



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

MARIGNÊS THEOTONIO DOS SANTOS DUTRA

**ANÁLISE DOS NÍVEIS DE CORTISOL SALIVAR EM JOVENS E
ADULTOS COM SÍNDROME DE DOWN E APNEIA OBSTRUTIVA
DO SONO: estudo transversal**

MARIGNÊS THEOTONIO DOS SANTOS DUTRA

**ANÁLISE DOS NÍVEIS DE CORTISOL SALIVAR EM JOVENS E ADULTOS COM
SÍNDROME DE DOWN E APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO: estudo transversal**

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTORA pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Área: Patologia. Linha de pesquisa: Pacientes com necessidades especiais.

Orientador: Professor Titular Dr. Sigmar de Mello Rode
Coorientadora: Professora Adjunta Dra. Mônica Fernandes Gomes

São José dos Campos

2020

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2020]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Dutra, Marignês Theotonio dos Santos

Análise dos níveis de cortisol salivar em jovens e adultos com síndrome de Down e apneia obstrutiva do sono: estudo transversal / Marignês Theotonio dos Santos Dutra. - São José dos Campos : [s.n.], 2020.
85 f. : il.

Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2020.

Orientador: Sigmar de Mello Rode

Coorientador: Mônica Fernandes Gomes

1. Síndrome de Down . 2. Saliva. 3. Cortisol. 4. Apneia obstrutiva do sono. I. Rode, Sigmar de Mello , orient. II. Gomes, Mônica Fernandes, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Professor Titular Doutor Sigmar de Mello Rode (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Professora Assistente Doutora Regina Paolucci El Dib

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Professor Assistente Doutor João Carlos da Rocha

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Professora Doutora Mônica Ghislaine Oliveira Alves

Universidade Anhembi Morumbi (UAM)

Faculdade de Medicina

Campus de São José dos Campos

Professor Assistente Doutor Ricardo Amore

Universidade Mogi das Cruzes (UMC/SP)

Departamento de Ciências e Saúde

Campus de Mogi das Cruzes/SP

São José dos Campos, 29 de julho de 2020.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao meu marido Eduardo Pedrazza Dutra, amado companheiro de jornada, e aos meus filhos Marília Theotonio Dutra e Felipe Theotonio Dutra, que são a razão da minha vida, cujo incentivo, paciência e compreensão pelos períodos de ausência e exaustão, permitiram a mim a concentração necessária para conclusão deste projeto. Meu amor incondicional a vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus através dos Espíritos de Luz por me concederem o privilégio da experiência terrena e a inspiração para me dedicar à ciência sagrada da saúde e a busca da melhora da qualidade de vida daqueles que me procuram e confiam no meu trabalho.

Agradeço à minha família terrena, na figura dos meus pais Professor José Theotonio dos Santos (*in memorian*) e Professora Eletiz Pereira Theotonio dos Santos que sempre foram o meu maior exemplo de fé, dedicação e humanismo. Moldaram todo o meu caráter, e seus ensinamentos inspiram minha disposição para enfrentar as adversidades da vida, sempre com equilíbrio e fé no momento das tomadas de decisões. E também ao meu querido irmão Professor Dr. João Manoel Theotonio dos Santos por ser sempre um grande exemplo e incentivo no caminho do saber.

Agradeço à querida Valéria de Paula Bastos Borges, minha amiga de muitas vidas, por sua dedicação em me oferecer suporte profissional necessário na minha clínica enquanto estava afastada para desenvolvimento desse projeto.

Agradeço a Professora Dra. LÍlian Chrystianne Giannasi Marson, minha amiga de muitas vidas e parceira de trabalho; sua amizade, conhecimento e entusiasmo foram fundamentais em todos os momentos dessa jornada.

Agradeço ao Professor Dr. Sigmar de Mello Rode pela sua sabedoria e experiência durante a orientação. Obrigada por sua amizade e disponibilidade.

Agradeço à Professora Dra. Mônica Fernandes Gomes, minha querida coorientadora, por sua dedicação, seu conhecimento, amizade, generosidade, disponibilidade, incentivo e incansável disposição ao trabalho.

Agradeço ao Professor Dr. João Carlos da Rocha pela sua amizade, disponibilidade e grande colaboração por abrir as portas do Núcleo Especializado de atendimento a Pacientes com Necessidades Especiais – NEAPE.

Agradeço a Professora Dra. Luciane Dias de Oliveira pela sua competência e dedicação em coordenar o Programa de Pós-Graduação no Departamento de Biopatologia ICT UNESP, sua amizade, disponibilidade e generosidade foram fundamentais em momentos importantes.

Agradeço à Professora Dra. Mônica Ghislaine Oliveira Alves por ser sempre tão solícita. Seu entusiasmo é contagiante.

Agradeço a todos os professores que fizeram parte dos créditos, por sua disposição em compartilhar seu grande conhecimento e por fazerem de seus alunos professores e pesquisadores preparados para os desafios que ainda estão por vir.

Agradeço aos colegas do Doutorado, cujo apoio e trocas de experiências foram fundamentais em vários momentos, em especial à querida amiga Dra. Tatiana Goldsmid Galvão Prota de Rezende, por dividir comigo as dificuldades e alegrias do Doutorado.

Agradeço ao Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT) / Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), por toda a estrutura física, funcionários e por seus professores, que nos proporcionaram momentos preciosos de convivência e aprendizado durante toda essa jornada, mantendo sempre as portas abertas para os curiosos da ciência.

Agradeço aos meus queridos colegas da equipe CEBAPE (Centro de Biociências Aplicado a Pacientes com Necessidades Especiais), na figura do Professor Miguel, Professora Cristiane e Professor Amorim, das mestrandas Elaine e Laura, das mestras Vera e Marcela, das queridas Clélia e Graça, dos melhores alunos que eu poderia ter convivido, Amanda, Caroline, Cássio, Gabriela, Jacqueline, Letícia e Pedro todos vocês foram fundamentais.

Agradeço a Biomédica Roberta Facioli, seu suporte técnico foi fundamental.

Agradeço às bibliotecárias Ana Paula Matozzo Durante e Renata AP Couto Martins e à Ms Keila Cristina Miranda pela dedicação e disponibilidade.

Agradeço ao Professor Dr. Adriano Bressame e ao Professor Dr. Morun Bernardino Neto pelo auxílio na análise estatística.

Agradeço aos professores da banca Professora Regina, Professor João Carlos, Professor Ricardo, Professora Mônica, Professor Miguel, Professor Sigmar (meu orientador), pelo aceite e inestimável colaboração.

E o meu eterno agradecimento aos adultos e jovens com Síndrome de Down e seus cuidadores e familiares pelo seu interesse, disponibilidade, generosidade e por compartilharem conosco suas experiências, dores e alegrias, e nos receberem tão bem em seus lares, com carinho de quem recebe amigos, para que os procedimentos necessários fossem realizados. Vocês mudaram a minha vida!

EPÍGRAFE

"47 cromossomos, infinitas possibilidades - Pessoas especiais são como borboletas; cores, formatos e texturas diversas, algumas voam rápidas, outras nem tanto, mas todas se esforçam para voarem do seu melhor jeito".

Autor desconhecido

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	09
LISTA DE QUADROS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 A Síndrome de Down	18
1.1.1 Aspectos genotípicos - o diagnóstico	21
1.1.2 Aspectos ambientais que influenciam a síndrome de Down	22
1.1.3 Aspectos fenotípicos - limitações determinantes da SD	23
1.1.4 Comorbidades associadas à síndrome de Down.....	26
1.2. Aspectos do sono	27
1.2.1 Apneia obstrutiva do sono - AOS.....	29
1.3 O cortisol	32
1.4 A saliva.....	37
1.5 Justificativa do estudo	42
2 PROPOSIÇÃO	43
2.1 Objetivo geral.....	43
2.1.2 Objetivos específicos.....	43
3 MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1 Seleção dos voluntários	44
3.1.1 Critérios de inclusão e não inclusão	45
3.2 Protocolo da pesquisa	45
3.2.1 Procedimentos clínicos e ambulatoriais	46
3.2.1.1 Adequação da cavidade bucal	46
3.2.1.2 Coleta de amostras de saliva.....	46
3.2.1.3 Determinação do fluxo salivar - sialometria.....	49
3.2.1.4 Determinação da viscosidade salivar - fiabilidade	50
3.2.1.4.1 Interpretação da fiabilidade salivar	51

3.2.2 Procedimentos laboratoriais.....	52
3.2.2.1 Determinação da capacidade tampão (CT) da saliva.....	52
3.2.2.2 Determinação de níveis de cortisol salivar	52
3.3 Cálculo Amostral e Análise Estatística	54
3.3.1 Determinação da amostra	54
3.3.2 Pré-testes de premissas da estatística paramétrica	54
3.3.3 Teste de correlação entre graus de AOS e demais variáveis.....	54
3.3.4 Teste de diferenciação estatística por análise de variâncias.....	55
3.3.5 Teste de dependência entre variáveis por análise de regressão	55
4 RESULTADOS.....	56
5 DISCUSSÃO	60
6 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	66
ANEXOS	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tripé da Síndrome de Down.....	20
Figura 2 - Trissomia do Cromossomo 21.....	21
Figura 3 - Respiração normal e respiração obstruída	30
Figura 4 - Secreção do cortisol em um ciclo circadiano.....	33
Figura 5 - Esquema da atividade do eixo HHA.....	35
Figura 6 - Procedimento de coleta de amostra de saliva	48
Figura 7 - Sialogogo mecânico.....	49
Figura 8 - Determinação do fluxo salivar	50
Figura 9 - Determinação da viscosidade/fiabilidade salivar	51
Figura10 - Níveis de cortisol /amostras de saliva matinal e noturna	57
Figura 11 - Teste de correlação de Wicoxon.....	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Características Fenotípicas da Síndrome de Down.....	24
Quadro 2 - Classificação Internacional de Funcionalidade	25
Quadro 3 - Hiper cortisolismo e Hipocortisolismo.....	36
Quadro 4 - Critérios de Inclusão e não inclusão.....	45
Quadro 5 - Proposta de protocolo para coleta de amostra de saliva.....	47
Quadro 6 - Valores de variância para determinação de cortisol salivar	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diagnóstico de AOS e níveis de cortisol salivar matinal e noturno56

Tabela 2 - Resultados Sialométricos e Sialoquímicos57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOS	APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO
CID	CLASSIFICAÇÃO INTERNACIONAL DE DOENÇAS
CIF	CLASSIFICAÇÃO INTERNACIONAL DE FUNCIONABILIDADE
CSD	CORTISOL SALIVAR DIURNO
CSN	CORTISOL SALIVAR NOTURNO
CT	CAPACIDADE TAMPÃO
DA	DOENÇA DE ALZHEIMER
GS	GLÂNDULAS SALIVARES
HHA	EIXO HIPOTÁLAMO HIPÓFISE ADRENAL
HP	HIPOTONIA
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE
SD	SÍNDROME DE DOWN
SNA	SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO
SS	SECREÇÃO SALIVAR
TFS	TAXA FLUXO SALIVAR
VIS	VISCOSIDADE

Dutra MTS. Análise dos níveis de cortisol salivar em jovens e adultos com síndrome de Down e apneia obstrutiva do sono: estudo transversal [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2020.

RESUMO

A apneia obstrutiva do sono (AOS) é um transtorno potencialmente grave e altamente prevalente na síndrome de Down (SD), sendo de grande relevância o conhecimento de causa e efeito entre essas duas condições. A AOS desencadeia eventos estressantes como esforços respiratórios e alteração da pressão arterial. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) constitui-se em um conjunto de interações responsivas ativadas a partir de estímulos estressores, tendo como um dos produtos finais a secreção do cortisol, sendo esse o principal hormônio glicocorticoide secretado pelas glândulas adrenais, com funções de controlar as reações ao estresse. Estudos buscam identificar uma relação entre a AOS e as variáveis circadianas do cortisol, afim de encontrar biomarcadores que possam facilitar a detecção e avaliação de risco para AOS. Este estudo transversal mapeou os padrões matinais e noturnos de cortisol salivar em um grupo de jovens e adultos com SD, e avaliou as associações entre os níveis de cortisol e a presença de AOS (leve, moderada e grave). Os níveis de cortisol foram obtidos por meio de amostras salivares, por ser um biofluido que apresenta um excelente índice da fração livre do cortisol com resultados confiáveis, além da vantagem de ser um exame não invasivo e eficiente. Em adição, parâmetros salivares de cada participante foram avaliados por medidas sialométricas e sialoquímicas, obtendo-se valores da capacidade tampão, taxa de fluxo salivar e viscosidade. Foram selecionados 23 jovens e adultos com SD e AOS, de ambos os gêneros, com idades entre 18 e 26 anos, e submetidos a coletas de amostras de saliva em diferentes horários respeitando as variáveis fisiológicas do ciclo circadiano, para avaliações sialométricas e sialoquímicas. As coletas de saliva foram realizadas através de uma bomba de sucção adaptada para essa finalidade, e as análises de cortisol salivar por meio de um kit enzima imunoensaio. O resultado mostrou que não houve significância estatística entre AOS e as variáveis exploratórias gênero, cortisol salivar matinal e noturno, fluxo salivar, viscosidade e capacidade tampão. Os graus de AOS (leve, moderada e grave) não tiveram efeito significativo sobre cortisol salivar matinal e noturno. Todos os participantes apresentaram baixas taxas de fluxo salivar, capacidade tampão dentro de padrões de normalidade e, pelo menos metade dos participantes, apresentou baixos níveis de viscosidade salivar. Concluímos que a maioria dos jovens e adultos com SD e AOS, apresentou condição de normocortisolismo em ambos os períodos matinal e noturno, sugerindo ausência de risco de estresse psicológico e/ou físico. Apesar de não haver significância estatística, foram detectados quadros de hipercortisolismo e hipocortisolismo em períodos distintos e com diferentes graus de AOS. Os níveis de cortisol salivar apresentaram-se heterogêneos nos pacientes com SD independente dos graus de AOS. Por fim, foi observada redução na secreção e viscosidade salivar, com impacto negativo para mastigação, deglutição, fonação e percepção do paladar, sugerindo que seja realizada gestão salivar em pessoas com SD.

Palavras-chave: Síndrome de Down. Saliva. Cortisol. Apneia obstrutiva do sono.

Dutra MTS. Analysis of salivary cortisol levels in young people and adults with Down syndrome and obstructive sleep apnea: cross-sectional study [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Institute of Science and Technology; 2020.

ABSTRACT

Obstructive sleep apnea (OSA) is a potentially serious and highly prevalent disorder in Down syndrome (DS), with great relevance the knowledge of cause and effect between these two conditions. OSA triggers stressful events such as breathing efforts and changes in blood pressure. The hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis is a set of responsive interactions activated from stressful stimuli, with cortisol secretion as one of the end products, which is the main glucocorticoid hormone secreted by the adrenal glands, with functions to control the reactions to stress. Studies seek to identify a relationship between OSA and circadian cortisol variables, in order to find biomarkers that can facilitate the detection and risk assessment for OSA. This cross-sectional study mapped the morning and night patterns of salivary cortisol in a group of young people and adults with DS, and assessed the associations between cortisol levels and the presence of OSA (mild, moderate and severe). Cortisol levels were obtained by means of salivary samples, as it is a biofluid that has an excellent index of the free fraction of cortisol with reliable results, as well to the advantage of being a non-invasive and efficient test. In addition, salivary parameters of each participant were evaluated by sialometric and sialochemical measurements, obtaining values of buffer capacity, salivary flow rate and viscosity. Method: 23 young people and adults with DS and OSA, of both genders, aged between 18 and 26 years old, were selected and submitted to the collection of saliva samples at different times respecting the physiological variables of the circadian cycle, for sialometric and sialochemical evaluations. Saliva collections were performed using a suction pump adapted for this purpose, and salivary cortisol analysis using an immunoassay enzyme kit. Results: There was no statistical significance in the association between OSA and the exploratory variables gender, morning and night salivary cortisol, salivary flow, viscosity and buffer capacity. The degrees of OSA (mild, moderate and severe) had no significant effect on morning and evening salivary cortisol. All participants had low salivary flow rates, buffer capacity within normal standards, and at least half of the participants had low levels of salivary viscosity. Conclusion: The majority of young people and adults with DS and OSA showed a condition of normocortisolism in both morning and night periods, suggesting the absence of risk of psychological and / or physical stress. Although there was no statistical significance, hypercortisolism and hypocortisolism were detected in different periods and with different degrees of OSA. Salivary cortisol levels were heterogeneous in DS patients regardless of OSA degrees. Finally, a reduction in salivary secretion and viscosity was observed, with a negative impact on chewing, swallowing, phonation and perception of taste, suggesting that salivary management be performed in people with DS.

Keywords: Down syndrome. Saliva. Cortisol. Obstructive sleep apnea.

1 INTRODUÇÃO

A síndrome de Down (SD) é um modo de estar no mundo que demonstra a diversidade humana (Brasil, 2013). Constitui-se em uma das alterações cromossômicas mais frequentes no ser humano, denominada aneuploidia autossômica, e sua caracterização se dá por três variáveis que são deficiência intelectual, hipotonia muscular generalizada e aspectos fenotípicos clássicos (baixa estatura, cabelos finos, dismorfia craniofacial, dentre outros aspectos). A SD está entre as condições geneticamente mais complexas que são compatíveis com a sobrevivência humana pós-termo (Down, 1887; Antonarakis et al., 2020).

O fundamento genético desta alteração cromossômica encontra-se apoiado na trissomia do cromossomo 21. É característica dos seres humanos possuírem em suas células 46 cromossomos dispostos em 23 pares, na síndrome de Down o cromossomo 21 apresenta-se em trio, somando-se 47 cromossomos no total (Hecht, 1994; Lejeune, Turpin, 1959). Existem três formas citogenéticas da SD, sendo 95% dos casos apresenta-se como trissomia simples, 3,5% como mosaicismos e 1,5% como translocação robertsoniana, sendo esse último tem características de hereditariedade (Plaiaasu, 2017).

Os fatores de risco para a SD estão enumerados na literatura científica como genéticos e epigenéticos. Em seu estudo, Coppédè (2016) afirma que o nascimento de uma criança com SD é o resultado de um cenário complexo de genes, interações ambientais e processos de seleção podendo envolver diferentes gerações.

Uma cópia extra do cromossomo humano 21 leva, além das alterações fenotípicas, a presença de uma série de comorbidades associadas a essa condição como comprometimento no sistema imunológico, cardiopatias congênitas (defeitos do septo átrio-ventricular, defeito do septo ventricular, defeito do septo atrial, comunicação interventricular, comunicação interarterial e persistência do canal arterial), disfunção tireoidiana, leucemia, neuropatia conduzindo à demência como a doença de Alzheimer, dentre outras (Sato et al., 2010; Asim et al., 2015; Bermudez et al., 2015; Schwertner et al., 2016; Domingues et al., 2017; Duarte et al., 2017). O diagnóstico precoce e tomadas de decisões terapêuticas preliminares, são relevantes em equipes de saúde multidisciplinares, para que a atuação imediata e adequada possa reduzir o impacto

clínico e social. Essa condição pode afetar todos os grupos étnicos e níveis socioeconômicos (Davidovich et al., 2010; Schwertner et al., 2016).

Dentre as várias comorbidades associadas a SD, destacamos a apneia obstrutiva do sono (AOS) que é um distúrbio complexo causado por episódios repetidos de colapso e obstrução das vias aéreas superiores associados à excitação que ocorrem durante o sono, gerando ativação do eixo Hipotálamo/Pituitária/Adrenal (HPA), com consequências clínicas significativas, e é altamente prevalente em crianças com síndrome de Down, apresentando índices em torno de 50 a 100%. As estimativas atuais colocam essa prevalência se aproximando de 100% na idade adulta em pessoas com síndrome de Down, cujo fator alarmante é que, para esses indivíduos, a apneia obstrutiva do sono tende a ser mais grave do que para pessoas que não possuam a SD (Sato et al., 2010; Bermudez et al., 2015; Duarte et al., 2017; Rundo, 2019).

A ativação eixo HPA (também chamado de sistema neuroendócrino), ocorre a partir de um estímulo estressante, e a cessação de tal estímulo gera um feed back negativo modulando secreções hormonais, sistema nervoso central e autônomo, sistema cardiovascular e sistema imunológico. O cortisol é o principal hormônio glicocorticoide secretado pelas glândulas adrenais dos seres humanos assim que ocorre a ativação do HPA. (Palma et al., 2007).

A apneia obstrutiva do sono (AOS) causa alterações nos padrões respiratórios gerando estresse; desta forma, estudos buscam identificar uma relação entre AOS e as variáveis circadianas do cortisol. A boa qualidade do sono deve reduzir o estresse corporal, para regularização dos níveis de cortisol salivar matinal. (Park et al., 2013; Yan, 2019; Giannasi et al., 2019).

O cortisol tem sido reconhecido como um hormônio indicador de estresse, visto que, seus elevados níveis no plasma e na saliva são considerados como um resultado da resposta de estresse psicológico e físico (Castro, Moreira, 2003; Furlan et al., 2012; De Bernardo et al., 2018).

A avaliação pelo cortisol livre sérico parece ser mais fidedigna que a dosagem do cortisol sérico total, e, o cortisol livre sérico, através de mecanismos intracelulares, chega até a saliva, fazendo com que a dosagem do cortisol salivar seja um excelente índice da fração livre do cortisol. (Castro, Moreira, 2003; Cooper et al., 2003; Hamrahian et al., 2004).

A saliva é um fluido bucal muito valioso, pois é essencial para a conservação e manutenção da saúde bucal, e tem sido reconhecida como um conjunto de marcadores biológicos. Amostras de saliva tem sido consideradas opções promissoras para dosagens de componentes orgânicos e inorgânicos, além de diagnosticar certos distúrbios e monitorar certas patologias. A avaliação funcional da saliva pode ser feita por métodos sialométricos (fluxo salivar e viscosidade) e sialoquímicos (capacidade tampão e contagem de elementos orgânicos e inorgânicos). Suas vantagens como ferramenta de diagnóstico incluem a facilidade de obtenção e a correlação positiva entre muitos parâmetros no soro e na saliva (Llena-Puy, 2006; Matsui et al., 2011; Falcão et al., 2013; Giannasi et al., 2019).

A redução das taxas de fluxo salivar parece ser característica comum em pessoas com SD, comprometendo os processos funcionais da saliva como a lubrificação das mucosas, formação de bolo alimentar e transporte orofaríngeo, e manutenção da sensação normal do paladar e ação antimicrobiana; essa redução pode estar associada à respiração bucal (Komatsu et al., 2013; Schwertner et al., 2016; Faria et al., 2016; Hashizume et al., 2017; Giannasi et al., 2019). Adicionalmente as glândulas salivares humanas são desenvolvidas morfológicamente no útero e seu crescimento continua durante a infância com a proliferação de células parenquimatosas. Em geral, seu processo de maturação é mais lento em indivíduos com SD (Siqueira et al., 2007).

A medida do cortisol salivar desempenha um papel importante na avaliação da função adrenal. Sua alta correlação com o cortisol sérico livre e a facilidade de amostragem geraram vários estudos recentes sobre a sua aplicação para rastreamento da função adrenal em diferentes situações (Raff, 2013; Vieira et al., 2014). Nosso estudo buscou detectar níveis de cortisol em amostras de saliva de adultos e jovens com SD diagnosticados com AOS.

Para maior entendimento dos temas fundamentais, buscamos dividir o nosso estudo em tópicos, afim de contextualizar a relação entre variáveis envolvidas, enfatizando a relevância do objeto de estudo, e incluindo informações importantes para o esclarecimento dos métodos seguidos.

1.1 A Síndrome de Down

A Síndrome de Down (SD) é um acaso inevitável da genética. O termo “síndrome” significa um conjunto de sinais e sintomas e “Down” designa o sobrenome do médico e pesquisador que primeiro descreveu a associação dos sinais característicos da pessoa com SD (Brasil, 2013; Ferreira, 2015).

A SD ocorre devido a uma mutação cromossômica. As mutações cromossômicas podem ser numéricas ou estruturais e envolver um ou mais autossomos, cromossomos sexuais ou ambos. A alteração numérica pode ser decorrente da presença de um cromossomo extra vinculado ao par original, o qual chamamos de trissomia, ou da deleção total de um cromossomo do par original (monossomia). Estima-se que as anomalias numéricas ocorram em pelo menos 5% de todas as gestações conhecidas (Nussbaum et al., 2007; Nakadonari, Soares, 2006). Os indivíduos com SD se encontram no grupo das aneuploidias que são alterações numéricas de cromossomos intactos que surgem de erros na segregação cromossômica durante a meiose ou a mitose, classificados como mutações genômicas. As células humanas possuem 46 cromossomos dispersos em 23 pares, sendo 44 autossomos e 2 cromossomos sexuais. Pessoas com SD possuem 47 cromossomos em cada célula divididos em 2 cromossomos sexuais, 45 autossomos (21 pares e um trio), devido a um cromossomo 21 extra (Nussbaum et al., 2007).

Em 1867, John Langdon Down descreveu pela primeira vez o conjunto das características fenotípicas desse desequilíbrio cromossômico, que batizou inicialmente de mongolismo pelas características semelhantes a população da Mongólia, e que, atualmente é referida como SD.

A descrição feita por Down (1867) sobre seus pacientes iniciava relatando:

“O cabelo não é preto, como no verdadeiro Mongol, mas marron, liso e escasso. O rosto é plano e largo, desprovido de destaque. As bochechas são redondas e estendidas lateralmente. Os olhos estão posicionados obliquamente, e os cantos internos estão mais distantes um do outro do que normalmente estariam. A fissura palpebral é muito estreita. A testa está enrugada transversalmente mostrando que os elevadores palpebrais derivam do músculo occipo-frontal na abertura dos músculos dos olhos. Os lábios são grandes e grossos, com fissuras transversais. A língua é longa, grossa e muito áspera. O nariz é pequeno. A pele tem um leve amarelado, é a elasticidade é deficiente, aparentando ser excessiva para o corpo”.

Naquele período, John Langdon Down só poderia especular sobre aspectos fenotípicos da síndrome que ele estava começando a organizar. No entanto, em 1959, Jerome Lejeune descobriu que uma cópia extra do cromossomo 21 e determinou a causa da condição (Hecht, 1994).

A referência ao primeiro caso da descoberta de Jerome Lejeune foi apresentada em um Simpósio na Universidade McGill em Montreal em 1958 e não foi publicado. Mais tarde, em 1959, Lejeune, Gauthier e Turpin, escreveram "Cromossomos humanos na cultura de tecidos" publicado em 26 de janeiro de 1959. Esta publicação, apesar de seu título não revelado, foi o primeiro relato do cromossomo supranumerário na SD.

Portanto, 26 de janeiro de 1959 pode ser considerada a data de nascimento da citogenética clínica. O primeiro paciente observado em Paris (julho 1958) revelou a existência de um excesso de cromossomo (47 no lugar de 46) e discutiu-se a hipótese de um fragmento devido à quebra em um ponto específico do cromossomo 4, como também a hipótese de um verdadeiro supranumerário (Lejeune, Turpin, 1959).

Em janeiro de 1959, o estudo de dois outros casos, permitiu a confirmação da existência do supranumerário e, em fevereiro, veio a confirmação em outros casos, em um total de 9 pacientes (Turpin, Lejeune, 1965). A primeira anomalia celular na SD, então chamada de mongolismo, foi descrita por Turpin, Bernyer em 1952, que descobriram que o grau de segmentação nuclear dos leucócitos polimorfonucleares foi consistentemente menor que o normal. Em 1953, Lejeune e Turpin publicaram assuntos como o mongolismo familiar falando sobre pacientes e seus parentes. Turpin e Lejeune mais tarde, em 1965, foram co-autores de um livro maravilhoso da citogenética humana: *Les cromossomos humaines*.

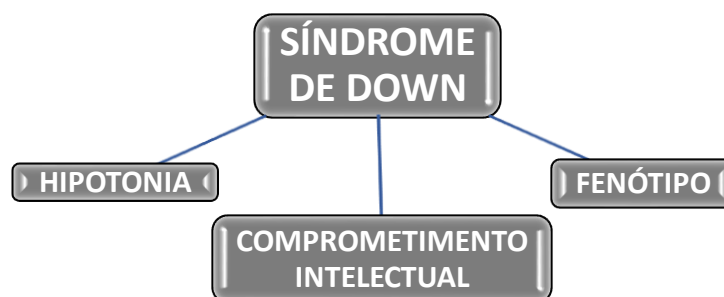
Desde as primeiras descobertas sobre o assunto até o momento, estudos demonstraram que a SD se caracteriza por uma variedade de sintomas físicos, intelectuais e clínicos que afetam indivíduos de diferentes raças, grupos étnicos e classes socioeconômicas (Arumugam et al., 2016).

As diferenças entre as pessoas com SD, tanto do aspecto físico quanto de desenvolvimento, decorrem de fatores genéticos individuais, além de intercorrências clínicas, nutrição, estimulação, educação, contexto familiar, social e meio ambiente, além de heranças comportamentais familiares, denominadas marcas epigenéticas (Schwertner et al., 2016).

A SD pode ter muitas características e peculiaridades para cada indivíduo que podem demonstrar mais autonomia que outros e todos devem receber atenção especial de seus cuidadores. Independente da idade da pessoa com SD e mesmo em condições ótimas de saúde geral, o acompanhamento médico deve ser contínuo na fase adulta até o seu envelhecimento (Pueschel,1990; Voivodic, Storer, 2002).

Há um consenso da comunidade científica de que não se atribuem graus à SD apesar do fato de que alguns autores falam em graus variáveis de comprometimento intelectual (Brasil, 2013), que somados à hipotonia e ao fenótipo classicamente demonstrado, determinam o tripé que caracterizam a SD (Figura 1).

Figura 1 - Tripé da Síndrome De Down



Legenda: A figura demonstra que a caracterização da SD se dá por três variáveis.
Fonte: Elaborada pela autora.

Segundo Mustachi, em 2002, no Brasil já havia uma ocorrência de cerca de 8.000 casos por ano, o que é um número muito semelhante dessa população vivendo nos Estados Unidos.

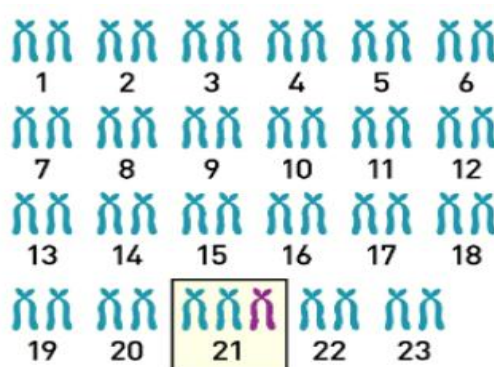
Sua incidência é um caso a cada 700 nascimentos e sua taxa de prevalência tem sido demonstrado ser mais elevada quando a idade materna excede 35 anos, porém existem estudos demonstrando as influências ambientais e epigenéticas. Estimativas recentes apontam que hoje vivem no Brasil em aproximadamente 350.000 pessoas com SD (Bermudez et al., 2015; Moreira et al., 2015; Duarte et al., 2017). Um aumento acentuado no número de pessoas nessa população com idades entre 35 e 60 anos no caso dos norte-americanos pode ser explicado pelo “*baby boom*” (1946-1964) e pelo aumento da expectativa de vida dos idosos (Presson et al., 2013).

1.1.1 Aspectos genotípicos - o diagnóstico

A SD é a alteração genética mais frequente na população, caracterizada por 95% trissomia regular do cromossomo 21 e 5% na forma de translocação e mosaica (Bermudez et al., 2015; Chadi et al., 2017).

O diagnóstico laboratorial da SD se faz através da análise genética denominada cariótipo que é a representação do conjunto de cromossomos presentes no núcleo celular de um indivíduo (figura 2).

Figura 2 - Trissomia do cromossomo 21, o fundamento genético da SD



Legenda: Todos os cromossomos humanos se apresentam aos pares, e na SD o cromossomo 21 se apresenta em trio.

Fonte: Movimento Down, 2020.

No ser humano o conjunto de cromossomos corresponde a 23 pares, ou seja, 46 cromossomos, sendo 22 pares de cromossomos denominados autossomos e um par de cromossomos sexuais, representados por XX nas mulheres e XY nos homens. No cariótipo os cromossomos são ordenados por ordem decrescente de tamanho.

A síndrome de Down é caracterizada pela presença de um cromossomo 21 extra, que citogeneticamente pode se apresentar de três formas, sendo a mais frequente a chamada trissomia simples, sendo 95% das pessoas com síndrome de Down nascem com 47 cromossomos, dos quais três completos correspondem ao par

21. O mosaïcismo que acomete 1,5% das crianças com síndrome de Down e acontece quando a primeira célula que se forma da fusão de ambos possui 46 cromossomos, mas no curso das divisões dessa célula ocorre o fenômeno de não-disjunção ou não-separação do par de cromossomos 21, de modo que as divisões seguintes partes das células derivem de células originárias com 46 cromossomos e outra parte com 47 cromossomos. A trissomia completa 21 e o mosaïcismo não tem características hereditárias, mas originam-se de erros nas divisões celulares durante o desenvolvimento do óvulo, espermatozóide ou embrião (Nussbaum et al., 2007; Flores et al., 2015; Brasil, 2013).

Finalmente a translocação com cerca de 4% dos pacientes, essa forma envolve o cromossomo 21 e o braço longo de um outro cromossomo acrocêntrico (geralmente o cromossomo 14 ou 22). Há uma recorrência relativamente alta com as famílias nas quais um dos pais é um portador de translocação, dando a esse tipo de diagnóstico o caráter hereditário (Brasil, 2013; Coppedè, 2016).

1.1.2 Aspectos ambientais que influenciam a síndrome de Down

A pessoa com SD, muito mais do que os seus genes, é uma organização que funciona como um todo e a genética é apenas uma possibilidade, ou seja, são as determinações sociais, e não somente as biológicas ou genéticas que irão lhes permitir o desenvolvimento e, conseqüentemente, sua constituição enquanto sujeito (Wuo, 2007).

Durante a gravidez, os pais e mães tendem a vivenciar temores em relação a como será o futuro bebê, e, embora tais temores estejam presentes durante a gravidez, a confirmação de um eventual diagnóstico de deficiência da criança é sempre um choque, que traz à tona sentimentos negativos, ambivalência, culpa e rejeição por parte dos pais e mães (Casarin, 2003; Henn et al., 2008). Por esse motivo, o diagnóstico SD, seja no pré-natal ou no nascimento, é um momento delicado de abordagem junto à família e que deve acontecer sob tranquilidade da equipe médica e multidisciplinar para que seja possível realizar um diagnóstico bem elaborado e fornecer orientações

fundamentais em várias etapas da vida, e, assim, explorar todas as possibilidades de terapias (Sobering et al., 2018).

É importante destacar que crianças com SD continuam a obter ganhos em habilidades cognitivas mesmo que não verbais e devem ser constantemente estimuladas (Couzens et al., 2012; Bunt, Bunt, 2014; Channell et al., 2014). Com o investimento na inclusão e cuidados com esses indivíduos, a melhora na qualidade de vida, é notório que a longevidade seja uma realidade cada vez maior, porém as taxas de mortalidade por idade ainda são importantes nessa população devido a uma aceleração do processo de envelhecimento (Gensous et al., 2019).

Cabe destacar que o desenvolvimento das habilidades tende a desacelerar durante a adolescência e na idade adulta e mesmo assim o estímulo deve ser constante, buscando em cada indivíduo a própria superação (Naess et al., 2011; Phillips et al., 2014; Grieco et al., 2015).

Alguns autores afirmam que é igualmente importante entender que a deficiência intelectual desses indivíduos segue um perfil de funcionamento, onde descrevem as habilidades relativamente fortes no autocuidado e comportamento social, mas fraquezas relativas no desenvolvimento de habilidades motoras e de comunicação (Rodrigue et al., 1991; Balboni et al., 2001; Dykens et al., 2006).

A dedicação dos cuidadores para que as habilidades e potencialidades sejam desenvolvidas de maneira produtiva, impacta diretamente na dinâmica familiar, gerando muitas vezes conflitos e ansiedades (Bunt, Bunt, 2014). Sabe-se que as pessoas com SD quando atendidas e estimuladas adequadamente, têm potencial para uma vida saudável e plena inclusão social, independente de etnia, gênero ou classe social (Brasil, 2013). Diante desse quadro a recompensa que o amor e alegria trazidos por eles tornam a experiência repleta de superação.

1.1.3 Aspectos fenotípicos - limitações determinantes da síndrome de Down

Existem características inerentes a SD que conferem aos indivíduos caracteres fenotípicos clássicos (quadro 1) como baixa estatura, hipotonia (HP) generalizada, dismorfia craniofacial, pregas palpebrais oblíquas, epicanto, sinófris

(união das sobrancelhas), base nasal plana, acromicia (hipoplasia do terço médio da face), protrusão lingual, palato ogival, orelhas de implantação baixa, cabelo fino, clinodactilia do 5º dedo da mão, braquidactilia, prega palmar única, afastamento entre o 1º e o 2º pododáctilo, pés planos, hipotonia, frouxidão ligamentar e hérnia umbilical (Davidovich et al., 2010; Sato et al., 2010; Bull, 2011; Tempski et al., 2011; Asim et al., 2015; Schwertner et al., 2016; Domingues et al., 2017).

Quadro1 - Características Fenotípicas da pessoa com Síndrome De Down

EXAME SIGMENTAR		SINAIS E SINTOMAS
CABEÇA	CRÂNIO	Braquecefalia
	OLHOS	Epicanto / Fenda Palpebral Oblíqua / Sinófris
	NARIZ	Ponte nasal plana / Tamanho pequeno
	BOCA	Palato alto / Hipodontia / Protusão lingual
	CABELO	Fino,liso / Baixa implantação
	ORELHA	Pequena com lobo delicado Implantação baixa
PESCOÇO	TECIDOS CONECTIVOS	Excesso de tecido adiposo
TORAX	CORAÇÃO	Cardiopatias
ABDOMEN	PAREDE ABDOMINAL	Diástase do musculo reto abominal
	CICATRIZ UMBILICAL	Hérnia umbilical
SISTEMA MOTOR	SUPERIOR	Prega palmar única Clinidactalia do 5º dedo da mão
	INFERIOR	Distância entre o 1º e 2º dedos do pé
	TÔNUS	Hipotonia / Frouxidão ligamentar
DESENVOLVIMENTO GLOBAL		Déficit pondero-estatural Déficit psicomotor Déficit intelectual

Legenda: O quadro descreve de forma segmentar os aspectos físicos que caracterizam a SD.
Fonte: Brasil, 2013

Prejuízos na neurotransmissão de sinais, disfunção mitocondrial, aumento do estresse oxidativo e inflamação, expressão aumentada dos genes cruciais do cromossomo 21 e hipermetilação do DNA, são incongruências comuns relatadas na SD e podem contribuir para comprometimento cognitivo e incapacidade intelectual (Vacca et al., 2019).

O paciente com SD apresenta várias alterações associadas a características comportamentais específicas, que, durante seu processo de desenvolvimento, podem influenciar suas ações motoras, linguagem, cognição, autocuidado e relações interpessoais (Flabiano et al., 2009).

A Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde (CIF) descrita no quadro 2, desenvolvida pela Organização Mundial da Saúde (OMS), faz parte um sistema para a codificação de uma ampla gama de informações sobre saúde (e.g. diagnóstico, funcionalidade e incapacidade, motivos de contato com os serviços de saúde). Trata-se de um dado que auxilia a comunicação multidisciplinar para o atendimento aos pacientes com necessidades especiais (Brasil, 2013).

Quadro 2 - Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde –CIF

COMPONENTES	PARTE 1: FUNCIONALIDADE E INCAPACIDADE		PARTE 2: FATORES CONTEXTUAIS	
	FUNÇÕES E ESTRUTURAS DO CORPO	ATIVIDADES E PARTICIPAÇÃO	FATORES AMBIENTAIS	FATORES PESSOAIS
DOMÍNIOS	Funções do Corpo e Estruturas do corpo	Áreas vitais (tarefas e ações)	Influências externas sobre a funcionabilidade e incapacidade	Influências internas sobre a funcionabilidade e incapacidade
CONSTRUCTOS	Mudanças nas funções do corpo (fisiológicas)	Capacidade de execução de tarefas em um ambiente padrão	Impacto facilitador ou limitador nas características do mundo físico, social e atitudinal	Impacto dos atributos de uma pessoa
	Mudanças nas estruturas do corpo (anatômicas)	Desempenho de tarefas no ambiente habitual		
ASPECTOS POSITIVOS	Funcionalidade		Facilitadores	Não aplicável
	Integralidade funcional e estrutural	Atividades Participação		
ASPECTOS NEGATIVOS	Incapacidade		Barreiras	Não aplicável
	Deficiência	Limitação da atividade Restrição da participação		

Legenda: O preenchimento do quadro demonstra o comportamento da pessoa com SD de acordo com o desenvolvimento de suas habilidades, auxilia a equipe multiprofissional na condução de terapias adequadas de maneira individualizada.

Fonte: Brasil, 2013

1.1.4 Comorbidades associadas à síndrome de Down

A SD é caracterizada por uma neuropatologia que causa alterações que ocorrem durante a gestação e período neonatal que causam implicações importantes no cérebro em desenvolvimento gerando incapacidade intelectual, por expressão aumentada dos genes cruciais do cromossomo 21 e hipermetilação do DNA e via transulfuração de homocisteína hiperativa (Vacca et al., 2019).

Algumas alterações clínicas e sistêmicas inerentes a trissomia do cromossomo 21 parecem tornar o indivíduo com SD mais susceptíveis a desenvolver certas condições patológicas.

Adultos com síndrome de Down (SD) representam uma população única que precisa de diretrizes clínicas para tratar de seus cuidados médicos incluindo condições co-ocorrentes como doença tireoidiana, espondilose cervical, deficiência auditiva, obesidade/sobrepeso, cardiopatias congênitas, apneia obstrutiva do sono, osteopenia/osteoporose (Capone et al., 2017).

Em adição a essas comorbidades associadas a SD ainda é possível citar distúrbios hematológicos (incluindo leucemia), distúrbios de ansiedade e desenvolvimento precoce da doença de Alzheimer (DA) (Bermudez et al., 2015; Duarte et al., 2017; Antonarakis et al., 2020).

É importante destacar que a SD é o principal fator de risco genético para a doença de Alzheimer (DA) de início precoce, apresentando prematuramente as características patológicas clássicas do cérebro com a DA, havendo uma possibilidade real de desenvolver DA com maior frequência e mais cedo do que as pessoas sem SD (Glasson et al., 2002; Gomez et al., 2020).

A idade média de início da demência em vários estudos demonstrou que indivíduos com menos de 50 anos, tornando-se um desafio de gerenciamento clínico por causa da combinação de dificuldades de aprendizagem, progressivo declínio cognitivo e funcional e associado sintomas neuropsiquiátricos e comportamentais. (Ballard et al., 2016). No entanto, trabalhos recentes revelaram que alterações na localização do cromossomo extra 21, bem como modificações epigenéticas, podem promover alterações na expressão gênica, tendo como resultado, o controle de

disfunções celulares como autofagia prejudicada, atividade lisossômica e disfunção mitocondrial (Gomez et al., 2020).

Cardiopatias congênitas como defeitos do septo ventricular, defeito do septo atrial, comunicação interventricular, comunicação interarterial e persistência o canal arterial, podem aparecer em de 40% a 60% dos nascimentos ser uma das causas mais comuns de morte na idade adulta (Schwertner et al., 2016; Domingues et al., 2017; Zhang et al., 2019).

Buscando compreender melhor as causas de hospitalização em pacientes adultos com SD, um estudo observacional retrospectivo de 10 anos, realizado por Aparício et al (2019), demonstrou que a hospitalização de adultos com SD nos departamentos de medicina interna aumentou na década avaliada (2004 a 2015), e os motivos da hospitalização, foram semelhantes aos da população em geral, porém a mortalidade hospitalar ajustada à idade foi significativamente maior, sugerindo haver uma fragilidade no sistema imune dessas pessoas. Patologias respiratórias são mais frequentes na infância e na senescência. A taxa metabólica de repouso é reduzida, tornando a pessoa com SD mais propensa a desenvolver distúrbios metabólicos, como sobrepeso, obesidade e diabetes, além de distúrbios mediados por imunidade (Saghazadeh et al., 2017).

A apneia obstrutiva do sono (AOS) é um transtorno comum do sono considerado potencialmente grave e altamente prevalente em crianças com síndrome de Down mesmo comum histórico negativo de ronco, apresentando índices em torno de 50 a 100% e pode produzir hipertensão arterial, insuficiência cardíaca e déficit de crescimento. As estimativas atuais colocam essa prevalência se aproximando de 100% na idade adulta em pessoas com síndrome de Down. A prevalência de AOS moderada a grave é maior em idades mais jovens (Sato et al., 2010; Maris et al., 2016; Lee et al., 2018).

1.2. Aspectos do sono

O sono pode ser definido como um estado de descanso físico e mental no qual uma pessoa encontra-se relativamente inativa e inconsciente do meio, ou seja,

uma função biológica regulada por mecanismos autônomos do tronco cerebral (Giannasi et al., 2008). De acordo com uma definição simples, o sono é um estado comportamental reversível de desengajamento perceptivo e falta de resposta ao meio ambiente. Também é verdade que o sono é uma amálgama complexa de processos fisiológicos e comportamentais (Carskadon, Dement, 2011).

Em adição Thorpy (1996) afirma que o sono é o estado intermediário entre a vigília e a morte; a vigília sendo considerada como o estado ativo de todas as funções animais e intelectuais e a morte como a suspensão total. Durante o sono, dois estados foram com base em parâmetros fisiológicos denominados como REM (movimento rápido dos olhos) e não-REM (Carskadon, Dement, 2011).

Todas as características do sono dependem de atividades e circuitos cerebrais complexos e múltiplos, vinculados a estruturas e neurotransmissores diversos e regidos pelo ritmo circadiano, uma vez que se encontram relacionados ao fotoperiodismo decorrente da alternância dia-noite e está sob o controle do núcleo supraquiasmático (NSQ) do hipotálamo. Experiências com pessoas privadas da luz e outros indícios externos do tempo mostraram que a maioria dos relógios biológicos funciona mais num ciclo de 25 horas do que de 24 horas, demonstrando a peculiaridade do sono e a luz (Gomes et al., 2018; Moreno et al., 2008).

O sono pode ser dividido em dois estados fisiológicos bem distintos, denominados fase de sono REM (Movimentos Oculares Rápidos) e de sono NREM (Sem Movimentos Oculares Rápidos). Divide-se ainda em 4 estágios, sendo 3 estágios de sono NREM e 1 estágio de sono REM (Moreno et al, 2007; Grimaldi et al., 2019).

Há evidências da natureza não homogênea de diferentes etapas do sono, seja sob o ponto de vista fisiológico, seja com base na descrição comportamental do indivíduo que dorme, quando avaliado por registros poligráficos, dificultando uma definição simplista deste estado (Fernandes, 2006).

O exame mais indicado para avaliar a qualidade do sono, bem como a presença de distúrbios do sono em um indivíduo é a polissonografia (PSG), exame considerado padrão ouro para o diagnóstico de AOS, possibilitando avaliar o tipo, frequência e duração das apneias; características do ronco; grau de dessaturação de oxihemoglobina; identificação de arritmias cardíacas; fragmentação do sono e severidade do quadro (Godoy, Almeida, 2017). Stores, em 2019, afirma que o sono inadequado ou de má qualidade está associado a um estado ou comportamento

emocional perturbado, como ansiedade, depressão e irritabilidade, que são capazes de prejudicar a função de alguns órgãos, além do desempenho cognitivo. Dessa forma, as pesquisas até o momento demonstraram que o sono de má qualidade interfere nas competências físicas e intelectuais do ser humano. Os estágios do sono se dividem em:

- a) N1 - Estágio 1: Melatonina é liberada, induzindo o sono – fase de sonolência
- b) N2 - Estágio 2: Diminuição dos ritmos cardíaco e respiratório, os músculos relaxam e a temperatura corporal se reduz.
- c) N3 - Estágio 3: Liberação máxima do hormônio GH e da leptina, maior pico da melatonina e menor pico do cortisol, que atingirá o pico máximo no início da manhã
- d) Sono REM: Esse estágio refere-se ao pico máximo de atividade cerebral, fase dos sonhos. Os olhos se movimentam rapidamente (Rapid Eye Movement) e o relaxamento muscular atinge o pico máximo.
- e) Latência de sono: Tempo entre o momento em que o indivíduo se deita e inicia o sono.
- f) Latência de sono REM: tempo entre o sono não Rem (NREM) até o primeiro período REM

Outros comportamentos podem ocorrer durante o sono incluindo sonambulismo, sonolência, bruxismo e outras atividades físicas como o sono em si, imagens de sonhos ou fraqueza muscular, por exemplo.

1.2.1 Apneia obstrutiva do sono– AOS

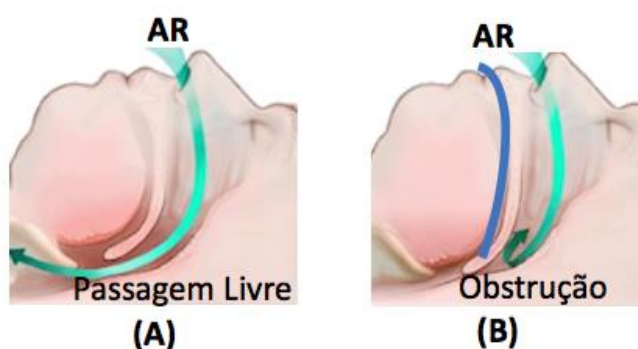
A apneia obstrutiva do sono (AOS) é um distúrbio do sono caracterizado por eventos estressores associados à ativação do eixo Hipotálamo/Pituitária/Adrenal (HPA).

A AOS é definida pelo número de episódios obstrutivos de apneia e de hipopneia por hora de sono (índice de apneia/hipopneia - IAH). O índice da apneia/hipopneia (IAH) reflete o grau de desvio padrão ou fisiológico da respiração

durante o sono, ou seja, reflete sua gravidade. O termo apneia obstrutiva do sono (AOS) serve para designar a entidade clínica definida pelo IAH e geralmente apresenta sintomas subjetivos associados, como a sonolência excessiva diurna entre outros (Park et al., 2013).

Trata-se, portanto, de uma condição causada por repetidos episódios de obstrução parcial (hipopneia) ou completa (apneia) das vias aéreas superiores durante o sono, acompanhado de esforços respiratórios. A obstrução pode ocorrer em vários sítios da faringe (velofaringe, orofaringe, hipofaringe) e pode ser decorrente do relaxamento dos tecidos moles (uso de álcool, sedativos e durante o sono profundo), do excesso desses tecidos (hipertrofia de adenóide e amígdalas, palato alongado, língua volumosa e presença de cistos ou tumores na faringe), obesidade (acúmulo de gordura na região do pescoço e ao redor da faringe) e alterações do esqueleto facial (Maris et al., 2016; Olaithe et al., 2018; Giannasi et al., 2019).

Figura 3 - Respiração normal e respiração obstruída na faringe



Legenda: A figura mostra a passagem livre do ar através das narinas, atravessando a orofaringe em direção aos pulmões (A) e a obstrução das vias aéreas superiores na região faringea, em um episódio de apneia obstrutiva (B).

Fonte: University of Michigan, adaptado pela autora

A AOS em adultos está associada a várias comorbidades além da disfunção cognitiva. Embora muitos artigos de revisão tenham tentado resumir as evidências dessa associação, ainda é difícil determinar quais domínios da cognição são afetados pela AOS (Bucks et al., 2013). A causa da AOS inclui hipertrofia da tonsila palatina e

da adenoide que podem produzir hipertensão arterial, insuficiência cardíaca e déficit de crescimento (Sato et al., 2010).

Considerando que a hipotonia muscular é uma das principais características em indivíduos com SD que podem afetar qualquer músculo do corpo, incluindo região vias aéreas superiores e base de língua, podemos inferir que há nesses indivíduos uma pré-disposição para a ocorrência de obstrução parcial / total, causando apneia obstrutiva do sono (AOS) (Giannasi et al., 2019).

A alta prevalência de AOS em crianças com SD documentada através de exames de polissonografia, demonstra que essas pessoas tendem a ser susceptíveis a escores severos da AOS. Para indivíduos com síndrome de Down (SD), a apneia obstrutiva do sono (AOS) é um distúrbio complexo com consequências clínicas significativas e tende a ser mais grave (Rundo et al., 2019). É altamente recomendável realizar polissonografia para excluir AOS em pessoas com SD, independentemente da idade ou relato dos pais sobre ronco e apneias testemunhadas (Maris et al., 2016; Gomes et al., 2020).

A polissonografia é o método mais eficaz para avaliação da qualidade do sono e diagnóstico de AOS. Os questionários são excelentes instrumentos de avaliação de risco, e entre eles destacamos a Escala de Sonolência de Epworth, a escala de ronco modificada, o questionário STOP-Bang e o SACS que é usado para calcular a circunferência do pescoço ajustada (Richard et al., 2006; Chung et al., 2008; Giannasi et al., 2019).

Para pessoas com alterações cognitivas, com dificuldades para responder de forma adequada aos questionários, o desenvolvimento e a validação de marcadores salivares economicamente aceitáveis, podem melhorar o diagnóstico e o acesso ao tratamento de indivíduos com suspeita Apneia Obstrutiva do Sono (Magalhães, 2017; Park et al., 2013). Existem várias conexões entre padrões de sono, comportamento alimentar, balanço energético e marcadores metabólicos e endócrinos, devendo a promoção do sono ser incluída como parte essencial do fortalecimento da comunidade para estilos de vida que promovam a saúde (Chaput, 2014; Rebelo et al., 2014; Carvalho et al., 2016).

Devido ao alto custo para realização do seu diagnóstico polissonográfico, a construção de plataformas de diagnóstico de baixo custo, terão grande relevância para

sociedade. O cortisol parece ser um biomarcador promissor para AOS (Dewald et al., 2010; Park et al., 2013).

A realização de investigação na área do sono é fundamental para aumentar o conhecimento sobre a correlação do sono e diferentes variáveis sistêmicas e consequentemente desenvolver programas efetivos para as populações-alvo, em particular em crianças e adolescentes (McNeil et al., 2013; Quist et al., 2016).

Apneia obstrutiva do sono aumenta dinamicamente ácidos graxos noturnos livres de plasma, glicose e cortisol durante o sono e está associada a diabetes e doenças cardiovasculares. Essa associação pode estar relacionada a alterações metabólicas que ocorrem durante o sono na AOS. Não está claro se a AOS é causa, consequência ou marcador de disfunção cardiometabólica (Chopra et al., 2017).

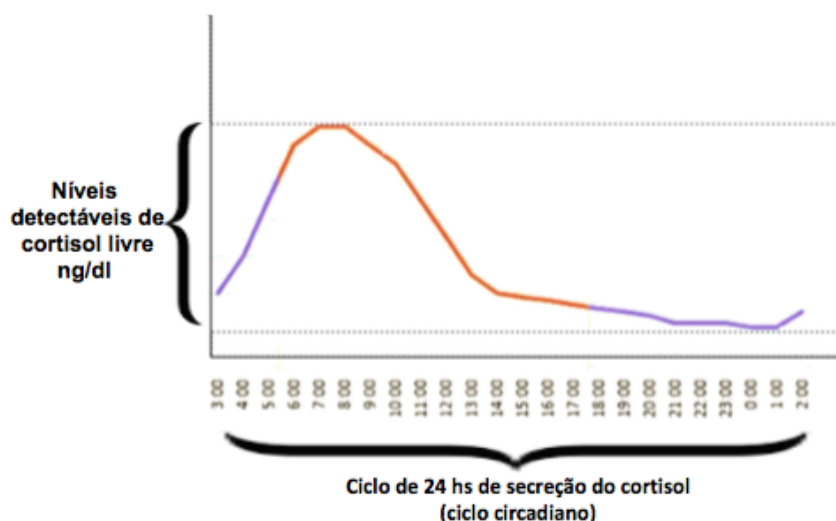
Outro fator relevante é que ainda pouco se sabe também sobre a função das glândulas salivares em pacientes diagnosticados com AOS. Apesar de apresentarem queixas frequentes de xerostomia (sensação subjetiva de boca seca), não encontramos evidências claras na literatura estudos que avaliassem seu fluxo basal e estimulado (Magalhães et al., 2017).

1.3 O cortisol

O cortisol é o produto final do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e a resposta ao despertar refere-se ao rápido aumento dos níveis desse hormônio que geralmente aumentam de 38% a 75%, atingindo o pico aproximadamente 30 minutos após o despertar retornando à linha de base do despertar dentro de 60 a 75 minutos e declinando mais gradualmente depois disso, respeitando o ciclo circadiano*. As evidências sugerem que a que esse aumento pode estar relacionado à excitação e aumento solicitação de energia no momento de despertar (Elder et al., 2014; Elder et al., 2016).

***Ciclo circadiano** ou **ritmo circadiano** (do latim circa cerca de + diem dia) designa o período de 24 horas sobre o qual se baseia o ciclo biológico de quase todos os seres vivos, sendo influenciado principalmente pela variação de luz, temperatura, marés e ventos entre o dia e a noite.

Figura 4 - Secreção do cortisol em um ciclo circadiano



Legenda: A secreção do cortisol é contínua dentro de 24hs, sendo que, por volta das 3hs00min (durante o sono), um processo fisiológico dá início a uma curva ascendente de secreção atingindo seu pico entre 7hs00min e 8hs00min (vigília). A secreção sofre declínio durante o restante do dia atingindo seus menores níveis durante o período noturno. Os valores dos níveis de cortisol podem variar de acordo com o kit de análise escolhido.

Fonte: Elaborado pela autora

O cortisol é um hormônio esteroide que pode ser dosado no sangue, na saliva e fios de cabelo, e é produzido e secretado pelas glândulas adrenais (GA), localizadas acima dos rins, uma de cada lado, com formato piramidal (também chamadas supra-renais); juntamente com o estrogênio e a testosterona também produzidos pelas GA, são de grande importância para uma vida em equilíbrio. As glândulas adrenais modulam o funcionamento de tecidos, órgãos e glândulas, mantendo, assim, a homeostase. O seu adequado funcionamento pode ser determinante na maneira como indivíduo reage a determinadas situações, pois elas controlam grande parte da energia de resposta do corpo humano. É através dos hormônios produzidos pelas adrenais que é possível saber o que fazer de acordo com o ambiente (Guyton et al., 2011).

A partir de um estímulo estressor ocorre a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) iniciada através de uma cascata de hormônios. O eixo HPA é um sistema neuroendócrino envolvido em adaptação à mudança e desafio e o seu funcionamento de hipoatividade e hiperatividade medidos em nível de cortisol, foram

encontrados em diferentes distúrbios em pesquisas psiquiátricas (Juruena et al., 2004; Staufenbiel, 2013).

O cortisol é o principal hormônio glicocorticoide produzido pelas glândulas adrenais dos seres humanos assim que ocorre a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). Quando o corpo é submetido a uma situação estresse o hipotálamo recebe o estímulo para secretar o hormônio liberador de corticotropina (CRH) e vasopressina que irão ativar a glândula pituitária ou hipófise para que seja secretado o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH, no sangue, por sua vez estimula a secreção de glicocorticoides pelo córtex adrenal principalmente o cortisol. A secreção de hormônios no eixo HPA está sujeita a um ciclo de feedback negativo regulatório, em que a liberação de cortisol sinaliza o SNC para que haja a inibição do ACTH da hipófise e subsequente inibição da secreção do próprio cortisol (Juruena et al., 2004; Ribeiro, 2014; Elder et al., 2014).

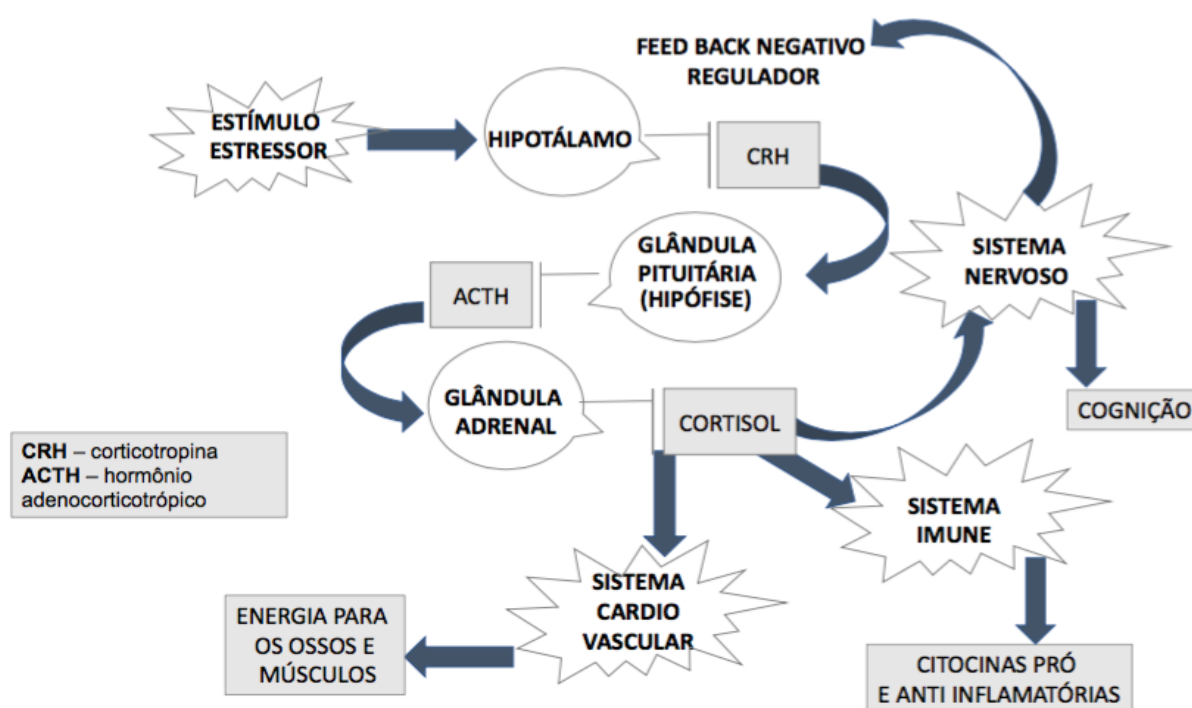
O cortisol apresenta um papel central em diversos processos biológicos (figura 3), incluindo o metabolismo energético, manutenção da pressão sanguínea, imunomodulação, regulação das funções cognitivas e de memória e da resposta ao estresse (Assis et al., 2018; Chrousos, Kino T, 2007; Hellhammer et al., 2009). Nas primeiras horas da manhã, há aumento da secreção do hormônio tireoideano, de cortisol e de insulina, que são facilitadores da vigília, seja por aumento da taxa metabólica para a iniciação das atividades do dia, ou indiretamente pelo aumento da glicemia e da utilização de glicose pelas células (Castro, 2003; Furlan et al., 2012; De Bernardo et al., 2018).

A importância da liberação adequada de cortisol ainda pode ser citada sob o ponto de vista do aumento da produção hepática de glicose, estimulando o catabolismo lipídico e protéico de forma a obter substratos para a glicogênese (McPhee et al., 2006). Atualmente, a relação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e as alterações do metabolismo da glicose tem sido alvo de pesquisas clínicas (Garbellotto et al., 2018). Um ressurgimento do interesse em biomarcadores salivares gerou evidências do valor do cortisol na avaliação da função adrenal (Blair et al., 2017).

O cortisol é um dos biomarcadores mais freqüentemente empregados na pesquisa psicobiológica por responderem ao estresse social e psicológico, além disso, o desenvolvimento e o funcionamento adulto do eixo HHA são profundamente influenciados por experiências anteriores de desenvolvimento. O cortisol também tem

efeitos difundidos em todo o corpo e cérebro, sendo implicado na etiologia de uma ampla gama de resultados de saúde mental e física e acredita-se que desempenhe papéis importantes no funcionamento cognitivo e comportamental diário (Lupien et al., 2009; Adam et al., 2017).

Figura 5 -Esquema da atividade do eixo hipotálamo/pituitária/adrenal (HPA)



Legenda: O corpo submetido a um estímulo estressor inicia sua reação no hipotálamo até a liberação do cortisol **que, por sua vez, assume vários papéis** essenciais à nossa sobrevivência (a cognição, o sistema nervoso, o sistema cardiovascular, os ossos, fornece energia para os músculos, etc). Ao final do estímulo estressor ocorre um feed back negativo regulador ativado pelo sistema nervoso central.

Fonte: Elaborado pela autora.

Indivíduos com excesso ou deficiência de glicocorticoides podem perceber sintomas como depressão, euforia, psicose, apatia, letargia, revelando que o cérebro é um importante órgão alvo para estes hormônios (Cardoso, Palma, 2009). No sangue, apenas cerca de 5-10% do cortisol está na sua forma livre ou biologicamente ativa. O cortisol restante está ligado às proteínas séricas e o cortisol sérico não ligado entra na saliva via mecanismos intracelulares; na saliva, a maioria do cortisol permanece não ligada à proteína (Blair et al., 2017).

Os níveis salivares de cortisol não são afetados pela taxa de fluxo salivar e são relativamente resistentes degradação por enzimas ou ciclos de congelamento-descongelamento. Estudos consistentemente relatam alta correlações entre cortisol sérico e salivar, indicando que os níveis salivares de cortisol estimar os níveis séricos de cortisol (Castro, Moreira, 2003; Cooper et al., 2003; Hamrahian et al., 2004).

A medição do cortisol é obrigatória na investigação de suspeita de estados hipocortisolismo e hipercortisolismo afim de detectar possíveis alteração da atividade das glândulas adrenais e acompanhamento de tratamentos, uma vez que a amostragem de saliva é não invasiva, indolor, livre de estresse e facilitam a triagem inicial para identificação de alterações nos níveis adequados de cortisol durante o ciclo circadiano (Deutschbein et al., 2012). As consequências clínicas das alterações dos níveis de cortisol podem ser vistas no quadro 3.

Quadro 3 - Hipercortisolismo e Hipocortisolismo

HIPERCOTISOLISMO	HIPOCORTISOLISMO
Perda de massa muscular Aumento do peso Aumento de risco para osteoporose Comprometimento da cognição Interferência no processo de crescimento Redução dos níveis de testosterona Lapsos de memória Maior ingestão de líquidos Aumento da frequência da micção Diminuição da libido	Fadiga e falta de energia Dor muscular e/ou articular Febre baixa e frequente Anemia e infecções frequentes Hipoglicemia Falta de apetite Baixa pressão arterial

Legenda: Consequências clínicas do aumento e redução dos níveis de cortisol

Fonte: Elaborado pela autora

As concentrações salivares de cortisol caem abaixo dos níveis detectáveis durante períodos em que as concentrações séricas de cortisol são naturalmente baixos, como o período noturno por exemplo (Blair et al., 2017).

A secreção salivar é reconhecida como um conjunto de marcadores biológicos, e amostra de saliva tem sido considerada uma opção promissora para diagnosticar certos distúrbios e monitorar a evolução de certas patologias, ou, ainda, para determinar a dosagem adequada de medicamentos ou drogas. Suas vantagens como ferramenta de diagnóstico incluem a facilidade de obtenção e a correlação positiva entre muitos parâmetros no soro e na saliva (Llena-Puy, 2006).

1.4 A saliva

A secreção salivar é um material biológico, produzido nas glândulas salivares, de extrema importância para a cavidade bucal e saúde geral, pois desempenha importantes funções locais e sistêmicas. A secreção salivar é exócrina clara, mucosa e/ou serosa e composta por 98% de água, destacamos que os 2% restantes será composto por oxigênio (que confere o aspecto de espuma), nitrogênio (síntese proteica), alguns íons como o potássio e o bicarbonato em grandes quantidades e sódio e cloreto em concentrações baixas. Contém ainda proteínas estruturais como mucinas (responsáveis pelo muco e conferem alta viscosidade à saliva), albuminas (fornecem aminoácidos ao meio e também conferem viscosidade à saliva), esterrina (apresenta capacidade de neutralização de bactérias presentes na saliva), aglutininas (aglutinam bactérias em grandes agregados que são eliminados com mais facilidade através da saliva e pela deglutição), lactoferrina (absorção do ferro), gustina (fundamental para o amadurecimento das papilas gustativas); proteínas enzimáticas como amilase (digestão do amido), fosfatase ácida (biomarcador de patologias e estados que alterem sua atividade), esterase (degradação do éster e a formação de novas moléculas odorantes), lisozima (atua via catálise da hidrólise das ligações dos peptidoglicanos que compõem a parede celular de bactérias gram-positivas), Peroxidase (Ação antimicrobiana), anidrase carbônica (participa da atividade de tamponamento da cavidade bucal). Ainda são encontradas na saliva proteínas

imunológicas como imunoglobulinas, IgA salivar. (Ozturk et al., 2008; Pedersen et al., 2019).

Estes componentes regulam o pH e a capacidade tampão da saliva (bicarbonatos, fosfatos e ureia); lavam, agregam e/ou aderem microrganismos bucais e contribuem para o metabolismo da placa dentária (proteínas macromoleculares e mucinas); trabalham em conjunto como fatores anti-solubilizantes e modulam o processo de desmineralização e remineralização do esmalte (cálcio, fosfato e proteínas); desempenham papel importante na digestão (alfa amilase), e apresentam atividade antimicrobiana (imunoglobulinas, proteínas e enzimas) (Ericsson, 1959; Humphrey et al., 2001; Castañeda et al., 2015; Alkhateeb et al., 2017).

As glândulas salivares (GS) podem ser classificadas em glândulas maiores (parótida, submandibular, sublingual) e glândulas menores (labiais, bucais, linguais e palatinas), são inervadas pelo sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático. As glândulas parótidas são as maiores dos três pares de glândulas, estão localizadas uma de cada lado da face, na frente e abaixo das orelhas e secretam uma saliva serosa. As glândulas submandibulares estão localizadas medialmente ao ângulo mandibular ficando protegidas pelo corpo da mandíbula. As glândulas sublinguais são as menores dos três pares de glândulas salivares e situadas mais profundamente no soalho da cavidade oral, inferiormente à língua. Secretam saliva através dos ductos de Bartholin. Muitas vezes esses dois ductos podem vir unidos, formando a conhecida carúncula sublingual (Guyton et al., 2011).

De acordo com a natureza histoquímica secretada, a secreção salivar pode ser classificada como serosa, mucosa ou mista. Os ácinos são componentes das glândulas salivares e definem qual tipo de secreção, e os ductos têm a função de transportar a saliva para a cavidade bucal, bem como são responsáveis pelas trocas iônicas que modificam a secreção primária, definindo a composição final do fluido salivar. As glândulas salivares maiores são responsáveis por produzirem cerca de 90% da secreção salivar, sendo que as glândulas parótidas secretam saliva serosa, as submandibulares mucosserosa e as sublinguais exclusivamente mucosa (Pedersen et al., 2018a; Guyton et al., 2011).

As glândulas salivares menores que consistem em até 1000 glândulas espalhadas pela cavidade bucal, secretam menos de 10% da saliva presente na boca e dividem-se em grupos com secreções distintas (Castañeda et al., 2015; Alkhateeb et

al, 2017). Essas pequenas glândulas encontram-se espalhadas por toda a mucosa bucal, exceto gengiva e metade anterior do palato duro. São elas:

- Acessórias jugais: estão na mucosa jugal (mucosa das bochechas) e secretam saliva mucosserosa.
- Acessórias sublinguais ou glândulas de Rivinus: secretam saliva mucosserosa pelos ductos de Rivinus; localizam-se no assoalho bucal na região sublingual e são chamados também de acessórias bucais.
- Acessórias labiais: estão na mucosa labial e secretam saliva mucosserosa.
- Acessórias palatinas: secretam saliva apenas mucosa e se localizam na metade posterior do palato duro.
- Acessórias do palato mole e úvula: secretam saliva mucosa
- Acessórias glossopalatinas: secretam saliva mucosa
- Acessórias do coxim retromolar: secretam saliva mucosa
- Acessórias linguais: Ouglândulas de Blandim e Nuhn, secretam saliva seromucosa e estão na porção anterior da língua, e as glândulas de Ebner que secretam saliva apenas serosa e estão associadas às papilas caliciformes.

Segundo Guyton (2011) a secreção salivar serosa contém albumina e a secreção salivar mucosa contém mucina, ambas com função de lubrificação. Estudos descrevem que a secreção serosa ocorre principalmente nas glândulas parótidas, assim como as secreções sero-mucosa e mucosa ocorrem nas glândulas submandibulares e sublinguais respectivamente (Chadi et al., 2017; Odeh et al., 2013).

São denominados de processos funcionais da SS a lubrificação das mucosas, formação de bolo alimentar e transporte orofaríngeo, remineralização do esmalte dentário e manutenção da sensação normal do paladar. A SS ainda está envolvida na homeostase entre a flora oral e o hospedeiro humano através dos seus metabólitos antimicrobianos (Tasoulas et al., 2016; Moosavi, Barati, 2020). Cabe destacar que a secreção serosa, em particular, é essencial para degustar, enquanto que a secreção mucosa é importante para deglutir, formar o bolo alimentar e manter o conforto oral (Chadi et al., 2017; Davidovich et al., 2010).

O fluxo salivar proporciona uma ação de depuração (“*clearance*”) que remove açúcares, reduzindo a disponibilidade dessas moléculas às bactérias. Esse

mesmo fluxo dilui o efeito de produtos ácidos eventualmente gerados por bactérias acidogênicas. Adicionalmente, o efeito tampão promovido pelos íons bicarbonato e fosfato mantém o pH da saliva próximo de 6.8, longe do pH crítico para o estabelecimento de lesões cariosas, que é abaixo de 5.0 (Jaeger, Freitas, 2016).

Os fatores que afetam a velocidade do fluxo incluem o grau de hidratação, estímulos mastigatórios e gustativos, posição do corpo (em pé ou deitado), ritmo circadiano e circanual. A vazão salivar pode aumentar de acordo com a estimulação mastigatória, gustativa ou farmacológica, ao nível máximo médio de saliva total até 3 ml / min (Navazesh, Kumar, 2008; Roblegg et al., 2019).

Sendo definido que 98% da saliva seja constituída de água, é importante destacar que a composição salivar pode variar de acordo com alterações no fluxo salivar e tempo de estímulo, trata-se de uma medida muito individualizada (Castañeda et al., 2015; Humphrey, Williamson, 2001).

Sob o ponto de vista qualitativo da saliva, é importante destacar que a viscosidade é uma característica inerente desse biofluido, ora determinada pela albumina quando a secreção salivar for originária das glândulas serosas, e ora determinada pelas mucinas quando a secreção salivar for originária das glândulas mucosas, além disso as mucinas secretadas pelas glândulas salivares são substâncias que desempenham papel importante nas propriedades reológicas da saliva (deformações e escoamentos), como elasticidade e viscosidade (Ueno et al., 2014). Os componentes orgânicos e inorgânicos transformam uma solução que é essencialmente composta por água em uma solução viscoelástica capaz de várias funções, como atuar como lubrificante e antimicrobiano, impedindo danos dentários, auxiliando a digestão e facilitando a percepção do paladar (Carpenter, 2013).

Em adição, sob o ponto de vista quantitativo, a redução do fluxo salivar (hipossalivação) é um distúrbio comum, e estima-se que cerca de 20% da população geral tenham esta alteração (Shimazaki et al., 2017; Turner, 2016). A hipossalivação pode ser decorrente de diabetes mellitus, hipotireoidismo, desidratação, comprometimento do parênquima glandular por processos infecciosos, doenças granulomatosas ou condições autoimunes e inflamatórias (como a síndrome de Sjögren e a artrite reumatoide), radioterapia da região cefálica e/ou cervical, bem como pode estar associada a distúrbios do humor, efeitos adversos ocasionados pelo uso de algumas medicações ou, ainda, ser de causa comportamental.

A saliva forma um filme (ou uma película muito fina) de aproximadamente 0,1 mm de espessura, que recobre todas as superfícies da boca incluindo mucosa e dentais. Hábitos de vida como atividade física, alimentação e hidratação, são capazes de influenciar aspectos quantitativos e qualitativos da saliva. As terapias convencionais para o tratamento da redução do fluxo salivar, com o uso de sialogogos gustatórios e químicos, ainda apresentam restrições (Falcão et al., 2013; Shimazaki et al., 2017), por isso iniciar um tratamento observando hábitos amplia a previsibilidade de resultados. Vale destacar que a saliva é um fluido bucal muito valioso, pois é essencial para a conservação e manutenção da saúde bucal e, por esse motivo, deve receber atenção quanto as alterações na sua quantidade (fluxo) e/ou qualidade (viscosidade/pH/composição) (Falcão et al., 2003).

A secreção salivar é reconhecida como um conjunto de marcadores biológicos que pode ser denominada **saliva glandular**, tem um aspecto de um fluido aquoso, hipotônico e transparente (Santos et al., 2007; Guyton et al., 2011), e pode ser coletado através de punção ou coleta direta da saída do ducto salivar, por outro lado, a **saliva total** presente na cavidade bucal trata-se de uma secreção multiglandular composta de saliva glandular mais o fluido gengival, células epiteliais descamadas, microrganismos, produtos do metabolismo bacteriano, resíduos alimentares, muco da cavidade nasal e da faringe (Falcão et al., 2013; Shah, 2018; Woźniak et al., 2019).

Diversas doenças sistêmicas podem comprometer o funcionamento das glândulas salivares e conseqüentemente, a produção de saliva, interferindo tanto na sua quantidade quanto na qualidade. Essas mudanças podem servir de parâmetro para o diagnóstico de diversas alterações. A avaliação funcional da saliva pode ser feita por métodos sialométricos e sialoquímicos (Matsui et al., 2011; Falcão et al., 2013; Giannasi et al., 2019; Gomes et al., 2020). Alteração dos padrões salivares prejudica a lavagem fisiológica bucal, predispondo o meio a maior agregação de bactérias e matéria orgânica, favorecendo patologias como cárie doença periodontal (Falcão, 2013).

Em adição, a coleta da saliva tornou-se um método útil e não invasivo como medida de amostragem sistêmica utilizada no diagnóstico de doenças e para algumas pesquisas. Por conseguinte, é necessário que os clínicos se esforcem em conhecer melhor esse biofluido para ter uma boa base de conhecimentos sobre a norma do fluxo e função salivar (Humphrey, Williamson, 2001).

1.5 Justificativa do estudo

A apneia obstrutiva do sono (AOS) é uma condição frequentemente associada à certas comorbidades presentes em pessoas com síndrome de Down, como sobrepeso, eventos cardiovasculares agudos, etc. Ao mesmo tempo, a apneia obstrutiva do sono (AOS) é caracterizada por ter causas multifatoriais e encontra-se presente em aproximadamente 100% das pessoas em condição de SD (Gomes et al., 2020), sugerindo ser essa uma relação de causa e efeito entre as duas condições. É altamente recomendável realizar diagnóstico de AOS em pessoas com SD independentemente da idade ou relato dos pais sobre ronco e/ou respiração bucal (Maris et al., 2016).

O exame considerado padrão ouro para o diagnóstico de AOS é a polissonografia (PSG), e trata-se de um exame pouco acessível para grande parte da população, além da possibilidade de não ser bem aceito por pessoas com comprometimento intelectual. Em adição, a apneia obstrutiva do sono é um evento estressor e o cortisol um biomarcador de estresse, e o entendimento do comportamento desse hormônio em pessoas com SD poderia, de maneira mais acessível, facilitando acesso ao tratamento de indivíduos com risco para a ocorrência de AOS (Lupien et al., 2009; Elder et al., 2016; Adam et al., 2017).

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo transversal foi determinar se a presença de AOS em jovens e adultos com SD tem efeito significativo sobre os níveis de cortisol salivar, afim de ampliar o conhecimento sobre esse biomarcador de estresse e gerenciara saúde desses indivíduos. As seguintes hipóteses de pesquisa foram consideradas:

H0: a presença de apneia obstrutiva do sono, não tem efeito significativo sobre os níveis de cortisol salivar em jovens adultos com Síndrome de Down;

Ha: a presença de apneia obstrutiva do sono, tem efeito significativo sobre os níveis de cortisol salivar em jovens adultos com Síndrome de Down.

2.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar os níveis de cortisol salivar (CS) matinal e noturno em pacientes jovens e adultos com SD, correlacionar com os graus de AOS (leve, moderada e grave) e verificar a presença risco de estresse psicológico e/ou físico nesses indivíduos.
- Em adição, investigar alguns parâmetros sialométricos e sialoquímicos desses indivíduos, incluindo taxa de fluxo, viscosidade, pH e capacidade tampão, afim de determinar o perfil salivar do grupo estudado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa clínica está vinculada ao projeto “guarda-chuva”, intitulado “Avaliação da função dos músculos mastigatórios e variáveis fisiológicas do sono antes e após terapias com bioestimulação eletro-mecânica e uso do aparelho intra-oral em pacientes com síndrome de Down”, que obteve auxílio pesquisa regular aprovado pela FAPESP (processo no: 2017/06835-8) e apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001. Toda a metodologia utilizada nesse projeto foi discutida detalhadamente no trabalho citado abaixo, publicado por toda a equipe envolvida, Giannasi, Dutra et al., 2019.

Em adição, o projeto principal foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPh) do Instituto de Ciência e Tecnologia, Campus de São José dos Campos, UNESP (CEPH-ICT-CSJC-UNESP/ CAAE: 64173616.4.0000.0077 - Parecer nº 2.127.141 de 20/06/2017).

3.1 Seleção dos voluntários

Vinte e três (23) indivíduos adultos e jovens, gêneros masculino (13) e feminino (10), com idades entre 18 e 29 anos, com diagnósticos estabelecidos de síndrome de Down e apneia obstrutiva do sono, foram selecionados a partir do projeto guarda-chuva através de uma amostra por conveniência, e convidados a participar deste estudo. Cabe destacar que todos obtiveram diagnóstico de AOS através de exame de polissonografia (PSGII). Os indivíduos com SD voluntários foram oriundos de Organizações da Sociedade Civil (Terceiro Setor) e do Centro de Biociências Aplicado a Pacientes com Necessidades Especiais do Instituto de Ciência e Tecnologia do Campus de São José dos Campos – CEBAPE-ICT-CSJC/UNESP).

O Centro de Biociências Aplicado a Pacientes com Necessidades Especiais (CEBAPE) está certificado no Diretório de Grupo de Pesquisa do CNPQ (dgp.cnpq.br/dgp/espelhogrupo/3069694352574537CNPq).

3.1.1 Critérios de inclusão e não inclusão

Os critérios de inclusão e não inclusão para participação voluntária das pessoas com síndrome de Down estão descritos no Quadro 1.

Quadro 4 - Critérios de inclusão e não inclusão

Inclusão	Não Inclusão
Pessoa com síndrome de Down	Crianças e Idosos
Ser diagnosticado com AOS	Estar em tratamento de processos patológicos agudos
Saúde geral e bucal satisfatórias (baseados em exames solicitados previamente)	
Capacidade cognitiva parcialmente preservada para entender orientações de coleta de dados	
Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos representantes legais do voluntário da pesquisa para participar do estudo proposto e Termo de Assentimento (TA)	Uso de medicamentos que possam comprometer a avaliação dos parâmetros salivares

Legenda: Os voluntários selecionados cumpriram os critérios de inclusão para participarem do estudo
 Fonte: Elaborada pela autora.

3.2 Protocolo da pesquisa

Os voluntários da pesquisa, que cumpriram os critérios de inclusão, foram encaminhados para o NEAPE (Núcleo especializado de atendimento a pacientes com necessidades especiais – UNESP) para adequação do meio bucal. O passo seguinte foi realizar coletas de amostras salivares para análise dos parâmetros sialométricos e sialoquímicos (fluxo, viscosidade, pH e CT) e coletas de amostras salivares diurna e noturna, para serem realizadas as análises dos níveis de cortisol salivar, respeitando as especificações técnicas sugeridas pelo fabricante dos Kits.

3.2.1 Procedimentos clínicos e ambulatoriais

Os procedimentos clínicos foram executados no ambulatório do CEBAPE e na clínica do NEAPE (Núcleo de atendimento a pacientes com necessidades especiais). Em adição, as coletas de amostras de saliva para análises de cortisol salivar matinal e noturno, foram realizadas nas residências dos voluntários, observando horários de acordar e dormir, e respeitando o ciclo circadiano.

3.2.1.1 Adequação da cavidade bucal

Todos os pacientes selecionados foram encaminhados para o NEAPE (Núcleo de atendimento a pacientes com necessidades especiais), e submetidos a avaliação e procedimentos clínicos para adequação da cavidade bucal (remoção de focos de infecção e profilaxia).

3.2.1.2 Coleta de amostras de saliva

Toda a metodologia para obtenção de amostras salivares encontra-se descrita no quadro 4 onde observa-se que as coletas foram realizadas em momentos diferentes e adequados a cada proposição de análise, a saber:

- Taxa de fluxo salivar (TFS),
- Viscosidade salivar (VISC),
- Determinação de pH
- Capacidade tampão (CT) da saliva
- Níveis de cortisol salivar matinal (CSM)
- Níveis de cortisol salivar noturno (CSN)

O primeiro desafio do estudo foi encontrar métodos suficientemente adequados e eficazes para coleta de saliva de pacientes com síndrome de Down para estudos sialométricos e sialoquímicos, pois esse estudo científico exigiu várias fases de coletas, e a dificuldade, logo nos primeiros pacientes, foi o fato dos voluntários apresentarem baixo fluxo e dificuldade de cuspir. Foi realizado um estudo intitulado “*Manejo da saliva de pacientes com Síndrome de Down - Estudo comparativo de 4 métodos de Coletas*” apresentado no CIOCE – Congresso Internacional de Odontologia do Ceará em 2018 (Apêndice 1). O método selecionado foi descrito por Tanaka em 2014 e adaptado para nosso estudo, e pode ser visto na figura 5.

Quadro 5 - Proposta de protocolo para coleta de amostras de saliva

Sessões	Análises	Período de coleta	Sialogogo	Quantidade e Tempo de coleta de saliva	Temperatura de armazenamento	Unidade	Valores de referência
1ª sessão (1º dia)	Taxa de Fluxo Salivar (TFS)	8 h às 10 h	Hiperboloide (produto mecânico) e Ordenha	mL de amostras de saliva/tempo de 5 a 10 min	Temperatura ambiente / Sem armazenagem	mL/min	Normal: >1,0 Valor limítrofe: 1,0 Fluxo reduzido: ≤0,7 Hipossalivação: ≤0,1
2ª sessão (2º dia)	Viscosidade	8 h às 10 h	Hiperboloide (produto mecânico)	** mL de amostras de saliva/tempo de 5 a 10 min	Temperatura ambiente	Fiabilidade em cm	Saliva viscosa: ≥ 2 cm Saliva não-viscosa: < 2 cm
	Capacidade tampão da saliva					valor de pH	Normal: 5,1–7,0 Valor limítrofe: 4,0–5,0 Baixo: <4,0
3ª sessão (3º dia)	Cortisol salivar (diurno e noturno)	7 h às 10 h 21 h às 23 h	Hiperboloide (produto mecânico)	** mL de amostras de saliva/tempo de 5 a 10 min	Transporte - 4°C Armazenagem -20°C	µg/dL	Variáveis de acordo com idade e gênero

Legenda: As coletas foram realizadas em momentos diferentes e adequados a proposição de cada uma das análises que foram controladas por valores validados pela literatura.

Fonte: Elaborado pela autora

Amostras de saliva foram coletadas durante 10 minutos com o auxílio de uma bomba aspiradora de secreções, de baixa potência (Aspiramax MA 520, NS, São Paulo, Brasil), devidamente adaptada neste estudo. Uma sonda de aspiração traqueal

estéril no 14 (CPL Medical's produtos médicos LTDA, São Paulo, Brasil) foi acoplada na bomba aspiradora e introduzida no tubo de centrífuga, cônico, graduado e estéril, tipo Falcon 15ml. Esse tubo é colocado dentro do recipiente coletor da unidade de aspiração (Figura 6). O referido equipamento foi adaptado especialmente para o paciente com SD devido à sua dificuldade de cuspir a saliva. O material biológico foi mantido e armazenado para transporte a temperatura de 4 °C, em gelo reciclável, até o freezer do laboratório do CEBAPE para posterior análise.

Figura 6 - Procedimento de coleta de amostra de saliva



Legenda: (a) Bomba aspiradora para secreção salivar – BASS - (b e c) Adaptação da BASS contendo uma unidade de aspiração, uma sonda aspiradora traqueal estéril, no 14 (setas), um tubo de centrífuga, cônico, graduado e estéril e um recipiente coletor (d) Procedimento de coleta ilustrativa, antes da colocação do gelo.

Fonte: Elaborada pela autora.

As glândulas salivares foram estimuladas através do uso de um sialogogo mecânico (Figura 8) composto por silicone inodoro, insípido, incolor, atóxico e macio, exibindo uma forma adaptável às faces oclusais dos dentes devido a sua geometria hiperbólica (CHEIDA, AP, 1997 – ME, São Paulo, Brasil).

Para assegurar a fidelidade dos resultados da análise, alguns critérios foram estabelecidos e seguidos pelos voluntários:

- Não ingeriram quaisquer alimentos e bebidas 2 h antes da coleta da saliva;
- Realizaram enxague bucal com água destilada por 1 minuto antes da coleta
- As glândulas salivares maiores (parótida, submandibular e sublingual) foram ordenhadas, concomitantemente, durante o uso do sialogogo mecânico para intensificar a estimulação da produção de saliva.

Figura 7 - Sialogogo mecânico - Hiperboloide (CHEIDA, AP, 1997 – ME, São Paulo, Brasil)



Legenda: Esse dispositivo de silicone tem o formato adequado para mastigação e estímulo de produção de saliva.

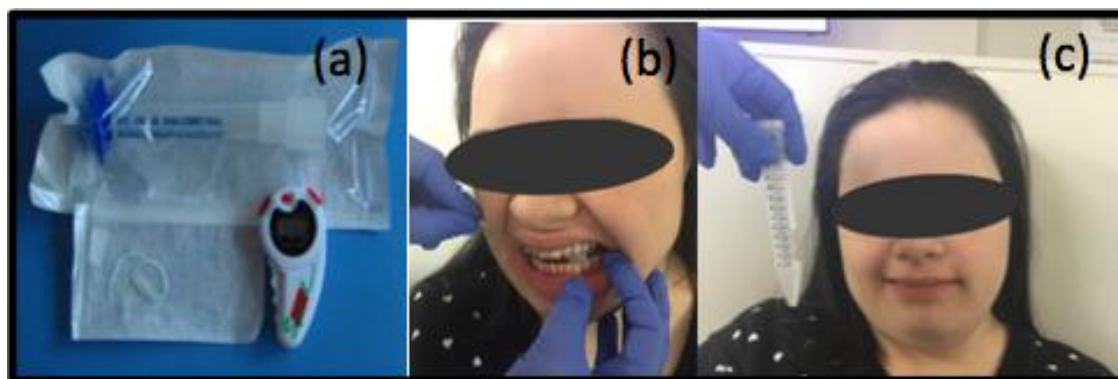
Fonte: Elaborado pela autora.

3.2.1.3 Determinação do fluxo salivar - sialometria

Para determinação do fluxo salivar foram necessários, além do sialogogo mecânico (hiperbolóide), um tubo coletor de saliva milimetrado e cronômetro. A saliva residual que se encontrava na cavidade bucal foi removida através da bomba. Estando bem acomodado sentado cadeira em posição de 90º foram iniciados os estímulos mecânicos através do sialogogo e ordenha. O cronômetro foi acionado durante o tempo da coleta. Foi analisada a quantidade de saliva contida no tubo coletor e esse valor foi

dividido pelo tempo determinado no cronômetro. Para a determinação do fluxo foram considerados 10 min de sucção com a bomba sugadora.

Figura 8 - Determinação do fluxo salivar



Legenda: (a) Cronômetro, sialogogo mecânico e coletor milimetrado (b) sialogogo mecânico oferecido para ser mastigado e (c) saliva coletada em tubo Falcon.

Fonte: Elaborada pela autora.

3.2.1.4 Determinação da viscosidade salivar - fiabilidade

A técnica de escolha para análise da viscosidade através da fiabilidade foi descrita por Murineanu em 2011. É importante destacar que a viscosidade (textura da saliva) deve ser considerada, uma vez que essa propriedade física auxilia fortemente na deglutição adequada (Vallons et al., 2015; Pedersen et al., 2018b). Em adição, cabe destacar que, diante de um estímulo estressor, devido a ativação do sistema nervoso autônomo simpático, a saliva responde de forma quantitativa reduzindo o seu fluxo, e qualitativa aumentando a sua viscosidade. Sendo assim, a viscosidade foi analisada de forma visual descritiva através da fiabilidade utilizando método descrito por Falcão et al., 2013 e Murineanu et al., 2011.

3.2.1.4.1 Interpretação da fiabilidade salivar

- Baixa viscosidade - se o filamento não for formado, ausência de fiabilidade salivar, ou se rompe facilmente, indica baixa viscosidade e a saliva é considerada predominantemente serosa.
- Viscosidade normal - se o filamento é fino, a fiabilidade salivar flui, formando fios entre 2 cm a 4 cm, indica viscosidade normal (saliva mista que contém partes equilibradas de mucina e albumina).
- Alta viscosidade - se o filamento for espesso, dando um aspecto mais alongado a secreção de saliva é predominantemente mucosa, fiabilidade salivar acima de 4cm indica alta viscosidade (saliva contém maior concentração de mucina).

Figura 8 - Determinação da viscosidade salivar fiabilidade



Legenda: A saliva é coletada digitalmente e dos dedos afastados lentamente até que o fio se romper.
Fonte: Falcão, 2003.

3.2.2 Procedimentos laboratoriais

Os procedimentos laboratoriais foram executados no laboratório do CEBAPE.

3.2.2.1 Determinação da capacidade tampão (CT) da saliva

Para avaliar a capacidade tampão do paciente com SD, 1 mL de saliva foi misturado a 3 mL de ácido clorídrico 0,005 N em um tubo tipo Falcon estéril. Esse tubo foi agitado levemente, deixado em repouso e aberto durante 10 min. Em seguida, o pH final da mistura será mensurado com auxílio de um pHmetro (modelo DM-22, DIGICROM Analítica Ltda, São Paulo, Brazil). A capacidade tampão foi mensurada de acordo com os estudos de Ericsson (1959), utilizando os valores de referência descritos no quadro 2.

3.2.2.2 Determinação de níveis de cortisol salivar

Para este estudo, 2 períodos de coletas de saliva são indicados: manhã (das 8h às 10h) e noite (das 21h às 23h). Considerando esses horários, as amostras de saliva dos pacientes com SD são coletadas 30 min após o despertar e antes de dormir. Esses períodos são selecionados para mensurar a quantidade de cortisol secretado durante os períodos de sono e vigília. Os valores de referência de níveis de cortisol na saliva em relação aos períodos manhã e noite estão descritos no Tabela 1.

Procedimento realizado de acordo com instruções contidas no *kit Enzimaimunoensaio* (Salimetrics, State College, PA, EUA).

As amostras foram coletadas conforme a descrição e submetidas a centrifugação por 15 minutos de 2000 a 3000 rotações por minuto (rpm), e o sobrenadante foi coletado e transportado para um criotubo, com no mínimo 1 mL de saliva e todas as amostras foram armazenadas a -20°C por no máximo 3 meses até que todos os pacientes fossem submetidos a fase de coleta.

Em seguida o cortisol salivar foi dosado por meio do *kit Enzimaimunoensaio* (Salimetrics, State College, PA, EUA), a temperatura ambiente (25 °C). Os volumes das amostras foram de 25 µL com tempo de incubação de 60 min. O procedimento segue o princípio básico de enzima imunoensaio, onde existe uma competição entre um antígeno não marcado e um antígeno marcado com enzima, por um número

determinado de sítios de ligação no anticorpo. O jogo do teste foi feito na placa de microtiter revestida com anticorpos monoclonais para o cortisol. O cortisol padrão e desconhecido compete com o cortisol ligado a peroxidase do rabano silvestre, enzima isolada de rabano silvestre que é capaz de agir como antígeno, pelos sítios de ligação do anticorpo. Após a incubação, componentes desativados são removidos por lavagem. O cortisol ligado a peroxidase será medido pela reação da enzima peroxidase no substrato tetrametilbenzidina (TMB). Esta reação produz uma cor azul. A cor amarela é formada após finalizada a reação com ácido sulfúrico. A análise da densidade óptica foi realizada por meio de leitura da absorbância da solução a 450nm (filtro de correção de 490nm a 630nm) (EON, Biotek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA).

Quadro 6 –Valores de Variância para determinação dos níveis de cortisol salivar por idade e gênero

Grupo Idades	Cortisol Matinal Variância (µg/dL)	Cortisol Noturno Variância (µg/dL)
Jovens 18 a 19 anos	0,021 - 0,883	ND - 0,215
Mulheres 21 a 30 anos	0,272 - 1,348	ND - 0,308
Mulheres 31 a 50 anos	0,094 - 1,515	ND - 0,181
Homens 21 a 30 anos	0,112 - 0,743	ND - 0,308
Homens 31 a 50 anos	0,122 - 1,551	ND - 0,181

Legenda: O quadro demonstra que os níveis de cortisol salivar matinal (CSM) e cortisol salivar noturno (CSN) sofrem variações de acordo com a idade e gênero podendo ser detectados na saliva somente dentro desse níveis de variância. Além disso o CSM é medido através de uma variância entre valores mínimos e máximos e o CSN somente se determina em valores máximos, sendo os mínimos não detectáveis (ND) na saliva.

Fonte: Adaptado Salimetrics. Salivary cortisol enzyme immunoassay kit [Internet]. [cited 2020 Feb 26]. Available from: <https://salimetrics.com/wp-content/uploads/2018/03/salivary-cortisol-elisa-kit.pdf>

3.3 Cálculo amostral e análise estatística

3.3.1 Determinação da amostra

Foram selecionados, por amostra de conveniência, 23 jovens e adultos com síndrome de Down e apneia obstrutiva do sono, provindos do projeto “guarda-chuva” supra-citado, que cumpriram os critérios de inclusão.

3.3.2 Pré-testes de premissas da estatística paramétrica

Para análise estatística, primeiramente os dados foram testados quanto a premissa de gaussianidade (normalidade dos resíduos) usando o teste Shapiro-Wilks, indicado para tratar a inflação do erro tipo I, frequente em amostras com tamanho entre 4 e 30 unidades (Miot, 2017). Complementarmente, a premissa de homocedasticidade (homogeneidade de variância) foi testada por meio do teste de Levene.

3.3.3 Teste de correlação entre graus de AOS e demais variáveis

Não constatado que os dados atendem as premissas de variância e distribuição de probabilidade, aplicou-se o teste de Wilcoxon (signed-rank test) para análise de correlação entre a variável categórica AOS com as variáveis gênero, taxa de fluxo salivar (TFS), viscosidade (VIS), capacidade tampão (CT) e nível de cortisol salivar (CS). Desse modo, para um valor de probabilidade (p-value) menor que o nível de significância ($\alpha = 0,05$), a hipótese nula H_0 é rejeitada, em favor da hipótese alternativa, sendo as quais:

H_0 : os níveis de apneia obstrutiva do sono não possuem correlação significativa com o Gênero, CSN, VISC, CSM, TFS e CT em jovens adultos com Síndrome de Down;

H_a : os níveis de apneia obstrutiva do sono possuem correlação significativa com o Gênero, CSN, VISC, CSM, TFS e CT em jovens adultos com Síndrome de Down.

3.3.4 Teste de diferenciação estatística por análise de variâncias

Não constatado que os dados atendem as premissas de variância e distribuição de probabilidade, aplicou-se Kruskal-Wallis com teste de Dunn para comparações múltiplas não paramétricas. Desse modo, para um valor de probabilidade (p-value) menor que o nível de significância ($\alpha = 0,05$), a hipótese nula H_0 é rejeitada, em favor da hipótese alternativa, sendo as quais:

H_0 : diferentes níveis de apneia obstrutiva do sono não têm efeito significativo sobre os níveis de cortisol salivar em jovens adultos com Síndrome de Down;

H_a : diferentes níveis de apneia obstrutiva do sono têm efeito significativo sobre os níveis de cortisol salivar em jovens adultos com Síndrome de Down.

3.3.5 Teste de dependência entre variáveis por análise de regressão

A análise de regressão logística múltipla foi aplicada para analisar a importância das variáveis gênero, taxa de fluxo salivar (TFS), viscosidade (VIS), capacidade tampão (CT) sobre a predição de graus de AOS, bem como os níveis de cortisol salivar (CS). Embora o CS já tenha sido avaliado conforme descrito anteriormente, a importância de algumas variáveis pode se manifestar dependendo do valor de outras. Se o coeficiente de regressão apresentar valor de probabilidade (p-value) inferior ao o nível de significância ($\alpha = 0,05$), a hipótese nula H_0 é rejeitada, em favor da hipótese alternativa, sendo as quais:

H_0 : o grau de apneia obstrutiva do sono não é dependente do gênero e/ou TFS e/ou VIS e/ou CT e/ou CS em jovens adultos com Síndrome de Down;

H_a : o grau de apneia obstrutiva do sono é dependente do gênero e/ou TFS e/ou VIS e/ou CT e/ou CS em jovens adultos com Síndrome de Down.

4 RESULTADOS

Os resultados foram baseados em um tamanho amostral de 23 pacientes jovens e adultos com síndrome de Down submetidos a todas as análises propostas, considerando que todos apresentavam algum grau de AOS.

A tabela 1 demonstra que 10 das 46 amostras de saliva coletadas para análises de cortisol salivar matinal e cortisol salivar noturno tiveram alterações nos valores de referência, sendo 3 para apneia leve, 2 para apneia moderada e 5 para apneia severa. As amostras sem alterações nos níveis de variância de cortisol somaram 36.

Tabela 1 - Diagnóstico de AOS confrontado com período de coleta de cortisol salivar

GRAUS DE AOS APNEIA/HORA	PERÍODO DA COLETA DE CORTISOL	COM ALTERAÇÃO DE NÍVEIS DE CORTISOL SALIVAR	SEM ALTERAÇÃO DE NÍVEIS DE CORTISOL SALIVAR	TOTAL DE PACIENTES/ SEVERIDADE AOS
LEVE DE 5 - 15 APNEIAS/HORA	CSM	2	6	8
	CSN	1	7	
MODERADA DE 15-30 APNEIAS/HORA	CSM	2	5	7
	CSN	0	7	
GRAVE > 30 APNEIAS/HORA	CSM	3	5	8
	CSN	2	6	
TOTAIS		10	36	23

} **23 pacientes
=
46 amostras**

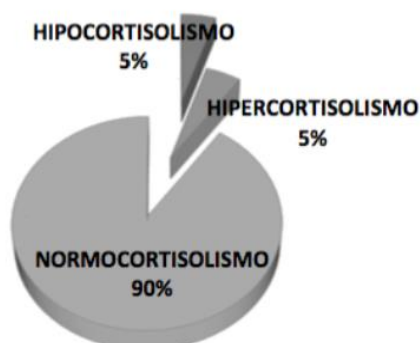
Legenda: 46 amostras de saliva foram coletadas de 23 pacientes em dois períodos, para análise de níveis de cortisol matinal (CSM) e níveis de cortisol salivar noturno (CSN).

Fonte: Elaborada pela autora.

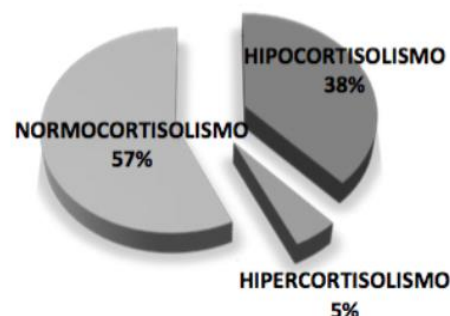
Em adição, a figura 9 demonstra a condição dos pacientes em relação aos níveis de cortisol, onde iremos considerar condição de normocortisolismo para níveis de cortisol dentro da variância de normalidade determinado pelo fabricante do kit de imunensaio utilizado para esse fim. Também utilizamos os conceitos de hipercortisolismo e hipocortisolismo para níveis de cortisol respectivamente acima e abaixo da variância de normalidade.

Figura 9 - Resultados dos níveis de cortisol coletado nas amostras de saliva nos períodos matinal e noturno.

NÍVEIS DE CORTISOL SALIVAR NOTURNO



NÍVEIS DE CORTISOL SALIVAR MATINAL



Legenda: Resultados de acordo com os níveis de cortisol salivar em diferentes períodos do dia.

NORMOCORTISOLISMO – Níveis de cortisol dentro da variância de normalidade

HIPERCORTISOLISMO - Níveis de cortisol acima da variância de normalidade

HIPOCORTISOLISMO – Níveis de cortisol abaixo da variância de normalidade

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 2 - Resultados sialométricos e sialoquímicos

PARÂMETROS SALIVARES	RESULTADOS EM PORCENTAGENS
TAXA DE FLUXO SALIVAR	77% ↓ e 23% ✱
VISCOSIDADE	52% N e 48% ↓
pH	91% N e 9% ▲
CAPACIDADE TAMPÃO	52% N , 46% L e 2% ↓

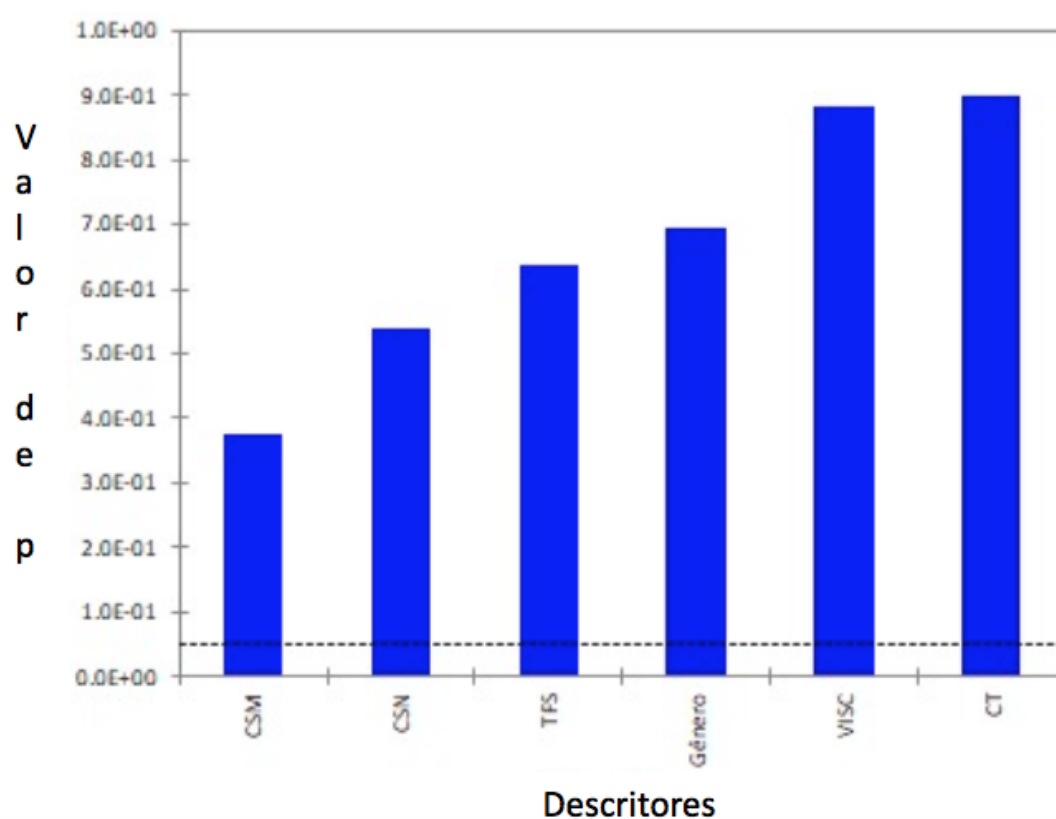
Legenda: TSF reduzido (↓); Hipossalivação (✱); pH elevado (▲); Viscosidade Normal (N); Viscosidade Alta (▲); limítrofe (L); NA - não se aplica.

Fonte: Elaborada pela autora

Para as análises estatísticas foram considerados AOS grave , moderada e leve. Para os níveis de cortisol foram considerados cortisol salivar noturno (CSN) e cortisol salivar matinal (CSM).O teste de Wilcoxon (signed-rank test), que avalia de forma não-paramétrica a evolução conjunta entre variáveis categóricas e numéricas, a fim de determinar a força da associação entre o comportamento das mesmas, resultou em valores de probabilidade (p-values) superiores ao nível de significância 0,05

(alfa). Para a população de jovens adultos com síndrome de Down, verifica-se que a correlação entre a variável AOS e às variáveis Gênero, CSN, VISC, CSM, TFS e CT não é estatisticamente significativa (figura 8).

Figura 10 - Valores de probabilidade de associação entre a variável categórica AOS e as variáveis exploratórias pelo teste de correlação de Wilcoxon

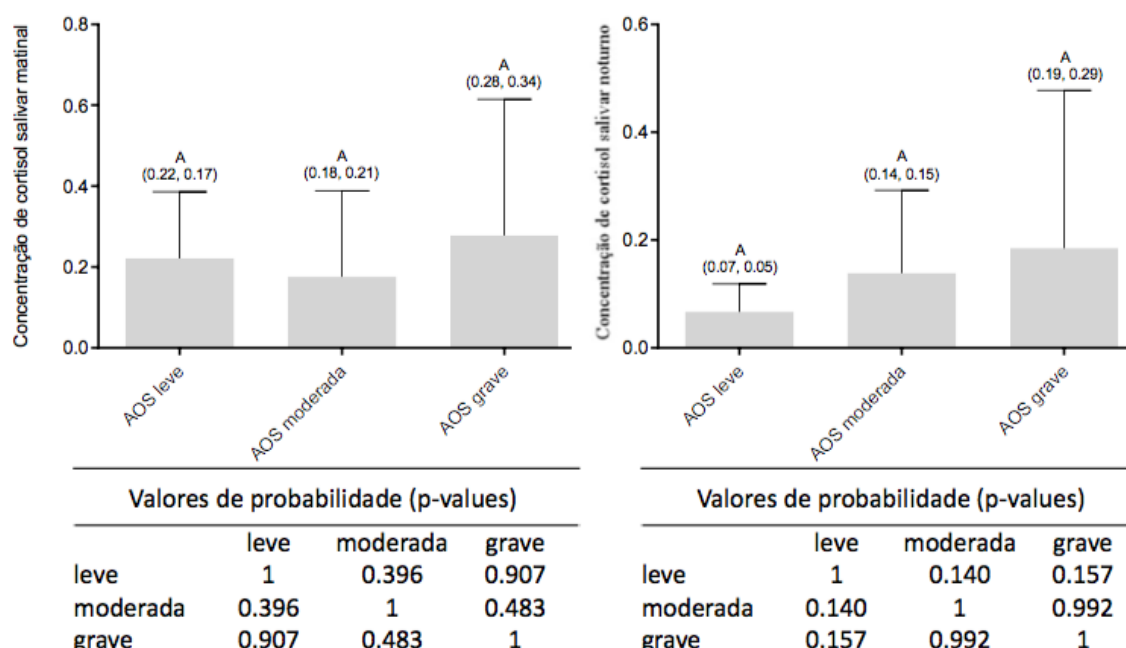


Legenda: CSM (cortisol salivar matinal); CSN (cortisol salivar noturno); TFS (taxa de fluxo salivar); VISC (viscosidade salivar); CT (capacidade tampão).

Fonte: Elaborado pela autora

Embora com valores médios distintos, como observa-se pelos gráficos da figura 9 de acordo com o teste Kruskal-Wallis corroborado pelo teste de Dunn aplicado à comparação múltipla, verifica-se que, na população de jovens adultos com síndrome de Down, os diferentes graus de AOS (leve, moderada e grave) não têm efeito significativo sobre os níveis de cortisol salivar matinal (CSM) e noturno (CSN), uma vez que os valores de probabilidade foram superiores ao nível de significância (0,05).

Figura 11 - Níveis de cortisol salivar X graus de AOS (leve, moderada e grave)



Legenda: Os gráficos demonstram que embora as concentrações de cortisol salivar matinal e noturna tenham tido diferentes resultados nos três graus de AOS, esses resultados não foram significativos de acordo com comparações múltiplas aos pares usando o procedimento de Dunn / teste bicaudal.
 Fonte: Elaborado pela autora

Em adição, o teste de dependência entre variáveis por análise de regressão logística resultou em valor de probabilidade muito significativo (p-value 0,0021). Logo, verifica-se que os graus de AOS possuem dependência das variáveis exploratórias quando consideradas simultaneamente (dependência multivariada). Contudo, os coeficientes parciais de regressão não resultaram em probabilidades significativas (p-values > alfa). Desse modo, os graus de AOS não possuem dependência univariada das variáveis exploratórias, isto é, quando consideradas isoladamente nesse grupo de jovens adultos com síndrome de Down.

5 DISCUSSÃO

O atendimento a pacientes com necessidades especiais é mais que uma habilidade ou especialidade, é uma missão. Conhecer a origem do problema, o seu desenvolvimento e formas de atenuar consequências, facilita a inclusão dessas pessoas que estão no mundo de modo diferente dos padrões de normalidade clínica e social. No Brasil, aproximadamente 25% da população constituída é por pessoas com algum tipo de necessidade especial, e dependendo do grau da limitação, pode-se somar a esse quadro pelo menos mais uma pessoa para cuidar desse indivíduo, e será possível entender que cerca de 50% da nossa população necessita de informações claras sobre o impacto pessoal, social, família e principalmente na saúde dos indivíduos portadores de cada deficiência; além de políticas públicas que as apoiem e protejam (Rosa et al., 2010; Brasil, 2013).

Estima-se que o diagnóstico para síndrome de Down ocorra 1 em cada 700 nascimentos, e a literatura nos mostra que há uma necessidade premente de se conhecer muito bem cada detalhe dessa condição afim de permitir a essas pessoas o se desenvolvam de maneira integral e, conseqüentemente, encontrem seu lugar na família e sociedade. Fica claro que investir na qualidade de vida dessas pessoas através de informação e inclusão pode reduzir de sobremaneira esse impacto. (Mustacchi Z et al., 2000; Brasil, 2013; Hardee, Fetters, 2017; Silva, Marqui, 2020).

A falta de orientação adequada sobre a gestão dessa alteração genética pode desencadear nos pais vários tipos de sentimentos como culpa, rejeição, negação ou desespero, modificando as relações do núcleo familiar e a condução equivocada dessa condição (Casarin, 2003; Guerra et al., 2015). Mesmo para os cuidadores mais dedicados, o impacto de uma vida inteira com algumas limitações e certas comorbidades que essa condição pode carregar, torna-se um gatilho para medo do que está por vir, fazendo surgir atitudes de superproteção ou piedade que podem interferir no desenvolvimento da criança, incluindo os aspectos sociais, emocionais, comportamentais (Sobering et al., 2017; Hardee, Fetters, 2017).

Questionários aplicados por Rezende, Dutra et al 2019 aos cuidadores de pessoas com síndrome de Down, tornaram evidentes alguns importantes aspectos sobre saúde física e emocional dos cuidadores, despertando para a importância de

atenção na família para o processo de saúde do próprio paciente. A integração da saúde da família e pessoa com SD traz a recompensa do amor e alegria e tornam a experiência repleta de superação. Lembrando que o ensinamento ocorre principalmente pelo exemplo, o cuidador precisa estar atento à saúde da pessoa com SD e à própria saúde para que o benefício seja mútuo (Couzens et al., 2012; Channell et al., 2014; Gensouset al., 2019).

Conforme demonstrado anteriormente, muitas comorbidades estão associadas à síndrome de Down (SD), e destacamos a apneia obstrutiva do sono (AOS). Stores, RL em 2019, fala sobre as dificuldades de se pesquisar distúrbios do sono em adultos com SD, e que o padrão ouro para esse diagnóstico ainda é a polissonografia (PSG) e no nosso estudo os pacientes selecionados foram submetidos a PSG II, onde 100% dos indivíduos avaliados apresentaram graus variáveis de AOS. A técnica utilizada para a aplicação da PSGII é muito favorável para pacientes especiais por se tratar de uma maneira deles dormirem em casa, nas suas próprias camas, reduzindo questões como o medo do desconhecido e a dificuldade de deslocamento para clínicas de PSG (Giannasi et al., 2019).

Observando as possíveis causas da presença de AOS nesse grupo e considerando que a hipotonia uma das principais características que afetam os indivíduos com SD, podemos inferir que a alteração do tônus muscular da faringe favorece a obstrução total ou parcial das vias aéreas durante o sono, causando AOS (Trois et al., 2009; Esbensen, 2016; Giannasi et al., 2019; Giannasi et al., 2020).

Em adição, considerando que a tensão superficial da saliva é inversamente proporcional à viscosidade e que há um aumento da tensão superficial em pacientes com AOS (Kirkness et al., 2005), podemos sugerir estudos mais aprofundados sobre o assunto com base nos nossos resultados sobre parâmetros salivares, nos resultados que demonstraram baixo fluxo e viscosidade. Portanto, embora malformação craniofacial seja considerada uma causa primária de obstrução das vias aéreas superiores em pacientes com síndrome de Down, um estudo de Kawai et al., em 2018 demonstrou que a tensão superficial salivar de pacientes com síndrome de Down é reduzida e juntamente com alterações anatômicas pode servir como resposta compensatória a uma predisposição paracolapsibilidade das vias aéreas superiores. Em adição, o fluxo salivar reduzido pode ser um fator importante na redução da tensão superficial salivar durante o sono em pacientes com SD (Domingues et al., 2017).

Nossos resultados sobre redução de fluxo e níveis reduzidos de viscosidade, associados à presença de ronco e AOS, são compatíveis com esses achados posteriores, sugerindo que a análise da tensão superficial salivar deve ser considerada nas avaliações e tratamentos futuros da AOS. Atualmente, os biomarcadores salivares surgem não apenas em correlação com distúrbios orais, mas também nos tecidos e órgãos distais (Shah, 2018).

Os valores reduzidos das TFS são sugestivos da hipotonia que pode levar a fadiga muscular ao processo de mastigação e consequente falta de estímulo mecânico a produção salivar. Pode-se inferir, ainda, que uma ou mais glândulas salivares podem estar ausentes em pessoas com síndrome de Down (Odeh et al., 2013), prejudicando as funções desse biofluido que estão integradas por um controle neuronal através de complexos mecanismos regulatórios do sistema nervoso autônomo (SNA). Lembrando que as glândulas salivares estão espalhadas por toda a cavidade bucal secretando saliva do tipo mucosa, serosa, seromucosa e mucosserosa, sendo que alterações na qualidade da saliva podem estar associadas a disfunções ou hipofunções em diferentes grupos de glândulas, sinalizando distúrbios locais e/ou sistêmicos (Rantonenet al., 2003; Santos et al., 2007; Guyton et al., 2011; Pedersen et al., 2018b).

Recordando algumas das funções da saliva podemos discutir o quanto a redução do fluxo e alteração da viscosidade podem impactar na qualidade de vida dos pacientes com SD.

- A deglutição que já é comprometida por conta da hipotonia, fica ainda mais prejudicada em baixo fluxo.
- A digestão do amido fica prejudicada, pois é realizada a partir da amilase salivar que é uma enzima fluxo/dependente
- A baixa viscosidade reduz a lubrificação da cavidade bucal gerando xerostomia (sensação subjetiva de boca seca) e dificuldade de formação do bolo alimentar.
- A regulação da temperatura dos alimentos é fluxo dependente
- Ação de auto limpeza bucal é fluxo/dependente

Ao eleger a saliva para analisar concentrações de cortisol, é necessário considerar que fisiologicamente, as concentrações salivares de cortisol caem abaixo dos níveis detectáveis durante períodos em que as concentrações séricas de cortisol são naturalmente baixas, como no período noturno por exemplo, fornecendo segurança para a utilização desse biofluido para a análise dos níveis de cortisol (Ribeiro, Motta, 2014; Blair et al., 2017).

A apneia obstrutiva do sono (AOS) é um estímulo estressor relacionado a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), tendo como produto final a secreção de cortisol, que é o biomarcador mais frequentemente empregado na pesquisa psicobiológica por responder ao estresse social e psicológico (Lupien et al., 2009; Elder et al., 2016; Adam et al., 2017).

Há na literatura uma busca incessante por biomarcadores para AOS com a finalidade tornar acessível exames que evidenciem o risco para a ocorrência desse distúrbio, e, assim, estimular a criação de protocolos preventivos, reduzindo a manifestação de uma comorbidade potencialmente grave. (Magalhães, 2017). No grupo avaliado os graus da AOS não apresentaram efeito significativo em nenhum dos dois parâmetros salivares de cortisol (CSM e CSN), o que pode indicar ausência de manifestação de estresse mesmo associado a quadros de AOS em jovens e adultos com SD.

Condições de alterações dos níveis de cortisol salivar podem sugerir disfunções nas glândulas envolvidas no eixo HPA. Um ressurgimento do interesse em biomarcadores salivares gerou evidências do valor do cortisol na avaliação da função adrenal (Deutschbein et al., 2012; Blair et al., 2017). E esse poderá ser o foco de um estudo futuro sobre o assunto, considerando que o excesso ou deficiência de glicocorticoides podem perceber sintomas como depressão, euforia, psicose, apatia, letargia, revelando que o cérebro é um importante órgão alvo para estes hormônios (Cardoso, Palma, 2009).

Diferentes estudos podem ser realizados nessa população utilizando marcadores salivares uma vez que a coleta da amostra é um método fácil, seguro e não invasivo especialmente apropriado para amostragens múltiplas. A técnica de coleta em pacientes com necessidades especiais através da adaptação de uma bomba sugadora se mostrou muito eficiente, com aplicabilidade para uso ambulatorial e *home care* (Giannasi et al., 2019; Gomes et al., 2020).

Devido ao alto custo para realização do seu diagnóstico polissonográfico, a construção de plataformas de diagnóstico de baixo custo, terão grande relevância para sociedade. O cortisol é um biomarcador consagrado para avaliações de estresse e, sendo a AOS um estímulo estressor, o cortisol poderia ser promissor para avaliação de risco para AOS (Park et al., 2013).

6 CONCLUSÃO

O normocortisolismo foi detectado na maioria dos pacientes jovens e adultos com síndrome de Down e apneia obstrutiva do sono (AOS), nos períodos matinal e noturno, sugerindo haver ausência de risco de estresse psicológico e/ou físico desencadeados pela AOS nesses indivíduos.

Apesar de não haver significância estatística, o hipercortisolismo foi encontrado em pacientes com síndrome de Down e apneia obstrutiva do sono (AOS) grave, em períodos distintos (matinal e noturno); e o hipocortisolismo em apneia obstrutiva do sono (AOS) grave, foi detectado somente no período matinal. O cortisol salivar, da forma como foi avaliado, demonstrou instabilidade na detecção dos seus níveis, mostrando que as alterações dos níveis para mais ou para menos foram independentes da severidade de apneia obstrutiva do sono (AOS).

As amostras salivares coletadas para análise sialométrica, mostraram redução na secreção e viscosidade salivar, com impacto negativo para mastigação, deglutição, fonação e percepção do paladar. Ainda podemos sugerir que a baixa viscosidade possa interferir na tensão superficial salivar de pacientes com síndrome de Down é reduzida e juntamente com alterações anatômicas pode servir como resposta compensatória a uma predisposição paracolapsidade das vias aéreas superiores. Caso esses dados sejam confirmados em estudos randomizados, esses resultados podem ter implicações no desenvolvimento de gestão da saúde de pessoas com síndrome de Down. Claramente nosso estudo demonstrou que ainda há muito que se descobrir sobre o perfil dessa população afim de colaborar com qualidade de vida sob os aspectos clínicos, emocionais e sociais.

REFERÊNCIAS*

Adam EK, Quinn ME, Tavernier R, McQuillan MT, Dahlke KA, Gilbert KE. Diurnal cortisol slopes and mental and physical health outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;83:25-41. doi:10.1016/j.psyneuen.2017.05.018

Alkhateeb AA, Mancl LA, Presland RB, Rothen ML, Chi DL. Unstimulated Saliva-Related caries risk factors in individuals with cystic fibrosis: a cross-sectional analysis of unstimulated salivary flow, pH, and buffering capacity. *Caries Res*. 2017;51(1):1-6. doi: 10.1159/000450658. PubMed PMID: 27846621; PubMed Central PMCID: PMC5337435.

Antonarakis SE, Skotko BG, Rafii MS, Strydom A, Pape SE, Bianchi DW, et al. Down syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2020;6(1):9. Published 2020 Feb 6. doi:10.1038/s41572-019-0143-7

Arumugam A, Raja K, Venugopalan M, Chandrasekaran B, Kovanur Sampath K, Muthusamy H, et al. Down syndrome-a narrative review with a focus on anatomical features. *Clin Anat*. 2016 Jul;29(5):568-77. doi: 10.1002/ca.22672. PubMed PMID: 26599319.

Aparicio P, Barba R, Moldenhauer F, Suárez C, Real de Asúa D. Characteristics of adults with Down syndrome hospitalised in Spanish internal medicine departments during 2005-2014. *Rev Clin Esp*. 2019 Dec 11. pii: S0014-2565(19)30298-X. doi: 10.1016/j.rce.2019.11.004. [Epub ahead of print] English, Spanish. PubMed PMID: 31837747.

Asim A, Kumar A, Muthuswamy S, Jain S, Agarwal S. "Down syndrome: an insight of the disease". *J Biomed Sci*. 2015 Jun 11;22:41. doi: 10.1186/s12929-015-0138-y. Review. PubMed PMID: 26062604; PubMed Central PMCID: PMC4464633.

Assis DC, Resende DV, Marziale MHP. Association between shift work, salivary cortisol levels, stress and fatigue in nurses: integrative review. *Escola Anna Nery*, 2018; 22(1). doi:10.1590/2177-9465-ean-2017-0125

Balboni G, Pedrassi L, Molteni M, Villa S. Discriminant validity of the Vineland Scales; score profiles of individuals with mental retardation and a specific disorder. *AAIDD Journals*. 2001:161,162-72.

Ballard C, Mobley W, Hardy J, Williams G, Corbett A. Dementia in Down's syndrome. *Lancet Neurol*. 2016 May;15(6):622-36. doi:10.1016/S1474-4422(16)00063-6. PubMed PMID: 27302127.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [cited 2019 Jan 2019]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bermudez BE, Medeiros SL, Bermudez MB, Novadzki IM, Magdalena NI. Down syndrome: prevalence and distribution of congenital heart disease in Brazil. *Sao Paulo Med J*. 2015;133(6):521-4.

Blair J, Adaway J, Keevil B, Ross R. Salivary cortisol and cortisone in the clinical setting. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2017;24(3): 161–8. doi:10.1097/med.0000000000000328

Brasil. Ministério da Saúde. Diretrizes de atenção à pessoa com Síndrome de Down [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2013. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizesatencao_pessoa_sindrome_down

Bucks RS, Olaithe M, Eastwood P. Neurocognitive function in obstructive sleep apnoea: a meta-review. *Respirology*. 2013;18(1):61-70. doi:10.1111/j.1440-1843.2012.02255.x

Bull MJ. Committee on Genetics. Health supervision for children with Down syndrome. *Pediatrics*. 2011 Aug;128(2):393-406. doi: 10.1542/peds.2011-1605. 2011 Dec;128(6):1212. PubMed PMID: 21788214.

Bunt CW, Bunt SK. Role of the family physician in the care of children with Down syndrome. *Am Fam Physician*. 2014 Dec 15;90(12):851-8. Review. PubMed PMID: 25591185.

Capone GT, Chicoine B, Bulova P, Stephens M, Hart S, Crissman, B. Co-occurring medical conditions in adults with Down syndrome: a systematic review toward the development of health care guidelines. *Am J Med Gen Part A*. 2017; 176(1):116–33. doi:10.1002/ajmg.a.38512

Cardoso RT, Palma IM. Cortex supra-renal: anatomia, embriologia e fisiologia *Rev Port de Endoc, Diab e Met*. 2009;14(1):71-6.

Carpenter GH. The Secretion, components, and properties of saliva. *Ann Rev Food Sci Technol*. 2013;4(1): 267–76. doi:10.1146/annurev-food-030212-182700

Carskadon MA, Dement WC. Normal human sleep. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC. *Principal and practice of sleep medicine*. St. Louis: Elsevier Saunders; 2011.

Carvalho ASC, Fernandes A, Belen GA, Vaz JÁ, Sierra VM. Qualidade do sono e marcadores endócrinos e bioquímicos [pôster]. In: *I Congresso Nacional de Ciências Biomédicas Laboratoriais*. Bragança Paulista; 2016.

Casarin S. Aspectos psicológicos na síndrome de Down. *Síndrome de Down*. 2003;(2):263-284.

Castañeda AAH, Moya GCA, Mora GMM, Queluz DP. Chemical salivary composition and its relationship with periodontal disease and dental calculus. *Braz J Oral Sci*. 2015;14(2)159-65.

Castro M, Moreira AC. Análise crítica do cortisol salivar na avaliação do eixo hipotálamo hipófise adrenal. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2003;47(4):358-67.

Chadi MJ, Saint Georges G, Albert F, Mainville G, Nguyen JM, Kauzman A. Major salivary gland aplasia and hypoplasia in Down syndrome: review of the literature and report of a case. *Clin Case Rep.* 2017 May 4;5(6):939-44. doi: 10.1002/ccr3.975. PubMed PMID: 28588844; PMCID: PMC5457992.

Channell MM, Thurman AJ, Kover ST, Abbeduto L. Patterns of change in nonverbal cognition in adolescents with Down syndrome. *Res Devel Disabil.* 2014;35:2933–41.

Chaput JP. Sleep patterns, diet quality and energy balance. *Physiol Behav.* 2014 Jul;134:86-91. doi: 10.1016/j.physbeh.2013.09.006. PubMed PMID: 24051052.

Cheida AP. Hyperboloid: form and function. *J Bras Ortodontia Ortop Maxilar.* 1997;11:49-53. Available from: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=222635&indexSearch=ID>

Chopra S, Rathore A, Younas H. Obstructive sleep apnea dynamically increases nocturnal plasma free fatty acids, glucose, and cortisol during sleep. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(9):3172-81. doi:10.1210/jc.2017-00619

Chrousos GP, Kino T. Glucocorticoid action networks and complex psychiatric and/or somatic disorders. *Stress.* 2007 Jun;10(2):213-9. Review. PubMed PMID: 17514590.

Chung F, Yegneswaran B, Liao P, Chung SA, Vairavanathan S, Islam S, et al. STOP questionnaire: a tool to screen patients for obstructive sleep apnea. *Anesthesiology.* 2008 May;108(5):812-21. doi:10.1097/ALN.0b013e31816d83e4. PubMed PMID: 18431116.

Cooper MS, Stewart PM. Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients. *N Eng J Med.* 348:727-34, 2003.

Coppedè F. Risk factors for Down syndrome. *Arch Toxicol.* 2016 Dec;90(12):2917-29. doi:https://doi.org/10.1007/s00204-016-1843-3 PubMed PMID: 27600794.

Couzens D, Haynes M, Cuskelly M. Individual and environmental characteristics associated with cognitive development in Down syndrome: a longitudinal study. *J Appl Res Intellect Disabil.* 2012 Sep;25(5):396-413. doi: 10.1111/j.1468-3148.2011.00673.x. PubMed PMID: 22890941.

Davidovich E, Aframian DJ, Shapira J, Peretz B. A comparison of the sialochemistry, oral pH, and oral health status of Down syndrome children to healthy children. *Int J Paediatr Dent.* 2010 Jul;20(4):235-41. doi: 10.1111/j.1365-263X.2010.01045.x. PubMed PMID: 20536584.

De Bernardo G, Riccitelli M, Giordano M, Proietti F, Sordino D, Longini M, et al. Rooming-in reduces salivary cortisol level of newborn. *Mediat Inflamm*. 2018. 2845352. Doi: <https://doi.org/10.1155/2018/2845352>.

Deutschbein T, Broecker-Preuss M, Flitsch J, Jaeger A, Althoff R, Walz MK et al. Salivary cortisol as a diagnostic tool for Cushing's syndrome and adrenal insufficiency: improved screening by an automatic immunoassay. *Eur J Endocrinol*. 2012;166(4):613–8. doi:10.1530/EJE-11-0945

Dewald JF, Meijer AM, Oort FJ, Kerkhof GA, Bögels SM. The influence of sleep quality, sleep duration and sleepiness on school performance in children and adolescents: a meta-analytic review. *Sleep Med Rev*. 2010 Jun;14(3):179-89. doi: 10.1016/j.smrv.2009.10.004. PubMed PMID: 20093054.

Down JL. Lettsomian Lectures on Some of the mental affections of childhood and youth. *Br Med J*. 1887 Feb 5;1(1362):256-9. PubMed PMID: 20751780

Domingues NB, Mariusso MR, Tanaka MH, Scarel-Caminaga RM, Mayer MPA, Brighenti FL, et al. Reduced salivary flow rate and high levels of oxidative stress in whole saliva of children with Down syndrome. *Spec Care Dentist*. 2017 Nov;37(6):269-76. doi: 10.1111/scd.12258. PubMed PMID: 29231976.

Duarte AMBR, Bessa J Júnior, Mrad FCC, Tibiriçá SHC, Camargo MLS, Vieira AAP, Et al. Smoking and its association with cryptorchidism in Down syndrome. *Rev Assoc Med Bras*. 2017 Aug;63(8):693-6. doi: 10.1590/1806-9282.63.08.693. PubMed PMID: 28977107.

Dykens EM, Hodapp RM, Evans DW. Profiles and development of adaptive behavior in children with Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract*. 2006 Jun;9(3):45-50. PubMed PMID: 16869374.

Elder GJ, Wetherell MA, Barclay NL, Ellis JG. The cortisol awakening response--applications and implications for sleep medicine. *Sleep Med Rev*. 2014;18(3):215-24. doi:10.1016/j.smrv.2013.05.001

Elder GJ, Ellis JG, Barclay NL, Wetherell MA. Assessing the daily stability of the cortisol awakening response in a controlled environment. *BMC Psychol*. 2016;4:3. Published 2016 Jan 28. doi:10.1186/s40359-016-0107-6

Ericsson Y. Clinical investigation on the salivary buffering action. *Acta Odontol Scand*. 1959;17:131–65.

Esbensen AJ. Sleep problems and associated comorbidities among adults with Down syndrome. *J Intellect Disabil Res*. 2016;60(1):68-79. doi:10.1111/jir.12236

Falcão DP, Mota LM, Pires AL, Bezerra ACB. Sialometria: aspectos de interesse clínico. *Rev Bras Reumatol*. 2013 nov-dez: 53(6):525-31.

Falcão DP. Avaliação da viscosidade salivar e sua relação com a halitose. [dissertação]. Brasília. Universidade Federal de Brasília, Faculdade de Ciências de Odontologia; 2003.

Faria CC, Almeida RSF, Evangelista CD, Lopes DK, Ribeiro LC, Almeida RR. Salivary periodontopathic bacteria in children and adolescents with Down syndrome. PLoS One. 2016 Oct 11;11(10). doi: 10.1371/journal.pone.0162988. PubMed PMID: 27727287.

Fernandes RM. (2006). O sono normal. Medicina (Ribeirão Preto Online).2006: 39(2), 157-68. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v39i2p157-168>

Ferreira AT, Lamonica DA. Motor, linguistic, personal and social aspects of children with Down syndrome. J Appl Oral Sci. 2015; 23(4):424-30.

Flabiano FC, Buhler KEC, Limongi SCO. Desenvolvimento cognitivo e de linguagem expressiva em um par de gêmeos dizigóticos: influência da síndrome de Down e da prematuridade associada ao muito baixo peso. Rev soc bras fonoaudiol. [internet]. 2009;14(2):267-74. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-80342009000200020>.

Flores-Ramírez F, Palacios-Guerrero C, García-Delgado C, Morales-Jiménez AB, Arias-Villegas CM, Cervantes A, et al. Cytogenetic Profile in 1,921 Cases of Trisomy 21 Syndrome. Arch Medl Res.2015; 46(6):484-9. doi:10.1016/j.arcmed.2015.08.001

Furlan NF, Gavião MB, Barbosa TS, Nicolau J, Castelo PM. Salivary cortisol, alpha-amylase and heart rate variation in response to dental treatment in children. J Clin Pediatr Dent. 2012 Fall;37(1):83-7.doi: 10.17796/jcpd.37.1.n32m21n08417v363. PubMed PMID: 23342572.

Garbellotto GI, Reis FJ, Feoli AMP, Piovesan CH, Gustavo ADS, Oliveira MDS, et al. Salivary cortisol and metabolic syndrome component's association. Arq Bras Cir Dig. 2018 Jun 21;31(1):e1351. doi: 10.1590/0102-672020180001e1351. English, Portuguese. PubMed PMID: 29947685.

Gensous N, Franceschi C, Salvioli S, Garagnani P, Bacalini MG. Down Syndrome, ageing and epigenetics. Subcell Biochem. 2019;91:161-193. doi: 10.1007/978-981-13-3681-2_7. Review. PubMed PMID: 30888653.

Giannasi LC, Dutra MTS, Tengan VLS, Mancilha GP, Silva GRC, Fillietaz-Bacigalupo E et al. Evaluation of the masticatory muscle function, physiological sleep variables, and salivary parameters after electromechanical therapeutic approaches in adult patients with Down syndrome: a randomized controlled clinical trial. Trials. 2019 Apr 11;20(1):215. doi: 10.1186/s13063-019-3300-0. PubMed PMID: 30975204

Giannasi LC, Nacif SR, Leitão Filho SS, Oliveira LVF. Effect of intraoral appliance in the treatment of moderate obstructive sleep apnea. ConScientiae Saúde.,2008;7(3):343-7.

Giannasi LC, Politt, F, Dutra MTS; Tengan VLS, Silva GRC, Mancilha GP et al. Intra-Day and Inter-Day Reliability of Measurements of the electromyographic signal on masseter and temporal muscles in patients with Down syndrome. *Sci Rep*. 2020;10(1):7477. Published 2020 May 4. doi:10.1038/s41598-020-63963-z

Glasson EJ, Sullivan SG, Hussain R, Petterson BA, Montgomery PD, Bittles AH. The changing survival profile of people with Down's syndrome: implications for genetic counselling. *Clin Genet*. 2002 Nov;62(5):390-3. doi: 10.1034/j.1399-0004.2002.620506.x. PubMed PMID: 12431254.

Godoy MAB, Almeida MA. Implicações dos distúrbios respiratórios do sono em alunos com deficiência intelectual: revisão sistemática. *Periferia*. 2017; 9(1). doi:10.12957/periferia.2017.28777

Gomes MF, Giannasi LC, Filietaz-Bacigalupo E, de Mancilha GP, de Carvalho Silva GR, Soviero LD et al. Evaluation of the masticatory biomechanical function in Down syndrome and its Influence on sleep disorders, body adiposity and salivary parameters. *J Oral Rehabil*. 2020;47(8):1007-22. doi:10.1111/joor.13023

Gomes MF, Sichi LGB, Giannasi LC, Amorim JBO, Rocha JC Da, Koga-Ito CY, et al. Phenotypic features and salivary parameters in patients with ectodermal dysplasia: report of three cases. *Case Rep Dent*. 2018;2018. doi: 10.1155/2018/2409212

Gomez W, Morales R, Coutinho VM, Parra V, Nassif M. Down syndrome and Alzheimer's disease: common molecular traits beyond the amyloid precursor protein. *Aging (Albany NY)*. 2020;12:1011-33. doi: <https://doi.org/10.18632/aging.102677>

Grieco J, Pulsifer M, Seligsohn K, Skotko B, Schwartz A. Down syndrome: cognitive and behavioral functioning across the lifespan. *Am J Med Genet Part C: Seminars in Medical Genetics*. 2015;169(2):135–49. doi:10.1002/ajmg.c.31439

Grimaldi D, Papalambros NA, Reid KJ, Abbott SM, Malkani RG, Gendy M, et al. Strengthening sleep-autonomic interaction via acoustic enhancement of slow oscillations. *Sleep*. 2019;42(5):zsz036. doi:10.1093/sleep/zsz036

Guerra CS, Dias MD, Ferreira Filha MO, Andrade FB, Reichert APS, Araújo VS. From the dream to reality: experience of mothers of children with disabilities. *Texto contexto enferm*. Florianópolis. 2015; 24(2):459-66.

Guyton AC, Hall JE. *Tratado de fisiologia médica*. 12. ed. São Paulo: Elsevier; 2011

Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med*. 2004;350(16):1629-38. doi:10.1056/NEJMoa020266

Hardee JP, Fethers L. The effect of exercise intervention on daily life activities and social participation in individuals with Down syndrome: a systematic review. *Res Dev Disabil*. 2017 Mar;62:81-103. doi: 10.1016/j.ridd.2017.01.011. Epub 2017 Jan 22. Review. PubMed PMID: 28119223.

Hashizume LN, Schwertner C, Moreira MJS, Coitinho AS, Faccini LS. Salivary secretory IgA concentration and dental caries in children with Down syndrome. *Spec Care Dentist*. 2017 May;37(3):115-9. doi: 10.1111/scd.12222. Epub 2017 Mar 6. PubMed PMID: 28263433

Hecht F. Jerome Lejeune (1926-94): In Memoriam. *Am J Hum Genet*. 1994; 55:201-202.

Henn CG, Piccinini CA, Garcias GL. A família no contexto da Síndrome de Down: revisando a literatura. *Psico. estud. Maringá*. 2008;13(3):485-93. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-73722008000300009>.

Hellhammer DH, Wüst S, Kudielka BM. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology*. 2009 Feb;34(2):163-71. doi: 10.1016/j.psyneuen.2008.10.026. Epub 2008 Dec 18. Review. PubMed PMID: 19095358.

Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent*. 2001 Feb;85(2):162-9. Review. PubMed PMID: 11208206.

Jaeger RG, Freitas J. Histologia das glândulas salivares. In: Oriá RB. *Sistema Digestório – integração básico-clínica*. São Paulo. Editora: Edgard Blucher; 2016.

Juruena MF, Cleare AJ, Pariante CM. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. *Rev Bras Psiquiatr*; 2004; 26(3);189-201.

Kawai M, Ito N, Ayuse T. Changes in surface tension of saliva in Down syndrome. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(19):6469-74. doi:10.26355/eurrev_201810_16060

Kirkness JP, Madronio M, Stavrinou R, Wheatley JR, Amis TC. Surface tension of upper airway mucosal lining liquid in obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Sleep*. 2005 Apr;28(4):457-63. PubMed PMID: 16171290.

Komatsu T, Duckyoung Y, Ito A, Kurosawa K, Maehata Y, Kubodera T, et al. Increased oxidative stress biomarkers in the saliva of Down syndrome patients. *Arch Oral Biol*. 2013 Sep;58(9):1246-50. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.03.017. Epub 2013 May 25. PubMed PMID: 23714170.

Lee CF, Lee CH, Hsueh WY, Lin MT, Kang KT. prevalence of obstructive sleep apnea in children with Down syndrome: a meta-analysis. *J Clin Sleep Med*. 2018 May 15;14(5):867-75. doi: 10.5664/jcsm.7126. PubMed PMID: 29734982

Lejeune J, Gauthier M, Turpin R. Les chromosomes humains en culture destissus. *C R Acad Scil*. 1959;248:602-3

Llena-Puy C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006 Aug;11(5):E449-55.

Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(6):434-45. doi:10.1038/nrn2639

Magalhães MC. Capacidade diagnóstica de marcadores salivares na síndrome da apneia obstrutiva do sono - revisão sistemática de literatura [tcc]. Uberlândia (MG): Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Odontologia; 2017.

Maris M, Verhulst S, Wojciechowski M, Van de Heyning P, Boudewyns A. Prevalence of obstructive sleep apnea in children with down syndrome. *Sleep*. 2016;39(3):699-704. Published 2016 Mar 1. doi:10.5665/sleep.5554

Matsui MY, Ferraz MJP, Gomes MF, Hiraoka CM - Sialochemical and sialometric alterations in patients with cerebral palsy: a literature review. *Rev Cefac*. 2011;13(1):159-64

McNeil J, Doucet É, Chaput JP. Inadequate sleep as a contributor to obesity and type 2 diabetes. *Can J Diabetes*. 2013 Apr;37(2):103-8. doi: 10.1016/j.jcjd.2013.02.060. PubMed PMID: 24070800.

McPehee SJ, Hammer GD. Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine. 5.ed. San Francisco CA USA. Appleton & Lange; 2006. Available from: <https://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookID=2468>

Miot HA. Assessing normality of data in clinical and experimental trials. *J Vasc Bras*. 2017;16(2):88-91. doi.org/10.1590/1677-5449.041117

Moosavi MS, Barati H. Salivary gland performance in autoimmune diseases: review and meta-analysis, *Acta Clinica Belgica*. 2020;75:1, 19-25, doi:10.1080/17843286.2018.1540164

Moreira MJ, Schwertner C, Granado D, Faccini LS, Hashizume LN. Oral health and salivary levels of mutans streptococci in children with Down syndrome. *Pediatr Dent*. 2015;37(4):355-60.

Moreno CRC, Jansen JM, Lopes AJ, Jansen U, Capone D, Maeda TY, et al. Medicina da noite: da Cronobiologia à prática clínica. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro 2008; 24(10):2453-4. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2008001000029&lng=en&nrm=iso.

Movimento Down. [Internet]. [cited 2020 Feb 26]. Available from: <http://www.movimentodown.org.br/>.

Murineanu R, Stefanescu C, Zaharia A, Davidescu C, Popsor S. Evaluation of total unstimulated saliva viscosity in complete edentulous patients. *Romanian J Oral Rehabil*. 2011;3(3):53.

Mustacchi Z. Síndrome de Down. In: Mustacchi Z, Peres S. Genética baseada em evidências: síndromes e heranças [CD ROM]. São Paulo: Centro Israelita de Assistência ao Menor; 2000.

Mustacchi Z. Curvas padrão pondero-estatural de portadores de síndrome de Down procedentes da região urbana da cidade de São Paulo [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002.

Næss KA, Lervåg A, Lyster SA, Hulme C. Longitudinal relationships between language and verbal short-term memory skills in children with Down syndrome. *J Exp Child Psychol*. 2011 Jul;135:43-55. doi: 10.1016/j.jecp.2015.02.004. PubMed PMID: 25819288.

Nakadonari EK, Soares AA. Down's syndrome: general considerations on the influence of advanced mother age. *Arq Mudi*. 2006;10(2):5-9.

Navazesh M, Kumar SK. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc* 2008;139 Suppl: 35S-40S.

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Genetic variation in individuals and populations: mutation and polymorphism. In: *Genetics in Medicine*. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 175-205. Disponível em :http://www2.genoma.ib.usp.br/disciplinas/bio416/NGS-selecao_thompson.pdf

Odeh M, HersHKovits M, Bornstein J, Loberant N, Blumenthal M, Ophir E. Congenital absence of salivary glands in Down syndrome. *Arch Dis Child*. 2013; 98:781–83.

Olaithe M, Bucks RS, Hillman DR, Eastwood PR. Cognitive deficits in obstructive sleep apnea: Insights from a meta-review and comparison with deficits observed in COPD, insomnia, and sleep deprivation. *Sleep Med Rev*. 2018;38:39-49. doi:10.1016/j.smr.2017.03.005

Ozturk LK, Furuncuoglu H, Atala MH, Ulukoylu O, Akyuz S, Yarat A. Association between dental-oral health in young adults and salivary glutathione, lipid peroxidation and sialic acid levels and carbonic anhydrase activity. *Braz J Med Biol Res*. 2008 Nov;41(11):956-9.

Palma BD, Tiba PA, Machado RB, Tufik S, Suchecki D. Immune outcomes of sleep disorders: the hypothalamic- pituitary-adrenal axis as a modulatory factor. *Rev Bras Psiquiatr*. 2007;29(Supl I):S33-8.

Park CS, Son H, Hong H. Association between the activity of salivary alpha-amylase and the severity of pediatric sleep disordered breathing (SDB). *Sleep Medicine* 2013; 14(supl 1):e271-e272.

Park CS, Guilleminault C, Hwang SH, Jeong JH, Park DS, Maeng JH. Correlation of salivary cortisol level with obstructive sleep apnea syndrome in pediatric subjects. *Sleep Medicine* 2013;14(10):978–84. doi:10.1016/j.sleep.2013.05.012

Pedersen AML, Sorensen CE, Proctor GB, Carpenter GH, Ekström J. Salivary secretion in health and disease. *J Oral Rehabil.* 2018a;45(9):730-46.

Pedersen A, Sorensen CE, Proctor GB, Carpenter GH. Salivary functions in mastication, taste and textural perception, swallowing and initial digestion. *Oral Dis.* 2018b;24(8):1399-1416. doi:10.1111/odi.12867

Pedersen AML, Belstrom D. The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. *J Dent.* 2019 Jan; 80 Supl 1:S3-S12. PubMed; PMID: 30696553

Phillips BA, Loveall SJ, Channell MM, Conners FA. Matching variables for research involving youth with Down syndrome: Leiter-R versus PPVT-4. *Research in Developmental Disabilities.* 2014;35(2):429–38. doi:10.1016/j.ridd.2013.11.016

Plaiaasu V. Down Syndrome - Genetics and Cardiogenetics. *Maedica (Buchar).* 2017;12(3):208–213.

Presson AP, Partyka G, Jensen KM, Devine OJ, Rasmussen SA, McCabe LL, et al. Current estimate of Down syndrome population prevalence in the United States. *J Pediatr.* 2013;163(4):1163-8.

Pueschel SM. Clinical aspects of Down syndrome from infancy to adulthood. *Am J Med Genet Suppl.* 1990;7:52–56.

Quist JS, Sjödin A, Chaput JP, Hjorth MF. Sleep and cardiometabolic risk in children and adolescents. *Sleep Med Rev.* 2016 Oct;29:76-100. doi: 10.1016/j.smrv.2015.09.001. PubMed PMID: 26683701.

Raff H. Update on late-night salivary cortisol for the diagnosis of Cushing's syndrome: methodological considerations. *Endocrine.* 2013;44:346-9.

Rantonen P. Salivary flow and composition in health and diseased adults. [dissertation]. Helsinki: Institute of Dentistry. University of Helsinki; 2003.

Rebello-Pinto T, Pinto JC, Rebello-Pinto H, Paiva T. Validation of a three-dimensional model about sleep: Habits, personal factors and environmental factors. *Sleep Sci.* 2014 Dec;7(4):197-202. doi: 10.1016/j.slsci.2014.12.002. PubMed PMID: 26483929.

Ribeiro SS, Motta EAP. Associação entre a síndrome de burnout e o hormônio cortisol. *Rev Ciênc. Saúde.* 2014;16 (2).87-93.

Richard W, Kox D, den Herder C, Laman M, van Tinteren H, de Vries N. The role of sleep position in obstructive sleep apnea syndrome. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2006;263(10):946-50. <https://doi.org/10.1007/s00405-006-0090-2>

Roblegg E, Coughran A, Sirjani D. Saliva: An all-rounder of our body. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019 Sep;142:133-41. doi: 10.1016/j.ejpb.2019.06.016. Epub 2019 Jun 18. Review. PubMed PMID: 31220573.

Rodrigue JR, Morgan SB, Geffken GR. A comparative evaluation of adaptive behavior in children and adolescents with autism, Down syndrome, and normal development. *J Autism Dev Disord.* 1991 Jun;21(2):187-96. PubMed PMID: 1830878.

Rosa SD, Rossigalli TM, Soares CM. Terapia ocupacional e o contexto familiar. *Cadernos de Terapia Ocupacional da UFSCar, São Carlos, Jan-Abr 2010; 18(1):7-17*

Rundo JV. Obstructive sleep apnea basics. *Cleve Clin J Med* 2019;86: (suppl 1): 2–9

Saghazadeh A, Mahmoudi M, Dehghani Ashkezari A, Oliaie Rezaie N, Rezaei N. Systematic review and meta-analysis shows a specific micronutrient profile in people with Down Syndrome: Lower blood calcium, selenium and zinc, higher red blood cell copper and zinc, and higher salivary calcium and sodium. *PLoS One.* 2017 Apr 19;12(4):e0175437. doi: 10.1371/journal.pone.0175437. PubMed PMID: 28422987.

Salimetrics. Salivary cortisol enzyme immunoassay kit [Internet]. [cited 2020 Feb 26]. Available from: <https://salimetrics.com/wp-content/uploads/2018/03/salivary-cortisol-elisa-kit.pdf>.

Santos PPA, Iglesias DPP, Souza EL, Freitas RA, Galvão HC. Saliva: current methods for collection and attainment of the sample. *Rev Fac Odontol. Porto Alegre,* 2007;48(1/3):95-8.

Sato K, Shirakawa T, Niikuni N, Sakata H, Asanuma S. Effects of oral care in Down syndrome children with obstructive sleep apnea. *J Oral Sci.* 2010 Mar;52(1):145-7. PubMed PMID: 20339246.

Schwertner C, Moreira MJ, Faccini LS, Hashizume LN. Biochemical composition of the saliva and dental biofilm of children with Down syndrome. *Int J Paediatr Dent.* 2016 Mar;26(2):134-40. doi: 10.1111/ipd.12168. PubMed PMID: 25943195.

Shah S. Salivaomics: The current scenario. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2018 Sep-Dec;22(3):375-381. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_171_18.. PubMed PMID: 30651683

Shimazaki Y, Fu B, Yonemoto K, Akifusa S, Shibata Y, Takeshita T, et al. Stimulated salivary flow rate and oral health status. *J Oral Sci.* 2017 Mar 31;59(1):55-62. doi: 10.2334/josnusd.16-0372. PubMed PMID: 28049967.

Siqueira WL, Siqueira MF, Mustacchi Z, de Oliveira E, Nicolau J. Salivary parameters in infants aged 12 to 60 months with Down Syndrome. *Spec Care Dentist.* 2007; 27(5):202-5. doi:10.1007/s00784-004-0282-3

Silva M, Marqui ABT. Down Syndrome: characterization of patients, their carers and parental perception. *Multitemas, Campo Grande.* 2020;25(59):27-50.

Sobering AK, Stevens JB, Smith JL, Nelson B, Donald T, Elsea SH. Genetic diagnosis of Down syndrome in an underserved community. *Am J Med Genet A*. 2018 Feb;176(2):483-486. doi: 10.1002/ajmg.a.38573. Epub 2017 Dec 26. PubMed PMID:29278455.

Staufenbiel SM, Penninx BWJH, Spijker AT, Elzinga BM, van Rossum EFC. Hair cortisol, stress exposure, and mental health in humans: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(8):1220–35. doi:10.1016/j.psyneuen.2012.11.015

Stores RL. Sleep problems in adults with Down syndrome and their family carers. *J Appl Res Intellect Disabil*. 2019;32:831–40. doi: 10.1111/jar.12572. Epub 2019 Jan 28.

Tasoulas J, Patsouris E, Giaginis C, Theocharis S. Salivaomics for oral diseases biomarkers detection. *Expert Rev Mol Diagn*. 2016;16(3):285-95. doi: 10.1586/14737159.2016.1133296. Epub 2016 Jan 11. Review. PubMed PMID: 26680995.

Tempski PZ, Miyahara KL, Almeida MD, Oliveira RB, Oyakawa A , Battistella LR. Protocolo de cuidado à saúde da pessoa com Síndrome de Down - IMREA/HCFMUSP. Down Syndrome health care protocol - IMREA/HCFMUSP - *Acta Fisiatr*. 2011;18(4):175-86

Thorpy M, Chesson A, Derderian S. Practice parameters for the treatment of obstructive sleep apnea in adults: the efficacy of surgical modifications of the upper airway. Report of the American Sleep Disorders Association. *Sleep*. 1996 Feb;19(2):152-5. PubMed PMID: 8855038.

Trois MS, Capone GT, Lutz JA, Melendres MC, Schwartz AR, Collop NA, Marcus CL. Obstructive sleep apnea in adults with Down syndrome. *J Clin Sleep Med*. 2009;15:317–323. [PMC free article] [PubMed]

Turner MD. Hyposalivation and Xerostomia: Etiology, complications, and medical management. *Dent Clin North Am*. 2016 Apr;60(2):435-43. doi: 10.1016/j.cden.2015.11.003. Review. PubMed PMID: 27040294.

Turpin R, Lejeune J. Les chromosomes humains: Caryotype normal et variations pathologiques; Paris: Gauthier-Villars;1965.

Ueno M, Takeuchi S, Takehara S, Kawaguchi Y. Saliva viscosity as a potential risk factor for oral malodor. *Acta Odontol Scand*. 2014 Nov;72(8):1005-9. doi: 10.3109/00016357.2014.938115. PubMed PMID: 25115949.

Vacca RA, Bawari S, Valenti D, Tewari D, Nabavi SF, Shirooie S, et al. Down syndrome: Neurobiological alterations and therapeutic targets. *Neurosci Biobehav Rev*. 2019 Mar;98:234-255. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.01.001. PubMed PMID: 30615933.

Vallons KJ, Oudhuis LA, Helmens HJ, Kistemaker C. The effect of oral processing on the viscosity of thickened drinks for patients with dysphagia. *Ann Rehabil Med*. 2015;39(5):772-7.

Vieira JG, Nakamura OH, Carvalho VM. Determination of cortisol and cortisone in human saliva by a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014 Nov;58(8):844-50. PubMed PMID: 25465608.

Voivodic MAMA, Storer MRS. O desenvolvimento cognitivo das crianças com síndrome de Down à luz das relações familiares. *Psicol teor prat*. São Paulo, 2002; 4(2):31-40.

Woźniak M, Paluszkiewicz C, Kwiatek WM. Saliva as a non-invasive material for early diagnosis. *Acta Biochim Pol*. 2019 Dec 4;66(4):383-8. doi: 10.18388/abp.2019_2762. PubMed PMID: 31799813.

Wuo AS. A construção social da Síndrome de Down. *Cad. psicopedag.*, São Paulo. 2007;6(11). Available from: <http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-10492007000100002&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 07 jun. 2020

Yan RY, Zhang L, Lin YN, Wei Y, Li N, Sun XW, et al. The association of salivary biomarkers with the severity of obstructive sleep apnea and concomitant hypertension. *Am J Med Sci*. 2019;357(6):468-73. doi:10.1016/j.amjms.2019.03.004

Zhang H, Liu L, Tian J. Molecular mechanisms of congenital heart disease in down syndrome. *Genes Dis*. 2019 Jul 8;6(4):372-7. doi: 10.1016/j.gendis.2019.06.007. PubMed PMID:31832516.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISAS – CEP

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação da função dos músculos mastigatórios e variáveis fisiológicas do sono após o uso de terapias de bioestimulação eletro-mecânica e de aparelho intraoral em pacientes com Síndrome de Down: eletromiografia, polissonografia e parâmetros salivares

Pesquisador: Mônica Fernandes Gomes

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 64173616.4.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.127.141

Apresentação do Projeto:

A Síndrome de Down (SD) é a desordem genética mais comum na população. A hipotonicidade muscular é uma das principais características dessa síndrome, resultando no comprometimento da fala, da deglutição e da mastigação nessa população. Em adição, a hipotonicidade da faringe favorecerá a obstrução total ou parcial das vias aéreas durante o sono, causando o ronco e a apneia obstrutiva do sono (AOS), que é um distúrbio de caráter evolutivo e associado com alto risco de morbidade e mortalidade em indivíduos com SD. O objetivo deste projeto de pesquisa será realizar um ensaio clínico randomizado controlado, que objetiva a avaliação da função da musculatura mastigatória (masseter, temporal e supra-hióides) por meio da eletromiografia de superfície (EMGs), a avaliação das variáveis fisiológicas do sono por meio do exame de polissonografia (PSG), e a avaliação de parâmetros salivares em sujeitos com síndrome de Down, antes e após 2 meses da aplicação das terapias de eletroestimulação neuromuscular (EENMs), bandagem teteapêutica facial (BTf), hiperboloide (HB) e aparelho intraoral (AIO). Os sujeitos de pesquisa serão distribuídos em 4 grupos de estudo (EENM, BTf, HB, AIO), com 10 participantes em cada grupo. Os indicadores primários de resultados seriam a melhora e/ou reestabelecimento da função muscular no sujeitos da pesquisa, visto que, é uma característica inerente a hipotonicidade

Endereço: Av.Engº Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SAO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph@fosjc.unesp.br

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS**



Continuação do Parecer: 2.127.141

muscular, bem como a melhora nas variáveis fisiológicas do sono, que são influenciadas pela condição muscular hipotônica. Como indicadores secundários de resultado teremos como mensurar a efetiva adesão de cada terapia e como cada uma delas influenciou as alterações musculares e respiratórias do sono nos grupos estudados.

Objetivo da Pesquisa:

Realizar um ensaio clínico randomizado controlado, avaliando as funções dos músculos mastigatórios e as variáveis fisiológicas do sono após as terapias com eletroestimulação neuromuscular de superfície (EENMs), hiperboloide (Hb), bandagem terapêutica facial (BTf) e aparelho intraoral (AIO) em pacientes com síndrome de Down

Objetivo Secundário:

- Obter os padrões da atividade elétrica dos músculos masseter direito e esquerdo (porção superficial), temporal direito e esquerdo (porção anterior) e supra-hióideo em pacientes com síndrome de Down, por meio da eletromiografia de superfície;
- Avaliar a atividade elétrica dos músculos masseter direito e esquerdo (porção superficial), temporal direito e esquerdo (porção anterior) e supra-hióideo em pacientes com síndrome de Down, após eletroestimulação neuromuscular, uso de hiperboloide, bandagem terapêutica facial e aparelho intraoral, por meio da eletromiografia de superfície;
- Obter os padrões das variáveis fisiológicas do sono em pacientes com síndrome de Down, por meio de polissonografia basal (inicial);
- Avaliar as variáveis fisiológicas do sono em pacientes com síndrome de Down, após uso de hiperboloide, eletroestimulação neuromuscular, bandagem terapêutica facial e aparelho intraoral, por meio de polissonografia;
- Avaliar o volume de fluxo salivar, pH e as concentrações de cortisol e alfa-amilase na saliva em pacientes com síndrome de Down, antes e após as terapias propostas;
- Avaliar os indicadores inflamatórios (IL-1ra, IL-1beta, IL-2, IL-10, INF-gama e TNF-alfa) da cavidade oral com a finalidade de estabelecer os padrões antes e após as terapias propostas;
- Avaliar os níveis bucais de *Pseudomonas aeruginosa*, espécie bacteriana selecionada como indicadora de risco para ocorrência de pneumonia aspirativa, antes e após as terapias propostas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

as terapias: A eletroestimulação neuromuscular de superfície pode oferecer sensação de desconforto devido ao estímulo elétrico aplicado sobre os músculos estudados, e não oferece riscos previsíveis; O hiperboloide não oferece desconforto e nem riscos previsíveis; O aparelho

Endereço: Av. Eng.º Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph@fosjc.unesp.br

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS**



Continuação do Parecer: 2.127.141

intraoral pode oferecer, no início, discreto desconforto dental e muscular, com possível quadro de hipersalivação temporários, riscos de alteração na oclusão; A bandagem terapêutica facial, apesar do referido material ser hipoalergênico, pode oferecer desconforto relacionado às dermatites de contato, as quais raramente podem ocorrer, mas não oferece riscos previsíveis. Os métodos de análises (eletromiografia, polissonografia e análise dos parâmetros salivares) não oferecem desconforto e nem riscos previsíveis.

Benefícios:

Haverá benefício direto ao sujeito de pesquisa. O tratamento poderá contribuir para a melhoria da função mastigatória com repercussões sobre as funções da respiração, fonação (fala) e deglutição, bem como melhoria das variáveis fisiológicas do sono, saturação de oxigênio, sono REM, sono profundo e redução do ronco.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Ja apresentado em pareceres anteriores

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Solicitado adequação do termo de assentimento bem como a correção de tabela de riscos e desconfortos os quais foram ajustadas satisfatoriamente

Recomendações:

A pesquisadora deverá atentar para o prazo de envio de relatório científico, quando for informado, para não incorrer na penalidade de não ter novo protocolo analisado pelo CEPH-ICT-CSJC-UNESP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado acata o parecer da relatora.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	termo.pdf	12/06/2017 14:03:14	CARLOS ALBERTO GUEDES	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_834295.pdf	19/05/2017 10:52:01		Aceito
Outros	PENDENCIAS_MAIOR.pdf	19/05/2017 10:51:24	Mônica Fernandes Gomes	Aceito
TCLE / Termos de	TCLE_TERMOS_ASSENTIMENTO_MAI	19/05/2017	Mônica Fernandes	Aceito

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SAO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph@fosjc.unesp.br

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS**



Continuação do Parecer: 2.127.141

Assentimento / Justificativa de Ausência	pdf	10:46:51	Gomes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetodePesquisa.pdf	21/03/2017 16:22:47	Mônica Fernandes Gomes	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoassinada.pdf	20/12/2016 11:26:08	Mônica Fernandes Gomes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado Approved

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 20 de Junho de 2017

**Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador)**

Endereço: Av. Eng^o Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br

ANEXO B - ARTIGO PUBLICADO - Evaluation of the masticatory muscle function, physiological sleep variables, and salivary parameters after electromechanical therapeutic approaches in adult patients with Down syndrome: a randomized controlled clinical trial

Artigo disponível em texto completo na seguinte folha:

Giannasi LC, Dutra MTS, Tengan VLS, Mancilha GP, Silva GRC, Fillietaz-Bacigalupo E et al. Evaluation of the masticatory muscle function, physiological sleep variables, and salivary parameters after electromechanical therapeutic approaches in adult patients with Down syndrome: a randomized controlled clinical trial. *Trials*. 2019 Apr 11;20(1):215. doi: 10.1186/s13063-019-3300-0. PubMed PMID: 30975204

Disponível em: <https://trialsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13063-019-3300-0>

ANEXO C- ARTIGO PUBLICADO - Intra-Day and Inter-Day Reliability of Measurements of the electromyographic signal on masseter and temporal muscles in patients with Down syndrome.

Artigo disponível em texto completo na seguinte folha:

Giannasi, L.C., Politti, F., Dutra, M.T.S. et al. Intra-Day and Inter-Day Reliability of Measurements of the electromyographic signal on masseter and temporal muscles in patients with Down syndrome. Sci Rep **10**, 7477 (2020).
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-63963-z>

Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-63963-z>

ANEXO D—ARTIGO PUBLICADO – Evaluation of the masticatory biomechanical function in Down syndrome and its Influence on sleep disorders, body adiposity, and salivary parameters.

Artigo disponível em texto completo na seguinte folha:

Gomes, M. F., Giannasi, L. C., Fillietaz-Bacigalupo, E., de Mancilha, G. P., de Carvalho Silva, G. R., Soviero, L. D., ... Salgado, M. A. C. (2020). *Evaluation of the masticatory biomechanical function in Down syndrome and its Influence on sleep disorders, body adiposity, and salivary parameters. Journal of Oral Rehabilitation*. doi:10.1111/joor.13023

Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/joor.13023>