

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de pós-graduação em Medicina Molecular

Maria de Lourdes Rabelo Guimarães

**AVALIAÇÃO DE FATORES CLÍNICOS E GENÉTICOS NA APNEIA OBSTRUTIVA
DO SONO: UMA PROPOSTA DE MODELO PREDITIVO**

Belo Horizonte
2020

Maria de Lourdes Rabelo Guimarães

**AVALIAÇÃO DE FATORES CLÍNICOS E GENÉTICOS NA APNEIA OBSTRUTIVA
DO SONO: UMA PROPOSTA DE MODELO PREDITIVO**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Molecular, área de concentração em Medicina Molecular.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Bastos
Rodrigues

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Armando De
Marco

Guimarães, Maria de Lourdes Rabelo.

G963a Avaliação de fatores clínicos e genéticos na Apneia Obstrutiva do Sono [manuscrito]: uma proposta de modelo preditivo. / Maria de Lourdes Rabelo Guimarães. - - Belo Horizonte: 2020.
110f.: il.

Orientador (a): Luciana Bastos Rodrigues.

Coorientador (a): Luiz Armando de Marco.

Área de concentração: Medicina Molecular.

Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Apneia Obstrutiva do Sono. 2. Polimorfismo de Nucleotídeo Único. 3. Fenótipo. 4. Valor Preditivo dos Testes. 5. Dissertação Acadêmica. I. Rodrigues, Luciana Bastos. II. Marco, Luiz Armando de. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WF

143



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS FACULDADE DE MEDICINA CURSO DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às **14:00** do dia **dezoito de dezembro de 2020**, através da plataforma **Google Meet** na Universidade Federal de Minas Gerais, realizou-se a sessão pública para a defesa da Dissertação de **MARIA DE LOURDES RABELO GUIMARÃES**. A presidência da sessão coube a **LUCIANA BASTOS RODRIGUES -ORIENTADOR**. Inicialmente, a presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: **MELANIA DIRCE OLIVEIRA MARQUES -USP, PATRICIA GONÇALVES PEREIRA COUTO -HERMES PARDINI, LUCIANA BASTOS RODRIGUES UFMG -ORIENTADOR**. Em seguida, a candidata fez a apresentação do trabalho que constitui sua **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, intitulada: **"AVALIAÇÃO DE FATORES CLÍNICOS E GENÉTICOS NA APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO: UMA PROPOSTA DE MODELO PREDITIVO"**. Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença da candidata e do público e decidiu considerar **APROVADA** a **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**. O resultado final foi comunicado publicamente a candidata pela presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, se aprovada, será assinada pela Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 18 de dezembro de 2020.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Melânia Dirce Oliveira Marques, Usuário Externo**, em 23/12/2020, às 11:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Bastos Rodrigues, Professora do Magistério Superior**, em 05/01/2021, às 11:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patrícia Gonçalves Pereira Couto, Usuário Externo**, em 12/01/2021, às 10:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0482201** e o código CRC **90B01178**.

https://sei.ufmg.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_web&acao_origem=arvore_visualizar&id_documento=489188&infra_sistema=1000... 1/2 12/01/2021 SEI/UFMG - 0482201 - Ata de defesa de Dissertação/Tese

Referência: Processo nº 23072.247551/2020-49 SEI nº 0482201

A todos os meus familiares, especialmente meus filhos, Pedro e Júlia, minha nora Flávia fonte de apoio, conforto e força, sem os quais este trabalho não seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Luciana Bastos-Rodrigues, PhD, pela confiança, disponibilidade, acessibilidade, praticidade e pelos momentos de descontração.

Expresso minha sincera gratidão e carinho ao meu coorientador Luiz Armando De Marco, PhD, uma fonte inspiração pela sua dedicação à pesquisa, compreensão, honestidade e conhecimento. Sem seu apoio não teria sido possível a realização desse sonho.

A todas as iniciações científicas do laboratório de Genética Molecular. Especialmente à Bianca, Rayane, Vinícius e Camila por me ajudarem tanto na bancada.

Aos colegas da Medicina Molecular pelas palavras de incentivo e troca de experiências.

Um agradecimento especial aos pacientes pelo interesse e colaboração na pesquisa.

“O que entendo é que quando estou dormindo, não tenho temor nem esperança, nem pena nem glória; e bem haja quem inventou o sono, capa que encobre todos os pensamentos humanos, manjar que tira a fome, água que afugenta a sede, fogo que alenta o frio, frio que mitiga o ardor, e finalmente moeda geral com que tudo se compra, balança e peso que iguala o pastor ao rei e o simples ao discreto. Só uma coisa má tem o sono, segundo tenho ouvido dizer: é parecer-se com a morte, porque, de um adormecido a um morto, há pouca diferença.”

Miguel de Cervantes

RESUMO

Introdução: A síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS) é um distúrbio comum associado ao aumento do risco de doenças cardiovasculares, metabólicas e mortalidade. Fatores de risco para SAOS têm uma base genética conhecida ou suspeita e a descoberta dos marcadores genéticos é de extrema importância para sua prevenção e tratamento personalizado. O objetivo desse estudo foi avaliar a correlação entre alterações genéticas, fenótipos e dados clínicos que possam contribuir para o desenvolvimento da SAOS e propor um modelo preditivo para a síndrome. **Métodos:** Avaliamos dados polissonográficos, clínicos e genotípicos de duzentos e quarenta e dois pacientes, cento e oitenta e um casos e oitenta e um controles. As variantes genéticas: dos genes *PER3* (*rs228697*, *rs228727*, *rs228729* e *rs10462020*), *BDNF* (*rs6265*), *NRXN3* (*rs10146997*), *APOE* (*rs7412* e *rs429358*), *HCRTR2* (*rs2653349*), *MC4R* (*rs17782313*) foram genotipadas e analisadas no programa estatístico R (versão 3.6.3). **Resultados:** A média de idade dos participantes foi $51,48 \pm 14,29$, com predomínio do sexo masculino (57,02%) e a média de IMC foi $26,63 \pm 4,36$. A análise de associação entre os genótipos e a SAOS não evidenciou associação entre os polimorfismos *PER3* (*rs228697*, *rs228727* e *rs10462020*), *NRXN3* (*rs10146997*), *APOE* (*rs7412* e *rs429358*), *HCRTR2* (*rs2653349*) e *MC4R* (*rs17782313*) com SAOS. Entretanto, os polimorfismos do *BDNF* (*rs6265*) e do *PER3* (*rs228729*) mostraram associação significativa com SAOS ($p = 0,01317$ e $p = 0,000094$, respectivamente). No entanto, após ajuste para idade e IMC, *BDNF* (*rs6265*) e do *PER3* (*rs228729*) não continuaram mostrando associação significativa ($p = 0,06201$ e $p = 0,0659$, respectivamente). Um algoritmo proposto mostrou capacidade adequada para prever SAOS apresentando boa sensibilidade e especificidade. Para valores de pontos de corte crescentes de 0 a 1, obteve-se a curva ROC cuja área baixa foi de 79,4% (IC 95% 72,2% - 86,6%). O melhor valor de corte foi de 0,763 com sensibilidade de 71,6% e especificidade de 76,5%. **Conclusão:** O algoritmo gerado neste trabalho, o qual inclui dados de características sociodemográficas, clínicas e genéticas dos pacientes poderá ser aplicado à prática clínica e permitirá a estratificação de risco para a SAOS. A aplicabilidade desse algoritmo deve ser comprovada em estudos com maior número de pacientes e em diferentes etnias.

Palavras-chave: Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono, Polimorfismo de Um Único Nucleotídeo, Fenótipo, Estratificação de risco

ABSTRACT

Introduction: Obstructive sleep apnea syndrome is a common disorder associated with an increased risk of cardiovascular, metabolic diseases and mortality. Risk factors for OSAS have a known or suspected genetic basis and the discovery of genetic markers is extremely important for their prevention and personalized treatment. The aim of this study was to assess the correlation between genetic changes, phenotypes and clinical data that can contribute to the development of OSAS and propose a predictive model for OSAS. **Methods:** case-control study with two hundred and forty-two patients, one hundred and eighty-one cases and eighty-one controls included. Polysomnographic, clinical, and genotypic data for the *PER3* genes (*rs228697*, *rs228727*, *rs228729* and *rs10462020*), *BDNF* (*rs6265*), *NRXN3* (*rs10146997*), *APOE* (*rs7412* and *rs429358*), *HCRTR2* (*rs2653349*), *MC4R* (*rs17782313*) were analyzed (rs7) statistic R (version 3.6.3). **Results:** Two hundred and forty-two patients, 161 cases and 81 controls were included in the research. The average age of the participants was 51.48 ± 14.29 , with a male predominance (57.02%) and the average BMI was 26.63 ± 4.36 . The analysis of association between genotypes and OSAS did not show any association between the *PER3* (*rs228697*, *rs228727* and *rs10462020*) polymorphisms, *NRXN3* (*rs10146997*), *APOE* (*rs7412* and *rs429358*), *HCRTR2* (*rs2653349*) and *MC4R* (*rs17782313*) with SA. However, the *BDNF* (*rs6265*) and *PER3* (*rs228729*) polymorphisms showed a significant association with OSAS ($p = 0.01317$ and $p = 0.000094$, respectively). However, after adjusting for age and BMI, *BDNF* (*rs6265*) and *PER3* (*rs228729*) did not continue to show a significant association ($p = 0.06201$ and $p = 0.0659$, respectively). A proposed algorithm showed an adequate ability to predict OSAS with good sensitivity and specificity. For values of increasing cutoff points from 0 to 1, we obtained ROC curve whose low area was 79.4% (CI 95% 72.2% - 86.6%). The best cutoff value was 0.763 with sensitivity of 71.6% and specificity of 76.5%. **Conclusion:** The algorithm generated in this study, which includes data on sociodemographic, clinical, and genetic characteristics of patients, can be applied to clinical practice and will allow risk stratification for OSAS. The applicability of this algorithm must be proven in studies with a larger number of patients and in different ethnicities.

Keywords: Sleep Apnea, Obstructive, Polymorphism, Single Nucleotide, Phenotype, Risk stratification

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Sinais clínicos da SAOS.....	16
Figura 2	Paciente realizando polissonografia em laboratório do sono.....	20
Figura 3	Colapsibilidade da VAS em pacientes com SAOS.....	18
Figura 4	Principais fenótipos que causam apneia obstrutiva do sono e potenciais terapias direcionadas à pressão positiva não contínua das vias aéreas.....	25
Figura 5	Curva ROC para o modelo de regressão logística, baseado na definição de chance de ter SAOS.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios de diagnóstico para SAOS em adulto.....	19
Tabela 2. Padrões polissonográficos para manejo clínico.....	27
Tabela 3. Fenótipos intermediários e genes candidatos (fenótipo de baixo nível) para SAOS.....	29
Tabela 4. Genes candidatos a SAOS: localização, função, vias relacionadas e possível relação com a SAOS.....	41
Tabela 5. Genes candidatos para SAOS descritos na literatura.....	42
Tabela 6. Variáveis polissonográficas dos pacientes da amostra.....	52
Tabela 7. Variáveis clínicas de queixas de sono e morbidades dos participantes do estudo.....	53
Tabela 8. Dados odontológicos de todos os participantes do estudo.....	54
Tabela 9. Comparação entre casos e controles de todas as variáveis clínico-epidemiológicas, polissonográficas e odontológicas.....	57
Tabela 10. Associação entre polimorfismos dos genes <i>PER3</i> , <i>BDNF</i> , <i>APOE</i> , <i>NRXN3</i> , <i>HCRTR2</i> , <i>MC4R</i> e presença de SAOS.....	57
Tabela 11. Modelo de regressão logística para Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono.....	59

LISTA DE ABREVIACES

<i>5-HTR2A</i>	<i>5-Hydroxytryptamine Receptor 2A gene</i>
AMM	Avano maxilomandibular
AOs	Aparelhos orais
APAP	<i>Automatic positive airway pressure</i>
<i>BDNF</i>	<i>Brain derived neurotrophic factor gene</i>
BIPAP	<i>Bilevel Positive Pressure Airway</i>
CPAP	<i>Continuous Positive Airway Pressure</i>
<i>CRY1</i>	<i>Cryptochrome Circadian Regulator 1 gene</i>
DISE	<i>Drug-induced sleep endoscopy</i>
ECG	Eletrocardiograma
EEG	Eletroencefalograma
EMG	Eletromiograma
EOG	Eletrooculograma
IAH	ndice de apneia-hipopneia
IMC	ndice de massa corporal
LD	Limiar de despertar
MP	Monitores portáteis
<i>NPAS2</i>	<i>Neuronal PAS Domain Protein 2 gene</i>
NREM	<i>Non-rapid eye movement</i>

NSQ	Núcleo supraquiasmático
PAP	Pressão aérea positiva (<i>positive airway pressure</i>)
<i>PER3</i>	<i>Period Circadian Regulator 3 gene</i>
PSG	Polissonografia
REM	<i>Rapid eye movement</i>
RERA	<i>Respiratory Effort Related Arousal</i>
RP	Ronco primário
SDE	Sonolência diurna excessiva
SAOS	Síndrome da apneia obstrutiva do sono
TLMS	Teste de latência múltipla do sono
<i>TNFα</i>	<i>Tumor Necrosis Factor α gene</i>
UPFP	Uvulopalatofaringoplastia
VAS	Vias aéreas superiores

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Avaliação diagnóstica e classificação.....	15
1.2	Gerenciamento da SAOS: tratamento e acompanhamento.....	20
1.3	Fisiopatologia e fenotipagem dos pacientes.....	23
1.4	Fatores genéticos e genes candidatos.....	28
1.4.1	GENES <i>CLOCK</i>	30
1.4.2	<i>BDNF</i>	32
1.4.3	<i>MC4R</i>	34
1.4.4	<i>NRXR3</i>	36
1.4.5	<i>APOE</i>	37
1.4.6	<i>HCRTR2</i>	40
2	OBJETIVOS.....	46
3	MÉTODOS.....	47
4	RESULTADOS.....	52
5	DISCUSSÃO.....	61
6	CONCLUSÃO.....	68
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
8	APÊNDICES.....	100
9	ANEXOS.....	103

1. INTRODUÇÃO

A síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS) é um distúrbio respiratório do sono caracterizado pela obstrução das vias aéreas superiores (VAS) durante o sono, associado a sinais e sintomas clínicos (Epstein *et al.*, 2009). A SAOS pode acarretar diversas consequências, como sonolência diurna excessiva, função diurna prejudicada, disfunção metabólica e risco aumentado de doença cardiovascular e acidentes de veículos automotores (George, 2007; Parati *et al.*, 2007; Botros *et al.*, 2009; Punjabi, 2009; Strohl *et al.*, 2013).

A prevalência estimada da SAOS na América do Norte é de 20% a 30% nos homens e de 10% a 15% nas mulheres (Young *et al.*, 2009; Neelapu *et al.*, 2017). Na Ásia a prevalência é semelhante à dos Estados Unidos, provavelmente devido à anatomia craniofacial dos asiáticos (Dempsey *et al.*, 2010). No Brasil, um estudo realizado na grande São Paulo identificou uma prevalência média na população de 32% (Tufik *et al.*, 2010). Os estudos de prevalência mostram que a SAOS varia de acordo com a etnia (Larkin *et al.*, 2010), sendo mais prevalente em afro-americanos em comparação com caucasianos, independente do peso corporal (Ancoli-Israel *et al.*, 1995; Redline, Tishler, 2000), sugerindo que fatores genéticos e fenotípicos contribuam para a doença.

1.1 – Avaliação diagnóstica e classificação

Os critérios diagnósticos para SAOS são baseados nos sinais e sintomas clínicos determinados durante uma avaliação abrangente do sono, que inclui história e exame físico orientados para o sono e achados identificados pelo teste do sono. A avaliação clínica do paciente procura identificar queixas de sono agitado e não reparador, roncos, pausas respiratórias, despertares (com dispneia noturna ofegante ou paroxística), insônia, sonolência diurna excessiva ou fadiga. Avaliação das morbidades que podem

ocorrer como resultado da SAOS, incluindo hipertensão, acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, cor pulmonale, diminuição da vigilância diurna e acidentes com veículos automotores, também deve ser realizada (Epstein *et al.*, 2009).

No exame físico deve ser observado a presença de obesidade, sinais de estreitamento das VAS ou a presença de outros distúrbios que podem contribuir para o desenvolvimento ou consequências da SAOS. Características a serem avaliadas que podem sugerir a presença de SAOS incluem circunferência do pescoço aumentada (> 43 centímetros em homens, > 40 centímetros em mulheres), índice de massa corporal (IMC) > 30 kg / m², um escore de Mallampati modificado de 3 ou 4, presença de retrognatia, estreitamento peritonsilar lateral, macroglossia, hipertrofia amigdaliana, úvula alongada/aumentada, palato duro ogival/atrésico, anormalidades nasais (pólipos, desvio, anormalidades valvares, hipertrofia de cornetos) e/ou *overjet* acentuado (Figura 1) (Epstein *et al.*, 2009).

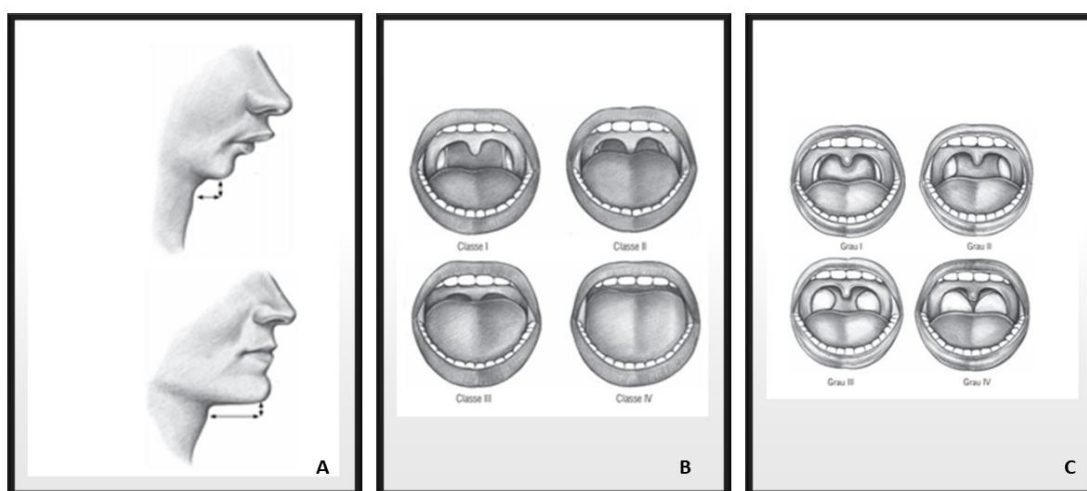


Figura 1: Sinais clínicos de SAOS. A- Retrognatia (retroposição mandibular), B- índice de Mallampati modificado, C- grau das tonsilas palatinas (Bittencourt, 2008).

Entretanto, nenhum modelo clínico é recomendado para prever a gravidade da apneia obstrutiva do sono, sendo necessários testes objetivos. Os dois métodos aceitos de teste objetivo são polissonografia em laboratório (PSG) (Figura 2) e teste caseiro

com monitores portáteis (MPs). A PSG é rotineiramente indicada para o diagnóstico de distúrbios respiratórios relacionados ao sono. Monitores portáteis (MPs) podem ser usados para diagnosticar SAOS em pacientes com alta probabilidade pré-teste de SAOS moderada a grave (Epstein *et al.*, 2009).



Figura 2: Paciente realizando polissonografia em laboratório do sono (Bittencourt, 2008).

O uso da PSG para avaliar a SAOS requer o registro dos seguintes sinais fisiológicos: eletroencefalograma (EEG), eletrooculograma (EOG), eletromiograma do queixo (EMG), fluxo aéreo, saturação de oxigênio, esforço respiratório, eletrocardiograma (ECG) ou frequência cardíaca, derivações do eletromiograma (EMG) de posição e perna. O estudo dispõe da presença constante de um indivíduo treinado para monitorar a adequação técnica, a conformidade e o comportamento do paciente (Epstein *et al.*, 2009).

Uma apneia é definida como uma interrupção completa ($> 90\%$) do fluxo de ar por > 10 segundos. Uma hipopneia é definida como uma obstrução parcial do fluxo de ar (30% ou mais), resultando em dessaturação de oxigênio de pelo menos 3% e/ou de um

despertar (Figura 3). O índice de apneia-hipopneia (IAH) é o número de apneias e/ou hipopneias por hora de sono (Berry *et al.*, 2012).

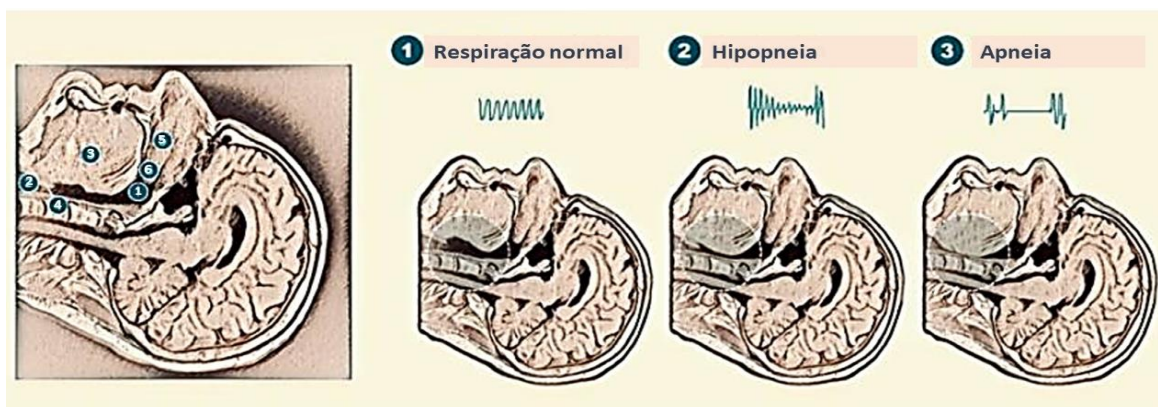


Figura 3: Colapsibilidade da VAS em pacientes com SAOS. Descrição anatômica da via aérea superior (esquerda); representação de (1) respiração normal: 1: faringe; 2: laringe; 3: músculo genioglosso; 4: epiglote; 5: palato duro; e 6: palato mole; (2) obstrução parcial das vias aéreas superiores (hipopneia); e (3) obstrução completa das vias aéreas superiores (apneia). (Mediano *et al.*, 2019)

A American Academy of Sleep Medicine (2014) descreve o ronco primário (RP), como ronco sem comorbidade médica, como vibrações audíveis das VAS durante a respiração no sono, o qual muitas vezes é confundido com a SAOS. Os pacientes com ronco primário ou habitual não apresentam apneias/hipopneias obstrutivas na PSG/MP, entretanto, o ronco é indicativo de maior resistência e maior colapsibilidade das VAS (Guilleminaut *et al.*, 1993). O ronco habitual ocorre em 44% dos homens e 28% das mulheres com idade entre 30 e 60 anos na população em geral (Young *et al.*, 1993). Para o diagnóstico do ronco não existem especificações de critérios de diagnóstico, como métricas acústicas e aspectos não acústicos. Consequentemente, o diagnóstico do RP é indistinto e os limites estão abertos à interpretação. Portanto, a investigação das definições operacionais utilizadas na prática de pesquisa é essencial (American Academy of Sleep Medicine, 2014).

Outros procedimentos de avaliação do sono incluem teste de latência múltipla do sono (TLMS) e actigrafia. O TLMS avalia sonolência excessiva diurna e não é rotineiramente indicado na avaliação diagnóstica da SAOS, mas pode ser solicitado para descartar narcolepsia (Littner *et al.*, 2005). A actigrafia isolada não é indicada para o diagnóstico de SAOS, mas pode ser um complemento útil para MPs ao determinar o padrão de atividade de repouso durante o período de teste (Morgenthaler *et al.*, 2007).

A avaliação da via aérea superior (VAS) por meio de imagens não é apenas para compreender a fisiopatologia do colapso da VAS, mas também para melhorar as taxas de sucesso do tratamento, selecionando a opção terapêutica mais apropriada para cada paciente. Dentre os exames de imagem da VAS para SAOS podemos citar nasofibrofaringoscopia de fibra ótica da VAS durante a vigília, endoscopia do sono induzida por drogas (*Drug-induced sleep endoscopy - DISE*) (Trudo *et al.*, 1998; Vroegop *et al.*, 2014; De Vito *et al.*, 2014.), teleradiografia com traçado cefalométrico, tomografia computadorizada, dinâmica de fluidos computacional (Vos *et al.*, 2007; Jeong *et al.*, 2007; De Backer *et al.*, 2007; Van Holsbeke *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2013) e ressonância magnética (Kastoer, 2018).

Resumidamente, de acordo com a Associação Brasileira de Medicina do Sono e a *American Academy of Sleep Medicine* o diagnóstico da SAOS no adulto requer a presença dos critérios A, B + D ou C + D (Tabela 1) (*American Academy of Sleep Medicine*, 2014; Haddad e Bittencourt, 2013).

Tabela 1: Critérios de diagnóstico para SAOS em adulto (Haddad e Bittencourt, 2013; *American Academy of Sleep Medicine*, 2014)

A. Presença de um ou mais dos seguintes itens:

1. Episódios de sono não intencionais durante a vigília, sonolência diurna excessiva (SDE), sono não reparador, fadiga ou insônia;
2. Acordar com pausas respiratórias, engasgos ou asfixia;
3. Companheiro(a) relata ronco alto e/ou pausas respiratórias durante o sono.

B. A polissonografia (PSG) ou MP demonstra:

1. Cinco ou mais eventos respiratórios predominantemente obstrutivos (apneias obstrutivas e mistas, hipopneias ou esforço respiratório relacionado ao despertar (*Respiratory Effort Related Arousal* - RERAs) por hora de sono durante um PSG ou por hora de monitoramento (MP).
2. Evidências de esforço respiratório durante todo ou parte de cada evento.

C. A PSG ou MP demonstra:

1. Quinze ou mais eventos respiratórios predominantemente obstrutivos (apneias, hipopneias ou RERAs) por hora de sono durante um PSG ou por hora de monitoramento (MP)
2. Evidência de esforço respiratório durante todo ou parte de cada evento

D. O distúrbio não pode ser mais bem explicado por outro distúrbio do sono, doenças médicas ou neurológicas, uso de medicações ou por uso de substâncias.

A gravidade da SAOS é classificada com base no IAH; SAOS leve (IAH 5-14,9 eventos/h sono), SAOS moderada (IAH 15-29,9 eventos/h sono) e SAOS grave (IAH ≥ 30 eventos/h sono) (American Academy of Sleep Medicine Task Force, 1999).

1.2 – Gerenciamento da SAOS: tratamento e acompanhamento

A SAOS deve ser abordada a longo prazo como uma doença crônica por uma equipe multidisciplinar. Várias modalidades de tratamento estão disponíveis (Epstein *et al.*, 2009). Os objetivos dos tratamentos são, além da eliminação dos eventos obstrutivos e da normalização da oxigenação sanguínea, melhorar outros indicadores como sonolência, qualidade de vida, satisfação do paciente e do cônjuge, adesão à terapia e obtenção de qualidade e quantidade adequada de sono (Epstein *et al.*, 2009).

O tratamento é abordado de maneira gradual, começando com alterações comportamentais, se aplicável (Thorpy, 2012). As opções de tratamento comportamental incluem perda de peso, idealmente para um IMC ≤ 25 kg/m² (Pevernagie *et al.*, 1995; Peppard *et al.*, 2000; Kushida *et al.*, 2005; Epstein *et al.*, 2009), terapia posicional (Pevernagie *et al.*; 1995, Morgenthaler *et al.*; 2006, Kastoer, 2018) e evitar álcool e sedativos antes de dormir.

O tratamento dos distúrbios respiratórios relacionados ao sono baseia-se principalmente na melhora da ventilação durante o sono (Thorpy, 2012). A pressão aérea positiva nas vias aéreas ou *positive airway pressure* (PAP) pode ser administrada nos modos contínuos *Continuous positive airway pressure* (CPAP), dois níveis (*Bilevel positive airway pressure* - BPAP) ou autotitulação (*Automatic Positive Airway Pressure* - APAP). A PAP aplicada através de uma interface nasal, oral ou oronasal durante o sono é o tratamento preferencial para SAOS (Gay *et al.*, 2006). A PSG realizada durante toda a noite no laboratório é a abordagem preferida para determinar o nível ideal de PAP (Kushida *et al.*, 2006; Morgenthaler *et al.*, 2007; Kushida *et al.*, 2008). A terapia com PAPs é segura; efeitos colaterais e eventos adversos são principalmente pequenos e reversíveis (Kushida *et al.*, 2006).

Aparelhos orais (AOs) podem melhorar a permeabilidade das VAS durante o sono, ampliando-as e/ou diminuindo a colapsibilidade das VAS por meio do avanço

mandibular e da estabilização da mandíbula e do hioide, reduzindo a obstrução da base da língua (Ferguson *et al.*, 2006; Giles *et al.*, 2006; De Backer *et al.*, 2007; Mogell *et al.*, 2019). Os AOs são indicados para ronco primário, SAOS leve a moderada, sendo aceitos como terapia para pacientes com SAOS grave que não respondem ou são incapazes ou não desejam tolerar terapias com PAP (Kushida *et al.*, 2006; Sutherland *et al.*, 2014; Ramar *et al.*, 2015; Mogell *et al.*, 2019). Efeitos colaterais (Sheats *et al.*, 2017) incluem principalmente dor na ATM, alterações oclusais, que podem ser transitórios (Epstein *et al.*, 2009; Sheats *et al.*, 2017).

Os primeiros métodos usados para tratar a SAOS foram cirúrgicos. Até 1981, antes da introdução do CPAP, a traqueostomia era a terapia padrão-ouro, realizada para contornar a via aérea. A uvulopalatofaringoplastia (UPFP) foi a primeira intervenção cirúrgica descrita na própria VAS (Fujita *et al.*, 1981) e envolve o encurtamento do palato com o fechamento das incisões da mucosa, geralmente em combinação com amigdalectomia (Littner *et al.*, 2001; Aurora, *et al.*, 2010). A cirurgia de avanço maxilomandibular (AMM) amplia e diminui a colapsibilidade das VAS, ao projetar cirurgicamente a maxila e a mandíbula por osteotomias mandibulares-maxilares e sagitais Le Fort I. O AMM pode melhorar os parâmetros de PSG comparáveis ao CPAP na maioria dos pacientes (Epstein *et al.*, 2009).

A cirurgia bariátrica é indicada em indivíduos com índice de massa corporal (IMC) $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ ou com IMC $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ com comorbidades importantes (SAGES Guidelines Committee, 2008, de Raaff, *et al.*, 2017). Na SAOS a cirurgia bariátrica deve ser considerada como adjuvante a terapias de primeira linha menos invasivas, como a PAP e pode alcançar uma taxa de remissão de 40%, mas requer acompanhamento clínico contínuo desses pacientes (Mechanick *et al.*, 2008; de Raaff *et al.*, 2017).

A terapia de neuroestimulação do nervo hipoglosso baseia-se na estimulação elétrica do nervo hipoglosso, que causa a protrusão da língua, sincronizada com a respiração (12º nervo craniano) (Safiruddin *et al.*, 2015) e estudos recentes têm mostrado boa efetividade (Strollo *et al.*, 2015). A terapia miofuncional consiste na adequação das estruturas e funções do sistema estomatognático, por meio de exercícios funcionais e musculares visando o aumento do tônus e mobilidade das estruturas orais e cervicais, que em pacientes apneicos podem estar comprometidas (Mezzanotte *et al.*, 1996; Guimarães, 2009; Ayappa e Rapoport 2013).

Às vezes é necessária uma abordagem adaptada ao paciente para otimizar a adesão, bem como a eficácia da terapia com SAOS. A terapia combinada pode ser muito útil para pacientes nos quais a SAOS é insuficientemente tratada com apenas uma terapia (Millman *et al.*, 1998; Dieltjens *et al.*, 2015; Vanderveken 2015, Kastoer 2018).

1.3 – Fisiopatologia e fenotipagem dos pacientes

A fisiopatologia da SAOS é complexa e, apesar dos progressos consideráveis ocorridos em sua compreensão (White, 2005), os caminhos fisiopatológicos precisos que levam à obstrução das VAS não são bem compreendidos (Dempsey *et al.*, 2010). Ademais, não existe uma técnica clinicamente disponível para medir as características fisiológicas que causam a SAOS (Wellman *et al.*, 2011).

A maioria dos pacientes com SAOS tem uma via aérea anatômica pequena, com ativação aumentada do músculo dilatador faríngeo, mantendo a patência das vias aéreas em vigília, mas não dormindo. No entanto, a variabilidade individual em várias características fenotípicas pode, em última instância, determinar o desenvolvimento e a gravidade da apneia. Essas incluem: (1) anatomia das vias aéreas superiores, (2) a capacidade dos músculos dilatadores das vias aéreas superiores em responder à pressão

negativa da via faríngea e aumento de CO₂ durante o sono, (3) limiar de excitação em resposta à estimulação respiratória e (4) *loop gain* (instabilidade do controle ventilatório). Como resultado, os pacientes podem responder a diferentes abordagens terapêuticas com base na anormalidade predominante que leva à desordem respiratória do sono (White, 2005).

Apesar da heterogeneidade e complexidade da SAOS, o diagnóstico, a avaliação da gravidade e o manejo da SAOS permanecem ligados a um único indicador, o índice de apneia e hipopneia (IAH) (*American Academy of Sleep Medicine*, 2014). Uma abordagem centrada no IAH, limita a compreensão dos fundamentos genéticos e biológicos do transtorno, bem como o entendimento dos modestos efeitos do tratamento até mesmo com o CPAP (Zinchuk *et al.*, 2017).

Uma forma de abordar esses desafios é classificar o transtorno em categorias menores e mais homogêneas, chamadas de “fenótipos”, que podem ser baseadas em características clínicas, patofisiológicas, celulares ou moleculares (Wenzel, 2012). Existem várias estratégias de fenotipagem, podendo ser clínica, com base em medidas como sinais, sintomas, dados demográficos, comorbidades, medidas fisiológicas e anatômicas ou responsividade ao tratamento, ou fenotipagem molecular que visa classificar os indivíduos com base em características moleculares, como proteínas, metabólitos e outros produtos biológicos (Zinchuk *et al.*, 2017).

As abordagens de fenotipagem fisiopatológica de múltiplos recursos (com métodos supervisionados) foram realizadas utilizando uma técnica de polissonografia modificada (Wellman, *et al.*, 2011; Eckert, *et al.*, 2013, Zinchuk *et al.*, 2017). Com essa abordagem verificou-se as quatro características fundamentais ou fenótipos que contribuem para a patogênese da SAOS (Eckert, 2018; Mukherjee *et al.*, 2018). Uma via aérea superior anatômica ou flexível é o determinante-chave (Isono *et al.*, 1997; Schwab *et al.*, 2003;

Kirkness *et al.*, 2008; Eckert, 2013; Eckert, Wellman, 2015; Neelapu *et al.*, 2016), mas SAOS é claramente muito mais do que apenas um problema anatômico (Eckert, 2013; Dempsey *et al.*, 2014). Outros traços, referidos como "fatores não anatômicos", como a função muscular ineficaz do músculo dilatador das VAS durante o sono (Eckert, 2013), controle respiratório instável (*loop gain* alto) (Eckert, Wellman, 2015), um baixo nível de excitação respiratória (Eckert, Wellman, 2015; Eckert, 2018) também são contribuintes importantes para a patogênese de SAOS. A contribuição relativa desses fenótipos, cada um dos quais é um alvo terapêutico (Figura 4), varia amplamente entre os pacientes (Eckert *et al.*, 2013; Eckert, Wellman, 2015).

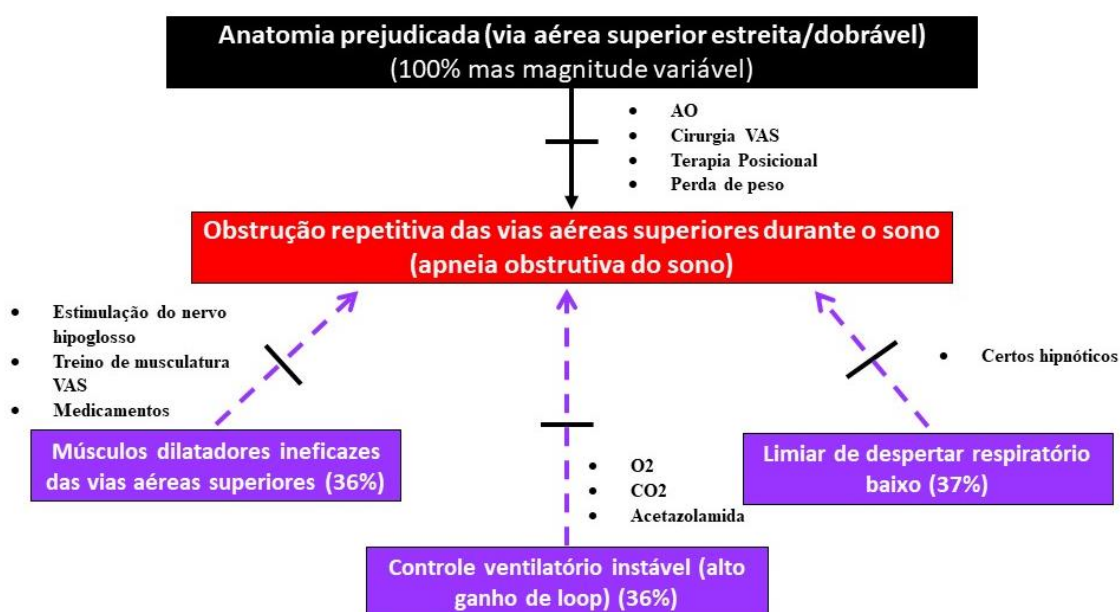


Figura 4: Principais fenótipos que causam apneia obstrutiva do sono e potenciais terapias direcionadas à não pressão positiva em vias aéreas (não PAP). AO = aparelho oral, VAS = via aérea superior (Adaptado de Eckert, 2018).

O procedimento de fenotipagem fisiopatológica da SAOS, não está disponível na rotina clínica. No entanto, a análise dos dados de uma revisão mostra que é possível usar os dados registrados em PSG/MPs para uma caracterização qualitativa de todos

esses traços, melhorando o manejo clínico de pacientes com SAOS (Bosi *et al.*, 2018) (Tabela 2).

A proporção de hipopneias versus apneias obstrutivas está associada à colapsabilidade faríngea avaliada sob condições ativas (pressão de colapso crítico ativo ou "Pcrit ativo") (Gleadhill *et al.*, 1991) (Tabela 2). Limiar de despertar (LD) que é definido como o nível de esforço respiratório em que os eventos obstrutivos terminam com um despertar do sono (Sands *et al.*, 2016) pode ser caracterizado por três parâmetros PSG/MP (Edwards *et al.*, 2014).

A sensibilidade do sistema de controle ventilatório pode ser quantificada como ganho do circuito de feedback de controle ventilatório (loop gain). Uma relação de loop gain alta indica um sistema de controle respiratório instável que é propenso a oscilações. Terril *et al.*, (2015) sugeriram um método de medição de LG com base na análise clínica de PSG onde a diferença entre o IAH-REM (índice de apneia/hipopneia em sono REM – *rapid eye movement*) e o IAH-NREM (índice de apneia/hipopneia em sono não REM – *non-rapid eye movement*) maior que 25 eventos está relacionada a um LG de >1.

A duração dos eventos respiratórios tem sido apontada como importante nas morbidades relacionadas a SAOS. A hipoxemia e a duração do evento podem representar características diferentes do estresse relacionado à SAOS, os quais podem contribuir para a mortalidade por vias independentes (Kulkas *et al.*, 2013; Muraja-Murro *et al.*, 2013, Butler *et al.*, 2019).

SAOS em REM pode influenciar o controle glicêmico a longo prazo, hipertensão, pressão arterial não-dipping (Mokhlesi *et al.*, 2014, Mokhlesi *et al.*, 2015, Conwell *et al.*, 2011) e efeitos hemodinâmicos periapneicos (especialmente durante o batimento

cardíaco após o evento obstrutivo) (Muraja-Murro *et al.*, 2017). Na posição supina as apneias são mais frequentes e mais longas e, em pacientes com IAH >30/h, predispõe a maiores taxas de risco de mortalidade cardiovascular e eventos cardiovasculares não fatais (Kulkas *et al.*, 2015). Além disso, na posição supina, a profundidade de dessaturação de oxigênio é mais severa em todos os graus de gravidade do IAH (Leppänen *et al.*, 2016).

Tabela 2. Padrões polissonográficos para manejo clínico. Utilização de dados polissonográficos para avaliação de fenótipos fisiopatológicos (Adaptado de Bosi *et al.*, 2018).

Tabela 2. Padrões polissonográficos para manejo clínico		
	Padrão	Significado clínico
Proporção apneia/hipopneia	Apneico: apneias obstrutivas representam pelo menos 90% do índice total de apneia-hipopneia Hipopneico: aqueles registrados com mais de cinco eventos/h no sono NREM e com mais de 90% dos eventos sendo hipopneia (Bosi <i>et al.</i> , 2018).	Alta colapsabilidade: Pcrit >2 cmH ₂ O Baixa colapsabilidade: níveis mais baixos (mais negativos) de Pcrit
Limiar de despertar (LD)	IAH de <30/h, associado ao nadir de oxigênio SpO ₂ >82% e com uma proporção de hipopneia:apneia > 58,3% (Edwards <i>et al.</i> , 2014).	2/3 destes escores predizem um baixo LD LD baixo: SRVAS: baixa colapsabilidade, faixa normal de IAH e RERAs (Pcrit < -2 cmH ₂ O) LD alto: dessaturações prolongadas e severas relacionadas a uma resposta ventilatória reduzida a um estímulo químico
Loop gain	IAH/REM – IAH/NREM (Terril <i>et al.</i> , 2015)	se for >25 ev.=LG>1 (alto) Instabilidade ventilatória
Duração dos eventos respiratórios/hipoxemia	Duração máxima de hipopneias e Sat. Min. causada por hipopneia (Otero <i>et al.</i> , 2012)	Maior informação sobre a condição do paciente que o IAH
SAOS em REM	IAH ≥5 geral e IAHREM:IAHNREM ≥2 (Conwell, <i>et al.</i> , 2011)	Maior risco de hipertensão

SAOS supina

IAH Supino isolado = IAH Supino: IAH >2 eventos/h
 IAH Supino predominate = IAH Supino: IAH >2 eventos/h IAHN Supino <5 eventos / h)
 (Joosten SA et al., 2012)

Alta colapsabilidade em supina

1.4 – Fatores genéticos e genes candidatos

Muitos dos fatores de risco estabelecidos (obesidade, distribuição de gordura corporal, morfologia craniofacial, controle neural dos músculos das VAS) têm uma base genética conhecida ou suspeita (Redline, Tishler, 2000; Mukherjee *et al.*, 2018).

Uma doença complexa, ou fenótipo de alto nível, pode ser considerada como determinada por vários fenótipos intermediários, que por sua vez são determinados por fenótipos de nível mais baixo. As manifestações como eventos de apneia/hipopneia e dessaturação de oxigênio são fenótipos de alto nível. Traços como a forma facial e da cabeça (Chi, *et al.*, 2014), quimiossensibilidade ventilatória, compensação de carga, atividade do sistema nervoso simpático, frouxidão do tecido conjuntivo, fadigabilidade muscular e obesidade central são fenótipos intermediários possíveis para a SAOS. Exemplos de fenótipos de baixo nível, a maioria dos quais são influenciados por genes específicos, incluem níveis hormonais (por exemplo, insulina, leptina) ou subtipos de receptores (por exemplo, receptores adrenérgicos serotoninérgicos e retinóicos). Os fenótipos intermediários e de baixo nível podem ser medidos e definidos mais facilmente do que um complexo. Produtos genéticos específicos podem influenciar mais diretamente os fenótipos de nível mais baixo do que os fenótipos de nível mais alto (Redline, Tishler, 2000).

Os fenótipos intermediários podem ajudar a vincular vias genéticas e biológicas à expressão clínica da SAOS e identificar fenótipos mais robustos passíveis de intervenções direcionadas. Dados de biomarcadores e genômicos podem ser

incorporados à medida que nossos conceitos de fenótipos da SAOS evoluam, permitindo o desenvolvimento de terapias personalizadas (Zinchuk *et al.*, 2017).

Estudos em animais demonstraram que os genes podem ser influentes em mais de um fenótipo da SAOS como o gene *Tumor Necrosis Factor α* (*TNF α*) que influencia obesidade e alterações craniofaciais (Redline, Tishler, 2000, Bowen *et al.*, 1996) (Tabela 3). Alterações não letais no controle genético de fatores de crescimento neural (*Brain derived neurotrophic factor gene - BDNF*) podem contribuir para as variações fenotípicas nas características ventilatórias (Redline, Tishler, 2000). A disfunção do sistema serotoninérgico também parece estar relacionada à SAOS; um estudo preliminar demonstrou associação entre o polimorfismo 1438G/A do gene *5-HTR2A* (*5-Hydroxytryptamine Receptor 2A*) e risco para a SAOS na população brasileira (de Carvalho *et al.*, 2013). Estudos em ratos sugerem que a deficiência de leptina provoca respostas ventilatórias deprimidas à hipercapnia (Redline, Tishler, 2000). Estudos têm demonstrado associações da SAOS e morbidades cardiovasculares com algumas variantes de genes clock (Andreas, Eichele, 2008; Burioka *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2017). A avaliação das diferenças raciais e étnicas na SAOS pode lançar luz sobre os mecanismos genéticos subjacentes para a doença. No Brasil verificou-se que a ancestralidade europeia aumenta o risco à SAOS, diferente de outros estudos que apontaram os afro-americanos como tendo um maior risco (Guindalini *et al.*, 2010). Porém, estudos complementares são necessários para confirmação desses achados em nossa população.

Tabela 3. Fenótipos intermediários e genes candidatos (fenótipo de baixo nível) para SAOS. Produtos genéticos específicos podem influenciar mais diretamente fenótipos de nível baixo do que fenótipos de nível alto (Adaptado de Redline, Tishler, 2000).

Fenótipos intermediários

Genes Candidatos

Obesidade	Receptor de leptina/leptina
	Pro-opiomelanocortina
	Fator de crescimento da insulina
	Glucocinase
	Adenosina desaminase
	Receptor de melanocortina-3
	Fator de necrose tumoral
	Proteína reguladora da glicose
	Proteína agouti e peptídeo relacionado com a proteína
	B-3 Receptor adrenérgico
Controle ventilatório	Orexina
	RET-proto-oncogene, receptor tirosina-quinase
	Fatores de crescimento neurotróficos (BDNF, GDNF)
	Endotelina-1
	Endotelina-3
	Krox-20
	Receptor de ácido retinóico
	Receptores de leptina/leptina
	Orexina (?)
	Dismorfismos craniofaciais
Receptores de hormônio do crescimento	
Receptores do fator de crescimento	
Receptor de ácido retinóico	
Endotelina-1	
Colágeno tipo I e II	
Fator de necrose tumoral	
Regulação do sono	Orexina
	Leptina

1.4.1- GENES CLOCK

A maioria das células, e talvez todas, abrigam um relógio circadiano que regula centenas de processos fisiológicos, variando da temperatura corporal e do ciclo vigília-sono até a concentração sérica de cortisol e melatonina. Todos os relógios operam usando um mecanismo molecular muito semelhante; eles se comunicam através de uma rede neuroendócrina complexa e ainda pouco compreendida (Albrecht, 2002; Gumz, 2014; Partch, 2014). Os genes do relógio circadiano que desempenham um papel

fundamental no controle circadiano de processos metabólicos chave são *Bmal1*, *Ckl1δ*, *Cklε*, *Clock*, *Cry1*, *Cry2*, *NPAS2*, *Per1*, *Per2*, *Per3*, *Rev-Erb-α*, *RORα* e *Timeless* (Partch, 2014).

O ritmo circadiano de vigília, pressão arterial, atividade simpática, biogênese e metabolismo de corticoides está severamente alterado em pacientes com SAOS. Dada a importância previamente esboçada dos genes clock na gênese do ritmo circadiano, a investigação da ativação do gene circadiano em pacientes com SAOS parece promissora (Burioka *et al.*, 2008).

Período regulador circadiano 3 (*PER3*) é um membro da família de genes *Period* e, em humanos, está localizado no cromossomo 1 (1p36.23). É expresso em um padrão circadiano no núcleo supraquiasmático (SCN), o marcapasso circadiano primário no cérebro dos mamíferos. Os genes dessa família codificam componentes dos ritmos circadianos da atividade locomotora, metabolismo e comportamento. *PER1* e *PER2* são necessários para a contagem do tempo molecular e a resposta à luz no relógio circadiano principal no núcleo supraquiasmático (NSQ) e *PER3* foi associado a ritmicidade circadiana e a homeostase do sono (Dijk & Archer, 2010).

Um estudo avaliou padrões de expressão diária dos nove genes do relógio circadiano em 133 pacientes com SAOS e 11 controles normais. As expressões de oito genes do relógio circadiano (exceto *PER1*) à meia-noite foram significativamente reduzidas em pacientes com SAOS grave. Esse estudo mostrou que as expressões combinadas de *CRY1* e *PER3* aumentaram a capacidade de prever SAOS grave (Yang, 2019).

Canales *et al.* (2019) encontrou associação entre SAOS e diminuição da expressão matinal dos genes clock, que são fundamentais para a regulação circadiana dos

processos homeostáticos diários. A expressão do *PER3* foi reduzida na SAOS e a expressão *PER1*, *NPAS2* e *REV-ERB- β* foi reduzida entre aqueles com hipoxemia noturna relacionada à SAOS.

1.4.2- *BDNF*

O gene *BDNF* codifica uma proteína encontrada no cérebro e na medula espinhal chamada fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês *Brain-derived neurotrophic factor*) (Jones e Reichardt, 1990). Essa proteína promove a sobrevivência das células nervosas (neurônios) (Barde *et al.*, 1982; Acheson *et al.*, 1995; Huang e Reichardt, 2001; Lee *et al.*, 2002), desempenhando um papel no crescimento (Acheson *et al.*, 1995; Huang e Reichardt, 2001; Katoh-Semba *et al.*, 2002), maturação (diferenciação) e manutenção dessas células.

O gene *BDNF* humano está localizado no cromossomo 11, região p13–14 e se estende por ~70 kb. O gene tem uma estrutura complexa, pois consiste em 11 exons (I-IX, mais Vh e VIIIh) na extremidade 5 e de nove promotores funcionais que são usados em tecidos e regiões cerebrais especificamente. Embora o gene do *BDNF* compreenda nove exons, a sequência codificadora reside no exon 9, com oito exons a montante que codificam promotores que regulam a expressão regional e específica para o tipo de célula. Entre estes, o exon IV foi o mais extensamente caracterizado, uma vez que este exon, contendo elementos promotores, regula a expressão do *BDNF* dependente da atividade (Metsis *et al.*, 1993; Timmusk *et al.*, 1993, Cattaneo *et al.*, 2016).

Uma multiplicidade de estímulos que alteram a expressão do gene do *BDNF* em estados fisiológicos e patológicos foi descrita (Lindholm *et al.*, 1994; Binder e Scharfman, 2004), como estímulos luminosos (Castrén *et al.*, 1992), estimulação osmótica (Castrén *et al.*, 1995; Dias *et al.*, 2003), estímulos elétricos no hipocampo

(Patterson *et al.*, 1992; Castrén *et al.*, 1993; Bramham *et al.*, 1996) e exercícios físicos (Neeper *et al.*, 1995).

O *BDNF* afeta os mecanismos que regulam o peso, o comportamento alimentar e o metabolismo (Nakagomi *et al.*, 2015; Akbarian *et al.*, 2018). Um estudo realizado em uma amostra populacional paquistanesa demonstrou que o polimorfismo do *BDNF* (*rs6265*) (den Dunnen *et al.*, 2016), na presença de obesidade pode estar associada a um risco elevado de características metabólicas, comportamentais e físicas anômalas e comorbidades relacionadas à obesidade (Rana *et al.*, 2018). Yüksekaya *et al.* (2016) investigaram a possível associação do polimorfismo do gene *BDNF rs6265 (196G/A)* e *rs8192466* com a obesidade e a SAOS. Foi encontrado que o genótipo *BDNF rs6265 (196G/A)* foi mais frequente entre os obesos em comparação aos não-obesos, mas não foi significativamente relacionado à SAOS. O genótipo *BDNF rs6265 (196G/G)* foi mais comum e o polimorfismo *BDNF rs6265 (196G/A)* foi menos comum em sujeitos com SAOS e sem obesidade em comparação com outros grupos. Portanto, o genótipo *BDNF rs6265 (196G/G)* pode ser útil para avaliar SAOS em pacientes não-obesos. O polimorfismo *rs8192466* do *BDNF* não foi detectado em nenhum sujeito incluído neste estudo.

Sugere-se que lesões neuromusculares contribuam para o colapso das VAS e a disfunção da deglutição em pacientes com SAOS. Um estudo investigou a expressão de duas importantes neurotrofinas, fator neurotrófico derivado do cérebro (*BDNF*) e fator de crescimento nervoso (*NGF*), em fibras musculares da úvula de pacientes roncoadores e SAOS. Os achados mostraram que o *BDNF*, mas não o *NGF*, foi significativamente aumentado em uma subpopulação de fibras musculares em pacientes com ronco e SAOS (Shah *et al.*, 2018).

A regulação do *BDNF* na SAOS e durante a terapia com CPAP em um ambiente clínico foi avaliada por Staats *et al.* (2005). Os pacientes com SAOS não tratada apresentam níveis séricos e plasmáticos normais de BDNF. O tratamento com CPAP foi associado a uma rápida diminuição dos níveis séricos e plasmáticos de BDNF, mas não a uma diminuição na secreção de BDNF, o que pode refletir uma maior demanda neuronal por BDNF nessa condição.

Sugere-se também que a proteína BDNF esteja intimamente associado à cognição. Wang *et al.* (2012) determinaram os níveis séricos da proteína BDNF em homens com SAOS de meia-idade e exploraram a relação do déficit cognitivo com a fragmentação do sono e a hipóxia/hipopneia. Os pacientes com SAOS reduziram significativamente os níveis séricos de BDNF em comparação com o grupo controle. Os autores inferiram que a hipóxia noturna, bem como a privação do sono de ondas lentas e do REM, pode levar à diminuição do nível sérico de BDNF nos pacientes com SAOS o que poderia contribuir para o comprometimento cognitivo na SAOS (Wang *et al.*, 2012). Flores e colaboradores (2020) também encontraram níveis alterados de BDNF em pacientes com SAOS, além disso, pacientes com SAOS que tiveram níveis mais elevados de BDNF também têm comprometimento neurocognitivo reduzido. A tratamento com CPAP melhorou o nível de comprometimento cognitivo. Os autores inferiram que os níveis de BDNF representam uma resposta neuroprotetora à hipóxia intermitente em pacientes com SAOS (Flores *et al.*, 2020).

1.4.3- MC4R

As melanocortinas são neuropéptidos derivados da poliproteína pró-opiomelanocortina (POMC). Após clivagem proteolítica da POMC formam-se as várias melanocortinas, nomeadamente a hormona adrenocorticotrópica (ACTH) e as hormonas alfa, beta e gama estimuladora de melanócitos (MSH) (Jacobowitz e O'Donohue, 1978).

Ao nível da periferia celular estes neuropeptídios são reconhecidos por cinco receptores das melanocortinas (MCRs), classificados de 1 até 5 (MC1R-MC5R) (Tan *et al.*, 2004). Os MCRs pertencem à família dos receptores com sete domínios membranares associados às proteínas Gs (GPCRs). Os MCRs diferem entre si na distribuição tecidual e na afinidade de ligação às diferentes melanocortinas e antagonistas (Getting, 2006).

O *MC4R* é vastamente expresso no SNC, nomeadamente no hipotálamo, hipocampo, tálamo e medula espinhal (Mountjoy e Wild, 1998) e está envolvido na regulação da homeostasia energética, no aumento da ingestão alimentar, obesidade severa, hiperinsulinemia e hiperleptinemia, na regulação da função erétil e dor (Huszar *et al.*, 1997; Martin e MacIntyre, 2004; Tao, 2010).

O receptor de melanocortina 4 é uma proteína que em humanos é codificada pelo gene *MC4R* (Magenis, 1994), localizado no cromossomo 18q21.32 (Magenis *et al.*, 1994; Sundaramurthy *et al.*, 1998). Variantes comuns próximas ao *MC4R* estão associadas à massa gorda, peso, risco de obesidade e resistência à insulina (Loos *et al.*, 2008; Chambers *et al.*, 2008). Entre suas vias relacionadas estão a via antipsicótica, farmacodinâmica e receptores de ligação a ligantes peptídicos (Czerwensky, *et al.*, 2013).

Formas monogênicas de obesidade podem resultar de interrupções na via da leptina-melanocortina. As causas mais comuns são aquelas associadas a mutações no receptor de melanocortina-4 (*MC4R*). São encontrados em 2,5% das crianças com obesidade de início precoce e em 6% dos adultos obesos (Farooqi *et al.*, 2005). O *MC4R* é expresso em grande parte no hipotálamo e está intimamente envolvido na regulação do apetite, nas funções autonômicas e endócrinas e na resistência à insulina.

Apneia obstrutiva do sono é uma das consequências deletérias da obesidade. No entanto, a associação de deficiência do *MC4R* e SAOS é pouco conhecida. Considerando a prevalência de mutações no gene *MC4R*, é possível que a associação com SAOS esteja sub relatada, uma vez que o teste genético para *MC4R* raramente é realizado nesses pacientes (Pillai *et al.*, 2014).

Um relato de caso de criança com obesidade aos 23 meses de idade mostrou através de sequenciamento de DNA dos genes envolvidos na obesidade de início precoce mutações homozigotas do gene *MC4R* (Pro299his). Notavelmente, não houve mutações no gene do receptor de leptina. A polissonografia durante a noite foi significativa para SAOS grave (IAH 36 eventos/h e saturação de oxigênio de 50%). Os autores concluíram que esta obesidade precoce pode não apenas estar ligada apenas à SAOS, mas também pode sugerir uma mutação específica no gene *MC4R*. Finalmente, sugeriram que pesquisas futuras possam fornecer mais informações sobre as possíveis associações entre *MC4R* e SAOS (Pillai *et al.*, 2014).

1.4.4- *NRXN3*

Neurexin-3-alfa é uma proteína que em humanos é codificada pelo gene *NRXN3*, localizado no cromossomo 14q24.3-q31.1. As neurexinas são uma família de proteínas que funcionam no sistema nervoso dos vertebrados como moléculas de adesão celular e receptores. Eles são codificados por vários genes não ligados, dos quais dois, *NRXN1* e *NRXN3*, estão entre os maiores genes humanos conhecidos (Rowen, 2002).

Entre suas vias relacionadas estão a transmissão através de sinapses químicas e moléculas de adesão celular (CAMs). Pensa-se que o gene *NRXN3* esteja envolvido na plasticidade sináptica, sendo que alguns polimorfismos foram vinculados à predisposição genética para uma série de condições, como autismo (Yuan *et al.*, 2018),

dependência de álcool ou drogas (Hishimoto A *et al.*, 2007; Stoltenberg SF *et al.*, 2011), obesidade (Graff *et al.*, 2016), circunferência abdominal (Heard-Costa *et al.*, 2009), IMC, esclerose lateral amiotrófica, velocidade do fluxo sanguíneo e pressão arterial (Sung *et al.*, 2015).

A gordura abdominal central é um forte fator de risco para diabetes, doenças cardiovasculares e SAOS (Polesel *et al.*, 2015; Bouloukaki *et al.*, 2019). Para identificar variantes comuns que influenciam a gordura abdominal central, foi realizada uma análise de associação em dois estágios em todo o genoma para a circunferência da cintura (CC). Os autores concluíram que variantes comuns no *NRXN3* estão associadas à CC, IMC e obesidade (Heard-Costa *et al.*, 2009).

Sabe-se que a duração mais curta do sono predispõe à obesidade (Itani *et al.*, 2017). Um estudo investigou se a associação é modulada pelos genes da obesidade *FTO*, *TMEM18* e *NRXN3*. Foram testados três polimorfismos (SNPs), ou seja, *FTO* (*rs9939609*), *TMEM 18* (*rs4854344*) e *NRXN3* (*rs10146997*), bem como para sua combinação. Os autores concluíram que aos 7 anos de idade, variações comuns no *FTO*, *TMEM18* e *NRXN3* influenciam a vulnerabilidade a complicações metabólicas da privação do sono (Prats-Puig *et al.*, 2013).

1.4.5- APOE

Inicialmente chamada “proteína rica em arginina”, a apolipoproteína E (apoE) foi identificada associada a partículas de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL - “Very Low Density Lipoprotein”) ricas em éster de colesterol (Shore & Shore, 1974). Sua expressão em diferentes órgãos e tecidos sugere que a apoE participa de outros processos biológicos além daqueles relacionados ao transporte de lipídeos e regulação da homeostase do colesterol plasmático. Muitos estudos têm relacionado a apoE à

imunidade inata, ao funcionamento cerebral normal e a inúmeras doenças neurodegenerativas (Orth & Bellosta, 2012).

O gene *APOE* fornece instruções para produzir a proteína apolipoproteína E. A localização citogenética desse gene é 19q13.32. Existem pelo menos três versões ligeiramente diferentes (alelos) do gene *APOE*, chamados de $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$. O alelo mais comum é o $\epsilon 3$, encontrado em mais da metade da população em geral (Mahley, 1988).

O estudo *Cleveland Family Study* encontrou evidências sugestivas de ligação ao IAH em uma região do cromossomo 19 que inclui o gene *APOE* (Palmer *et al.*, 2003). Larkin *et al.*, (2006), relataram que evidências sugerem que existe um locus de suscetibilidade à SAOS na região de *APOE*, mas é improvável que o próprio *APOE* seja o locus causador. Gottlieb *et al.* (2004) encontraram associação entre o alelo *APOE* $\epsilon 4$ ao aumento do risco de SAOS, principalmente em indivíduos com menos de 65 anos. Os autores relataram, contudo, que os mecanismos subjacentes a essa associação são incertos.

Entretanto, nem todos os estudos encontraram essa associação (Saarelainen *et al.*, 1998). Thakre *et al.* (2009) realizam uma meta-análise resumindo as evidências de uma associação entre *APOE* $\epsilon 4$ e SAOS. Uma revisão sistemática realizada por Xu *et al.* (2015) não evidenciou que os alelos *APOE* $\epsilon 2$ e $\epsilon 4$ têm associações significativas com a suscetibilidade da SAOS. Entretanto, uma meta-análise de estudos de associação genética para agrupar genes suscetíveis a SAOS na população chinesa, demonstrou que o gene *APOE* estava associado a um risco de SAOS (Sun *et al.*, 2015). Já outra meta-análise da associação entre variantes haplotípicas do gene da apolipoproteína E (*APOE*) (" $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ ") e SAOS não detectou associação entre *APOE* " $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ " e susceptibilidade à SAOS (Lu *et al.*, 2016).

Um estudo avaliou as frequências de alelos, genótipos e haplótipos em vários polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) na região de *APOE* e testou sua associação com o status da SAOS em crianças. A comparação das frequências de alelos e genótipos entre os casos (n = 92) e controles (n = 92) revelou diferenças significativas para os SNPs *rs405509* e *rs7412*. Os autores concluíram que polimorfismos envolvendo mais de um *locus* no gene *APOE* e sua região reguladora estão associados à SAOS em crianças (Kalra *et al.*, 2008).

Kripke *et al.* (2010) avaliaram várias associações candidatas de SNPs com distúrbios do sono. Trezentos e sessenta participantes passaram por polissonografia e dez polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) foram genotipados. As previsões de que o *TNFA* *rs1800629* e os *APOE* SNPs *rs405509* e *rs429358* estariam associados ao IAH ou ao escore global de apneia não foram confirmadas.

Pacientes foram genotipados após uma PSG, de grande amostra populacional do Estudo Epidemiológico do Sono de São Paulo. O estudo demonstrou que os polimorfismos do *APOE* podem modular os efeitos da hipóxia intermitente e da fragmentação do sono na arquitetura do sono de pacientes com SAOS, e que a presença do alelo $\epsilon 2$ pode servir como um marcador biológico para a identificação de um subgrupo de pacientes com maior probabilidade de sofrer com efeitos prejudiciais da SAOS no sono (Pellegrino *et al.*, 2011).

Um estudo de caso-controle investigou se as variações no gene *APOE- ϵ* estavam associadas a alterações craniofaciais, IAH e IMC em pacientes com SAOS. Os polimorfismos que definem o alelo *APOE- $\epsilon 1-4$* (SNPs) *rs429358* e *rs7412* foram genotipados. Não houve associação do alelo *APOE- $\epsilon 4$* com o perfil facial entre esses pacientes com SAOS. Entretanto, os autores alertaram que em relação à pesquisa

genética, esse estudo está com pouca força devido ao pequeno tamanho da amostra (Roedig *et al.*, 2014).

Uyrum *et al.*, (2015) investigaram os alelos *APOE* como fator de risco genético na SAOS. Comparados aos indivíduos sem alelos *APOE2* (*E3/E3*, *E3/E4*), os indivíduos com pelo menos um alelo *APOE2* (*E2/E3*, *E2/E4*) apresentaram um risco 9,37 vezes maior de SAOS. Os indivíduos com alelos *APOE2* (*E2/E3*, *E2/E4*) comparados aos indivíduos com apenas um genótipo *E3/E3* apresentaram um risco 10 vezes maior de SAOS. Os autores concluíram que os genótipos específicos de *APOE* estão associados à SAOS em uma população de alto risco, ou seja, aqueles com sinais e sintomas de SAOS.

1.4.6- *HCRTR2*

Orexina, também chamada hipocretina, é um neurotransmissor que regula a excitação, vigília e apetite. Hipocretina-1 e -2 (também conhecidas como orexina-A e B) são processadas a partir de um precursor comum, a pré-pró-hipocretina (também conhecida como pré-pró-orexina), que é codificada pelo gene precursor de neuropeptídeo da hipocretina (*HCRT*) (Sakurai *et al.*, 1998; De Lecea *et al.*, 1998). Um estudo descreveu as orexinas como ligantes de dois receptores acoplados à proteína G: Hcrtr1 e Hcrtr2. (Sakurai *et al.*, 1998).

O receptor de orexina tipo 2 (Ox2R ou OX2), também conhecido como receptor de hipocretina tipo 2 (Hcrtr2), é uma proteína que em humanos é codificada pelo gene *HCRTR2*. As doenças associadas ao gene *HCRTR2* incluem dor de cabeça em cluster e distúrbio do sono (Rainero *et al.*, 2004). As anotações da Ontologia Genética (GO) relacionadas a esse gene incluem a atividade do receptor acoplado à proteína G e a ligação ao hormônio peptídico (Sakurai *et al.*, 1998; Gaudet *et al.*, 2011).

Os peptídeos do sistema hipocretina/orexina têm efeitos em uma ampla gama de processos fisiológicos e comportamentais, como regulação da alimentação e do sono, tônus muscular e funções autonômicas e neuroendócrinas, que podem ser relevantes para a patogênese da SAOS. Além disso, a proximidade dos neurônios do sistema hipocretina/orexina aos centros de controle respiratório facilita possíveis interações entre a excitação e os sistemas respiratórios (Ahmed, *et al.*, 2012).

Níveis plasmáticos de orexina-A foram maiores nos pacientes com SAOS comparados aos controles e uma correlação positiva, mas fraca, com o índice de despertar e o IAH (Igarashi *et al.*, 2003). Baixos níveis plasmáticos de orexina-A foram aumentados pelo tratamento com nCPAP em pacientes com SAOS grave, sugerindo que a orexina-A é um marcador de plasma que reflete a gravidade da SAOS e a resposta ao tratamento (Sakurai *et al.*, 2005). Peever *et al.*, (2003) demonstraram que a atividade do genioglosso foi aumentada pela injeção intracerebroventricular (ICV) de orexina, portanto reduções na orexina podem contribuir para a supressão da atividade do dilatador das VAS, o que pode facilitar a SAOS.

A Tabela 4 resume as informações relativas aos genes selecionados nesta pesquisa quanto a localização, função, vias relacionadas e possíveis relações com a SAOS encontradas em estudos prévios.

Tabela 4. Genes candidatos a SAOS: localização, função, vias relacionadas e possível relação com a SAOS

GENE	LOCALIZAÇÃO	FUNÇÃO	VIAS	RELAÇÃO DE RISCO COM SAOS
<i>PER3</i>	1p36.23	Regulação circadiana da expressão gênica, regulação ciclo vigília/sono, resposta ao estímulo da luz, arrastamento do relógio circadiano por fotoperíodo	Ritmo circadiano e o metabolismo e efeitos da melatonina	Alteração circadiana

<i>MC4R</i>	18q21.32	Desempenha um papel central na homeostase energética e no crescimento somático.	Sinalização por GPCR e os receptores de ligação ao ligante peptídico	Obesidade, ingestão alimentar, hiperinsulinemia, hiperleptinemia
<i>BDNF</i>	11p14.1	Promove a sobrevivência das células nervosas (neurônios), desempenhando um papel no crescimento, maturação (diferenciação) e manutenção dessas células.	Vias apoptóticas em fibroblastos sinoviais, caminho GPCR, sinalização ERK, Nanog em mamífero pluripotência ESC, caminho CREB	Obesidade e Atividade muscular da VAS
<i>APOE</i>	19q13.32	Essencial para o catabolismo normal dos constituintes da lipoproteína rica em triglicerídeos, transporte de lipídios mediado por lipoproteínas entre órgãos através do plasma e fluidos intersticiais	Caminho da estatina, metabolismo de lipoproteína, metabolismo de vitaminas solúveis em gordura, metabolismo de glicose/energia, neurociência.	Hipóxia e fragmentação do sono, alteração craniofacial
<i>NRXN3</i>	14q24.3-q31.1	Codifica a proteína de superfície celular neuronal que pode estar envolvida no reconhecimento e adesão celular. Pode mediar a sinalização intracelular.	Interações proteína-proteína nas sinapses, moléculas de adesão celular (CAMs), distrofia musculares e complexo distrofia-glicoproteína, transmissão através de sinapses químicas	Obesidade
<i>HCRTR2</i>	6p12.1	Regulação da alimentação e do sono, tônus muscular e funções autonômicas e neuroendócrinas	Receptores de ligação a ligante peptídico, Sinalização por GPCR, sinalização RET, genes relacionados ao ritmo circadiano	Índice de despertar e IAH, atividade muscular da VAS

Os principais trabalhos publicados envolvendo esses genes acima citados e SAOS estão sumarizados na Tabela 5.

Tabela 5. Genes candidatos para SAOS descritos na literatura

GENES CANDIDATOS	FENÓTIPOS INTERMEDIÁRIOS	AUTOR
<i>PER3</i>	Expressão de CRY e PER3 ajuda a prever SAOS grave	Yang, 2019

	Expressão do <i>PER3</i> foi reduzida na SAOS	Canales <i>et al.</i> , 2019
BDNF	O tratamento com CPAP foi associado a uma rápida diminuição dos níveis séricos e plasmáticos de BDNF, mas não a uma diminuição na sua secreção	Staats <i>et al.</i> , 2005
	Pacientes com SAOS reduziram significativamente os níveis séricos de BDNF	Wang <i>et al.</i> , 2012
	<i>BDNF rs6265 (196G/G)</i> pode ser usado para descobrir SAOS em pacientes não-obesos	Yüksekkaya <i>et al.</i> , 2016
	<i>BDNF</i> foi significativamente aumentado em uma subpopulação de fibras musculares em pacientes com ronco e SAOS	Shah <i>et al.</i> , 2019
MC4R	Relato de caso mutação no <i>MC4R</i> em obesidade precoce e SAOS	Pillai <i>et al.</i> , 2014
NRXN3	<i>NRXN3</i> estão associadas à CC, IMC e obesidade	Heard-Costa <i>et al.</i> , 2009
	Variações comuns no <i>FTO</i> , <i>TMEM18</i> e <i>NRXN3</i> influenciam a vulnerabilidade a complicações metabólicas da privação do sono	Prats-Puig <i>et al.</i> , 2013
APOE	Não encontrou associação do <i>APOE</i> com SAOS	Saarelainen <i>et al.</i> , 1998
	Cleveland Family Study encontrou evidências sugestivas de ligação ao IAH em uma região do cromossomo 19 que inclui o gene <i>APOE</i>	Palmer <i>et al.</i> , 2003
	Associação entre o alelo <i>APOE ε4</i> ao aumento do risco de SAOS	Gottlieb <i>et al.</i> , 2004
	Polimorfismos envolvendo mais de um locus no gene <i>APOE (rs405509 e rs7412)</i> e sua região reguladora estão associados à SAOS em crianças	Kalra <i>et al.</i> , 2008
	Meta-análise resumindo as evidências de uma associação entre <i>APOE ε4</i> e SAOS	Thakre <i>et al.</i> , 2009
	<i>APOE rs405509 e rs429358</i> não estão associados a SAOS	Kripke <i>et al.</i> , 2010

	<i>APOE</i> pode modular os efeitos da hipóxia intermitente e da fragmentação do sono na arquitetura do sono de pacientes com SAOS	Pellegrino <i>et al.</i> , 2011
	Não houve associação do alelo <i>APOE-ε4</i> com o perfil facial entre esses pacientes com SAOS.	Roedig <i>et al.</i> , 2014
	Revisão sistemática não evidenciou que os alelos <i>APOE ε2</i> e <i>ε4</i> e SAOS	Xu <i>et al.</i> , 2015
	Meta-análise encontrou associação entre <i>APOE</i> e SAOS	Sun <i>et al.</i> , 2015
	Genótipos específicos de <i>APOE</i> estão associados à SAOS	Uyrum <i>et al.</i> , 2015
	Meta-análise não encontrou associação entre <i>APOE ε2/ε3/ε4</i> e SAOS	Lu <i>et al.</i> , 2016
	Níveis plasmáticos de orexina-A maiores nos pacientes com SAOS	Igarashi <i>et al.</i> , 2003
HCRTR2	Reduções na orexina podem contribuir para a supressão da atividade do dilatador das VAS e facilitar a SAOS.	Peever, <i>et al.</i> , 2003
	Orexina-A é um marcador de plasma que reflete a gravidade da SAOS e a resposta ao tratamento	Sakurai <i>et al.</i> , 2005

Apesar dos desafios em estudar uma característica intrinsecamente complexa, há evidências crescentes de estudos clínicos e epidemiológicos de que fatores genéticos influenciam significativamente a expressão da SAOS (Redline *et al.*, 1997b). Numerosos genes foram identificados em roedores que influenciam a expressão ou regulação de proteínas ou receptores que podem ser considerados fenótipos de baixo nível para a SAOS (Redline S; Tishler, 2000). Embora uma base genética significativa para o distúrbio seja apoiada por estudos familiares e análises emergentes de associação

de genes candidatos, os estudos moleculares da genética da SAOS têm sido inferiores aos de outras doenças crônicas (Liang *et al.*, 2016). A identificação dos genes associados aos fenótipos intermediários “anatômicos”, (alterações craniofaciais e obesidade) e “não anatômicos” (função muscular ineficaz dos músculos dilatadores das VAS, *loop gain* alto, baixo limiar de despertar), bem como aos aspectos clínicos do paciente nos permitirá determinar a fisiopatologia desse distúrbio e fornecerá indicadores importantes para seu diagnóstico precoce, prevenção e intervenção terapêutica melhor direcionada. Dessa forma, o presente estudo visa contribuir para detecção de alterações genéticas em genes que possam estar correlacionados aos dados clínicos e ao desenvolvimento de cada fenótipo de pacientes diagnosticados com SAOS para propor um possível modelo preditivo a ser aplicado à prática clínica e permitirá a estratificação de risco para a SAOS. A descoberta desses marcadores genotípicos é de extrema importância para detecção precoce da doença, bem como sua prevenção e tratamento personalizado dessa patologia.

2. OBJETIVO

Avaliar a correlação entre alterações genéticas, fenótipos e dados clínicos que possam contribuir para o desenvolvimento da SAOS. Para isso, foram considerados os seguintes objetivos específicos:

- 2.1. Avaliar a influência de características sociodemográficas, polissonográficas e clínicas na manifestação da Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono (SAOS);
- 2.2. Caracterizar a contribuição genética dos polimorfismos dos genes *CLOCK (PER3)*, *BDNF*, *MC4R*, *NRXN3*, *APOE*, *HCRTR2*, na manifestação da SAOS;
- 2.3. Propor um modelo preditivo para a SAOS baseado em características sociodemográficas, clínicas e genéticas dos pacientes.

3. MÉTODO

3.1 Desenho de estudo

Foi realizado um estudo caso-controle, com pacientes selecionados em clínica médica-odontológica em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Os participantes do estudo foram divididos em dois grupos: 161 pacientes diagnosticados com SAOS (grupo caso) e 81 pacientes sem SAOS (grupo controle).

3.2 Coleta de dados

O material da pesquisa consistiu em amostras de sangue periférico, amostras de saliva, além de informações clínicas e polissonográficas obtidas de prontuários médicos e odontológicos entre agosto de 2018 e janeiro de 2020. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (2.980.453) e todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1 e Anexo 2).

3.3 Participantes

Todos os participantes, casos e controles, necessitavam ter exames basais de polissonografia como meio de diagnóstico da SAOS. Foram utilizados os seguintes critérios de elegibilidade:

Critérios de inclusão para o grupo caso

1. Para diagnóstico da SAOS foram usados os critérios da *American Academy of Sleep Medicine* (*American Academy of Sleep Medicine*, 2014).
2. Ausência de dismorfismo craniofacial, síndromes genéticas, dependência de drogas, alcoolismo, transtornos psiquiátricos e demência.
3. Idade de 18 a 85 anos.

4. Índice de massa corporal (IMC) ≤ 35 kg/m².

Crêterios de inclusão para o grupo controle

Os pacientes do grupo controle foram selecionados com os mesmos critérios de inclusão do grupo caso, a diferença foi somente em rela o ao diagnóstico da SAOS (*American Academy of Sleep Medicine*, 2014) que para os controles o IAH deveria estar com <5 eventos/hora.

3.4 Investiga o molecular

DNA gen mico foi extraído a partir de amostras de sangue ou de saliva de acordo com a disponibilidade para coleta por parte do paciente. As amostras dos casos e controles foram analisadas juntas no mesmo lote sem que o pesquisador soubesse quem eram casos ou controles.

DNA gen mico foi extraído de leucócitos do plasma de alguns participantes do estudo pelo método de concentra o salina de Lahiri e Nurnberger (Lahiri, Nurnberger, 1991). A quantifica o foi realizada utilizando-se espectrofot metro e as dilui es realizadas para a obten o de uma concentra o final em torno de 60 ng/ μ L.

Os participantes que preferiram fazer a coleta por meio de swab bucal foram orientados a bochechar previamente com 100 ml de água destilada e a coleta foi realizada raspando a face interna das bochechas com pequenas escovas citológicas estéreis, por aproximadamente 2 minutos de cada lado; as escovas foram introduzidas em microtubos. As amostras colhidas foram armazenadas em geladeira por período de 2 a 30 dias antes da extra o.

O DNA gen mico foi extraído das células epiteliais bucais seguindo o protocolo adaptado de Aidar e Line (2007). Todos os materiais utilizados eram esterilizados e livres de DNase/RNase. Após incuba o, os tubos com amostras coletadas foram

centrifugados em velocidade máxima da centrífuga por 3 minutos e descartado o sobrenadante. Em seguida, foi acrescentado 1ml de Tampão de Lise (Tris HCl 10mM pH 8; EDTA 5mM; SDS 0,5%, H₂O) e resfriados a -20°C por 20 minutos. Após esse período, foi acrescentado 30 µL de Proteinase K, e mantido em banho maria a 56°C durante 3 horas. Após o período de incubação foi acrescentado mais 500µl de Acetato de Amônio 10M, vortexado, centrifugado a 12.000 rpm, deixado em temperatura ambiente, durante 15 minutos. Posteriormente, foi coletado o sobrenadante em novo tubo de 1,5ml, acrescentado Isopropanol Absoluto gelado, homogeneizada a amostra e centrifugada a 12.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e adicionado 1ml de Etanol 70%, centrifugado a 12.000 rpm por 15 minutos, descartado o sobrenadante e deixado o pellet secar. O DNA foi ressuspenso em 100 µL de Tampão Tris EDTA. A Quantificação do DNA foi realizada em NanoDrop, anotadas as concentrações e relação A280/A260 considerando adequada >1,80.

A discriminação genotípica de variantes do gene *PER3* (*rs228697*, *rs228727*, *rs228729* e *rs10462020*) *BDNF* (*rs6265*), *NRXN3* (*rs10146997*), *APOE* (*rs7412* e *rs429358*), *HCRTR2* (*rs2653349*), *MC4R* (*rs17782313*) foi realizada através de PCR-Real Time no modo de discriminação de alelos, no equipamento Stratagene Mx3005, (MxPro QPCR System, 2007 Software, La Jolla, CA), utilizando TaqMan.

3.5 Variáveis

3.5.1 Sociodemográficas

As variáveis sociodemográficas e antropométricas foram sexo, idade (WHO, 1996), altura, peso e IMC (WHO,1995). O IMC foi limitado a ≤ 35 kg/m² e a idade para <85 anos, para evitar aumento nos níveis de IAH.

3.5.2 Polissonográficas

As variáveis polissonográficas foram coletadas das polissonografias dos integrantes do estudo, realizadas durante uma noite inteira em laboratórios do sono indicados pelos médicos dos participantes. As variáveis polissonográficas avaliadas foram: IAH (Epstein *et al.*, 2009), proporção de apneias, proporção de hipopneias, IAH em REM, IAH em NREM, IAH posicional, tempo médio de apneia/hipopneia, saturação mínima, tempo abaixo de 90% de saturação de oxigênio, índice de dessaturação, limiar de despertar (Bosi *et al.*, 2018). Limiar de despertar foi calculado com parâmetros da PSG de acordo com os estudos de Edwards *et al.*, (2014).

3.5.3 Clínicas

As variáveis clínicas foram coletadas de prontuários médicos e odontológicos dos pacientes e incluíram sintomas relacionados ao sono tais como presença de ronco, sonolência e sono reparador. Relato de alterações na saúde geral de morbididades associadas à SAOS foram incluídos como: histórico de hipertensão, câncer, diabetes, fibromialgia, diminuição da libido, problema cardíaco, problemas emocionais, refluxo, alteração na tireoide, doença pulmonar, alteração na respiração nasal, hábitos de fumar e beber. Dados odontológicos como a presença de bruxismo autorrelatado (Lobbezoo *et al.*, 2018), dor em músculos mastigatórios, ruído na articulação temporomandibular (ATM), tamanho da língua, condições do assoalho bucal, classificação de Mallampati, má oclusão de Angle, presença de mordida aberta ou cruzada.

3.6 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada no programa estatístico R (versão 3.6.3). Inicialmente, modelos de regressão logística univariados foram ajustados utilizando como variável dependente o diagnóstico do participante (caso-controle) e como variável independente todas as variáveis clínico-epidemiológicas uma a uma utilizando a função

glm. Para as variáveis genéticas, realizou-se a análise de associação com base em cinco modelos genéticos: codominância, dominância, recessivo, sobredominância e log-aditivo com a função `association` do pacote `SNPassoc`. As variáveis que alcançaram um nível de significância menor que 0,20 na análise univariada foram utilizadas para ajustar um modelo de regressão logística multivariado inicial. Ao final apresenta-se somente o modelo de regressão logística multivariado com variáveis com $p < 0,05$. O tamanho de efeito para cada variável (eta quadrado parcial) foi estimado a partir do modelo de regressão logística multivariado final utilizando a função `modelEffectSizes` do pacote `lmSupport` enquanto o cálculo de poder foi realizado a posteriori utilizando a função `modelPower` do mesmo pacote.

4. RESULTADOS

Duzentos e quarenta e dois pacientes foram incluídos na pesquisa, sendo 161 casos e 81 controles. A média de idade dos participantes foi $51,48 \pm 14,29$, com predomínio do sexo masculino (57,02%) e a média de IMC foi $26,63 \pm 4,36$. As variáveis polissonográficas para todos os participantes são mostradas na Tabela 6.

Tabela 6 – Variáveis polissonográficas dos pacientes da amostra.

VARIÁVEIS POLISSONOGRÁFICAS	MÉDIA	DP
IAH (eventos por hora)	17,05	17,13
Proporção apneia (eventos por hora)	1,42	6,87
Proporção hipopneia (eventos por hora)	3,40	14,32
IAH REM (eventos por hora)	21,05	20,86
IAH NREM (eventos por hora)	18,19	18,17
IAH dorsal (eventos por hora)	16,79	22,44
IAH não dorsal (eventos por hora)	13,99	19,88
Tempo médio de apneia/hipopneia (minutos)	27,21	16,04
Saturação Mínima (%)	82,01	11,24
Tempo abaixo de 90% (minutos)	12,09	26,52
Índice de dessaturação (eventos por hora)	16,13	26,52
Alto Limiar Despertar (n/%)	149 (61,57%)	

A Tabela 7 apresenta as variáveis relacionadas às queixas de sono e presença de morbidades de todos os participantes do estudo. Em relação às queixas de sono, 143 (59,09%) pacientes relataram sonolência excessiva diurna, 161 (66,52%) disseram que roncam todas as noites e 121 (50%) acordam cansados. As principais morbidades encontradas foram hipertensão arterial sistêmica (28,92%), diminuição da libido (27,68%), respiração bucal (33,47%) e ingestão de bebida alcoólica (46,69%).

Tabela 7 – Variáveis clínicas de queixas de sono e morbidades de todos os participantes do estudo.

VARIÁVEL		N	%
Sono	Sonolência diurna	143	59,09
	Ronca toda noite	161	66,52
	Acorda descansado	121	50
Morbidades	Hipertensão	70	28,92
	Câncer	8	3,30
	Diabetes	20	8,26
	Fibromialgia	7	2,89
	Diminuição da libido	67	27,68
	Problema cardíaco	13	5,37
	Problema emocional	54	22,31
	Refluxo gastroesofágico	47	19,42
	Problema na tireoide	29	11,98
	Problema pulmonar	17	7,02
	Dificuldade de respirar pelo nariz	81	33,47
	Fumar	11	4,54
	Beber	113	46,69

Dados odontológicos não estavam disponíveis em prontuários de alguns pacientes. A Tabela 8 mostra os dados odontológicos daqueles participantes que tinham essas informações (total de 200 participantes). O bruxismo autorrelatado esteve presente em 51,5% dos participantes. A maioria dos pacientes tinham Mallampati III e IV (24% e 70,5%, respectivamente). Língua aumentada foi encontrada em 86,5% dos participantes, dor em musculatura mastigatória em 54,5%, ruído em ATM em 40%, torus mandibular em 15%, palato ogival em 88,5%. Má oclusão classe I de Angle esteve presente em 48,5%, Classe II em 40,5% e classe III em 11%. Mordida aberta foi encontrada em 1,5 % dos participantes e mordida cruzada em 15,5%.

Tabela 8 – Dados odontológicos dos participantes do estudo.

VARIÁVEL		n/N (%)
Bruxismo autorrelatado		103/200 (51,5)
Dor músculos mastigatórios		109/200 (54,5)
Ruído em ATM		80/200 (40)
Tamanho da língua		173/200 (86,5)
Assoalho bucal		30/200 (15)
Palato		177/200 (88,5)
Mallampati	Grau I	2/200 (1)
	Grau II	9/200 (4,5)
	Grau III	48/200 (24)
	Grau IV	141/200 (70,5)
Má oclusão dentária	Classe I	97/200 (48,5)
	Classe II	81/200 (40,5)
	Classe III	22/200 (11)
Mordida aberta		3/200 (1,5)
Mordida cruzada		31/200 (15,5)

O maior eta quadrado parcial estimado foi o da variável saturação mínima (0,101) e o menor eta quadrado parcial foi o da variável ronco subjetivo (0,029). Logo, o poder estimado do modelo variou de 69,2% até 99,7%.

Cento e sessenta e um pacientes eram casos e 81 eram controles, foi realizada análise univariada, utilizando como variável dependente o diagnóstico do participante e como variável independente todas as variáveis clínico-epidemiológicas e polissonográficas e seus resultados são mostrados na Tabela 8. Houve diferença significativa para gênero, idade, peso e IMC entre casos e controles (Tabela 9).

A análise das variáveis polissonográficas evidenciou diferença significativa entre casos e controles para IAH, IAH REM, IAH NREM, IAH dorsal IAH não dorsal, tempo médio de apneia/hipopneia, score 3 de limiar de despertar, saturação mínima, índice de dessaturação e ronco subjetivo (Tabela 9).

Pacientes com SAOS relataram mais a presença de ronco todas as noites e essa foi a única queixa de sono que mostrou diferença significativa entre casos e controles. Em relação às morbidades houve diferença significativa para a presença de hipertensão, doença pulmonar e presença de respiração bucal nos pacientes com SAOS (Tabela 9).

A análise comparativa entre indivíduos com e sem SAOS para os dados odontológicos evidenciou diferença entre os grupos em relação à presença de língua aumentada, palato ogival e má oclusão classe II de Angle nos pacientes com SAOS (Tabela 9).

Tabela 9 – Comparação entre casos e controles de todas as variáveis clínico-epidemiológicas, polissonográficas e odontológicas.

Variável	Categoria	Caso	Controle	Coefficiente	Erro padrão	valor z	valor p
SOCIODEMOGRÁFICAS							
Gênero masculino/feminino		104/57	33/47	-0,964	0,279	-3,458	0,001
Idade (média/DP)		53,57±14,02	47,26±13,95	0,030	0,010	3,031	0,002
Peso		79,06±15,01	69,38±14,29	0,050	0,012	4,393	0,000
Altura		1,69±0,09	1,66±0,10	0,016	0,025	0,647	0,518
IMC		27,51±4,37	24,85±3,82	0,179	0,042	4,233	0,000
POLISSONOGRÁFICAS							
IAH (média/DP)		24,29±16,81	2,63±1,53	1,069	0,209	5,113	0,000
Proporção apneia (média/DP)		1,79±7,91	0,31±0,37	0,217	0,344	0,631	0,528
Proporção hipopneia (média/DP)		3,05±12,21	4,42±19,30	-0,006	0,010	-0,550	0,576
IAH REM (média/DP)		25,78±21,01	3,51±4,69	0,188	0,030	4,745	0,000
IAH NREM (média/DP)		22,58±18,07	1,82±1,65	1,041	0,232	4,492	0,000
IAH dorsal (média/DP)		20,11±23,69	3,04±4,69	0,13352	0,039	3,435	0,001
IAH não dorsal (média/DP)		16,76±20,90	3,56±10,26	0,108	0,033	3,243	0,001
Tempo médio de apneia/hipopneia (média/DP)		29,15±15,80	20,26±15,17	0,059	0,024	2,483	0,013
Limiar de despertar (N%)	2	64/26,44	23/9,50	-0,965	0,535	-1,805	0,071
	3	37/15,28	23/9,50	-1,444	0,546	-2,643	0,008
Saturação Mínima (média/DP)		79,21±11,46	87,87±8,12	-0,181	0,031	-5,899	0,000
Tempo abaixo de 90% (média/DP)		14,23±27,90	6,05±21,26	0,020	0,012	1,733	0,083
Índice de dessaturação (média/DP)		20,37±20,22	2,83±6,82	0,206	0,044	4,734	0,000
CLÍNICAS							
Sonolência diurna (N%)		97/40,08	46/19,00	0,094	0,305	0,308	0,758
Ronco todas as noites (N%)		83/34,29	42/17,35	1,151	0,324	3,548	0,000
Acordar descansado (N%)		57/23,55	37/15,28	0,320	0,291	1,090	0,272
Hipertensão (N%)		56/23,14	15/6,19	0,825	0,337	2,445	0,015
Câncer (N%)		5/2,06	3/1,23	-0,211	0,745	-0,284	0,777
Diabetes (N%)		16/6,61	4/1,65	0,731	0,579	1,263	0,207
Fibromialgia (N%)		3/1,23	4/1,65	-1,039	0,778	-1,335	0,182
Diminuição da libido (N%)		43/17,76	24/9,91	-0,192	0,300	-0,619	0,536
Problema cardíaco (N%)		10/4,13	3/1,23	0,103	0,619	0,166	0,868
Problemas emocionais (N%)		38/15,70	16/6,61	0,190	0,341	0,585	0,559
Refluxo gastroesofágico (N%)		35/14,46	12/4,95	0,448	0,371	1,205	0,228
Problema na tireoide (N%)		19/7,85	10/4,13	-0,084	0,421	-0,199	0,843
Doença pulmonar (N%)		8/3,30	1/0,41	2,161	1,041	2,075	0,038
Respiração bucal (N%)		69/28,51	12/4,95	1,371	0,349	3,928	0,000
Fumar (N%)		8/3,30	3/1,23	0,280	0,693	0,405	0,686
Beber (N%)		78/32,23	35/14,46	0,211	0,291	0,724	0,469
ODONTOLÓGICAS							
Bruxismo (N%)		67/27,68	36/14,87	-0,252	0,291	-0,866	0,387
Dor à palpação ATM/músculos (N%)		77/31,81	32/13,22	-0,038	0,313	-0,122	0,903
Ruído articular (N%)		59/24,38	20/8,26	0,225	0,322	0,69918	0,484
Língua aumentada (N%)		132/54,54	40/16,52	1,690	0,437	3,89167	0,000
Assoalho bucal (N%)		19/7,85	9/3,71	-0,299	0,426	-0,70195	0,483
Palato ogival (N%)		132/54,54	44/18/18	1,339	0,455	2,94393	0,003
	Grade 2	1/0,41	7/2,89	13,620	1029,122	0,013	0,989
Mallampati (N%)	Grade 3	27/11,15	20/8,26	15,817	1029,122	0,015	0,988
	Grade 4	114/47,10	27/11,15	17,006	1029,121	0,017	0,987

Má oclusão (N/%)	Class II	66/27,27	15/6,19	0,954	0,355	2,688	0,007
	Class III	15/6,19	6/2,47	0,235	0,504	0,466	0,641
Mordida aberta (N/%)		2/0,82	1/0,41	-0,205	1,235	-0,166	0,868
Mordida cruzada(N/%)		25/10,33	6/2,47	0,616	0,484	1,273	0,203

Análise de fatores genéticos

A análise de associação entre os genótipos e a SAOS não evidenciou associação com os polimorfismos *PER3* (*rs228697*, *rs228727* e *rs10462020*), *NRXN3* (*rs10146997*), *APOE* (*rs7412* e *rs429358*), *HCRTR2* (*rs2653349*) e *MC4R* (*rs17782313*). Entretanto, o polimorfismo do *BDNF* (*rs6265*) e do *PER3* (*rs228729*) mostraram associação significativa com SAOS ($p = 0,01317$ e $p = 0,000094$, respectivamente). No entanto, após ajuste para idade e IMC, *BDNF* (*rs6265*) e *PER3* (*rs228729*) não continuaram mostrando associação significativa ($p = 0,06201$ e $p = 0,0659$, respectivamente) (Tabela 10).

Tabela 10. Associação entre polimorfismos dos genes *PER3*, *BDNF*, *APOE*, *NRXN3*, *HCRTR2*, *MC4R* e presença de SAOS

Polimorfismo	0		1		Não ajustado				Ajustado (idade e IMC)			
	%	%	%	%	OR	lower	upper	p-value	OR	lower	upper	p-value
<i>BDNF</i> rs6265	82	33,9	160	66,1	1,66	1,10	2,51	0,013	1,52	0,97	2,38	0,062
<i>HCRTR2</i> rs2653349	78	33,1	158	66,9	1,08	0,64	1,82	0,768	1,02	0,58	1,79	0,936
<i>MC4R</i> rs17782313	82	34,3	157	65,7	1,18	0,78	1,8	0,428	0,75	0,45	1,24	0,258
<i>NRXN3</i> rs10146997	81	34,0	157	66	0,96	0,61	1,53	0,874	0,91	0,55	1,51	0,718
<i>APOE</i> rs7412	81	34,0	157	66	0,82	0,40	1,69	0,622	0,46	0,2	1,08	0,079
<i>PER3</i> rs228697	81	34,3	155	65,7	1,05	0,56	1,97	0,763	1,12	0,57	2,2	0,747
<i>PER3</i> rs228727	82	34,3	157	65,7	1,29	0,87	1,93	0,204	1,35	0,87	2,11	0,184

<i>PER3</i> rs228729	81	33,6	160	66,4	2,16	1,44	3,23	0,000	1,59	0,97	2,63	0,066
<i>APOE</i> rs429358	81	33,9	158	66,1	1,46	0,85	2,53	0,159	1,41	0,79	2,51	0,239
<i>PER3</i> rs10462020	82	34,3	157	65,7	0,92	0,56	1,52	0,738	0,89	0,51	1,53	0,660

Predição da presença de SAOS por meio do modelo de regressão logística

Um modelo de regressão logística foi elaborado para predição da SAOS. As variáveis que alcançaram um nível de significância menor que 0,20 na análise univariada foram consideradas aptas para o modelo final. Entretanto, apenas as variáveis com $p < 0,05$ permaneceram no modelo de regressão logística multivariada (Tabela 11). Embora as variáveis polissonográficas sejam importantes, não as incluímos porque a polissonografia é o padrão-ouro.

Os valores obtidos indicaram que as chances de um paciente ter SAOS são demonstrados no seguinte modelo final:

- 1) gênero feminino tem aproximadamente 58% menor chance de ter SAOS;
- 2) um incremento de 10 anos de idade aumenta em 36% a chance de ter SAOS;
- 3) a presença de ronco subjetivo aumenta em 416% a chance de ter SAOS;
- 4) a presença de hipertensão aumenta em 200% a chance de ter SAOS;
- 5) a respiração bucal aumenta em 200% a chance de ter SAOS
- 6) a presença de palato ogival aumenta 235% a chance de ter SAOS;
- 7) apresentar uma cópia do alelo 2 do SNP *rs228729* do *PER3* aumenta em 70% a chance de ter SAOS.

A equação derivada do modelo é a seguinte:

$$D_x = \frac{1}{[1 + \exp(-z)]}$$

$$z = -3.705 - 0.855 \times (X1) + 0.031 \times (X2) + 1.643 \times (X3) + 1.105 \times (X4) + 1.093 \times (X5) \\ + 1.209 \times (X6) + 0.528 \times (X7)$$

Where:

D_x = diagnosis

exp = exposure

$X1$ = 1, if the gender is female, otherwise 0

$X2$ = age of the patient in years

$X3$ = 1, if subjective snoring is present, otherwise 0

$X4$ = 1, if hypertension is present, otherwise 0

$X5$ = 1, if not breathing well through the nose, otherwise 0

$X6$ = number of T alleles of PER3 rs 228729

Se o resultado for abaixo 0,763 sugere-se que o paciente tenha pouca chance de ter SAOS, caso seja acima de 0,763 o paciente apresenta elevada probabilidade de ter SAOS.

Tabela 11: Modelo de regressão logística para Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono

VARIAVEL	Estimate	Erro Padrão	Valor Z	Valor P	OR	Lim. Inf.	Lim. Sup.
(Intercept)	-3,71	1,052	-3,521	0,000	0,02	0,003	0,177
Gênero feminino	-0,85	0,417	-2,048	0,041	0,43	0,184	0,954
Idade	0,03	0,015	2,013	0,044	1,03	1,001	1,063
Ronco subjetivo	1,64	0,561	2,929	0,003	5,17	1,761	16,267
Hipertensão	1,10	0,489	2,261	0,024	3,02	1,208	8,360
Respiração bucal	1,09	0,420	2,599	0,009	2,98	1,340	7,048
Palato ogival	1,21	0,574	2,107	0,035	3,35	1,082	10,532

Alelo	T	PER3	0,53	0,263	2,005	0,045	1,60	1,023	2,886
-------	---	------	------	-------	-------	--------------	------	-------	-------

rs228729

Após a aplicação da fórmula para cada paciente, foram calculadas a sensibilidade e a especificidade do modelo para todos os pontos de corte. Para valores de pontos de corte crescentes de 0 a 1, obteve-se a curva ROC cuja área baixa foi de 79,4% (IC 95% 72,2% - 86,6%). O melhor valor de corte foi de 0,763 com sensibilidade de 71,6% e especificidade de 76,5% (Figura 5).

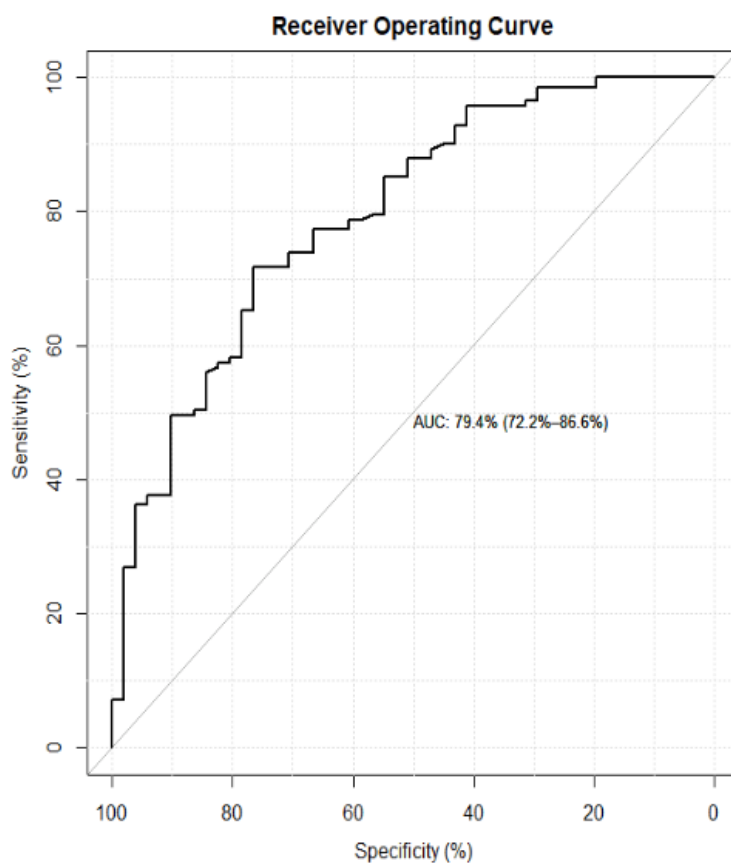


Figura 5- A curva ROC para o modelo de regressão logística foi baseado na definição de chance de ter SAOS. A área sob a curva ROC foi de 79,4% refletindo a boa discriminação do modelo.

5. DISCUSSÃO

A suscetibilidade individual para quase todas as doenças humanas na maioria das vezes é influenciada pela variação genética. Portanto, caracterizar a relação entre alterações genéticas e predisposição à enfermidade auxilia na identificação da patogênese da doença e possibilita o desenvolvimento de novas estratégias para prevenção e tratamento (Claussnitzer *et al.*, 2020).

Para as doenças complexas como a SAOS, onde múltiplos genes, influências ambientais e fatores de desenvolvimento estão intimamente relacionados (Casale *et al.*, 2009), métodos baseados em associação, focados na detecção de diferenças relacionadas a fenótipos nas frequências de alelos variantes direcionam para a análise de amostras de caso-controle (Yoshizawa *et al.*, 1993; Claussnitzer *et al.*, 2020). Nesse estudo avaliamos genes candidatos identificados em estudos prévios de caso-controle e que mostraram associação com os fatores de risco para SAOS como a obesidade que foi associada aos genes *BDNF*, *MC4R*, *NRXR3* (Heard-Costa *et al.*, 2009; Pillai *et al.*, 2014; Yükksekaya *et al.*, 2016), alteração na atividade da musculatura da VAS pelos genes *BDNF* e *HCRTR2* (Peever, *et al.*, 2003; Shah *et al.*, 2019), alterações circadianas pelo gene *PER3* (Yang, 2019; Canales *et al.*, 2019) e alterações craniofaciais pelo gene *APOE* (Roedig *et al.*, 2014). Entretanto, apesar desses estudos terem apresentado alguma associação, ainda existem dúvidas sobre o papel desses genes no desenvolvimento da SAOS.

Os participantes do presente estudo eram em sua maioria homens de meia idade, tinham na média sobrepeso e SAOS moderada. Mais da metade desses pacientes tinham queixas de sono alterado (sonolência diurna, acordar cansado e ronco toda noite). Uma proporção aumentada dos participantes apresentou hipertensão, diminuição da libido, problemas emocionais (ansiedade e/ou depressão), refluxo gastroesofágico, alterações

na tireoide (hipotireoidismo), respiração bucal que são morbidades conhecidas associadas à SAOS (Kapur *et al.*, 1998; Carvalho *et al.*, 2007; Durán-Cantolla *et al.*, 2009; Mun *et al.*, 2018; Garbarino *et al.*, 2020). Quase metade dos participantes tinham o hábito de ingerir bebida alcóolica e isso pode estar associado à piora da gravidade do ronco, alteração da arquitetura do sono, IAH, bem como à menor saturação de oxigênio (Burgos-Sanchez *et al.*, 2020).

Estudo epidemiológico realizado em São Paulo encontrou diferença na prevalência de SAOS entre homens e mulheres na faixa etária de 50 a 59 anos, com maior prevalência nos homens (Tufik *et al.*, 2010). Além disso, pessoas com sobrepeso também apresentaram aumento na prevalência, com diferença entre os sexos. Nesse estudo encontramos resultados semelhantes, no grupo caso, os participantes tinham idade média de $53,57 \pm 14,02$, estavam com sobrepeso ($27,51 \pm 4,37 \text{ Kg/m}^2$) (WHO,1995) e a maioria dos pacientes eram do sexo masculino (104/57). No grupo controle havia mais mulheres, mais jovens ($47,26 \pm 13,95$ anos, $p=0,00055$) e IMC médio dentro da normalidade ($24,85 \pm 3,82 \text{ Kg/m}^2$, $p=0,00002$) (WHO,1995).

No presente estudo, o grupo caso tinha em média SAOS moderada com um IAH de $24,29 \pm 16,81$ eventos/hora (American Academy of Sleep Medicine (AASM), 1999) e uma diferença significativa em relação a presença de hipertensão arterial sistêmica no grupo caso em relação ao controle. Existem algumas discrepâncias entre os estudos quanto à correlação entre os níveis de pressão arterial e a gravidade da SAOS (Durán *et al.*, 2001), mas em pelo menos dois grandes estudos foi observada uma relação dose-efeito nítida (Lavie *et al.*, 2000; Nieto *et al.*, 2000). Cavallari e colaboradores avaliaram alterações encontradas em pacientes com hipertensão arterial sistêmica do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, São Paulo, e verificaram predomínio de pacientes com

apneia moderada e grave entre os hipertensos, e leve entre os do controle (Cavallari *et al.*, 2002).

Além do IAH, os participantes desse estudo apresentaram diferença significativa entre os grupos caso e controle para a índice de dessaturação ($20,37 \pm 20,22$ versus $2,83 \pm 6,82$, $p < 0.0001$) e saturação mínima de oxigênio ($79,21 \pm 11,46$ versus $87,87 \pm 8,12$, $p < 0.0001$) o que poderia contribuir para a presença de hipertensão nessa amostra. As repetidas dessaturações de oxigênio no sangue e aumentos concomitantes nos níveis de dióxido de carbono arterial na SAOS aumentam o tônus neural simpático, que por sua vez causa vasoconstrição. Na retomada da respiração, o débito cardíaco aumenta a vasculatura periférica contraída o que pode provocar aumentos abruptos e às vezes acentuados da pressão arterial (Zoccal *et al.*, 2007).

Ronco, sono não reparador e sonolência diurna excessiva (SED) são sintomas sugestivos de SAOS (Epstein *et al.*, 2009), entretanto, surpreendentemente, somente ronco teve diferença significativa entre caso e controle nas amostras desse estudo. A falta de correlação entre o IAH e a sonolência excessiva diurna foi discutida em um estudo que relatou que os fatores que determinam a SED na SAOS não são bem compreendidos e que a gravidade da SAOS medida pelo IAH não se correlaciona bem com a presença ou grau de sonolência diurna (Slater *et al.*, 2012).

Não há evidências científicas suficientes para confirmar ou descartar a associação entre bruxismo de sono e desordem respiratória do sono (De Luca Canto *et al.*, 2014). Nesse estudo uma parcela significativa dos participantes relatou ter bruxismo noturno, entretanto, não houve diferença significativa entre casos e controles.

Os dados odontológicos dessa investigação estão de acordo com estudos que avaliaram alterações em tecidos moles e esqueléticos relacionados à SAOS, como palato

ogival (Zonato *et al.*, 2003), língua aumentada (Neelapu *et al.*, 2017) e má oclusão classe II que foram significativamente diferentes entre os grupos caso e controle nesse estudo. Apesar dos graus de Mallampati III e IV terem sido os mais encontrados (Friedman *et al.*, 2013) na amostra desse estudo, não houve diferença significativa entre casos e controles.

Nesse estudo a avaliação de associação entre os genótipos e a SAOS não evidenciou associação entre os polimorfismos *PER3* (*rs228697*, *rs228727* e *rs10462020*), *NRXN3* (*rs10146997*), *APOE* (*rs7412* e *rs429358*), *HCRTR2* (*rs2653349*) e *MC4R* (*rs17782313*) com SAOS. Os polimorfismos do *BDNF* (*rs6265*) e do *PER3* (*rs228729*) mostraram associação significante com SAOS ($p = 0,01317$ e $p = 0,000094$, respectivamente). No entanto, após ajuste para idade e IMC, *BDNF* (*rs6265*) e do *PER3* (*rs228729*) não continuaram mostrando associação significativa ($p = 0,06201$ e $p = 0,0659$, respectivamente).

Um estudo prévio avaliou a associação do polimorfismo *BDNF rs6265 (G>A)* com SAOS e não observou uma diferença estatisticamente significativa entre pacientes com e sem SAOS, mesmo em uma análise de regressão (Yüksekkaya *et al.*, 2016). No estudo de Yüksekaya e colaboradores, para evitar o efeito de confusão da obesidade, os participantes foram divididos em quatro grupos com base na presença/ausência de SAOS e/ou obesidade. Uma diferença significativa foi encontrada entre indivíduos obesos e não obesos em relação ao polimorfismo *rs6265* do *BDNF* ($p = 0,003$). O genótipo *BDNF 196G/G* foi mais comum e o polimorfismo *BDNF 196G/A* foi menos comum no grupo com SAOS e sem obesidade, em comparação com todos os outros grupos de estudo. Assim, os autores inferiram que o genótipo *BDNF 196G/G* pode ser usado para descobrir SAOS em pacientes não obesos. A obesidade é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da SAOS (Schwartz *et al.*, 2008), entretanto,

quase metade dos pacientes com SAOS não são obesos (Mortimore *et al.*, 1998). Dessa forma, a pesquisa do genótipo *BDNF 196G/G* em pacientes não obesos com SAOS pode ser promissora. O nosso estudo está de acordo com o estudo de Yükksekaya, pois ao avaliarmos a associação do polimorfismo do *BDNF rs 6265* após ajuste para idade e IMC não houve mais associação significativa para a SAOS.

Estudos recentes sugeriram que o *PER3* tem um papel fundamental na manutenção do ritmo circadiano em humanos. Apesar de ainda haver poucos estudos sobre as relações entre os genes do relógio circadiano e SAOS, é importante ter-se em conta de que o ciclo sono-vigília pode modular os genes do relógio circadiano (Eckel-Mahan e Sassone-Corsi, 2013) e, por sua vez, o sistema circadiano pode influenciar a ocorrência e a duração da apneia (El-Chami *et al.*, 2015; Butler *et al.*, 2015). Um estudo realizado em uma coorte de veteranos não selecionados para distúrbios do sono, comparou a expressão relativa de vários genes chave do relógio biológico entre aqueles com e sem SAOS ou hipoxemia noturna relacionada. Os resultados mostraram que a expressão de *PER3* foi significativamente diminuída em 35% entre aqueles com SAOS em comparação com aqueles sem SAOS. Além disso, observou-se uma tendência de downregulation de *PER3* com o aumento da gravidade da SAOS (Canales *et al.*, 2019). Outro estudo verificou que os níveis de expressão de *CRY1* e *PER3* diminuíram significativamente à meia-noite e podem prever SAOS grave.

PER3 possui muitos polimorfismos associados a diversos fenótipos e doenças (Archer *et al.*, 2017). A *rs228729* é um SNP intrônico e foi associado ao transtorno bipolar (Benedetti *et al.*, 2008), a associação com câncer e sobrevida ao tratamento (Couto *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Qu *et al.*, 2016). Nosso estudo é o primeiro que avalia a associação da *rs228729* à SAOS. Em nosso estudo verificamos que *PER3 rs228729* foi significativamente associado à SAOS em modelo codominante,

dominante, recessivo, heterozigose e log-aditivo, entretanto, após ajuste para idade e IMC, houve associação significativa para dominante e heterose, mas não houve mais associação significativa para a SAOS pela análise do log-Aditivo. Esses resultados nos fazem inferir que o gene *PER3 rs228729* apresentou uma tendência de associação com a SAOS.

Apesar das evidências apontarem para possibilidade de alterações nos genes *BDNF* e *PER3* serem relevantes para desenvolvimento da SAOS, o tipo de análise realizada no presente estudo não demonstrou essa associação. Seriam necessárias outras avaliações, possivelmente que envolvessem a identificação de mutações ou polimorfismos em áreas mais abrangentes dos genes ou alterações relacionadas a sua expressão.

A partir de dados coletados de avaliação genética e de prontuários de pacientes com e sem SAOS, criamos algoritmos a serem testados e, eventualmente, aplicados para identificar pacientes de risco a SAOS. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a propor algoritmos de previsão de chance de ter SAOS em populações sul-americanas. Portanto, os resultados e a investigação fornecem uma referência para investigações com foco na identificação de SAOS nas populações brasileiras e similares utilizando a equação:

$$D_x = \frac{1}{[1 + \exp(-z)]}$$

$$z = -3.705 - 0.855 \times (X1) + 0.031 \times (X2) + 1.643 \times (X3) + 1.105 \times (X4) + 1.093 \times (X5) + 1.209 \times (X6) + 0.528 \times (X7)$$

Where:

D_x = diagnosis

exp = exposure

$X1$ = 1, if the gender is female, otherwise 0

X_2 = age of the patient in years

X_3 = 1, if subjective snoring is present, otherwise 0

X_4 = 1, if hypertension is present, otherwise 0

X_5 = 1, if not breathing well through the nose, otherwise 0

X_6 = number of T alleles of PER3 *rs 228729*

Devemos abordar algumas limitações do estudo, principalmente pelo fato dos exames polissonográficos terem sido realizados em clínicas diferentes no Brasil. São conhecidas diferenças na realização e análises dos exames polissonográficos, o que pode levar à necessidade de validação de algoritmos em diferentes contextos. Nossos resultados devem ser replicados em amostras brasileiras maiores e mais independentes, de preferência envolvendo estudos multicêntricos para minimizar possível viés do estudo.

6. CONCLUSÃO

As características sociodemográficas, polissonográficas e clínicas associadas à manifestação da SAOS são sexo masculino, IMC, idade, presença de hipertensão, ronco, palato ogival, língua aumentada, má oclusão classe II de Angle.

Os polimorfismos dos genes *MC4R*, *NRXN3*, *APOE*, *HCRTR2* não foram associados à SAOS, entretanto, os polimorfismos do *BDNF* (*rs6265*) e do *PER3* (*rs228729*) mostraram associação significativa com SAOS, porém, após ajuste para idade e IMC, *BDNF* (*rs6265*) e do *PER3* (*rs228729*) não continuaram mostrando associação significativa.

O algoritmo gerado neste estudo, uma vez validado em amostra maior, pode ter aplicação clínica e assim permitirá a estratificação de risco para a SAOS usando as características sociodemográficas, clínicas e genéticas dos pacientes.

Novas pesquisas são necessárias para identificar mutações ou polimorfismos em áreas mais abrangentes dos genes *PER3* (*rs228729*) e *BDNF* (*rs6265*) ou alterações relacionadas a sua expressão.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acheson A, Conover JC, Fandl JP, DeChiara TM, Russell M, Thadani A, Squinto SP, Yancopoulos GD, Lindsay RM. A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature*. 1995 Mar;374:450–3.
2. Haddad F e Bittencourt L. *Recomendações para o Diagnóstico e Tratamento da Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono no Adulto - São Paulo: Estação Brasil, 2013*
3. Ahmed, W.A., Tsutsumi, M., Nakata, S., Mori, T., Nishimura, Y., Fujisawa, T., Kato, I., Nakashima, M., Kurahashi, H. and Suzuki, K. A functional variation in the hypocretin neuropeptide precursor gene may be associated with obstructive sleep apnea syndrome in Japan. *The Laryngoscope*. 2012 Apr;122(4):925-9.
4. Aidar M, Line SR. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J*. 2007;18:148-52.
5. Akbarian SA, Salehi-Abargouei A, Pourmasoumi M, Kelishadi R, Nikpour P, Heidari-Beni M. Association of Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms with body mass index: A systematic review and meta-analysis. *Adv Med Sci*. 2018 Mar;63(1):43-56.
6. Albrecht U. Invited review: regulation of mammalian circadian clock genes. *J Appl Physiol* 2002 Mar; 92(3):1348–1355.
7. American Academy of Sleep Medicine. *International classification of sleep disorders, 3rd ed*. Darien, IL: American Academy of Sleep Medicine, 2014.
8. Ancoli-Israel, S., Klauber, M.R., Stepnowsky, C., Estline, E., Chinn, A., Fell, R. Sleep-disordered breathing in African-American elderly. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 1995 Dec;152(6): 1946-1949.

9. Andreas S., Eichele G. Sleep apnoea: time to consider clock genes. *Eur Respir J.* 2008 Jul;(32)1:1–2.
10. Archer SN, Schmidt C, Vandewalle G, Dijk DJ. Phenotyping of PER3 variants reveals widespread effects on circadian preference, sleep regulation, and health. *Sleep Med Rev.* 2018;40:109-126.
11. Aurora RN, Casey KR, Kristo D, et al. Practice parameters for the surgical modifications of the upper airway for obstructive sleep apnea in adults. *Sleep.* 2010;33(10):1408-1413
12. Ayappa I, & Rapoport DM. The upper airway in sleep: physiology of the pharynx. *Sleep Med Rev.* 2003;7(1),9-33.
13. Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.* 1982;1(5):549–553.
14. Benedetti F, Dallaspazia S, Colombo C, Pirovano A, Marino E, Smeraldi E. A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 influences age at onset of bipolar disorder. *Neurosci Lett* 2008;445(2):184e7.
15. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, Gozal D, Iber C, Kapur VK, Marcus CL, Mehra R, Parthasarathy S, Quan SF, Redline S, Strohl KP, Davidson Ward SL, Tangredi MM; American Academy of Sleep Medicine. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. Deliberations of the Sleep Apnea Definitions Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med.* 2012 Oct 15;8(5):597-619.
16. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors.* 2004 Sep;22(3):123-31.

17. Bittencourt LA, organização. Diagnósticos e tratamento da síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS): guia prático. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora; 2008.
18. Bosi M, De Vito A, Kotecha B, Viglietta L, Braghiroli A, Steier J, Pengo M, Sorrenti G, Gobbi R, Vicini C, Poletti V. Phenotyping the pathophysiology of obstructive sleep apnea using polygraphy/polysomnography: a review of the literature. *Sleep Breath*. 2018 Sep;22(3):579-592.
19. Botros N, Concato J, Mohsenin V, Selim B, Doctor K, Yaggi HK. Obstructive sleep apnea as a risk factor for type 2 diabetes. *Am J Med*. 2009 Dec;122(12):1122-7.
20. Bouloukaki I, Mermigkis C, Markakis M, Pataka A, Alexaki I, Ermidou C, Moniaki V, Mauroudi E, Michelakis S, Schiza SE. Cardiovascular effect and symptom profile of obstructive sleep apnea: does sex matter? *J Clin Sleep Med*. 2019;15(12):1737–1745.
21. Bowen R. A., Austgen L., Rouge M. 1996 DNA Polymorphisms: The Basis of DNA Typing. Retrieved February 16, 2009, from http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/genetics/medgen/dnatesting/dnatest_poly.html
22. Bramham CR, Southard T, Sarvey JM, Herkenham M, Brady LS. Unilateral LTP triggers bilateral increases in hippocampal neurotrophin and trk receptor mRNA expression in behaving rats: evidence for interhemispheric communication. *J Comp Neurol*. 1996 May 6;368(3):371-82.
23. Burgos-Sanchez, C., Jones, N. N., Avillion, M., Gibson, S. J., Patel, J. A., Neighbors, J., Zaghi, S., & Camacho, M. Impact of Alcohol Consumption on Snoring and Sleep Apnea: A Systematic Review and Meta-analysis. *Otolaryngology--head and neck surgery: official journal of American*

- Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 2020; 194599820931087. Advance online publication.
24. Burioka N, Koyanagi S, Endo M, Takata M, Fukuoka Y, Miyata M, Takeda K, Chikumi H, Ohdo S, Shimizu E. Clock gene dysfunction in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir J.* 2008 Jul;32(1):105-12.
 25. Butler MP, Emch JT, Rueschman M, Sands SA, Shea SA, Wellman A, Redline S. Apnea-Hypopnea Event Duration Predicts Mortality in Men and Women in the Sleep Heart Health Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019 Apr 1;199(7):903-912.
 26. Butler, M.P.; Smales, C.; Wu, H.; Hussain, M.V.; Mohamed, Y.A.; Morimoto, M.; Shea, S.A. The circadian system contributes to apnea lengthening across the night in obstructive sleep apnea. *Sleep* 2015, 38, 1793–1801.
 27. Canales, M. T., Holzworth, M., Bozorgmehri, S., Ishani, A., Weiner, I. D., Berry, R. B., Beyth, R. J., & Gumz, M. Clock gene expression is altered in veterans with sleep apnea. *Physiol Genomics*, 2019; 51(3), 77–82.
 28. Carvalho, F. R., Lentini-Oliveira, D., Machado, M. A., Prado, G. F., Prado, L. B., & Saconato, H. Oral appliances and functional orthopaedic appliances for obstructive sleep apnoea in children. 2007; *The Cochrane database of systematic reviews*, (2), CD005520.
 29. Casale, M., Pappacena, M., Rinaldi, V., Bressi, F., Baptista, P., & Salvinelli, F. Obstructive sleep apnea syndrome: from phenotype to genetic basis. *Current genomics*, 2009; 10(2), 119–126.
 30. Castrén E, Pitkänen M, Sirviö J, Parsadonian A, Lindholm D, Thoenen H, Riekkinen PJ. The induction of LTP increases BDNF and NGF mRNA but decreases NT-3 mRNA in the dentate gyrus. *Neuroreport.* 1993 Jul;4(7):895-8.

31. Castrén E, Thoenen H, Lindholm D. Brain-derived neurotrophic factor messenger RNA is expressed in the septum, hypothalamus and in adrenergic brain stem nuclei of adult rat brain and is increased by osmotic stimulation in the paraventricular nucleus. *Neuroscience*. 1995 Jan;64(1):71-80.
32. Castrén E, Zafra F, Thoenen H, Lindholm D. Light regulates expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Oct 15;89(20):9444-8.
33. Cattaneo, A., Cattane, N., Begni, V. et al. The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders. *Transl Psychiatry* 6, e958 (2016).
34. Cavallari, Fransérgio E.M., Leite, Marcelo G.J., Mestriner, Paulo R.E., Couto, Luciano G.F, Fomin, Denílson S., Oliveira, José A. A. Relationship between systemic hypertension and obstructive sleep apnea syndrome. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.* [online]. 2002, vol.68, n.5, pp.619-622
35. Chambers JC, Elliott P, Zabaneh D, Zhang W, Li Y, Froguel P, Balding D, Scott J, Kooner JS. Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nat Genet*. 2008 Jun;40(6):716-8.
36. Chi L, Comyn FL, Keenan BT, Cater J, Maislin G, Pack AI, Schwab RJ. Heritability of craniofacial structures in normal subjects and patients with sleep apnea. *Sleep*. 2014 Oct 1;37(10):1689-98.
37. Claussnitzer, M., Cho, J. H., Collins, R., Cox, N. J., Dermitzakis, E. T., Hurles, M. E., Kathiresan, S., Kenny, E. E., Lindgren, C. M., MacArthur, D. G., North, K. N., Plon, S. E., Rehm, H. L., Risch, N., Rotimi, C. N., Shendure, J., Soranzo, N., & McCarthy, M. I. A brief history of human disease genetics. *Nature*, 2020; 577(7789), 179–189.

38. Conwell, W., Patel, B., Doeing, D., Pamidi, S., Knutson, K. L., Ghods, F., & Mokhlesi, B. Prevalence, clinical features, and CPAP adherence in REM-related sleep-disordered breathing: a cross-sectional analysis of a large clinical population. *Sleep and Breathing*, 2011;16(2), 519–526.
39. Couto P, Miranda D, Vieira R, Vilhena A, De Marco L, Bastos-Rodrigues L. Association between CLOCK, PER3 and CCRN4L with nonsmall cell lung cancer in Brazilian patients. *Mol Med Rep* 2014;10(1):435e40.
40. Czerwensky F, Leucht S, Steimer W. Association of the common MC4R rs17782313 polymorphism with antipsychotic-related weight gain. *J Clin Psychopharmacol*. 2013 Feb;33(1):74-9.
41. De Backer JW, Vanderveken OM, Vos WG, Devolder A, Verhulst SL, Verbraecken JA, Parizel PM, Braem MJ, Van de Heyning PH, De Backer WA. Functional imaging using computational fluid dynamics to predict treatment success of mandibular advancement devices in sleep-disordered breathing. *J Biomech*. 2007;40(16):3708-14.
42. de Carvalho TB, Suman M, Molina FD, Piatto VB, Maniglia JV. Relationship of obstructive sleep apnea syndrome with the 5-HT_{2A} receptor gene in Brazilian patients. *Sleep Breath*. 2013 Mar;17(1):57-62.
43. de Lecea, T. S. Kilduff, C. Peyron, X.-B. Gao, P. E. Foye, P. E. Danielson, C. Fukuhara, E. L. F. Battenberg, V. T. Gautvik, F. S. Bartlett II, W. N. Frankel, A. N. van den Pol, F. E. Bloom, K. M. Gautvik, and J. G. Sutcliffe. The hypocretins: Hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *PNAS*. January 6, 1998; 95(1):322-327

44. De Luca Canto, G., Singh, V., Gozal, D., Major, P. W., & Flores-Mir, C. Sleep bruxism and sleep-disordered breathing: a systematic review. *Journal of oral & facial pain and headache*, 2014; 28(4), 299–305.
45. de Raaff CAL, Gorter-Stam MAW, de Vries N, Sinha AC, Jaap Bonjer H, Chung F, Coblijn UK, Dahan A, van den Helder RS, Hilgevoord AAJ, Hillman DR, Margaron MP, Mattar SG, Mulier JP, Ravesloot MJL, Reiber BMM, van Rijswijk AS, Singh PM, Steenhuis R, Tenhagen M, Vanderveken OM, Verbraecken J, White DP, van der Wielen N, van Wagenveld BA. Perioperative management of obstructive sleep apnea in bariatric surgery: a consensus guideline. *Surg Obes Relat Dis*. 2017 Jul;13(7):1095-1109.
46. De Vito A, Carrasco Llatas M, Vanni A, Bosi M, Braghiroli A, Campanini A, de Vries N, Hamans E, Hohenhorst W, Kotecha BT, Maurer J, Montevecchi F, Piccin O, Sorrenti G, Vanderveken OM, Vicini C. European position paper on drug-induced sedation endoscopy (DISE). *Sleep Breath*. 2014 Sep;18(3):453-65.
47. Dempsey JA, Veasey SC, Morgan BJ, O'Donnell CP. Pathophysiology of sleep apnea. *Physiol Rev*. 2010; 90:47.
48. Dempsey JA, Xie A, Patz DS, Wang D. Physiology in medicine: obstructive sleep apnea pathogenesis and treatment considerations beyond airway anatomy. *J Appl Physiol (1985)*. 2014 Jan; 116(1):3-12.
49. den Dunnen, J. T., Dalglish, R., Maglott, D. R., Hart, R. K., Greenblatt, M. S., McGowan-Jordan, J., Roux, A. F., Smith, T., Antonarakis, S. E., & Taschner, P. E. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat*. 2016 jun;37(6), 564–569.

50. Dias BG, Banerjee SB, Duman RS, Vaidya VA. Differential regulation of brain derived neurotrophic factor transcripts by antidepressant treatments in the adult rat brain. *Neuropharmacology*. 2003 Sep;45(4):553-63.
51. Dieltjens M, Vroegop AV, Verbruggen AE, Wouters K, Willemen M, De Backer WA, Verbraecken JA, Van de Heyning PH, Braem MJ, de Vries N, Vanderveken OM. A promising concept of combination therapy for positional obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2015 May;19(2):637-44.
52. Dijk DJ, & Archer SN. PERIOD3, circadian phenotypes, and sleep homeostasis. *Sleep Med Rev*. 2010 Jun;14(3):151-60.
53. Durán, J., Esnaola, S., Rubio, R., & Iztueta, A. Obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in a population-based sample of subjects aged 30 to 70 yr. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163(3 Pt 1), 685–689.
54. Durán-Cantolla, J., Aizpuru, F., Martínez-Null, C., & Barbé-Illa, F. Obstructive sleep apnea/hypopnea and systemic hypertension. *Sleep medicine reviews*, 2009; 13(5), 323–331.
55. Eckel-Mahan, K.; Sassone-Corsi, P. Metabolism and the circadian clock converge. *Physiol. Rev*. 2013, 93, 107–135
56. Eckert DJ, Phenotypic approaches to obstructive sleep apnoea – New pathways for targeted therapy. *Sleep Med Rev*. 2018 Feb; 37:45-59
57. Eckert DJ, Wellman A. Physiological phenotypes. In: Barbe F, Pepin JL, editors. *Sleep apnoea: European respiratory society monograph*. Plymouth, UK: ERS educational publications; 2015. p. 9e23.
58. Eckert DJ, White DP, Jordan AS, Malhotra A, Wellman A. Defining phenotypic causes of obstructive sleep apnea. Identification of novel therapeutic targets. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Oct; 188(8):996-1004.

59. Edwards BA, Eckert DJ, McSharry DG, Sands SA, Desai A, Kehlmann G, Bakker JP, Genta PR, Owens RL, White DP, Wellman A, Malhotra A. Clinical predictors of the respiratory arousal threshold in patients with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014 Dec 1;190(11):1293-300.
60. El-Chami, M.; Shaheen, D.; Ivers, B.; Syed, Z.; Badr, M.S.; Lin, H.S.; Mateika, J.H. Time of day affects the frequency and duration of breathing events and the critical closing pressure during NREM sleep in participants with sleep apnea. *J. Appl. Physiol.* 2015, 119, 617–626.
61. Epstein LJ, Kristo D, Strollo PJ Jr, Friedman N, Malhotra A, Patil SP, Ramar K, Rogers R, Schwab RJ, Weaver EM, Weinstein MD; Adult Obstructive Sleep Apnea Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *J Clin Sleep Med.* 2009 Jun 15;5(3):263-76.
62. Farooqi IS, O’Rahilly S. Monogenic obesity in humans. *Annu Rev Med.* 2005;56:443-58.
63. Ferguson KA, Cartwright R, Rogers R, Schmidt-Nowara W. Oral appliances for snoring and obstructive sleep apnea: a review. *Sleep.* 2006 Feb;29(2):244-62.
64. Flores KR, Viccaro F, Aquilini M, Scarpino S, Ronchetti F, Mancini R, Di Napoli A, Scozzi D, Ricci A. Protective role of brain derived neurotrophic factor (BDNF) in obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) patients. *PLoS One.* 2020 Jan 17;15(1):e0227834.
65. Friedman, M., Hamilton, C., Samuelson, C. G., Lundgren, M. E., & Pott, T. Diagnostic value of the Friedman tongue position and Mallampati classification for obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *Otolaryngology--head and neck surgery:*

- official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 2013;148(4), 540–547.
66. Fujita S, Conway W, Zorick F, Roth T. Surgical correction of anatomic abnormalities in obstructive sleep apnea syndrome: uvulopalatopharyngoplasty. *Otolaryngology--head and neck surgery*. 1981 Nov-Dec;89(6):923-34
67. Garbarino, S., Bardwell, W. A., Guglielmi, O., Chiorri, C., Bonanni, E., & Magnavita, N. Association of Anxiety and Depression in Obstructive Sleep Apnea Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2020; *Behavioral sleep medicine*, 18(1), 35–57.
68. Gaudet P, Livstone MS, Lewis SE, Thomas PD. Phylogenetic-based propagation of functional annotations within the Gene Ontology consortium. *Brief Bioinform*. 2011 Sep;12(5):449-62.
69. Gay P, Weaver T, Loube D, Iber C. Evaluation of positive airway pressure treatment for sleep related breathing disorders in adults. *Sleep*. 2006 Mar;29(3):381-401
70. George CF. Sleep apnea, alertness, and motor vehicle crashes. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Nov 15; 176(10):954-6.
71. Getting SJ. Targeting melanocortin receptors as potential novel therapeutics. *Pharmacol Ther* 2006;111(1):1-15.
72. Giles TL, Lasserson TJ, Smith BJ, White J, Wright J, Cates CJ. Continuous positive airways pressure for obstructive sleep apnoea in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Jan 25;(1):CD001106.
73. Gleadhill IC, Schwartz AR, Schubert N, Wise RA, Permutt S, Smith PL. Upper airway collapsibility in snorers and in patients with obstructive hypopnea and apnea. *Am Rev Respir Dis*. 1991;143(6):1300–1303.

74. Gottlieb DJ, DeStefano AL, Foley DJ, Mignot E, Redline S, Givelber RJ, Young T. APOE epsilon4 is associated with obstructive sleep apnea/hypopnea: the Sleep Heart Health Study. *Neurology*. 2004 Aug 24;63(4):664-8.
75. Graff M, Richardson AS, Young KL, Mazul AL, Highland H, North KE, Mohlke KL, Lange LA, Lange EM, Harris KM, Gordon-Larsen P. The interaction between physical activity and obesity gene variants in association with BMI: Does the obesogenic environment matter? *Health Place*. 2016 Nov;42:159-165.
76. Guilleminault C, Stoohs R, Clerk A, Cetel M, Maistros P. A cause of excessive daytime sleepiness. The upper airway resistance syndrome. *Chest*. 1993 Sep;104(3):781-7.
77. Guimarães KC, Drager LF, Genta PR, Marcondes BF, Lorenzi-Filho G. Effects of oropharyngeal exercises on patients with moderate obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 May 15;179(10):962-6.
78. Guindalini C, Colugnati FA, Pellegrino R, Santos-Silva R, Bittencourt LR, Tufik S. Influence of genetic ancestry on the risk of obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir J*. 2010 Oct;36(4):834–841.
79. Gumz ML. Molecular origin of the kidney clock. *Kidney Int*. 2014 Nov;86(5):873-4.
80. Heard-Costa NL, Zillikens MC, Monda KL, Johansson A, Harris TB, Fu M, Haritunians T, Feitosa MF, Aspelund T, Eiriksdottir G, Garcia M, Launer LJ, Smith AV, Mitchell BD, McArdle PF, Shuldiner AR, Bielinski SJ, Boerwinkle E, Brancati F, Demerath EW, Pankow JS, Arnold AM, Chen YD, Glazer NL, McKnight B, Psaty BM, Rotter JI, Amin N, Campbell H, Gyllenstein U, Pattaro C, Pramstaller PP, Rudan I, Struchalin M, Vitart V, Gao X, Kraja A, Province MA, Zhang Q, Atwood LD, Dupuis J, Hirschhorn JN, Jaquish CE, O'Donnell CJ, Vasan RS, White CC,

- Aulchenko YS, Estrada K, Hofman A, Rivadeneira F, Uitterlinden AG, Witteman JC, Oostra BA, Kaplan RC, Gudnason V, O'Connell JR, Borecki IB, van Duijn CM, Cupples LA, Fox CS, North KE. NRXN3 is a novel locus for waist circumference: a genome-wide association study from the CHARGE Consortium. *PLoS Genet.* 2009 Jun;5(6):e1000539.
81. Hishimoto A, Liu QR, Drgon T, Pletnikova O, Walther D, Zhu XG, Troncoso JC, Uhl GR. Neurexin 3 polymorphisms are associated with alcohol dependence and altered expression of specific isoforms. *Hum Mol Genet.* 2007 Dec 1;16(23):2880-91.
82. Huang, E. J., & Reichardt, L. F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual review of neuroscience*, 2001;24, 677–736.
83. Huszar D, Lynch CA, Fairchild-Huntress V, Dunmore JH, Fang Q, Berkemeier LR, Gu W, Kesterson RA, Boston BA, Cone RD, Smith FJ, Campfield LA, Burn P, Lee F. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell.* 1997 Jan 10;88(1):131-41.
84. Igarashi N, Tatsumi K, Nakamura A, Sakao S, Takiguchi Y, Nishikawa T, Kuriyama T. Plasma orexin-A levels in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Chest.* 2003 Oct;124(4):1381-5.
85. 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.* (1985). 1997 Apr;82(4):1319-26.
86. Itani O, Jike M, Watanabe N, Kaneita Y. Short sleep duration and health outcomes: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Sleep Med.* 2017 Apr;32:246-256.

87. Jacobowitz DM, O'Donohue TL. alpha-Melanocyte stimulating hormone: immunohistochemical identification and mapping in neurons of rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1978 Dec;75(12):6300-4.
88. Jeong SJ, Kim WS, Sung SJ. Numerical investigation on the flow characteristics and aerodynamic force of the upper airway of patient with obstructive sleep apnea using computational fluid dynamics. *Medical engineering & physics*. 2007;29(6):637-651.
89. Jones, K. R., Reichardt, L. F. Molecular cloning of a human gene that is a member of the nerve growth factor family. *Proc. Nat. Acad. Sci*. 1990 Oct;87(20):8060-4.
90. Joosten SA, Hamza K, Sands S, Turton A, Berger P, Hamilton G. Phenotypes of patients with mild to moderate obstructive sleep apnoea as confirmed by cluster analysis. *Respirology* 2012;17:99–107.
91. Kalra M, Pal P, Kaushal R, Amin RS, Dolan LM, Fitz K, Kumar S, Sheng X, Guha S, Mallik J, Deka R, Chakraborty R. Association of ApoE genetic variants with obstructive sleep apnea in children. *Sleep Med*. 2008 Mar;9(3):260-5.
92. Kapur, V. K., Koepsell, T. D., deMaine, J., Hert, R., Sandblom, R. E., & Psaty, B. M.. Association of hypothyroidism and obstructive sleep apnea. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 1998; 158(5 Pt 1), 1379–1383.
93. Kastoer C. Imaging in patients with obstructive sleep apnea: focus on drug-induced sleep endoscopy for patient selection and prediction of treatment success. (Dissertação) Antwerpe: Universiteit Antwerpen, Faculteit Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen; 2018. 202p. Available repository.uantwerpen.behttps://repository.uantwerpen.be/docman/irua/cb7131/152161.pdf
94. Katoh-Semba R, Asano T, Ueda H, Morishita R, Takeuchi IK, Inaguma Y, Kato K. Riluzole enhances expression of brain-derived neurotrophic factor with consequent

- proliferation of granule precursor cells in the rat hippocampus. *FASEB J.* 2002 Aug;16(10):1328-30.
95. Kirkness JP, Schwartz AR, Schneider H, Punjabi NM, Maly JJ, Laffan AM, McGinley BM, Magnuson T, Schweitzer M, Smith PL, Patil SP. Contribution of male sex, age, and obesity to mechanical instability of the upper airway during sleep. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Jun;104(6):1618-24.
96. Kripke DF, Shadan FF, Dawson A, Cronin JW, Jamil SM, Grizas AP, Koziol JA, Kline LE. Genotyping sleep disorders patients. *Psychiatry Investig.* 2010 Mar;7(1):36-42.
97. Kulkas A, Muraja-Murro A, Tiihonen P, Mervaala E, Töyräs J. Morbidity and mortality risk ratios are elevated in severe supine dominant OSA: a long-term follow-up study. *Sleep Breath.* 2015 May;19(2):653-60.
98. Kulkas A, Tiihonen P, Julkunen P, Mervaala E, Töyräs J. Novel parameters indicate significant differences in severity of obstructive sleep apnea with patients having similar apnea-hypopnea index. *Med Biol Eng Comput.* 2013 Jun;51(6):697-708.
99. Kushida CA, Chediak A, Berry RB, Brown LK, Gozal D, Iber C, Parthasarathy S, Quan SF, Rowley JA; Positive Airway Pressure Titration Task Force; American Academy of Sleep Medicine. Clinical guidelines for the manual titration of positive airway pressure in patients with obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med.* 2008 Apr 15;4(2):157-71.
100. Kushida CA, Littner MR, Hirshkowitz M, et al. Practice parameters for the use of continuous and bilevel positive airway pressure devices to treat adult patients with sleep-related breathing disorders. *Sleep* 2006;29:375-80.
101. Kushida CA, Littner MR, Morgenthaler T, Alessi CA, Bailey D, Coleman J Jr, Friedman L, Hirshkowitz M, Kapen S, Kramer M, Lee-Chiong T, Loubé DL,

- Owens J, Pancer JP, Wise M. Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: an update for 2005. *Sleep*. 2005 Apr;28(4):499-521.
102. Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991 Oct 11;19(19):5444.
103. Larkin EK, Patel SR, Goodloe RJ, Li Y, Zhu X, Gray-McGuire C, Adams MD, Redline S. A candidate gene study of obstructive sleep apnea in European Americans and African Americans. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Oct 1;182(7):947-53.
104. Larkin EK, Patel SR, Redline S, Mignot E, Elston RC, Hallmayer J. Apolipoprotein E and obstructive sleep apnea: evaluating whether a candidate gene explains a linkage peak. *Genet Epidemiol*. 2006 Feb;30(2):101-10.
105. Lavie, P., Herer, P., & Hoffstein, V. Obstructive sleep apnoea syndrome as a risk factor for hypertension: population study. *BMJ (Clinical research ed)*. 2000;320(7233), 479–482.
106. Lee J, Duan W, Mattson MP. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem*. 2002 Sep;82(6):1367-75.
107. Leppänen T, Töyräs J, Muraja-Murro A, Kupari S, Tiihonen P, Mervaala E, Kulkas A. Length of Individual Apnea Events Is Increased by Supine Position and Modulated by Severity of Obstructive Sleep Apnea. *Sleep Disord*. 2016:9645347.
108. Liang, J., Cade, B. E., Wang, H., Chen, H., Gleason, K. J., Larkin, E. K., Saxena, R., Lin, X., Redline, S., & Zhu, X. Comparison of Heritability Estimation

- and Linkage Analysis for Multiple Traits Using Principal Component Analyses. *Genetic epidemiology*, 2016; 40(3), 222–232.
109. Lindholm D, Castrén E, Berzagli M, Blöchl A, Thoenen H. Activity-dependent and hormonal regulation of neurotrophin mRNA levels in the brain--implications for neuronal plasticity. *J Neurobiol*. 1994 Nov;25(11):1362-72.
110. Littner M, Kushida CA, Hartse K, Anderson WM, Davila D, Johnson SF, Wise MS, Hirshkowitz M, Woodson BT. Practice parameters for the use of laser-assisted uvulopalatoplasty: an update for 2000. *Sleep*. 2001 Aug 1;24(5):603-19.
111. Littner MR, Kushida C, Wise M, Davila DG, Morgenthaler T, Lee-Chiong T, Hirshkowitz M, Daniel LL, Bailey D, Berry RB, Kapen S, Kramer M; Standards of Practice Committee of the American Academy of Sleep Medicine. Practice parameters for clinical use of the multiple sleep latency test and the maintenance of wakefulness test. *Sleep*. 2005 Jan;28(1):113-21.
112. Lobbezoo, F., Ahlberg, J., Raphael, K. G., Wetselaar, P., Glaros, A. G., Kato, T., Santiago, V., Winocur, E., De Laat, A., De Leeuw, R., Koyano, K., Lavigne, G. J., Svensson, P., & Manfredini, D. International consensus on the assessment of bruxism: Report of a work in progress. *Journal of oral rehabilitation*, 2018;45(11), 837–844.
113. Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I, Inouye M, Freathy RM, Attwood AP, Beckmann JS, Berndt SI; Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes RB, Bergmann S, Bennett AJ, Bingham SA, Bochud M, Brown M, Cauchi S, Connell JM, Cooper C, Smith GD, Day I, Dina C, De S, Dermitzakis ET, Doney AS, Elliott KS, Elliott P, Evans DM, Sadaf Farooqi I, Froguel P, Ghorri J, Groves CJ, Gwilliam R, Hadley D, Hall AS, Hattersley AT, Hebebrand J, Heid IM; KORA, Lamina C,

- Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Herrera B, Hinney A, Hunt SE, Jarvelin MR, Johnson T, Jolley JD, Karpe F, Keniry A, Khaw KT, Luben RN, Mangino M, Marchini J, McArdle WL, McGinnis R, Meyre D, Munroe PB, Morris AD, Ness AR, Neville MJ, Nica AC, Ong KK, O'Rahilly S, Owen KR, Palmer CN, Papadakis K, Potter S, Pouta A, Qi L; Nurses' Health Study, Randall JC, Rayner NW, Ring SM, Sandhu MS, Scherag A, Sims MA, Song K, Soranzo N, Speliotes EK; Diabetes Genetics Initiative, Syddall HE, Teichmann SA, Timpson NJ, Tobias JH, Uda M; SardiNIA Study, Vogel CI, Wallace C, Waterworth DM, Weedon MN; Wellcome Trust Case Control Consortium, Willer CJ; FUSION, Wraight, Yuan X, Zeggini E, Hirschhorn JN, Strachan DP, Ouwehand WH, Caulfield MJ, Samani NJ, Frayling TM, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Deloukas P, McCarthy MI, Wareham NJ, Barroso I, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes RB, Lamina C, Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Kraft P, Hankinson SE, Hunter DJ, Hu FB, Lyon HN, Voight BF, Ridderstrale M, Groop L, Scheet P, Sanna S, Abecasis GR, Albai G, Nagaraja R, Schlessinger D, Jackson AU, Tuomilehto J, Collins FS, Boehnke M, Mohlke KL. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet.* 2008 Jun;40(6):768-75.
114. Lu, Z., Wu, X., Jin, X., Peng, F., & Lin, J. Apolipoprotein E $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ variant in association with obstructive sleep apnoea and lipid profile: A meta-analysis. *J Int Med Res*, 2016; 3–14.
115. Magenis RE, Smith L, Nadeau JH, Johnson KR, Mountjoy KG, Cone RD. Mapping of the ACTH, MSH, and neural (MC3 and MC4) melanocortin receptors in the mouse and human. *Mamm Genome.* 1994;5(8):503–508.
116. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science.* 1988 Apr 29;240(4852):622-30.

117. Martin WJ, MacIntyre DE. Melanocortin receptors and erectile function. *Eur Urol* 2004;45(6):706-13.
118. Mechanick JI, Kushner RF, Sugerman HJ, Gonzalez-Campoy JM, Collazo-Clavell ML, Spitz AF, Apovian CM, Livingston EH, Brolin R, Sarwer DB, Anderson WA, Dixon J, Guven S; American Association of Clinical Endocrinologists; Obesity Society; American Society for Metabolic & Bariatric Surgery. American Association of Clinical Endocrinologists, The Obesity Society, and American Society for Metabolic & Bariatric Surgery medical guidelines for clinical practice for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the bariatric surgery patient. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Apr;17 Suppl 1:S1-70, v.
119. Mediano, O., Romero-Peralta, S., Resano, P., Cano-Pumarega, I., Sánchez-de-la-Torre, M., Castillo-García, M., Martínez-Sánchez, A. B., Ortigado, A., & García-Río, F. Obstructive Sleep Apnea: Emerging Treatments Targeting the Genioglossus Muscle. *J. Clin. Med.* 2019; 8(10), 1754.
120. Metsis M, Timmusk T, Arenas E, Persson H. Differential usage of multiple brain-derived neurotrophic factor promoters in the rat brain following neuronal activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Oct 1;90(19):8802-6.
121. Mezzanotte WS1, Tangel DJ, White DP. Influence of sleep onset on upper-airway muscle activity in apnea patients versus normal controls. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Jun;153(6 Pt 1):1880-7.
122. Millman RP, Rosenberg CL, Carlisle CC, Kramer NR, Kahn DM, Bonitati AE. The efficacy of oral appliances in the treatment of persistent sleep apnea after uvulopalatopharyngoplasty. *Chest*. 1998;113(4):992-996.

123. Mogell K, Blumenstock N, Mason E, Rohatgi R, Shah S, Schwartz D. Definition of an Effective Oral Appliance for the Treatment of Obstructive Sleep Apnea and Snoring: An Update for 2019. *J Dent Sleep Med.* 2019;6(3)
124. Mokhlesi B, Finn LA, Hagen EW, Young T, Hla KM, Van Cauter E, Peppard PE. Obstructive sleep apnea during REM sleep and hypertension. results of the Wisconsin Sleep Cohort. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014 Nov 15;190(10):1158-67
125. Mokhlesi B, Hagen EW, Finn LA, Hla KM, Carter JR, Peppard PE. Obstructive sleep apnoea during REM sleep and incident non-dipping of nocturnal blood pressure: a longitudinal analysis of the Wisconsin Sleep Cohort. *Thorax.* 2015 Nov;70(11):1062-9.
126. Moreira S, Rodrigues R, Barros AB, Pejanovic N, Neves-Costa A, Pedroso D, Pereira C, Fernandes D, Rodrigues JV, Barbara C, Moita LF. Changes in Expression of the CLOCK Gene in Obstructive Sleep Apnea Syndrome Patients Are Not Reverted by Continuous Positive Airway Pressure Treatment. *Front Med (Lausanne).* 2017 Nov 6;4:187.
127. Morgenthaler T, Alessi C, Friedman L, Owens J, Kapur V, Boehlecke B, Brown T, Chesson A Jr, Coleman J, Lee-Chiong T, Pancer J, Swick TJ; Standards of Practice Committee; American Academy of Sleep Medicine. Practice parameters for the use of actigraphy in the assessment of sleep and sleep disorders: an update for 2007. *Sleep.* 2007 Apr;30(4):519-29.
128. Morgenthaler TI, Kapen S, Lee-Chiong T, Alessi C, Boehlecke B, Brown T, Coleman J, Friedman L, Kapur V, Owens J, Pancer J, Swick T; Standards of Practice Committee; American Academy of Sleep Medicine. Practice parameters for the medical therapy of obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2006 Aug;29(8):1031-5.

129. Mortimore, I. L., Marshall, I., Wraith, P. K., Sellar, R. J., & Douglas, N. J. Neck and total body fat deposition in nonobese and obese patients with sleep apnea compared with that in control subjects. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 1998;157(1), 280–283.
130. Mountjoy KG, Wild JM. Melanocortin-4 receptor mRNA expression in the developing autonomic and central nervous systems. *Brain Res Dev Brain Res* 1998;107(2):309-14.
131. Mukherjee S, Saxena R, Palmer LJ. The genetics of obstructive sleep apnoea. *Respirology*. 2018 Jan; 23(1):18-27.
132. Mun, J. K., Choi, S. J., Kang, M. R., Hong, S. B., & Joo, E. Y. Sleep and libido in men with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep medicine*, 2018; 52, 158–162.
133. Muraja-Murro A, Kulkas A, Hiltunen M, Kupari S, Hukkanen T, Tiihonen P, Mervaala E, Töyräs J. The severity of individual obstruction events is related to increased mortality rate in severe obstructive sleep apnea. *J Sleep Res*. 2013 Dec;22(6):663-9.
134. Muraja-Murro A, Nieminen O, Julkunen P, Töyräs J, Laitinen T, Mervaala E. Peri-apneic hemodynamic reactions in obstructive sleep apnea. *Pathophysiology*. 2017 Sep;24(3):197-203.
135. Nakagomi A, Okada S, Yokoyama M, Yoshida Y, Shimizu I, Miki T, Kobayashi Y, Minamino T. Role of the central nervous system and adipose tissue BDNF/TrkB axes in metabolic regulation. *NPJ Aging Mech Dis*. 2015 Oct 29;1:15009.
136. Neelapu BC, Kharbanda OP, Sardana HK, Balachandran R, Sardana V, Kapoor P, Gupta A, Vasamsetti S. Craniofacial and upper airway morphology in adult obstructive sleep apnea patients: A systematic review and meta-analysis of cephalometric studies. *Sleep Med Rev*. 2017 Feb;31:79-90.

137. Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman C. Exercise and brain neurotrophins. *Nature*. 1995 Jan 12;373(6510):109.
138. Nieto, F. J., Young, T. B., Lind, B. K., Shahar, E., Samet, J. M., Redline, S., D'Agostino, R. B., Newman, A. B., Lebowitz, M. D., Pickering, T. G. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. Sleep Heart Health Study. *JAMA*, 2000;283(14), 1829–1836.
139. Orth, M., & Bellosta, S. Cholesterol: its regulation and role in central nervous system disorders. *Cholesterol*, 2012, 292598.
140. Otero A, Félix P, Presedo J, Zamarrón C An evaluation of indexes as support tools in the diagnosis of sleep apnea. *Ann Biomed Eng*. 2012;40(8):1825–1834.
141. Palmer LJ, Buxbaum SG, Larkin E, Patel SR, Elston RC, Tishler PV, Redline S. A whole-genome scan for obstructive sleep apnea and obesity. *Am J Hum Genet*. 2003 Feb;72(2):340-50.
142. Palmer LJ, Redline S. Genomic approaches to understanding obstructive sleep apnea. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2003 May;135(2-3):187-205.
143. Parati G, Lombardi C, Narkiewicz K. Sleep apnea: epidemiology, pathophysiology, and relation to cardiovascular risk. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2007 293:4, R1671-R1683
144. Partch CL1 Green CB, Takahashi JS. Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends Cell Biol*. 2014 Feb;24(2):90-9.
145. Patterson SL, Grover LM, Schwartzkroin PA, Bothwell M. Neurotrophin expression in rat hippocampal slices: a stimulus paradigm inducing LTP in CA1 evokes increases in BDNF and NT-3 mRNAs. *Neuron*. 1992 Dec;9(6):1081-8.

146. Peever JH, Lai YY, Siegel JM. Excitatory effects of hypocretin-1 (orexin-A) in the trigeminal motor nucleus are reversed by NMDA antagonism. *J Neurophysiol.* 2003 May;89(5):2591-600.
147. Pellegrino R, Mazzotti DR, Guindalini C, Santos-Silva R, Bittencourt LR, Tufik S. Apolipoprotein E polymorphisms and sleep quality in obstructive sleep apnea syndrome. *Clin Chim Acta.* 2011 Nov 20;412(23-24):2223-7.
148. Peppard PE, Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J. Longitudinal study of moderate weight change and sleep-disordered breathing. *Jama.* 2000;284(23):3015-3021
149. Pevernagie DA, Stanson AW, Sheedy PF 2nd, Daniels BK, Shepard JW Jr. Effects of body position on the upper airway of patients with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 1995 Jul;152(1):179-85.
150. Pillai S; Nandalike K; Kogelman Y; Muzumdar R; Balk SJ; Arens R. Severe obstructive sleep apnea in a child with melanocortin-4 receptor deficiency. *J Clin Sleep Med* 2014;10(1):99-101.
151. Polesel DN, Hirotsu C, Nozoe KT, Boin AC, Bittencourt L, Tufik S, Andersen ML, Hachul H. Waist circumference and postmenopause stages as the main associated factors for sleep apnea in women: a cross-sectional population-based study. *Menopause.* 2015 Aug;22(8):835-44.
152. Prats-Puig A, Grau-Cabrera P, Riera-Pérez E, Cortés-Marina R, Fortea E, Soriano-Rodríguez P, de Zegher F, Ibáñez L, Bassols J, López-Bermejo A. Variations in the obesity genes FTO, TMEM18 and NRXN3 influence the vulnerability of children to weight gain induced by short sleep duration. *Int J Obes (Lond).* 2013 Feb;37(2):182-7.

153. Punjabi NM & Beamer BA. Alterations in Glucose Disposal in Sleep-disordered Breathing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009 Feb 1;179(3):235-40.
154. Qu F, Qiao Q, Wang N, Ji G, Zhao H, He L, et al. Genetic polymorphisms in circadian negative feedback regulation genes predict overall survival and response to chemotherapy in gastric cancer patients. *Sci Rep* 2016;6:22424.
155. Rainero I, Gallone S, Valfrè W, Ferrero M, Angilella G, Rivoiro C, Rubino E, De Martino P, Savi L, Ferrone M, Pinessi L. A polymorphism of the hypocretin receptor 2 gene is associated with cluster headache. *Neurology.* 2004 Oct 12;63(7):1286-8.
156. Ramar K, Dort LC, Katz SG, Lettieri CJ, Harrod CG, Thomas SM, Chervin RD. Clinical practice guideline for the treatment of obstructive sleep apnea and snoring with oral appliance therapy: an update for 2015. *Journal of Dental Sleep Medicine* 2015;2(3):71– 125.
157. Rana S, Mirza S, Rahmani S. The BDNF rs6265 variant may interact with overweight and obesity to influence obesity-related physical, metabolic and behavioural traits in Pakistani individuals. *Ann Hum Biol.* 2018 Sep - Dec;45(6-8):496-505.
158. Redline S., & Tishler PV. The genetics of sleep apnea. *Sleep Med Rev.* 2000 Dec;4(6):583-602.
159. Redline, S., Tishler, P.V., Hans, M.G., Tosteson, T.D., Strohl, K.P., Spry, K., Racial differences in sleep-disordered breathing in African-Americans and Caucasians. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997b; 155 (1), 186-192.
160. Roedig JJ; Phillips BA; Morford LA; Van Sickels JE; Falcao-Alencar G; Fardo DW; Hartsfield JK; Ding X; Kluemper GT. Comparison of BMI, AHI, and

- apolipoprotein E ϵ 4 (APOE ϵ 4) alleles among sleep apnea patients with different skeletal classifications. *J Clin Sleep Med* 2014;10(4):397-402.
161. Rowen L, Young J, Birditt B, Kaur A, Madan A, Philipps DL, Qin S, Minx P, Wilson RK, Hood L, Graveley BR. Analysis of the human neurexin genes: alternative splicing and the generation of protein diversity. *Genomics*. 2002;79(4):587–597.
162. Saarelainen S, Lehtimäki T, Kallonen E, Laasonen K, Poussa T, Nieminen MM. No relation between apolipoprotein E alleles and obstructive sleep apnea. *Clin Genet*. 1998 Feb;53(2):147-8.
163. Safiruddin F, Vanderveken OM, de Vries N, Maurer JT, Lee K, Ni Q, Strohl KP. Effect of upper-airway stimulation for obstructive sleep apnoea on airway dimensions. *Eur Respir J*. 2015 Jan;45(1):129-38.
164. SAGES Guidelines Committee. Guidelines for clinical application of laparoscopic bariatric surgery: Society of American Gastrointestinal and Endoscopic Surgeons; 2008. Accessed <https://www.sages.org/publications/guidelines/guidelines-for-clinical-application-of-laparoscopic-bariatric-surgery/>
165. Sakurai S., Nishijima T., Takahashi S., Yamauchi K., Arihara Z., Takahashi K. Low plasma orexin-A levels were improved by continuous positive airway pressure treatment in patients with severe obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Chest*. 2005;127 (3), pp. 731-737.
166. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of

- hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*. 1998 Feb 20;92(4):573-85.
167. Sands SA, Owens RL, Malhotra A. New Approaches to Diagnosing Sleep-Disordered Breathing. *Sleep Med Clin*. 2016;11(2):143–152.
168. Schwab RJ, Pasirstein M, Pierson R, Mackley A, Hachadoorian R, Arens R, Maislin G, Pack AI. Identification of upper airway anatomic risk factors for obstructive sleep apnea with volumetric magnetic resonance imaging. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Sep 1;168(5):522-30.
169. Schwartz, A. R., Patil, S. P., Laffan, A. M., Polotsky, V., Schneider, H., Smith, P. L. Obesity and obstructive sleep apnea: pathogenic mechanisms and therapeutic approaches. *Proc Am Thorac Soc*. 2008; 5:185–192
170. Shah F, Forsgren S, Holmlund T, Levring Jäghagen E, Berggren D, Franklin KA, Stål P. Neurotrophic factor BDNF is upregulated in soft palate muscles of snorers and sleep apnea patients. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*. 2018 Nov 28;4(1):174-180.
171. Sheats RD, Schell TG, Blanton AO, Braga PM, Demko BG, Dort LC, Farquhar D, Katz SG, Masse JF, Rogers RR, Scherr SC, Schwartz DB, Spencer J. Management of side effects of oral appliance therapy for sleep-disordered breathing. *Journal of Dental Sleep Medicine*. 2017;4(4):111–125.
172. Shore B, & Shore V. An apolipoprotein preferentially enriched in cholesteryl ester-rich very low density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 1974 May 7;58(1):1-7.
173. Slater, G., Steier, J. Excessive daytime sleepiness in sleep disorders. *Journal of thoracic disease*, 2012;4(6), 608–616.

174. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurements techniques in clinical research; the report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep*. 1999;22(5):667-89.
175. Staats R, Stoll P, Zingler D, Virchow JC, Lommatzsch M. Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) during sleep apnoea treatment. *Thorax*. 2005 Aug;60(8):688-92
176. Stoltenberg SF, Lehmann MK, Christ CC, Hersrud SL, Davies GE. Associations among types of impulsivity, substance use problems and neurexin-3 polymorphisms. *Drug Alcohol Depend*. 2011 Dec 15;119(3):e31-8.
177. Strohl KP, Brown DB, Collop N, George C, Grunstein R, Han F, Kline L, Malhotra A, Pack A, Phillips B, Rodenstein D, Schwab R, Weaver T, Wilson K; ATS Ad Hoc Committee on Sleep Apnea, Sleepiness, and Driving Risk in Noncommercial Drivers. An official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: sleep apnea, sleepiness, and driving risk in noncommercial drivers. An update of a 1994 Statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Jun 1;187(11):1259-66.
178. Strollo PJ Jr, Gillespie MB, Soose RJ, Maurer JT, de Vries N, Cornelius J, Hanson RD, Padhya TA, Steward DL, Woodson BT, Verbraecken J, Vanderveken OM, Goetting MG, Feldman N, Chabolle F, Badr MS, Randerath W, Strohl KP; Stimulation Therapy for Apnea Reduction (STAR) Trial Group. Upper Airway Stimulation for Obstructive Sleep Apnea: Durability of the Treatment Effect at 18 Months. *Sleep*. 2015 Oct 1;38(10):1593-8.
179. Sun J, Hu J, Tu C, Zhong A, Xu H. Obstructive Sleep Apnea Susceptibility Genes in Chinese Population: A Field Synopsis and Meta-Analysis of Genetic Association Studies. *PLoS One*. 2015 Aug 18;10(8):e0135942.

180. Sundaramurthy D, Campbell DA, Leek JP, Markham AF, Pieri LF. Assignment of the melanocortin 4 receptor (MC4R) gene to human chromosome band 18q22 by in situ hybridisation and radiation hybrid mapping. *Cytogenet Cell Genet.* 1998;82(1-2):97-8.
181. Sung YJ, de Las Fuentes L, Schwander KL, Simino J, Rao DC. Gene-smoking interactions identify several novel blood pressure loci in the Framingham Heart Study. *Am J Hypertens.* 2015 Mar;28(3):343-54.
182. Sutherland K, Vanderveken OM, Tsuda H3, Marklund M, Gagnadoux F, Kushida CA, Cistulli PA. Oral appliance treatment for obstructive sleep apnea: an update. *J Clin Sleep Med.* 2014 Feb 15;10(2):215-27.
183. Tan CM, Brady AE, Nickols HH, Wang Q, Limbird LE. Membrane trafficking of G protein-coupled receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:559-609.
184. Tao YX. The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocr Rev.* 2010 Aug;31(4):506-43.
185. Terrill PI, Edwards BA, Nemati S, Butler JP, Owens RL, Eckert DJ, White DP, Malhotra A, Wellman A, Sands SA. Quantifying the ventilatory control contribution to sleep apnoea using polysomnography. *Eur Respir J.* 2015 Feb;45(2):408-18.
186. Thakre TP; Mamtani MR; Kulkarni H. Lack of association of the apoe ϵ 4 allele with the risk of obstructive sleep apnea: meta-analysis and meta-regression. *SLEEP* 2009;32(11):1507-1511.
187. Thorpy MJ. Classification of sleep disorders. *Neurotherapeutics.* 2012 Oct;9(4):687-701.
188. Timmusk T, Palm K, Metsis M, Reintam T, Paalme V, Saarma M, Persson H. Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron.* 1993 Mar;10(3):475-89.

189. Trudo FJ, Geftter WB, Welch KC, Gupta KB, Maislin G, Schwab RJ. State-related changes in upper airway caliber and surrounding soft-tissue structures in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Oct;158(4):1259-70.
190. Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LR. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Med*. 2010 May;11(5):441-6.
191. Uyrum E, Balbay O, Annakkaya AN, Gulec Balbay E, Silan F, Arbak P. The relationship between obstructive sleep apnea syndrome and apolipoprotein E genetic variants. *Respiration*. 2015;89(3):195-200.
192. Van Holsbeke, Cedric, Jan De Backer, Wim Vos, Pascal Verdonck, Peter Van Ransbeeck, Tom Claessens, Marc Braem, Olivier Vanderveken, and Wilfried De Backer. Anatomical and Functional Changes in the Upper Airways of Sleep Apnea Patients Due to Mandibular Repositioning: a Large Scale Study. *Journal of Biomechanics*. 2011;44 (3): 442–49.
193. Vanderveken OM. Combination therapy for obstructive sleep apnea in order to achieve complete disease alleviation: from taboo to new standard of care. *J Dent Sleep Med* 2015;2:7–8.
194. Vos W, De Backer J, Devolder A, Vanderveken O, Verhulst S, Salgado R, Germonpre P, Partoens B, Wuyts F, Parizel P, De Backer W. Correlation between severity of sleep apnea and upper airway morphology based on advanced anatomical and functional imaging. *J Biomech*. 2007;40(10):2207-13.
195. Vroegop AV, Vanderveken OM, Boudewyns AN, Scholman J, Saldien V, Wouters K, Braem MJ, Van de Heyning PH, Hamans E. Drug-induced sleep endoscopy in sleep-disordered breathing: report on 1,249 cases. *Laryngoscope*. 2014 Mar;124(3):797-802.

196. Wang WH, He GP, Xiao XP, Gu C, Chen HY. Relationship between brain-derived neurotrophic factor and cognitive function of obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome patients. *Asian Pac J Trop Med*. 2012 Nov;5(11):906-10.
197. Wellman A, Eckert DJ, Jordan AS, Edwards BA, Passaglia CL, Jackson AC, Gautam S, Owens RL, Malhotra A, White DP. A method for measuring and modeling the physiological traits causing obstructive sleep apnea. *J Appl Physiol* (1985). 2011 Jun;110(6):1627-37.
198. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med*. 2012; 18(5):716–25.
199. White DP. Pathogenesis of obstructive and central sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Dec 1;172(11):1363-70.
200. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: WHO; 1995
201. World Health Organization. Regional Office for Europe. (1996). The Heidelberg guidelines for promoting physical activity among older persons. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/108545>
202. Xu H, Qian Y, Guan J, Yi H, Yin S. No association between the ApoE ϵ 2 and ϵ 4 alleles and the risk of obstructive sleep apnea: A systematic review and meta-analysis. *Biomedical Reports*. 2015 May;3(3):313-318.
203. Yang MY, Lin PW, Lin HC, Lin PM, Chen IY, Friedman M, Hung CF, Salapatas AM, Lin MC, Lin SF. Alternations of Circadian Clock Genes Expression and Oscillation in Obstructive Sleep Apnea. *J Clin Med*. 2019 Oct;8(10):1634.
204. Yoshizawa, T., Akashiba, T., Kurashina, K., Otsuka, K., Horie, T. Genetics and obstructive sleep apnea syndrome: a study of human leukocyte antigen (HLA) typing. *Intern. Med*. 1993, 32: 94-7.

205. Young T, Palta M, Dempsey J, Peppard PE, Nieto FJ, Hla KM. Burden of sleep apnea: rationale, design, and major findings of the Wisconsin Sleep Cohort study. *WMJ*. 2009 Aug;108(5):246-9.
206. Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med*. 1993 Apr 29;328(17):1230-5.
207. Yuan H, Wang Q, Liu Y, Yang W, He Y, Gusella JF, Song J, Shen Y. A rare exonic NRXN3 deletion segregating with neurodevelopmental and neuropsychiatric conditions in a three-generation Chinese family. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2018 Sep;177(6):589-595.
208. Yüksekaya M, Tutar N, Büyükoğlan H, Dünder M, Yılmaz İ, Gülmez İ, Oymak FS, Balta B, Korkmaz K, Demir R. The Association of Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene Polymorphism with Obstructive Sleep Apnea Syndrome and Obesity. *Lung*. 2016 Oct;194(5):839-46.
209. Zhang Z, Ma F, Zhou F, Chen Y, Wang X, Zhang H, et al. Functional polymorphisms of circadian negative feedback regulation genes are associated with clinical outcome in hepatocellular carcinoma patients receiving radical resection. *Med Oncol* 2014;31(12):179.
210. Zhao M, Barber T, Cistulli P, Sutherland K, Rosengarten G. Computational fluid dynamics for the assessment of upper airway response to oral appliance treatment in obstructive sleep apnea. *J Biomech*. 2013 Jan 4;46(1):142-50.
211. Zinchuk AV, Gentry MJ, Concato J, Yaggi HK. Phenotypes in obstructive sleep apnea: A definition, examples and evolution of approaches. *Sleep Med Rev*. 2017 Oct;35:113-123.

212. Zoccal, D. B., Bonagamba, L. G., Oliveira, F. R., Antunes-Rodrigues, J., & Machado, B. H. Increased sympathetic activity in rats submitted to chronic intermittent hypoxia. *Experimental physiology*, 2007;92(1), 79–85.
213. Zonato, A. I., Bittencourt, L. R., Martinho, F. L., Júnior, J. F., Gregório, L. C., & Tufik, S. Association of systematic head and neck physical examination with severity of obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *The Laryngoscope*. 2003; 113(6), 973–980.

Apêndice

Tabela completa de análise estatística de associação genética SAOS

Polimorfismo	Modelo genético	0	%	1	%	Unadjusted				Adjusted (age and IMC)				
						OR	lower	upper	p-value	OR	lower	upper	P-value	
BDNF_rs6265	Codominante	C--C	52	63,4	79	49,4	1				1			
		C--T	25	30,5	57	35,6	1,5	0,84	2,7	0,04125	1,5	0,79	2,84	0,17507
		T--T	5	6,1	24	15	3,16	1,13	8,81		2,34	0,8	6,82	
	Dominante	C--C	52	63,4	79	49,4	1				1			0,09098
		C/T-T/T	30	36,6	81	50,6	1,78	1,03	3,07		1,66	0,92	3	
	Recessivo	C/C-C/2	77	93,9	136	85	1				1			0,16865
		T--T	5	6,1	24	15	2,72	1	7,41		2,01	0,71	5,7	
	Heterose	C/C-T/2	57	69,5	103	64,4	1				1			0,37701
		C--T	25	30,5	57	35,6	1,26	0,71	2,23	0,42214	1,32	0,71	2,46	
log-Aditivo	0,1,2	82	33,9	160	66,1	1,66	1,1	2,51	0,01317	1,52	0,97	2,38	0,06201	
HCRTR2_rs2653349	Codominante	A--A	57	73,1	110	69,6	1				1			0,9913
		A--G	18	23,1	44	27,8	1,27	0,67	2,39	0,6563	1,05	0,52	2,11	
		G--G	3	3,8	4	2,5	0,69	0,15	3,19		0,98	0,19	5,08	
	Dominante	A--A	57	73,1	110	69,6	1				1			0,9122
		A/G-G/G	21	26,9	48	30,4	1,18	0,65	2,17	0,5813	1,04	0,53	2,02	
	Recessivo	A/A-A/G	75	96,2	154	97,5	1				1			0,9728
		G--G	3	3,8	4	2,5	0,65	0,14	2,98	0,5831	0,97	0,19	4,99	
	Heterose	A/A-G/G	60	76,9	114	72,2	1				1			0,8965
		A--G	18	23,1	44	27,8	1,29	0,68	2,42	0,43	1,05	0,52	2,11	
log-Aditivo	0,1,2	78	33,1	158	66,9	1,08	0,64	1,82	0,7682	1,02	0,58	1,79	0,9355	
MC4R_rs17782313	Codominante	T--T	54	65,9	93	59,2	1				1			0,2841
		T--C	21	25,6	50	31,8	1,38	0,75	2,54	0,5737	0,96	0,49	1,91	
		C--C	7	8,5	14	8,9	1,16	0,44	3,06		0,37	0,11	1,28	
	Dominante	T--T	54	65,9	93	59,2	1				1			0,5535
		T/C-C/C	28	34,1	64	40,8	1,33	0,76	2,32	0,3162	0,82	0,43	1,56	
	Recessivo	T/T-T/C	75	91,5	143	91,1	1				1			0,1134
		C--C	7	8,5	14	8,9	1,05	0,41	2,71	0,9212	0,38	0,11	1,26	
	Heterose	T/T-C/C	61	74,4	107	68,2	1				1			0,8022
		T--C	21	25,6	50	31,8	1,36	0,75	2,47	0,3129	1,09	0,56	2,11	
log-Aditivo	0,1,2	82	34,3	157	65,7	1,18	0,78	1,8	0,4277	0,75	0,45	1,24	0,258	
NRXN3_rs10146997	Codominante	A--A	52	64,2	102	65	1			0,9838	1			0,876

		A--G	25	30,9	48	30,6	0,98	0,54	1,76		0,98	0,52	1,85		
		G--G	4	4,9	7	4,5	0,89	0,25	3,19		0,69	0,18	2,75		
	Dominante	A--A	52	64,2	102	65	1			0,9062	1			0,8341	
		A/G-G/G	29	35,8	55	35	0,97	0,55	1,69		0,94	0,51	1,72		
	Recessivo	A/A-A/G	77	95,1	150	95,5	1				1			0,6098	
		G--G	4	4,9	7	4,5	0,9	0,26	3,16		0,868	0,7	0,18	2,72	
	Heterose	A/A-G/G	56	69,1	109	69,4	1				1			0,99	
		A--G	25	30,9	48	30,6	0,99	0,55	1,76		0,9632	1	0,54	1,88	
	log-Aditivo	0,1,2	81	34	157	66	0,96	0,61	1,53	0,8742	0,91	0,55	1,51	0,7184	
APOE_rs7412	Codominante	C--C	68	84	137	87,3	1				1				
		C--T	13	16	19	12,1	0,73	0,34	1,56	0,6222	0,43	0,18	1,04	0,1688	
		T--T	0	0	1	0,6	0				0				
	Dominante	C--C	68	84	137	87,3	1				0,4879	1			0,06828
		C/T-T/T	13	16	20	12,7	0,76	0,36	1,63		0,44	0,18	1,06		
	Recessivo	C/C-C/T	81	100	156	99,4	1				1				0,71268
		T--T	0	0	1	0,6	0				0				
	Heterose	C/C-T/T	68	84	138	87,9	1				0,403	1			0,06316
		C--T	13	16	19	12,1	0,72	0,34	1,54		0,43	0,18	1,04		
	log-Aditivo	0,1,2	81	34	157	66	0,82	0,4	1,69	0,6222	0,46	0,2	1,08	0,07921	
PER3_rs228697	Codominante	C--C	64	79	123	79,4	1				1				
		C--G	17	21	30	19,4	0,92	0,47	1,79	0,7632	0,9	0,43	1,88	0,263	
		G--G	0	0	2	1,3	0				0				
	Dominante	C--C	64	79	123	79,4	1				0,9509	1			0,9953
		C/G-G/G	17	21	32	20,6	0,98	0,51	1,9		1	0,49	2,07		
	Recessivo	C/C-C/G	81	100	153	98,7	1				0,5472	1			0,1076
		G--G	0	0	2	1,3	0				0				
	Heterose	C/C-G/G	64	79	125	80,6	1				0,7662	1			0,7318
		C--G	17	21	30	19,4	0,9	0,46	1,76		0,88	0,42	1,83		
	log-Aditivo	0,1,2	81	34,3	155	65,7	1,05	0,56	1,97	0,7632	1,12	0,57	2,2	0,7471	
PER3_rs228727	Codominante	C--C	23	28	34	21,7	1				1				
		C--T	44	53,7	86	54,8	1,32	0,7	2,51	0,4445	1,77	0,86	3,65	0,2689	
		T--T	15	18,3	37	23,6	1,67	0,75	3,71		1,77	0,74	4,26		
	Dominante	C--C	23	28	34	21,7	1				0,2749	1			0,1051
		C/T-T/T	59	72	123	78,3	1,41	0,76	2,6		1,77	0,89	3,52		
	Recessivo	C/C-C/T	67	81,7	120	76,4	1			0,3431	1			0,6249	

		T--T	15	18,3	37	23,6	1,38	0,7	2,69		1,2	0,58	2,47		
	Heterose	C/C-T/T	38	46,3	71	45,2	1			0,8691	1			0,3261	
		C--T	44	53,7	86	54,8	1,05	0,61	1,79		1,35	0,74	2,45		
	log-Aditivo	0,1,2	82	34,3	157	65,7	1,29	0,87	1,93	0,2039	1,35	0,87	2,11	0,1837	
PER3_rs228729	Codominante	C--C	44	54,3	48	30	1				1				
		C--T	29	35,8	74	46,2	2,34	1,29	4,23	0,00045	2,08	1,09	3,97	0,08197	
			T--T	8	9,9	38	23,8	4,35	1,83	10,34		1,79	0,59	5,39	
	Dominante	C--C	44	54,3	48	30	1				0,00026	1			0,02646
		C/T-T/T	37	45,7	112	70	2,77	1,6	4,82		2,04	1,08	3,82		
	Recessivo	C/C-C/T	73	90,1	122	76,2	1				0,00679	1			0,84875
		C--T	8	9,9	38	23,8	2,84	1,26	6,43		1,1	0,4	3,03		
	Heterose	C/C-T/T	52	64,2	86	53,8	1				0,11969	1			0,04807
		C--T	29	35,8	74	46,2	1,54	0,89	2,68		1,83	1	3,34		
	log-Aditivo	0,1,2	81	33,6	160	66,4	2,16	1,44	3,23	0,000094	1,59	0,97	2,63	0,0659	
APOE_rs429358	Codominante	T--T	66	81,5	117	74,1	1				1				
		T--C	13	16	33	20,9	1,43	0,7	2,91	0,3688	1,11	0,52	2,41	0,3383	
		C--C	2	2,5	8	5,1	2,26	0,47	10,94		3,33	0,59	18,7		
	Dominante	T--T	66	81,5	117	74,1	1				0,1929	1			0,4144
		T/C-C/C	15	18,5	41	25,9	1,54	0,79	3		1,35	0,66	2,77		
	Recessivo	T/T-T/C	79	97,5	150	94,9	1				0,3223	1			0,148
		C--C	2	2,5	8	5,1	2,11	0,44	10,16		3,28	0,59	18,4		
	Heterose	T/T-C/C	68	84	125	79,1	1				0,3637	1			0,8764
		T--C	13	16	33	20,9	1,38	0,68	2,8		1,06	0,49	2,29		
	log-Aditivo	0,1,2	81	33,9	158	66,1	1,46	0,85	2,53	0,1587	1,41	0,79	2,51	0,2388	
PER3_rs10462020	Codominante	T--T	59	72	116	73,9	1				1				
		T--G	20	24,4	36	22,9	0,92	0,49	1,72	0,9456	0,85	0,43	1,71	0,8984	
		G--G	3	3,7	5	3,2	0,85	0,2	3,67		0,87	0,18	4,2		
	Dominante	T--1	59	72	116	73,9	1				0,7491	1			0,644
		T/G-G/G	23	28	41	26,1	0,91	0,5	1,65		0,86	0,44	1,65		
	Recessivo	T/T-T/G	79	96,3	152	96,8	1				0,8477	1			0,9033
		G--G	3	3,7	5	3,2	0,87	0,2	3,72		0,91	0,19	4,33		
	Heterose	T/T-G/G	62	75,6	121	77,1	1				0,8007	1			0,6662
		T--G	20	24,4	36	22,9	0,92	0,49	1,73		0,86	0,43	1,71		
	log-Aditivo	0,1,2	82	34,3	157	65,7	0,92	0,56	1,52	0,7381	0,89	0,51	1,53	0,6698	

Anexo

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (SWAB BUCAL)

Nº Registro COEP: _____

Título do Projeto: “AVALIAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO E SUA CORRELAÇÃO COM FENÓTIPO DO PACIENTE COM APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO VISANDO O DIAGNÓSTICO PRECOCE E INTERVENÇÃO TERAPÊUTICA DIRECIONADA”

O senhor (a) está sendo convidado (a) a participar, como voluntário, na pesquisa intitulada: "AVALIAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO E SUA CORRELAÇÃO COM FENÓTIPO DO PACIENTE COM APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO VISANDO O DIAGNÓSTICO PRECOCE E INTERVENÇÃO TERAPÊUTICA DIRECIONADA". O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que está sendo realizada. Sua colaboração neste estudo é muito importante, mas a decisão de participar deve ser sua. Para tanto, leia atentamente as informações abaixo. Se você não concordar em participar ou quiser desistir em qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você. Se você concordar em participar basta preencher os seus dados e assinar a declaração concordando com a pesquisa. Caso tenha alguma dúvida pode esclarecê-la com o responsável pela pesquisa, Dra. Maria de Lourdes Rabelo Guimarães. Obrigada.

Objetivo do estudo

A identificação dos genes e sua relação com os fenótipos da síndrome da apneia obstrutiva do sono fornecerá indicadores importantes para seu diagnóstico precoce, prevenção e intervenção terapêutica direcionada. O objetivo desse estudo é compreender os mecanismos genéticos envolvidos no surgimento e nas manifestações clínicas da síndrome da apneia obstrutiva do sono.

Procedimentos

Serão incluídos nesta pesquisa tanto indivíduos portadores da síndrome da apneia obstrutiva do sono, quanto alguns outros indivíduos não acometidos pela doença, desde que concordem e assinem o termo de consentimento livre e esclarecido. Não serão administrados aos pacientes quaisquer medicamentos. A única realização prática aos

quais os pacientes serão submetidos será a coleta de saliva por meio de um “swab bucal”, uma espécie de escovinha, que será passada levemente na parte interna de sua boca (bochechas) por um pesquisador. A coleta será realizada com material estéril, descartável e por pessoas devidamente treinadas. O material colhido será devidamente etiquetado e utilizado somente para os propósitos dessa pesquisa, não havendo quaisquer custos para o paciente. Serão acessadas as informações de prontuários clínicos e dos exames de polissonografias já realizadas na clínica odontológica. As informações obtidas serão objeto de estrita confidencialidade e não envolvem custos ou pagamento de qualquer espécie.

Pesquisadores

A equipe de pesquisadores é composta pelos seguintes pesquisadores: Dra. Luciana Bastos Rodrigues (coordenadora da pesquisa), professora do Departamento de Nutrição da UFMG e Dra. Maria de Lourdes Rabelo Guimarães, aluna de mestrado em Medicina Molecular da UFMG.

Confidencialidade

Todos os dados dessa pesquisa serão mantidos em sigilo e apenas a equipe de pesquisadores terá acesso a eles. Os dados obtidos serão tratados de forma a resguardar o participante, e somente serão divulgados de forma agregada, sem possibilidade de identificação. Porém os resultados da pesquisa serão utilizados em trabalhos científicos publicados ou apresentados oralmente em congressos e palestras sem revelar sua identidade. Os dados obtidos durante a pesquisa são confidenciais e não serão usados para outros fins.

RUBRICAS	
Voluntário/Participante	Pesquisador Responsável
<hr/> Assinatura	<hr/> Assinatura
Nome:	Nome:
<hr/>	<hr/>

CPF: _____. _____._____ - _____	CPF: _____. _____._____ - _____
---------------------------------	---------------------------------

Cada participante receberá um código garantindo confidencialidade de sua identidade. Caso o (a) senhor (a) queira, terá acesso aos resultados individuais.

Benefícios e riscos

Esta pesquisa oferece riscos mínimos ao participante, aqueles inerentes à própria coleta de saliva por meio da utilização do “swab” bucal, tais como dor, desconforto no local da coleta. Todos cuidados necessários para minimizar esses riscos serão tomados e pessoas devidamente treinadas realizarão as coletas. Será assegurado aos participantes o direito de recusa a participar do estudo através do termo de consentimento livre e esclarecido. Os benefícios desse estudo serão o de possibilitar o aprimoramento do diagnóstico precoce, prevenção e tratamento da apneia do sono melhor direcionada para a população nacional. Não haverá qualquer tipo de despesa ao participante, no que tange a materiais ou testes. Ao assinar esse termo de consentimento o senhor (a) não está abrindo mão de seus direitos legais. Esse documento seguirá em duas vias com espaço destinado para rubricas na primeira página.

Através deste documento fica assegurado o direito ao Sr(a) _____ que terá todos os esclarecimentos relativos à pesquisa garantidos, incluindo os métodos utilizados. A partir do momento que o paciente participante da pesquisa não desejar mais fazer parte da pesquisa, é reservado o direito de se retirar, estando livre de sofrer quaisquer penalidades ou danos. Se no transcorrer da pesquisa surgir alguma dúvida, poderá o participante procurar um dos pesquisadores: Dra. Luciana Bastos Rodrigues (coordenadora da pesquisa) pelo e-mail lu.bastosr@gmail.com, Dra. Maria de Lourdes Rabelo Guimarães pelo e-mail mlourdesrg@gmail.com, e, no tel. 3409-9134 (UFMG) ou no tel. (031) 98775-7671. O COEP poderá ser contatado em caso de dúvidas éticas (Telefax: 3409-4592).

Eu, _____, paciente voluntário, dou consentimento livre e esclarecido, para que se façam os testes necessários a esta pesquisa e posterior uso e publicação dos dados nos relatórios finais e conclusivos, a fim de que estes sirvam para beneficiar a ciência e a humanidade.

Declaro que recebi uma via do presente Termo de Consentimento.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 20 _____

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

Maria de Lourdes Rabelo Guimarães

Caso o Sr.(a) queira se informar sobre o projeto, independentemente da equipe do Coordenador, favor contatar:

COEP (Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG)

Universidade Federal de Minas Gerais

Campus da Pampulha

Av. Antônio Carlos, 6627, 2º andar – sala 2005- Unidade Administrativa II

CEP 31270-901

Telefone: (31) 3409-4592

Anexo

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (SANGUE)

Nº Registro COEP: _____

Título do Projeto: “AVALIAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO E SUA CORRELAÇÃO COM FENÓTIPO DO PACIENTE COM APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO VISANDO O DIAGNÓSTICO PRECOCE E INTERVENÇÃO TERAPÊUTICA DIRECIONADA”

O senhor (a) está sendo convidado (a) a participar, como voluntário, na pesquisa intitulada: "AVALIAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO E SUA CORRELAÇÃO COM FENÓTIPO DO PACIENTE COM APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO VISANDO O DIAGNÓSTICO PRECOCE E INTERVENÇÃO TERAPÊUTICA DIRECIONADA". O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que está sendo realizada. Sua colaboração neste estudo é muito importante, mas a decisão de participar deve ser sua. Para tanto, leia atentamente as informações abaixo. Se você não concordar em participar ou quiser desistir em qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você. Se você concordar em participar basta preencher os seus dados e assinar a declaração concordando com a pesquisa. Caso tenha alguma dúvida pode esclarecê-la com o responsável pela pesquisa, Dra. Maria de Lourdes Rabelo Guimarães. Obrigada.

Objetivo do estudo

A identificação dos genes e sua relação com os fenótipos da síndrome da apneia obstrutiva do sono fornecerá indicadores importantes para seu diagnóstico precoce, prevenção e intervenção terapêutica direcionada. O objetivo desse estudo é compreender os mecanismos genéticos envolvidos no surgimento e nas manifestações clínicas da síndrome da apneia obstrutiva do sono.

Procedimentos

Serão incluídos nesta pesquisa tanto indivíduos portadores da síndrome da apneia obstrutiva do sono, quanto alguns outros indivíduos não acometidos pela doença, desde que concordem e assinem o termo de consentimento livre e esclarecido. Não serão

administrados aos pacientes quaisquer medicamentos. A única realização prática aos quais os pacientes serão submetidos será a coleta de sangue total (4 ml). O desconforto associado à coleta de sangue é o habitual de um exame de sangue de rotina. A coleta será realizada com material estéril, descartável e por pessoas devidamente treinadas. O material colhido será devidamente etiquetado e utilizado somente para os propósitos dessa pesquisa, não havendo quaisquer custos para o paciente. Serão acessadas as informações de prontuários clínicos e dos exames de polissonografias já realizadas pelos participantes na empresa Água Branca. As informações obtidas serão objeto de estrita confidencialidade e não envolvem custos ou pagamento de qualquer espécie.

Pesquisadores

A equipe de pesquisadores é composta pelos seguintes pesquisadores: Dra. Luciana Bastos Rodrigues (coordenadora da pesquisa), professora do Departamento de Nutrição da UFMG e Dra. Maria de Lourdes Rabelo Guimarães, aluna de mestrado em Medicina Molecular da UFMG.

Confidencialidade

Todos os dados dessa pesquisa serão mantidos em sigilo e apenas a equipe de pesquisadores terá acesso a eles. Os dados obtidos serão tratados de forma a resguardar o participante, e somente serão divulgados de forma agregada, sem possibilidade de identificação. Porém os resultados da pesquisa serão utilizados em trabalhos científicos publicados ou apresentados oralmente em congressos e palestras sem revelar sua identidade. Os dados obtidos durante a pesquisa são confidenciais e não serão usados para outros fins.

RUBRICAS	
Voluntário/Participante	Pesquisador Responsável
<hr/> Assinatura	<hr/> Assinatura
Nome:	Nome:
<hr/>	<hr/>

CPF: _____. _____._____ - _____	CPF: _____. _____._____ - _____
---------------------------------	---------------------------------

Cada participante receberá um código garantindo confidencialidade de sua identidade. Caso o (a) senhor (a) queira, terá acesso aos resultados individuais.

Benefícios e riscos

Esta pesquisa oferece riscos mínimos ao participante, aqueles inerentes à própria coleta de sangue total, tais como dor, hematoma ou outro desconforto no local da coleta. Todos os cuidados necessários para minimizar esses riscos serão tomados e pessoas devidamente treinadas realizarão as coletas. Será assegurado aos participantes o direito de recusa a participar do estudo através do termo de consentimento livre e esclarecido. Os benefícios desse estudo serão o de possibilitar o aprimoramento do diagnóstico precoce, prevenção e tratamento da apneia do sono melhor direcionada para a população nacional. Não haverá qualquer tipo de despesa ao participante, no que tange a materiais ou testes. Ao assinar esse termo de consentimento o senhor (a) não está abrindo mão de seus direitos legais. Esse documento seguirá em duas vias com espaço destinado para rubricas na primeira página.

Através deste documento fica assegurado o direito ao Sr(a) _____ que terá todos os esclarecimentos relativos à pesquisa garantidos, incluindo os métodos utilizados. A partir do momento que o paciente participante da pesquisa não desejar mais fazer parte da pesquisa, é reservado o direito de se retirar, estando livre de sofrer quaisquer penalidades ou danos. Se no transcorrer da pesquisa surgir alguma dúvida, poderá o participante procurar um dos pesquisadores: Dra. Luciana Bastos Rodrigues (coordenadora da pesquisa) pelo e-mail lu.bastors@gmail.com, Dra. Maria de Lourdes Rabelo Guimarães pelo e-mail mlourdesrg@gmail.com, e, no tel. 3409-9134 (UFMG) ou no tel. (031) 98775-7671. O COEP poderá ser contatado em caso de dúvidas éticas (Telefax: 3409-4592).

Eu, _____, paciente voluntário, dou consentimento livre e esclarecido, para que se façam os testes necessários a esta pesquisa e posterior uso e publicação dos dados nos relatórios finais e conclusivos, a fim de que estes sirvam para beneficiar a ciência e a humanidade.

Declaro que recebi uma via do presente Termo de Consentimento.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 20_____

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

Maria de Lourdes Rabelo Guimarães

Caso o Sr.(a) queira se informar sobre o projeto, independentemente da equipe do Coordenador, favor contatar:

COEP (Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG)

Universidade Federal de Minas Gerais

Campus da Pampulha

Av. Antônio Carlos, 6627, 2º andar – sala 2005- Unidade Administrativa II

CEP 31270-901

Telefone: (31) 3409-4592