

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Pneumologia

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO NASAL
EM INDIVÍDUOS EXPOSTOS AO TXIB**

GUILHERME PILLA CAMINHA

Orientador: Prof. Dr. Rogério Gastal Xavier
Co-Orientador: Prof. Dr. José Faibes Lubianca Neto

Dissertação de Mestrado apresentada
no Curso de Pós-Graduação em
Medicina: Pneumologia para obtenção
de Título de Mestre em Medicina.

Porto Alegre
2005

C183a Caminha, Guilherme Pilla
Avaliação da função nasal em indivíduos expostos ao TXIB / Guilherme
Pilla Caminha ; orientador Rogério Gastal Xavier. – Porto Alegre, 2005.
196f.

Dissertação – (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
Programa de Pós-Graduação em Medicina, 2005.

Inclui bibliografia

1. Nariz – Doenças. 2. Rinomanometria. 3. Depuração mucociliar.
I. Xavier, Rogério Gastal. II. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Programa de Pós-Graduação em Medicina. III. Título.

CDU:616

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. William S. Cain, Ph.D., Chefe do Chemosensory Perception Laboratory, Professor of Surgery (Otolaryngology), University of California – San Diego, que não poupou esforços para me oferecer todas as condições possíveis para a realização deste trabalho e me abriu novos horizontes em pesquisa científica.

Ao Dr. Alfredo A. Jalowayski, Ph.D., Research Specialist, membro do Department of Surgery (Otolaryngology) and Department of Pediatrics, Immunology and Allergy Division, University of California – San Diego, pela minha introdução em técnicas básicas de pesquisas das vias respiratórias, bem como pela busca incessante da perfeição do método científico.

Ao Dr. Roger Walz, pelo seu desprendimento e amizade ao realizar as análises estatísticas deste estudo.

Ao Dr. José Faibes Lubianca Neto, meu co-orientador, amigo e paradigma de competência profissional, que sempre me estimulou a trilhar o caminho do conhecimento científico.

Ao Dr. Rogério Gastal Xavier, meu orientador e estimulador, além de importante fornecedor da “finesse” na estruturação de um trabalho científico.

Ao Dr. Flávio Danni Fuchs, exemplo de pesquisador e professor que abriu as portas para o meu ingresso no conhecimento e desenvolvimento de pesquisas médicas.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Fernando e Regina, pelos valores passados, dedicação, exemplo e desprendimento para fornecerem todas as condições possíveis para tornar-me um Homem.

À minha esposa, Flávia, meu amor e minha metade, por ser a companheira incansável nas horas boas e ruins, por me mostrar que a vida tem muitas coisas de valor inestimável, e por ter me dado a maior dádiva, uma filha.

À Manoela, minha filha, minha alegria, minha vida, meu estímulo para ser melhor em todos os sentidos da vida.

À Christianne, minha irmã querida, meu exemplo de ética e modelo que procurei sempre seguir no meu desenvolvimento profissional.

SUMÁRIO

1- RESUMO.....	5 - 6
2- INTRODUÇÃO.....	7 - 10
3- REVISÃO DE LITERATURA.....	11 - 29
2.1 - Mucosa Respiratória Nasal.....	13 - 15
2.2 - Transporte Mucociliar.....	16 - 20
2.3 – Resistência Nasal.....	20 - 25
2.4 – Lavagem Nasal.....	25 - 29
3- OBJETIVOS	
3.1- Principal.....	30
3.2- Secundário.....	30
4- MÉTODOS.....	31 – 37
4.1- Amostra.....	31 - 32
4.2- Resistência Nasal.....	32 - 33
4.3- Transporte Mucociliar.....	34
4.4- Celularidade Nasal.....	35 - 36
4.5- Análise Estatística.....	37
5- RESULTADOS.....	38 - 46
6- DISCUSSÃO.....	47 - 54
7- CONCLUSÕES.....	55
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56 - 61
9- APÊNDICE.....	62-75

RESUMO

A importância de se estudar os efeitos de substâncias potencialmente deletérias para o nosso organismo, em locais fechados, tem recebido maior atenção nos últimos anos. O ser humano contemporâneo passa grande parte do dia em ambientes fechados e a qualidade do ar repercute no seu bem-estar e também poderá influenciar sua saúde.

A Síndrome do Prédio Doente (SPD) é definida como uma condição médica em que indivíduos apresentam uma série de sintomas físicos relacionados ao ambiente de trabalho. A SPD resulta em perda substancial do desempenho no trabalho e relações pessoais, além de considerável perda de produtividade.

Como o nariz representa a primeira área exposta aos contaminantes ambientais e a histologia da mucosa nasal é similar à da mucosa das vias aéreas inferiores, processos inflamatórios nas cavidades nasais podem refletir ou afetar àqueles nas vias aéreas inferiores. Estudou-se a exposição nasal aguda ao TXIB (2,2,4-trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato), comumente utilizado como um plastificante, em 19 voluntários normais e avaliou-se as alterações na função nasal (resistência nasal, transporte mucociliar e celularidade nasal), tendo como controles a exposição ao placebo e etanol. A exposição nasal ao TXIB e etanol resultou em aumento significativo da resistência nasal total ($p < 0,05$). Entretanto, também verificou-se aumento na resistência no grupo placebo ($p < 0,05$). O tempo de transporte mucociliar aumentou nos grupos placebo e TXIB, não significativamente ($p > 0,05$). No grupo etanol houve diminuição ($p > 0,05$). O número de células totais e neutrófilos aumentou nos três grupos estudados, porém sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). O número de células epiteliais aumentou nos indivíduos expostos ao TXIB e etanol, e diminuiu no grupo placebo, não significativamente. Porém, no grupo TXIB demonstrou-se aumento do número de células epiteliais com forte tendência estatística ($p = 0,065$).

A análise dos resultados deste estudo nos permite concluir que a celularidade nasal apresenta-se como uma medida da função nasal com maior sensibilidade para demonstrar alterações em indivíduos expostos agudamente ao TXIB, sendo que o número de células epiteliais altera-se imediatamente após a exposição.

SUMMARY

The importance of studying the health effects of indoor pollutants has increased in recent years. People spend most of the time indoors and air quality can adversely affect well-being and health.

Sick Building Syndrome (SBS) is defined as a medical condition in which occupants of a building experience acute health effects that seem to be linked to time spent in a building. SBS influences negatively worker performance, personal relationships and productivity.

As the nose represents the first area exposed to environmental pollutants and nasal mucosal histology is similar to the inferior respiratory tract mucosa, inflammatory processes seen in the nasal cavity can reflect or affect those seen in the inferior respiratory tract. We studied the acute nasal exposure to TXIB (2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate), commonly used as plasticizer, in 19 normal volunteers and evaluated the nasal function alterations (nasal resistance, mucociliary transport time and nasal cellularity), using as controls ethanol and placebo exposures. Nasal exposure to TXIB and ethanol resulted in significant increase in total nasal resistance ($p < 0,05$). Similarly, placebo group had a significant increase in total nasal resistance ($p < 0,05$). The mucociliary transport time increased not significantly in the TXIB and placebo ($p > 0,05$). In the ethanol group there was a decrease ($p > 0,05$). The number of total cells and neutrophils increased not significantly in the three groups ($p > 0,05$). The number of epithelial cells increased in the TXIB and ethanol, and decreased in the placebo group, not significantly. However, the TXIB group demonstrated an increase in epithelial cells with a strong statistical tendency ($p = 0,065$).

The analyses of the results of this study allow us to conclude that nasal cellularity represents the more sensible method of demonstrating acute nasal function alterations in individuals exposed to TXIB. And the number of epithelial cells tend to alter immediately after exposure.

INTRODUÇÃO

A saúde, em seu mais amplo conceito, inclui não somente ausência de doença, mas também a obtenção de bem-estar. Diminuição de qualidade de vida é amplamente aceito como um efeito adverso relacionado à saúde. Exposição a poluentes pode afetar adversamente vários aspectos de questionários que avaliam a qualidade de vida, incluindo alterações físicas (particularmente indivíduos com condições respiratórias e cardiovasculares) e bem-estar geral ¹.

A atmosfera pode ser considerada uma mistura de ar puro e poluentes, e esta complexa composição muda constantemente devido à uma ampla variedade de processos de transformação, transporte e mecanismos de remoção. No ar puro, os gases predominantes são o nitrogênio e oxigênio que compõem 99,03% do volume. Se argônio e dióxido de carbono forem incluídos, estes quatro gases compõem 99,99% do volume da mistura ². No ar das comunidades, outros gases e partículas são adicionados à mistura, derivados principalmente dos processos industriais e de combustão.

A principal importância do ar ambiente para os seres humanos é o fornecimento de oxigênio para os processos metabólicos e também funcionar como um depósito para os metabólitos exalados (p.ex. dióxido de carbono). Conseqüentemente, alterações nas propriedades físicas ou mesmo pequenas adições de poluentes ambientais podem provocar prejuízos no trato respiratório e afetar a saúde, conforto e atividades ou desempenho do homem.

A importância de um ambiente limpo e saudável tem sido valorizada por diversas culturas e sociedades há séculos. Claramente, as edificações e casas eram construídas para proteger os homens dos elementos e perigos da natureza. Na verdade, pessoas de diversos estilos de vida passam a maior parte do tempo em ambientes fechados. Entretanto, somente a partir da década de 70 que artigos a respeito de doenças crônicas e específicas associadas com edifícios e materiais de construção de edifícios, têm sido publicados na literatura médica e científica ³.

A definição original da Organização Mundial da Saúde para “Sick Building Syndrome” ou Síndrome do Prédio Doente (SPD), foi um consenso da experiência clínica. A descrição inicial continha irritação dos olhos, nariz e garganta; pele e membranas mucosas secas;

eritema; fadiga mental e cefaléia; infecções de vias aéreas e tosse; disfonia e sibilos; reações de hiperreatividade inespecíficas; náuseas e tonturas ⁴. Mais recentemente, esta síndrome foi definida como uma condição médica com ocorrência excessiva de determinados sintomas nas pessoas que trabalham em um prédio comum, e os sintomas somente ocorrem após irem para o trabalho e melhoram ou, mesmo, desaparecem quando saem do trabalho ³. SPD resulta em perda substancial do desempenho no trabalho e relações pessoais, além de considerável perda de produtividade. Esta definição pode excluir indivíduos com irritação crônica relacionada ao ambiente de trabalho. Conseqüentemente, a definição é inadequada, e a etiologia e patogênese enigmática. Entretanto, um denominador comum é a presença de seis sintomas em quase todos os acometidos: irritação nasal, ocular e de membranas mucosas; cefaléia, pele seca e letargia ³.

A literatura atual sugere que estes sintomas são experimentados por uma proporção substancial de trabalhadores (5% a 40% dependendo do sintoma) e embora fatores psicossociais, tais como nível de estresse no trabalho, sabidamente influenciem os sintomas da SPD, várias características dos edifícios e ambientes internos são conhecidos ou suspeitos de afetar estes sintomas. Tais características incluem: tipo de sistema de ventilação, tipo ou existência de equipamento de umidificação, taxa de ventilação externa, poluição química e microbiológica no ar e superfícies internas, além de temperatura e umidade interna ⁵. Em experimentos, os sintomas de SPD têm sido reduzidos com mudanças práticas do ambiente tais como: aumento de ventilação, diminuição de temperatura e melhor limpeza de pisos e mobílias ⁵.

Segundo Fisk e Rosenfeld ⁵, nos Estados Unidos, as melhorias nos ambientes fechados de trabalho podem gerar uma economia anual e aumento de produtividade de 6 a 19 bilhões de dólares, através da redução de doenças respiratórias; de 1 a 4 bilhões com a redução de alergias e asma; de 10 a 20 bilhões pela redução da “sick building syndrome”; e de 12 a 125 bilhões resultante da melhora direta do desempenho dos trabalhadores.

Poluentes presentes no ar inalado podem afetar o organismo localmente no trato respiratório e, se houver absorção, podem também atingir outros órgãos. No trato respiratório, o impacto é maior na sua porção proximal (cavidades nasais), onde inicia-se o processo de condicionamento do ar inalado.

Crianças são primariamente respiradores nasais e esta preferência persiste na vida adulta. Respiração oral e oronasal é usualmente limitada a condições de demanda de exercício, uso da voz ou quando uma alteração nasal impede o fluxo aéreo adequado. Taxas ventilatórias através das fossas nasais podem exceder 10.000 litros em um dia ⁶. Conseqüentemente, o nariz é diária e continuamente exposto aos efeitos de contaminantes ambientais.

As vias aéreas têm sido tradicionalmente divididas em dois segmentos anátomo-funcionais distintos: superior e inferior. Doenças destes segmentos, no entanto, podem coexistir. Em até 80% dos pacientes asmáticos também estão presentes sintomas de rinite, enquanto 5% a 15% dos pacientes com rinite perene têm asma ⁷. A histologia da mucosa nasal é similar à da mucosa das vias aéreas inferiores. Por isso processos inflamatórios nas cavidades nasais podem refletir ou afetar aqueles nas vias aéreas inferiores. Assim, uma resposta inflamatória vista no nariz pode ser um sinal de alerta para inflamação nas vias aéreas inferiores.

O trato respiratório superior exerce muitas funções, incluindo o aquecimento e a umidificação do ar inspirado, além da remoção de partículas e poluentes. O nariz é também um local comum de doenças alérgicas, infecciosas e um local de inflamação não alérgica e de irritação mucosa ⁴.

O problema de doenças respiratórias superiores atinge dimensões surpreendentes. Aproximadamente 15 % da população dos países industrializados modernos sofrem de problemas nasais ou paranasais. O custo sócio-econômico estimado destas doenças nos Estados Unidos supera 6 bilhões de dólares ao ano ⁸. Embora raramente causem admissões hospitalares de emergência e quase nunca sejam fatais, doenças nasais e sinusais crônicas prejudicam consideravelmente a qualidade de vida. Além do mais, rinite crônica, independente se alérgica ou não, é um potente fator de risco para o desenvolvimento de asma brônquica ⁹.

O presente estudo foi planejado para avaliar as alterações nasais agudas, através da análise de exames da função nasal, em indivíduos expostos ao TXIB (2,2,4-trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato), um material com alto peso molecular (286,41 da) e baixa pressão de vapor (0,006 mmHg à 23° C), que fica no limite superior da categoria dos compostos orgânicos voláteis (COVs). Comercialmente, o TXIB é comumente utilizado como um

plastificante. Pode aparecer em vinil, uretanos e vários outros polímeros para inclusão em assoalhos de vinil, papel de parede e produtos de couro artificiais, com concentrações de até 15 % v/v, e que freqüentemente revestem os edifícios e escritórios. O TXIB tem sido implicado na gênese de sintomas em indivíduos que trabalham em ambientes fechados ¹⁰. Tal preocupação surgiu através da verificação de associações entre níveis detectados de TXIB e freqüência ou magnitude de sintomas respiratórios superiores. No entanto, estas associações não podem estabelecer uma relação de causa e efeito, pois elas baseiam-se no que os investigadores medem ou podem medir dos vários COVs presentes no ambiente. Para comparação de resultados foi escolhido como controle positivo o etanol, um composto orgânico volátil que mesmo em baixas concentrações é irritante para os olhos e o trato respiratório superior.

REVISÃO DE LITERATURA

O trato respiratório superior, especificamente as cavidades nasais, é o primeiro alvo e também a primeira linha de defesa contra irritantes e poluentes ambientais. É também a porção do sistema respiratório mais facilmente acessível para avaliação morfológica e fisiopatológica. O termo biomarcador é definido como um indicador bioquímico, molecular, genético, imunológico ou fisiológico de eventos ocorrendo nos sistemas biológicos ¹¹. Conseqüentemente, as cavidades nasais representam um local ideal para a avaliação de biomarcadores relacionados à exposição de agentes transportados pelo ar.

O nariz exerce quatro funções essenciais. É o local onde se localiza o epitélio olfatório, uma via aérea rígida para o trato respiratório inferior, um órgão para preparar o ar inspirado para as superfícies pulmonares e também um cavidade de ressonância para a fonação.

Anatomicamente o nariz consiste de um esqueleto cartilaginoso e ósseo, associado a tecido conjuntivo de revestimento. Internamente, ele estende-se anteriormente do vestíbulo nasal até a coana. O septo nasal, uma estrutura osteocartilaginosa, que divide o nariz anatomicamente em duas cavidades (direita e esquerda), é formado pela lâmina perpendicular do etmóide, cartilagem quadrangular, pré-maxila, vômer e osso palatino (fig 1). A parede nasal lateral é formada por estruturas ósseas e por projeções mediais recobertas por mucosa, denominadas conchas ou cornetos. Os cornetos limitam espaços entre si, denominados meatos (fig 2). Apesar do esqueleto nasal parecer assegurar um diâmetro rígido dos espaços aéreos nasais, o revestimento mucoso interno tende a variar significativamente em espessura.

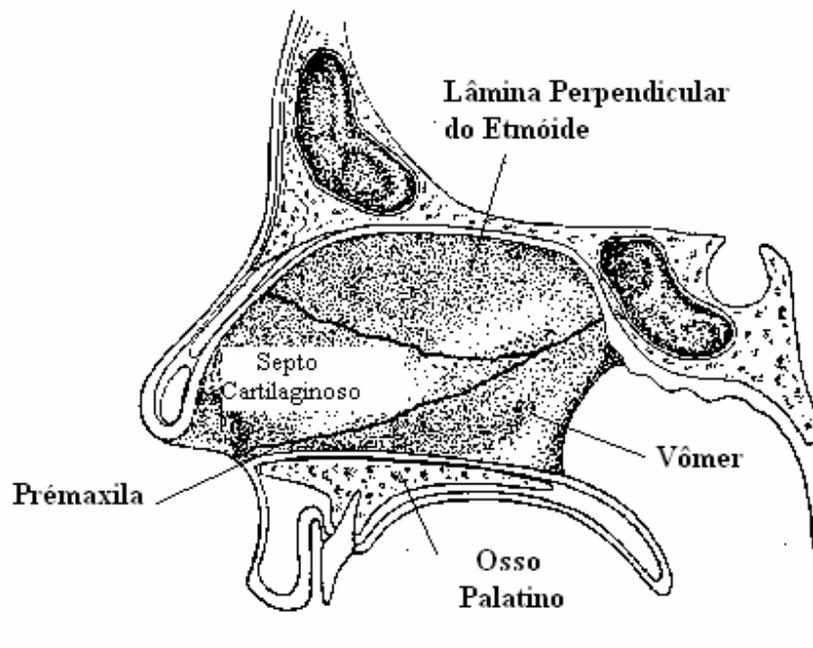


Figura 1. Anatomia do septo nasal

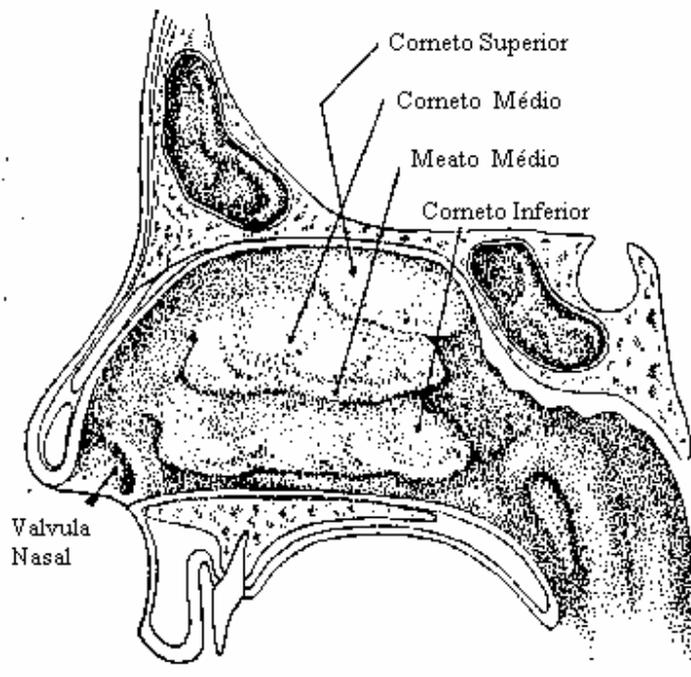


Figura 2. Anatomia da parede nasal lateral.

Mucosa Respiratória Nasal

A mucosa nasal consiste de um epitélio pseudoestratificado, colunar e ciliado com numerosas células globulares suportado por uma lâmina própria ricamente vascularizada, contendo numerosas glândulas serosas e mucosas, alguns linfócitos, neutrófilos e macrófagos. As células colunares ciliadas são as predominantes do epitélio respiratório, estendendo-se da membrana basal até a superfície luminal, onde os cílios se misturam com microvilosidades. As microvilosidades são muito menores ($3\ \mu\text{m}$ por $0,1\ \mu\text{m}$) do que os cílios ($6-7\ \mu\text{m}$ por $0,3\ \mu\text{m}$) e algumas são ramificadas. Filogeneticamente, os cílios são estruturas antigas, primeiramente encontradas em organismos unicelulares primitivos, onde o movimento celular propela o organismo de um lugar a outro. Em seres humanos, cílios são encontrados em todo o trato respiratório, exceto na porção extrema anterior do nariz (vestíbulo nasal), parede orofaríngea posterior, parte da laringe e nas ramificações

terminais da árvore brônquica. Os cílios humanos estendem-se aproximadamente $6\mu\text{m}$ acima da superfície luminal e têm aproximadamente $0,3\mu\text{m}$ de largura. Podem-se encontrar aproximadamente 200 cílios em cada célula ^{2,12} (fig. 3).

O movimento ciliar ocorre uníssono e rapidamente em direção a nasofaringe, impulsionando o muco, e depois retorna muito mais lentamente. A taxa de batimento ciliar é de aproximadamente 1000 ciclos por minuto e cada um move-se em um ritmo metacrônico com o cílio adjacente ¹³. Os cílios de uma célula continuam sua atividade apesar de mudanças profundas no citoplasma e núcleo. Cílios ativos podem ser vistos em células epiteliais encontradas na secreção nasal de pacientes com coriza. Sua atividade pode ser alterada por vírus, bactérias e ressecamento de mucosas, entre outros ¹² (fig 4).

O muco nasal é uma camada aderente e fina (aproximadamente $7-8\mu\text{m}$), que em indivíduos normais tem o pH 7 ou levemente ácido, sendo composto de mucina (2-3%), sais (1-2%) e água (95%). Também são encontrados albumina, lisosimas, lactoferrina, interferon, imunoglobulina G (IgG) e imunoglobulina A (IgA). É produzido pelas células globulares e glândulas mucosas da lâmina própria. Normalmente 20 a 40 ml de muco são secretados, em condições normais, diariamente pelo nariz, originado dos 160 cm^2 de mucosa ¹⁴. O muco nasal adere bactérias, corpos estranhos, poeira e outras substâncias, e através da ação ciliar é conduzido em direção à faringe, para ser engolido e destruído no estômago. Sua renovação ocorre 3-4 vezes por hora ². Além de transportar partículas depositadas pelo ar inspirado, o muco nasal também transfere calor (pela radiação dos vasos sanguíneos da mucosa), normalmente aquecendo o ar inspirado e resfriando o ar expirado, e umidifica próximo a 100% o ar inspirado quando esse atinge a nasofaringe. Duas camadas do muco nasal foram identificadas. Uma mais fina, mais serosa e profunda (camada sol), envolvendo os cílios, e outra acima desta, em contato com a superfície luminal, mais viscosa (camada gel) que é penetrada pelas extremidades dos cílios, quando em extensão completa.

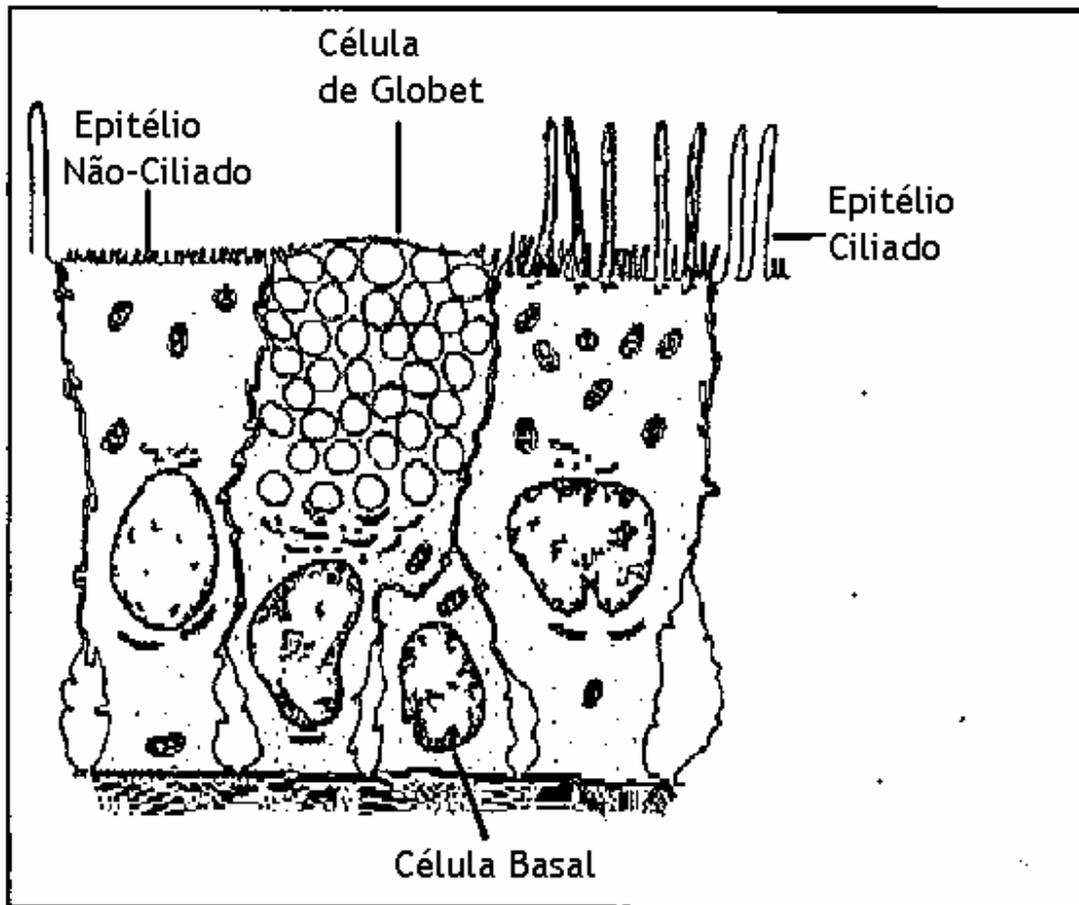


Figura 3. Representação do Epitélio Nasal

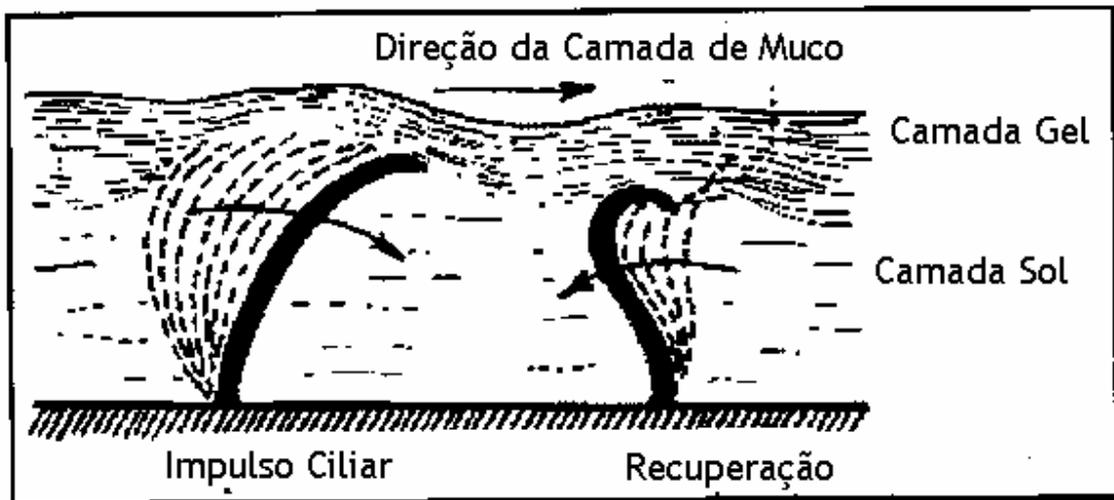


Figura 4. Representação do Movimento Ciliar

Transporte Mucociliar

O transporte mucociliar é um processo fisiológico que permite o fluxo de muco sobre uma superfície epitelial de células ciliadas. Ele representa, juntamente com as vibrissas, a primeira barreira defensiva contra insultos biológicos e físicos nas fossas nasais, seios paranasais e trato respiratório inferior. Atua através da absorção, neutralização e eliminação de poluentes inalados, favorecendo a eliminação de partículas com diâmetro entre 0,5 e 5 μm ^{15,16}. Conseqüentemente, a avaliação do transporte é considerada um parâmetro clínico importante.

A eficiência do transporte mucociliar depende do número e comprimento dos cílios no epitélio, da freqüência do batimento ciliar, da coordenação do movimento entre os cílios de uma célula única e as células contíguas, assim como da quantidade e das propriedades viscoelásticas do muco nasal¹⁶.

Em indivíduos normais a velocidade de transporte mucociliar varia amplamente de 1 a 20 mm/min com uma média de 6 mm/min^{2,17}. Ela pode ser medida através da observação de uma partícula colocada na superfície mucosa, a qual move-se junto com o

muco nasal ao qual ela está aderida. Autores como Hilding em 1931, Tremble em 1949 e depois Ewert em 1965, realizaram a observação direta de partículas ou marcadores isotópicos depositados na mucosa nasal ¹⁷. Várias partículas podem ser utilizadas, tanto solúveis quanto insolúveis, com marcadores radioativos ou não. Em 1974, Andersen et al, introduziram clinicamente o teste da sacarina como um método simples de avaliação do transporte mucociliar ¹⁸. Esta partícula solúvel, com sabor adocicado, penetra o fluido periciliar e é reconhecida pelo paciente quando atinge a faringe. Atualmente é a substância mais utilizada para avaliação do transporte mucociliar, podendo ser misturada com uma substância insolúvel (p.ex., carvão vegetal). (figura 5)

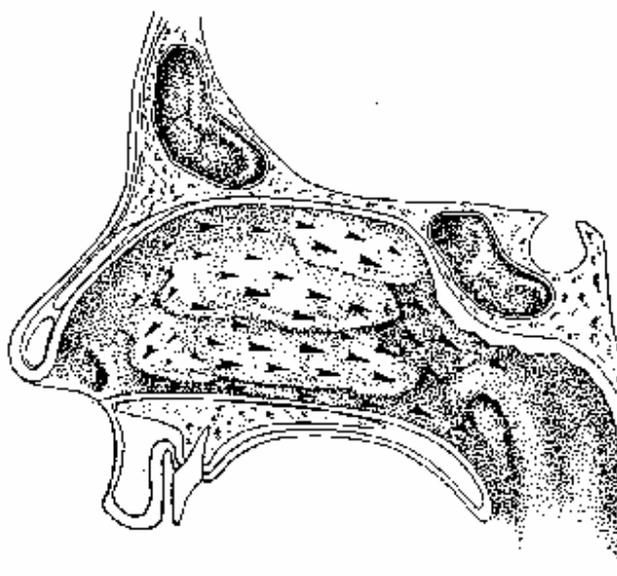


Figura 5. Representação do Transporte Mucociliar Nasal

O tempo de transporte mucociliar apresenta variabilidade intra e interindividual. Meseguer e Gálvez ¹⁹, estudaram o tempo em 132 indivíduos normais, entre 5-82 anos (média 33,5), com a utilização de carvão vegetal como partícula de teste. Em apenas 2 indivíduos foi observado um tempo de transporte nasal superior a 40 minutos (1,5 %). Nos demais foi encontrado uma variação ampla (mínimo 3 min e máximo 19 min), com uma média de $8,9 \pm 3,8$ minutos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as faixas etárias testadas; entretanto houve uma tendência de aumentar o tempo de transporte

mucociliar com o aumento da idade. Fumo e sexo não demonstraram alterações estatisticamente significativas neste estudo. Utilizando a mesma partícula, Armengot²⁰ e colaboradores, em um estudo com 115 indivíduos normais com idade entre 5 e 85 anos, encontraram variação do tempo entre 5 e 18 minutos, com uma média de $8,35 \pm 2,6$ minutos. Passali²¹, em experimento semelhante, encontrou um tempo médio de $12,5 \pm 2,9$ minutos.

O tempo de transporte da sacarina tem sido utilizado clinicamente por muitos autores, desde a introdução por Andersen (1974). Segundo Lale¹⁴, os tempos médios variam de 7 a 15 minutos, com valores superiores a 20 minutos sendo indicativos de transporte mucociliar patológico. Liote et al²², estudando 20 indivíduos normais, encontraram o tempo de transporte da sacarina de $13,6 \pm 6,1$ minutos. Passali et al²¹ relataram em 79 pessoas saudáveis (32 homens e 47 mulheres), após rinoscopia anterior e posterior, e história de distúrbio nasal negativa, com idades entre 19 e 74 anos, valores médios para sacarina de 17 ± 5 minutos. Hafner et al²³, observaram em um grupo de 24 hígidos, com idade média de $29,8 \pm 5,2$ anos, que o tempo médio era $14,9 \pm 8,4$ minutos. Sakakura²⁴ refere como valor médio o tempo de 13 ± 1 minuto em indivíduos normais. Recentemente, Ho²⁵ e colaboradores, publicaram um estudo onde avaliaram o efeito da idade no transporte mucociliar e observaram que existe um aumento estatisticamente significativo no tempo do teste da sacarina com o aumento da idade. Indivíduos abaixo e acima de 40 anos de idade tiveram tempos de $9,3 \pm 5,2$ min e $15,4 \pm 5,0$ min ($p < 0,001$), respectivamente, com valor médio de 12 ± 5 min.

Proctor e Andersen², são autores de um livro em 1982, onde discutem o ambiente em relação ao nariz e a saúde. Muitas condições ambientais comuns e algumas substâncias têm pouco ou nenhum efeito sobre a fisiologia nasal, incluindo o transporte mucociliar. Entretanto, com alguns poluentes comuns, demonstra-se efeito na função nasal. Há evidências de um tempo de transporte mucociliar aumentado em fumantes em relação a não fumantes^{26,27}. Borum et al²⁸ demonstraram em 1979 que a exposição a aerossóis para cabelos reduzia o transporte mucociliar. Contrariamente, a exposição a ozônio não alterou o tempo da sacarina em outra investigação¹⁵. O formaldeído representa outra substância encontrada tanto nos locais de trabalho quanto em residências. Proctor e Andersen², Holmstrom et al²⁹ e Clement et al³⁰ afirmam que exposição a formaldeído causa diminuição do fluxo de muco.

A influência de alterações nasais no transporte mucociliar têm sido investigada de longa data. Em 1980, Ginzler e Illum³¹ demonstraram um aumento do tempo estatisticamente significativo em pacientes com desvio septal, que voltou a normalidade 3 meses após septoplastia. Deitmer e Erwig¹⁸, em 1986, realizaram um estudo da influência da obstrução nasal em 20 indivíduos normais, com o nariz aberto e subsequentemente fechado com o uso de um clampe. O tempo de transporte foi significativamente mais longo quando o nariz estava clampeado (9,2 min e 15, 5 min). Em 1999, Passali¹⁶ e colaboradores, avaliaram as alterações do transporte mucociliar em pacientes com hipertrofia dos cornetos inferiores, desvio septal e rinosinusite crônica, encontrando tempos praticamente iguais aos indivíduos normais nos dois primeiros grupos. Em contraste, nos indivíduos portadores de sinusite crônica, tempos significativamente mais longos foram encontrados ($p < 0,01$). Similarmente, Hafner et al²³ encontraram tempos de transporte mucociliar mais longos em indivíduos com rinosinusite crônica, em relação aos controles, com melhora significativa após cirurgia endoscópica nasossinusal. Recentemente, Uslu et al³², avaliaram o efeito do desvio septal e septoplastia no transporte mucociliar e demonstraram que o desvio septal reduz a atividade mucociliar, sendo essa normalizada após a cirurgia.

Condições fisiológicas do nariz podem alterar o transporte mucociliar. Durante o ciclo nasal, por exemplo, Doyle e Cauwenberge³³, em 1987, revelaram que o transporte era mais rápido quando determinado lado das cavidades nasais era mais permeável. Nuutinen³⁴ também evidenciou que o tempo era menor no lado descongestionado em indivíduos sem doenças respiratórias. Littlejohn³⁵ e colaboradores, também encontraram diferenças entre a fase de congestão e descongestão, porém, contrariamente, a fase de congestão tendo o transporte mais rápido. Entretanto, quando comparando a estados patológicos, a diferença não foi significativa clinicamente para a maioria dos indivíduos testados. Da mesma forma, Soane³⁶ e colaboradores, recentemente investigaram o efeito do ciclo nasal no transporte mucociliar e demonstraram que o aumento do tempo na cavidade nasal patente em comparação à cavidade obstruída era estatisticamente significativo (2,5 : 1 ; $p = 0,039$).

Resistência Nasal

A respiração nasal transporta o ar através do trato respiratório superior em direção aos alvéolos pulmonares com pressão, umidade, temperatura e limpeza adequados, e em volume suficiente para uma absorção de oxigênio em condições ótimas; e, através de processo inverso, eliminação de dióxido de carbono. O fluxo aéreo nasal tem um trajeto dentro das cavidades nasais curvilíneo, onde a maior parte do ar passa em nível do meato médio (fig. 6). O fluxo aéreo nasal normal é aproximadamente $400-500 \text{ ml/s}^2$, o que corresponde a circulação de aproximadamente 30 L de ar por minuto. Apresenta dois componentes: um laminar e outro turbulento. É o fluxo turbulento que aumenta as funções fisiológicas de filtração, umidificação e aquecimento do ar, bem como regula a resistência nasal.

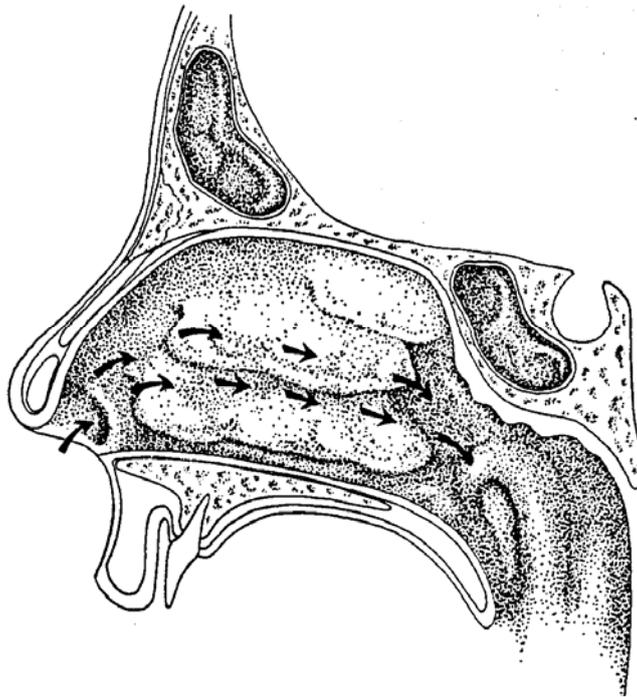


Figura 6. Representação do Fluxo Inspiratório Nasal

O fluxo aéreo dentro das duas cavidades nasais é assimétrico e a dominância deste fluxo se alterna de um lado para o outro durante o dia. Há mais de 100 anos, Kayser reportou que as cavidades nasais exibem mudanças espontâneas na resistência nasal unilateral ³⁷. Posteriormente, este fenômeno de alternância foi denominado de “ciclo nasal” por Stoksted ³⁸. Segundo este autor, e também Heetderks ³⁹ aproximadamente 80% da população normal apresenta um ciclo regular. Entretanto, as mudanças na resistência nasal não são sempre regulares e recíprocas. Flanagan e Eccles ³⁷ estudaram a resistência nasal em indivíduos normais para examinar o ciclo nasal e demonstraram que apenas 21% dos indivíduos exibiram padrões de fluxo aéreo que poderiam ser definidos como um ciclo nasal, isto é, uma mudança recíproca regular de fluxo aéreo com um volume de ar igual passando através de cada cavidade nasal num determinado período de tempo. Normalmente esta alternância de fluxo entre as duas cavidades não é percebida, pois a resistência nasal total permanece relativamente constante, tendo um coeficiente de variação menor que 15% durante um período de 6 horas ⁴⁰.

As mudanças espontâneas recíprocas na resistência nasal são causadas pela congestão e descongestão dos sinusóides venosos da mucosa nasal. Os sinusóides venosos nasais formam um tecido esponjoso, similar a tecidos erécteis, que é particularmente bem desenvolvido na porção anterior do septo nasal, corneto médio e corneto inferior ². (figura 7)

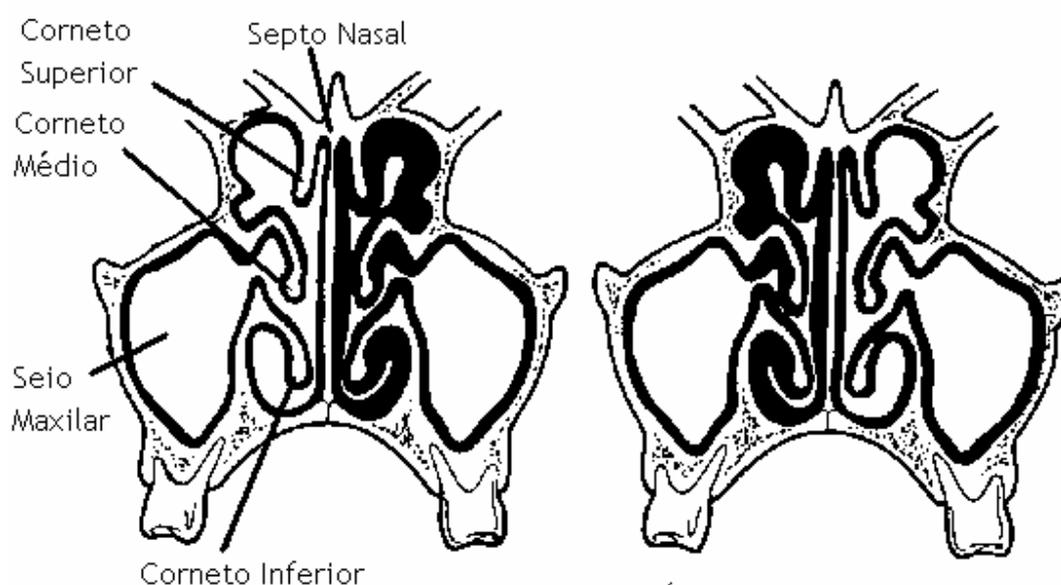


Figura 7. Representação do Ciclo Nasal

O local de maior resistência dentro do trato respiratório é a área da válvula nasal. Kasperbauer e Kern ⁴¹ descreveram que a área da válvula nasal é a unidade funcional compreendida pela parte distal da cartilagem lateral superior, cabeça do corneto inferior, septo caudal e tecidos remanescentes que recobrem a abertura piriforme. Esta área é responsável por mais do que 50% da resistência nasal ^{42,43}.

Existe uma grande variação de valores de resistência nasal em indivíduos normais. Além disso, existe também uma grande sobreposição de valores em indivíduos com sintoma de obstrução nasal e indivíduos assintomáticos. Conseqüentemente, baseado exclusivamente nos valores de resistência nasal não é possível determinar os indivíduos que apresentam sintomas e determinar o grau de obstrução.

Atualmente os dois principais métodos objetivos de avaliação clínica da obstrução nasal são a rinomanometria e a rinometria acústica. Este último foi introduzido por Hilberg ⁴⁴, em 1989, e baseia-se na emissão de uma onda sonora que é refletida à medida que entra nas cavidades nasais, fornecendo uma avaliação da geometria nasal. A rinomanometria é um método de avaliação objetiva realizado pela medida simultânea do fluxo e pressão transnasal ⁴⁰. Através da razão entre esses dois parâmetros, obtém-se a resistência nasal. Segundo o Comitê de Avaliação Objetiva das Vias Aéreas Nasais, da Sociedade Internacional de Rinologia, até o momento, a rinomanometria é a técnica melhor avaliada e padronizada, sendo o método recomendado. Como foi a técnica utilizada neste estudo, explicaremos um pouco mais detalhadamente.

Existem três métodos atualmente em uso para medir a diferença de pressão através do nariz: anterior, posterior e pernasal. O fluxo é medido através de uma saída adaptada à máscara nasal. Como necessita de equipamento menos complicado e é o mais fácil de realizar, a rinomanometria anterior tem sido a mais comumente utilizada. Denomina-se rinomanometria anterior ativa, quando os parâmetros de fluxo e pressão são medidos nas fossas nasais durante a respiração normal, ou ativa, do indivíduo.

A diferença de pressão através do nariz origina um fluxo de ar e esta diferença varia com o transcurso da respiração. Assim, um aumento da diferença de pressão da rinofaringe em relação à narina causa um aumento de fluxo, até determinado ponto e esta relação não é sempre proporcional. Conseqüentemente, o traçado é curvo em forma de “s”, isto é, sigmóide (fig 8). A resistência pode ser designada em diferentes pressões, sendo uma

resultante, como já referido, da relação fluxo-pressão. Segundo Pallanch ⁴⁰, a resistência tem sido internacionalmente padronizada numa pressão de 150 pascals. Entretanto, também pode ser reportada na pressão de 75,100 ou 300, se atingida, ou no raio 2 ⁴⁵.

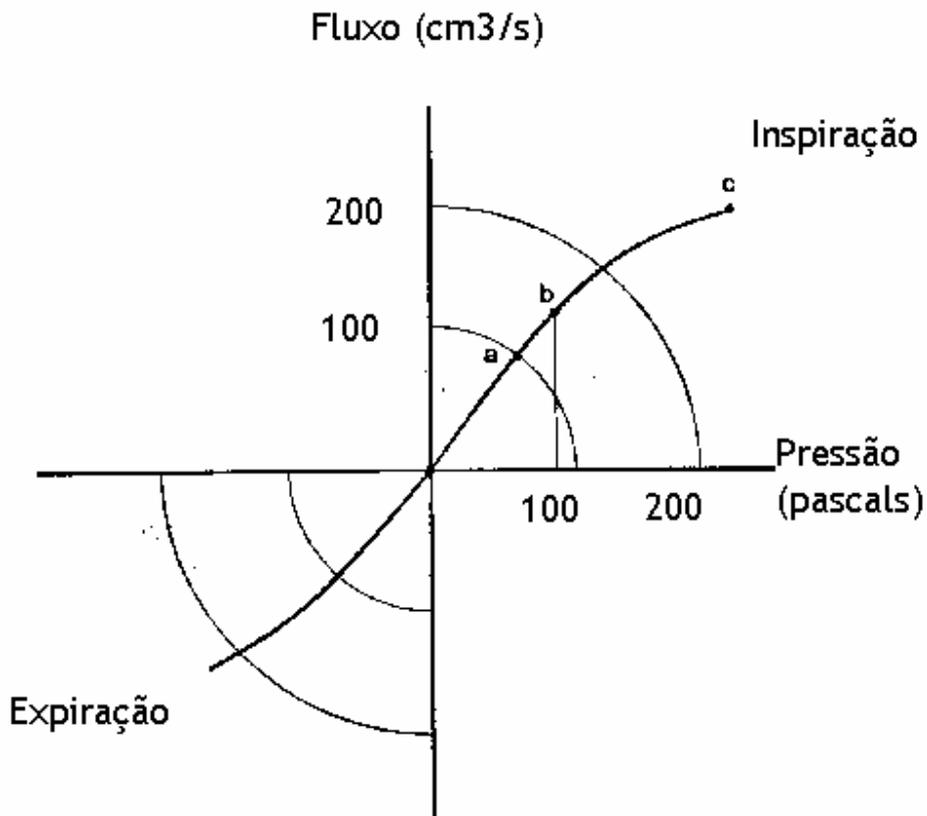


Figura 8. Representação de um exame de Rinomanometria

Vários fatores podem causar alguma variabilidade nos resultados obtidos com a avaliação rinomanométrica das cavidades nasais. Como descrito anteriormente, a alternância de congestão e descongestão (ciclo nasal) dos lados causa mudanças, apesar da resistência total permanecer relativamente constante. Outras causas incluem: alterações posturais (resistência maior quando supino), alérgenos (aumentam a resistência), secreções (aumentam a resistência), hiperventilação (aumenta a resistência), pressão exercida em determinadas regiões do corpo (aumenta a resistência naquele lado), ar frio (aumenta a resistência), fumo (fumantes têm maior resistência), exercício (diminui a resistência), raça (negros têm

resistência menor) e medicações (diminui ou aumenta dependendo do fármaco) ^{40,45}. Os valores considerados normais para resistência nasal total, obtidos em população adulta, variam de 0,19 à 0,38 Pa/ cm³ /s medido na pressão de 150 Pa, sem descongestionante ⁴⁵.

Lavagem Nasal

A lavagem nasal (LN) ou nasofaríngea é fácil de coletar, segura e pode fornecer informação útil para o monitoramento da inflamação das vias aéreas. Tal técnica tem sido utilizada para o estudo dos efeitos de alérgenos nas respostas nasais de pessoas com rinite alérgica e asma, e também na avaliação da fisiologia secretora nasal. Mais recentemente foi introduzida para o estudo da inflamação relacionada ao ambiente ⁴⁶.

A anatomia nasal fornece uma superfície mucosa facilmente acessível tanto para coleta de amostras como para teste de provocação. Conseqüentemente, com a lavagem nasal é possível coletarem-se amostras freqüente e repetidamente. As medidas dos efeitos podem também ser realizadas minutos (ar seco, frio), horas (resposta tardia à antígenos, ozônio) ou dias (infecções por rinovírus) após o indivíduo ter sido exposto ⁴⁷.

A lavagem nasal pode detectar alterações celulares após exposição a alérgenos, irritantes ou agentes infecciosos. Bascom et al ⁴ demonstrou um aumento significativo no número de eosinófilos nas 3 primeiras horas após provocação com antígenos e aumento também de neutrófilos e células mononucleares durante a fase tardia (4-11h). Similarmente, um grande número de poluentes, tais como fumaça do cigarro e ozônio, têm demonstrado induzir um influxo de leucócitos polimorfonucleares (PMN's) para as vias aéreas superiores e inferiores de indivíduos expostos ⁴. No entanto ainda debate-se se o nariz pode ser aceito como um modelo para fisiopatologia da inflamação das vias aéreas inferiores, mesmo que os mesmos tipos celulares na região nasal e nasofaríngea existam no trato respiratório inferior e sejam reconhecidos por estarem envolvidos nos estágios iniciais de muitas doenças pulmonares ⁴⁸.

Graham et al ⁴⁹ demonstrou que a análise da lavagem nasal pode ser usada para detectar a indução e resolução de uma resposta inflamatória aguda no trato respiratório superior de seres humanos experimentalmente infectados com rinovírus ³⁹. Além disso,

este estudo demonstrou que 4h de exposição ao ozônio induz um influxo de PMN's, um indicador de inflamação aguda, nas vias aéreas superiores. Um outro estudo de Graham et al ⁵⁰, examinou a relação entre a resposta inflamatória na via aérea superior e inferior, e determinou a utilidade da lavagem nasal em prever as respostas celulares no trato respiratório inferior. Eles encontraram que um influxo de PMN's ocorreu nas vias superiores e inferiores em resposta ao ozônio. Embora os PMN's aumentaram significativamente na lavagem nasal e broncoalveolar do mesmo indivíduo, os leucócitos polimorfonucleares obtidos da lavagem nasal não puderam prever o número total de PMN's broncoalveolares. Isto sugere que as respostas inflamatórias na cavidade nasal e nasofaringe sejam similares às vistas no trato respiratório inferior, embora possam não ser idênticas em intensidade.

Hauser e colaboradores ⁵¹ analisaram a utilidade da lavagem nasal em detectar uma resposta inflamatória em trabalhadores expostos às cinzas de combustíveis. Em 37 indivíduos estudados, houve um aumento na contagem celular de polimorfonucleares, embora houvesse uma grande variabilidade na contagem. Similarmente, na Suécia, foi avaliada a presença de biomarcadores de inflamação na lavagem nasal de trabalhadores da manufatura de produtos de madeira, evidenciando-se um processo inflamatório na mucosa nasal em indivíduos expostos a revestimentos de acrilato ⁵². Também na Suécia, Norbäck et al ⁵³ estudaram poluentes dentro de escolas e verificaram resposta inflamatória na lavagem nasal e diminuição na área seccional nasal à rinometria acústica de indivíduos que trabalhavam pelo menos 20 horas por semana. Walinder e colaboradores ^{54,55} também demonstraram que a avaliação de biomarcadores na lavagem nasal pode ser utilizado para estudar inflamação da mucosa nasal em resposta à exposição de poluentes do ambiente interno.

O fluido resultante da lavagem nasal é normalmente avaliado para células, mediadores imunológicos e marcadores de exsudato. O número de células epiteliais e leucócitos presentes na LN pode ser medido e, através de métodos de coloração, a contagem diferencial pode ser avaliada. Variações padrão do número de células para indivíduos normais ainda não foram estabelecidas. Steerenberg et al ⁵⁶, encontrou após a LN em indivíduos normais que a proporção média de neutrófilos é $88.8 \pm 24\%$, de eosinófilos é $11.1 \pm 24\%$ e de linfócitos é $0.2 \pm 0.6\%$, em relação a todos os leucócitos. Graham et al demonstraram a frequência de distribuição do número de PMN's detectada na LN de 200

voluntários não expostos experimentalmente. Os resultados indicaram que aproximadamente 50% dos indivíduos tinham menos que 10.000 leucócitos polimorfonucleares, enquanto que 10% tinham mais que 100.000 PMN's. Além da grande variabilidade inter-individual na contagem celular, a variação intra-individual para contagem de neutrófilos também é alta. Fischer et al, encontrou um coeficiente de variação (CV) de 98% utilizando pelo menos 5 lavagens subseqüentes, e, usando os dados para contagem de leucócitos no estudo de Hauser et al e transformando para CV, uma percentagem de 68% foi encontrada para um mínimo de duas lavagens subseqüentes ^{APUD 56}.

Os neutrófilos contêm um grande número de grânulos com diferentes enzimas. Mieloperoxidase (MPO) é uma delas, e quando presente nas secreções nasais, correlaciona-se com o número de neutrófilos, indicando que a concentração de MPO pode ser um biomarcador apropriado para a ativação neutrofílica ⁵⁷.

Histamina, liberada pelos mastócitos e basófilos, causa contração de músculos lisos (principalmente dos bronquíolos), dilatação e aumento de permeabilidade de capilares sangüíneos. Concentrações aumentadas de histamina na LN tem sido demonstrado em pacientes alérgicos e asmáticos ⁵⁸.

Proteína Catiônica Eosinofílica (PCE) é liberada pelos eosinófilos e tem a capacidade de romper a integridade da cobertura epitelial da vias aéreas. Foi demonstrado que níveis elevados de PCE correlacionam-se com número elevado de eosinófilos em pacientes alérgicos. Além disso, a concentração de PCE aumenta após elevação das concentrações ambientais de ozônio ⁵⁶.

Triptase é encontrada em mastócitos e basófilos, e juntamente com a histamina é liberada durante a degranulação. A triptase não é encontrada na LN de indivíduos normais ⁵⁶.

A concentração de citocinas na LN também pode ser medida. Interleucina 8 (IL-8), uma potente citocina ativadora de neutrófilos, tem sido implicada numa grande variedade de condições patológicas caracterizadas por infiltração neutrofílica. Além disso, provocação da mucosa nasal com IL-8 em pacientes atópicos e não-atópicos induz aumento significativo de neutrófilos e eosinófilos, indicando que a IL-8 é poderosa quimioatraente para PMN's na mucosa nasal ⁵⁶.

Marcadores de exsudato podem ser identificados na secreção nasal quando mudanças nas permeabilidades celulares produzem extravazamento de tais moléculas. Um aumento na concentração de albumina ou ácido úrico é indicativo de permeabilidade aumentada ⁵⁷.

Óxido nítrico (ON) é produzido por muitas células do trato respiratório e ON endógeno parece exercer um papel importante de sinalização no controle fisiológico das vias aéreas e na fisiopatologia das doenças do trato respiratório. Asma, fibrose cística e infecções das vias aéreas inferiores, são alguns exemplos de estados com aumento dos níveis de ON expirado. Óxido nítrico também pode ser medido por LN segundo Barnes and Liew ⁵⁶. Através de lavagem nasal é também possível identificar muitos outros biomarcadores, incluindo prostaglandinas, cininas, serotonina e complemento.

Existem muitas técnicas para realização da LN. Embora a técnica ainda não esteja padronizada, geralmente é realizada de duas maneiras ⁵⁹.

O primeiro método (método de “bolus”) requer mínimo treinamento. Com o indivíduo sentado, o pescoço 45° para trás e fazendo uma inspiração profunda, solicita-se para que segure a respiração e eleve o palato ou tente realizar uma deglutição parcial a fim de fechar a cavidade nasofaríngea, conseqüentemente melhorando a habilidade para manter o fluido na cavidade nasal. Uma seringa ou pipeta de poliestireno com 10ml de soro fisiológico estéril, aquecida à 37°, é utilizada para instilar 5ml em cada narina. O fluido é mantido nas cavidades nasais por 10 segundos e, então, o indivíduo flexiona a cabeça e permite que o lavado flua para dentro de um recipiente estéril. O lavado nasal é em seguida transferido para tubo de teste graduado.

O volume do fluido coletado é anotado e utilizado para ajuste na contagem celular. As amostras são agitadas para dispersar o muco e centrifugadas. O supernatante é removido após a centrifugação para análise protéica posteriormente. As células são ressuspensas em soro fisiológico ou solução tampão de fosfato, e uma alíquota é recolhida para contagem celular total em um hemocítômetro. Das células remanescentes, uma parte é usada para preparar lâminas para a contagem diferencial.

Um segundo método de LN foi introduzido por Penden e colaboradores ⁴⁶. A LN é realizada utilizando-se um instilador nasal dosimetrado, com solução salina estéril e na temperatura ambiente. É instilado 5 vezes em uma narina enquanto a outra é ocluída. Após o

indivíduo é instruído para expirar o lado lavado num recipiente. Esta seqüência é repetida 5 vezes em cada fossa nasal e o lavado coletado é armazenado.

Ambos os métodos podem ser facilmente realizados e têm vantagens relativas. O método de 'bolus' consegue coletar uma amostra maior da porção posterior da cavidade nasal, enquanto o método de 'spray' recolhe uma concentração maior de mediadores da região anterior da cavidade nasal. Em geral, o resultado de mediadores solúveis é mais acurado do que a contagem celular, pois as células podem ficar retidas no muco nasal. Entretanto, a avaliação da celularidade nasal pode ser feita com ambas técnicas⁵⁹.

Deve ser enfatizado que enquanto não houver uma técnica padrão para realização da LN, torna-se difícil a normatização e comparação de resultados de celularidade, por exemplo, entre os diferentes estudos. Alguns pesquisadores realizam uma lavagem antes de um teste de provocação, enquanto outros realizam 5 lavagens antes de qualquer exposição. É sabido que a LN pode exercer um efeito de limpeza ('washing out') da cavidade nasal. Isto pode explicar a grande variabilidade nas contagens celulares entre indivíduos. É muito importante estabelecer uma técnica padrão para lavagem nasal a fim de comparar resultados⁵⁹.

OBJETIVOS

Este estudo tem como objetivos:

Principal:

Avaliar os efeitos nasais agudos em indivíduos normais, submetidos a exposição da mistura de ar puro com TXIB (2,2,4-trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato), quanto a resistência nasal, transporte mucociliar e a celularidade nasal.

Secundários:

Avaliar qual dos testes de função nasal utilizados pode ser clinicamente mais sensível para detectar alterações agudas da exposição ao TXIB.

MÉTODOS

O delineamento desta pesquisa foi um estudo do tipo ensaio clínico, randomizado, duplo-cego, cruzado e controlado contra placebo.

Amostra

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo comitê de pesquisas da *University of California-San Diego (UCSD)*. Os indivíduos foram recrutados no Campus da UCSD através de panfletos colocados em locais públicos. Os interessados foram submetidos à entrevista, que questionava os seguintes aspectos:

- Tosse crônica, história de doença pulmonar, alergias respiratórias, rinosinusite crônica, polipose nasal, rinites e asma.
- História de doença aguda ou crônica cardiovascular, hepática e renal.
- Doenças agudas no mês anterior e atual.
- Uso corrente de medicações, incluindo analgésicos.
- Exposição investigacional a poluentes nas últimas semanas.
- História ou evidência de sensibilidade química.
- Fumo nos três meses precedentes.
- Gravidez.

Os indivíduos que responderam negativamente as estas perguntas, foram convidados a fazerem parte de um rastreamento adicional para descartar alergias e inflamações. Tal rastreio incluía um questionário para identificar alergia nasal e exame das cavidades nasais. Um total de 19 indivíduos com idades entre 18 e 38 anos preencheram estes critérios e foram

selecionados para participar do estudo. Cada indivíduo compareceu ao laboratório uma vez por semana, totalizando 6 semanas para cada pessoa. Todas as exposições foram realizadas pela manhã para reduzir a variabilidade diurna da função nasal. Antes de qualquer avaliação nasal, todos os participantes foram aclimatados às condições interiores por pelo menos 20 minutos. Dependendo do tipo de testes, cada sessão durava $\pm 2,5$ ou $\pm 3,5$ horas. Durante a sessão, os indivíduos foram expostos por 45 minutos a uma de três substâncias, randomicamente selecionadas. O estímulo era uma corrente de ar limpo (placebo, 80% de umidade relativa, 37° C, 1,5 l/min por narina) ou uma corrente de ar limpo, mais etanol ou TXIB num nível de aproximadamente 15% v/v. Cada estímulo foi apresentado seguindo uma ordem de avaliação padronizada (tabela 1) e cada teste será descrito abaixo.

Tabela 1. Seqüência de testes utilizados para avaliar os efeitos nasais à Exposição

1. Resistência Nasal
2. Transporte Mucoiliar
3. Lavagem Nasal (4 lavagens)
4. Exposição (ar, etanol ou TXIB)
5. Resistência Nasal
6. Transporte Mucoiliar
7. Lavagem Nasal (1 lavagem)

Resistência Nasal

A resistência nasal foi medida através de um sistema computadorizado de rinomanometria (RHINO; MultiSPIRO, San Clemente, CA). O método utilizou uma técnica anterior, ativa e uninasal através de uma máscara e um adesivo de pressão (Rhino Diagnostics, Inc., San Diego, CA) para medir a pressão e o fluxo intranasal simultaneamente (foto 1). Os sinais de fluxo e pressão foram digitalizados e analisados para calcular fluxo aéreo em L/s para a narina direita (D) e esquerda (E), assim como o fluxo aéreo total. A resistência foi então calculada em 1,5 cm de pressão de água para cada cavidade nasal e combinada para fornecer a resistência nasal total (T_{RN}) em “cm de $H_2O/L/s$ ”. Durante as medições, os indivíduos foram instruídos para respirar normalmente através de uma máscara facial, similar às utilizadas para oxigênio, enquanto as medidas de pressão e fluxo eram gravadas e analisadas pelo computador. A manobra foi repetida três vezes e a média foi utilizada para análise. A T_{RN} foi calculada seguindo a fórmula:

$T_{NR} = (D_{RN} \times E_{RN}) / (D_{RN} + E_{RN})$, sendo D_{RN} e E_{RN} as resistências nasais na fossa nasal direita e esquerda, respectivamente.

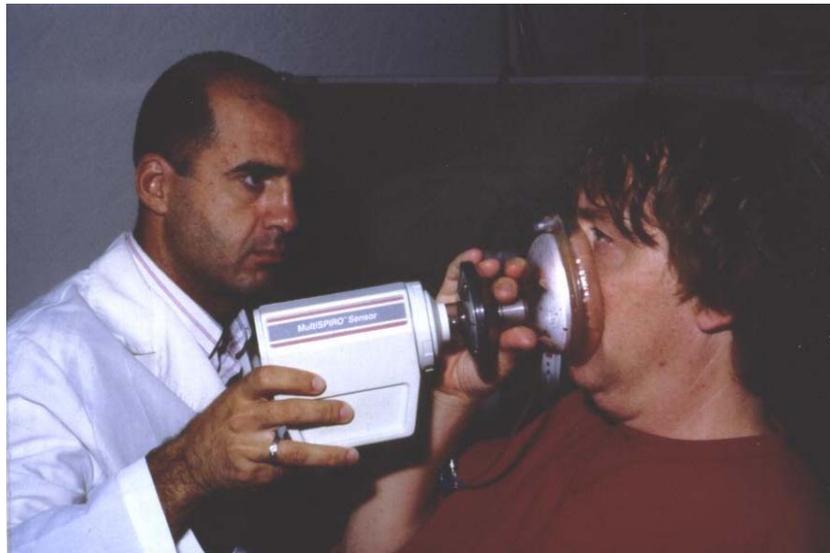


Foto 1. Realização da Rinomanometria através de uma técnica Anterior.

Transporte Mucociliar

A avaliação do transporte mucociliar foi realizada através do teste da sacarina. Pequenos cristais de sacarina foram pegos com um cateter flexível de Teflon, utilizando-se de um aparelho de vácuo. Com inspeção visual, através de um fotóforo e espéculo nasal, a partícula era introduzida na cavidade nasal e acuradamente colocada aproximadamente 1cm posterior à cabeça do corneto inferior, após liberação do vácuo. Este método foi desenvolvido para minimizar potenciais irritações causadas pela colocação da sacarina na mucosa nasal, a qual poderia aumentar a produção de muco e causar alteração no tempo do transporte. O paciente era instruído para permanecer quieto e não assoar ou espirrar. O tempo decorrido até a primeira percepção de um gosto adocicado foi anotado, através da utilização de um cronômetro. (foto 2)



Foto 2. Realização do Teste da Sacarina para avaliação do TMC

Celularidade Nasal

Neste estudo foram realizadas 5 lavagens nasais a cada sessão: 4 lavagens antes da exposição, para remover células livres a fim de se obter uma contagem basal mais estável, e uma lavagem após a exposição. Cabe ressaltar que havia sido feito um estudo piloto anterior que demonstrou um efeito moderado de limpeza com 4 lavagens. Após isto, não se obteve redução do número de células e inclusive poderia se ter aumento na celularidade.

A lavagem era realizada com o indivíduo sentado, com o pescoço 45° para trás e fazendo uma inspiração profunda. Nesse momento, solicitava-se para que segurasse a respiração e elevasse o palato ou tentasse realizar uma deglutição parcial a fim de fechar a cavidade nasofaríngea, conseqüentemente melhorando a habilidade para manter o fluido na cavidade nasal. Uma seringa ou pipeta de poliestireno com 10ml de soro fisiológico estéril, aquecida à 37°, foi utilizada para instilar 5ml em cada narina (foto 3). O fluido era mantido nas cavidades nasais por 10 segundos e, então, o indivíduo flexionava a cabeça e permitia que o lavado fluísse para dentro de um recipiente estéril. O lavado nasal era em seguida transferido para tubo de teste graduado.

O volume do fluido coletado era anotado e utilizado para ajuste na contagem celular. As amostras foram agitadas para dispersar o muco e centrifugadas. As células eram ressuspensas em soro fisiológico ou solução tampão de fosfato, e uma alíquota era recolhida para contagem celular total em um hemocitômetro. Das células remanescentes, uma parte foi usada para preparar lâminas para a contagem diferencial.

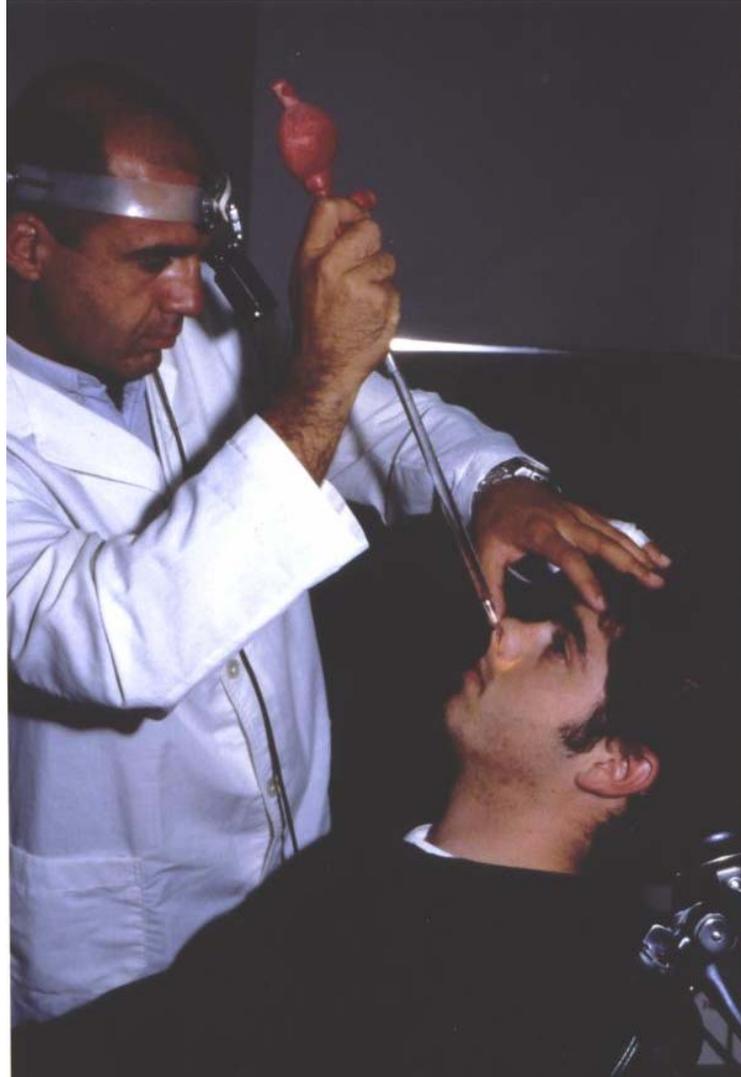


Foto 3. Realização da Lavagem Nasal

Análise Estatística

Os dados foram digitados utilizando o programa Excel e importados para o programa estatístico SPSS v10.0 com o qual foram realizadas as análises estatísticas.

A análise utilizou dois enfoques metodológicos de acordo com os dois objetivos previamente definidos: (1) a comparação de cada um dos indivíduos consigo mesmo, em dois momentos, utilizando as medidas de pré e pós-exposição, para cada uma das variáveis de interesse e (2) a comparação entre os grupos de exposição, tendo como medida de comparação as diferenças encontradas em cada grupo de indivíduos, obtidas em (1).

No processo de análise foram utilizados 2 diferentes testes, não paramétricos, de acordo com características específicas das variáveis e comparações de interesse. Utilizaram-se testes não paramétricos porque a distribuição dos dados referentes às variáveis utilizadas não apresentou uma distribuição simétrica em torno da média, ou seja, uma distribuição normal, e também porque os grupos comparados apresentaram variâncias heterogêneas.

As três variáveis de análise por apresentarem níveis de “mensuração ordinal”, utilizaram: (a) o teste de Wilcoxon nas comparações antes e depois da exposição, e (b) o teste de Kruskal-Wallis para 3 amostras independentes (não pareadas) com o objetivo de testar a hipótese nula de que não haveria diferença nas medidas observadas ao comparar indivíduos de grupos diferentes, utilizando um nível de significância de 95% (p alfa=0,05).

RESULTADOS

População Estudada

Um total de 19 indivíduos foram selecionados para participarem do estudo. A idade média dos participantes foi 28,2 anos, variando de 18 a 38 anos. Destes, 11 eram do sexo feminino e 8 do sexo masculino. Durante o período do estudo, cada participante compareceu no laboratório, com intervalo de no mínimo 1 semana, durante 6 sessões.

DISTRIBUIÇÃO POR SEXO

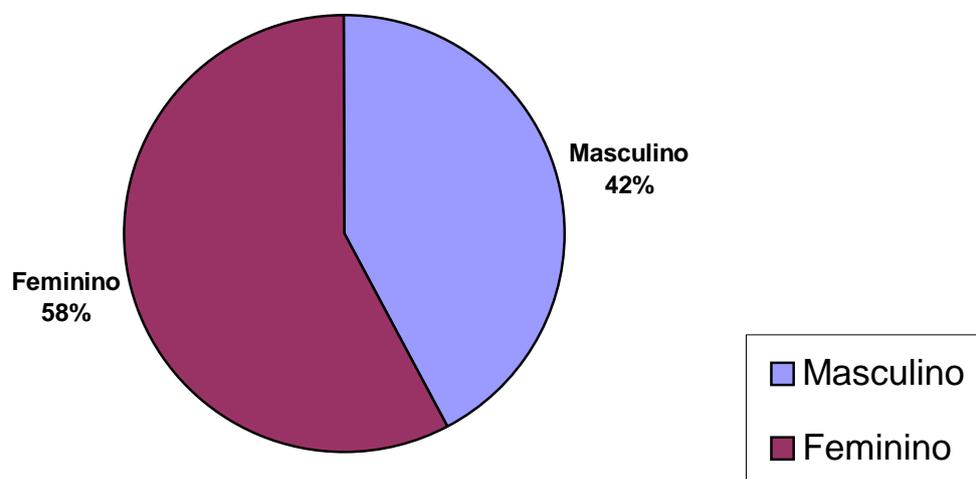
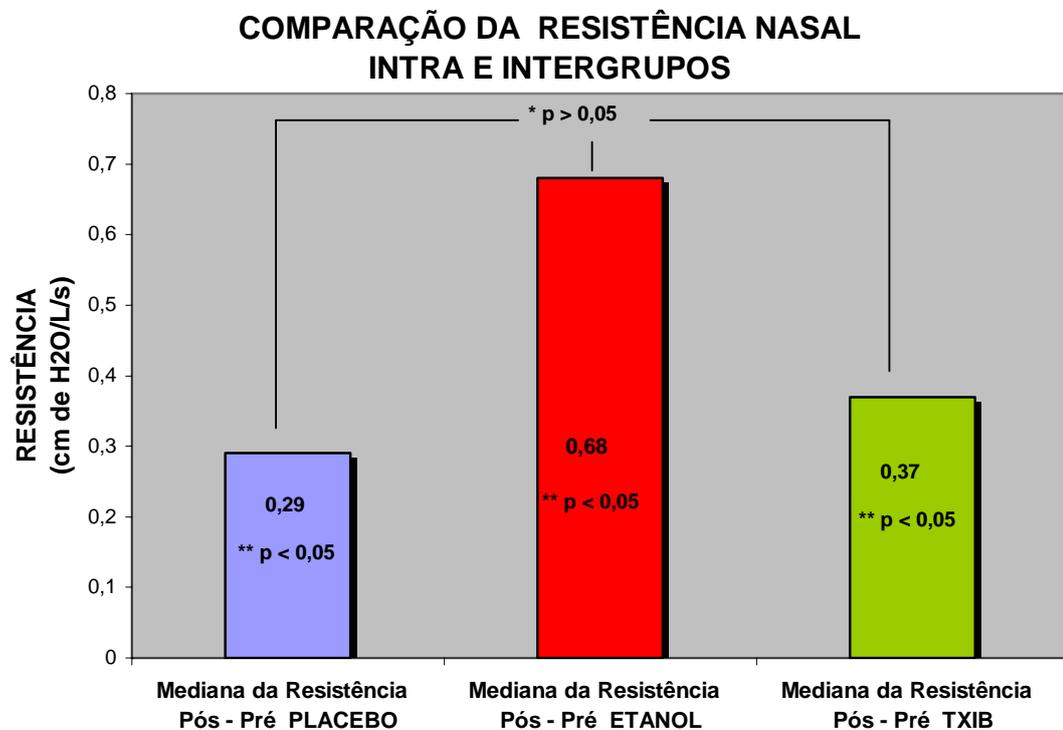


Figura 9. Distribuição dos indivíduos por sexo.

Resistência Nasal

Ao comparar-se a Resistência nasal antes e depois, no grupo placebo, foi encontrado um aumento estatisticamente significativo ($p = 0,004$). O mesmo ocorreu nos indivíduos quando expostos ao etanol ($p = 0,001$) e ao TXIB ($p = 0,04$). Quando comparou-se as resistências nasais antes da exposição entre os três grupos, não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,605$). Similarmente, analisando as diferenças de resistência antes e depois, entre os três grupos, não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,473$). Os resultados estão sumarizados no gráfico 1.



*

$p > 0,05$, através do Teste de Kruskal-Wallis.

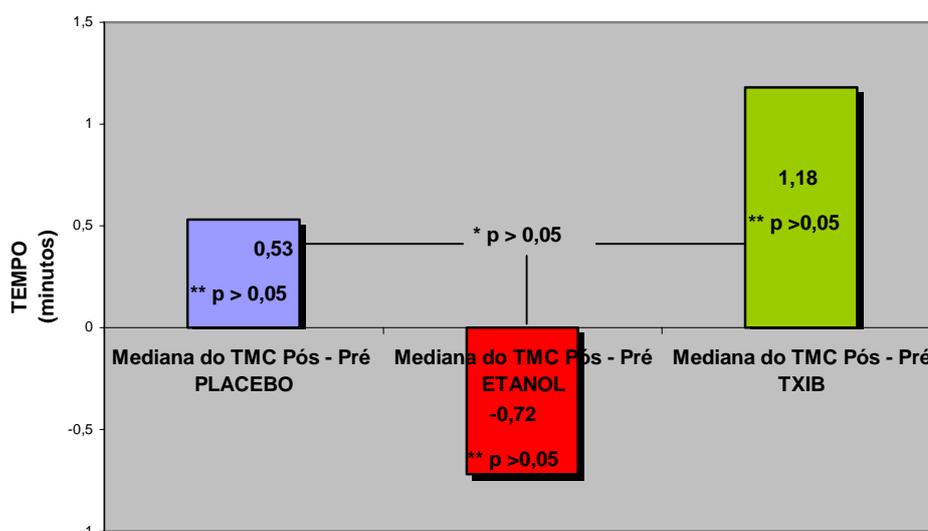
** $p < 0,05$, através do Teste de Wilcoxon.

Gráfico 1. Comparação da Resistência Nasal Antes e Depois nos Grupos de Exposição.

Transporte Mucociliar

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre o tempo de transporte mucociliar antes e depois, no grupo placebo, apesar de ter aumentado ($p= 0,286$). No grupo etanol, houve diminuição do tempo de transporte mucociliar, porém sem significância estatística ($p= 0,344$). No grupo TXIB, houve aumento não significativo do tempo ($p= 0,398$). Ao transformarmos os valores para logarítimo, não houve modificação dos resultados. Quando comparou-se os três grupos, não houve diferença estatisticamente significativa entre o tempo de transporte mucociliar antes da exposição ($p= 0,906$). Similarmente, ao analisarmos as diferenças de tempo do transporte mucociliar antes e depois da exposição, nos três grupos, não houve diferença significativa ($p= 0,330$). Os resultados estão sumarizados no gráfico 2

COMPARAÇÃO DO TMC INTRA E INTERGRUPOS



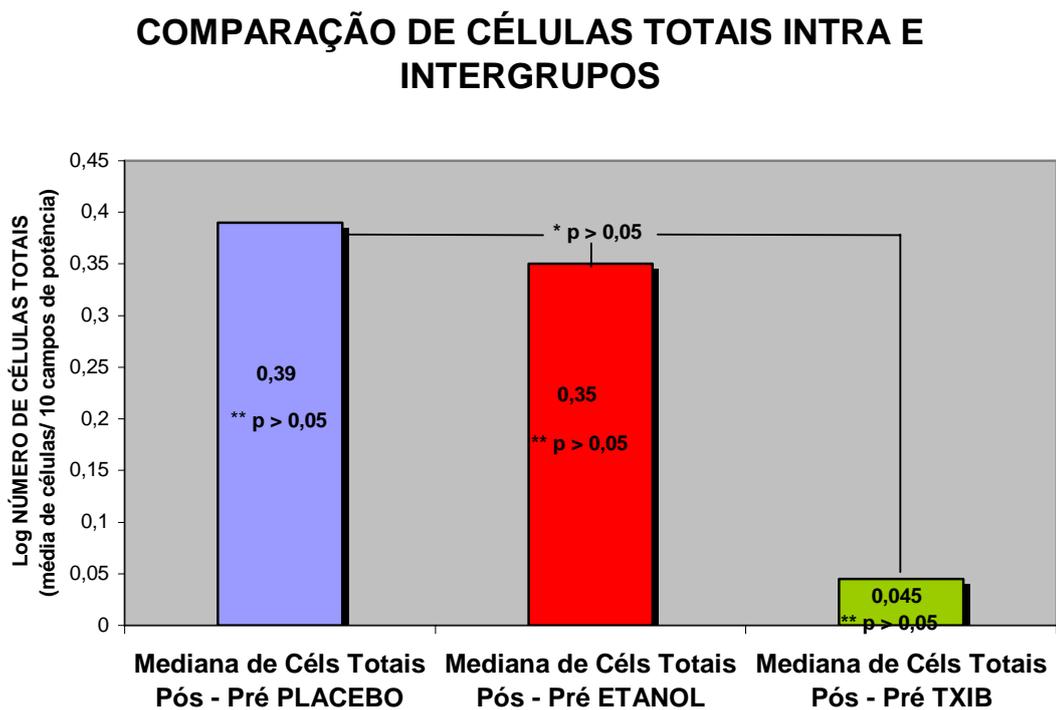
* $p > 0,05$, através do Teste de Kruskal-Wallis.

** $p > 0,05$, através do Teste de Wilcoxon.

Gráfico 2. Comparação do Tempo de Transporte Antes e Depois nos Grupos de Exposição.

Células Totais

Na análise do número de células totais antes e depois, no grupo placebo, houve aumento do número de células, porém sem significância estatística ($p= 0,551$). No grupo etanol, houve aumento no número de células totais não estatisticamente significativo ($p= 0,245$). Da mesma forma, no grupo TXIB, houve um aumento no número de células totais, sem significância estatística ($p= 0,379$). Quando comparou-se o número de células totais antes da exposição entre os três grupos, não houve diferença significativa ($p= 0,705$). Similarmente, ao analisarmos as diferenças de número de células totais antes e depois entre os três grupos, não houve diferença estatisticamente significativa ($p= 0,941$). Os resultados estão sumarizados nos gráfico 3.



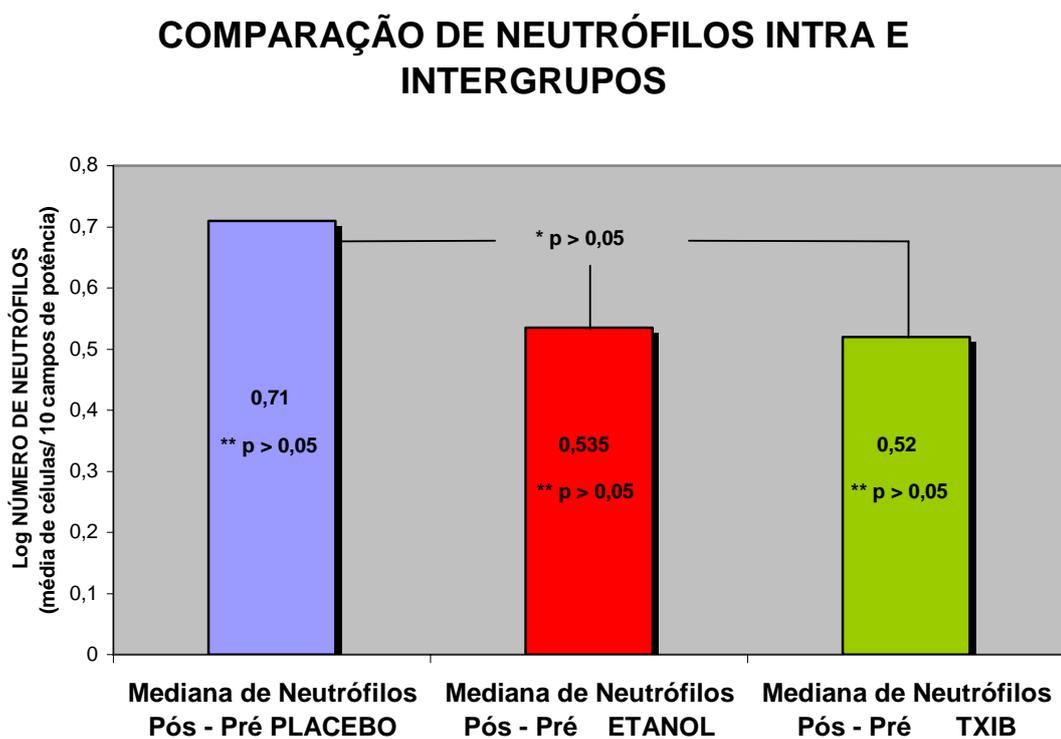
* $p > 0,05$, através do Teste de Kruskal-Wallis.

** $p > 0,05$, através do Teste de Wilcoxon.

Gráfico 3. Comparação de Células Totais Antes e Depois nos Grupos de Exposição.

Neutrófilos

Na análise do número de neutrófilos antes e depois, no grupo placebo, etanol e TXIB, houve aumento do número, porém sem significância estatística ($p= 0,140$; $p= 0,233$ e $p= 0,124$; respectivamente). Quando comparou-se o número de neutrófilos antes da exposição entre os três grupos, não houve diferença significativa ($p= 0,265$). Similarmente, ao analisarmos as diferenças entre o número de neutrófilos antes e depois entre os três grupos, não houve diferença estatisticamente significativa ($p= 0,684$). Os resultados estão sumarizados no gráfico 4.



* $p > 0,05$, através do Teste de Kruskal-Wallis.

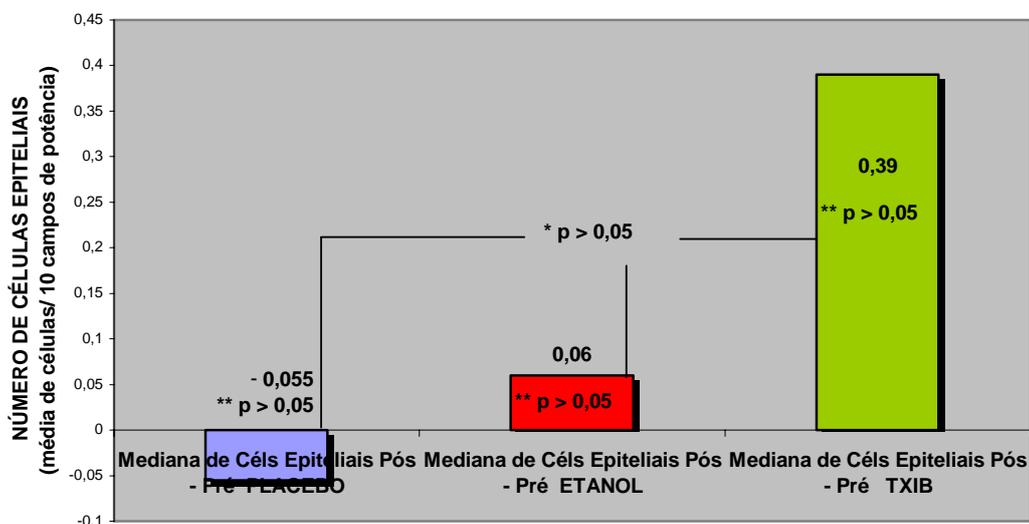
** $p > 0,05$, através do Teste de Wilcoxon.

Gráfico 4. Comparação de Neutrófilos Antes e Depois nos Grupos de Exposição.

Células Epiteliais

Na análise do número de células epiteliais antes e depois, no grupo placebo, não houve diferença estatisticamente significativa, apesar de ter diminuído ($p= 0,875$). No grupo etanol, houve aumento não significativo ($p= 0,205$). No grupo TXIB, também houve aumento do número de células epiteliais, não significativo, porém com forte tendência ($p= 0,065$). Quando comparou-se o número de células epiteliais antes da exposição entre os três grupos, não houve diferença significativa ($p= 0,300$). Similarmente, ao analisarmos as diferenças de número de células epiteliais antes e depois entre os três grupos, não houve diferença estatisticamente significativa ($p= 0,237$). Os resultados estão sumarizados no gráfico 5.

COMPARAÇÃO DE CÉLULAS EPITELIAIS INTRA E INTERGRUPOS



* $p > 0,05$, através do Teste de Kruskal-Wallis.

** $p > 0,05$, através do Teste de Wilcoxon.

Gráfico 5. Comparação de Células Epiteliais Antes e Depois nos Grupos de Exposição.

Os resultados de todos os Testes Estatísticos realizados estão sumarizados nas tabelas 2, 3 e 4.

Tabela 2. Comparação Basal entre Exames de Função Nasal e Exposições.
(Intergrupos)

Exames	Exposição	p*
Resistência Nasal	Placebo	
	Etanol	0,605
	TXIB	
Transporte Mucociliar	Placebo	
	Etanol	0,906
	TXIB	
Células Totais	Placebo	
	Etanol	0,705
	TXIB	
Neutrófilos	Placebo	
	Etanol	0,265
	TXIB	
Células Epiteliais	Placebo	
	Etanol	0,300
	TXIB	

* p > 0,05

Teste de Kruskal-Wallis

Tabela 3. Comparação entre Exames de Função Nasal e Pré e Pós Exposições
(Intragrupos)

Exames	Exposição	p*
Resistência Nasal	Placebo	0,004 *
	Etanol	0,001 *
	TXIB	0,04 *
Transporte Mucociliar	Placebo	0,286
	Etanol	0,344
	TXIB	0,39
Células Totais	Placebo	0,551
	Etanol	0,245
	TXIB	0,379
Neutrófilos	Placebo	0,140
	Etanol	0,233
	TXIB	0,124
Células Epiteliais	Placebo	0,875
	Etanol	0,205
	TXIB	0,065

* p < 0,05

Teste de Wilcoxon

Tabela 4. Comparação da Diferença nos Exames de Função Nasal e Exposições.
(Intergrupos)

Exames	Exposição	p*
Resistência Nasal	Placebo	
	Etanol	0,473
	TXIB	
Transporte Mucociliar	Placebo	
	Etanol	0,330
	TXIB	
Células Totais	Placebo	
	Etanol	0,941
	TXIB	
Neutrófilos	Placebo	
	Etanol	0,684
	TXIB	
Células Epiteliais	Placebo	
	Etanol	0,237
	TXIB	

* p > 0,05

Teste de Kruskal-Wallis

DISCUSSÃO

A importância de se estudar os efeitos de substâncias potencialmente deletérias para o nosso organismo, em locais fechados, tem recebido maior atenção nos últimos anos. O ser humano contemporâneo passa grande parte do dia em ambientes fechados e a qualidade do ar repercute no seu bem-estar e também poderá influenciar sua saúde.

Assim surgiu o termo Síndrome do Prédio Doente, pois um grande número de indivíduos apresenta uma série de sintomas físicos relacionados ao ambiente de trabalho. Apesar de um grande número de investigações, artigos científicos e conferências, pouco tem sido realmente provado sobre as causas da SPD. Conseqüentemente, devemos progredir no conhecimento e na identificação das substâncias potencialmente relacionadas com o desenvolvimento da SPD, a fim de se evitarem os seus efeitos nocivos.

A respiração pelo nariz é vital e representa uma função bem mais complexa do que apenas uma passagem da via aérea superior para a inferior. O nariz evoluiu anatômica e fisiologicamente para um sistema completo de defesa e condicionamento do ar que vai penetrar nas vias aéreas inferiores.

A conexão entre a via aérea superior e inferior tem sido postulada há quase 2000 anos. Galeno hipotetizou que doenças nasosinusais poderiam causar alterações pulmonares através de uma ligação anatômica direta ⁶⁰. Embora esta conexão direta não exista, pois é bloqueada pela glote, interrelações mais sutis estão presentes. Leonardo da Vinci, um gênio das artes e ciência, comentou que “poeira causa danos” (*polvere fa danno*), evidentemente referindo-se a seus achados em exames *pos mortem*. As vias aéreas superiores e inferiores estão relacionadas anatomicamente, fisiologicamente e imunologicamente. Estudos epidemiológicos oferecem fortes evidências de alterações associadas. Por exemplo, Lehmann, conforme descrito no livro de Proctor e Andersen ², comparou a capacidade do nariz para agir como um filtro para poeira em trabalhadores de minas, com ou sem silicose avançada. Aqueles com melhor filtragem nasal pareciam estar mais livres da doença. Em outro estudo, de Ponikau et al ⁶⁶, onde avaliou-se os achados histopatológicos de pacientes com rinosinusite crônica foram encontradas as mesmas alterações presentes em pacientes com asma. Estes achados, associados a coexistência clínica de ambas as doenças em mais de

50 % dos casos, sugerem que rinosinusite crônica e asma são manifestações regionais do mesmo processo patológico das vias aéreas, segundo os autores.

Apesar destas evidências, o estudo das doenças ocupacionais ainda está em seu início, com seu crescimento impulsionado pelas inúmeras substâncias e partículas presentes no ar, e pela capacidade dos investigadores em poder medir as que podem afetar a saúde dos trabalhadores.

Poluentes presentes no ar inalado podem afetar o organismo localmente no trato respiratório e, se houver absorção, podem também atingir outros órgãos. No trato respiratório, o impacto é maior na sua porção proximal (cavidades nasais), onde é iniciado o processo de transformação do ar inalado. Como o nariz representa a primeira área exposta aos contaminantes ambientais e a histologia da mucosa nasal é similar à da mucosa das vias aéreas inferiores, processos inflamatórios nas cavidades nasais podem refletir ou afetar àqueles nas vias aéreas inferiores. Além disso, aproximadamente 85 % dos adultos normais são respiradores nasais. Assim, uma resposta inflamatória vista no nariz pode ser um sinal de alerta de inflamação nas vias aéreas inferiores.

O presente estudo foi planejado para avaliar as alterações nasais agudas, através da análise de exames da função nasal, em indivíduos expostos ao TXIB (2,2,4-trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato), um material com alto peso molecular (286,41 da) e baixa pressão de vapor (0,006 mmHg à 23° C), que fica no limite superior da categoria dos compostos orgânicos voláteis (COVs). Comercialmente, o TXIB é comumente utilizado como um plastificante, podendo aparecer em vinil, uretanos e vários outros polímeros para inclusão em assoalhos de vinil, papel de parede e produtos de couro artificiais, com concentrações de até 15 % v/v, e que frequentemente reveste os edifícios e escritórios. Para comparação de resultados foi escolhido como controle positivo o etanol, um composto orgânico volátil que mesmo em baixas concentrações é irritante para os olhos e o trato respiratório superior.

O número de estudos nesta área é pequeno e devido ao grande número de fatores envolvidos, é muito difícil estabelecer uma relação de causa-efeito entre fatores ambientais e saúde humana. Nosso conhecimento neste campo deve avançar, tendo em vista a quantidade de recursos econômicos dispendida na construção e reforma de casas e edifícios, e aos possíveis efeitos nocivos à saúde, isto é, o surgimento da SPD.

A emissão de substâncias químicas pode causar irritação aos olhos e membranas mucosas, mesmo em baixas concentrações. Em adição à fumaça do cigarro, poluentes de ambientes fechados tais como formaldeído, cádmio, amônia ou íons sulfatos, têm demonstrado alterar a função das vias aéreas superiores⁶¹. Entre os possíveis efeitos deletérios na mucosa nasal de substâncias inaladas, encontramos a mudança de resistência nasal, alteração de transporte mucociliar e as mudanças na celularidade nasal.

Em geral, estudos de exposição aguda permitem extrapolação de dados experimentais somente para efeitos na saúde que são induzidos por exposições agudas a fatores ambientais. Em estudos humanos, a duração da exposição e a toxicidade dos constituintes são limitados por razões éticas, e a extrapolação para efeitos na saúde decorrente de fatores ambientais e ocupacionais é problemática.

É importante que se discutam algumas limitações da presente investigação. Em primeiro lugar, o número pequeno de indivíduos estudados pode ter sido inadequado para conferir poder estatístico suficiente para se demonstrarem diferenças na função nasal, que muitas vezes são sutis. Entretanto, apesar de 19 indivíduos parecer ser um número pequeno, deve ser lembrado que o estudo foi cruzado (“cross-over”), isto é, cada indivíduo foi exposto às três substâncias estudadas, o que equivale a um grupo de 57 indivíduos separados em três grupos de exposição. Este delineamento facilita a execução de estudos com voluntários, pois exige um número menor de participantes. Porém existe o risco de um efeito residual da exposição anterior. Este risco foi controlado através de um intervalo entre as exposições, de uma semana (“wash out”).

Também é importante ressaltar que os resultados obtidos não demonstraram tendências (valores próximos do nível de significância escolhido), a exceção do número de células epiteliais no grupo TXIB, o que diminui a possibilidade de se mostrarem resultados estatisticamente significativos se fosse estudado um número maior de indivíduos. E, mesmo se fossem demonstrados com um grande número de participantes, devemos lembrar que o impacto clínico dos achados pode ficar reduzido nestas condições.

A impossibilidade de extrapolação de resultados para outras populações é outro aspecto a ser considerado, pois os indivíduos foram selecionados segundo critérios de exclusão, constituindo-se de pessoas jovens e saudáveis. Conseqüentemente, não são

resultados válidos para idosos, crianças e outros subgrupos suscetíveis, como por exemplo pacientes sintomáticos procurando assistência médica.

Também a temporalidade é outro fator importante, pois as avaliações foram realizadas imediatamente após a exposição, por conveniência, e as alterações nasais podem ocorrer horas ou, talvez, dias após a exposição. Não menos importante é o efeito cumulativo de dose que as substâncias químicas podem exercer no nariz, não sendo evidenciado em exposições isoladas a tais agentes. A entrada em um ambiente insalubre uma única vez pode não manifestar alteração na função nasal. Entretanto o contínuo contato e trabalho em tal ambiente pode, a longo prazo, provocar mudanças nasais que não são evidenciadas com este modelo de estudo.

Apesar destas limitações, podemos analisar algumas observações em relação à exposição aguda ao TXIB, etanol e placebo, na função nasal.

As variáveis primárias de análise neste estudo foram a resistência nasal, o transporte mucociliar e a celularidade nasal.

As mudanças espontâneas recíprocas na resistência nasal são causadas pela congestão e descongestão dos sinusóides venosos revestindo a mucosa nasal. Normalmente esta alternância de resistência entre as duas cavidades não é percebida, pois a resistência nasal total permanece relativamente constante, tendo um coeficiente de variação menor que 15% durante um período de 6 horas⁴⁰. Isto é importante na medida em que, ao analisarmos os efeitos da exposição a uma determinada substância, não deve ser considerado a variação em apenas uma cavidade nasal. Assim, no presente estudo, calculou-se a resistência nasal total, medida através da rinomanometria anterior. Esta, permite a medição simultânea do fluxo nasal e pressão, desde as narinas até a nasofaringe. A exposição nasal ao TXIB e etanol resultou em aumento significativo da resistência nasal total ($p < 0,05$). Entretanto, também verificou-se aumento na resistência no grupo placebo ($p < 0,05$). Conseqüentemente, a exposição aguda ao TXIB e etanol é improvável de causar obstrução nasal imediata em indivíduos jovens e saudáveis, pois quando se analisou a diferença antes e após a exposição entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Pode-se especular que a diminuição na permeabilidade nasal seja decorrente de inflamação nasal, resultante tanto do efeito tóxico das duas substâncias ativas como do edema mucoso

compensatório ao fluxo de ar aumentado durante a exposição, o que explicaria o resultado visto no grupo placebo.

Em adição à resistência nasal, o efeito sobre o transporte mucociliar foi verificado. O transporte mucociliar tem um papel vital na defesa dos tratos respiratórios superiores e inferiores. Ele representa a primeira barreira defensiva contra insultos biológicos e físicos nas fossas nasais, seios paranasais e trato respiratório inferior. Realiza suas funções através da absorção, neutralização e eliminação de poluentes inalados, favorecendo a eliminação de partículas com diâmetro entre 0,5 e 5 μm ^{15,16}. O transporte mucociliar é um fenômeno de natureza complexa por causa dos vários componentes envolvidos, sendo influenciado pela atividade ciliar e pelas propriedades viscoelásticas do muco nasal. A idade também altera os tempos de transporte. Conforme Ho e colaboradores²⁵, que avaliaram o efeito da idade no transporte mucociliar, existe um aumento estatisticamente significativo no tempo do teste da sacarina com o aumento da idade, sendo que o ponto de corte é a idade de 40 anos. No presente estudo, os indivíduos estudados não ultrapassaram a idade de 40 anos e outros fatores que potencialmente poderiam interferir nos resultados, como fumo e doenças nasais, foram controlados durante a seleção dos indivíduos.

A inalação de substâncias químicas voláteis e parcialmente voláteis encontradas no ambiente pode danificar o trato respiratório após absorção. Efeitos tóxicos locais no epitélio mucoso têm sido implicados na patofisiologia dos distúrbios do sistema de transporte mucociliar. Schäfer e colaboradores¹⁵ testaram os efeitos *in vivo* e *in vitro* da exposição a ozônio e formaldeído no transporte mucociliar, e verificaram que o ozônio em diferentes concentrações não afetou o tempo de transporte. Entretanto, o formaldeído em altas concentrações (5000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) e por tempo prolongado (2 horas) diminuiu significativamente a frequência de batimento ciliar (67,1%) *in vitro* (p<0,01).

Em contraste, no estudo conduzido por Riechelmann e colaboradores⁶², para avaliar os efeitos de partículas de baixa toxicidade (carbonato de cálcio com diâmetro aerodinâmico médio de 15 μm) na função nasal, foi evidenciado uma diminuição do tempo de transporte de sacarina dose-dependente (p=0,02), sugerindo uma ativação compensatória do sistema de transporte de muco. Existem dois possíveis mecanismos para fundamentar as evidências observadas de um efeito de aceleração no transporte mucociliar: aumento auto-regulado da frequência de batimento ciliar em resposta a um aumento na produção de muco

e na viscosidade do fluido de revestimento epitelial ⁶³, e ativação, mediada pela taquicinina, do transporte mucociliar, como consequência da irritação mucosa ⁶⁴.

No presente estudo, a análise intragrupos antes e após a exposição não demonstrou alterações no tempo de transporte estatisticamente significativas. Nos grupos placebo e TXIB, houve aumento no tempo. Entretanto, no grupo etanol houve diminuição. Similarmente, na comparação entre os grupos, em relação a diferença do tempo de transporte mucociliar, também não se evidenciaram alterações significativas. Como alguns estudos mais recentes apontam para um tempo maior nos indivíduos com cavidade nasal permeável, esperaríamos uma diminuição nos tempos dos três grupos, tendo em vista uma resistência nasal aumentada verificada neste estudo. Entretanto, nossos dados não corroboraram estas evidências. Estas diferenças verificadas podem ser explicadas pelos mecanismos discutidos anteriormente.

É importante também salientar que neste estudo foi medido o transporte mucociliar em apenas uma cavidade nasal, o que pode variar em estudos com exposições prolongadas, pois o ciclo nasal apresenta mudanças recíprocas que ocorrem a cada 30 minutos até 6 horas. Assim, poderíamos estar analisando os dados em um lado mais permeável ou congesto naquele momento do ciclo, o que pode ter interferido nas análises. No entanto, a escolha do lado onde foi colocada a partícula de sacarina, antes e após a exposição, foi aleatória, minimizando esta possibilidade. Com base nos dados, pode-se assumir que provavelmente a exposição nasal aguda ao TXIB, não produz alteração imediata significativa no tempo de transporte mucociliar.

Por último, foi analisado o efeito das exposições na celularidade nasal. A lavagem nasal pode detectar alterações celulares nas secreções nasais e fornecer informação valiosa em relação à patofisiologia. Neste estudo, verificou-se aumento no número de células totais, após a exposição, em todos os grupos avaliados, embora sem significância estatística. Similarmente, o número de neutrófilos na lavagem nasal, após a exposição, aumentou nos três grupos estudados, porém sem diferença estatisticamente significativa. Quando compararam-se os três grupos em relação a diferença antes e após a exposição, também não se evidenciou alteração estatisticamente significativa em relação ao número de células totais e neutrófilos entre eles. Podemos hipotetizar que estes resultados, diferentemente de um grande número de estudos que demonstraram aumento de polimorfonucleares na secreção

nasal, não conseguiram evidenciar diferenças devido ao fato de que o influxo de células inflamatórias na mucosa nasal não é imediato, levando algumas horas até se observar alterações na celularidade, ou decorra de um efeito cumulativo, o que não se observa em exposições isoladas.

Ao analisarmos o número de células epiteliais, houve aumento nos indivíduos expostos ao TXIB e etanol, e diminuição no grupo placebo. Esta diferença não foi estatisticamente significativa, quando os grupos foram comparados antes da exposição. Quando analisados comparativamente em relação a diferença antes e após a exposição, também não se evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os três grupos. Cabe salientar que, quando analisado antes e depois da exposição (intragrupo), o grupo TXIB demonstrou um aumento de células epiteliais com forte tendência estatística ($p=0,065$). Conseqüentemente, o número de células epiteliais aumenta nos indivíduos expostos ao etanol e provavelmente também aumenta significativamente em indivíduos expostos ao TXIB, porém não tendo atingido significância estatística pelo reduzido tamanho amostral.

Como mencionado anteriormente, a área de contato inicial das toxinas inaladas, com o corpo humano, é a mucosa nasal. Vários estágios diferentes de modificação celular, decorrentes de diferentes níveis de exposição, podem ser encontrados⁶⁵. Alterações degenerativas são desencadeadas e inflamação, seguida por reparo, pode ser detectada. Em exposições progressivas, mecanismos adaptativos ou de defesa podem ser encontrados, tais como metaplasia ou hiperplasia das células globosas. Uma graduação da severidade da exposição a irritantes pode ser avaliada. Um dos primeiros efeitos vistos é a perda de cílios, com mínima alteração das células epiteliais adjacentes. O passo seguinte é teorizado como degeneração das células epiteliais, separação celular e exfoliação. No início, as membranas basais permanecem intactas, mas lesões mais severas podem levar à ulceração. Todas estas alterações podem ser reparadas se a exposição não é repetida, e então refaz-se o epitélio respiratório normal. Com a progressão da exposição, o epitélio respiratório é substituído por epitélio escamoso, o qual presume-se ser mais resistente a diferentes provocações. Também sabe-se que exposições repetidas levam a hiperplasia das células globosas. Assim, como detectado no presente estudo, podemos observar que, inicialmente, a exposição aguda ao TXIB e ao etanol leva a um aumento imediato no número de células epiteliais na secreção nasal.

Em resumo, a análise da celularidade nasal, realizada através de lavagem nasal, apresenta-se como uma medida objetiva da função nasal com maior sensibilidade para demonstrar alterações em indivíduos expostos ao TXIB, sendo que o número de células epiteliais altera-se imediatamente após a exposição.

Por fim, apesar deste estudo não ter demonstrado efeitos significativos na função nasal de indivíduos expostos ao TXIB, não devemos esquecer que isto não é um aval de segurança para a utilização desta substância, pois este é um estudo que apresenta uma série de peculiaridades como a escolha de indivíduos jovens e saudáveis, exposição aguda e avaliação imediata, entre outros. Devemos continuar aperfeiçoando as técnicas de avaliação e modelos de pesquisa a fim de se definir definitivamente as substâncias envolvidas na Síndrome do Prédio Doente.

CONCLUSÕES

A análise dos dados apresentados no presente estudo, permite que se estabeleçam as seguintes conclusões:

- A exposição aguda ao TXIB não causa alteração significativa da resistência nasal total imediatamente.
- A exposição aguda ao TXIB não causa alteração significativa no tempo de transporte mucociliar imediatamente.
- O número de células totais e neutrófilos não aumenta significativamente, imediatamente após a exposição aguda ao TXIB.
- Há uma tendência ao aumento do número de células epiteliais imediatamente após exposição aguda ao TXIB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Thoracic Society. What Constitutes an Adverse Health Effect of Air Pollution? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161(2): 665-673.
2. Proctor DF, Andersen IB. *The Nose: Upper Airway Physiology and The Atmospheric Environment.* New York: Elsevier Biomedical Press, 1982.
3. Chang CC, Ruhl RA, Halpern GM, Gershwin ME. The Sick Building Syndrome. I. Definition and Epidemiological Considerations. *J of Asthma* 1993; 30(4): 285-295
4. Bascom R. The Upper Respiratory Tract: Mucous Membrane Irritation. *Environ Health Perspec* 1991; 95: 39-44
5. Fisk WJ, Rosenfeld AH. Estimates of Improved Productivity and Health from Better Indoor Environments. *Indoor Air* 1997; 7: 158-172
6. Witek TJ – The Nose as a Target for Adverse Effects from The Environment: Applying Advances in Nasal Physiologic Measurements and Mechanisms. *Am J Ind Med.*, 24: 649-657, 1993.
7. Slavin RG. Sinopulmonary Relationships. *Am J of Otolaryngol* 1994; 15(1): 18-25
8. Gliklich RE, Metson R. Economic implications of chronic sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 118: 344-9).
9. Leynaert B, Bousquet J, Neukirch C, Liard R, Neukirch F. Perennial rhinitis: An independent risk factor for asthma in nonatopic subjects: results from the European Community Respiratory Health Survey. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104:301-4
10. Kostianinen, R. Volatile organic compounds in the indoor air of normal and sick houses. *Atmospheric Environment*, 29: 693-702, 1995
11. Hauser R, Garcia-Closas M, Kelsey KT, Christiani DC – Variability of Nasal Lavage Polymorphonuclear Leukocyte Counts in Unexposed Subjects: Its Potential Utility for Epidemiology. *Arch Environ Health.*, 49: 267-272, 1994.
12. Ballenger JJ. *Diseases of The Nose, Throat, Ear, Head and Neck.* Lea & Febiger, 1991.
13. Sleigh MA, Blake JR, Liron N. The propulsion of mucus by cilia. *Am Rev RespDis.* 1988; 137: 726-741.
14. Lale AM, Mason JDT, Jones NS: Mucociliary transport and its assessment: a review. *Clin Otolaryngol* 1998;23: 388–396.

15. Schäfer D, Brommer C, Riechelmann H, Mann JW. In vivo and in vitro effect of ozone and formaldehyde on human nasal mucociliary transport system. *Rhinology* 1999;37(2): 56-60
16. Passali D, Ferri R, Becchini G, Passali GC, Bellussi L. Alterations of nasal mucociliary transport in patients with hypertrophy of the inferior turbinates, deviations of the nasal septum and chronic sinusitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1999;256(7):335-7.
17. Mendez MVG, Garcia LG, Carpio JO, Juan MC. Test Funcional Nasal para la determinación del transporte mucociliar. *Acta Otorrinolaring Esp.* 1996; 47: 363-366.
18. Deitmer T, Erwing H. The influence of nasal obstruction on mucociliary transport. *Rhinology.* 1986; 24: 159-162.
19. Meseguer DH, Galvez EM. Transporte Mucociliar Nasal em Sujetos Normales. *An Otorrinolaringol Ibero Am.* 1994; 21(5): 503-519.
20. Armengot M, Barona R, Garín L, Basterra J. Influencia de La Edad, El Sexo y Los Ritmos Circadianos sobre El Aclariamento Mucociliar Nasal. *An Otorrinolaringol Ibero Am.* 1993; 20(6): 581-588
21. Passali D, Belussi L, Bianchi Ciampoli M, de Seta E. Experiences in the Determination of Nasal Mucociliary Transport Time. *Acta Otolaryngol (Stockh).* 1984; 97: 319-323.
22. Liote H, Zahm JM, Pierrot D, Puchelle E. Role of mucus and cilia in nasal mucociliary clearance in healthy subjects. *Am Rev Respir Dis.* 1989; 140(1): 132-136.
23. Hafner B, Davris S, Riechelmann H, Mann WJ, Amedee RG. Endonasal Sinus Surgery Improves Mucociliary Transport in Severe Chronic Sinusitis. *Am J Rhinol.* 1997; 11: 271-274.
24. Sakakura Y, Ukai K, Majima Y, Murai S, Harada T, Miyoshi Y. Nasal mucociliary clearance under various conditions. *Acta Otolaryngol.* 1983 Jul-Aug;96(1-2):167-73.
25. Ho JC, Chan KN, Hu WH, Lam WK, Zheng L, Tipoe GL, Sun J, Leung R, Tsang K. The Effect of Aging on Nasal Mucociliary Clearance, Beat Frequency, and Ultrastructure of Respiratory Cilia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(4): 983-988
26. Stanley PJ, Wilson R, Greenstone MA, MacWilliam L, Cole PJ. Effect of cigarette smoking on nasal mucociliary clearance and ciliary beat frequency. *Thorax.* 1986 Jul;41(7):519-23.
27. Monge JMA, Merhy AS. Prueba comparativa de función mucociliar nasal en sujetos sano, fumadores y no fumadores. *Acta Otorrinolaring Esp.* 1995; 46: 187-189.

28. Borum P, Holten A, Loekkegaard N. Depression of nasal mucociliary transport by an aerosol hair-spray. *Scand J Respir Dis*. 1979 Oct;60(5):253-9.
29. Holmstrom M, Wilhelmsson B. Respiratory symptoms and pathophysiological effects of occupational exposure to formaldehyde and wood dust. *Scand J Work Environ Health*. 1988 Oct;14(5):306-11.
30. Clement PA, Stoop AP, Kaufman L. The influence of formaldehyde on the nasal mucosa. *Rhinology*. 1987 Mar;25(1):29-34.
31. Ginzel A, Illum P. Nasal mucociliary clearance in patients with septal deviation. *Rhinology*. 1980 Dec;18(4):177-81.
32. Uslu H, Uslu C, Varoglu E, Demirci M, Seven B. Effects of septoplasty and septal deviation on nasal mucociliary clearance. *Int J Clin Pract*. 2004 Dec;58(12):1108-11.
33. Doyle WJ, van Cauwenberg PB. Relationship between nasal patency and clearance. *Rhinology* 1987; 25(3): 167-179.
34. Nuutinen J. Asymmetry in the Nasal Mucociliary Transport Rate. *Laryngoscope*. 1996; 106: 1424-1428.
35. Littlejohn MC, Stiernberg CM, Hokanson JA, Quinn FB, Bailey BJ. The relationship between the nasal cycle and mucociliary clearance. *Laryngoscope* 1992; 102(2): 117-120.
36. Soane RJ, Carney AS, Jones NS, Frier M, Perkins AC, Davis SS, Illum L. The effect of the nasal cycle on mucociliary clearance. *Clin Otolaryngol* 2001; 26: 9-15.
37. Flanagan P, Eccles R. Spontaneous Changes of Unilateral Nasal Airflow in Man. A Re-examination of the "Nasal Cycle". *Acta Otolaryngol (Stockh)*. 1997; 117: 590-595.
38. Stoksted P. Rhinometric measurements for determination of the nasal cycle. *Acta Otolaryngol (Stockh)*. 1953; Suppl 109: 159-175.
39. Heetderks DL. Observations on the reaction of normal nasal mucous membrane. *Am J Med Sci* 1927; 174: 231-244.
40. McCaffrey TV. *Rhinologic Diagnosis and Treatment*. Thieme Medical Publishers 1997
41. Kasperbauer JL, Kern EB. Nasal valve physiology: implications in nasal surgery. *Otolaryngol Clin North Am*. 1987 Nov;20(4):699-719
42. Hirschberg A, Roithmann R, Parikh S, Miljeteig H, Cole P. The airflow resistance profile of healthy nasal cavities. *Rhinology*. 1995; 33: 10-13.

43. Cole P, Roithmann R. The nasal valve and current technology. *Am J Rhinol.* 1996; 10: 23-26
44. Hilberg O, Jackson AC, Swift DL, Pedersen OF. Acoustic rhinometry: evaluation of nasal cavity geometry by acoustic reflection. *J Appl Physiol.* 1989; 66: 295-303
45. Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE. *Otolaryngology Head and Neck Surgery.* Mosby, Third Edition. 1998
46. Peden DB. The use of nasal lavage for objective measurement of irritant-induced nasal inflammation. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1996 Aug;24(1 Pt 2):S76-8.
47. Koren HS, Devlin RB – Human Upper Respiratory Tract Responses to Inhaled Pollutants with Emphasis on Nasal Lavage. *Ann New York Acad Sciences.* 1992, 641: 215-224.
48. Scheinmann P, Pedersen S, Warner JO, de Blic J – Methods for Assessment of Airways Inflammation: Paediatrics. *Eur Respir J.* 1998, 11: Suppl. 26: S53-S58.
49. Graham DE, Henderson F, House D – Neutrophil Influx Measured in Nasal Lavages of Humans Exposed to Ozone. *Arch Environ Health.* 1988, 43: 228-233.
50. Graham DE, Koren HS – Biomarkers of Inflammation in Ozone-exposed Humans. *Am Rev Respir Dis.* 1990, 142: 152-156.
51. Hauser R, Elreedy S, Hoppin JA, Christiani DC. Upper airway response in workers exposed to fuel oil ash: nasal lavage analysis. *Occup Environ Med.* 1995 May;52(5):353-8.
52. Granstrand P, French LN, Holmstrom M. Biomarkers of Nasal Inflammation in Wood-Surface Coating Industry Workers. *Am J Ind Med.* 1998; 33: 392-399.
53. Norbäck D, Walinder R, Wieslander G, Smedje G, Erwall C, Venge P. Indoor air pollutants in schools: nasal patency and biomarkers in nasal lavage. *Allergy.* 2000; 55: 163-170
54. Walinder R, Norback D, Wieslander G, Smedje G Erwall C, Venge P. Acoustic Rhinometry and Lavage Biomarkers in Relation to Some Building Characteristics in Swedish Schools. *Indoor Air.* 2001; 11: 2-9.
55. Walinder R, Wieslander G, Norback D, Wessen B, Venge P. Nasal Lavage Biomarkers: Effects of Water Damage and Microbial Growth in an Office Building. *Arch Environ Health.* 2001; 56: 30- 36
56. Steerenberg PA, Fischer PH, van Bree L, van Loveren H – Nasal Lavage Biomarkers in Air Pollution Epidemiology. *Arch Toxicology.* 1997, Suppl. 19: 207-216.

57. Steerenberg PA, Fischer PH, Meyling FG, Willighagen J, Geerse E, van de Vliet H, Ameling C, Boink ABTJ, Dormans JAMA, van Bree L, van Loveren H – Nasal Lavage as Tool for Health Effect Assessment of Photochemical Air Pollution. *Hum Exp Toxicology*. 1996, 15: 111-119.
58. Noah TL, Henderson FW, Henry MM, Peden DB, Devlin RB – Nasal Lavage Cytokines in Normal, Allergic and Asthmatic School-age Children. *Am J Respir Crit Care Med.*, 152: 1290-1296, 1995.
59. Caminha GP, Cain WS, Jallowayski. Lavagem Nasal como método de avaliação das cavidades nasais. *Rev Bras de Otorrinolaringologia* 2001, 67(6): 859-62.
60. Ferguson B, Davis AP. The link between upper and lower respiratory disease. *Curr Opin Otol Head Neck Surgery*. 2003; 11(3):192-195.
61. Koenig JQ. Indoor and outdoor pollutants and the upper respiratory tract. *J Allergy Clin Immunol*. 1988; 81: 1055-1059.
62. Riechelmann H, Rettinger G, Weschta M, Keck T, Deutsche T. Effects of Low-Toxicity Particulate Matter on Human Nasal Function. *J Occup Environ Med*. 2003; 45: 54-60
63. Johnson NT, Villalon M, Royce FH, Hard R, Verdugo P. Autoregulation of beat frequency in respiratory ciliated cells. Demonstration by viscous loading. *Am Rev Resp Dis*. 1991; 144: 1091-1094
64. Kondo M, Tamaoki J, Takizawa T. Neutral endopeptidase inhibitor potentiates the tachykinin-induced increase in ciliary beat frequency in rabbit trachea. *Am Rev Resp Dis*. 1990; 142: 403-406
65. Klimek L, Hundorf I, Delank KW, Hörmann K. Assessment of rhinological parameters for evaluating the effects of airborne irritants to the nasal epithelium. *Int Arch Occup Environ Health*. 2002; 75: 291-297
66. Ponikau JU, Sherris DA, Kephart GM, Kern EB, Gaffey TA, Tarara JE, Kita H. Features of airway remodeling and eosinophilic inflammation in chronic rhinosinusitis: is the histopathology similar to asthma? *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Nov;112(5):877-82

APÊNDICE

Os dados referentes as variáveis em estudo estão demonstrados nas tabelas abaixo.

Indivíduo	Resistência Pré *	Resistência Pós *	Diferença *
1	2,30	2,38	0,08
2	1,54	2,22	0,69
3	2,75	2,59	-0,16
4	1,98	2,16	0,17
5	3,87	4,36	0,49
6	2,40	3,00	0,60
7	2,74	3,01	0,28
8	1,93	2,60	0,66
9	2,05	2,49	0,45
10	1,75	2,27	0,53
11	3,18	3,41	0,23
12	2,43	2,47	0,04
13	2,89	3,69	0,81
14	1,97	2,24	0,27
15	2,16	2,27	0,11
16	3,30	3,59	0,29
17	2,45	3,87	1,42
18	3,04	3,63	0,59
19	9,78	3,83	-5,95

* cm de H₂O/L/s

Tabela 1. Resistência Nasal Antes e Depois no Grupo Placebo

Indivíduo	Resistência Pré *	Resistência Pós *	Diferença *
1	2,31	2,31	0,00
2	1,83	2,83	1,00
3	3,28	3,13	-0,15
4	2,24	1,83	-0,41
5	3,18	3,77	0,59
6	2,33	2,58	0,25
7	2,18	2,91	0,73
8	1,69	2,37	0,68
9	2,62	4,08	1,47
10	2,18	3,17	0,99
11	3,04	4,30	1,26
12	3,05	4,52	1,47
13	2,84	2,85	0,01
14	2,55	2,62	0,07
15	2,13	2,23	0,10
16	2,46	2,98	0,52
17	1,91	3,02	1,11
18	2,28	3,33	1,05
19	3,92	4,91	1,00

* cm de H₂O/L/s

Tabela 2. Resistência Nasal Antes e Depois no Grupo Etanol

Indivíduo	Resistência Pré *	Resistência Pós *	Diferença *
1	2,16	2,89	0,73
2	1,51	3,41	1,90
3	4,34	3,49	-0,85
4	1,89	1,91	0,02
5	4,32	4,85	0,52
6	2,33	2,13	-0,21
7	3,24	2,26	-0,98
8	2,43	2,80	0,37
9	3,08	2,84	-0,24
10	1,96	6,18	4,22
11	3,00	4,17	1,17
12	3,06	3,23	0,17
13	2,63	3,36	0,73
14	2,42	2,33	-0,09
15	2,50	2,24	-0,26
16	3,16	3,50	0,33
17	2,12	2,79	0,68
18	2,62	5,28	2,66
19	4,16	6,02	1,86

* cm de H₂O/L/s

Tabela 3. Resistência Nasal Antes e Depois no Grupo TXIB

Indivíduo	Tempo de TMC Pré *	Tempo de TMC Pós *	Diferença *
1	21,02	11,10	-9,92
2	15,67	16,40	0,73
3	9,20	17,15	7,95
4	6,72	8,87	2,15
5	7,67	11,33	3,67
6	18,13	35,50	17,37
7	11,92	10,95	-0,97
8	8,22	6,48	-1,73
9	8,25	11,38	3,13
10	8,53	12,53	4,00
11	9,93	10,02	0,08
12	11,40	11,93	0,53
13	11,50	11,12	-0,38
14	12,75	13,13	0,38
15	17,38	8,70	-8,68
16	9,50	12,50	3,00
17	7,75	6,13	-1,62
18	15,38	14,67	-0,72
19	8,25	9,60	1,35

* minutos

Tabela 4. Tempo de Transporte Mucociliar Antes e Depois no Grupo Placebo.

Indivíduo	Tempo de TMC Pré *	Tempo de TMC Pós*	Diferença *
1	18,87	11,67	-7,20
2	32,42	29,08	-3,33
3	7,58	10,17	2,58
4	6,75	3,15	-3,60
5	13,50	14,63	1,13
6	35,15	12,50	-22,65
7	11,72	6,58	-5,13
8	7,73	5,92	-1,82
9	8,83	7,53	-1,30
10	8,93	10,75	1,82
11	11,37	8,78	-2,58
12	8,50	7,80	-0,70
13	10,00	10,78	0,78
14	14,67	17,57	2,90
15	12,70	15,43	2,73
16	7,57	13,67	6,10
17	7,10	6,38	-0,72
18	11,45	12,02	0,57
19	6,17	5,00	-1,17

*** minutos**

Tabela 5. Tempo de Transporte Mucociliar Antes e Depois no Grupo Etanol.

Indivíduo	Tempo de TMC Pré *	Tempo de TMC Pós *	Diferença *
1	15,70	12,63	-3,07
2	13,22	24,67	11,45
3	13,17	6,70	-6,47
4	15,53	11,60	-3,93
5	7,32	12,18	4,87
6	13,97	22,38	8,42
7	6,70	8,17	1,47
8	8,65	6,22	-2,43
9	7,53	8,72	1,18
10	11,33	11,87	0,53
11	15,03	10,35	-4,68
12	9,72	10,00	0,28
13	8,00	9,33	1,33
14	11,73	28,77	17,03
15	15,40	6,75	-8,65
16	10,33	12,93	2,60
17	8,60	6,87	-1,73
18	17,40	21,58	4,18
19	5,17	15,83	10,67

*** minutos**

Tabela 6. Tempo de Transporte Mucociliar Antes e Depois no Grupo TXIB.

Indivíduo	Células Totais Pré *	Células Totais Pós *	Diferença *
1	5,98	5,08	-0,90
2	4,65	5,20	0,55
3	5,29	4,67	-0,61
4	4,95	5,34	0,39
5	4,40	5,15	0,76
6	4,79	5,27	0,48
7	5,03	5,36	0,33
8	4,68	4,24	-0,43
9	4,48	4,97	0,49
10	3,38	3,70	0,32
11			
12			
13	5,52	4,85	-0,67
14	5,39	4,86	-0,53
15	4,30	4,83	0,53
16	3,40	6,16	2,76
17			
18	4,24	4,72	0,48
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 7. Células Totais Antes e Depois no Grupo Placebo.

Indivíduo	Células Totais Pré *	Células Totais Pós *	Diferença *
1	5,94	6,38	0,44
2	4,18	4,60	0,43
3	4,95	5,33	0,38
4	5,20	5,76	0,56
5	5,67	5,53	-0,14
6	4,44	4,76	0,32
7	3,70	4,85	1,15
8	5,75	5,18	-0,56
9	5,13	4,57	-0,56
10	4,54	4,34	-0,20
11	4,30	4,97	0,67
12			
13	5,34	5,30	-0,04
14	5,02	4,95	-0,07
15			
16	6,07	5,43	-0,63
17	4,54	5,08	0,54
18	3,88	4,81	0,94
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 8. Células Totais Antes e Depois no Grupo Etanol.

Indivíduo	Células Totais Pré *	Células Totais Pós *	Diferença *
1	4,68	4,65	-0,02
2	5,38	5,15	-0,22
3	0,30	5,14	4,84
4	4,10	4,88	0,78
5	4,68	5,43	0,75
6	5,18	4,97	-0,22
7	4,24	4,30	0,05
8	4,78	5,05	0,27
9	0,30	4,70	4,40
10	4,18	3,67	-0,50
11	5,44	5,09	-0,36
12	4,93	5,01	0,08
13	5,81	5,81	0,01
14			
15			
16	5,47	4,40	-1,08
17	4,23	4,51	0,28
18	5,15	5,18	0,02
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 9. Células Totais Antes e Depois no Grupo TXIB

Indivíduo	Neutrófilos Pré *	Neutrófilos Pós *	Diferença *
1	5,87	4,97	-0,89
2	3,58	5,07	1,49
3	5,10	3,66	-1,43
4	4,40	5,24	0,84
5	4,24	4,84	0,60
6	0,00	5,11	5,11
7	4,03	5,30	1,27
8	3,97	3,33	-0,63
9	3,59	3,99	0,40
10	0,00	3,32	3,32
11			
12			
13	5,47	4,38	-1,09
14	4,50	4,63	0,13
15	3,19	4,02	0,82
16	3,29	6,10	2,81
17			
18			
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 10. Neutrófilos Antes e Depois no Grupo Placebo.

Indivíduo	Neutrófilos Pré *	Neutrófilos Pós *	Diferença *
1	5,83	6,35	0,51
2	3,53	4,09	0,56
3	4,62	5,20	0,59
4	4,71	5,47	0,77
5	5,42	5,08	-0,34
6	2,25	2,94	0,69
7	2,59	3,28	0,69
8	5,53	4,76	-0,76
9	4,73	4,29	-0,44
10	3,98	3,46	-0,52
11			
12			
13	5,47	4,38	-1,09
14	4,50	4,63	0,13
15	3,19	4,02	0,82
16	3,29	6,10	2,81
17			
18			
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 11. Neutrófilos Antes e Depois no Grupo Etanol.

Indivíduo	Neutrófilos Pré *	Neutrófilos Pós *	Diferença *
1	4,22	3,73	-0,49
2	0,00	5,11	5,11
3	0,00	4,92	4,92
4	3,28	4,69	1,41
5	3,79	4,90	1,10
6	4,73	4,72	0,00
7	2,62	3,05	0,43
8	4,64	0,00	-4,64
9	0,00	4,54	4,54
10	0,00	0,00	0,00
11	3,40	4,53	1,12
12			
13	5,77	5,71	-0,06
14			
15			
16	5,01	3,85	-1,17
17	3,07	3,63	0,56
18	4,42	4,94	0,52
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 12. Neutrófilos Antes e Depois no Grupo TXIB.

Indivíduo	Células Epiteliais Pré*	Células Epiteliais Pós*	Diferença *
1	5,34	4,42	-0,92
2	4,61	4,62	0,01
3	4,81	4,63	-0,19
4	4,79	4,67	-0,12
5	3,88	4,86	0,99
6	4,79	4,74	-0,05
7	4,99	4,43	-0,55
8	4,58	4,18	-0,40
9	4,42	4,92	0,50
10	3,38	3,32	-0,06
11			
12			
13	4,49	4,66	0,17
14	5,32	4,47	-0,85
15	4,26	4,76	0,50
16	2,55	4,96	2,41
17			
18			
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 13. Células Epiteliais Antes e Depois no Grupo Placebo.

Indivíduo	Células Epiteliais Pré*	Células Epiteliais Pós*	Diferença *
1	5,26	5,15	-0,10
2	4,02	4,44	0,42
3	4,69	4,75	0,06
4	5,03	5,44	0,42
5	5,31	5,34	0,03
6	4,44	4,75	0,32
7	3,66	4,83	1,17
8	5,34	4,97	-0,37
9	4,90	4,26	-0,64
10	4,20	3,81	-0,39
11	4,30	4,90	0,60
12			
13	4,97	5,03	0,06
14	4,85	4,81	-0,04
15			
16	5,17	5,12	-0,05
17	4,52	4,89	0,37
18	3,87	4,81	0,94
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 14. Células Epiteliais Antes e Depois no Grupo Etanol.

Indivíduo	Células Epiteliais Pré*	Células Epiteliais Pós*	Diferença *
1	4,19	4,59	0,39
2	0,00	4,10	4,10
3	0,00	4,58	4,58
4	4,01	4,40	0,40
5	4,62	5,27	0,66
6	4,99	4,60	-0,39
7	4,23	4,27	0,04
8	4,21	4,87	0,66
9	0,00	4,18	4,18
10	0,00	3,67	3,67
11	5,44	4,95	-0,49
12			
13	4,71	5,09	0,39
14			
15			
16	5,27	4,25	-1,02
17	4,18	4,45	0,27
18	5,06	4,70	-0,37
19			

*** Log da média do número de células/ 10 campos de potência**

Tabela 15. Células Epiteliais Antes e Depois no Grupo TXIB.