UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

JORGE NASSAR FILHO

Dosagem de óxido nítrico expirado pelas narinas de pacientes com rinossinusite crônica

RIBEIRÃO PRETO 2018

JORGE NASSAR FILHO

Dosagem de óxido nítrico expirado pelas narinas de pacientes com rinossinusite crônica

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Morfofisiologia de Estruturas Faciais.

Orientadora: Profa. Dra. Wilma T. Anselmo-Lima

RIBEIRÃO PRETO 2018 AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Nassar Filho, Jorge

Dosagem de óxido nítrico expirado pelas narinas de pacientes com rinossinusite crônica. / Jorge Nassar Filho; Orientadora, Wilma T. Anselmo-Lima. Ribeirão Preto. - 2018.

79p.: 11il.; 30 cm

Tese (Doutorado) - Programa de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço. Área de Concentração: Área de Concentração: Morfofisiologia de Estruturas Faciais. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

1. Rinossinusite crônica. 2. Óxido nítrico. 3. Dosagem. 4. Seios paranasais. 5. Expirado.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Aluno: Nassar Filho, Jorge

Título: Dosagem de óxido nítrico expirado pelas narinas de pacientes com

rinossinusite crônica.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Morfofisiologia de Estruturas Faciais

Aprovado em://	
Prof. Dr.	
Instituição:	
Prof. Dr	
Instituição:	
Assinatura:	
Instituição:	
Prof. Dr	
Instituição:	
Assinatura:	
Prof. Dr	
Instituição:	
A a a in a tura .	

Dedicatória

Dedico esta tese à minha esposa Stela, ao meu filho Leonardo e aos meus pais Jorge e Emília.

Agradecimentos

A DEUS, por ter a quem recorrer nas maiores tormentas e aflições, transformando a descrença em realizações.

À minha esposa Stela, pela cumplicidade e pelo companheirismo em mais um de tantos desafios que já enfretamos e superamos juntos nesses 28 anos.

Ao meu filho Leonardo, pois sua existência me proporciona a vontade de prosseguir.

Aos meus pais Jorge e Emília, por representarem a verdadeira presença do amor e da dedicação que Deus pôde me oferecer.

Aos meus irmãos, Valéria, Patrícia, Sumáira e Carlos, parceiros eternos desta caminhada.

À Prof. Dra. Wilma T. Anselmo Lima, por ser o meu maior exemplo de profissionalismo, capacidade técnica, científica, dedicação e sabedoria, sem nunca se desfazer da elegância moral e humana.

À Prof Dra Myriam de Isaac Lima, pela acolhida nesta casa e pela confiança depositada na minha capacidade.

Ao Prof. Dr. Eduardo Tanaka Massuda, pela assistência profissional e humana em momentos difíceis. Para o Professor Tanaka, a eterna gratidão e agradecimento de toda a minha família.

Aos docentes da Divisão de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, por permitirem a continuidade do meu aprendizado.

Aos médicos assistentes da Divisão de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, por compartilharem seus conhecimentos e sua sabedoria.

À Dra Andréia Ardevino e ao Dr Guilherme Buzatto, pela parceria e compreensão na realização dos nossos ambulatórios.

Aos médicos residentes da Divisão de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pelo apoio na execução deste estudo.

A toda equipe de enfermagem do Ambulatório de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. A participação de todos foi imprescindível na realização desta tese.

Às técnicas de laboratório de Bioquímica da Cirurgia Eperimental, Clarice Fleury Fina e Maria Cecília Jordan Gomes, pela disponibilidade e presteza na realização dos exames.

À secretária Maria Cecília Onofre, amiga de tantos anos, pelas suas lembranças, revisões, pelos conselhos e pelas orientações na formatação desta tese. A sua colaboração foi fundamental. Infinitos agradecimentos!

À técnica de laboratório e amiga Maria Rossato, por mais uma vez me auxiliar profissionalmente. Você sabe que é especial e insubstituível para todos nós. Sem a sua presença esta tese não seria executada. Muito obrigado!



Nassar Filho J. **Dosagem de óxido nítrico expirado pelas narinas de pacientes com rinossinusite crônica.** (Doutorado). Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2018.

Introdução: Várias controvérsias e diversos questionamentos existem sobre a fisiopatogenia e o melhor tratamento para a doença Rinossinusite Crônica (RSC). Alguns estudos apontam que a dosagem de Óxido Nítrico (ON) do ar expirado pelas narinas pode contribuir no diagnóstico e seguimento desta afecção. Objetivos: Determinar se há diferença na dosagem de ON expirado pelas narinas de pacientes com RSC e indivíduos sem RSC e estabelecer correlação entre os achados clínicos, exames complementares e a quantidade de ON encontrada nos pacientes. Casuística e Método: Estudo retrospectivo com 104 pacientes com RSC e 35 indivíduos sem RSC, atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, entre os anos de 2013 e 2016. Foram realizadas dosagens de ON do ar expirado pelas narinas dos pacientes e controles. Posteriormente, realizou-se correlação entre os achados clínicos e exames complementares dos pacientes e a quantidade de ON obtida. Resultados: As dosagens de ON nos pacientes com RSC foram significativamente menores em relação aos controles. Também se observou relação entre dosagem de ON e intensidade de sintomas, queixas clínicas, achados endoscópicos e tomográficos, e o número de seios acometidos, quando realizada a cirurgia. Conclusão: Diante dos resultados obtidos, o que mais chama atenção é a possibilidade de avaliação dos pacientes portadores de RSC com ou sem pólipo nasal por um método aqui padronizado, de fácil manuseio pelos técnicos e pacientes, de baixo custo, não invasivo e que permite também comparar resultados antes e após o tratamento.

Palavras-chave: Rinossinusite crônica. Óxido nítrico. Seios paranasais. Dosagem. Expirado.



Nassar Filho J. **Dosage of nitric oxide expired by the nostrils of patients with chronic rhinosinusitis.** (Thesis). Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2018.

Introduction: Chronic rhinosinusitis (CRS) is a disease of the upper respiratory tract with great questions regarding its clinical management. Nitric Oxide (NO) dosing by the air expiratory by the nostrils, can contribute to the diagnosis and follow-up of this affection. **Objectives:** To determine if there is a difference in the NO expiratory dose in the nostrils of people with CRS and people who do not have CRS, and to establish a clinical correlation between the findings and the amount of NO found in the patients. Casuistic and Method: Retrospective study conducted in 104 patients with CRS and 35 individuals without CRS at Hospital of Clínics of Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo. Between the years of 2013 and 2016. NO dosages were performed by expiratory air from the nostrils of people with and without CRS, and, later an analysis of the clinical findings of the patients with the amount of NO obtained was performed. Results: The NO dosages of patients with CRS were significantly lower in relation to those without CRS. We also found a relationship between the NO dosage, and the intensity of the symptoms, clinical complaints, endoscopic and tomographic findings, and the number of sinuses involved in the surgery. Conclusions: In view of the results obtained, what is most striking is the possibility of evaluating patients with CRS with or without PN, using a low-cost, noninvasive method that is easy to handle by technicians and patients, before and after treatment.

Keywords: Chronic rhinosinusitis. Nitric oxide. Sinuses. Dosage. Expiratory



Figura 1 -	Caixa de isopor com os dispositivos de extensão plásticos	37
Figura 2 -	Caixa de isopor com gelo e sal grosso com termômetro	38
Figura 3 -	Coleta do material e posicionamento das olivas nas narinas	38
Figura 4 -	Coleta do ar expirado pelas narinas	39
Figura 5 -	Presença do ar precipitado	39
Figura 6 -	Representação gráfica dos valores de ON exalado entre os dois grupos, pacientes e controle	44
Figura 7 -	Representação gráfica da dosagem de ON x pólipos	48
Figura 8 -	Representação gráfica da dosagem de ON x escala Lund-Mackay	50
Figura 9 -	Representação gráfica da dosagem de ON x escala Lund-Kennedy	51
Figura 10 -	Representação gráfica da dosagem de ON x número de seios comprometidos	52
Figura 11 -	Representação gráfica da dosagem de ON x seios afetados	53



Tabela 1 -	Idade: teste t para amostras independentes	.43
Tabela 2 -	Sexo: teste do X ²	.43
Tabela 3 -	Dosagem de ON: teste t para amostras independentes	.44
Tabela 4 -	Idade: Coeficiente de correlação de Pearson	.45
Tabela 5 -	Sexo: teste t para amostras independentes	.45
Tabela 6 -	Correlação dos sintomas x dosagem ON	.45
Tabela 7 -	Dosagem de ON x sintomas (Coeficiente de correlação de Pearson)	.46
Tabela 8 -	Comorbidades x dosagem de ON	.46
Tabela 9 -	Dosagem de ON x comorbidades	.47
Tabela 10 -	Correlação entre achados de exame físico x dosagem de ON	.47
Tabela 11-	Dosagem de ON x achados de exame físico	.49
Tabela 12 -	Lund-Mackay e Lund-Kennedy. (Coeficiente de correlação de Pearson)	.49
Tabela 13 -	Número de seios comprometidos x dosagem de ON. (Análise de Variância - ANOVA)	.51
Tabela 14 -	Coeficiente de correlação de Pearson	.53



AAS- Ácido Acetil Salisílico

Ca²+- Cálcio

DPOC- Doença pulmonar obstrutiva crônica

HCFMRP-USP- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão

Preto Universidade de São Paulo

HIV- Vírus da imunodeficiência humana

ON- Óxido nítrico

ONS- Óxido nítrico síntase

ONSN- Óxido nítrico síntase neuronal

ONSI- Óxido nítrico síntase induzida

ONSE- Óxido nítrico síntase endotelial

PAF- Fator ativador de plaquetas

PN- Pólipo nasal

RA- Rinite alérgica

RSC- Rinossinusite crônica

RSCcPN- Rinossinusite crônica com pólipo nasal

RSCsPN- Rinossinusite crônica sem pópilo nasal

SAOS- Síndrome da apneia obstrutiva do sono

SP- Seios paranansais

TC- Tomografia computadorizada

TCL- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	23
3. OBJETIVOS	32
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	
4.1. Aspectos éticos4.2. Casuística	
4.3. Sujeitos	
4.4. Critérios de exclusão	
4.5. Confecção do material	
4.6. Coleta do material	
4.7. Medidas do ON expirado	40
4.8. Análise estatística	41
5. RESULTADOS	42
6. DISCUSSÃO	54
7. CONCLUSÕES	61
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
9 ANEXOS	73



Presente no ar atmosférico, a molécula de óxido nítrico (ON) também é encontrada em diferentes pontos do organismo de mamíferos, e tal descoberta desperta interesse de várias áreas da biologia humana, com uma gama de pesquisas sobre suas possíveis atuações, assim como o que o aumento e a diminuição de suas concentrações podem provocar no ser humano. Por ser uma molécula extremamente lábil, com meia vida de 0,1-5 segundos, e com a presença de outras moléculas do meio aéreo (Curran, 1996), o ON possui ações diretas (em outras moléculas) e indiretas, dependentes dos componentes dele derivados (van't Hof et al., 2001; Costa; França; Silva, 2005).

Os componentes oxi-nitrogenados de importância biológica são encontrados em cinco estados de oxidação, representados por 13 moléculas diferentes, sendo o ON o composto de maior importância no aparelho respiratório. Alguns dos seus metabólitos, como o nitrito (NO²), produto da reação do NO com oxigênio molecular (O²) em fase aguosa, o nitrato (NO³) e o tri óxido de dinitrogênio (N²O³), são formados em PH ácido a partir do nitrito; e o peroxinitrito (ONOO) e o ácido peroxinitroso (OONOH) se formam a partir da reação com o radical superóxido (O²-), e são compostos que também exercem atividades biológicas importantes nas vias aéreas.

O ON é produzido a partir da ação de três formas conhecidas de enzimas, que catalisam a conversão do L-arginina (um aminoácido semi-essencial produzido no organismo) em L-citrulina, pela oxidação do nitrogênio guanidínico da primeira (Rosbe 1996), utilizando tetra-hidrobiopterina (BH⁴). adeninadinucleotídeo (FAD) e flavina-mononucleotídeo (FMN) como cofatores, além do NADPH e O² como cossubstratos. O ON endógeno é produzido por meio do processo de oxidação e desaminação do aminoácido L-arginina em citrulina e NO. Tal processo é catalisado por um sistema de enzimas conhecida por óxido nítrico síntase (ONS) (Samb et al., 2001; Liu et al., 2005).

Segundo Moncada, Palmer e Higgs (1991) e Adrie et al. (2001), três isoformas de ONS são descritas. Duas são constitutivas: a neuronal (ONSI ou nONS) e a endotelial (ONSIII ou ONSE), encontradas ancoradas na membrana plasmática e que produzem ON em pequena quantidade, em ritmo fisiológico, sendo dependentes de cálcio (Ca⁺⁺) e estimuladas via calmomodulina por bradicinina,

acetilcolina, histamina, leucotrienos e fator ativador de plaquetas (PAF). A terceira forma é a induzida (ONSII ou IONS), que age com independência da concentração de Ca⁺⁺ intracelular, produzindo quantidade centenas de vezes maiores de ON e com sua expressão já identificada em macrófagos, linfócitos, neutrófilos e outras células, sendo expressa no organismo mediante apropriada indução (citocinas inflamatórias, endotoxinas e toxinas bacterianas) (Flora Filho; Zylberstein, 2000; Ricciardolo et al., 2004).

NADPH
L-arginina------ N-hidroxi + L-arginina----- L-citrulina
$$Ca^{++} \qquad \text{ óxido nítrico (NO } \qquad O^2$$

O ON é um importante mensageiro intracelular nos mamíferos superiores, servindo como mediador celular para várias funções como vasodilatação, efeitos antivirais e bacteriostáticos e modulação da atividade mucociliar (Rolla, et al., 2005; Napolitano et al., 2007). A expressão do ONS induzível (ONS²) foi demonstrada in vitro em diversas células (Kobzik et al., 1993; Förstermann; Kleinert, 1995; Furukawa et al., 1996).

O ON está presente no ar expirado pelos humanos (Gaston et al., 1994). Em indivíduos saudáveis, o ON encontrado no ar expirado é derivado da via aérea superior, com pequena contribuição do trato respiratório inferior, podendo ser usado como marcador de patologias do trato respiratório (Hariri et al., 2015). A substância do ON é originada do epitélio dos seios paranasais (SP) e produzido na cavidade nasal e nos SP por eosinófilos e células do epitélio respiratório em resposta à inflamação (Arnal et al., 1999; Wang et al., 2017). O ON derivado dos SP caminha para a cavidade nasal através dos seus óstios (Thébaud et al., 1999; Yan et al., 2017), contribuindo para aumentar o nível do ON encontrado no ar expirado (Lindberg; Cervin; Runer, 1997a). A poluição do ar atmosférico não aparenta induzir as respostas inflamatórias em pacientes e, assim, aumentar o nível de ON (Steeremberg et al., 2003). Dessa forma, o ON pode ser utilizado para determinar ou não a possibilidade de doenças no trato respiratório (Heffler et al., 2012; Fowler et al., 2013). A variação da sua dosagem no ar expirado pode ser determinada em

doenças respiratórias como asma, fibrose cística, bronquiectasia, hipertensão pulmonar, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), síndrome da angústia respiratória, doenças intersticiais, rinite alérgica e rinossinusites (Reis et al., 2010; Torretta et al., 2010).

A rinossinusite crônica (RSC) é uma afecção do trato respiratório caracterizada como uma inflamação da mucosa nasosinusal que persiste por mais de 12 semanas. Apresenta-se com obstrução e secreção nasal, hiposmia, tosse, cacosmia, cefaleia, entre os principiais sintomas. Ao exame físico são encontradas hipertrofia de conchas nasais, deformidade septal associada, pólipos nasais (PN), degeneração polipoide e secreção nasal, como principais achados. Pode ser dividida em duas formas: RSC com PN (RSCcPN) e sem PN (RSCsPN) (Lima et al., 2015). É considerada doença de saúde pública nos EUA (Stevens et al., 2015). Devido o seu impacto financeiro, pode atingir de 5 a 15% da população geral (Bachert et al., 2014). No Brasil, Pilan, Pina e Bezerra (2012) encontraram índice de 5,51% na cidade de São Paulo. Com gastos de 22 milhões de dólares, anualmente (Stevens et al., 2015), a epidemiologia da RSC persiste especulativa, pois mesmo em consensos europeus seus dados são conflitantes devido à heterogênese da desordem e a imprecisão diagnóstica (Folkens et al., 2012). Seu diagnóstico clínico é baseado em sintomas, o que pode provocar uma super prevalência de casos. Em locais como o Canadá, ao ser questionado sobre patologia respiratória por seis meses, caso o paciente responda afirmativamente, já pode ser considerado como portador de RSC. Sua prevalência aparenta aumentar com a idade e é mais encontrada em mulheres (Folkens et al., 2012).

Podem ser considerados como fatores e/ou doenças que favoreçam o aparecimento da RSC: rinite alérgica, batimento ciliar prejudicado, asma, sensibilidade à aspirina, fatores genéticos, imunossupressão, alterações anatômicas locais, biofilmes, iatrogenia, refluxo laringo-faríngeo, entre outros. São considerados mecanismos de defesa da mucosa sinusal a mobilidade ciliar, o muco produzido nos SP, a junção apical das células do epitélio respiratório e a presença de determinada quantidade de ON na cavidade nasal.

Exames como endoscopia nasal e tomografia computadorizada (TC) dos SP podem auxiliar na determinação do diagnóstico. Outras avaliações nasais como

análise da função mucociliar, permeabilidade das vias respiratórias, biópsia e estudo das células nasais, teste de olfato, proteína C reativa e dosagem de ON do ar exalado das narinas podem ser realizadas.

O interesse pela técnica de medida do ON do ar exalado cresce por ser um método seguro, simples e de baixo custo, podendo ser repetido várias vezes, pois não influencia na função das vias aéreas. A medida do ON pode ser executada por dois métodos: online e offline (Kharitonov; Barnes, 1997). Assim, a dosagem do ON exalado pelas narinas pode ser útil para o diagnóstico de inflamação da via aérea, verificar a resposta ao tratamento proposto e monitorar pacientes (Donohue et al., 2014; Duong-Quy et al., 2017, Liu et al., 2017). Sua análise quantitativa é realizada, principalmente, pela medida de quimioluminescência (Yune et al., 2015).

Portanto, diante da importância desse exame e da ausência de técnicas que possam ser utilizadas na prática clínica diária, decidiu-se dosar o ON de pacientes com RSC, padronizando, assim, um exame simples e de fácil acesso.



Após a década de 1980, a molécula de ON começou a ser alvo de diversos estudos devido a sua produção por células de várias espécies de mamíferos, deixando de ser conhecida somente como poluente nocivo ao meio ambiente (Corradi et al., 2003). A importância do ON para o sistema cardiovascular recebeu o prêmio Nobel em 1998. Foi no final daquela década, com a identificação do ON como responsável pela atividade do então chamado fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF) (Ignarro et al., 1987), que surgiram diversas pesquisas na área biomédica; e com os resultados encontrados determinou-se a aclamação do ON como importante molécula nos vários mecanismos fisiológicos, vasculares, neurológicos e imunológicos, e também como participante na patogênese de várias morbidades dos diferentes sistemas do organismo. Na sepse, o ON se envolve na gênese da hipertensão arterial e nas alterações vasculares pulmonares (Stewart et al., 1995). Na esclerose múltipla, pode participar da lesão à mielina (Mizutani; Layon, 1996). A redução da produção do ON pode alterar a função da malha trabecular em diminuir a drenagem do humor aquoso no glaucoma de ângulo aberto (Grierson, 1996).

Na enxaqueca parece estar envolvido em fenômenos vasomotores (Lassen et al., 1997). Nos pacientes com hipertensão arterial essencial, estudos sugerem diminuição do relaxamento vascular dependente do endotélio, e a queda da produção de ON poderia colaborar para o aumento da pressão arterial (Moncada, Higgs, 1993).

O ON está presente no ar expirado pelos humanos (Gaston et al, 1994). Em indivíduos saudáveis, o ON encontrado no ar expirado é derivado da via aérea superior, com pequena contribuição do trato respiratório inferior. A substância do ON é originada do epitélio dos SP. Derivado dos SP caminha para a cavidade nasal e contribui para aumentar o nível do ON encontrado no ar expirado (Lindberg; Cervin; Runer, 1997a). Lundberg et al. (1995) concluíram que o ON é produzido por células epiteliais dos SP e que está presente no ar expirado em altas concentrações. Afirmaram, também, que ele é responsável pela esterilidade dos SP e que sua presença melhora o batimento ciliar em indivíduos normais e apontaram para aumento de ON em pacientes com doença do trato respiratório inferior e redução dos seus valores após o tratamento com esteroides. Segundo os autores, doenças do trato respiratório podem ter valores diferentes, no que diz respeito à dosagem de ON. Fibrose cística, asma, síndrome de Kartagener, rinite alérgica e rinossinusites apresentam valores distintos quando mensurada a dosagem de ON (Lundberg et al.,1996a,b).

Lindberg, Cervin e Runer (1997a) confirmaram a presença de ONS em células epiteliais do seio maxilar e o seu envolvimento na manutenção da esterilidade dos SP. O montante de ON na cavidade nasal é determinado por: 1) produção das células ciliadas dos SP; 2) tamanho do óstio dos SP. Os autores também constataram a ação do ON na regulação da função mucociliar nas vias aéreas superiores. Estudos com a indução do vírus influenza em humanos, por meio de gotas nasais, e posterior medida do ON exalado pelas narinas, demonstraram sua participação em mecanismos de defesa da cavidade nasal (Murph et al., 1998).

Frieri (1998) descreveu a formação do ON, por meio das enzimas ONS, detalhando suas três formas de aparecimento. Afirmou ocorrer aumento do ON em rinite alérgica e asma e que as citocinas e o ON são importantes mediadores inflamatórios do trato respiratório. Mensurações realizadas do ar exalado pelas narinas têm valores diferentes das medidas orais e até endotraqueais (Kawamoto et al., 1998). O ON pode ser um mensageiro aéreo, por apresentar uma função dualista nas vias aéreas (Djupesland et al., 1999). Apresenta valores elevados nos casos de doenças inflamatórias como rinite alérgica e asma e diminuídos em outros como fibrose cística, discinesia ciliar, RSC e após exposição ao tabaco e álcool.

Por meio da inalação de ON é possível tratar hipertensão pulmonar em crianças, e a dosagem do ar exalado pode ter utilidade para o controle desta terapia (Thébaud et al., 1999). Hess et al. (2000) demonstraram a presença de ON na mucosa nasal e sua participação nos processos fisiológicos e fisiopatológicos da cavidade nasal. Palm et al. (2000) exemplificaram tal afirmação, demonstrando que em pacientes com HIV (vírus da imunodeficiência humana), o valor do ON está 21% mais baixo do que em indivíduos normais.

Até a década de 1980, eram usadas técnicas invasivas, como broncoscopia, para coletas de amostras de ON com a finalidade de estudos complementares da sua função em doenças respiratórias. Desde então, surgiram técnicas para medidas de ON por várias formas (Silkoff et al., 1999):

- 1- respiração oral-nasal;
- 2- fluxo fixo oral;
- 3- aspiração oral e nasal;
- 4- aspiração de uma narina;
- 5- Insuflação de ON nas cavidades nasais.

O ON sugere ser um regulador do fluxo sanguíneo nasal e age no controle da secreção de glândulas, liberação de neurotransmissores e no mecanismo de defesa do trato aéreo superior (Kim et al., 1997). Thébaud et al. (1999) demonstraram presença de valores baixos de ON em pacientes com rinossinusites, PN e fibrose cística, e aumentados na rinite alérgica. Em indivíduos normais houve variação da dosagem de ON em torno de 20 a 25% (Barthley et al., 1999; Nakano et al., 2000). Westerveld et al. (2000) detectaram, em ratos, que o uso de descongestionantes provoca inibição da indução enzimática do ONS, o que pode ocasionar efeitos inesperados na terapêutica da RSC. Schlosser et al. (2000) verificaram, em mamíferos, a presença de metabólitos de ON, nitritos e nitratos em SP com rinossinusite e que o ON pode, dependendo do nível, exercer ação de defesa da via aérea superior.

O estudo de pacientes com SAOS (Síndrome da apneia obstrutiva do sono), com a determinação de ON expirado das vias aéreas, apresentou redução dos valores de ON em comparação com indivíduos normais (Osanai et al., 2000), mostrando que a medida do ON pode ser útil em diagnose de doença respiratória.

A frequência de batimento ciliar em células da mucosa nasal de humanos foi influenciada pela presença de ON, segundo Wang F, Su e Wang L (2000), que realizaram experimentos com L-arginina, precursor de ON, sugerindo que o ON produzido no trato respiratório estimula a mobilidade ciliar das células epiteliais da via aérea, auxiliando o transporte mucociliar. Tamaoki e et al. (2000) verificaram que a diminuição de ON determinou a deficiência na depuração mucociliar por meio do teste da sacarina.

Lefevere et al. (2000) realizaram a dosagem de ON por meio de testes de quimioluminescência, com base em uma reação de ON com O3, resultando em emissão de luz e subsequente medição deste fenômeno.

A depuração ciliar é responsável pela higiene nasal; e a incapacidade de manter a via aérea estéril provoca lesões na mucosa que podem tornar-se crônicas. Os três principais transtornos da depuração mucociliar, que podem provocar esses transtornos, são enumerados segundo Cole (2001):

- 1- ON baixo proporcionando discinesia ciliar primária;
- 2- Toxinas levando à discinesia ciliar secundária;
- 3- Anormalidades físico-químicas do muco.

Kharitonov e Barnes (1997) desenvolveram os primeiros estudos sobre uma técnica não invasiva para analisar os marcadores inflamatórios pulmonares, diretamente do ar expirado, em que a coleta do ar e sua posterior condensação permitiram o estudo de moléculas voláteis, particularmente do ON, que são provenientes de aerossóis respiratórios.

Parikh et al. (2002) observaram a presença de ONS em vários locais com inflamação, inclusive em sítios alérgicos. O ON pode ser usado como marcador diagnóstico não invasivo de doenças das vias aéreas, segundo Djupesland et al. (2001). Andersson et al. (2002) afirmaram que o edema da mucosa do óstio do SP provoca pressão negativa na cavidade sinusal, com consequente diminuição de oxigênio e hipóxia, que pode inibir a síntese de ON.

A espessura da mucosa nasal foi relacionada com asma juvenil e inflamação brônquica, segundo Brinke et al. (2002), e as dosagens de ON expirado pelas narinas foram utilizadas para defender tal propósito. Borrish (2002) utilizou critérios clínicos e dosagem de ON para relacionar asma e RSC. O ON tem função de defesa e atua na mobilidade ciliar (Vural; Güngör, 2003). Daya et al. (2002) realizaram mensuração de ON em crianças, de forma confortável e reprodutível, como método aceitável de diagnose.

Pacientes com RSC submetidos à cirurgia, que mantiveram o quadro clínico, receberam tratamentos com baixas doses de Eritromicina e foram monitorados por meio do teste da sacarina e dosagem de ON exalado pelas narinas (Cervin et al., 2002). Durante o seguimento, esses pacientes apresentaram melhora clínica associada com melhora também dos níveis de ON exalado e diminuição de achados de RSC na endoscopia nasal e TC.

Medidas de ON podem ser realizadas de forma online ou offline (Gungor; Vural, 2002). O termo "online" refere-se à leitura de ON realizada pelo analisador, que ocorre exatamente no momento da coleta. Já no modo "off line", o ON é coletado através de um reservatório com sistema de condensação, permitindo seu armazenamento para posterior análise (Corradi et al., 2003). Corradi et al. (2003), OH, Miman e Duncavage (2004), assim como muitos pesquisadores, passaram a usar essa metodologia para a coleta de biomarcadores biológicos do sistema respiratório.

A discinesia ciliar apresenta-se com dosagem de ON expirado reduzida (Noone et al., 2004; Wodehouse et al., 2003). Cílios e microvilosidades do epitélio do seio maxilar são sítios importantes na produção de ON, pois pacientes com RSC deste seio apresentam diminuição do ON expirado, gerando deficiência do hospedeiro e consequente aumento do risco de infecções (Deja et al., 2003).

A dosagem de ON expirado pelas narinas pôde experimentalmente, para averiguar a relação de eficácia de medicamentos e respectivos tratamentos por Oztürk et al. (2003), que dosaram ON em coelhos com rinossinusite aguda induzida antes e após tratamento. As terapêuticas somente com antibióticos e antibióticos associados a outros medicamentos foram mensuradas e comparadas para analisar qual delas seria mais efetiva, por meio da medida do aumento ou não da dosagem de ON.

A presença de ruído respiratório ou zumbido quando se está expirando, resulta em aumento do valor de ON nasal, causado por rápida troca gasosa dos SP e a cavidade nasal (Weitzberg; Lundberg, 2002; Maniscalco et al., 2003a). Tal medida pode ser útil para se estimar a ventilação dos seios e para diferenciar a produção de ON na vigência ou não da afecção. O nível de ON é maior na respiração com zumbido do que na respiração silenciosa (Maniscalco et al., 2003b; Shustermann et al., 2007).

Segundo Sanders et al. (2004), viroses podem exacerbar os quadros de asma, DPOC (doença pulmonar obstrutiva crônica) e RSC. Os autores constataram tal postulado em indivíduos infectados por rinovírus e acompanhando a sintomatologia dos pacientes verificaram que o aumento do nível de ON ocorre como parte da resposta, alegando que o ON exerce importante papel na depuração viral do hospedeiro na infecção.

O ON também é produzido na mucosa nasal e nas conchas nasais (OH; Miman; Duncavage, 2004) e é gerado pelo ONS do epitélio nasal (Lundberg, 2005). Proud (2005) relatou que a infecção das células epiteliais das vias aéreas humanas com rinovírus leva ao aumento da expressão da ONS, ocorrendo também aumento do ON expirado. Afirmou, ainda, que o ON pode inibir a expressão epitelial de citocinas induzidas por rinovírus e de várias citocinas inflamatórias e préinflamatórias. O autor observou a inibição da replicação viral e presenciou a interação com sistema imunológico. Constatou que o aumento do ON expirado pelas narinas determina a diminuição dos sintomas nasais.

O valor de ON se mostrou maior na rinite alérgica em comparação com a rinite não alérgica (Maniscalco et al., 2004). Os pacientes submetidos à terapia, tanto clínica como cirúrgica, no momento de recorrência de RSC, apresentaram alterações dos valores de ON (Ragab; Lund; Scadding, 2004).

O ON pode ser usado associado ao teste da sacarina para detecção de discinesia ciliar primária (Carlén, Stenram, 2005). Na RSC, Bernardes et al. (2004) notaram a presença de ON diminuído no ar expirado e também detectaram alterações da amostra de eosinófilos nos tecidos nasossinusais avaliados.

Kharitonov, Walker e Barnes (2005) mediram o ON em 18 indivíduos nos primeiros dias do surgimento de sintomas compatíveis com infecções das vias aéreas superiores e três semanas após, quando já havia ocorrido a remissão dos sintomas. Os autores encontraram níveis baixos de ON expirado na fase sintomática e aumento dos mesmos na fase de recuperação, semelhantes aos de indivíduos sadios, sugerindo alteração da produção do ON durante infecções das vias aéreas e recuperação na sequência, provavelmente por indução rápida de sua síntese.

Daniel, Klug e Valerius (2005) desenvolveram um método aplicável em criança, utilizando máscara facial, obtendo resultados de forma confortável e confiável; e Al-Ayed, Withington e Davis (2005) encontraram produção de ON em SP de crianças.

A repetição de resultados pode ser obtida em pacientes fumantes e não fumantes com asma (Kharitinov; Walker; Barnes, 2005). O valor encontrado de ON nasal foi maior do que nas vias aéreas inferiores, sendo este valor potencializado quando a medida foi realizada com a boca fechada por 10 segundos, ocorrendo a mobilização do ON dos seios para a cavidade nasal (Struben et al., 2005).

O acompanhamento do tratamento da RSC é difícil, pois podem ser necessários exames de TC (que devem ser evitados) para monitorar o paciente, sendo observada, frequentemente, falha na terapêutica com e sem corticoide. A medida de ON foi postulada por Ragab et al. (2006) para essas situações devido a sua forma acessível e menos invasiva.

A técnica de medida do ON condensado do ar exalado para correlação com doenças respiratórias (Augusto, 2006) pode ser utilizada de forma confortável e segura na prática de estudos dessas afecções.

A fibrose cística foi investigada por Struben et al. (2007) e os valores de ON mostraram-se reduzidos, mas Gabriele et al. (2007) não encontraram diferença nos valores de ON em lactentes durante a amamentação. Hung et al. (2007) realizaram avaliações em pacientes com rinite alérgica antes e após terapêutica com loratadina, montulecaste de sódio, budesonida e cromoglicato de sódio, observando redução nos valores de ON somente nos pacientes submetidos a tratamento com budesonida e montulecaste, indicando uma possível forma de seguimento terapêutico da rinite alérgica. Rolla et al. (2007) afirmaram que a dosagem de ON está em maior nível na rinite alérgica comparada com a rinite não alérgica.

A medida de ON expirado pode ser uma forma útil de avaliação em crianças com rinite alérgica (van Mastrigt; Gabriele; Jongste, 2007). O nível de ON expirado por pacientes com RSC apresentou melhora após tratamento com antibióticos (Degano et al., 2005; Carraro et al., 2007; Lanz et al., 2007). Naraghi et al. (2007) realizaram lavado dos seios maxilares por via endoscópica de dois grupos de pacientes, com e sem RSC. O resultado apontou que o grupo com RSC apresentou valor menor de ON. A dosagem de ON pode avaliar a atividade mucociliar (Jiang; Yang; Lin, 2007) e também monitorar a resposta do tratamento da RSC (Scadding, 2007; Shustermann et al., 2007). Yoshimura et al. (2010) avaliaram pacientes com RSCcPN e verificaram que a dosagem de ON pode variar no PN.

Dweik et al. (2011) propuseram a dosagem de ON para diagnóstico de inflamação das vias aéreas. Recomendaram o seu uso para determinação da probabilidade de resposta de esteroides em indivíduos com sintomas respiratórios crônicos, possivelmente devido à inflamação das vias aéreas.

Manuais de utilização da dosagem de ON para diagnóstico de determinadas doenças foram elaborados (exemplos: casos de inflamação eosinofílica) para, assim, poder monitorar a eosinofilia de pacientes com asma (Donohue et al., 2014).

A avaliação do ON na área da concha nasal inferior refletiu a inflamação eosinofílica persistente, inferindo que pode ser usado como marcador válido para estimar a gravidade da rinite alérgica (Takeno et al., 2014). Dweik et al. (2011) relataram a necessidade de padronização e quantificação de ON para o monitoramento do paciente. Assim, seria possível usar tais valores para dosar a medicação prescrita, a aderência ao tratamento e auxiliar no diagnóstico da doença. Malinovschi et al. (2015) discutiram a possibilidade da utilização do ON expirado para avaliar a evolução no tratamento de asma.

O ON é liberado de forma endógena nas vias aéreas e sua concentração fracionada na respiração expirada é agora reconhecida como um marcador substituto da inflamação da via aérea, podendo ser medida por uma técnica não invasiva, adequada para crianças (Kim et al., 2016). Em resultados obtidos por Wang et al. (2017), as medidas de ON podem ser usadas clinicamente para a avaliação pré e pós-tratamento de rinite alérgica.

Os estudos com os receptores de gosto amargo (T2R) demonstraram, recentemente, contribuir para a imunidade nasal. A presença de T2R e T2R38 regula a defesa da mucosa contra organismos gram-negativos, por meio do estímulo da produção de ON, o que aumenta a depuração mucociliar, atuando diretamente sobre as bactérias. Para determinar se os T2R adicionais contribuem para essa defesa inata, Yan et al. (2017) avaliaram duas outras T2Rs nasosinusais (T2R4 e T2R16) para medir a produção e expressão de ON na cavidade nasosinusal humana.

Foram objetivos deste estudo:

- Padronizar a técnica para dosagem de NO expirado pelas narinas e verificar sua viabilidade na condução dos pacientes com RSC.
- Avaliar a presença de ON do ar expirado em pacientes com RSC e comparar com os valores de ON expirado em indivíduos sem RSC.
- Relacionar a quantidade de ON expirado pelas narinas dos pacientes com RSC com a intensidade da sintomatologia, comorbidades e também com os achados do exame físico.
- Traçar um paralelo entre o valor encontrado de ON nos portadores de RSC com os achados endoscópicos, tomográficos e cirúrgicos desses pacientes.



4.1 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), Processo nº 1139\2013 (Anexo A)

Os pacientes foram convidados a participar do estudo e devidamente esclarecidos sobre os objetivos e os procedimentos a serem realizados, sendo incluídos os que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCL) (Anexo B).

4.2 Casuística

Este estudo foi realizado entre os anos de 2013 e 2015 com pacientes atendidos no Ambulatório de Rinologia do HCFRMP-USP.

Foram selecionados pacientes que apresentassem sintomas clínicos de RSC como obstrução nasal, secreção nasal ou pós-nasal, hiposmia, cacosmia, dor facial por mais de 12 semanas, associada com exame físico, endoscopia nasal e TC dos SP, pertinentes aos achados de RSC, independentemente da idade, segundo os critérios do EPOS 2012. Após diagnóstico clínico e confirmação por meio de endoscopia nasal e TC, os pacientes com RSC eram submetidos à coleta do ar expirado. Estas amostras eram coletadas e encaminhadas para o Laboratório de Hepatologia do Departamento de Cirurgia da FMRP-USP.

4.3 Sujeitos

Foram selecionados 104 pacientes do Ambulatório de Rinologia com diagnóstico de RSC confirmado, adultos de ambos os sexos, com idade mínima de 18 anos. Todos foram submetidos à cirurgia endoscópica dos SP por não apresentarem melhora no tratamento clínico à base de antibióticos, anti-histamínicos e corticoides tópicos e sistêmicos. Os achados de comprometimento nasosinusal durante a cirurgia foram utilizados para correlação com os valores de ON obtidos antes da cirurgia. O grupo controle foi composto por 35 indivíduos sem qualquer doença nasal ou respiratória no momento da obtenção do material após anamnese e endoscopia nasal: indivíduos adultos, de ambos os sexos, com idade mínima de 18 anos, que concordaram em assinar o TCL.

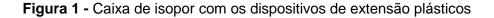
4.4 Critérios de exclusão

Foram excluídos, tanto do grupo controle quanto do grupo de pacientes com RSC, de forma a tornar mais equânime à seleção desta amostra:

- 1-Pacientes tabagistas ou que abandonaram o tabagismo há menos de 24 meses:
- 2- Com cirurgia nasosinusal prévia;
- 3-Pacientes que utilizaram vaso constritor nasal nos últimos 10 dias;
- 4-Infecções das vias aéreas nos últimos 15 dias;
- 5- Uso de antibióticos sistêmicos nos últimos 30 dias.

4.5 Confecção do material

Foi selecionado um recipiente (caixa de isopor) com medidas de 26 centímetros de comprimento e 16,5 centímetros de largura. Confeccionou-se um dispositivo que consistia de uma extensão plástica transparente e atóxica usada em circulação extracorpórea (marca Edwards 3|8 x 1|16) com 35 centímetros de comprimento e 0,5 centímetros de espessura, com tubo de Eppendorf afixado na sua porção final (tubo plástico com capacidade para 1,5 ml) e na sua porção inicial e olivas de rinomanometria para adaptação nas narinas (Figura 1).





Foram confeccionados dois dispositivos (um para cada narina) para coleta simultânea do material de cada narina. Após a acomodação do indivíduo em local silencioso, os dispositivos foram colocados na caixa de isopor, que continha no seu interior gelo picado com sal grosso (proporção de seis partes de gelo para três partes de sal grosso), em temperatura de -10C (aferida com termômetro digital marca Minipa modelo MV 363m à prova de água, que mede temperatura de -20 a 200°C), para condensação do ar exalado. Após a coleta, as amostras foram armazenadas a -70°C para que os aerossóis precipitassem (Figuras 2 a 5).

Figura 2 - Caixa de isopor com gelo e sal grosso com termômetro

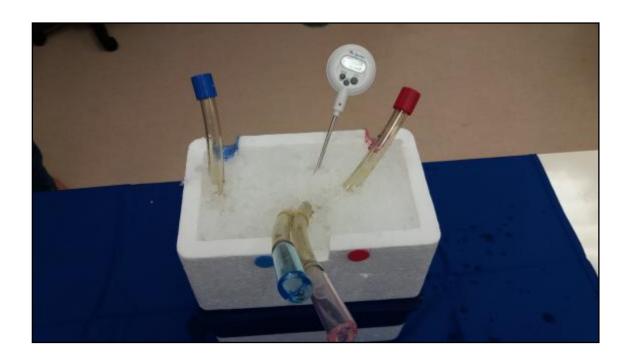


Figura 3 - Coleta do material e posicionamento das olivas nas narinas



Figura 4 - Coleta do ar expirado pelas narinas



Figura 5 - Presença do ar precipitado



A desinfecção dos dispositivos e seus reservatórios foi realizada lavando-os com água e detergente líquido Extran neutro, como rotina do ambulatório.

4.6 Coleta do material

Os participantes do estudo foram orientados a manter padrão respiratório tranquilo durante todo o teste, a boca aberta e expirar somente pelo nariz, permanecendo com olivas de rinomanometria no vestíbulo nasal para coletar o ar expirado pelas narinas (Figuras 3 a 5). O tempo de coleta foi de 10 minutos. O uso de grampos nasais, manobras de espirometria e esforço inspiratório não afetam o valor da medida do ON exalado (Tee; Hui, 2005).

4.7 Medidas do ON expirado

As amostras contendo ON expirado foram armazenadas a -70 C para que os aerossóis precipitassem e analisadas por meio da reação de quimiluminescência ON\ozônio, de acordo com as normas de estudos anteriores (Qian et al., 1999; Giner Muñoz, 2000; Djupesland; Quian; Haight, 2001; Maniscalco et al., 2004; Yune et al., 2015). A concentração foi medida utilizando-se 15 µl do ar expirado, que foi injetado em uma câmara de reação contendo um agente redutor. Tal técnica consiste numa reação contendo um agente redutor (0,8% de cloreto de vanádio em 1N de HCI) a 95°C, que converte o nitrito em ON, em quantidades equimolares. O ON é dragado, utilizando-se gás nitrogênio para a câmara de quimiluminescência do equipamento Sievers NO analizer (Sievers 280i NOA Sievers, Boulder, CO, EUA). A detecção do ON decorre de sua reação com o ozônio, emitindo luz vermelha (NO+O³---NO²+O²; NO2---NO2+hv). O fóton emitido pela reação é detectado e convertido em sinal elétrico. A corrente gerada é convertida por um conversor analógico-digital e analisada em um computador. A área sob a curva gerada pela corrente elétrica corresponde à concentração de ON da amostra. A concentração de nitrato é calculada por comparação com uma curva padrão, usando concentrações conhecidas no intervalo de 100 a 1 µM de nitrato de sódio. O ON dosado no ar expirado pelas narinas teve sua unidade descrita em µMolar.

As análises quantitativas do material podem ser realizadas de forma imediata, online, ou após armazenamento, desligado, offline, sem apresentar diferenças (Gungor; Vural, 2002). No presente estudo, a medida foi obtida pelo método offline.

4.8 Análise estatística

A análise estatística foi realizada por Anova, correlação de Pearson e teste t de Student.



Foram avaliados 104 pacientes com RSC e 35 indivíduos normais. Os valores das dosagens obtidas foram analisados e comparados. Os valores de ON expirado pelas duas narinas dos pacientes (direita e esquerda) foram utilizados para o cálculo da média entre as narinas de cada paciente. Adotou-se como nível de significância p≤0,05 em todas as análises e comparados os dados obtidos entre os dois grupos.

Para a variável idade, verificou-se diferença significativa no grupo de pacientes com RSC, com valores significativamente superiores em relação ao grupo controle. O grupo com RSC apresentou média de idade maior que o grupo controle (Tabela 1).

Tabela 1 - Idade: teste t para amostras independentes

	Grupo	N	Média	Desvio Padrão
	Normal	35	40,86	11,133
Idade	Paciente	104	47,64	14,826

t=2,48; p=0,01*

Não houve diferença significativa entre os dois grupos em relação ao sexo (Tabela 2). Na Tabela 3 estão descritas as dosagens de ON entre os dois grupos.

Tabela 2 - Sexo: teste do X²

Grupo	SE)	Total	
	Fem.	Masc.	
Normal	20 (57,1%)	15 (42,9%)	35 (100%)
Paciente	60 (57,7%)	44 (42,3%)	104 (100%)
Total	80 (57,6%)	59 (42,4%)	139 (100%)

 X^2 =0,01; p=0,96.

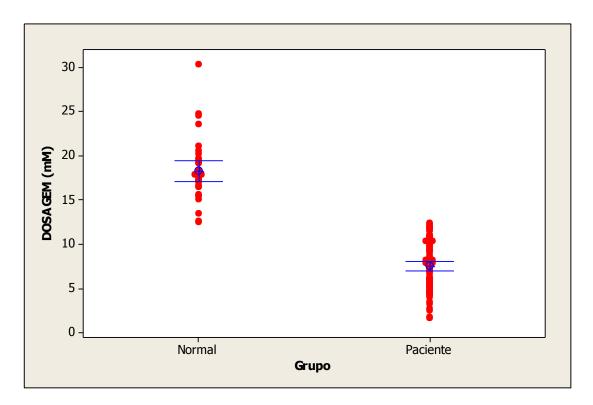
Tabela 3. Dosagem de ON: teste t para amostras independentes

Gr	upo	N	Média	Desvio Padrão
_	Normal	35	18,2357	3,51635
Dosagem	Paciente	104	7,4770	2,68441

t=18,90; p<0,001*

Observou-se diferença significativa no grupo de pacientes, com valores significativamente inferiores de ON em relação ao grupo controle (Figura 6).

Figura 6 - Representação gráfica dos valores de ON exalado entre os dois grupos, pacientes e controles



Em seguida, foram realizados, também, cruzamentos no grupo de pacientes, estabelecendo relação das variáveis estudadas com a dosagem de ON obtida (Tabela 4).

Tabela 4 - Idade: coeficiente de correlação de Pearson

		Dosagem
	Correlação de Person	-,161
Idade	p	,102
	N	104

r=-0,16. Correlação não significativa (p=0,10)

Avaliando-se a idade dos pacientes, verificou-se correlação não significativa (p=0,10) com a dosagem de ON. Também não houve diferença significativa na variável sexo (Tabela 5).

Tabela 5 - Sexo: teste t para amostras independentes

	SEXO	N	Média
	Fem.	60	7,6374
Dosagem	Masc.	44	7,2583

t=0,71; p=0,48

Quanto às queixas dos pacientes e a dosagem de ON, todos apresentavam queixa de obstrução nasal. Os demais sintomas referidos e avaliados foram: secreção nasal, hiposmia, cacosmia e cefaleia. Observou-se apenas leve tendência em relação à hiposmia (Tabela 6).

Tabela 6 - Correlação dos sintomas x dosagem ON

Sintomas	Dosagem	N	Média	Desvio Padrão
Coorooão Nocol	0	16	7,8822	2,55369
Secreção Nasal	1	88	7,4034	2,71501
Llinaania	0	45	8,0143	2,66689
Hiposmia	1	59	7,0672	2,647
Casassia	0	64	7,6895	2,60163
Cacosmia	1	40	7,137	2,81158
Ostalaia	0	76	7,517	2,7927
Cefaleia	1	28	7,3686	2,41013

Realizou-se, ainda, correlação com todos os sintomas e a dosagem de ON, para verificar se quanto maior o número de queixas dos pacientes, menor seria a dosagem do mesmo. Foi possível constatar que houve correlação significativa (p=0,04) negativa (r= -0,21) de baixa intensidade da dosagem com sintomas, ou seja, quanto maior o número de sintomas menor a dosagem de ON encontrada (Tabela 7).

Tabela 7- Dosagem de ON x sintomas (Coeficiente de correlação de Pearson)

		Dosagem
	Correlação de Person	-,205
Sintomas	p	,037
	N	104

Avaliou-se a correlação entre a presença ou não de comorbidade e, caso apresentasse comorbidade, a correlação com a dosagem de ON (Tabela 8).

Tabela 8 - Comorbidades x dosagem de ON

Comorbidades	Dosagem	N	Média	Desvio Padrão
Sem Comorbidade	0	52	7,2554	2,567
Sem Comorbidade	1	52	7,6987	2,80424
Hiportopoão Artorial	0	83	7,5161	2,69121
Hipertensão Arterial	1	21	7,3224	2,71756
Diabetes Mellitus	0	92	7,4973	2,68308
Diabetes Meilitus	1	12	7,3213	2,809
Asma	0	75	7,6935	2,71951
Asilia	1	29	6,9172	2,55189
Dinita Aláraiga	0	98	7,4859	2,65854
Rinite Alérgica	1	6	7,3325	3,36185
Intolerância ao AAS	0	94	7,5309	2,75709
IIIIUIETATICIA AU AAS	1	10	6,9705	1,89866

Não foi encontrada correlação entre um tipo específico de comorbidade e a dosagem de ON. Avaliou-se, também, se havia correlação entre o número de comorbidades e a dosagem de ON, porém não se observou correlação significativa entre a dosagem de ON e a presença de mais de uma comorbidade (Tabela 9).

Tabela 9 - Dosagem de ON x comorbidades

		Dosagem
	Correlação de Pearson	-,112
Comorbidade	р	,256
	N	104

A dosagem de ON exalado e os achados de exame físico foram analisados estatisticamente, com resultados significativos somente quando os pacientes apresentaram pólipos e secreção nasal (Tabela 10).

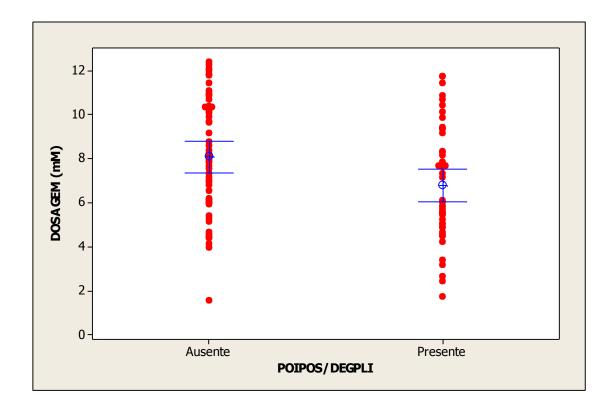
Tabela 10 - Correlação entre achados de exame físico x dosagem de ON

Achados no exame físico	Dosagem	N	Média	Desvio Padrão
	0	27	7,9122	3,09505
Hipertrofia de Conchas Nasais inferiores	1	77	7,3244	2,52944
	0	44	7,2565	2,79262
Deformidade Septal	1	60	7,6388	2,61407
	0	56	8,0791	2,63733
Pólipo	1	48	6,7746	2,59167
	0	30	8,8257	2,64084
Secreção Nasal	1	74	6,9303	2,51922

t= 1,96; p=0,05*

Os pacientes com PN apresentaram valores significativamente inferiores de ON, quando relacionados aos demais pacientes sem PN com diferença significativa (Figura 7).





Observou-se, também, diferença significativa nos pacientes com secreção nasal, sendo que os mesmos apresentaram valores significativamente inferiores de ON, quando comparados aos demais pacientes sem secreção nasal. Analisou-se, estatisticamente, a correlação entre os achados do exame físico e a dosagem de ON, e o resultado evidenciou correlação significativa (p<0,001) negativa (r= -0,34) de intensidade regular da dosagem com o exame físico, ou seja, quanto piores os achados do exame físico menor a dosagem de ON (Tabela 11).

Tabela 11- Dosagem de ON x achados de exame físico

		Dosagem
Exame fisico	Correlação de Pearson	-,343
	p	,000
	N	104

As avaliações com TC e endoscopia nasal foram quantificadas em escores (Lund-Mackay para TC e Lund-Kennedy para endoscopia nasal) e correlacionadas com a dosagem de ON (Tabela 12).

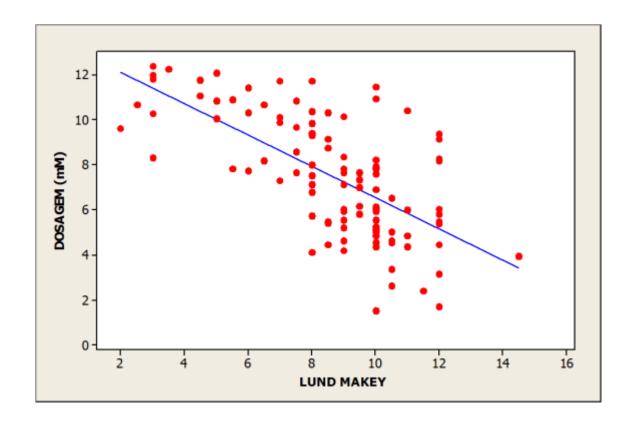
Tabela 12 - Lund-Mackay e Lund-Kennedy. (Coeficiente de correlação de Pearson)

	<u> </u>	Dosagem
Lund-Mackay	Correlação de Pearson	-,664 ^{**}
	Р	,000
	N	104
Lund-Kennedy	Correlação de Pearson	-,660 ^{**}
	Р	,000
	N	104

A correlação foi significativa no nível de 0,01

Constatou-se que ambas as escalas tiveram correlação negativa com a dosagem, ou seja, conforme os valores de dosagem de ON expirado pelas narinas diminuíam os das escalas aumentavam (Figuras 8 e 9).

Figura 8 - Representação gráfica da dosagem de ON x escala Lund-Mackay



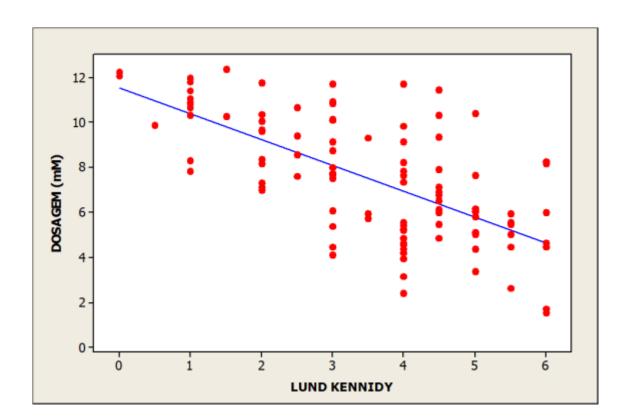


Figura 9 - Representação gráfica da dosagem de ON x escala Lund-Kennedy

Como todos os pacientes do estudo foram submetidos à cirurgia nasosinusal, correlacionou-se o número de seios comprometidos com a dosagem de ON (Tabela 13).

Tabela 13 - Número de seios comprometidos x dosagem de ON. (Análise de Variância -ANOVA)

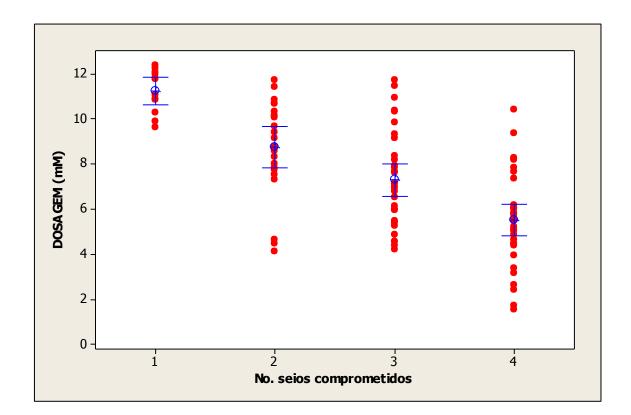
Seios	N	Média	Desvio Padrão
1,00	12	11,2383	,95097
2,00	23	8,7622	2,13508
3,00	34	7,2881	2,11495
4,00	35	5,5264	2,04537
Total	104	7,4770	2,68441

F(3;100) = 28,51; p<0,001.

Os resultados demonstraram diferença significativa, pois quanto maior o número de SP comprometidos por RSC, comprovado no momento cirúrgico, menor a dosagem de ON obtida antes da cirurgia (Figura 10). Para detectar onde ocorrem as diferenças, aplicou-se o teste pós-hoc de Bonferroni.

> 1X2 p = 0.005*1X3 p < 0.001*1X4 p < 0,001* 2X3 p = 0.05*2X4 p < 0,001* 3X4 p = 0.002*

Figura 10 - Representação gráfica da dosagem de ON x número de seios comprometidos



Calculou-se, ainda, o coeficiente de correlação de Pearson (Tabela 14).

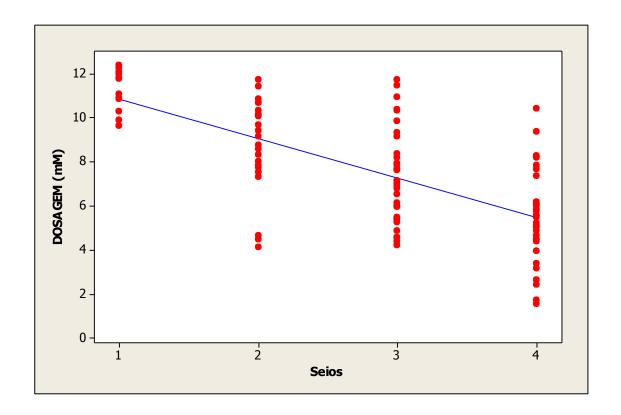
Tabela 14 - Coeficiente de correlação de Pearson

		Dosagem
	Correlação de Pearson	-,675
Seios	р	,000
	N	104

A correlação foi significativa no nível de 0,01

Constatou-se correlação negativa (r= -0,68) e significativa (p<0,001) com a dosagem de ON expirado pelas narinas antes da cirurgia, ou seja, quanto menores os valores de dosagem de ON maior o número de seios afetados (Figura 11).

Figura 11 - Representação gráfica da dosagem de ON x seios afetados



6. Discussão

A avaliação do ON expirado pelas narinas tem amplo papel no diagnóstico de doenças respiratórias (agudas e crônicas), e isto pode abreviar o diagnóstico e tratamento dessas afecções (Taylor et al., 2006).

Indivíduos comprometidos com RSC com e sem PN e fibrose cística apresentam dosagem de ON reduzida, devido a inibição da liberação do ON produzido nos SP (Horváth et al., 2003; Lee et al., 2012), ou quando a indução de ONS é reduzida no epitélio respiratório (Wang et al., 2017).

O ON é produzido nos SP por consequência de estímulos inflamatórios. Dessa forma, pacientes com rinite alérgica apresentam aumento do nível de ON (portadores de rinite alérgica quando tratados com anti-histamínicos têm reduzida a sua dosagem de ON) (Hung et al., 2007; Kalpaklioglu; Kalkan, 2012), pois segundo Frieri (1998) e Duong-Quy et al. (2017), em pacientes com mucosa nasosinusal sem doença, o estímulo inflamatório causado pela rinite alérgica provoca aumento da produção de ON pela mucosa dos seios. Já na RSC, a mucosa doente não tem capacidade para produzir o volume adequado de ON, ocasionado redução da sua concentração.

A discinesia ciliar provoca alteração no batimento ciliar e, consequentemente, menor produção de ON. Assim, a técnica de dosagem do ar exalado das vias aéreas pode ser empregada junto com outros exames, no diagnóstico desta enfermidade.

Pode-se utilizar o valor de ON exalado para análise de doenças do trato superior e inferior (Yoshinami et al., 2012). A maior produção do ON ocorre na mucosa dos SP e em menor quantidade nas vias respiratórias inferiores (Lundberg, 1996). O ON também exerce função protetora antibacteriana, como se pode verificar pela presença de Staphylococcus aureus na mucosa da via aérea superior (Carey et al., 2015), e ainda pode atuar contra o biofilme de bactérias (Sulemankhila et al., 2012).

Também se verificou redução do nível de ON em indivíduos que utilizam descongestionantes nasais, pois o uso deste fármaco provoca aumento do volume da cavidade nasal, e também ocasiona a redução do fluxo sanguíneo na mucosa dos SP, com menor produção de ON. Portanto, o ON atuaria como regulador do volume da cavidade nasal por dilatação venosa da mucosa nasal (Massanobu et al., 2002). Após uso de adrenalina, Landis et al. (2003) observaram diminuição da dosagem do ON exalado pelas narinas, sendo que o uso crônico desses medicamentos pode atuar de forma nociva à integridade das defesas da mucosa representadas pelo ON.

Portanto, de posse dessas informações, inferiu-se que obtendo um método seguro, confortável, com baixo custo e principalmente eficaz, seria possível contribuir para a elucidação, o manejo e prognóstico de pacientes com RSC na atuação clínica.

De acordo com Robbins et al. (1996), podem ser utilizadas três técnicas de coleta de ON. A primeira técnica, coletar da boca do paciente diretamente para um analisador. A segunda forma de aquisição de ON pode ser por coleta de material da boca em um recipiente, ou ainda a terceira forma através da cavidade nasal com o ar exalado em tubo ou reservatório (Ependorf) para ser armazenado em temperatura adequada e, posteriormente, analisado. Os autores não detectaram diferenças entre as dosagens pelas três técnicas de medidas. Neste estudo optou-se pela técnica de coleta pelas narinas, com o paciente respirando pela boca e o material coletado e armazenado em temperaturas apropriadas para posterior análise em quimioluminescência.

Para se obter uma medida nasal sem influência das vias aéreas inferiores, deve-se solicitar o fechamento do palato mole por meio de um mecanismo de contrapressão (Kharitonov; Barnes, 1997; Tsujino et al., 1999). No presente estudo, a técnica padronizada com inspiração oral e expiração nasal com leve esforço, permitiu alcançar bons resultados. Foram obtidas amostras do ON expirado pelas narinas dos pacientes com RSC, por um método de coleta confortável, seguro, ergonômico, de baixo custo, utilizando equipamento de fácil aquisição e fácil manuseio pelos técnicos. Silkoff et al. (1999) apresentaram cinco técnicas de medidas de dosagem de ON, todas com excelente reprodutibilidade e aceitação, demonstrando valores semelhantes aos obtidos pela técnica utilizada neste estudo.

Em relação à idade da presente amostra, a média foi de 47 anos. Nos indivíduos sem RSC, a idade média foi de 40 a 86 anos, indicando média superior do grupo de pacientes. Não foram encontrados estudos na literatura que discutam sobre a menor ou maior produção de ON exalado pelas narinas, de acordo com o avançar da idade.

Não foi encontrada diferença significativa em relação ao sexo, embora o número de pacientes do sexo feminino da amostra fosse ligeiramente maior, de acordo com a literatura.

As dosagens de ON obtidas nos dois grupos mostrou diferença estatística significativa, pois o grupo com RSC apresentou níveis menores de ON expirado pelas narinas quando comparados com o grupo controle, evidenciando que a diferença na dosagem é real e que a doença crônica influencia o funcionamento da mucosa sinusal, diminuindo a produção de ON. A obstrução dos óstios na doença crônica não sinusal também acarreta menor liberação de ON no seu sítio de produção e consequente redução do ON expirado dosado nos pacientes. Taylor et al. (2006) demonstraram que pacientes com RSC apresentaram valores reduzidos de ON e utilizaram tais dados como forma de analisar a terapêutica empregada. Fu et al. (2017) aplicaram a técnica de medida de ON expirado pelas narinas para diagnóstico em doença nasosinusal unilateral, cujos resultados indicaram correlação entre a dosagem de ON (reduzida do lado doente), quando comparada com a dosagem do lado sem doença.

Foram realizados testes estatísticos com os sintomas prioritariamente referidos pelos pacientes. Tentou-se estabelecer relações isoladas entre os sintomas relatados pelos pacientes e a dosagem de ON. A obstrução nasal foi o sintoma mais comum das doenças do trato respiratório superior, e na RSC foi o mais evidente (Krouse et al., 2010). Este sintoma foi observado em todos os pacientes do grupo com RSC da amostra, indicando que tal incômodo obriga o paciente a procurar auxílio médico para tratamento. Por ser a queixa presente em todos os pacientes da amostra, sua presença foi utilizada somente para a correlação entre a quantidade de sintomas e a dosagem de ON.

A comparação entre os demais sintomas como secreção nasal, cacosmia e cefaleia não gerou diferença estatística significativa em relação à dosagem de ON expirado. Porém, a queixa de hiposmia trouxe tendência estatística em relação à dosagem de ON expirado, ou seja, quanto mais importante a queixa de hiposmia menor o valor de ON expirado. Não foram encontrados estudos que comparassem a menor ou maior dosagem de ON com a intensidade sintomatológica para serem discutidos com os achados do presente estudo.

Quando realizada a análise dos sintomas em conjunto, verificou-se correlação significativa, embora de forma tênue, entre o maior número de sintomas relatados e a dosagem de ON reduzida. Este parâmetro estatístico induz a pensar que quanto mais intensa a sintomatologia menor será o valor detectado de ON expirado pelas narinas de pacientes com RSC.

Também foi realizada comparação entre as comorbidades ou sua ausência e a dosagem de ON. Tanto os pacientes sem comorbidades como aqueles com comorbidades (hipertensão arterial, diabetes mellitus, asma, rinite alérgica, intolerância ao Ácido Acetil Salisílico - AAS) não apresentaram relações significativas quando analisadas isoladamente. Parikh et al. (2002) encontraram relação entre a dosagem de ON reduzida em pacientes com RSC e intolerância ao AAS. Carraro et al. (2007) afirmaram que os valores de ON estão em nível maior quando os pacientes com asma estão assintomáticos. Delclaux et al. (2008) descreveram que, independentemente da presença de asma, os valores de ON evidenciam aumento do seu nível no ar expirado pelas narinas, quando estes pacientes são submetidos ao tratamennto da RSC. Heffler et al. (2012) correlacionaram os valores de ON entre RSC e asma. Uma explicação para essa diferença de resultados poderia ser o tamanho da amostra.

A ausência de relação estatística também foi notada entre a dosagem de ON e a soma de comorbidades. Quando tentou-se realizar a correlação de dosagens menores de ON com a presença de mais de uma comorbidade também não se obteve diferença estatística.

O exame físico foi outro parâmetro estudado, sendo encontrada relação significativa entre a presença de PN e secreção nasal com a dosagem de ON, pois quando presentes o nível de ON encontrado era menor. O mesmo fato estatístico não se repetiu quando analisadas a deformidade septal e hipertrofia de conchas nasais, sugerindo que a secreção nasal e a presença de PN possam ocasionar um grau de comprometimento pior para a produção e/ou liberação do ON.

Ao se tentar estabelecer correlação estatística entre a dosagem de ON expirado pelas narinas de pacientes com RSC e os achados múltiplos no exame físico notou-se que esta foi negativa, indicando que o menor nível de ON expirado está associado às várias alterações no exame físico desses pacientes.

A dosagem de ON expirado pelas narinas pode ser realizada com o propósito de avaliar a terapêutica do tratamento de RSC em crianças e adultos (Baraldi et al., 1997), devido à facilidade de obtenção das amostras em relação aos demais exames como a endoscopia nasal e a TC. Para alguns autores, a diminuição da dosagem do ON coincidiu com os exames tomográficos que apresentaram maior número de SP comprometidos (Dabholkar et al., 2014; Fu et al., 2017). É possível estabelecer relação entre achados endoscópicos, TC e a dosagem de ON, para indicar qual poderia ser a melhor alternativa terapêutica segundo Delclaux et al. (2008).

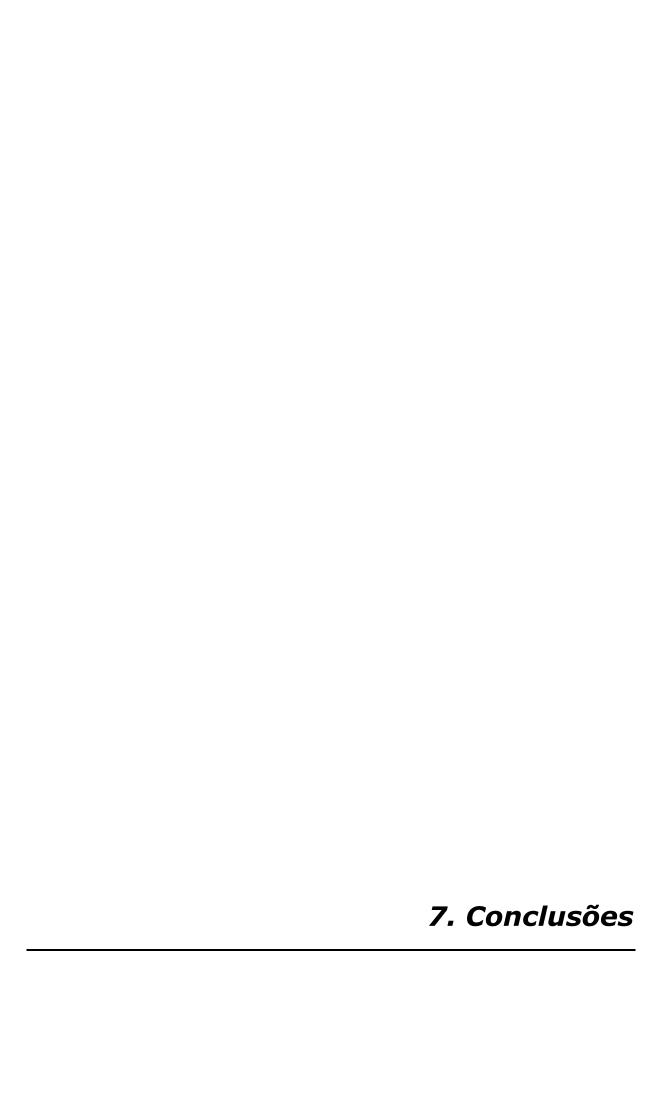
Os exames endoscópicos e a TC dos pacientes foram analisados utilizandose os escores de Lund-Mackay (Hopkins et al., 2007) para TC e Lund-Kennedy para endoscopia nasal, para cada paciente. Os achados comprovaram que quanto maior o escore, tanto na TC quanto na endoscopia nasal, menor o nível de ON, mostrando relação estatística significativa e corroborando com o uso desses exames no auxílio do manejo desses pacientes. A mesma relação estatística foi mostrada por Dabholkar et al. (2014), que relataram que quanto maior o escore obtido na TC menor o valor de ON expirado pelas narinas dos pacientes com RSC. Com recursos escassos e dificuldade para realização desses exames (endoscopia e TC), a dosagem de ON no ar expirado pelas narinas pode significar menor custo e boa eficiência para checar a resposta terapêutica.

Pacientes submetidos a tratamento cirúrgico apresentam dosagem de ON aumentada após a cirurgia e tal achado tem relação com a melhora da qualidade de vida desses indivíduos (Fu et al., 2015). A melhora do padrão de vida também foi verificada quando ocorreu melhora do escore da endoscopia após a cirurgia, associado ao aumento do nível de ON exalado (Lee et al., 2015).

Todos os pacientes do presente estudo foram submetidos à cirurgia endoscópica nasal e os achados de comprometimento dos seios foram avaliados e comparados com as dosagens de ON expirado pelas narinas, antes do procedimento cirúrgico.

Os achados cirúrgicos foram descritos como comprometimento dos seios em pares (1, 2, 3 e 4), para cada paciente, e os valores de ON obtidos antes do procedimento foram avaliados estatisticamente para tentar se estabelecer a correlação. Os dados obtidos após a realização dos testes estatísticos demonstraram relação significativa entre o maior número de seios da face comprometidos e os valores ON encontrados antes da cirurgia endoscópica nasal, indicando que quanto maior a extensão da RSC pior será a dosagem de ON, fato estatístico também analisado e confirmado por Fu et al. (2015).

Diante dos resultados obtidos, o que mais chama atenção é a possibilidade de avaliação dos pacientes portadores de RSC com ou sem PN por um método aqui padronizado, de fácil manuseio pelos técnicos e pelos pacientes, de baixo custo, não invasivo e que permite também comparar resultados antes e após a cirurgia.



- 1. Padronizou-se a dosagem de ON exalado pelas narinas para auxiliar na diagnose da RSC e, também, na escolha do tratamento e no monitoramento desta doença viabilizando um método de coleta confortável (independente da idade), seguro, ergonômico, não invasivo, de baixo custo, utilizando equipamento de fácil aquisição e de fácil manuseio pelos técnicos.
- 2. As dosagens de ON obtidas nos dois grupos mostraram diferença estatística significativa, pois o grupo com RSC apresentou níveis menores de ON expirado pelas narinas quando comparados com o grupo controle.
- 3. Não se observou diferença significativa em relação à presença de um tipo específico de sintoma com a dosagem de ON. Entretanto, os sintomas em conjunto demonstraram correlação negativa com a dosagem do ON expirado pelas narinas: quanto mais sintomas relatados menor a dosagem encontrada. Também não foram evidenciadas diferenças entre as comorbidades e o valor do ON obtido. Em relação aos achados no exame físico, a presença de PN e secreção nasal mostrou correlação significativa com os valores de ON expirado pelas narinas dos pacientes com RSC.
- 4. Quanto aos escores dos exames TC e endoscopia nasal, a análise estatística convergiu para um resultado de quanto maior o escore pior a dosagem de ON. Quanto maior o número de SP comprometidos com RSC, confirmado por cirurgias endoscópicas nasais, menor foi a dosagem de ON do ar expirado pelas narinas antes do procedimento cirúrgico.

8. Referências Bibliográficas¹ ¹Elaboradas de acordo com as Diretrizes para Apresentação de Dissertações e Teses da USP: Documento Eletrônico e Impresso - Parte IV (Vancouver) 3ª ed. São Paulo: SIBi/USP, 2016.

Adrie C, et al. Ehaled and nasal nitric oxide s a marker of pneumonia in ventilated patients. Am J Respire Crit Care Med. 2001;163(5):1143-9.

Al-Ayed TM, Withington DE, Davis GM. Mibimal exhaled nitric oxide in the lower respiratory tract of healthy children aged 2 to 7 years. Ann Saudi Med. 2005;25(2):120-3.

Andersson JA, et al. A decreased in maxillary sibus pressure, as seen in upper airway allergy or infection results in an increase in upper airway nitric oxide. Acta Otolaryngol. 2002;122(5):520-3.

Arnal JF, et al. Nasal nitric oxide conceptration in paranasal sinus inflammatory disease. Eur Respi J. 1999;13(2):307-12.

Augusto VS. Nitrito do condensado exalado pulmonar e nitrito plasmático. Estudo comparativo nos períodos pré e pós-operatório de pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2006.

Bachert C, et al. ICON: chronic rhinosinusitis. World Allergy Organ J. 2014;7(1):25.

Baraldi E, et al. Effect of antibiotic on nasal nitric oxide concentration in children with acute sinusitis. Am J Respirat Crit Care Med. 1997;155(5):1680-3.

Barthley J, et al. Normal adult values, diurnal varation and repeatability of asal nitric oxide measurement. Am J Rhinology.1999;13(5):401-5.

Bernardes JF, et al. Protein nitration in chronic sinusitis and nasal polyposis: role of eosinopholis. Otolaryngol Head Neck Surg. 2004;131(5):695-703.

Borrish L. Sinusitis and asthna enering the realm of evidence based medicine. J Allergy Clin Immunol. 2002;109(4):606-8.

Brinke A, et al. Chronic sinusitis in severe asthma is related to sputum eosinophilia. J Allergy Clin Immunol. 2002;109(4):621-6.

Carey RM, et al. Staphylococcus aureus triggers nitric oxide production in human upper airway epithelium. Int Forum Allergy Rhinol. 2015;5(9):808-13.

Carlén B, Stenram U. Primary ciliar dyskinesia. A Review. Ultrastruct Pathol. 2005;29(3-4):217-20.

Carraro S, et al. Exhaled nitric oxide n children with asthma and sinusitis. Pediatric Allergy Immunol. 2007;18(Supl. 18):28-30.

Cervin A, et al. One-year low dose erythromycin treatment of persistent chronical sinusitis after sinus surgery: clinical outcome and effects of mucociliary parameters and nasal nitric oxide. Otolaryngol Head Neck Surg. 2002;126(5):481-9.

Cole F. Pathophysiology and treatment of atway mucociliary clearance a moving tale. Minerva Anestesiol. 2001;67(4):206-9.

Costa E, França AT, Silva JRL. Nitric oxide and bronchial asthma - review. Rev Bras Alergia Imunol. 2005;22:2-10.

Corradi M, et al Nitrate in exhaled breath condensate of patients with different airway diseases. Nitric Oxide. 2003,8(1):26-30.

Curran AD. The role of nitric oxide in the development. Int Arch Allergy Immunol. 1996;111(1):1-4.

Dabholkar YG, et al. Correlation of nasal nitric oxide measurement with computed tomography finings in chronic rhinosinusitis. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. 2014;66(1):92-6.

Daniel PF, Klug B, Valerius NH. Measurements of exhaled nitric oxide in young children during tidal breathing through a facemask. Pediatr Allergy Immunol. 2005;16(3):248-53.

Daya H, et al. Nasal nitric oxide in children: a novel measurement technique and normal values. Laryngoscope. 2002;112(10):1831-5.

Degano B, et al. Effect of treatment on maxillary sinus and nasal nitric oxide Chest. concentrations patients with nosocomial maxillary sinusitis. in 2005;128(3):1698-705.

Delclaux C, et al. NITRIC oxide evaluation in upper and lower respiratory tracts in nasal polyposis. Clin Exp Allergy. 2008;38(7):1140-7.

Deja M, et al. Reduced nitric oxide in sinus epithelium of patients with radiologic maxillary sinusitis and sepsis. Am J Respirat Crit Care Med. 2003;168(3):281-6.

Djupesland PG, et al. Nitric oxide in the nose and paranasal sinuses respiratory tract. Physiology in a new perspective. Tidsskr Nor Laegeforen. 1999;119(27):4070-2.

Djupesland PG, Qian W, Haight JS. A new method for the remote collection of nasal and exhaled nitric oxide. Chest. 2001;20(5):1645-50.

Djupesland PG, et al. Nitric oxide in the nasal airway. A new dimension in otorhinolaryngology. Am J Otolaryngol. 2001;22(11):19-32.

Donohue JF, et al. Characterization of airway inflammation in patients with COPD using fractional exhaled nitric oxide levels: a pilot study. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2014;9:745-51.

Duong-Quy S, et al. Study of nasal nitric oxide levels in diagnosis of rhinitis in subjects with and without asthma. J Asthma Allergy. 2017;10:75-82.

Dweik RA, et al. An official ATS clinical pratice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels. Am J Respir Crit Care Med. 2011;184(5):602-15.

Flora Filho R, Zylberstein B. Nitric oxide: the simple messenger passing through complexity. Metabolism, synthesis and functions. Rev Assoc Med Bras (1992). 2000;46(3):265-71.

Fokkens WJ, et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps. Rhinology. 2012;50(1):1-12.

Förstermann U, Kleinert H. Nitric oxide synthase: expressional control of the three isoform. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 1995;352(4):351-64.

Fowler CJ, et al. Abnormal nasal nitric oxide production, ciliary beat frequency and toll-like receptor response in pulmonary nontuberculosis mycobacteria disease epiteliun. Am J Respir Crit Care Med. 2013;187(12):1374-81.

Frieri M. Nitric oxide in allergic rhinitis and asthma. Allergic Asthma Proc. 1998;19(6):349-51.

Fu CH, et al. Nasal nitric oxide in relation to quality-of-life improvements after endoscopic sinus surgery. Am J Rhinol Allergy. 2015;29(6):e187-91.

Fu CH, et al. Nasal nitric oxide in unilateral sinus disease. PLoS One. 2017;12(2):e0171965.

Furukawa K, et al. Expression of nitric oxide synthase in the human nasal mucosa. Am J Respir Crit Care Med. 1996;153(2):847-50.

Gabriele C, et al. Methodological aspects of exhaled nitric oxide measurements in infants. Pediatr Allergy Immunol. 2007 Feb;18(1):36-41.

Gaston B, et al. The biology of nitrogen oxides in the airways. Am J Respir Crit Care Med. 1994;149(2 Pt 1):538-51.

Giner Muñoz M. Exhaled nitric oxide. Allergol Immuopathol (Madrid). 2000;28(3):124-

Grierson I. Glaucoma and nitric oxide. Lancet 1996;347(9018):1781-2.

Gungor A, Vural C. A method for off-line nitric oxide measurement. Ear Nose Throat J. 2002;81(7):449-53.

Hariri BM, et al. In vitro effects of anthocyanidins on sinosal epithelial nitric oxide production and bacterial physiology. Am J Rhinol Allergy. 2015;30(4):261-8.

Heffler E, et al. 31 nasal nitric oxide and nasal polyposis as determinants of asthma control. World Allergy Organ J. 2012;5(Suppl 2):s28.

Hess A, et al. Detection of nitric oxide synthases in physiological and pathophysiological processes of the nasal mucosa. HNO. 2000;48(7):489-95.

Hopkins C, et al. The Lund-Mackay system for chronic rhinosinusitis. How is it used and what does it predict? Otolaryngol Head Neck Surg. 2007;137(4):555-61.

Horváth I, et al. Comparison of exhaled and nasal nitric oxide and exhaled carbon monoxide levels in bronchiectatic patients with and without primary ciliary dyskinesia. Thorax. 2003;58(1):68-72.

Hung CH, et al. Montelukast decreased exhaled nitric oxide in children with perennial allergic rhinitis. Pediatr Int. 2007;49(3):322-7.

Ignarro LJ, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and veins in nitric oxide. Proc Natl. Acad Sci USA. 1987;84(242):9265-9.

Jiang B, Yang S, Lin C. The study of the different time treatment and the lower frequencies to the inducible isoform of nitric oxide synthase after endoscopic surgery. Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2007;21(11):481-3.

Kalpaklioglu AF, Kalkan IK. Comparison of orally exhaled nitric oxide in allergic versus nonallergic rhinitis. Am JRhinol Allergy. 2012;26(2):e50-4.

Kawamoto H, et al. Measurement of expired nitric oxide concentration. Jpn J Allergol. 1998;47(4);413-9.

Kharitonov SA, Barnes PJ. Nasal contribution to exhaled nitric oxide during exhalation against resistance or during breath holding. Thorax.1997;52(6):540-4.

Kharitonov SA, Walker L, Barnes PJ. Repeatability of standardised nasal nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. Respir Med. 2005;99(9):1105-14.

Kim HB, et al. Exhaled NO: Determinants and clinical application in children with allergic airway disease. Allergy Asthma Immunol Res. 2016;8(1):12-21.

Kim YD, et al. Distribution of nitric oxide in the nasal mucosa of the rat: a histochemical study. Auris Nasus Laryns. 1997;24(4):373-8.

Kobzik L, et al. Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization. Respir Cell Mol Biol. 1993;9(4)371-7.

Krouse J, et al. Diagnostic strategies in nasal congestion. Int J Gen Medicine. 2010;3:59-67.

Landis BN, et al. Somato sympathetic vasoconstriction to intranasal fluid administration consecutive decrease in nasal nitric oxide. Acta Phyiol Scand. 2003;177(4):507-15.

Lanz MJ, et al. Nasal nitric oxide as a noninvasive marker in the antibiotic treatment of acute bacterial sinusitis. J Allergy Clin Immunol. 2007;121(2):530-1.

Lassen LH, et al. Nitric oxide synthase inhibition in migraine. Lancet. 1997;34(9049):471-2.

Lee JM, et al. Nasal nitric oxide as a marker of sinus mucosal health in patients with nasal polyposis. Int Forum Allergy Rhinol. 2015;5(10):894-9.

Lee KJ, et al. Nasal and exhaled nitric oxide in allergic rhinitis. Clin Exp Otorhinolaryngol, 2012;5(4):228-233.

Lefevere L, et al. Nasal nitric oxide. Acta Otorhinolaryngol Belg. 2000;54(3):271-80.

Lima WTA, et al. Rinossinusites. Evidências e experiências. Brazilian Journal of Otorhinolaringol. 2015;81(Suppl 1):S1-S49.

Lindberg S, Cervin A, Runer T. Nitric oxide (NO) production in the upper airways is decreased in chronic sinusitis. Acta Oyolaryngol. 1997a;117(1):113-7.

Lindberg S, Cervin A, Runer T. Low levels of nasal nitric oxide correlate to impaired mucociliary function in the upper airway. Acta Otolaryngol. 1997b;117(5):728-34.

Liu C, et al. Role of exhaled nasal nitric oxide in distinguishing between chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. Am J Rhinol Allergy. 2017;31(6):389-94.

Lui J. Thomas PS. Exhaled breath condensates as a method of sampling airway nitric oxide and other markes of inflammation. Med Sci Monit. 2005;11(8):MT53-62.

Lundberg JO, et al. High nitric oxide production in human paranasal sinuses. Nat Med. 1995;1(4):370-3.

Lundberg JO. Airborne nitric oxide: inflammatory marker and aerocrine messenger in mam. Acta Physiol Scand Suppl. 1996;633:1-27.

Lundberg JO, et al. Exhaled nitric oxide in paedriatric astma and cystic fibrosis. Arch Dis Child. 1996a;75(4):323-6.

Lundberg JO, et al. Nitric oxide in exhaled air. Eur Respir J. 1996b;9(12):2671-80.

Lundberg JO. Acute purulent sinusitis triggered by topical nasal nitric oxide synthase inhibition. Am J Respir Crit Care Med. 2005;172(4):

Malinovschi A, et al. Application of nitric oxide measurements in clinical conditions beyond asthma. Eur Clin Respir J. 2015;2:28517.

Maniscalco M, et al. Assessment of nasal and sinus nitric oxide output using single breath humming exhalations. Eur Respir J. 2003a;22(2):323-9.

Maniscalco M, et al. Nasal nitric oxide measurement before and after repeated humming maneuvers. Eur J Clin Invest. 2003b;33(2):1090-4.

Maniscalco M, et al. Humming-induced release of nasal nitric oxide for assessment of sinus obstruction in allergic rhinitis: pilot study. Eur J Clin Invest. 2004;34(8):555-60.

Massanobu I, et al. Function roles of nasal nitric oxide in pateny and mucociliary function. Acta Otolaryngol. 2002;122:513-59.

Mizutani T, Layon J. Clinical application of nitric oxide. Chest Journal 1996;110(2):506-24.

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev. 1991;43(2):109-42.

Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med. 1993;329(27):2002-12.

Murphy AW, et al. Respiratory nitric oxide levels in experimental human influenza. Chest. 1998;114(2):452-6.

Nakano H, et al. Reduced nasal nitric oxide in diffuse panbronchiolitis. Am J Respirat Crit Care Med. 2000;162(6):2218-20.

Napolitano CV, et al. Expresión de óxido nítrico sintetasa en mucosa sinusal de pacientes portadores de sinusitis crónica versus controles. Rev. Otorrinolaringol Cir Cabeza Cuello. 2007;67(2):108-14.

Naraghi M, et al. Nitric oxide a new concept in chronic sinusitis pathogenesis. Am J Otolaryngol 2007;28(5):334-337.

Noone PG, et al. Primary ciliary diagnostic and phenotypic features. Am J Reapirat Crit Care Med. 2004;169(4):459-67.

Oh CK, Miman MC, Duncavage JA. Current value of nasal nitric oxide measurement in rhinology. Curr Opin Otolaringol Head Neck Surg. 2004;12(1):30-3.

Osanai S, et al. Exhaled Nitric Oxide. Nippon Riosho. 2000:58(8).1665-1670.

Oztürk M, et al. Serum and mucosal nitric oxide levels and efficacy of sodium nitroprussid in a experimentally induced acute sinusitis. Yonsei Med J. 2003;44(3):424-8.

Palm J, et al. Nasal nitric oxide is reduced in patients with HIV. Acta Otlaryngol. 2000;120(3):420-3.

Parikh A, et al. High levels of nitric oxide synthase are associated with polyp tissue from aspirin-sensitive asthmatics. Acta Otolaryngol. 2002;122:3302-5.

Pilan RR, Pina FR, Bezerra TF. Prevalence of chronic rhinosinusitis in São Paulo.Rhinology, 2012,50(2):129-38.

Prould D. Nitric oxide and the common cold. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2005;5(1):37-42.

Qian W, et al. Aspiration flow optimized for nasal nitric oxide measurement. Rhinology. 1999;37(2):61-5.

Ragab SM, Lund VJ, Scadding G. Evaluation of the medical and surgical treatmen of chronic rhinosinusitis. A prospective randomized controlled trial. Laryngoscope. 2004;114(5):923-30.

Ragab SM, et al. Nasal nitric oxide in objective evaluation of chronic rhinosinusitis therapy. Allergy. 2006;61(6):717-24.

Reis GR, et al. Exhaled breath condensate collection for nitrite dosage a safe and low cost adaptation. Acta Cir Bras. 2010;25(2):206-13.

Ricciardolo FL, et al. Nitric oxide in healthe and disease of the respiratory system. Physiol Rev. 2004;84(3):731-65.

Robbins RA, et al. Measurement of exhaled nitric oxide by three different techniques. Am J Respir Crit Care Med. 1996;153(5):1631-5.

Rolla G, et al. Exhaled nitric oxide as a marker of diseases. Recenti Prog Med. 2005;96(12):834-40.

Rolla G, et al. Diagnostic classification of persistent rhinitis and its relationships to exhaled nitric oxide and asthma a clinical study of a consecutive series of patients. Chest. 2007;131(5):1345-52.

Rosbe KW, et al. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase activity n upper respiratory epithelium. Laryngoscope.1996;106(9 Pt 1):1075-9.

Samb A, et al. Decreased pulmonary and tracheal smooth muscle expression and activity of type 1 nitric oxide synthase (nNOS) after ovalbumin immunization and multiple aerosol challenge in guinea pigs. Am J Respir Crit Care Med. 2001;164(1):149-54.

Sanders SP, et al. Role of nasal nitric oxide in the resolution of experimental rhinovirus infection. J Allergy Clin Immunol. 2004;113(4):697-702.

Scadding G. Nitric oxide in the airways. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2007;15(4):258-63.

Schlosser RJ, et al. Elevated nitric oxide metabolite levels in chronic sinusitis. Otolaryngol Head Neck Surg. 2000;123(4):357-62.

Shusterman DJ, et al. Documentation of nasal nitric oxide response to humming method evaluation. Eur J Clin Ivest. 2007;37(9):746-52.

Silkoff PE, et al. Nasal nitric oxide a comparasion of measurement techniques. Am J Rhinol. 1999;13(3):168-78.

Steeremberg PA, et al. Acute effect or air pollution on respiratory complaints exhaled no and biomarkers in nasal lavages of allergic children during the pollen season. Arch Allergy Immunol. 2003;131(2):127-37.

Stevens WW, et al. Chronic rhinosinusitis pathogenesis. J Allergy Clin Immunol. 2015;136(6):1442-53.

Stewart TE, et al. Increased nitric oxide in exhaled gas as an early marker of lung inflammation in a model of sepsis. Am J Respir Crit Care Med. 1995;151(3 Pt 1):713-

Struben VW, et al. Silent and humming nasal no measurements in adults aged 18-70 years. Eur J Clin Invest. 2005;35(10):653-7.

Struben VM, et al. Nasal nitric oxide in cystic fibrosis with and without humming. Eur J Clin Invest. 2007;37(2):140-4.

Sulemankhila I, et al. Prevention and treatment of virulent bacterial biofilms with an oxide-releasing enzymatic nitric dressing. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56:(12):6095-6103.

Takeno S, et al. Comparison of the nasal nitric oxide levels between the inferior turbinate surface the middle meatus in patients with symptomatic allergic rhinitis. Allergol Int. 2014;63(3):475-83.

Tamaoki J, et al. Impairment of airway mucociliary transport in patients with sinobronchial syndrom. Role of nitric oxide. J Aerosol Med. 2000;13(3)239-44.

Taylor DR, et al. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. Thorax. 2006:61(9):817-27.

Tee AK, Hui KP. Effect of spirometric maneuver nasal clip, and submaximal inspiratory effort on measurement of exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. Chest. 2005;127(1):131-4.

Thébaud B, et al. Inhaled and exhaled nitric oxide. Cell Mol Life Sci. 1999;55(8-9):1103-12.

Torretta S, et al. Nasal nitric oxide in children with adenoidal hypertrophy: a preliminary study. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2010;74(6):689-93.

Tsujino I, et al. Measurement of exhaled nitric oxide concentration using nasal continuous negative pressure. Respirology. 1999:4(2):156-9.

van't Hof RJ, Ralston SH. Nitric oxide and bone. Immunology. 2001;103(3):255-61.

van Mastrigt E, Gabriele C, de Jongste JC. Exhaled nitric oxide in infants- what is a nice test like feno doing in a place like this? Semin Respir Crit Care Med. 2007;28(3):264-71.

Vural C, Güngör A. Nitric oxide and the upper airways: recent discoveries. Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg. 2003;10(1):39-44.

Wang F, Su Z, Wang L. Effect of nitric oxide n ciliary beat frequency in the human nasal mucosa. Zhonghua Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. 2000;35(6):432-4.

Wang PP, et al. Nasal nitric oxide in allergic rhinitis in children and its relationship to severity and treatment. Allergy Asthma Clin Immunol. 2017;13:20.

Weitzberg E, Lundberg JO. Humming greatly increases nasal nitric oxide. Am J Respir Crit Care Med. 2002;166(2):144-5.

Westerveld GJ, et al. Inhibition of nitric oxide synthase by nasal decongestants. Eur Respir J. 2000;16(3);437-44.

Wodehouse T, et al. Nasal nitric oxide measurements for the screening of primary ciliary dyskinesia. Eur Respir J. 2003;21(1):43-7.

Yan CH, et al. Nitric oxide production is stimulated by bitter taste receptors ubiquitously expressed in the sinonasal cavity. Am J Rhinol Allergy. 2017;31(2):85-92.

Yoshimura T, et al. Expression of nitric oxide in nasal polyps. Allergy Asthma Clin Imunol. 2010;6(Suppl 2):P21.

Yoshinami H, et al. The examination of the association between the chronic rhinosinusitis and the inflammation of the lower respiratory airway by using the exhaled nitric oxide and respiratory function test. J Allergy Clin Imunol. 2012;129(Suppl 2):AB45.

Yune S, et al. Fractional exhaled nitric oxide: comparison between portable devices and correlation with sputum eosinophils. Allergy Asthma Imunol Res. 2015;7(4):404-8.



ANEXO A

COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Ribeirão Preto, 04 de abril de 2013

Oficio nº 1139/2013 CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 17152/2012

Prezados Pesquisadores,

O trabalho intitulado "DOSAGEM DE ÓXIDO NÍTRICO NO AR EXPIRADO PELAS NARINAS EM PACIENTES COM RINOSSINUSITE CRÔNICA", foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 363" Reunião Ordinária realizada em 01/04/2013, e enquadrado na categoria: APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido datado de 01 de abril de 2013.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa. De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARĀES VILLANOVA

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores
JORGE NASSAR FILHO

PROFª DRª WILMA TEREZINHA ANSELMO LIMA (Orientadora)

Depto. de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Protocolo: Detecção de Óxido Nítrico no ar expirado pelas narinas em pacientes com Rinossinusite Crônica.

Investigadores: Profa. Dra. Wilma T. Anselmo Lima e Dr. Jorge Nassar Filho

Centro de pesquisa: Hospital das Clínicas da FMRP-USP - Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço - Av. Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto - São Paulo - Tel.: (16) 3602-2863

Este documento pode conter palavras que você não compreende. Você deve ler este documento com muito cuidado, e perguntar todas as suas duvidas, de forma que você possa entender o que significa a sua participação nesta pesquisa. Por favor, entenda que ao assinar este documento, você estará concordando em participar de uma pesquisa clínica, e, portanto, não deverá restar dúvidas. Estamos a sua disposição para responder as suas perguntas.

1. Convite em participar

Você está sendo convidado a participar como voluntário em uma pesquisa clínica. Antes de tomar qualquer decisão, você deve ler este documento, que é chamado de "Termo de Consentimento Livre e Esclarecido". Ele explica todos os detalhes da pesquisa. Você pode recusar a participar sem que isso seja anotado em seu prontuário ou tenha qualquer tipo de pena a essa atitude. Não haverá qualquer alteração no curso do seu tratamento.

Esta pesquisa servirá para verificar a presença de óxido nítrico nos pacientes com rinossinusite, utilizando métodos bem conceituados no exterior, mas ainda não padronizados no Brasil. Será dosado óxido nítrico em pessoas sem rinossinusite, e comparar com pessoas com rinossinusite, para verificar se esta substância está em concentração diferente, na pessoa com rinossinusite, e, na pessoa sem doença.

2. Procedimento

Caso você concorde, será submetido à colocação de uma sonda no seu nariz, e você respirará por 10 minutos e o ar será coletado em tubos.

3. Objetivo

A rinossinusite crônica é uma doença inflamatória, e seu tratamento baseia-se na diminuição do processo inflamatório, queremos verificar se o óxido nítrico participa no aparecimento da doença.

4. Riscos e Possíveis Complicações

Não haverá riscos porque não serão administradas medicações.

5. Possíveis Benefícios do Estudo

Esse estudo tentará avaliar a eficiência destes testes para saber se o paciente apresenta melhora no tratamento da rinossinusite crônica, com o futuro objetivo de aprovar a realização destes testes no Brasil.

6.Pagamento por Participação

Você não receberá qualquer pagamento por sua participação neste estudo.

7.Confidencialidade

Os registros de sua participação neste estudo serão mantidos sob sigilo pelo tempo permitido por lei. No entanto, o médico responsável pelo estudo e, mediante certa circunstância, as autoridades de Saúde Brasileira e o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) poderão inspecionar e ter acesso, aos dados confidenciais que o identifiquem pelo nome.

Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este documento, você autoriza o médico responsável para a sua publicação.

Você poderá desistir de participar desta pesquisa a qualquer momento, e, isto, não vai prejudicar em nada seu tratamento.

8. Telefone de Contato e Registro da Pesquisa

(16)3602-2321- Urgência: (16) 3602-7771

Registro da Pesquisa CONEP

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humana

9. Consentimento

Assinando abaixo, confirmo que:

- a) Li este documento, denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, expresso em linguagem a mim compreensível:
- b) Compreendi que se trata de um processo de pesquisa clínica, e que minha participação é voluntaria:
- c) Tive oportunidade de esclarecer dúvidas e discutir minhas preocupações com o médico responsável pelo estudo:
- d) Recebi do médico responsável a explicação adequada sobre esta pesquisa, e compreendi os objetivos, os procedimentos, os riscos e os benefícios envolvidos no estudo:
- e) Entendi que não abri mão de nenhum de meus direitos legais no caos de negligencia ou outra falha cometida por qualquer pessoa envolvida neste estudo.

Portanto concordo em participar desta pesquisa e entendo que, ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, não abri mão de nenhum dos meus direitos legais.

Receperer uma copia assinada deste documento	J.
Nome legível do sujeito da pesquisa	 Data
Assinatura do sujeito da pesquisa	 Data
Assinatura do responsável legal (se aplicável)	
Assinatura do membro da equipe da pesquisa	 Data

ANEXO C

ESCORE DE LUND-MACKAY

Chart 1. Lund-Kennedy score of endoscopic assessment.

Characteristics	Nasal cavity			
	right	left		
Polyp (0,1,2)				
Edema (0,1,2)				
Secretion (0,1,2)				
total				
Note: Polyp: 0 - absent; 1 - limited to the middle meatus; 2				
- extending to the nasa	al cavity			
Mucosa edema: 0- absent; 1- mild/moderate edema; 2-				
polypoid degeneration	1			
Secretion: 0 absent; 1	hyaline; 2- thic	k and/or mucopurul	lent	

O escore de Lund-Mackay é um método amplamente utilizado para o estadiamento radiológico da rinossinusite crônica. 1.

Ao ler uma tomografia computadorizada dos seios paranasais e complexo ostiomeatal, o leitor atribui a cada seio uma pontuação de.

- 0 (sem anormalidade)
- 1 (opacificação parcial) ou
- 2 (completa opacificação)
- O complexo ostiomeatal é atribuído a uma pontuação de 0 (não obstruída) ou 2 (obstruída).

Os seios são agrupados em

- Seio frontal
- Células etmoidais anteriores
- células etmoidais posteriores
- Seio maxilar
- Seio esfenoidal
- Complexo ostiomeatal

Cada lado é classificado separadamente. Uma pontuação combinada de até 24 é possível. De notar, um seio frontal aplástica (ausente) recebe uma pontuação de 0.

O método é intencionalmente simplista, com o objetivo de minimizar a variabilidade interobservador e acelerar sua aplicação. 2 Assim, se presta a aplicação por não-radiologistas e em estudos clínicos. 1 Apesar da sua simplicidade, correlaciona-se bem com a gravidade da doença, a extensão da cirurgia e as taxas de complicações, mesmo independentemente da extensão da cirurgia.