNDICE A – Tabela completa de dados dos pacientes.

PACIENTE	GRUPO	M1-MCSF %	M2-MCSF %	total % MCSF	M1.MCSF. FIBRAS MARCADAS	M1.MCSF. FIBRAS NÃO MARCADAS	M1.MCSF. TOTAL FIBRAS	M2.MCSF. TOTAL FIBRAS	M2.MCSF. FIBRAS MARCADAS	M2.MCSF. FIBRAS NÃO MARCADAS
1 e 2	3	9,50	77,47	<b>86,97</b>	12,00	113,50	125,50	219,30	169,70	49,70
3 e 4	3	21,75	87,45	<b>109,20</b>	110,00	395,50	505,50	414,00	362,00	52,00
5 e 6	3	22,85	78,85	<b>101,70</b>	105,50	361,50	467,00	426,00	335,50	90,50
7 e 8	2									
9 e 10	3	25,65	74,10	<b>99,75</b>	303,50	882,00	1185,50	1415,00	1048,00	367,00
11 e 12	3	33,85	69,50	<b>103,35</b>	254,50	489,50	744,00	1060,00	737,00	323,00
13 e 14	3	23,85	69,01	<b>92,86</b>	572,00	1830,70	2402,70	2498,00	1141,00	1357,00
15 e 16	3	11,50	89,10	<b>100,60</b>	151,00	165,00	1316,00	881,00	785,00	96,00
18 e 17	3	37,49	80,80	<b>118,29</b>	142,70	243,00	385,70	555,00	448,50	106,50
19 e 20	3	24,45	79,00	<b>103,45</b>	263,00	815,00	1078,00	2133,00	1686,00	447,00
21 e 22	3	20,60	90,40	<b>111,00</b>	176,70	576,30	753,00	104,00	94,00	10,00
23 e 24	3	24,40	64,70	<b>89,10</b>	104,00	325,50	429,50	784,00	507,00	277,00
25 e 26	3	14,90	79,90	<b>94,80</b>	30,00	176,00	206,00	758,00	606,00	152,00
27 e 28	2	45,15	44,20	<b>89,35</b>	47,00	57,50	104,50	267,00	118,00	149,00
29 e 30	2	23,10	83,57	<b>106,67</b>	337,30	914,00	1251,30	1713,00	1428,00	285,00
31 e 32	3									
33 e 34	3	23,15	86,25	<b>109,40</b>	94,00	329,00	423,00	805,00	694,00	111,00
35 e 36	2	22,45	81,35	<b>103,80</b>	195,00	685,50	880,50	349,50	284,50	65,00
37 e 38	3	33,50	77,25	<b>110,75</b>	641,50	1264,50	1906,00	3804,70	2941,00	863,50
39 e 40	3	28,05	75,70	<b>103,75</b>	112,70	214,70	327,30	1110,30	839,70	270,70
41 e 42	3	37,73	78,40	<b>116,13</b>	458,30	759,00	1217,30	1328,00	1039,30	287,70
43 e 44	2	28,30	80,53	<b>108,83</b>	92,70	194,70	287,30	701,30	564,30	137,00
45 e 46	2	31,75	86,13	<b>117,88</b>	99,70	168,70	268,30	517,30	445,00	72,30
47 e 48	2	15,10	88,90	<b>104,00</b>	110,00	618,00	728,00	643,00	571,50	71,50
49 e 50	1	15,20	91,90	<b>107,10</b>	127,00	732,00	859,00	1688,50	1553,50	135,00
51 e 52	1	34,85	77,33	<b>112,18</b>	162,00	468,00	630,00	1024,30	792,00	232,30
53 e 54	1	25,33	89,13	<b>114,46</b>	14,70	46,70	61,30	266,70	237,30	29,30
55 e 56	1	<b>22,30</b>	<b>76,70</b>	<b>99,00</b>	180,00	627,00	807,00	827,00	634,00	193,00

## 10 Apêndices

PACIENTE	GRUPO	M1-MPF %	M2-MPF %	total %-MPF	M1.MPF.FIBRAS MARCADAS	M1.MPF.FIBRAS NÃO MARCADAS	M1.MPF. TOTAL FIBRAS	M2.MPF.FIBRAS MARCADAS	M2.MPF.FIBRAS NÃO MARCADAS	M2.MPF.TOTAL FIBRAS
1 e 2	3	31,90	70,80	<b>102,70</b>	143,50	310,00	453,00	102,00	42,00	144,00
3 e 4	3	29,76	86,50	<b>116,26</b>	309,70	733,30	1043,00	947,70	148,00	1095,70
5 e 6	3	54,65	56,53	<b>111,18</b>	168,00	141,70	309,70	175,70	135,30	311,00
7 e 8	2	19,27	91,30	<b>110,57</b>	36,30	153,00	189,30	196,50	19,00	215,50
9 e 10	3	11,60	39,50	<b>51,10</b>	53,50	404,00	457,50	266,00	407,00	673,00
11 e 12	3	40,65	50,40	<b>91,05</b>	122,50	180,00	302,5	283,00	279,00	562,00
13 e 14	3	41,10	64,20	<b>105,30</b>	143,50	206,50	350,00	810,00	451,00	1261,00
15 e 16	3	16,05	89,30	<b>105,35</b>	147,50	836,00	983,50	2641,00	317,00	2958,00
18 e 17	3	22,35	84,00	<b>106,35</b>	96,50	342,50	439,00	657,00	125,00	782,00
19 e 20	3	37,95	41,10	<b>79,05</b>	195,50	322,00	517,50	534,00	766,00	1300,00
21 e 22	3	20,05	61,20	<b>81,25</b>	146,50	585,00	731,50	613,00	388,00	1001,00
23 e 24	3	4,15	96,60	<b>100,75</b>	21,00	500,50	521,50	594,00	21,00	615,00
25 e 26	3	20,00	90,00	<b>110,00</b>	58,50	237,50	296,00	457,00	51,00	508,00
27 e 28	2	20,90	87,10	<b>108,00</b>	148,50	569,50	718,00	481,00	72,50	553,50
29 e 30	2	36,17	80,10	<b>116,27</b>	297,30	527,70	825,00	705,00	182,70	887,70
31 e 32	3	40,27	80,70	<b>120,97</b>	226,30	333,00	559,30	412,50	99,00	511,50
33 e 34	3	14,20	82,15	<b>96,35</b>	131,00	790,00	921,00	1201,50	262,00	1463,50
35 e 36	2	28,40	77,80	<b>106,20</b>	243,00	620,50	863,50	487,50	132,50	620,00
37 e 38	3	9,85	92,10	<b>101,95</b>	46,00	421,50	467,50	603,50	50,50	654,00
39 e 40	3	36,73	86,80	<b>123,53</b>	261,70	453,30	717,00	520,70	78,30	599,00
41 e 42	3	21,33	90,00	<b>111,33</b>	115,70	430,00	545,70	870,00	97,00	967,00
43 e 44	2	39,17	77,25	<b>116,42</b>	329,70	515,30	845,44	537,00	159,00	696,00
45 e 46	2	4,10	94,55	<b>98,65</b>	40,00	926,00	966,00	921,00	53,50	974,50
47 e 48	2	26,25	88,15	<b>114,40</b>	115,50	323,00	438,50	571,50	77,00	648,50
49 e 50	1	8,05	94,70	<b>102,75</b>	49,00	564,50	613,50	770,00	43,00	813,00
51 e 52	1	33,80	80,93	<b>114,73</b>	46,70	90,70	137,30	201,70	47,70	249,30
53 e 54	1	12,75	91,63	<b>104,38</b>	59,30	305,30	377,30	493,70	44,00	537,70
55 e 56	1	59,70	39,10	<b>98,80</b>	339,00	229,00	568,00	214,00	333,00	547,00

## 10 Apêndices

PACIENTE	GRUPO	IDADE	IMC	IAH	TONSILAS	NADIR O2	SATURAÇÃO MÉDIA
1 e 2	3	41	32,37	42,10	1	81,00	94,90
3 e 4	3	40	30,80	63,10	1	77,00	95,80
5 e 6	3	55	27,60	50,07	2	76,00	92,00
7 e 8	2	52	28,70	2,40	2	98,00	98,00
9 e 10	3	44	27,08	70,07	1	56,00	94,00
11 e 12	3	44	33,47	61,80	2	72,00	92,10
13 e 14	3	28	30,07	48,40	2	85,00	94,50
15 e 16	3	54	28,70	36,80	1	79,00	93,70
18 e 17	3	47	28,70	54,20	2	85,00	94,40
19 e 20	3	43	36,50	80,66	1	58,00	84,00
21 e 22	3	26	29,80	75,50	2	54,00	89,00
23 e 24	3	40		43,90	1	83,00	
25 e 26	3	38	29,03	29,60	1	78,00	94,00
27 e 28	2	20		4,80	2	91,00	96,00
29 e 30	2	30	27,68	1,90	1	92,00	95,00
31 e 32	3	32	23,20	32,90	1	81,00	
33 e 34	3	39	29,40	27,20	1	75,00	94,00
35 e 36	2	28	20,10	4,60	1	88,00	96,00
37 e 38	3	30	28,40	60,20	2	67,00	86,80
39 e 40	3	36	29,87	25,20	2	83,00	95,00
41 e 42	3	39	26,50	25,27	1	86,00	93,40
43 e 44	2	46	23,50	4,80	1	86,00	94,00
45 e 46	2	21	24,20	4,90	1	93,00	98,00
47 e 48	2	43	27,70	3,90	1	89,00	93,30
49 e 50	1	22	25,10	1,70	1	92,00	95,00
51 e 52	1	19	20,28	1,20	1	89,00	96,00
53 e 54	1	21	21,77	2,10	2	91,00	95,00
55 e 56	1	39	24,10	1,80	2	93,00	96,00