

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Laura Sanches Aguiar

**DESCRIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA LÍNGUA DE NATIMORTOS
AUTOPSIADOS EM DIFERENTES IDADES GESTACIONAIS**

Uberaba

2017

Laura Sanches Aguiar

**DESCRIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA LÍNGUA DE NATIMORTOS
AUTOPSIADOS EM DIFERENTES IDADES GESTACIONAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de Concentração Patologia Básica e Experimental, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mara Lúcia da Fonseca Ferraz

Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira

Uberaba

2017

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

A23d Aguiar, Laura Sanches
Descrição do desenvolvimento da língua de natimortos autopsiados em diferentes idades gestacionais / Laura Sanches Aguiar. -- 2017.
52 f. : il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2017
Orientadora: Profa. Dra. Mara Lúcia da Fonseca Ferraz
Coorientador: Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira

1. Feto. 2. Idade gestacional. 3. Natimorto. 3. Autópsia. I. Ferraz, Mara Lúcia da Fonseca. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 612.647

Laura Sanches Aguiar

DESCRIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA LÍNGUA DE NATIMORTOS
AUTOPSIADOS EM DIFERENTES IDADES GESTACIONAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de Concentração Patologia Básica e Experimental, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Uberaba-MG, 21 de junho de 2017.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Mara Lúcia da Fonseca Ferraz
Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM
Orientadora

Prof.^a Dr.^a Luciana Santos Ramalho
Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

Prof. Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

AGRADECIMENTOS

Primeiramente preciso agradecer aos meus pais, Celso e Mariângela, pelo apoio dado em cada decisão e me proporcionarem diariamente exemplos que me fortalecem como pessoa e profissional. A vocês dedico todo o meu amor e respeito, pois me fazem sentir especial todos os dias.

Ao meu avô Celso, que vibrou com o resultado de aprovação do mestrado e participou até a metade dessa etapa, me dando seus melhores conselhos e ensinamentos, e sempre incentivando nos estudos. Me conforta saber que em algum lugar você continua a zelar por mim. Essa vitória é nossa. Já deixa muitas saudades...

Agradeço em especial a minha vó Olga, por sempre estar pronta a me ouvir e aconselhar. Obrigada pela oportunidade de conviver com sua delicadeza e pureza.

Ao meu esposo Guilherme, pela infinita oportunidade de ensinamentos transmitidos, pois não passo um dia sem aprender com você. Agradeço pela paciência, incentivo e carinho. Você foi essencial para essa vitória.

Aos meus afilhados Malu e Theo, agradeço pelo simples fato de vocês existirem, o que já me faz responsável de bons exemplos. O sorriso de vocês muda tudo ao redor.

As minhas irmãs Camila, Rosemary e meu cunhado Evandro pela oportunidade de convivência e amizade que temos. Melhores presentes da vida.

Agradecimentos

As minhas tias amadas (Mara e Mariolga) pela delicadeza de sempre me apoiarem e aconselharem em todos os momentos necessários.

Aos meus primos Thiago e Júlia, pelo apoio e amizade.

Aos meus amigos da Patologia Geral pela colaboração inestimável.

As minhas Lulus da Patologia (Mariana, Bianca, Gabriela (cunhada amada), Crislaine, Liliane, Maria Helena e Isabela) meu muito obrigada pelo acolhimento e sempre estarem presentes.

A minha Orientadora Mara, pela confiança e oportunidade de trabalharmos juntas, cuidando dos meus prazos e de mim, muita gratidão pelos laços de amizade e carinho que se fortaleceram.

A UFTM e ao apoio financeiro obrigada pela oportunidade.

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi realizado com os recursos financeiros da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEPU), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

RESUMO

Introdução: Na autópsia, a estimativa da idade gestacional (IG) é importante para reconhecer se o desenvolvimento fetal é consistente com a IG, determinar o tempo de morte em relação ao nascimento, determinar o diagnóstico de doenças específicas ao desenvolvimento do estágio e os possíveis riscos no período neonatal. O objetivo deste estudo foi analisar, por método morfométrico, o perímetro e o comprimento da língua, das fibras de colágeno, do perímetro dos vasos sanguíneos, em IG diferentes e em relação ao peso fetal. **Materiais e Métodos:** 56 natimortos autopsiados pela Disciplina de Patologia Geral do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, de 1994 a 2015. As línguas dos natimortos (23 a 40 semanas de IG) foram analisadas macroscopicamente, fotografadas e medidas em comprimento e perímetro. Foram coletados fragmentos por meio de uma secção longitudinal na região que acompanha o sulco lingual médio e processado histologicamente. As lâminas foram coradas com picrossirius e imunomarcadas com anticorpo CD31. A quantificação foi realizada em fibras de colágeno sob luz polarizada e o perímetro de vasos com o marcador CD31 na seção longitudinal da língua, em diferentes IGs, foi definido por 4 quadrantes e 10 campos por quadrante da seção histológica foram analisados. As medições foram feitas utilizando uma câmara de vídeo acoplada a um microscópio de luz comum e a um computador com o sistema de análise de imagem Axiovision SE64. As medições do perímetro dos vasos sanguíneos foram realizadas utilizando o Image J[®]. Para a análise estatística foi elaborada uma planilha do programa Microsoft Excel[®]. As informações foram analisadas pelo programa eletrônico GraphPad Prism[®] versão 5. Para verificar o tipo de distribuição das variáveis foi aplicado o teste estatístico de Shapiro-Wilk. Para correlação, utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman (rS) para distribuição não normal. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando p foi menor que 5% (p <0,05). **Resultados:** Foi encontrada uma correlação positiva e significativa de IG com o perímetro e o comprimento da língua. Houve correlação positiva e significativa entre fibras de colágeno e IG; Bem como entre IG o perímetro dos vasos sanguíneos; E entre fibras de colágeno e peso fetal houve um aumento positivo e significativo. Quanto à correlação entre o perímetro dos vasos sanguíneos e o peso fetal, observou-se aumento, mas com tendência significativa. **Conclusão:** à medida que o

IG avança, há um aumento no perímetro lingual e comprimento, um aumento na porcentagem de fibras de colágeno e um aumento no perímetro vascular, demonstrando que a formação da língua está diretamente relacionada ao crescimento e desenvolvimento da língua.

Palavras-chave: idade gestacional, natimorto, autópsia

ABSTRACT

Introduction: In autopsy, the estimation of gestational age (GA) is important to recognize if the fetal development is consistent with the GA, to determine the death time in relation to the birth, to ascertain the diagnosis of diseases that are specific to that developmental stage and possible risks in the neonatal period. The objective of this study was to analyze, through the morphometric method, the perimeter and length of the tongue, the collagen fibers, the perimeter of blood vessels, at different GAs and in relation to the fetal weight. Material and Methods: 56 stillborns autopsied by the General Pathology Discipline at the Clinical Hospital of the Federal University of Triângulo Mineiro (HC/UFTM), Uberaba, State of Minas Gerais, from 1994 to 2015. Tongues of stillborns autopsied (23 - 40 weeks of gestational age) were macroscopically analyzed, photographed and measured for length and perimeter. 56 fragments of the tongues were collected through a longitudinal section in the region that accompanies the median lingual sulcus and histologically processed. Slides were stained with picosirius and immunolabeled with CD31 antibody. Quantification was performed on collagen fibers under polarized light and the perimeter of vessels with the CD31 marker in the longitudinal section of the tongue, at different GAs, was defined by 4 quadrants and 10 fields per quadrant of the histological section were analyzed. Measurements were taken using a video camera coupled to a common light microscope, and to a computer with the image analyzer system Axiovision SE64. The measurements of the perimeter of blood vessels were taken using Image J[®] Software. For the statistical analysis a spreadsheet of the program Microsoft Excel[®] was elaborated. The information was analyzed using the electronic program GraphPad Prism[®] version 5. To verify the type of distribution of the variables the statistical test of Shapiro-Wilk was applied. For correlation, the Spearman correlation coefficient (r_s) was used for non-normal distribution. The differences were considered statistically significant when p was less than 5% ($p < 0.05$). Results: A positive and significant correlation of GA with the perimeter and length of the tongue was found. There was a positive and significant correlation between collagen fibers and GA; as well as between GA and the perimeter of blood vessels; and between collagen fibers and fetal weight there was a positive and significant increase. Regarding the correlation between the perimeter of blood vessels and the fetal weight, there was an increase, but tendency significant. Conclusion: As the GA advances, there is an increase in the lingual perimeter and length, an increase in the

percentage of collagen fibers and an increase in the vascular perimeter, demonstrating that tongue formation is directly related to tongue growth and development.

Key words: gestational age, stillborn, autopsy

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Desenvolvimento da mucosa da língua do endoderma ao soalho da faringe.....	16
Figura 2 - Macroscopia da língua de natimorto autopsiado no HC/UFTM.....	28
Figura 3 - Macroscopia da língua fixada em formaldeído a 10%, de natimorto autopsiado no HC/UFTM.....	29
Figura 4- Micrografias histológicas de fragmentos da língua de natimorto examinado sob luz polarizada.....	30
Figura 5 - Micrografias de fragmentos da língua de natimorto examinado sob luz comum.....	32
Figura 6 - Gráfico de correlação entre idade gestacional e o perímetro da língua de natimortos no HC/UFTM no período de 1994 a 2015.....	36
Figura 7 - Gráfico de correlação entre idade gestacional e comprimento da língua de natimortos no HC/UFTM no período de 1994 a 2015.....	37
Figura 8 - Gráfico de correlação entre idade gestacional e fibras colágenas das línguas de natimortos autopsiados no HC/UFTM no período de 1994 a 2015.....	38
Figura 9 - Gráfico de correlação entre peso fetal e as fibras colágenas das línguas de natimortos autopsiados no HC/UFTM no período de 1994 a 2015.....	39
Figura 10 - Gráfico de correlação da idade gestacional e o perímetro dos vasos sanguíneos das línguas de natimortos autopsiados no HC/UFTM no período de 1994 a 2015.....	40
Figura 11 - Gráfico de correlação entre peso fetal e o perímetro dos vasos sanguíneos das línguas de natimortos autopsiados no HC/UFTM no período de 1994 a 2015.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características gerais das amostras de natimortos autopsiados35

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

HC/UFTM	Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro
n	Número de indivíduos
p	Nível de significância
PBS	Tampão fosfato
PS	Picrosírius
g	grama
cm	centímetro
FGFs	fator de crescimento do fibroblasto
TGF β	fator de transformação do crescimento beta
BMP	proteína óssea morfogenética
NC	nervo craniano
CD31	cluster de diferenciação 31
PECAM-1	molécula de adesão celular endotelial plaquetária
CCNC	células da crista neural craniana
ATM	articulação temporomandibular
Hh	hedgehog
DAB	substrato da peroxidase
rS	Correlação de Spearman
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
NBR	Norma Brasileira
PPGCS	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Min.	mínimo
Máx.	máximo
IG	idade gestacional
USG	ultrassonografia
CHC	hallux-calcâneo
DUM	data da última menstruação
%	Porcentagem
®	Marca registrada
μ m	micrômetro
μ l	microlitro
<	menor que

=	igual
I	um
II	dois
V	cinco
VII	sete
IX	nove
X	dez
XII	doze

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 AUTÓPSIA PEDIÁTRICA	14
1.2 MÉTODOS DE ANÁLISE DA IG	14
1.3 EMBRIOGÊNESE DA LÍNGUA.....	15
1.4 DESENVOLVIMENTO DA LÍNGUA.....	15
1.5 ANATOMIA E FUNÇÕES DA LÍNGUA	18
1.6 IMPORTÂNCIA DA LÍNGUA HUMANA	20
2 HIPÓTESE.....	23
3 OBJETIVO GERAL.....	25
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 ASPECTOS ÉTICOS	27
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	27
4.3 ANÁLISE MACROSCÓPICA: A MEDIDA DO COMPRIMENTO E DO PERÍMETRO DA LÍNGUA	27
4.4 COLETA DA AMOSTRA E PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO.....	28
4.5 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DAS FIBRAS COLÁGENAS.....	29
4.6 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA.....	31
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
4.8 NORMAS PARA CONFEÇÃO DO MANUSCRITO	33
5 RESULTADOS	35
5.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA	35
5.2 IDADE GESTACIONAL X PERÍMETRO DA LÍNGUA	36
5.3 IDADE GESTACIONAL X COMPRIMENTO DA LÍNGUA	37
5.4 IDADE GESTACIONAL X FIBRAS COLÁGENAS.....	38
5.5 PESO x FIBRAS COLÁGENAS	39
5.6 IDADE GESTACIONAL X VASOS SANGUÍNEOS.....	40
5.7 PESO x VASOS SANGUÍNEOS	41
6 DISCUSSÃO.....	43
7 CONCLUSÃO	49
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
9 ANEXO	57

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 AUTÓPSIA PEDIÁTRICA

Anatomia Patológica, se destaca com a figura de Giovanni Battista Morgagni (1682-1771), que com o emprego da anatomia macroscópica, foi o primeiro a estabelecer relações entre os órgãos humanos e os sintomas das doenças, por meio da realização de aproximadamente setecentas necropsias. Dentre suas contribuições, salienta-se a importância do diagnóstico e do prognóstico no exercício da medicina. Em 1868, o químico alemão August Wilhelm von Hoffmann (1818-1892), realizou uma grande descoberta, o formol e passou a utilizá-lo como conservante em cadáveres da anatomia, sendo possível a partir de então examinar as peças anatômicas sempre que necessário (TALAMONI, 2014).

A autópsia pediátrica é de extrema importância para o estudo das diferenças estruturais e funcionais dos órgãos, de acordo com o desenvolvimento fetal. Na autópsia a estimativa da idade gestacional (IG) é importante para reconhecer se o desenvolvimento fetal está ocorrendo de maneira normal, definir a hora morte em relação ao nascimento, averiguar o diagnóstico das doenças que são específicas daquele estágio de desenvolvimento e aquelas crianças classificadas como risco no período neonatal. O material de autópsia é muito rico para a pesquisa, uma vez que através de análises macroscópicas e microscópicas é possível viabilizar estudos de pesquisa com diagnósticos clínicos e detecção de anormalidades estruturais. A autópsia é considerada um método de diagnóstico importante, para o médico, pois permite documentar e comparar casos clínicos e anatomopatológicos (COHEN e DRUT, 2003).

1.2 MÉTODOS DE ANÁLISE DA IG

Na clínica médica, a duração da gestação tem sido estimada considerando-se a data da última menstruação (DUM) sempre que a paciente se recorde da mesma. Porém, alguns autores questionam a acurácia desse indicador, pois existe a possibilidade de ter sangramento no primeiro trimestre e ser confundido com a última menstruação, a ocorrência de ciclos longos e/ou irregulares, ampliando assim

as diferenças entre idade da gestação e idade da concepção, que são alguns dos motivos que dão base a esse questionamento (ALEXANDER et al., 1990).

Nos últimos anos, a indicação e utilização da ultrassonografia (USG) para a estimativa da data provável do parto e, conseqüentemente, da idade gestacional do recém-nascido aumentou. Em situações nas quais a validade das informações sobre a DUM seja questionável e a mãe não tenha realizado USG no primeiro ou segundo trimestre da gestação, a idade gestacional pode ser estimada por meio da observação de características físicas e neurológicas do recém-nascido em seus primeiros dias de vida (BALLARD et al., 1991). No entanto, a utilização do exame clínico da criança para estimativa da idade gestacional também tem sido alvo de críticas ao longo da última década. A inadequação da maioria dos escores propostos para a avaliação de crianças em idades gestacionais extremas e/ou com baixo peso ao nascer é apontada em diversos estudos (MORAES e REICHENHEIM, 2000).

Nas autópsias pediátricas, o comprimento hallux-calcâneo (CHC) é um parâmetro confiável utilizado para estabelecer a IG em fetos e natimortos. A IG obtida pelo CHC é realizada medindo-se o comprimento do pé, do calcânhar até a extremidade do hallux (ZAGO et al., 2000).

1.3 EMBRIOGÊNESE DA LÍNGUA

Os primórdios da face começam a aparecer no início da 4ª semana em torno do grande estomodeu primitivo. Os cinco primórdios da face aparecem como saliências em torno do estomodeu, sendo a saliência frontonasal, as saliências maxilares e as saliências mandibulares. Os pares de saliências da face derivam do 1º par de arcos faríngeos. As saliências são produzidas predominantemente pela proliferação de células da crista neural. Estas células são as principais fontes dos componentes do tecido conjuntivo, inclusive dos ossos e cartilagem da face e região oral (MOORE, 2008).

1.4 DESENVOLVIMENTO DA LÍNGUA

A língua se origina a partir do 1º, 2º e 3º arcos branquiais e começa a se formar e desenvolver no final da 4ª semana de vida intra-uterina (BALTERS, 1955). No final da 4ª semana, uma elevação triangular mediana aparece no soalho da faringe primitiva, imediatamente anterior ao forame cego. Esta elevação é o broto

mediano, primeira indicação do desenvolvimento da língua. Logo dois brotos linguais distais se desenvolvem do lado do broto lingual mediano. Os três brotos linguais resultam da 1º par de arcos faríngeos. Os brotos linguais distais aumentam de tamanho, fundem-se um com o outro e crescem sobre o broto lingual mediano, então formam os dois terços anteriores da língua (SCHOENWOLF et al., 2010).

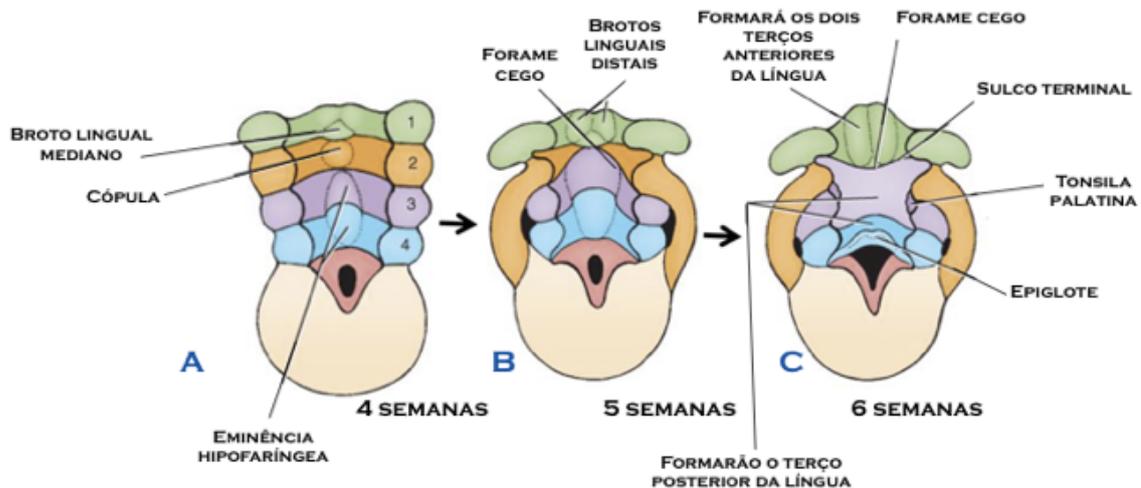


Figura 1 - Desenvolvimento da mucosa da língua do endoderma ao soalho da faringe

A mucosa dos dois terços anteriores da língua se desenvolve principalmente dos brotos linguais distais (saliências linguais laterais) do primeiro arco faríngeo, enquanto mucosa reveste o terço posterior da língua é formada pela eminência hipofaríngea do terceiro e quarto arcos, a qual cresce sobre a cópula do segundo.

Fonte: www.embriologiahumana.com.br

A parte posterior da língua é indicada por duas elevações que se desenvolvem caudalmente ao forame cego, a cópula que se forma pela fusão das partes ventromediais do 2º par de arcos faríngeos e a saliência hipofaríngea que desenvolve-se caudalmente à cópula a partir do mesênquima das partes ventromediais do 3º e 4º pares de arcos. Com o desenvolvimento da língua, a cópula é gradativamente englobada pelo crescimento da parte hipofaríngea e desaparece. A linha de fusão da parte anterior e posterior da língua é indicada por um sulco em forma de V, conhecido como sulco terminal (MOORE, 2008).

Durante a 12ª semana de vida intra-uterina, numerosas células musculares foram observadas, em torno da 16ª semana foi observado que o número de células musculares aumentou gradualmente, formando extensos feixes. Na 20ª semana os feixes estão extensos e alongados para a região lateral da língua, entre a 24ª e a 32ª

semanas as células musculares são compostas por miofibrilas e retículo sarcoplasmático, formando arranjos regulares com estriações transversais que aumentam de tamanho formando largos feixes entre numerosas fibras colágenas (SATO et al., 1989).

Durante a 6^a e 7^a semanas, as glândulas salivares começam como brotos epiteliais maciços, que se formam na cavidade oral primitiva. As parótidas são as primeiras a aparecer no início da 6^a semana. As glândulas submandibulares aparecem no final da 6^a semana. As sublinguais aparecem na 8^a semana, cerca de duas semanas mais tarde que as outras glândulas salivares, forma 10 a 12 ductos que se abrem independentemente no soalho da boca (MOORE, 2008). As papilas aparecem no período embrionário e atingem desenvolvimento máximo ao nascimento (YAMASAKI e TAKAHASHI, 1982; PROVENZA e SEIBEL, 1986).

As papilas gustativas aparecem no final da 8^a semana. As papilas circunvaladas e folhadas são as primeiras a aparecer, próximas aos ramos terminais do nervo glossofaríngeo (Nervo Craniano (NC) IX). As papilas fungiformes aparecem depois, junto as terminações do ramo da corda do tímpano do nervo facial (NC VII). As papilas valadas mais comuns, as papilas filiformes se desenvolvem durante a 10^a e 11^a semanas, contém terminações nervosas aferentes sensíveis ao tato (FIGÚN e GARINO, 1984)

Os corpúsculos gustativos se desenvolvem durante a 11^a e 13^a semanas por indução das células nervosas gustativas do nervo corda do tímpano, do glossofaríngeo e do vago. A maioria dos corpúsculos gustativos se formam na região dorsal da língua, e alguns nos arcos palatoglossos, no palato, na superfície posterior da epiglote e na parede posterior da orofaringe (BLEYL, 2009). Na mucosa lingual ocorre modificações durante o desenvolvimento observando-se os poros gustativos totalmente desenvolvidos entre a 13^a e 15^a semanas (BRADLEY e STERN, 1967). Na 26^a a 28^a semanas as respostas do desenvolvimento facial do feto podem ser induzidas por substâncias de gosto amargo, indicando que neste período as vias reflexas entre os corpúsculos gustativos e os músculos faciais já estão estabelecidos (BLEYL, 2009).

1.5 ANATOMIA E FUNÇÕES DA LÍNGUA

A língua é um órgão formado por musculatura estriada esquelética revestido por mucosa, que varia de acordo com a região. As fibras musculares se entrecruzam em três planos, estão separadas em feixes e geralmente separados por tecido conjuntivo. A superfície ventral (inferior) da língua é lisa, enquanto a superfície dorsal é irregular, recoberta anteriormente por uma grande quantidade de eminências pequenas denominadas papilas. O terço posterior da superfície dorsal da língua é separado por dois terços anteriores por uma região em forma de “V”. (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008).

A língua de mamífero é constituída por músculo estriado, mesênquima derivado de células da crista neural craniana (CNCC), e um epitélio estratificado, escamoso, não queratinizado. As CNCC dão origem aos fibroblastos que promoverão o desenvolvimento do tecido conjuntivo da língua. Os dois terços anteriores da língua estão localizados na cavidade oral e são móveis, enquanto que o terço posterior, conhecido como parte faríngea, é relativamente imóvel. A língua recebe seu suprimento de sangue em grande parte da artéria lingual, enquanto que o sangue da língua é drenado para as veias linguais (GILROY et al., 2008). Todos os músculos da língua são inervados pelo nervo hipoglosso, exceto pelo palatoglosso, cuja inervação vem do nervo vago (PARADA et al., 2012; IWATA et al., 2013)

A inervação sensitiva da mucosa da maior parte dos dois terços anteriores da língua (parte oral) provém do ramo lingual da divisão mandibular do nervo trigêmeo (NC V), o nervo do primeiro arco faríngeo. O nervo facial é formado pelo segundo arco faríngeo, seu ramo da corda do tímpano supre os corpúsculos gustativos nos dois terços anteriores da língua, exceto as papilas circunvaladas. Como componente do segundo arco, a cópula, é recoberta pelo terceiro arco, o nervo facial (NC VII) não supre nenhuma parte da mucosa, exceto os corpúsculos gustativos da parte oral da língua. Na parte oral da língua, as papilas circunvaladas e o terço posterior da língua são inervados pelo nervo glossofaríngeo (NC IX) do terceiro arco faríngeo. O ramo laríngeo superior do nervo vago (NC X) do quarto arco supre uma pequena área da língua anterior a epiglote. Todos os músculos da língua são supridos pelo nervo hipoglosso (NC XII), exceto o palatoglosso, que é suprido a partir do plexo faríngeo, por fibras que se originam do nervo vago (NC X) (MOORE, 2008).

A língua ocupa a cavidade bucal, apresentando um segmento anterior (livre) e um posterior (fixo), já Zemlin em 2000, divide a língua em corpo e raiz, sendo ainda subdividida em quatro regiões, com base em sua relação com o teto da boca. A porção da língua mais próxima dos dentes é denominada ápice da língua, a parte logo abaixo da crista alveolar superior é o corpo, a parte imediatamente abaixo do palato duro é denominada parte anterior, e a porção abaixo do palato mole é a parte posterior da língua (ALVES et al., 1962).

A língua é dividida por septo fibroso mediano, ligada ao corpo do osso hioide. O osso hioide é o único que não articula com outro elemento esquelético nem na cabeça e nem no pescoço. Possui forma de U e é uma âncora altamente móvel para muitos músculos e estruturas de partes moles da cabeça e pescoço (ZEMPLIM, 2010). Em cada metade da língua podemos encontrar músculos extrínsecos e intrínsecos, sendo que os extrínsecos estendem-se para fora da língua, movendo-a fisicamente, e os intrínsecos ficam totalmente em seu interior, alterando sua forma. Os músculos extrínsecos são o genioglosso, hioglosso, estiloglosso e palatoglosso, já os intrínsecos são o longitudinal superior, longitudinal inferior, transverso e vertical (SOBOTTA, 2009).

Existem três tipos de organização das fibras musculares na língua, separadas em regiões e composições de fibras diferentes, sendo elas longitudinal, transversal e vertical. Essa arquitetura complexa da língua, requer um sistema bioquímico único, para desenvolver suas funções. Na parte anterior da língua foi constatada predominância de fibras pequenas tipo II, e na parte posterior predominância de fibras grandes tipo I, essas diferenças regionais são essenciais para a sincronia de movimentos realizados pela língua em cada região. Sendo assim a língua necessita de uma densidade vascular maior e um comportamento vascular único. (GRANBERG et al., 2010).

A língua é o órgão do gosto, apesar de intervir em funções importantes como a mastigação, a sucção, a deglutição e a fonação. Além da sua função a gustativa ela é sensível ao frio, ao calor, a pressão e tem mesmo, grande sensibilidade tátil, sendo possível apreciar a forma e a consistência dos objetos (CANONGIA, 1981).

As células endoteliais, desenvolvem um papel importante no controle da coagulação, trombose, tônus vascular, permeabilidade, inflamação, reparação tecidual e angiogênese. Elas constituem uma população heterogênea de células no

corpo humano. Funções e conseqüentemente características moleculares das células endoteliais variam ao longo da árvore vascular e no mesmo órgão entre diferentes vasos, como por exemplo, variações fenotípicas podem ocorrer na expressão da molécula CD31 nestas células (NARUSE et al., 2000).

1.6 IMPORTÂNCIA DA LÍNGUA HUMANA

Um dos principais papéis da língua é facilitar a mastigação, em colaboração com outras estruturas anatômicas dentro e perto da cavidade oral. Foi proposto que, durante a adaptação de um habitat úmido a um habitat seco na evolução dos vertebrados, a estratificação e a queratinização foram as alterações mais importantes no epitélio lingual (PARADA e CHAI, 2015).

A língua também é necessária para misturar, controlar e impulsionar o bolo alimentar em direção à orofaringe e varrer a boca para limpar os detritos de alimentos. Nos seres humanos, uma função crucial da língua é a articulação fonética (PARADA et al., 2012).

A cavidade oral faz parte do desenvolvimento biológico, sendo assim alterações na sua formação e função podem alterar a saúde geral (física e psíquica) por envolvimento em órgãos à distância (faringe, laringe, esôfago, pulmão, estômago, aparelho cardiorrespiratório entre outros), assim como a cavidade oral pode sofrer alterações por consequência de malformações nestes referidos órgãos (FRANKEL, 1988).

A língua humana atua como um órgão essencial para a alimentação, a mastigação, a deglutição, a fala, a sucção, a gustação e a respiração. Composta por células musculares que têm arranjos diferentes na origem e inserção, e propriedades histoquímicas diferentes em comparação com outros músculos esqueléticos (SATO, 1989).

A posição que a língua ocupa no seu espaço funcional exerce uma função de válvula de oxigenação, tendo uma função fundamental no estabelecimento da frequência respiratória e cardíaca. O indivíduo adulto respira em média 12 a 16 vezes por minuto, o que equivale a aproximadamente 10 mil litros de ar inspirado e expirado dos pulmões diariamente. Caso ocorra deformação no espaço funcional da língua, todo equilíbrio corporal será comprometido (SILVA, 2014).

O mecanismo de alimentação é provavelmente o elemento mais importante que determina o sucesso da adaptação dos vertebrados ao seu ambiente. Na alimentação, as mandíbulas e a língua desempenham função crucial. A língua tem uma forma característica em tetrápodes. Portanto, tem sido sugerido que a língua apareceu com o estabelecimento de tetrápodes e está relacionada com o estilo de vida terrestre (PARADA e CHAI, 2015).

A mastigação é considerada uma atividade neuromuscular aprendida, somente a partir do momento em que o crescimento craniofacial tenha aumentado o volume intra-oral, os dentes tenham irrompido até a oclusão, a musculatura e a articulação temporo-mandibular (ATM) tenham amadurecido e as funções interativas e coordenadas do sistema nervoso central sejam possíveis. A orientação sensorial dos movimentos mastigatórios é dada pelos receptores presentes na ATM, membrana periodontal, nos músculos faciais, na língua e mucosa bucal (MOYERS e CARLSON, 1993).

Ao se realizar o ato sugar, é posto em movimento um sistema, do qual a língua faz parte. A sucção só pode ser claramente observada na 29ª semana, porém, só estará perfeitamente desenvolvida na 32ª semana. Durante a sucção, a língua especificamente, apresenta movimentos ondulatórios rítmicos e repetitivos, produzidos pela contração diferencial da musculatura intrínseca longitudinal e da transversa (SILVA e FELÍCIO, 1994).

Como a sucção, a deglutição também está presente desde a fase intrauterina. A deglutição é reflexa nos primeiros meses de vida (SILVA E FELÍCIO, 1994). A língua tem uma grande importância na participação do processo de deglutição. Na deglutição infantil, a língua é impulsionada para frente, para criar um selamento para a deglutição (BRAGA e MACHADO, 1994). A língua tem grande participação na deglutição exercendo uma pressão aproximadamente de 2000 vezes por dia. Esta pressão ocorre durante a deglutição e principalmente quando a língua se encontra em repouso. Importante ressaltar que não é propriamente a função atípica da língua que conduz à malformação, mas, sim, a posição incorreta de repouso a partir da qual a função se realiza (FARRET e COLS, 1996).

A boca é responsável pela articulação dos sons, pois estes dependem da posição e mobilidade da língua, presença e posição dos dentes, mobilidade dos lábios e bochechas e posição da mandíbula, que promoverá um espaço intra-oral

adequado para a articulação fonética e ressonância. A articulação dos sons da fala está ligado ao desenvolvimento e maturação do sistema miofuncional oral e às demais funções neurovegetativas de respiração, sucção, mastigação e deglutição (MARCHESAN, 1993).

HIPÓTESE

2 HIPÓTESE

Há um aumento do perímetro e comprimento da língua, das fibras colágenas e vasos sanguíneos no percurso do desenvolvimento da língua em diferentes idades gestacionais e em relação ao peso fetal.

OBJETIVOS

3 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi analisar por meio do método morfométrico o perímetro da língua, o comprimento da língua, a porcentagem das fibras colágenas e o perímetro dos vasos sanguíneos, em diferentes IG e em relação ao peso fetal de natimortos autopsiados.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Correlacionar a idade gestacional com o perímetro da língua dos natimortos;
- II. Correlacionar a idade gestacional com o comprimento da língua dos natimortos;
- III. Correlacionar a porcentagem fibras colágenas com as idades gestacionais dos natimortos;
- IV. Correlacionar a porcentagem de fibras colágenas com peso fetal dos natimortos;
- V. Correlacionar o perímetro da luz dos vasos sanguíneos com as idades gestacionais dos natimortos;
- VI. Correlacionar a porcentagem do perímetro dos vasos sanguíneos com peso fetal dos natimortos.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM por meio do protocolo nº 1158 (Anexo A).

4.2 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Dos 152 laudos de autópsia pediátricas analisados, foram selecionados 56 natimortos autopsiados pela Disciplina de Patologia Geral no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC/UFTM), Uberaba-MG, no período de 1994 a 2015. O exame anatomopatológico foi realizado por dois patologistas, e as informações colhidas dos laudos de autópsias relativas ao gênero, a IG aferida através do método CHC e peso fetal. Os critérios de inclusão foram os casos nos quais os natimortos apresentavam IG entre 15^a a 40^a semanas, constavam os dados do gênero e o peso fetal e aqueles em que a língua se apresentava em bom estado de conservação. Foram excluídos deste estudo os natimortos com malformações, neoplasias e ausência das informações nos laudos como a IG, o peso fetal e o gênero.

4.3 ANÁLISE MACROSCÓPICA: A MEDIDA DO COMPRIMENTO E DO PERÍMETRO DA LÍNGUA.

A análise macroscópica as 56 línguas dos natimortos, foi realizada com uma escala em cm, com a identificação da autópsia em cada língua, apoiadas sobre a bancada foram fotografadas com câmera fotográfica *Canon Rebel*[®], posteriormente as fotos foram transferidas para o computador *Macbook*[®]. As análises morfométricas foram realizadas, medindo o comprimento da prega glossoepiglótica até o ápice da língua. Para obtenção do perímetro da língua, foi realizada a medição do contorno da língua por toda a extensão macroscópica. Utilizando-se o *Software Image J*[®] (*National Institutes of Health*, USA) em todas as medidas. (Figura 2).

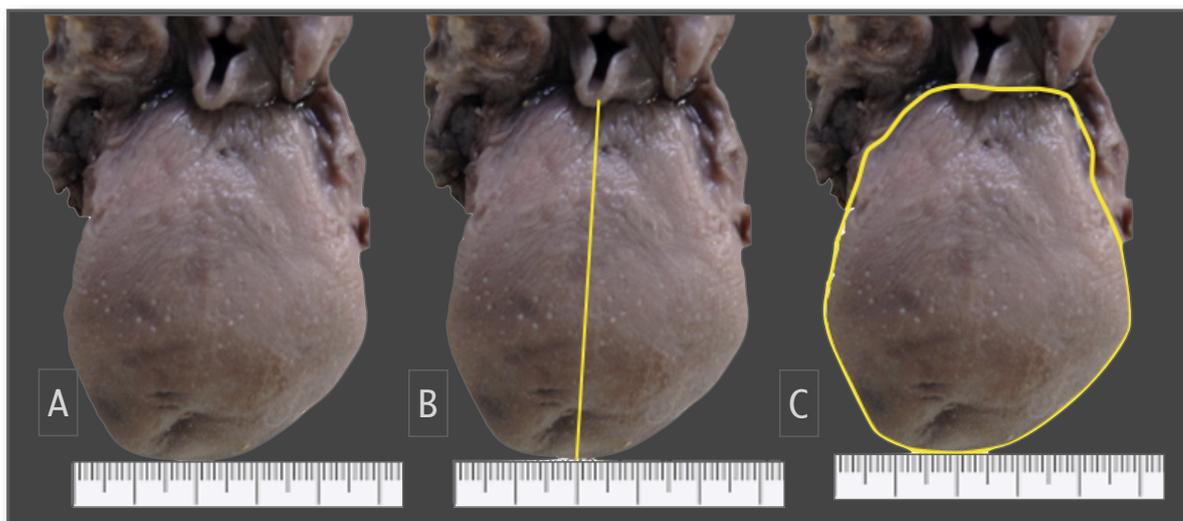


Figura 2 - Macroscopia da língua de natimorto autopsiado no HC/UFTM

A) Macroscopia da língua de natimorto. B) Medida do comprimento da língua da região da prega glossoepiglótica até o ápice. C) Medida do perímetro da língua, realizada em toda a borda, desde a prega glossoepiglótica até o ápice.

4.4 COLETA DA AMOSTRA E PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Foram coletados 56 fragmentos da língua de natimortos autopsiados recuperados do arquivo de material biológico da Disciplina de Patologia Geral – UFTM. Os fragmentos língua que já estavam fixados em formaldeído a 10%, foram retirados um corte longitudinal na região que acompanha o sulco mediano lingual, com espessura de aproximadamente 0,5 cm (Figura 3). Posteriormente, foram desidratados em álcoois com concentrações crescentes (70 a 100%), diafanizados em xilol e emblocados em parafina. Em seguida, foram realizados cortes seriados de 4 μ m de espessura. Foram confeccionadas lâminas, sendo que uma lâmina foi corada pelo Picrosírius (PS) (solução aquosa saturada de ácido pícrico adicionada de 0,1g% de vermelho da Síria F3B - Sirius red F3B-Bayer®) com contra coloração pela hematoxilina (JUNQUEIRA et al., 1979) e uma lâmina foi utilizada para realizar a imunohistoquímica.

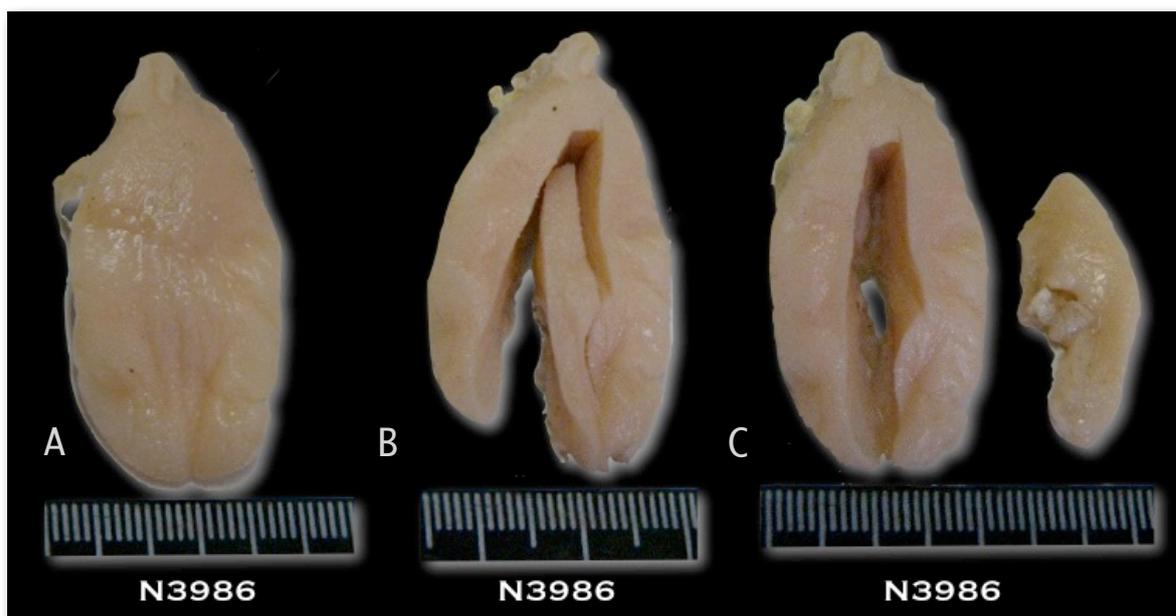


Figura 3 - Macroscopia da língua fixada em formaldeído a 10%, de natimorto autopsiado no HC/UFTM

A) Macroscopia da língua. B) Secção longitudinal realizada com bisturi na região que acompanha o sulco lingual medial, da base ao ápice da língua. C) Segmento longitudinal e secção longitudinal da língua com aproximadamente 0,5 cm de espessura, para processamento histológico.

4.5 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DAS FIBRAS COLÁGENAS

As lâminas coradas com PS foram analisadas para quantificação de fibras colágenas. O número de campos para avaliação e quantificação das fibras colágenas do corte longitudinal da língua, em diferentes idades gestacionais, foi definido por 4 quadrantes e analisados 10 campos por quadrante do corte histológico. A área de fibras colágenas sob a luz polarizada apresentava um aspecto birrefringente, variando de vermelho alaranjado. As fibras colágenas foram marcadas pelo observador para obter-se o percentual de colágeno por campo analisado. Dessa forma, a imagem do campo quantificado foi digitalizada por meio de uma câmera acoplada ao microscópio com analisador de imagem. A morfometria foi realizada com o sistema analisador de imagem software Leica Qwin, com a objetiva de 10x (Figura 4).

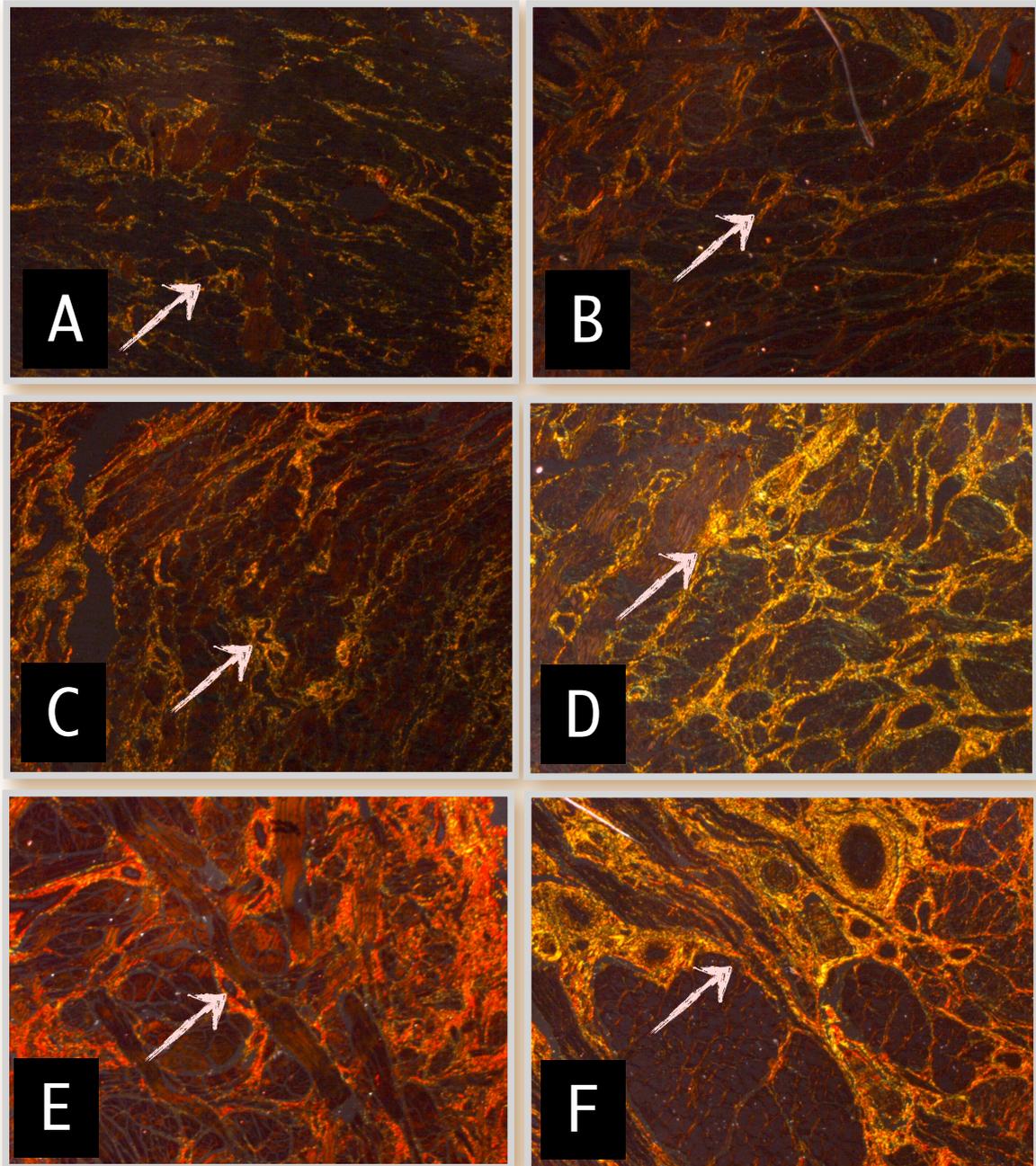


Figura 4- Micrografias histológicas de fragmentos da língua de natimorto examinado sob luz polarizada

Observou-se fibras colágenas birrefringentes (setas) (Picrosírius - 10x – aumento final 320x) em diferentes IG. A) IG: 23 semanas; B) IG: 28 semanas; C) IG: 34 semanas; D) IG: 37 semanas; E) IG: 39 semanas e F) IG: 40 semanas.

4.6 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA

A imunohistoquímica foi realizada para a identificação da positividade para anti-CD31. Os cortes foram fixados nas lâminas com Poli-L Lisina, posteriormente desparafinizados em xilol, hidratados em álcoois em concentrações decrescentes, até água destilada. Foi realizado o processo de recuperação antigênica, em seguida a inibição da peroxidase endógena com água oxigenada 3% por 30 minutos. Na próxima etapa os radicais aldeídos foram inibidos com glicina. O anticorpo primário CD31 foi colocado sob as lâminas por doze horas. O material foi lavado com PBS 0,05M + Triton X-100 0,05% e incubado com o anticorpo secundário DAKO®, por duas horas. O complexo Avidina-Biotina atuou por trinta minutos. Após esta fase, o material foi incubado com o substrato da peroxidase (DAB), à temperatura ambiente. Após a revelação, as lâminas foram colocadas em água destilada e processadas histologicamente, contracorando rapidamente com Hematoxilina. após foram montadas em Entelan. O número de campos para avaliação e quantificação do marcador CD31 no corte longitudinal da língua, em diferentes IG, foi definido por 4 quadrantes e analisados 10 campos por quadrante do corte histológico. As medidas foram realizadas utilizando-se uma câmara de vídeo acoplada a um microscópio de luz comum, e a um computador com um sistema analisador de imagens interativo *software* de morfometria *Axion Vison SE64 Rel. 4.9.1®* e as medidas do perímetro dos vasos sanguíneos foram quantificados através do *Software Image J® (National Institutes of Health, USA)*, com a objetiva 100x (aumento final de 3250x) (Figura 5).

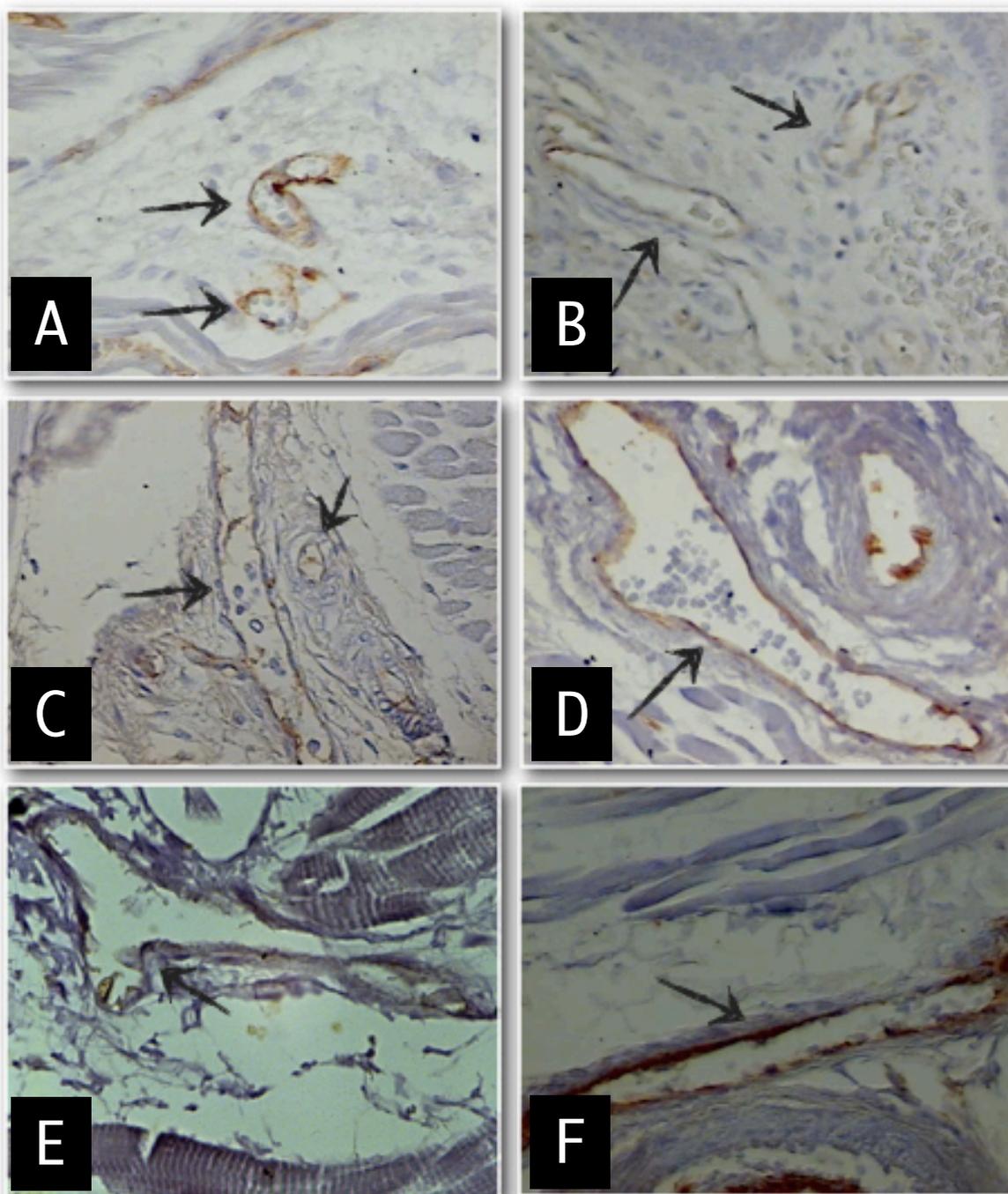


Figura 5 - Micrografias de fragmentos da língua de natimorto examinado sob luz comum

Observou-se aumento dos vasos sanguíneos imunomarcados por CD31 (setas) (Imunohistoquímica objetiva 100X- aumento final 3250x) em diferentes idades gestacionais (IG). A) IG: 23 semanas; B) IG: 28 semanas; C) IG: 34 semanas; D) IG: 37 semanas; E) IG: 39 semanas e F) IG: 40 semanas.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi elaborada uma planilha do programa *Microsoft Excel*®. As informações foram analisadas utilizando-se o programa eletrônico *GraphPad Prism*® 5. Para verificar o tipo de distribuição das variáveis foi aplicado o teste estatístico de *Shapiro-Wilk*. Para correlação, foi empregado o coeficiente de correlação de *Spearman* (rS) para distribuição não-normal. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando p foi menor que 5% ($p < 0,05$).

4.8 NORMAS PARA CONFECÇÃO DO MANUSCRITO

Para a elaboração da escrita do trabalho foram consultadas as normas ABNT-NBR 6027:2012, e as recomendações do PPGCS/UFTM (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFTM).

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA

Dos 152 laudos de autópsias pediátricas analisados, foram selecionados 56 natimortos e avaliou-se a média de idade gestacional dos natimortos autopsiados (Tabela 1).

Tabela 1- Características gerais das amostras de natimortos autopsiados

Características Gerais da Amostra	(n = 56)
Idade Gestacional Média (min-máx)	23-40 (31,5)
Gênero (n) %	
Masculino	34 (60,71%)
Feminino	22 (39,28%)

5.2 IDADE GESTACIONAL X PERÍMETRO DA LÍNGUA

A correlação entre a idade gestacional e o perímetro da língua, observamos um aumento sendo positivo e significativo.

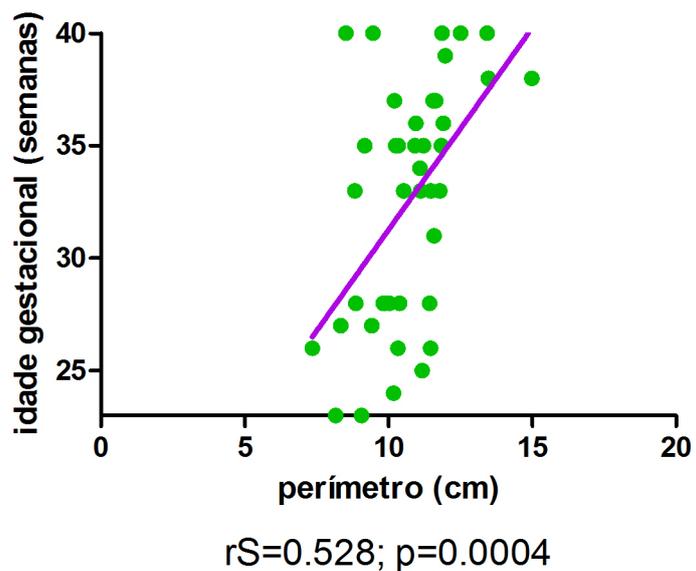
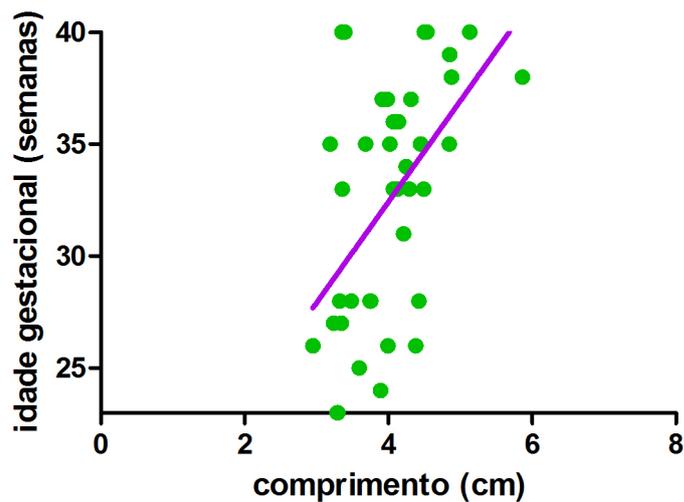


Figura 6 - Gráfico de correlação entre idade gestacional e o perímetro da língua de natimortos no HC/UFTM no período de 1994 a 2015

5.3 IDADE GESTACIONAL X COMPRIMENTO DA LÍNGUA

A correlação entre a idade gestacional e comprimento da língua, observamos um aumento, sendo positivo e significativo.



$$rS=0.527; p=0.0004$$

Figura 7 - Gráfico de correlação entre idade gestacional e comprimento da língua de natimortos no HC/UFTM no período de 1994 a 2015

5.4 IDADE GESTACIONAL X PORCENTAGEM DAS FIBRAS COLÁGENAS

Correlacionando a idade gestacional com as fibras colágenas, observou-se um aumento positivo e significativo.

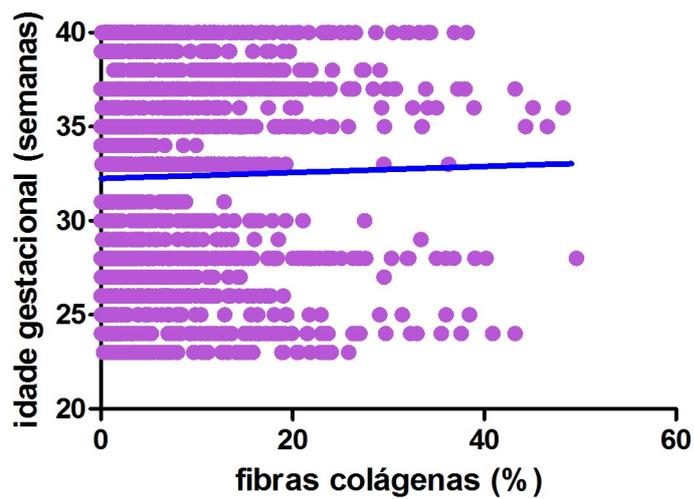
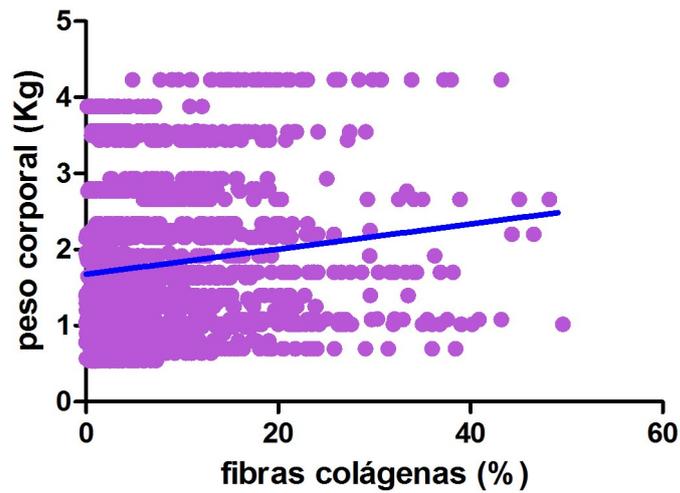


Figura 8 - Gráfico de correlação entre idade gestacional e fibras colágenas das línguas de natimortos autopsiados no HC/UFTM no período de 1994 a 2015

5.5 PESO x PORCENTAGEM DAS FIBRAS COLÁGENAS

Correlacionado o peso fetal com as fibras colágenas, observou-se um aumento positivo e significativo.

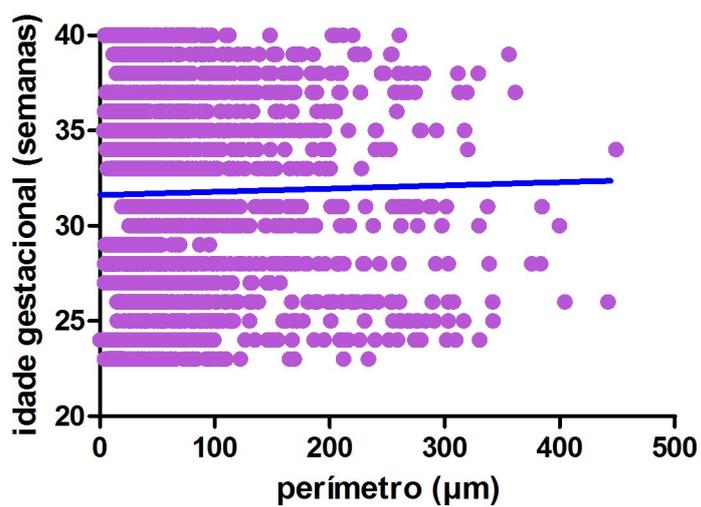


$$rS=0.143; p<0.0001$$

Figura 9 - Gráfico de correlação entre peso fetal e as fibras colágenas das línguas de natimortos autopsiados no HC/UFTM no período de 1994 a 2015

5.6 IDADE GESTACIONAL X VASOS SANGUÍNEOS

A Correlação da idade gestacional com o perímetro da luz dos vasos sanguíneos, observou-se um aumento positivo e significativo.

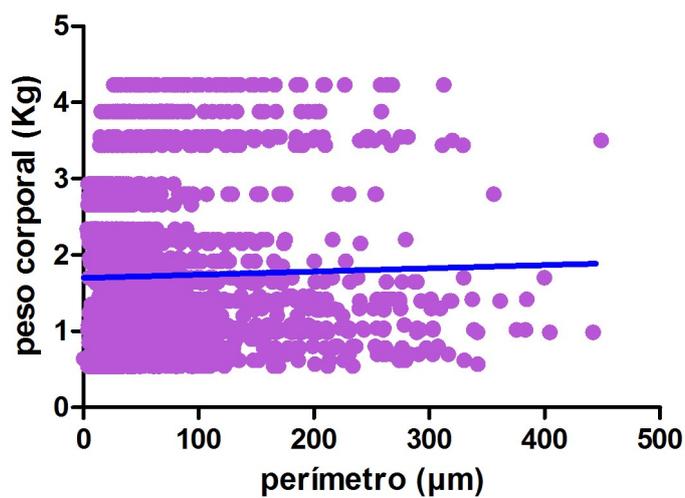


$$rS=0.093; p<0.0001$$

Figura 10 - Gráfico de correlação da idade gestacional e o perímetro da luz dos vasos sanguíneos das línguas de natimortos autopsiados no HC/UFTM no período de 1994 a 2015

5.7 PESO x VASOS SANGUÍNEOS

A correlação entre o peso fetal e o perímetro da luz dos vasos sanguíneos, observou-se um aumento dos vasos, porém com tendência a ser positivo.



$$rS=0.028; p=0.076$$

Figura 11 - Gráfico de correlação entre peso fetal e o perímetro da luz dos vasos sanguíneos das línguas de natimortos autopsiados no HC/UFTM no período de 1994 a 2015

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O desenvolvimento da língua é descrito como um processo relativamente rápido, que se inicia entre a 4^a e 5^a semana de vida intra-uterina. Tem sido documentado que o desenvolvimento da língua tem um efeito notável na cavidade oral, portanto é de extrema importância para o desenvolvimento do sistema estomatognático que a língua se desenvolva corretamente (HONG et al., 2015).

A língua e a mandíbula têm uma origem comum, surgem simultaneamente a partir do arco mandibular e seu desenvolvimento é coordenado. As mutações que afetam o desenvolvimento mandibular precoce têm efeitos deletérios na formação da língua (PARADA e CHAI, 2015). Nos seres humanos, o crescimento da língua e da mandíbula está intrinsecamente ligado em tamanho e forma entre 20 semanas gestacionais e 24 meses pós-natais (HUTCHINSON; KIESSER e KRAMER, 2014). Em outro estudo, foram realizados exames de ultrassonografia em gestantes de 14 a 26 semanas, e notou-se que a partir do exame é possível averiguar a detecção se a língua está normal a partir dos estágios iniciais da gestação, o que permitirá elucidar sobre várias malformações da língua (ACHIRON et al., 1997).

Em nosso estudo foi observado aumento significativo no perímetro e comprimento da língua em diferentes idades gestacionais. A avaliação do comprimento do pé é um elemento importante para levantamento estrutural do feto em diferentes IG. Por se tratar de uma medida corporal e estar intimamente relacionada com a IG, com o peso, com o comprimento e com os perímetros. Assim, a literatura confirma que o desenvolvimento fetal é extremamente importante para avaliação do recém-nascido, devido a esse fator, a idade gestacional é um parâmetro indispensável para a avaliação e sobrevivência após nascimento (FERRAZ et al., 2016; SALGE et al., 2016; WYK & SMITH 2016).

A circunferência da língua fetal, em função da idade gestacional (14 a 26 semanas), foi avaliada através de ultrassonografia, onde observaram correlação altamente significativa. Os dados podem ser úteis no diagnóstico pré-natal de síndromes congênitas suspeitas que incluem, entre suas manifestações, distúrbios do crescimento da língua e avaliação da estimativa da IG (ACHIRON et al., 1997).

Nosso estudo colabora com a literatura, indicando que a língua é um órgão que pode contribuir para um melhor conhecimento da IG, através das análises

histopatológicos e morfométricos, pode-se observar o desenvolvimento da língua em diferentes IG. Nas primeiras semanas de gravidez, o crescimento fetal apresenta um padrão de desenvolvimento notavelmente constante, independente do sexo, do grupo étnico e sócio-econômicos. Além disso, a variação do crescimento fetal está associada a intervalos, diminuindo assim a precisão do cálculo por ecografia (MATIAS et al., 2002; SALGE et al., 2017).

No presente estudo encontramos um aumento significativo de fibras colágenas na língua de natimortos, em relação as diferentes idades gestacionais (23-40) e o peso dos natimortos. Em 2015 Parada e Chai, mostraram que as CNCC iniciam e potencializam diretamente o desenvolvimento da língua e dão origem aos fibroblastos que promovem o desenvolvimento do tecido conjuntivo (IWATA et al, 2010). A sinalização de Hedgehog (Hh) no CNCC é crucial para o desenvolvimento precoce da língua onde a sinalização de Hh dá as células embrionárias informações que permitem o desenvolvimento correto (IWATA et al, 2010).

O colágeno tipo 1 é expresso na língua nos estágios iniciais de desenvolvimento, sendo detectável no mesênquima derivado do CNCC adjacente ao epitélio da língua (HOSOKAWA et al., 2010) e nos tendões dos músculos extrínsecos, que conectam a língua à mandíbula (PARADA e CHAI, 2015). O tecido conjuntivo da língua e os vasos sanguíneos derivam do CNCCs, enquanto a maioria dos músculos da língua originam-se de mioblastos que migraram dos somitos occipitais (NODEN E FRANCIS, 2006).

Fatores derivados dos fibroblastos regulam o desenvolvimento fisiológico do mesoderma, porém o espaço e tempo em relação a função celular no desenvolvimento craniofacial e o controle genético ocorrem de forma diferente em outras regiões do corpo humano (IWATA et al., 2010). De fato, a contribuição da CNCC tanto para o epitélio quanto para o mesênquima na língua em desenvolvimento não é totalmente compreendida (LIU et al., 2012).

A literatura sugere que o desenvolvimento da língua ocorre de forma normal. Além disso, os fibroblastos (FGFs) constituem uma das maiores famílias de fatores de crescimento, ligados a vários receptores nesta família, que são conhecidos por desempenharem papéis críticos durante o desenvolvimento da língua. A sinalização FGF regula o desenvolvimento da língua em múltiplos estágios (DU et al., 2015).

Em estudo realizado por Iwata e colaboradores em 2010, foi relatado que o sinalizador TGF β é de extrema importância para o desenvolvimento da língua e

quando ocorre perda dos receptores TGF β desencadeia uma malformação. Os dados sugerem que o fator de crescimento mediado pelo FGF e pelo fator de crescimento transformador que a proteína óssea morfogenética (BMP) são fatores primordiais no destino dos mioblastos na língua. Concluindo que os fibroblastos e os mioblastos são de extrema importância para o desenvolvimento da língua durante a miogênese.

Em um estudo, foi observado aumentos significativos no tamanho tanto na mandíbula como na língua, em indivíduos com idades entre 20 semanas de gestação e 3 anos pós-natal. Esses aumentos foram enfatizados no estudo na região da mandíbula, que pode estar associada a um aumento da largura da base cranial ou à expansão lateral da língua (HUTCHUNSON et al., 2014).

A mandíbula humana, a língua e a musculatura extra-ocular, possuem alta densidade vascular, quando comparadas a outros músculos do corpo humano, sugerindo que a alta densidade mitocondrial da língua e densidade capilar são necessárias para evitar fadigas musculares durante as condições de movimentos aeróbicos que a língua exerce. A musculatura corporal geralmente é tipo I e a da língua é tipo II em sua maior porção, e apresenta alta tolerância a fadiga o que seria incomum se fosse em outro músculo do corpo, sendo assim, esse achado sugere que a língua passou por adaptação para exercer suas funções regionais e propriedades de contração (GRANBERG et al., 2010).

Em outro estudo foram analisadas 23 línguas de natimortos autopsiados, demonstrando que após a 7^a semana, ocorre o desenvolvimento dos nervos e sua relação com as estruturas vizinhas, indicando que as redes nervosas se fusionam com as papilas. Os vasos cujas as paredes estão começando a se desenvolver incluem os glóbulos vermelhos com seus núcleos basófilos aumentando 'progressivamente durante o desenvolvimento. Durante o processo de evolução há uma estreita correlação entre as fibras colágenas e a musculatura (FUENTES E SANCHIZ, 1991).

A literatura relata, que foi observado o leito microcirculatório do sistema neuromuscular da língua humana, onde revelaram mudanças no grau de organização e integração estrutural-funcional. Foi demonstrado periodicidade de alterações morfológicas do complexo vasculo-neural na parte extrafusil e intrafusil do tecido muscular. A rede de microvascular de capilares é mais volumosa e muda durante o desenvolvimento fetal nos eixos neuromusculares em maior grau que o leito microvascular das fibras musculares extrafusais, determinando nível mais

elevado de vascularização das fibras musculares intrafusais (MAIBORODA E SHAPOVALOVA, 1988).

No presente estudo, utilizamos o anticorpo CD31 para marcação de vasos em idade gestacional até 40^a semana. Adotamos método de morfometria nos vasos sanguíneos no perímetro da língua, no qual ainda não foi descrito na literatura. Obtivemos aumento significativo do perímetro dos vasos sanguíneos correlacionando com diferentes idades gestacionais. Como observado por Ferraz e colaboradores em 2008, natimortos com idade gestacional entre 20 a 40 semanas, o anti-CD31 é um marcador de vasos sanguíneos em relação o desenvolvimento da idade gestacional.

A angiogênese pode ser quantificada pela avaliação imunohistoquímica da densidade de microvasos, através da identificação de proteínas expressas na superfície das células endoteliais marcadas por anticorpos monoclonais (FRANK et al., 1995). Podem ser utilizados para marcação imunohistoquímica microvascular os anticorpos monoclonais CD31 e CD34 (ALVES; BACCHI; VASSALLO, 1999). Utilizamos o anticorpo CD31, membro da superfamília das imunoglobulinas, é uma glicoproteína transmembrana de 130-KDa também conhecida como PECAM-1 (plateled endolelial cell adhesion molecule). Ele está presente na superfície de plaquetas, monócitos, macrófagos, neutrófilos e é também um constituinte de junções intercelulares endoteliais. O CD31 desenvolve um importante papel na cascata de adesão entre células endoteliais e células inflamatórias durante a inflamação, facilitando a migração de leucócitos (NEWMAN et al., 1990) além disso, foi relatado ser um dos melhores marcadores para tumores vasculares benignos e malignos (YOUNG et al., 1993).

As regularidades morfofuncionais de formação e desenvolvimento do leito microcirculatório sanguíneo na língua humana é pouco abrangido no período pré-natal de morfogênese. Em 1988, Bobrik e Alekseev, realizaram estudo com 119 embriões humanos e fetos com 5 semanas a 40 semanas de idade gestacional, e demonstraram regularidades gerais de organogênese da estrutura de construção do leito vascular da língua.

Em outro estudo foi observado diferenças notáveis na arquitetura dos vasos sanguíneos da mucosa oral. No lado dorsal da língua, os capilares foram orientados verticalmente para as superfícies epiteliais. Os capilares do lado dorsal da língua são muito estreitos e o suprimento de sangue nessas áreas também variam. Na

língua posterior, os vasos sanguíneos pequenos formaram uma rede capilar muito densa. Como o epitélio da parte posterior da língua não está completamente queratinizado, a área superficial relativamente grande da língua pode desempenhar um papel importante na reabsorção oral de drogas e outras substâncias. A superfície da cavidade oral é ampliada pela parte posterior da língua, o que pode influenciar o transporte transmucoso na circulação sistêmica (NAUMOVA, 2013).

Grangerber e colaboradores, em 2010, mostraram que a vascularização anterior da língua é maior, os vasos de calibres menores, dando condições para o rápido fornecimento de energia e nutrientes para os miócitos. Essa extensa rede de capilares da língua, tem sido estudada na literatura como elemento importante contra doenças e reconstrução de tecidos danificados.

Houve um aumento do perímetro dos vasos sanguíneos correlacionando com o peso fetal, porém com tendência a ser significativo. Existe uma tendência natural de crescimento fetal durante as diferentes idades gestacionais e outros fatores como desnutrição materna que podem causar alterações no peso fetal, pois o peso do feto varia em cada idade gestacional e dependendo da nutrição da mãe. Os desencadeamentos intrauterinos em recém-nascidos com baixo peso ao nascer (peso ao nascer <2500 g), são reconhecidos como fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento de doenças vasculares na idade adulta (KANDASAMY et al., 2011).

O peso fetal e a idade gestacional, devem ser levados em consideração devido a influência de outras características (genéticas e socioeconômicas). O aumento do peso fetal pode estar relacionado a uma complicação fetal grave, que gera uma resposta sistêmica fetal caracterizada por edema, inflamação e alteração de mediadores químicos (CORREA et al., 2013).

O peso fetal é a medida mais frequentemente associada à avaliação de crescimento, portanto estabelece se a criança esta normal para a idade gestacional. A avaliação precisa para o crescimento no periodo neonatal é importante para observar se o feto foi submetido a condições intrauterinas anormais que resultaram em atraso o aceleração do crescimento (THAWANI et al., 2013).

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

A embriogênese lingual é um parâmetro válido para estimar a IG na autópsia pediátrica em conjunto com os métodos tradicionais. O aumento do perímetro e do comprimento da lingual, de fibras colágenas, do perímetro dos vasos, confirmam que de acordo com o avanço da IG, a formação da língua está diretamente ligada com o crescimento e desenvolvimento fetal.

Neste estudo observamos uma relação estatisticamente significativa entre o desenvolvimento da língua e as diferentes IG. A cavidade oral faz parte do desenvolvimento biológico e sua formação e função podem alterar a saúde geral. Assim, a análise morfológica da língua pode auxiliar como parâmetro do crescimento intra-uterino e desenvolvimento fetal.

REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHIRON, R.; ARIE, A.B.; GABBAY, U.; MASHIACH, S.; ROTSTEIN, S. Development of the fetal tongue between 14 and 26 weeks of gestation: *in útero* ultrasonographic measurements. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, v9, p39-41, 1997.

ALEXANDER, G.R; TOMPKINS, M; CORNELLY, D. Gestacional age reporting and preterm delivery. **Public health reports**. V.105, p. 267-275, 1990.

ALVES, E. – Anatomia Topográfica. Rio de Janeiro, **Ed. Atheneu**, 1962.

ALVES, V.A.F.; BACCHI, C.E.; VASSALLO, J. Manual de imunohistoquímica. São Paulo, **Sociedade Brasileira de Patologia**, 1999.

BALLARD, J. L; KHOURY, J. C; WEDIG, K; et al. New Ballard score, expanded to include extremely premature infants. **Journal of pediatrics**. V.119, p.417-423, 1991.

BALTERS, W. Reflexmechanismus und Funktionsablauf. *Fortschr Kieferorthop. Dtsch Zahnarztl Z.*, **Munchen**, v. 16, no. 4, p. 325-327, 1955.

BLEYL, S.B.; BAUER, P.R. LARSEN. **Embriologia Humana** 4^a ed. Brasil: Elsevier, 2009.

BOBRIK, I.I.; ALEKSEEV, O.N. Development of the microcirculatory bed of the human tongue in the prenatal period. **Arkh Anat Gistol Embriol**, v94, p63-67, 1988.

BRADLEY, R.M. & STERN, I.B. - The development of the human during the fetal period. **Journal of Anatomy**, V104: p.743- 52, 1967.

BRAGA, G.C. & MACHADO, C.P. Deglutição atípica. In: PETRELLI, E. **Ortodontia para fonoaudiologia**. São Paulo, Lovise,1994.

CANONGIA, M. B. Manual de Terapia da Palavra, Anatomia, Fisiologia, Semiologia e o Estudo da Articulação e dos Fonemas. Rio de Janeiro, **Atheneu**, 1981.

COHEN, M.C.; DRUT, R. La autopsia en pediatría. Diagnóstico de situación en un hospital de pediatría de referencia. **Arch. Argent. Pediatr.**, v101, p166, 2003.

CORREA, R.R.M.; ROCHA, L.P.; PETRINI, C.G.; TEIXEIRA, V.P.A.; CASTRO, E .C.C. Influência da causa de morte no peso corporal e dos órgãos internos em autopsias perinatais. **Rev Bras Ginecol Obstet.**, v 36, p23- 28, 2014.

DU, W.; PROCHAZKA, J.; PROCHAZKOVA, M.; KLEIN, O.D. Expression of FGFs during early mouse tongue development. **Gene Expression Patterns**, 2016.

FARRET, M.M.B.; TOMÉ, M.C. & JURACH, E.M. Hábitos orais e maloclusões. In: MARCHESAN, I. Q. & COLS. **Tópicos em fonoaudiologia**. São Paulo, Lovise, v 3. 1996.

FELÍCIO, C. M. Fonoaudiologia nas desordens temporomandibulares: uma ação educativa-terapêutica. São Paulo, **Pancast**, 1994.

FERRAZ, M.L.F.; FRANCO, C.A.; JULIANO, G.R.; SOARES, M.H.; JULIANO, G.R.; OLIVEIRA, F.A.; ESPINDULA, A. P.; RAMALHO, L.S.; OLIVEIRA, F.A.; CAVELLANI, C.L.; CORRÊA, R.R.M.; REIS, M.A.; TEIXEIRA, V.P.A. Morphometric evaluation of the aortic root in stillborns. **Pathology, Research and Practice**, v. 1, p. 32-35, 2016.

FERRAZ, M.L.F.; SANTOS, A.M.; CAVELLANI, C.L.; ROSSI, R.C.; CORRÊA, R.R.M.; REIS, REIS, M.A.; TEIXEIRA, A.V.P.; CASTRO, E.C.C. Histochemical and immunohistochemical study of the glomerular development in human fetuses. **Pediatric Nephrology**, v. 23, p. 257-262, 2008.

FIGÚN, M. E.; GARINO, R.R. – Anatomia Odontológica Funcional y Aplicada. Buenos Aires, **Libreria El Ateneo Editorial**, 1984.

FRANK, R.E.; SACLARIDES, T.J.; LEURGANS, S.; SPEZIALE, N.J.; DRAB, E.A.; RUBIN, D.B. Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence and survival in

patients with node-negative colon cancer. **Ann. Surg.**, v.222, v.6, p.695-699, 1995.
FRÄNKEL, R. & FRÄNKEL, C. Orofacial Orthopedics with the Function Regulator, **Journal Karger**. 1989.

FUENTES, A.; SANCHIZ, O. Microscopic innervation and vascularization of the tongue. **Rev Stomatol Chir Maxillofac**, v93, p278-284,1992.

GRANBERG, B.L.; LINDELL, B.; ERIKSSON, P.O.; PEDROSA-DOMELLOF, F.; STAL, P. Capillary Supply in Relation to Myosin Heavy Chain Fibre Composition of Human Intrinsic Tongue Muscles. **Cells Tissues Organs**, v 192, p 303-313, 2010.

HONG, S.J.; CHA, B.G.; KIM, Y.S.; LEE, S.K.; CHI, J.G. Tongue Growth during Prenatal Development in Korean Fetuses and Embryos. **J Pathol Transl Med**: 2015.

HOSOKAWA R.; OKA K.; YAMAZA T.; IWATA J.; URATA M.; XU X.; BRINGAS, P. Jr.; Nonaka, k.; chai, y. TGF-[beta] mediated FGF10 signaling in cranial neural crest cells controls development of myogenic progenitor cells through tissue-tissue interactions during tongue morphogenesis. **Developmental Biology**. 341:186-195, 2010.

HUTCHINSON, E.F.; KIESER, J.A.; KRAMER, B. Morphometric growth relationships of the immature human mandible and tongue. **Eur J Oral Sci**, v122, p181-189, 2014.

IWASAKI, S. Evolution of the structure and function of the vertebrate tongue. **Anatomical Society of Great Britain and Ireland**, v201, p01-13, 2002.

IWATA, J.; SUZUKI, A.; PELIKAN, R.C.; TV, H.; CHAI, Y. Noncanonical Transforming Growth Factor Beta. Signaling in Cranial Neural Crest Cells Causes Tongue Muscle Developmental Defects. **Journal of Biological Chemistry**, v 288, 2013.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. Editora Guanabara Koogan S.A. ed11ª, 2008.

KANDASAMY, Y.; SMITH, R.; WRIGHT, I.M.R.; HARTLEY, L.. Relationship between birth weight and retinal microvasculature in newborn infants. **J Perinatol**, v32, p443-447, 2012.

LIN, H.J.; LIN, J.C. Treatment of oral submucous fibrosis by collagenase: effects on oral opening and eating function. **V13**, p407-413, 2007.

LIU, H.X.; KOMATSU, Y.; MISHINA, Y.; MISTRETTA, C.M. Neural crest contribution to lingual mesenchyme, epithelium and developing taste papillae and taste buds. **Dev Biol**, v15, p294-303, 2012.

MAIBORODA, I.; SHAPOVALOVA, I.A. The formation of the microcirculatory bed of the neuromuscular systems of the tongue in human prenatal ontogeny. **Arkh An. Gistol. Embriol.** v100, p41-47, 1991.

MARCHESAN, I. – Motricidade Oral. São Paulo, **Pancast**, 1993. 70p.

MATIAS, A.; TIAGO, P.; MONTENEGRO, N. Cálculo da idade gestacional: Métodos e Problemas. **Acta Médica Portuguesa**, v15, p17-21, 2002.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. Embriologia Básica. Brasil: **Elsevier**, 2008.

MORAES, C.L.; REICHENHEIM, M.E. Validade do exame clínico do recém-nascido para a estimação da idade gestacional: uma comparação do escore New Ballard com a data da última menstruação e ultra-sonografia, **Cad, Saúde Pública - Rio de Janeiro**, v16, p83-94, 2000.

MOYERS, R.E., CARLSON, D.S. Maturação da neuromusculatura orofacial. In: ENLOW, D. H. Crescimento Facial. Ed 3. São Paulo: **Artes Médicas**, p260-271, 1993.

NARUSE K.; FUKAMACHI S.; MITANI H.; KONDO M.; MATSUOKA T. A detailed linkage map of medaka, *Oryzias latipes*: comparative genomics and genome evolution, 2000.

NAUMOVA, E.A.; DIERKES, T.; SPRANG, J.; ARNOLD, W.H. The oral mucosal surface and blood vessels. **Head Face Med**, v9, p8, 2013.

NODEN DM, FRANCIS-WEST P. The differentiation and morphogenesis of craniofacial muscles. *Developmental Dynamics*. 2006; 235:1194 – 1218.

PARADA, C.; CHAI, Y. Mandibule and Tongue Development. **Curr Top Dev Biol**, v115, p31-58, 2015.

PARADA, C.; HAN, D.; CHAI, Y. Molecular and Cellular Regulatory Mechanisms of Tongue Myogenesis. **J Dent Res**, v91, p528,535, 2012.

PROENÇA, M.G. Sistema sensório motor oral. In: Fisioterapia, fonoaudiologia e terapia ocupacional em pediatria. **São Paulo, Savier**, 1990.

PROVENZA, D.V.; SEIBEL, W. Oral Histology: Inheritance and Development, 2nd edition, Lea and Febiger, **Philadelphia**, p.148-151, 1986.

SALGE, A. K. M; ROCHA, E. L; GAIVA, M. A. M; et al. Medida do comprimento hálux-calcâneo de recém-nascidos em gestações de alto e baixo risco. **Revista Escola de Enfermagem da USP**. V.51. 2017.

SANTOS, A.M.; FERRAZ, M.L.F.; RODRIGUEZ, M.L.P.; REIS, M.A.; TEIXEIRA, A.V.P.; CASTRO, E.C.C. Assessment of renal maturity by assisted morphometry in autopsied fetuses. **Early Human Development**, v. 82, p. 709-713, 2006.

SATO, I.M.; SUZUKI, M.; SATO, T. Sato and S. Inokuchi: A histochemical study of lingual muscle fibers in rat. **Okajimas folia Anatomica**. V.66: n.6: p.405- 416, 1989.

SCHOENWOLF, G. C; BLEYL, S. B.; BRAUER, P. R.; FRANCIS-WEST, P. H. Larsen Embriologia Humana 4a ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2010.

SILVA, T. R; CANTO, G. L. Integração odontologia-fonoaudiologia: A importância da formação de equipes interdisciplinares. **Revista cefac**. V.16, p.598-603. 2014.

STANLEY, E.O. & LUNDEEN, D.J. Tongue thrust in breast-fed and bottle-fed school children: a cross-cultural investigation. **Int. J. Orol. Myol., Festus**, v. 6, 1980.

TALAMONI, ACB. Anatomia, ensino e entretenimento. In: Os nervos e os ossos do ofício: uma análise etnológica da aula de Anatomia [online]. São Paulo: Editora UNESP, 2014, pp. 23-37. ISBN 978-85-68334-43-0. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

THAWANI, R.; DEWAN, P.; FARIDI, M.M.; ARORA, S.K.; KUMAR, R. Estimation of gestational age, using neonatal anthropometry: a cross-sectional study in India. **J Health Popul Nutr**. 31(4):523-30, 2013.

WYK, L.V. & SMITH, J. Postnatal Foot Length to Determine Gestational Age: A Pilot Study. **J Trop Pediatr**, 62 (2): 144-151, 2016.

YAMASAKI, F. TAKAHASHI, K. A description of the Times of the Appearance and Regression of Marginal Lingual Papillae in Human Fetuses and Newborns. **The Anatomical Record**. V.204: p.171-173, 1982.

ZAGO, A. F. R; PARAVIDINE, L. M; SIQUEIRA, L. M. S; et al. Estudo comparativo entre o comprimento hálux-calcâneo e outros métodos de avaliação de idade gestacional em recém nascidos. **Pediatr Mod**. V.36, p.388-391. 2000.

ZEMPLIN, W. R. – Princípios de Anatomia e Fisiologia em Fonoaudiologia. **Porto Alegre, Artes Médicas Sul**, 2000.

ANEXO

9 ANEXO

ANEXO A – Folha de Aprovação CEP

4/4



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: “DESCRIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA LÍNGUA DE NATIMORTOS AUTOPSIADOS EM DIFERENTES IDADES GESTACIONAIS”
PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: MARA LUCIA DA FONSECA FERRAZ
INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM
DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 17/06/2008
PROTOCOLO CEP/UFTM: 1158

Orçamento Total do Projeto
R\$:46.000,00 (Quarenta e seis mil reais)
 O orçamento do Projeto será suprido com recursos disponibilizados pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), pela Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEPU), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

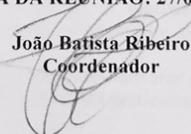
12. FORMA E VALOR DA REMUNERAÇÃO DO PESQUISADOR
 O Pesquisador não terá remuneração além referente ao cargo de bióloga na UFTM

13. ADEQUAÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO E FORMA DE OBTÊ-LO
 Justifica-se não obter o consentimento livre e esclarecido por se tratar de material proveniente de autópsia. Nestes casos o Termo de Consentimento é obtido de um familiar antes da realização da autópsia. Além disso, este material ficou sob responsabilidade da administração da UFTM que concorda com a realização deste estudo. Algumas destas autópsias foram realizadas já alguns anos, sendo difícil a localização de parentes e a convocação destes familiares para a assinatura do termo de consentimento aumentaria os gastos com o trabalho e causaria maior desconforto e angústia. Os benefícios do estudo são bem claros e não tem riscos ao paciente além dos já relatados acima

14. ESTRUTURA DO PROTOCOLO – O protocolo foi adequado para atender às determinações da Resolução CNS 196/96.

15. COMENTÁRIOS DO RELATOR, FRENTE À RESOLUÇÃO CNS 196/96 E COMPLEMENTARES

PARECER DO CEP : Aprovado
 (O relatório anual ou final deverá ser encaminhado um ano após o início do processo).
DATA DA REUNIÃO: 27/06/2008


João Batista Ribeiro
 Coordenador

Praça Dr. Thomaz Ulhôa, 380 (Prédio do Colégio Nossa Senhora das Dores) – 2º andar – Abadia – Cep: 38025-050
 Uberaba-MG - TELEFAX: 34-3318-5854
 E-mail: cep@prodepe.uftm.edu.br