

Luciana Rabello de Oliveira

Efeitos agudos da pressão positiva contínua de vias aéreas (CPAP) e impacto da umidificação e vazamento aéreo sobre o transporte mucociliar e inflamação nasal de indivíduos sadios

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental

Orientador: Dr. Geraldo Lorenzi Filho

São Paulo

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Oliveira, Luciana Rabello de

Efeitos agudos da pressão positiva contínua de vias aéreas (CPAP) e impacto da umidificação e vazamento aéreo sobre o transporte mucociliar e inflamação nasal de indivíduos saudáveis / Luciana Rabello de Oliveira. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental.

Orientador: Geraldo Lorenzi Filho.

Descritores: 1.Pressão positiva contínua na vias aéreas 2.Depuração mucociliar 3.Sacarina/uso diagnóstico 4.Sinais e sintomas respiratórios 5.Líquido da lavagem nasal

USP/FM/SBD-003/07

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar meu orientador Dr. Geraldo Lorenzi Filho que com muita disposição me acolheu neste laboratório e com muita paciência e sabedoria me ajudou a trilhar este caminho;

Agradeço aos membros do Grupo de Defesa Pulmonar de maneira especial: Regiane Carvalho de Oliveira, Claudia Simeire Albertini Yagi, Naomi Kondo Nakagawa, Elnara Marcia Negri, Mariângela Macchione, Alessandra Choqueta de Toledo e Andrea Cristina Pereira pelo companheirismo e não vaidade em compartilhar o conhecimento;

Agradeço a colaboração dos membros do Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental em especial; Beatriz Saraiva-Romanholo e Francine Almeida pela valiosa contribuição;

Agradeço aos membros do Laboratório do Sono do INCOR/ FMUSP em especial Adelaide Cristina Figueiredo, por todo o apoio;

Agradeço a todos os que se voluntariaram na realização deste protocolo de pesquisa, por compartilharem o interesse pela pesquisa e seus resultados;

E por fim, mas não com menor intensidade agradeço a minha família que me proporcionou o acesso ao conhecimento, base para uma formação sólida e humana.

Esta tese está de acordo com:

Referências: Adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	
Lista de figuras	
Lista de Tabelas	
Lista de Gráficos	
Resumo	
Summary	
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Síndrome da Apnéia Obstrutiva do Sono (SAOS)	5
1.2 O papel do nariz na SAOS.....	8
1.2.1 Transporte Mucociliar	12
1.2.2 Muco Respiratório	14
1.2.3 Cílios.....	16
1.3 Tratamento da SAOS.....	18
1.3.1 Tratamento com CPAP	19
2. OBJETIVO	26
3. MÉTODOS.....	28
3.1 Sujeitos	29
3.2 Experimento I.....	30
3.3 Experimento II.....	31
3.4 Temperatura e Umidade	32
3.5 Análise do transporte mucociliar nasal	32
3.6 Coleta do muco nasal	33
3.6.1 Análise da transportabilidade <i>in vitro</i> do muco nasal.....	34
3.7 Coleta e análise do lavado nasal	36
3.8 Pesquisa de sintomas respiratórios	37
3.9 Método estatístico.....	38
4. RESULTADOS.....	40
4.1 Sujeitos	41
4.2 Temperatura e Umidade	42
4.3 Transporte Mucociliar nasal	44
4.4 Transportabilidade <i>in vitro</i> do muco nasal.....	45
4.5 Lavado nasal.....	46
4.6 Sintomas respiratórios	48
5. DISCUSSÃO.....	51
6. CONCLUSÕES.....	65
7. ANEXOS.....	67
8. REFERÊNCIAS	72

LISTA DE ABREVIATURAS

nCPAP	pressão positiva contínua nasal
SAOS	síndrome da apnéia obstrutiva do sono
U +	presença de umidificação aquecida
U -	ausência de umidificação aquecida
V +	presença de vazamento aéreo
V -	ausência de vazamento aéreo
DTT	dithiothreitol
ml	mililitro
µl	microlitro
µg	micrograma
µm	micrômetro
mm	milímetro
g/ m ³	gramas por metro cúbico
rpm	rotações por minuto
EVA	escala visual analógica
DV	desvio padrão
cols.	colaboradores

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura do epitélio das vias aéreas	13
Figura 2.	Células do epitélio respiratório e aparelho mucociliar	15
Figura 3.	Ciclo do batimento ciliar	17
Figura 4.	Descrição da utilização do CPAP como tratamento para SAOS.....	20
Figura 5.	Representação esquemática do transporte mucociliar em palato de rã.....	35

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Dados demográficos dos indivíduos estudados em ambos os experimentos..... 41
- Tabela 2** – Média (dos trinta minutos de intervenção) \pm desvio padrão dos valores de Temperatura ambiente, Temperatura da máscara, Umidade absoluta e relativa do ar dentro da máscara, das quatro intervenções com o CPAP do Experimento I..... 43
- Tabela 3** – Média (dos trinta minutos de intervenção) \pm desvio padrão dos valores de Temperatura ambiente, Temperatura da máscara, Umidade absoluta e relativa do ar dentro da máscara, das duas intervenções com o CPAP do Experimento II..... 43
- Tabela 4** – Porcentagem de células inflamatórias e epiteliais calculada sobre o número total de células contadas em cada lâmina. 47

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1:** Representação gráfica das médias dos valores do teste da sacarina durante o Experimento I. 44
- Gráfico 2:** Representação gráfica das médias dos valores de velocidade relativa em palato de rã durante o Experimento I. ... 46
- Gráfico 3:** Valores de delta (Diferença entre o pré e o pós intervenções com CPAP) da EVA para os sintomas respiratórios estudados durante o Experimento I 49
- Gráfico 4:** Valores de delta (Diferença entre o pré e o pós intervenções com CPAP) da EVA para os sintomas respiratórios estudados durante o Experimento II 50

RESUMO

Oliveira LR. *Efeitos agudos da pressão positiva contínua nasal sobre o transporte mucociliar de indivíduos saudáveis: impacto da umidificação e vazamento aéreo* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 85p.

A pressão positiva contínua nas vias aéreas (CPAP) é o tratamento de escolha para pacientes com Apnéia Obstrutiva do Sono, mas muitos sintomas nasais conseqüentes da terapia são relatados. Vazamentos aéreos pela boca e alterações do epitélio respiratório são importantes no desenvolvimento de sintomas nasais e a umidificação aquecida é utilizada no alívio destes sintomas. O objetivo deste trabalho foi o de investigar os efeitos agudos do nCPAP e o impacto da umidificação aquecida e vazamento aéreo no transporte mucociliar e inflamação nasal de indivíduos saudáveis. Para este fim avaliamos o transporte mucociliar nasal *in vivo* (através do Teste da Sacarina), a transportabilidade *in vitro* do muco nasal (através do Método Palato de Rã), lavado nasal e sintomas respiratórios (através de uma Escala Visual Analógica) de dezesseis indivíduos saudáveis antes e após aplicação aguda do CPAP sobre diferentes condições: CPAP com e sem umidificação aquecida e CPAP com e sem vazamento aéreo. O transporte mucociliar nasal *in vivo* aumentou significativamente após todas as intervenções com CPAP. Não houve diferença significativa da transportabilidade do muco, contagem total e diferencial de células inflamatórias provenientes do lavado nasal após nenhuma das intervenções com o CPAP. Houve um aumento significativo da percepção subjetiva dos sintomas respiratórios estudados após o uso do CPAP sem umidificação e com vazamento aéreo. Concluímos que o uso agudo do CPAP independente da umidificação ou vazamento aéreo, aumenta significativamente o transporte mucociliar nasal *in vivo*, não altera significativamente a transportabilidade do muco nasal nem a composição celular de amostras de lavado nasal. Já o uso do CPAP sem umidificação e com vazamento aéreo causa aumento significativo dos sintomas de ressecamento nasal e de garganta, coriza e obstrução nasal.

Descritores: 1- Pressão Positiva Contínua nas vias aéreas; 2- Depuração mucociliar; 3- Sacarina/ Uso diagnóstico; 4- Sinais e Sintomas Respiratórios; 5- Líquido da Lavagem Nasal.

SUMMARY

Oliveira LR. *Acute effects of continuous positive airway pressure on mucociliary clearance of healthy subjects: The impact of humidification and air leak* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2007. 85p.

Continuous positive airway pressure (CPAP) is the treatment of choice for patients with Obstructive Sleep Apnea but yet nasal symptoms are often reported. Air leaks and changes of the respiratory epithelium are important in the development of nasal symptoms and heated humidification is used to alleviate these symptoms. The aim of this study was to investigate the acute effects of CPAP and the impact of heated humidification and air leak on the nasal mucociliary clearance and nasal inflammation of healthy volunteers. To this end we evaluated nasal mucociliary clearance *in vivo* (through the Saccharin Test), *in vitro* nasal mucus transportability (through the Frog Palate Model), nasal lavage and respiratory symptoms (through a Visual Analogue Scale) of sixteen healthy volunteers before and after acute CPAP application under different conditions: CPAP with and without heated humidification and with and without air leak. *In vivo* nasal mucociliary clearance increased significantly after all CPAP interventions. There was no significant difference in mucus transportability, total or differential inflammatory cell count from the nasal lavage after any CPAP intervention. There was a significant increase in the subjective perception of the respiratory symptoms studied after the use of CPAP without humidification and with air leak. We conclude that the acute use of CPAP independently of humidification or air leak significantly increases *in vivo* nasal mucociliary clearance, doesn't change mucus transportability and total or differential cell count. However, the use of CPAP without humidification and with air leak significantly increased nasal and throat dryness, coryza and nasal obstruction subjective perception.

Descriptors: 1- Continuous Positive airway Pressure; 2- Mucociliary clearance; 3- Saccharin/ Diagnostic use; 4- Respiratory signs and symptoms; 5- Nasal Lavage Fluid.

1. INTRODUÇÃO

O presente trabalho aborda os efeitos agudos do uso da pressão positiva contínua em vias aéreas (CPAP) e o impacto da umidificação aquecida e do vazamento aéreo sobre o transporte mucociliar e inflamação nasal de indivíduos saudáveis.

O CPAP é o tratamento de escolha para pacientes com a síndrome da apnéia obstrutiva do sono (SAOS) de grau moderado a grave. No entanto muitos sintomas nasais são relatados durante o tratamento com o CPAP^{1,2}. Esses sintomas causam desconforto ao paciente, que pode abandonar o tratamento apesar de constatar melhora de seu quadro geral³. Os mecanismos responsáveis por estes sintomas ainda não são completamente conhecidos.

Para que o CPAP nasal funcione efetivamente, é necessária uma máscara nasal bem ajustada que proporcione adequada vedação para manter a pressão positiva. Adicionalmente, os pacientes devem manter a boca fechada enquanto fazem uso do CPAP⁴. Durante o sono, a boca pode abrir-se passivamente, gerando um fluxo de ar unidirecional que entra pelo nariz e sai pela boca⁵. O vazamento aéreo pela boca pode ser um fator importante no desenvolvimento de sintomas nasais³. Mesmo curtos períodos de vazamento aéreo pela boca com o CPAP nasal podem causar um aumento do fluxo sanguíneo e resistência nasal de indivíduos saudáveis^{5,6}.

Uma vez estabelecida a obstrução nasal, a respiração tende a tornar-se predominantemente bucal. A respiração bucal, por sua vez, gera mais roubo de fluxo aéreo, com conseqüente perda respiratória de calor e umidade, o que agrava os sintomas nasais e a respiração bucal, estabelecendo-se desta forma um ciclo vicioso ⁷.

Neste contexto, o uso da umidificação aquecida acoplada ao circuito do CPAP é eficaz na prevenção e alívio dos sintomas nasais e na melhora do conforto ao paciente ⁸. O ressecamento das vias aéreas é fator importante no desenvolvimento de desconforto nasal durante a terapia com CPAP ⁸. A umidificação aquecida pode prevenir a desidratação da mucosa e aumentar significativamente o uso diário do CPAP, pela redução dos sintomas respiratórios ^{9, 10}.

A obstrução nasal entre outros sintomas comprometem o funcionamento adequado do CPAP nasal e a adesão ao tratamento como já mencionado. Os pacientes portadores de SAOS, em geral apresentam uma série de disfunções respiratórias como rinite alérgica e obstrução nasal crônica mesmo antes do início da terapia com CPAP ^{1,11,12}. Existem evidências de que estes pacientes apresentam inflamação nasal com ausência de sintomas clínicos de rinite ¹³ e de que os sintomas nasais manifestos após o uso do CPAP, nada mais são que a exacerbação de condições nasais preexistentes ¹⁴.

Os efeitos do CPAP sobre o epitélio respiratório nasal são relativamente inexplorados. Evidências de que o CPAP pode aumentar a inflamação nasal de pacientes com SAOS e que, em alguns casos, pode

promover uma rinite vasomotora, são utilizadas para justificar a diminuição da adesão ao tratamento ¹¹.

O epitélio das vias aéreas superiores forma a primeira linha de defesa do organismo contra agentes tóxicos e infecciosos provenientes do ar inalado. A mais importante das funções do epitélio respiratório saudável é a secreção de muco e seu transporte, promovendo a remoção de partículas depositadas nas vias aéreas ¹⁵. O epitélio possui também papel importante na homeostase do organismo, regulando a umidade do ar inspirado, participando do ajuste da temperatura corpórea e ajuste entre ventilação e perfusão nos pulmões. Portanto, qualquer situação que modifique o transporte mucociliar pode ser um fator de risco para a defesa das vias aéreas. Alterações do transporte mucociliar têm sido observadas após a exposição das vias aéreas a diversos estímulos, incluindo gases poluentes ambientais, infecções respiratórias, fumo, temperaturas extremas, grandes altitudes e uso da ventilação com pressão positiva ¹⁶.

A grande variabilidade das condições clínicas dos pacientes com SAOS pode em parte explicar os resultados conflitantes observados após o uso prolongado do CPAP sobre o transporte mucociliar e epitélio respiratório ^{17,18}. Por esta razão, um estudo fisiológico de indivíduos sadios é importante para uma melhor compreensão das alterações provocadas pelo CPAP no transporte mucociliar. Demonstramos previamente ¹⁹ que o CPAP de maneira aguda aumenta significativamente o transporte mucociliar nasal de indivíduos sadios na ausência de alterações das propriedades físicas do muco nasal e de sintomas nasais. Hipotetizamos que o aumento do

transporte mucociliar nasal representaria uma resposta epitelial aguda de defesa contra uma agressão e que muito provavelmente teria sido mediada por um aumento da freqüência de batimento ciliar conseqüente do estímulo de mediadores inflamatórios.

O objetivo deste estudo foi o de investigar os efeitos agudos do CPAP e o impacto da umidificação aquecida e do vazamento aéreo sobre o transporte mucociliar de indivíduos saudáveis; e também o de testar a hipótese de que estes efeitos são mediados por inflamação local. Para este fim, avaliamos o transporte mucociliar nasal *in vivo* através do teste da sacarina, a transportabilidade *in vitro* do muco nasal e lavado nasal de voluntários saudáveis antes e depois da aplicação aguda do CPAP com e sem umidificação (U), com e sem vazamento aéreo (V). Neste contexto cabe um maior detalhamento sobre a SAOS, CPAP, umidificação aquecida, vazamento aéreo e transporte mucociliar; o que será feito a seguir.

1.1 Síndrome da Apnéia Obstrutiva do Sono (SAOS)

A síndrome da apnéia obstrutiva do sono (SAOS) é o distúrbio respiratório do sono mais comum e freqüente. Afeta aproximadamente 2% das mulheres e 4% dos homens adultos²⁰. Ocorre em todas as idades, incluindo crianças e idosos, mas dados de sua prevalência nestas faixas etárias ainda são desconhecidos²¹. A SAOS não é uma síndrome nova, mas só ganhou reconhecimento amplo recentemente. Por exemplo, no século

quarto a.C. encontramos a descrição de Dionísio, tirano de Heraclea que “vivia com medo de se sufocar em sua própria gordura durante o sono e adotava métodos curiosos para se manter acordado e respirando”. Já no século 19, Charles Dickens em sua obra *Pickwick Papers* de 1830 descreve uma personagem chamada *Joe* que pesava 130kg, era extraordinariamente sonolento, sofria de insuficiência cardíaca, roncava muito alto e que quando dormia “ouviam-se então um perfeito silêncio por dois, três e até quatro períodos respiratórios onde observavam-se movimentos torácicos ineficientes, até que finalmente o ar entrava com um imenso ronco...”; características típicas de um paciente portador de SAOS²¹.

A SAOS é caracterizada por interrupções da respiração durante o sono, devido a colapsos repetitivos da orofaringe. A cessação (apnéia) ou reduções substanciais (hipopnéias) da respiração são associadas a quedas da saturação arterial de oxigênio que só terminam com despertares. A hipóxia intermitente noturna afeta os sistemas cardiovascular e hematológico e suas principais conseqüências são aumento da pressão arterial pulmonar e disritmias cardíacas²¹. Os múltiplos despertares estão associados a um sono fragmentado e de baixa qualidade gerando excessiva sonolência diurna e prejuízo cognitivo²; estão associados também a alterações autonômicas incluindo elevação da pressão arterial, o que pode aumentar os riscos de comorbidades cardiovasculares nestes pacientes²².

A gravidade da SAOS é classificada através do número de apnéias ou hipopnéias por hora de sono. Este número é determinado durante o exame chamado polissonografia. Cinco ou mais apnéias por hora de sono são

geralmente consideradas anormais e os pacientes que são severamente acometidos apresentam algumas centenas de apnéias a cada noite ²³. As apnéias são definidas como paradas respiratórias de 10 segundos ou mais e hipopnéias como eventos de 10 segundos ou mais onde a respiração é mantida, mas a ventilação está reduzida a pelo menos 50% da ventilação normal durante o sono.

Os fatores que predispoem as oclusões da orofaringe incluem obesidade, história familiar, fumo, consumo de álcool, etnia, menopausa, estrutura facial e alterações do tônus do músculo dilatador da faringe ²¹. Baseado em achados radiológicos, pacientes com SAOS parecem apresentar uma diminuição da anatomia faríngea evidenciada pela redução da área seccional lumial e aumento da massa de tecidos moles ao redor da vias aéreas ^{24,25}.

Durante a vigília, as vias aéreas superiores se mantêm aberta às custas da ativação neural do músculo dilatador da faringe ²⁶. Contudo, com o início do sono, a atividade muscular diminui permitindo o colapso das vias aéreas, mais comumente ao nível retro lingual. As alterações neuroquímicas e fisiológicas que ocorrem com o início do sono, levando a uma perda da atividade muscular e subsequente colapso faríngeo, parecem estar relacionadas a uma diminuição do controle reflexo faríngeo e perda da compensação neuromuscular durante a vigília nestes pacientes ²².

Pacientes obesos com SAOS possuem depósito de gordura nas paredes laterais da faringe. Isto contribui para um estreitamento da faringe quando estes pacientes se deitam, por aumento de massa tecidual ²⁷. A retroposição da maxila e mandíbula também predispoem a SAOS, por causar

um estreitamento ântero-posterior da faringe pelo deslocamento do palato mole e língua ²⁸ .

A SAOS é um problema de saúde pública devido sua alta prevalência. Mas apesar da alta prevalência e gravidade desta condição, quase 80% das pessoas com SAOS permanecem sem diagnóstico. O limitado conhecimento sobre a patologia é alarmante frente a abundantes evidências que relacionam a doença a vários outros importantes problemas de saúde, como a hipertensão arterial, insuficiência cardíaca, acidentes vasculares cerebrais, diabetes e obesidade. A SAOS não tratada tem um impacto negativo significativo nestas condições, levando a um aumento dos custos e piora dos resultados do tratamento assim como maior risco de complicações ²⁹ . Por exemplo, existe uma alta incidência de fibrilação arterial e acidente vascular cerebral em pacientes com SAOS ^{30,31} . Estudos também mostram que pacientes com SAOS não tratados têm maiores chances de se envolverem em acidentes de trânsito ³² . Além disso, a SAOS leva a um aumento da mortalidade em pacientes com doença cardiovascular ³³ e aumento dos riscos de complicação em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca ³⁴ .

1.2 O papel do nariz na SAOS

Existem evidências de que receptores da nasofaringe têm efeito no tônus muscular da orofaringe. White et al, 1985 examinaram os efeitos do bloqueio de receptores nasais durante o sono de 10 indivíduos normais. A

administração de anestesia local aumentou a obstrução nasal e faríngea e o número de eventos respiratórios obstrutivos. Estes resultados sugerem que os receptores nasais são sensíveis ao fluxo de ar e podem ser importantes na manutenção da frequência respiratória e permeabilidade de vias aéreas superiores ³⁵.

Estes achados foram confirmados em um outro estudo que mensurou a ventilação minuto através de respiração obrigatória nasal ou oral durante o sono de indivíduos normais. A ventilação foi maior com a respiração nasal, reafirmando a teoria de que o fluxo nasal possui um efeito estimulante na respiração. O controle central do tônus muscular faríngeo também foi maior durante a respiração nasal ³⁶.

Estes e vários outros estudos com sujeitos normais nos levam a crer que a respiração nasal aumenta a ventilação pela estimulação de certos receptores nasais. A dilatação das passagens nasais não necessariamente aumenta a permeabilidade da orofaringe, contudo, a oclusão das passagens nasais pode produzir diminuição da permeabilidade da orofaringe. Portanto, a obstrução nasal pode desencadear apnéias ou hipopnéias mesmo em indivíduos normais ¹¹.

Conforme o ar passa pelo nariz, três funções respiratórias distintas são realizadas pelas cavidades nasais: (1) o ar é *aquecido* pela extensa superfície das conchas e septo, uma área total de cerca de 160 centímetros quadrados; (2) O ar é *quase completamente umidificado* até mesmo antes de ultrapassar completamente as cavidades nasais; e (3) o ar é *parcialmente filtrado*. Estas funções juntas são chamadas de *função de condicionamento*

do ar das vias respiratórias superiores. Geralmente a temperatura do ar inspirado se eleva até 0,5 °C a mais que a temperatura corporal e entre 2 a 3% da saturação total com vapor d'água antes de alcançar a traquéia ³⁷.

O nariz apresenta inervação tanto motora quanto sensorial e autônoma. A permeabilidade nasal é predominantemente controlada por estímulos do sistema nervoso autônomo que causam alterações dos vasos de capacitância presentes no vestíbulo e conchas nasais ¹¹. A inervação autônoma do nariz é descrita em detalhes a seguir:

Autônoma simpática - Suas fibras pré-ganglionares originam-se nos cornos laterais da substância cinzenta do primeiro e segundo segmentos torácicos da medula espinhal, dirigindo-se com o tronco vagossimpático, onde fazem sinapse no gânglio cervical superior. As fibras pós-ganglionares passam para o plexo ao redor da carótida interna e formam o nervo petroso profundo, que se junta com o nervo petroso superficial maior, formando o nervo vidiano (ou o nervo do canal pterigoídeo), que por sua vez dirige-se ao gânglio esfenopalatino. As fibras simpáticas passam por esse gânglio sem fazer sinapse e se distribuem pela mucosa nasal via nervos nasais posteriores. As fibras pós-ganglionares também podem alcançar essa região através do plexo carotídeo, pelos nervos infra-orbital e etmoidal (ramos do trigêmeo). Essa enervação simpática mantém uma ação tônica vasoconstritora. A estimulação do sistema simpático proporciona vaso-constricção adicional e, a secção da cadeia simpática cervical (síndrome de Horner) produz vasodilatação devido à perda do tônus simpático constritor ³⁸.

Autônoma parassimpática - As fibras pré-ganglionares originam-se no núcleo salivar superior (ponte) e dirigem-se para o gânglio geniculado através do nervo intermediário (VII par), de onde se separam para se unirem ao nervo petroso superficial maior, que, ao sair do osso temporal, junta-se ao nervo petroso profundo e, como já descrito, forma o nervo vidiano. Este nervo atravessa a fossa pterigomaxilar e atinge o gânglio esfenopalatino, onde faz sinapse. As fibras pós ganglionares distribuem-se pela mucosa nasal através de nervos nasais posteriores (trigêmeo). Sua estimulação resulta em hipersecreção glandular e vasodilatação³⁸.

Recentemente, por estudos imuno-histoquímicos, vários peptídeos foram identificados na mucosa nasal atuando como neurotransmissores. São eles: polipeptídeo intestinal vasoativo (VIM), substância P (SP), polipeptídeo pancreático de aves (APP), peptídeo calcitonina gene-relacionado, neurocinina A (NKA) e neuropeptídeo Y (NPY). Todo esse sistema autônomo, acima descrito, é responsável pela resposta secretora e vasomotora da mucosa nasal. A temperatura da mucosa é regulada pelo maior ou menor volume do sangue arterial contido nas arteríolas e nos plexos cavernosos. Logicamente, a maior ou menor quantidade de sangue também leva a um aumento ou diminuição da estrutura (em geral, concha inferior), cujo efeito será o controle da temperatura e umidade do fluxo aéreo nasal^{37, 38}.

Os pêlos na entrada das narinas são importantes para a filtração de grandes partículas. Muito mais importante, entretanto, é a remoção de partículas por precipitação turbulenta. Isto é, o ar, passando pelas vias

nasais, choca-se contra anteparos obstrutivos: as conchas, o septo e a parede da faringe. Sempre que o ar se choca contra uma dessas estruturas obstrutivas, ele deve mudar a direção de seu movimento. As partículas suspensas, que têm muito mais massa e momento que o ar, não podem mudar de direção tão rapidamente quanto o ar. Portanto, elas continuam em frente, chocando-se contra as superfícies das estruturas obstrutivas, e são capturadas no revestimento mucoso e transportadas pelos cílios à faringe para serem engolidas ³⁷.

1.2.1 Transporte Mucociliar

O trato respiratório é recoberto por um epitélio pseudo-estratificado colunar ciliado. Este tipo de epitélio reveste desde segmentos mais iniciais das vias aéreas superiores (porções médias e terço posterior das cavidades nasais) até as últimas gerações de bronquíolos e tem uma espessura de aproximadamente 2,5 μ m. Ao longo de sua extensão, a composição do epitélio das vias aéreas vai-se modificando para atender as diferentes solicitações funcionais a ele feitas. Desta forma, a morfologia das células ciliadas, o número de células produtoras de muco e seus produtos de secreção, a densidade de células neuroendócrinas e a presença de outros tipos celulares (tais como as células de Clara) vão sendo reguladas de forma a atender as solicitações funcionais específicas de cada micro ambiente do trato respiratório ³⁹ (Figura 1).

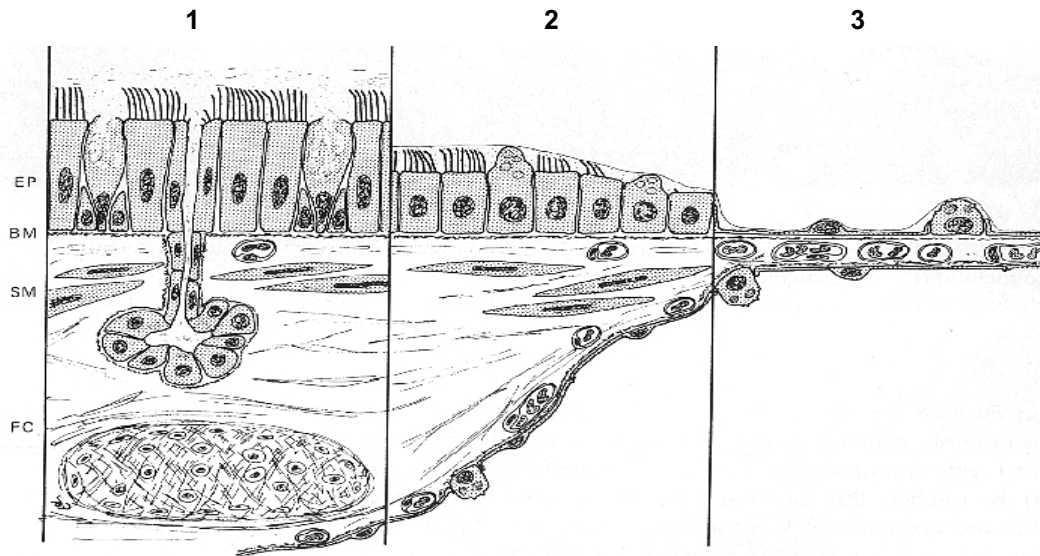


Figura 1. Estrutura do epitélio das vias aéreas: 1: brônquios; 2: bronquíolos; 3: alvéolos. (Modificado de Fishman et al, 1998 ⁴⁰).

Estudos recentes têm demonstrado que as células epiteliais respiratórias possuem outras funções além da de barreira física contra agentes agressores. Uma destas funções é regular o processo inflamatório das vias aéreas. As células epiteliais podem manter a integridade da mucosa, mediando respostas imune locais, podem limitar processos inflamatórios, degradando ou inibindo mediadores pró-inflamatórios e proteínas. Por outro lado, o epitélio reage a uma série de estímulos com a produção de mediadores que desencadeiam um processo inflamatório como citocinas e quimiotáticos que funcionam como recrutadores de leucócitos circulantes para as vias aéreas, como moduladores do tônus de músculos lisos, como reguladores de secreção e promotores de atividades antimicrobianas e antivirais ⁴¹.

O transporte mucociliar, que é realizado pelo tapete mucoso e pelas células ciliadas, é o principal mecanismo de defesa pulmonar. Seu funcionamento depende de três componentes: muco, cílios e um perfeito acoplamento cílio muco ¹⁵.

1.2.2 Muco Respiratório

O muco respiratório é um fluido bifásico composto de uma hipofase sol que é aquosa e uma hipofase gel, mais espessa e localizada na ponta dos cílios. O muco é produzido constantemente e concomitantemente removido das vias aéreas. Este fluxo sistemático e organizado de um meio com propriedades reológicas muito particulares tem como consequência, a depuração de substâncias e partículas depositadas ao longo do trato respiratório ⁴².

Dentre as células secretoras temos as células mucosas, as serosas e as de Clara, e o produto de secreção destas células tem a função de servir de veículo para a absorção e transporte de substâncias e lise de microorganismos formando um fluido que reveste completamente o epitélio respiratório. Este fluido é composto por duas fases: *hipofase gel*, formada provavelmente pelo produto de secreção das células mucosas e glândulas da submucosa e; *hipofase sol*, produzida pela secreção das células serosas, células de Clara e fluxo de água dos vasos sanguíneos, linfáticos associados ao transporte ativo de líquido pelo epitélio. Os mecanismos de controle da

secreção dessas fases ainda não são completamente compreendidos, mas sabe-se que são de importância fundamental para o bom funcionamento do transporte ciliar ⁴³ (Figura 2).

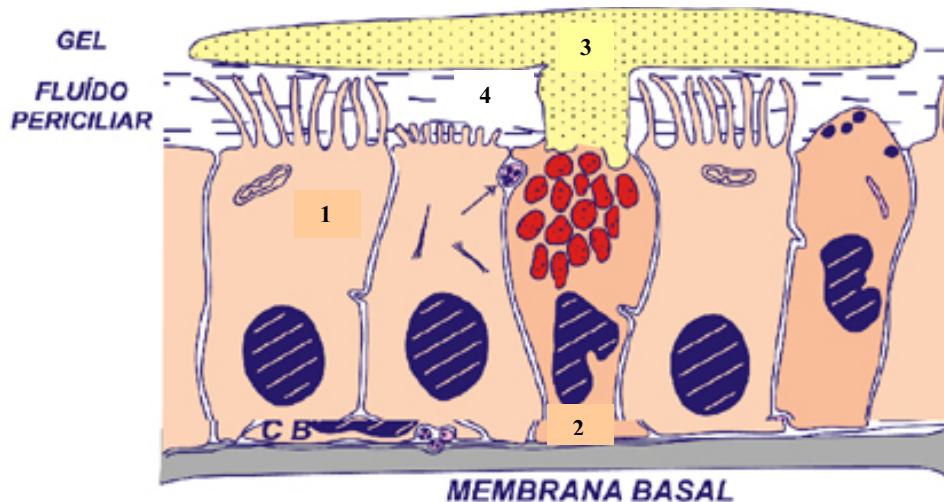


Figura 2. Células do epitélio respiratório e aparelho mucociliar: 1: célula ciliada; 2: célula secretora; 3: camada gel do muco respiratório; 4: camada sol do muco respiratório. (Modificado de Wanner et al, 1996 ⁴⁴).

O controle da secreção da hipofase sol é de importância fundamental para o correto funcionamento do transporte ciliar, de forma a manter os cílios em contato ideal com a camada gel do muco respiratório. Um aumento da espessura da camada sol promoveria o desacoplamento entre o muco e o cílio. Por outro lado, uma camada sol de espessura reduzida também levaria a prejuízos do transporte ciliar, por interferência mecânica no retorno dos cílios à sua configuração inicial, após o batimento efetivo, o que será detalhado mais adiante ⁴⁵.

Como consequência de processos irritativos da árvore respiratória, como infecções repetidas, inalação de gases irritantes ou fumo, o perfil celular do epitélio e glândulas pode sofrer alterações, mudando a composição do muco. As células caliciformes e de secreção mucosa aumentam em número, incluindo a transformação de células de Clara e serosa em caliciformes. As células serosas e ciliadas diminuem em número. A quantidade de muco aumenta ao mesmo tempo em que a hipofase sol diminui. Esta composição é de um muco mais viscoso, e as células submetidas a este ambiente sofrem também alterações qualitativas. A secreção passa a ser de mucopolissacarídeos ácidos e sulfatados, mudando as propriedades físico-químicas do muco. O resultado final é retenção de muco no trato respiratório, dificultando a eliminação de microorganismos inalados, e facilitando as infecções ⁴⁶.

Alterações da osmolaridade do fluido periciliar consequentes da perda de calor e evaporação de água, o que ocorre em situações onde as vias aéreas estão expostas a grandes volumes de ar frio e seco, podem induzir a liberação de mediadores inflamatórios de células como os mastócitos que circundam a mucosa respiratória ³⁹.

1.2.3 Cílios

Os cílios das células ciliadas são prolongamentos citoplasmáticos com estrutura bem definida. Em corte transversal apresentam nove pares de microtúbulos periféricos e um par central. O mecanismo de batimento ciliar é

bastante complexo, dependendo basicamente de um deslizamento dos pares de microtúbulos, e ocorre com um grande gasto energético ⁴⁷.

A freqüência de batimento ciliar normal é de 10 a 20 Hz e a propulsão do fluido brônquico pelos cílios é conseguida pelo fato do batimento ciliar ser assimétrico. O ciclo completo do batimento ciliar pode ser decomposto em duas fases: uma fase de batimento efetivo, na qual o cílio alcança sua extensão máxima, penetra a sua extremidade na camada gel e executa um movimento em arco em um plano perpendicular à superfície da célula ciliada; e uma fase de batimento dita de recuperação, na qual o cílio se dobra em direção à superfície celular, retornando à posição inicial do ciclo através da camada de menor impedância, a camada sol, com uma velocidade cerca de duas vezes menor que a do batimento efetivo ¹⁵ (Figura 3).

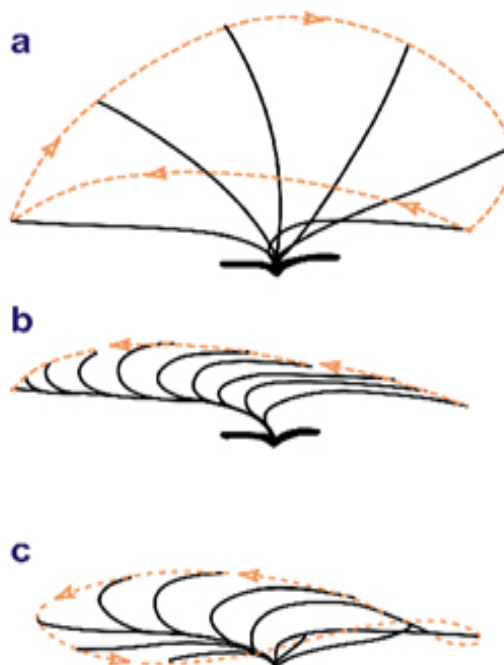


Figura 3. Ciclo do batimento ciliar visto de perfil e do topo da superfície. **a:** batimento efetivo; **b e c:** fase de recuperação (Modificado de Lorenzi et al, 1992 ⁴⁸).

Uma série de agentes pode interferir primariamente na função das células ciliadas. O fumo as infecções viróticas e bacterianas, as baixas temperaturas, hipóxia, hiperóxia, gases irritantes e alguns tipos de particulado são exemplos destas condições. Estes estímulos lesivos, se mantido por longo tempo, podem causar perda de componentes estruturais ciliares, diminuição do comprimento ou perda numérica de cílios e redução da frequência dos batimentos. No seu grau máximo, o epitélio é substituído por outro, mais resistente, escamoso e estratificado, semelhante à pele ou ao esôfago ⁴².

1.3 Tratamento da SAOS

O tratamento da SAOS tem como objetivos: 1) aliviar os sintomas; 2) reduzir a morbidade; 3) diminuir a mortalidade e 4) melhorar a qualidade de vida desses pacientes. Conseqüentemente a escolha de um determinado tipo de tratamento deve resultar no sucesso dos objetivos acima mencionados com o menor número de efeitos colaterais possíveis ⁴⁹.

Pacientes em geral, devem ser instruídos a perderem peso, instruídos a evitarem o consumo de álcool ou sedativos antes de dormir, instruídos a levarem uma vida mais saudável, iniciar um programa de atividade física regular e pararem de fumar. Estas medidas simples podem ser o suficiente para tratar pacientes com SAOS leve e com poucos sintomas, mas uma outra grande parte dos pacientes necessita de tratamento adicional ²¹.

Desde 1981, o CPAP tem progressivamente se tornado uma referência no tratamento da SAOS, mas existem outras alternativas terapêuticas que quando criteriosamente indicadas podem também trazer grandes benefícios a estes pacientes, como por exemplo: dispositivos intra-orais, cirurgias de vias aéreas superiores e medicamentos. Revisões extensas sobre o tratamento da SAOS podem ser encontradas ^{50,51}. A seguir revisaremos os principais aspectos envolvidos no tratamento com CPAP e que são pertinentes ao presente trabalho.

1.3.1 Tratamento com CPAP

A aplicação noturna do CPAP nasal como uma das formas de tratamento da apnéia do sono, foi descrita pela primeira vez em 1981 por Sullivan et al ⁵². Desde então o CPAP tem sido amplamente utilizado como recurso terapêutico tornando indispensável o conhecimento de seus efeitos benéficos e adversos para o sucesso do tratamento desses pacientes. O CPAP age aumentando a pressão positiva nas vias aéreas a níveis capazes de manter esta região aberta mesmo durante o sono quando existe a tendência de seu colapamento, evitando desta forma as interrupções respiratórias já mencionadas (Figura 4) ⁵². Para seu perfeito funcionamento é necessário um gerador de pressão positiva acoplado a uma interface (que pode ser nasal ou oronasal), que direcionará a pressão positiva às vias aéreas do paciente ⁵³.

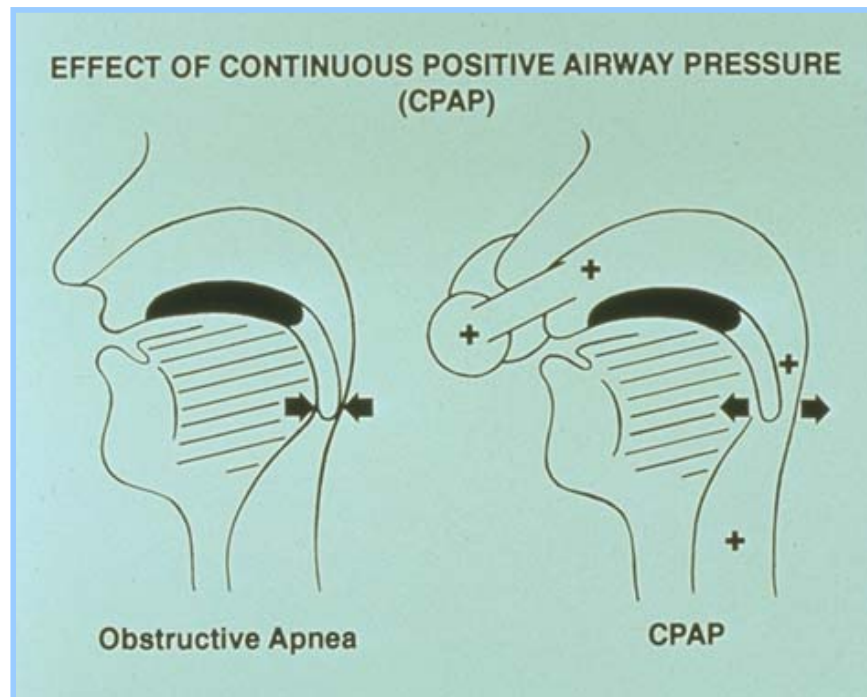


Figura 4. Descrição da utilização do CPAP como um splint pneumático que mantém as vias aéreas abertas com pressão positiva evitando seu colapamento durante o sono. (Modificado de Sullivan e cols, 1981⁵²).

O CPAP é o tratamento para a SAOS com o maior índice de evidências científicas. Estudos controlados e randomizados mostram que o CPAP melhora os sintomas da SAOS, a sonolência subjetiva e objetiva, função cognitiva, vigiância, qualidade de vida, diminui a frequência de acidentes automobilísticos e importantes riscos de doenças cardiovasculares^{54, 55, 56,57}.

O tratamento com o CPAP diferentemente de qualquer outra modalidade terapêutica convencional, exige um alto grau de comprometimento por parte dos pacientes, e a questão da adesão ao tratamento se torna um fator de grande importância. Múltiplos fatores

influenciam a aceitação do CPAP pelos pacientes. Dentre estes podemos citar as características mecânicas dos aparelhos de CPAP, tais como peso, dimensão, barulho, praticidade e efeitos colaterais relacionados à interface ⁵⁸.

Na última década houve inúmeros avanços que melhoraram a praticidade, conforto e eficácia dos aparelhos de CPAP. Hoje é possível encontrar aparelhos de CPAP bem pequenos, silenciosos e altamente eficientes, o que permite uma aceitação e aderência ao tratamento significativamente maior do que a conseguida no passado. Os aparelhos de CPAP se tornaram também altamente sofisticados, sendo capazes de registrar índices de adesão ao tratamento e eficácia da terapia. De igual importância, as interfaces são agora menores e mais confortáveis causando menos vazamento ²⁹.

Apesar destes grandes avanços aproximadamente 65% dos pacientes que fazem uso do CPAP ainda relatam efeitos colaterais respiratórios significantes como congestão nasal, ressecamento nasal, coriza e espirros ⁹. Os efeitos colaterais respiratórios têm sido altamente correlacionados com a irritação local causada pela pressão positiva, pela máscara nasal e vazamento aéreo. Estes efeitos podem causar grande desconforto aos pacientes que abandonam o tratamento apesar da melhora dos sintomas da SAOS ³.

O ideal é que pacientes em uso do CPAP via nasal mantenham a boca fechada durante o tratamento. No entanto durante o sono, com a queda do tônus muscular a boca pode se abrir. Isto gera um fluxo unidirecional de ar que entra pelo nariz e sai pela boca, guiado pela pressão positiva gerada pelo CPAP, que provoca um ressecamento progressivo

destas regiões com alterações de resistência nasal e volume das cavidades nasais ⁹. Durante a terapia com CPAP onde esteja ocorrendo altos índices de vazamento aéreo pela boca, um ciclo vicioso pode se estabelecer, onde a respiração bucal conseqüente da obstrução nasal leva a um ressecamento nasal, que gera aumento da resistência nasal o que em parte estimula um maior grau de respiração bucal ²⁹.

Terapias medicamentosas freqüentemente prescritas aos pacientes com SAOS como antihipertensivos ou antidepressivos podem promover ressecamento nasal. Resistência nasal aumentada decorrente de patologia nasal prévia ou cirurgia palatal podem promover respiração bucal durante o sono ¹⁴. Pacientes com SAOS moderada a grave que apresentem uma alta porcentagem de respiração bucal durante o sono são menos aderentes ao tratamento com CPAP quando comparados com pacientes com SAOS de mesma gravidade, mas que não apresentam respiração bucal ⁵⁹.

Os efeitos do CPAP sobre a mucosa nasal e transporte mucociliar nasal foram investigados por dois grupos de pesquisadores que apresentaram resultados conflitantes. Constantinidis et al, 2000 estudaram o transporte mucociliar e biópsia nasal de 10 pacientes com SAOS antes e de 3 a 10 meses depois do início do tratamento com CPAP. Como resultados pós CPAP, obtiveram alterações do epitélio nasal que incluíram redução da quantidade de cílios e células ciliadas, achatamento do epitélio e aumento do número de mitocôndrias celulares. Estas alterações não foram dependentes do tempo de utilização do CPAP, pois as modificações encontradas após 10 meses foram as mesmas já observadas após 3 meses de tratamento. Em

todos os pacientes o transporte mucociliar estava significativamente prolongado após o tratamento com o CPAP ¹⁷. Bossi et al, 2004 também estudaram o transporte mucociliar e biópsia nasal de oito pacientes com SAOS e não fumantes antes, após um mês e após seis meses do início do tratamento com CPAP. Seus resultados demonstraram que neste grupo de pacientes com SAOS grave, o uso do CPAP noturno não modificou a função do epitélio nasal ou transporte mucociliar ¹⁸. A grande variabilidade clínica dos pacientes com SAOS pode em parte explicar estes resultados conflitantes. Bossi et al sugerem em seu trabalho que efeitos deletérios ao epitélio respiratório não ocorrem na ausência de patologias nasais prévias ao tratamento com CPAP e recomendam que quando possível os pacientes com SAOS passem por uma avaliação otorrinolaringológica e do transporte mucociliar nasal. Estas avaliações poderiam identificar os pacientes que apresentam mais chances de não aderirem ao tratamento com CPAP por queixas de efeitos colaterais respiratórios, para que medidas preventivas fossem rapidamente adotadas ¹⁸.

Demonstrou-se que o uso do CPAP nasal por em média 20 minutos, com a boca aberta, já é o suficiente para causar um aumento do fluxo sanguíneo e resistência nasal em indivíduos saudáveis. Esta situação pôde ser prevenida totalmente pela umidificação do ar inspirado ^{5,6}.

A umidificação é empregada no alívio dos sintomas de vias aéreas superiores freqüentemente relatados após o uso do CPAP nasal. Dois tipos de umidificação podem ser empregados: Umidificação com ou sem aquecimento do ar inspirado ⁹. Embora o mecanismo exato (umidade ou

aquecimento) envolvido na melhora dos sintomas nasais secundários ao CPAP não seja completamente claro, evidências sugerem um efeito benéfico adicional do aquecimento do ar inspirado, tornando o emprego da umidificação aquecida muito mais comum na prática clínica ⁶⁰. Os umidificadores com sistema de aquecimento de água são os mais empregados nos ventiladores mecânicos invasivos e não-invasivos. O gás seco e frio proveniente do aparelho de CPAP passa por um recipiente com água aquecida por resistência elétrica, associada a um termostato para controle da temperatura de saída. Através da evaporação, o vapor de água é misturado ao gás a ser inalado, elevando sua temperatura e umidade ⁶¹.

Umidade é um termo genérico para descrever a quantidade de vapor d'água contida em uma mistura gasosa, e pode ser expressa de três formas distintas: 1) **Umidade máxima**: representa a quantidade máxima de vapor d'água que pode existir na fase gasosa de uma determinada atmosfera. (Quanto maior a temperatura, maior a umidade máxima e absoluta; 2) **Umidade absoluta**: representa a quantidade de massa de vapor d'água presente em determinado volume de gás, sendo usualmente expressa em (mgH₂O(. L-1); 3) **Umidade relativa**: representa a relação entre a massa de vapor d'água presente em determinado volume de gás e a massa máxima de vapor d'água que esse volume de gás poderia conter na mesma temperatura ⁶¹.

Curtos períodos de inalação de ar extremamente seco e frio resultam em perda excessiva de água e calor pela mucosa nasal, o que reduz o transporte mucociliar por alterações das propriedades reológicas ou de

adesividade do muco respiratório e/ou diminuição da frequência de batimentos ciliares ⁶²; além disso, causam a liberação de mediadores inflamatórios como histamina e prostaglandinas D₂ (PGD₂) ⁶³.

Esta breve introdução permite concluir que os efeitos agudos do CPAP e o impacto da umidificação e vazamento aéreo sobre o epitélio nasal são pouco conhecidos e que os sintomas nasais freqüentemente relatados por pacientes com SAOS que fazem uso do CPAP, podem levá-los a abandonar o tratamento. Portanto o estudo dos efeitos do CPAP e do impacto da umidificação e vazamento aéreo sobre o epitélio nasal são extremamente importantes.

2. OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi o de avaliar os efeitos agudos do CPAP e o impacto da umidificação e do vazamento aéreo em indivíduos saudáveis sobre:

- O transporte mucociliar nasal *in vivo*;
- A transportabilidade *in vitro* do muco nasal;
- A composição celular do lavado nasal e;
- Sintomas respiratórios.

3. MÉTODOS

3.1 Sujeitos

Dezesseis sujeitos saudáveis, 10 homens e 6 mulheres com idade de (média \pm DP) 27 ± 4 anos e índice de massa corpórea (IMC) de $23,7 \pm 1,6 \text{ kg/m}^2$ participaram do estudo. Todos assinaram um consentimento livre e esclarecido (Anexo I), aprovado pelo Comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Foram incluídos apenas indivíduos que negavam história de atopia em tratamento, tabagismo, queixas nasais ou relato de episódio recente de infecção de vias aéreas (últimas quatro semanas antes do estudo). Todos os voluntários negaram o uso de álcool por no mínimo 48 horas antes do estudo. Um questionário de avaliação respiratória utilizado de rotina pelo Laboratório do Sono da Disciplina de Pneumologia do InCor, HC - FMUSP foi completado por cada participante e não revelou disfunções nasais agudas ou crônicas (ANEXO II). O estudo foi realizado no Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental. Os voluntários foram estudados enquanto acordados e sentados, por aproximadamente 1 hora. Este estudo foi realizado em ambiente com ar condicionado (temperatura média $24,7 \pm 0,1^\circ\text{C}$). Os voluntários estavam sempre acompanhados e o protocolo seria interrompido caso houvesse qualquer tipo de desconforto que impedisse a

continuidade do estudo, o que de fato não ocorreu em nenhum dos casos. Os voluntários foram estudados em dois grupos de experimentos como descrito a seguir.

3.2 Experimento I

Oito indivíduos saudáveis, 6 mulheres e 2 homens com idade de $24,5 \pm 2,6$ anos e IMC de $22,5 \pm 3,4$ kg/m² (média \pm DV) foram submetidos a 30 minutos de CPAP padrão (AutoSet T™ ResMed) a 10 cm H₂O de pressão através de uma máscara nasal (UltraMirage™ ResMed) durante 5 dias consecutivos de acordo com a presença (+) ou ausência (-) de Umidificação (**U**) e Vazamento (**V**) aéreo e perfazendo quatro combinações: CPAP **U+V-**; CPAP **U-V-**; CPAP **U+V+**; CPAP **U-V+**. A quinta situação era constituída de um dia controle; sendo este de 30 minutos de repouso sem aplicação de CPAP. A seqüência das intervenções foi sorteada.

Quando a umidificação era utilizada, o sistema de umidificação aquecida HC150™ Fischer& Paykel foi adicionado ao circuito e programado para trabalhar em sua capacidade máxima.

O vazamento aéreo foi simulado através da orientação dos indivíduos a inspirarem pelo nariz e expirarem pela boca. Esse procedimento gera um fluxo unidirecional que pode ser avaliado através do próprio aparelho de CPAP. O aparelho de CPAP permite a visualização em tempo real dos valores de vazamento através de seu display, e um total de 500 litros de ar deveria ter

vido expirado pela boca ao final dos 30 minutos de intervenção, ou seja, em média 0,28 litros/segundo de vazamento aéreo, de forma análoga a trabalho previamente publicado ⁵. Todos os voluntários foram orientados a respirar o mais normal possível durante as intervenções com o CPAP.

As variáveis controladas foram presença ou ausência de umidificação no circuito do CPAP e presença ou ausência de vazamento aéreo. Todos os oito indivíduos foram submetidos a análise do transporte mucociliar nasal coleta de muco nasal e classificação de sintomas respiratórios antes e depois das intervenções com o CPAP e dia controle.

3.3 Experimento II

De maneira randomizada outros oito indivíduos sadios e não fumantes 4 mulheres e 4 homens de idade $29,6 \pm 4,0$ anos e IMC $24,9 \pm 4,4$ kg/m² (média \pm DV) foram também submetidos a 30 minutos de CPAP padrão (AutoSet T™ ResMed) a 10 cm H₂O através de máscara nasal (UltraMirage™ ResMed) durante dois dias consecutivos em duas condições extremas: **CPAP U+V-** e **CPAP U-V+** (sendo também + e – presença ou ausência de **U** – Umidificação e **V** – Vazamento aéreo). A seqüência das intervenções foi sorteada. e todos os voluntários foram submetidos a coleta de lavado nasal e classificação de sintomas respiratórios antes e após as intervenções com CPAP.

3.4 Temperatura e Umidade

A temperatura ambiente assim como a temperatura e umidade relativa do ar dentro da máscara nasal foram registradas a cada minuto durante as intervenções de ambos os experimentos, através do sensor de um termo higrômetro (MTH-1380™ Minipa), acoplado à máscara nasal. Com o uso de uma tabela específica ⁶¹ e com valores conhecidos de temperatura e umidade relativa, os valores de umidade absoluta do ar foram calculados.

3.5 Análise do transporte mucociliar nasal

O transporte mucociliar nasal foi avaliado através do teste da sacarina onde: Uma quantidade de aproximadamente 5 µg de sacarina sódica granulada foi posicionada, sob controle visual, a 2 cm para dentro da narina direita dos oito participantes do Experimento I; e o tempo que os voluntários levavam para sentir um gosto doce na boca era cronometrado e tido como uma medida do transporte mucociliar nasal. A sacarina é 600 vezes mais doce que o açúcar e pode facilmente ser detectada quando cai na região da orofaringe ⁶⁴.

O teste da sacarina foi descrito em 1974 por Andersen e cols, e é bem aceito na literatura como um teste simples e barato, que apresenta resultados semelhantes aos obtidos com o uso de partículas de radioisótopos para análise do transporte mucociliar ⁶⁵, e parece refletir o transporte tanto pelo fluido periciliar como pela camada externa de muco ⁶⁶.

Os voluntários sentados inclinavam a cabeça para trás e a sacarina era posicionada na narina direita através de um canudo plástico, e a partir deste momento não era permitido aos voluntários andar, falar, tossir, espirrar, coçar ou assuar o nariz; estes eram instruídos a procurar engolir poucas vezes por minuto até que o gosto doce aparecesse na boca. Quando isto acontecesse, o examinador era então imediatamente avisado e o tempo registrado.

Pessoas normais sentirão o gosto doce em 19 ± 5 min. Se não ocorrer a percepção do sabor dentro de 30 minutos e a técnica tiver sido realizada com sucesso, recomenda-se a avaliação da capacidade do paciente em perceber o gosto da sacarina, colocando-a em sua língua ⁶⁶.

3.6 Coleta do muco nasal

O muco nasal foi colhido de forma simples através de uma raspagem da região interna da narina esquerda por alguns segundos com o uso de um pincel de pintura fino, dos oitos participantes do Experimento I. A amostra de muco aderida ao pincel era então coletada com o auxílio de uma agulha, imediatamente submersa em óleo para evitar a desidratação do muco, e armazenada em recipiente plástico. As amostras eram identificadas e estocadas em freezer a -70°C para posterior análise ⁶⁷.

3.6.1 Análise da transportabilidade *in vitro* do muco nasal

Modelo palato de rã

O método do palato de rã é classicamente aceito como método *in vitro* de análise da transportabilidade de uma determinada amostra de muco através da velocidade de transporte deste muco em um epitélio ciliado.

O palato de rã possui um epitélio pseudo-estratificado com células secretoras e numerosas células ciliadas, cobertas por um contínuo tapete de muco de 4 a 8 μm de espessura semelhante ao epitélio das vias respiratórias dos mamíferos. Por apresentar uma superfície plana, permite a observação direta da velocidade de transporte de uma amostra de muco colocada sobre esse epitélio^{68,69,70}. Baseado na padronização dos experimentos realizados previamente em nosso laboratório, o método foi realizado da seguinte forma:

Rãs da espécie *R. catesbiana* foram imersas em gelo por mais ou menos 40 minutos e utilizando-se da hipotermia como método anestésico, foram guilhotinadas, com posterior dissecação da região do palato.

Os palatos foram colocados em um recipiente vedado e embebido em Ringer Rã (uma mistura de ringer e água destilada na proporção de 1:1) e mantidos por 48 horas a 4°C, para que o muco da rã fosse esgotado pela ação de seu próprio aparelho ciliar. Este muco era então coletado para servir como controle do muco a ser testado.

Durante o experimento o palato da rã foi mantido à temperatura ambiente, dentro de uma câmara de acrílico, em ambiente com 100% de umidade relativa, garantido por uma nebulização ultra-sônica de solução salina a 2/3 diluída em água (0,61% de NaCl).

A velocidade de transporte ciliar foi aferida pela colocação de uma amostra de muco (cerca de $5\mu\text{l}$) sobre o epitélio ciliado do palato de rã. O deslocamento era visualizado através de uma lupa estereoscópica equipada com uma lente reticulada. Um microscópio (Zeiss) com ocular de aumento de 10 vezes e uma objetiva com aumento de $0,8\text{ x}$ foram utilizados. Através da ocular reticulada o deslocamento do muco da parte anterior para a parte posterior do palato (6mm) foi medido e o tempo deste deslocamento cronometrado (Figura 5).

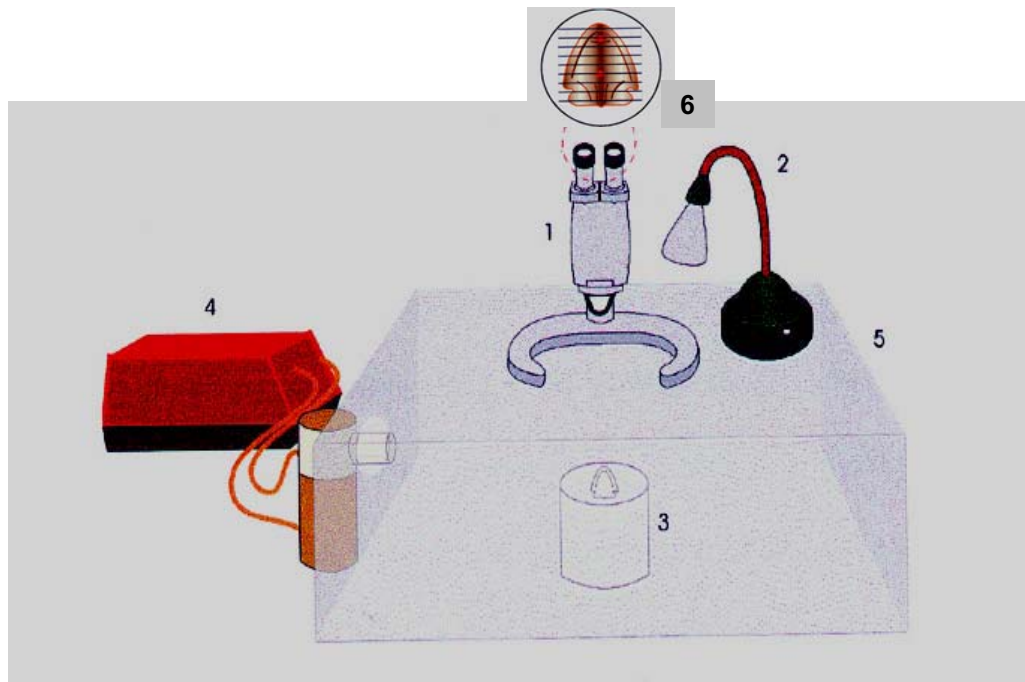


Figura 5. Representação esquemática do transporte mucociliar em palato de rã. **1:** lupa estereoscópica com objetiva e ocular reticulada; **2:** fonte de luz externa; **3:** suporte de vidro para o palato de rã; **4:** nebulizador ultra-sônico; **5:** câmara de acrílico; **6:** palato de rã. (Modificado de Nakagawa, 2001⁷¹).

O resultado final foi expresso em termos relativos, comparando-se a velocidade do muco teste com a velocidade do muco da própria rã⁷⁰.

3.7 Coleta e análise do lavado nasal

Foram colhidas amostras de lavado nasal para estudo de células inflamatórias, dos oito participantes do Experimento II .

Para a coleta do lavado nasal foi solicitado que os voluntários inclinassem a cabeça para trás e em seguida fizessem uma pausa respiratória por alguns segundos. Três mililitros e meio de soro fisiológico a 37°C foram instilados em cada narina através de uma seringa descartável de 10 ml. Após 10 segundos os voluntários flexionavam o pescoço e expeliam o líquido em um recipiente de plástico estéril ⁷². As amostras de lavado nasal foram analisadas logo após a sua coleta.

O material foi transferido para tubos de ensaio cônicos graduados, onde era possível verificar o volume da amostra recuperado. Quando o lavado apresentava filamentos de muco, este era previamente tratado com ditioneitol (DTT) 0,1% (Sigma-Aldrich Química Brasil LTDA), em um volume igual a uma vez o volume do lavado em mililitros, em seguida o material era homogeneizado em um Vortex por cerca de 15 segundos. O uso do ditioneitol tem por objetivo reduzir as ligações dissulfídicas contidas no muco ⁷³.

Após estes procedimentos as amostras foram colocadas em uma centrífuga refrigerada a 4°C sob rotação de 790 x g por 10 minutos e o sobrenadante, aspirado e armazenado em tubos eppendorf a -70°C para análises posteriores.

A suspensão celular foi ajustada para uma concentração de $1,0 \times 10^6$ /ml. O número total e absoluto de células por mililitro de lavado foi calculado por meio de uma câmara de Neubauer.

Foram colocados 100 μ l do material nos copos de uma centrífuga Shandon III (Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA); para realização do esfregaço pela técnica que denominamos de *cytospin*. A lâmina; após secar ao ar livre; foi corada com corante Diff Quick ⁷⁴.

A contagem celular foi feita em um microscópio óptico comum, em aumento de 1000 x. Foram contadas pelos menos 100 células por lâmina (eosinófilos, linfócitos, neutrófilos, macrófagos e células epiteliais) ⁷³.

3.8 Pesquisa de sintomas respiratórios

Todos os 16 indivíduos estudados foram interrogados sobre a presença de sintomas respiratórios antes e após cada intervenção com o CPAP. A percepção subjetiva de ressecamento nasal, ressecamento de garganta, coriza e de obstrução nasal foi avaliada utilizando-se uma escala visual analógica (EVA) de 10cm de comprimento, onde os voluntários deveriam marcar um "X" no ponto da linha que fosse correspondente a intensidade do sintoma. A extremidade esquerda da linha era marcada com o número 0 (sintoma ausente), enquanto a extremidade direita com o número 10 (sintoma muito intenso) ⁷⁵.

3.9 Método estatístico

A análise estatística foi feita utilizando-se o programa Sigma Stat 13.0 (Jandel Corp. San Rafael, CA). Os dados estão apresentados na forma de tabelas e gráficos, e expressos em média \pm desvio padrão.

Experimento I

Para comparar os valores do teste da sacarina, velocidade relativa em palato de rã e sintomas respiratórios (EVA), pré e pós-intervenções com o CPAP e dia Controle, foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon pareado ⁷⁶. Para comparação das intervenções com CPAP e dia controle entre si, calculou-se um delta (diferença entre os valores pré e pós-intervenções) do teste da sacarina, velocidade relativa em palato de rã e sintomas respiratórios. Estes deltas foram comparados através de testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis ⁷⁷ seguidos de comparações múltiplas não-paramétricas ⁷⁷.

Experimento II

Para comparar os valores do número total de células na câmara de Neubauer, das porcentagens celulares lidas em cada lâmina e dos sintomas respiratórios pré e pós-intervenções com o CPAP utilizou-se o teste não-paramétrico de Wilcoxon pareado ⁷⁶. Para comparação dos das intervenções com CPAP entre si, calculou-se um delta (diferença entre os valores pré e pós-intervenção) do número total de células na câmara de Neubauer, das

porcentagens celulares lidas em cada lâmina e dos sintomas respiratórios. Estes deltas foram comparados através de testes não-paramétricos de Mann-Whitney⁷⁶.

Os valores de temperatura e umidade foram comparados entre si através de testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis para ambos os experimentos. Para verificar a existência de correlação entre os deltas dos parâmetros estudados e as medidas de umidade e temperatura e EVA, foram calculadas as correlações de Spearman⁷⁶ para cada experimento.

Os testes foram realizados ao nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS

4.1 Sujeitos

As características dos indivíduos estudados nos Experimentos I e II estão descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Dados demográficos dos indivíduos estudados em ambos os experimentos

Experimento I				Experimento II			
Voluntários	Sexo	Idade	IMC	Voluntários	Sexo	Idade	IMC
1	F	22	20,9	1	F	28	27,3
2	F	28	27,3	2	M	24	23,8
3	M	24	23,8	3	M	32	31,8
4	F	26	19,1	4	M	27	20,2
5	F	27	19,1	5	F	30	28,0
6	M	24	20,4	6	F	37	20,0
7	F	25	23,4	7	F	32	27,4
8	F	20	25,0	8	M	27	20,3
Média		24,5	22,5	Média		29,6	24,9
DV		2,6	3,4	DV		4,0	4,4

4.2 Temperatura e Umidade

A temperatura ambiente durante os Experimentos (I e II) se manteve relativamente constante e foi em média de $24,8 \pm 1,9$ °C.

As tabelas 2 e 3 mostram os valores médios (média dos 30 minutos de intervenções com o CPAP) de temperatura ambiente, temperatura, umidade absoluta e relativa do ar dentro da máscara de ambos os experimentos. Houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de umidade absoluta e relativa do ar dentro da máscara das intervenções que utilizaram a umidificação, quando comparados com as intervenções que não utilizaram a umidificação de ambos os experimentos ($p > 0,05$ para as duas variáveis). Os valores de temperatura da máscara foram estatisticamente diferentes quando comparadas as intervenções com e sem umidificação do Experimento II ($p=0,01$).

Tabela 2 – Média (dos trinta minutos de intervenção) \pm desvio padrão dos valores de Temperatura ambiente, Temperatura da máscara, Umidade absoluta e relativa do ar dentro da máscara, das quatro intervenções com o CPAP do Experimento I

	Sem Vazamento		Com Vazamento	
	Com Umid	Sem Umid	Com Umid	Sem Umid
Temperatura ambiente (°C)	24,3 \pm 2,7	25,4 \pm 1,7	24,8 \pm 1,1	24,3 \pm 2,7
Temperatura máscara (°C)	28,3 \pm 1,8	27,6 \pm 1,1	28,0 \pm 0,8	25,7 \pm 2,6
Umidade absoluta (mgH ₂ O,L-1)	26,7 \pm 2,6	19,2 \pm 3,2	26,8 \pm 1,7	14,9 \pm 2,3
Umidade relativa (%)	97,1 \pm 2,3	72,5 \pm 11,2	97,8 \pm 2,7	59,7 \pm 6,6

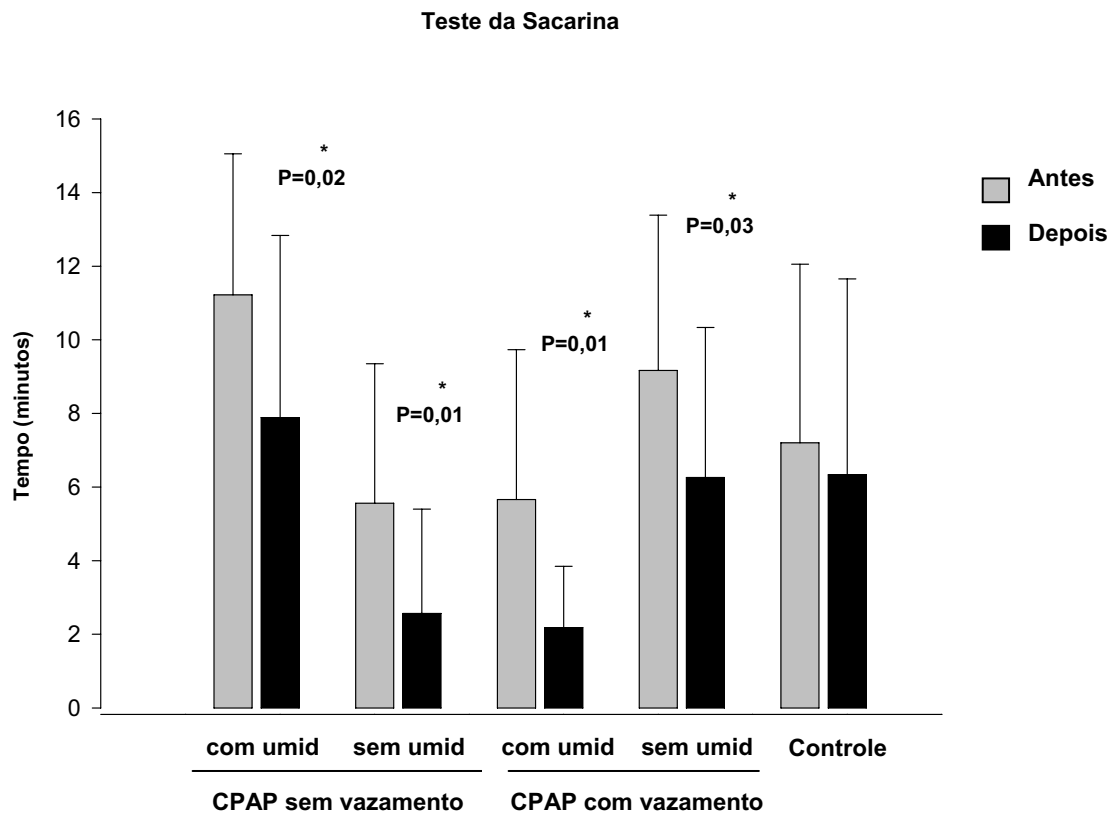
Tabela 3 – Média (dos trinta minutos de intervenção) \pm desvio padrão dos valores de Temperatura ambiente, Temperatura da máscara, Umidade absoluta e relativa do ar dentro da máscara, das duas intervenções com o CPAP do Experimento II

	Sem Vazamento	Com Vazamento
	Com Umid	Sem Umid
Temperatura ambiente (°C)	24,4 \pm 1,4	25,2 \pm 1,0
Temperatura máscara (°C)	29,8 \pm 0,9	27,2 \pm 0,8
Umidade absoluta (mgH ₂ O,L-1)	29,7 \pm 0,9	15,5 \pm 1,7
Umidade relativa (%)	99,3 \pm 1,0	59,4 \pm 6,4

4.3 Transporte Mucociliar nasal

O teste da sacarina foi realizado antes e após cinco intervenções diferentes nos oito participantes do Experimento I. O transporte mucociliar nasal aumentou significativamente após as intervenções que utilizaram o CPAP e não se alterou após a intervenção controle como demonstrado no Gráfico 1. Quando comparados entre si, as intervenções com CPAP e dia Controle, não foram significativamente diferentes ($p=0,6$).

Gráfico 1: Representação gráfica das médias dos valores do teste da sacarina durante o Experimento I. Valores obtidos pré e pós quatro intervenções com CPAP e dia controle

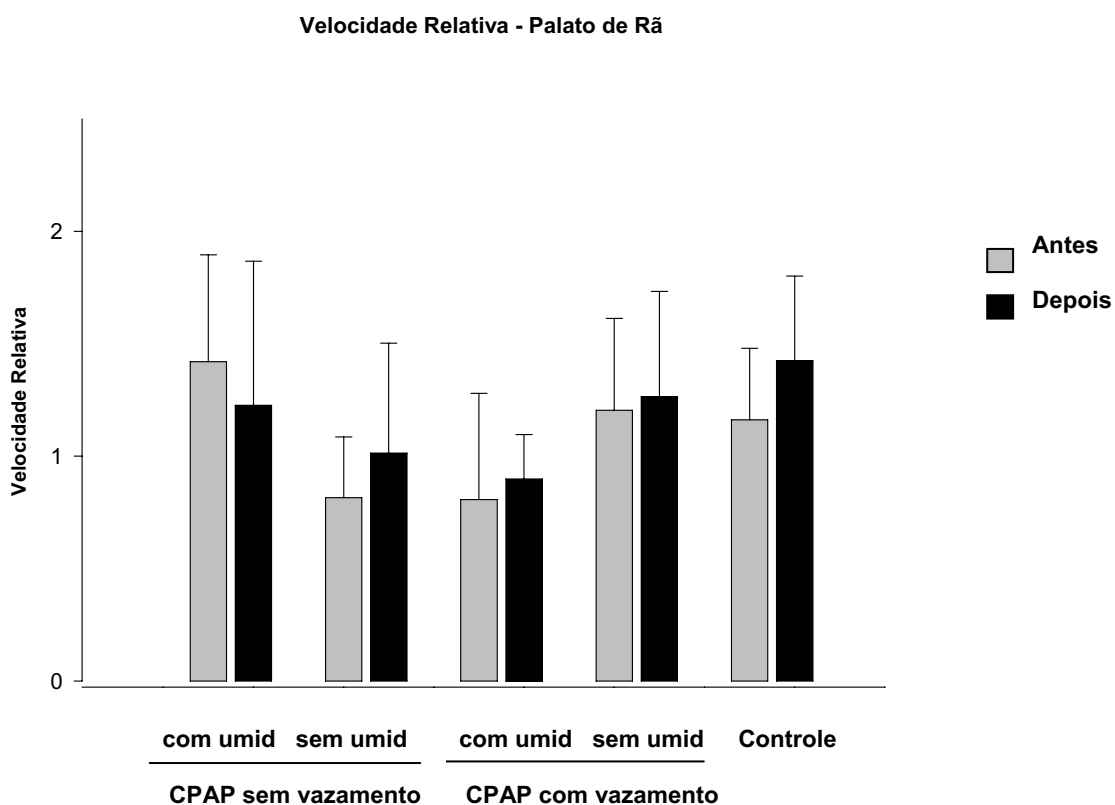


Durante a intervenção com CPAP com umidificação e com vazamento aéreo, os valores do teste da Sacarina, correlacionaram-se positiva e significativamente com os valores da EVA para obstrução nasal ($p=0,04$, $r=0,73$).

4.4 Transportabilidade *in vitro* do muco nasal

Houve uma tendência de aumento da velocidade relativa em palato de rã, que é medida da transportabilidade *in vitro* do muco, em todas as intervenções que utilizaram o CPAP e dia controle, porém esta tendência não foi significativa (Gráfico 2). Quando comparados entre si, as intervenções com CPAP e dia Controle, não foram significativamente diferentes ($p=0,1$). Durante a intervenção com **CPAP U+V-** os valores de velocidade relativa se correlacionaram positiva e significativamente com os valores de temperatura da máscara ($p= 0,03$, $r=0,73$).

Gráfico 2: Representação gráfica das médias dos valores de velocidade relativa em palato de rã durante o Experimento I. Valores obtidos pré e pós quatro intervenções com CPAP e dia controle



4.5 Lavado nasal

Amostras de lavado nasal foram colhidas e analisadas para o estudo de células inflamatórias: O volume médio recuperado foi de $5,7 \pm 0,2$ ml de soro fisiológico. Não houve diferença estatística entre o volume de soro recuperado antes e após as intervenções e nem entre as intervenções ($p > 0,1$).

O número total e absoluto de células por mililitro de lavado nasal foi calculado através de uma Câmara de Neubauer. Os valores pré e pós **CPAP U+V-** expressos em média \pm DV são respectivamente: $0,03 \pm 0,02$ e $0,05 \pm 0,09 \times 10^6$ células / ml ; e os valores pré e pós **CPAP U- V+** expressos em média \pm DP são respectivamente: $0,05 \pm 0,06$ e $0,04 \pm 0,03 \times 10^6$ células / ml. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores pré e pós-intervenções com o CPAP e entre as intervenções ($p > 0,1$).

Para a análise da percentagem de células inflamatórias foram contadas uma média de 100 células por lâmina (neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, linfócitos e células planas) e calculada sua percentagem em relação ao número total de células contadas (Tabela 4). Não houve diferença significativa entre as percentagens de células inflamatórias pré e pós-intervenções e nem entre as intervenções ($p > 0,1$).

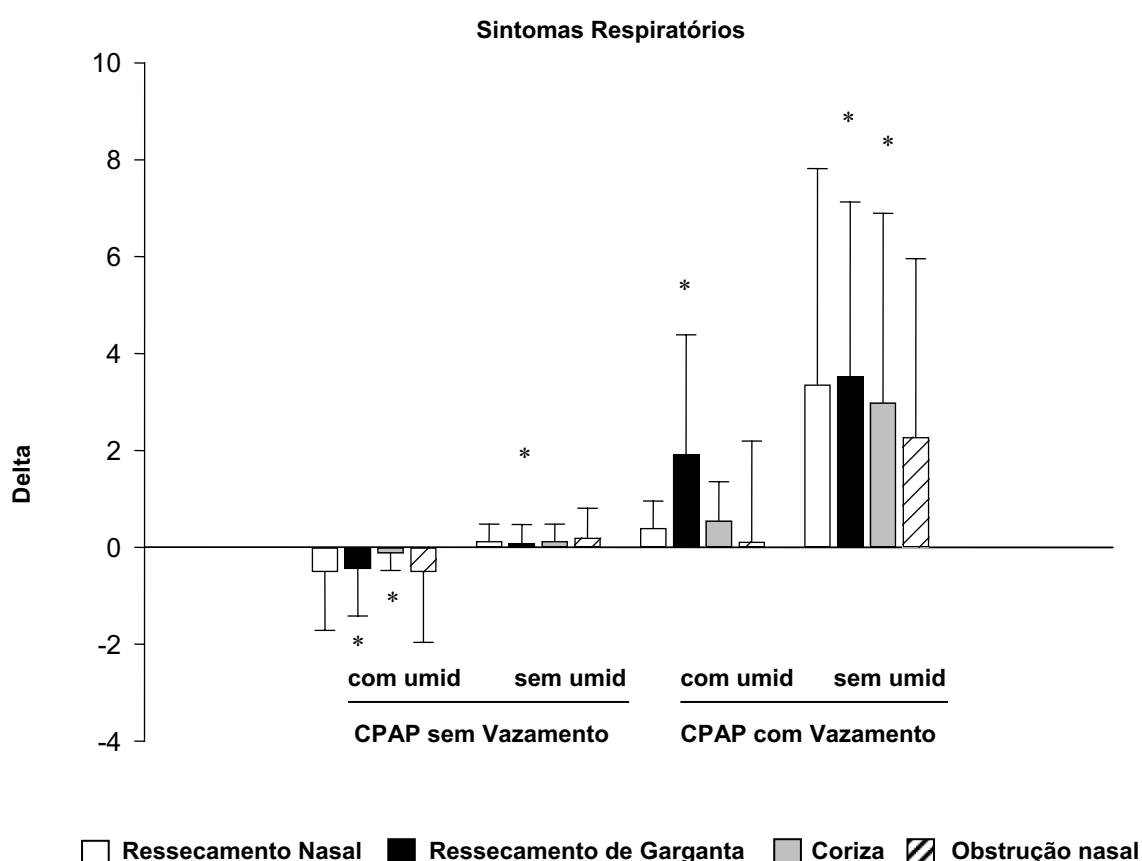
Tabela 4 – Percentagem de células inflamatórias e epiteliais calculada sobre o número total de células contadas em cada lâmina.

	CPAP U+V-		CPAP U-V+	
	antes	depois	antes	depois
Neutrófilos %	18 \pm 27	20 \pm 34	12 \pm 31,8	12 \pm 19
Eosinófilos %	15 \pm 32	19 \pm 34	18 \pm 30,2	7 \pm 13,7
Macrófagos %	23 \pm 29	2 \pm 2	2 \pm 2,9	5 \pm 5,5
Linfócitos %	0,2 \pm 0,4	0,0	0,0	0,5 \pm 1,2
Células Planas %	39 \pm 41	35 \pm 40	16 \pm 15,3	27 \pm 23

4.6 Sintomas respiratórios

Quando comparados os valores da EVA pré e pós intervenções com o CPAP durante o Experimento I, houve diferença significativa entre os valores de ressecamento de garganta para **CPAP U+V+** ($p=0,02$) e **CPAP U-V+** ($p=0,01$). Quando comparados os valores de EVA para os sintomas estudados de todas as intervenções com o CPAP entre si, temos que os valores de ressecamento de garganta durante as intervenções com vazamento aéreo são estatisticamente diferentes dos valores das intervenções sem vazamento aéreo ($p<0,05$). Os valores de coriza são estatisticamente diferentes entre as intervenções opostas (**CPAP U+V-** e **CPAP U- V+**) ($p=0,02$). Para **CPAP U-V-** os valores de EVA para ressecamento nasal correlacionaram-se positiva e significativamente com os valores de ressecamento de garganta ($p=0,03$, $r=0,75$) e de obstrução nasal ($p=0,03$, $r=0,75$); e os valores de coriza correlacionaram-se positiva e significativamente com os valores de ressecamento de garganta ($p=0,03$, $r=0,75$) para a mesma intervenção. Para **CPAP U-V+** os valores de ressecamento de garganta correlacionaram-se positiva e significativamente com valores de coriza ($p=0,01$, $r=0,81$) e obstrução nasal ($p=0,03$, $r=0,74$).

Gráfico 3: Valores de delta (Diferença entre o pré e o pós intervenções com CPAP) da EVA para os sintomas respiratórios estudados durante o Experimento I. Valores de coriza estatisticamente diferentes entre as intervenções (CPAP U+V- e CPAP U-V+) ($p=0,02$). Valores de ressecamento de garganta estatisticamente diferentes entre as intervenções com e sem vazamento ($p<0,05$)

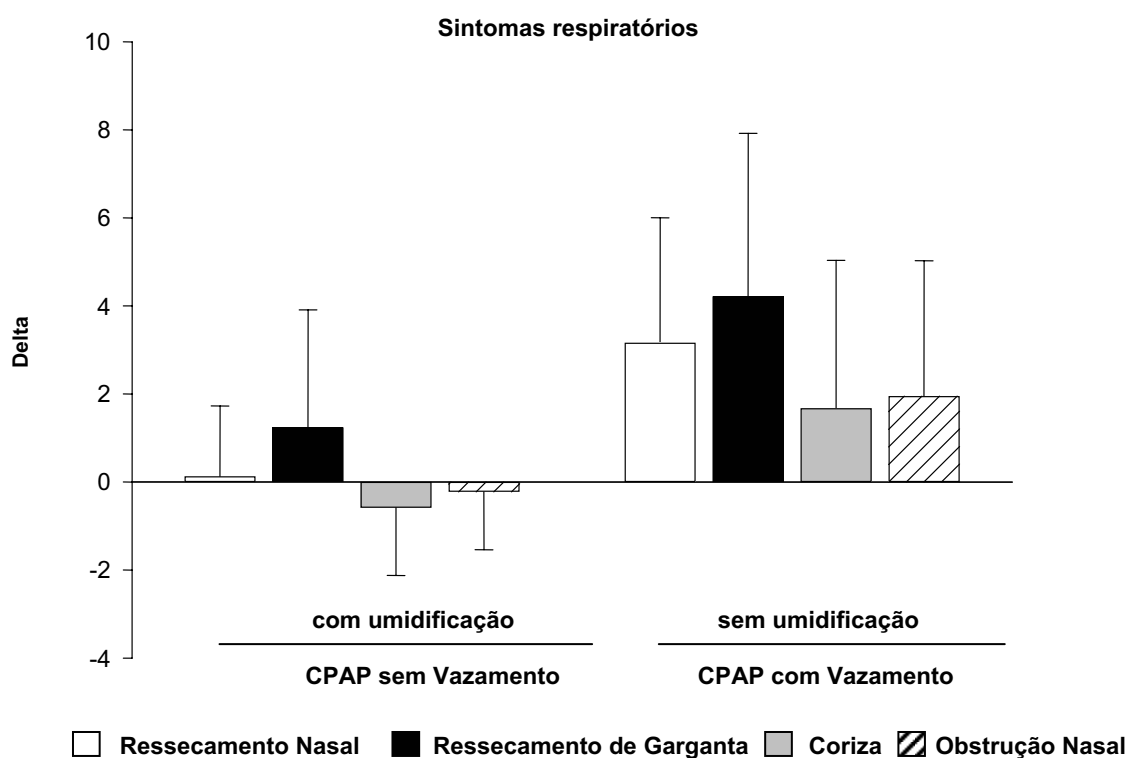


Quando comparados os valores da EVA pré e pós intervenções com o CPAP durante o Experimento II, houve diferença significativa entre os valores de Ressecamento nasal, Ressecamento de Garganta e Obstrução nasal para **CPAP U-V+** ($p= 0,02$, $p= 0,02$ e $p= 0,04$ respectivamente).

Quando comparados os valores de EVA para os sintomas estudados de todas as intervenções com o CPAP entre si, não houve diferença estatisticamente significativa.

Para **CPAP U+V-** os valores de EVA para ressecamento nasal correlacionaram-se positiva e significativamente com os valores de ressecamento de garganta ($p=0,01$, $r=0,81$). Para **CPAP U-V+** os valores de os valores ressecamento nasal também correlacionaram-se positiva e significativamente com os valores de ressecamento de garganta ($p<0,01$, $r=0,84$) e os valores de coriza correlacionaram-se positiva e significativamente com os valores do número total de células (Câmara de Neubauer) para a mesma intervenção ($p=0,03$, $r=0,75$).

Gráfico 4: Valores de delta (Diferença entre o pré e o pós intervenções com CPAP) da EVA para os sintomas respiratórios estudados durante o Experimento II



5. DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi o de investigar os efeitos agudos do CPAP e o impacto da umidificação e vazamento aéreo sobre o transporte mucociliar nasal *in vivo*, transportabilidade *in vitro* do muco nasal, inflamação nasal e sintomas respiratórios de indivíduos saudáveis. Demonstramos que o uso agudo do CPAP aumentou significativamente o transporte mucociliar nasal *in vivo*, não alterou a transportabilidade *in vitro* do muco nasal nem a composição celular de amostras de lavado nasal dos indivíduos estudados. Estes resultados não sofreram influência da umidificação ou vazamento aéreo. Por outro lado, o uso agudo do CPAP sem umidificação e com vazamento aéreo provocou aumento significativo de sintomas respiratórios em todos os indivíduos estudados.

Desde sua descrição, o CPAP é a alternativa não cirúrgica mais usada para tratar os pacientes com SAOS. A terapia com CPAP é altamente eficaz na redução do número de episódios de obstrução das vias aéreas superiores e melhora ou resolve completamente os sintomas e efeitos adversos da apnéia do sono⁵⁸. A adesão a longo prazo ao tratamento é um fator determinante e crítico para o sucesso da terapia com CPAP⁷⁸. Se os pacientes não utilizarem o CPAP durante todo o período em que estão dormindo, os resultados terapêuticos são subótimos. Dormir com o CPAP somente por algumas horas durante a noite ou usá-lo em noites alternadas não constitui adesão ao tratamento⁷⁸.

O fator preditor mais forte de aderência ao tratamento a longo prazo é o uso inicial ou agudo do CPAP. O uso do CPAP nos quatro primeiros dias de terapia prediz o uso dos dois meses subsequentes ⁷⁹, o uso do CPAP nas primeiras quatro semanas de terapia prediz o uso dos próximos seis meses ⁸⁰ e o uso da CPAP nos primeiros três meses de terapia é o melhor preditor de aderência a longo prazo ao tratamento ⁸¹.

O CPAP é também uma modalidade de suporte ventilatório não-invasivo utilizada em várias outras situações clínicas como por exemplo a insuficiência respiratória aguda e edema pulmonar ⁵³. Nestas situações o CPAP pode ser aplicado de maneira periódica ou intermitente, como forma de terapia respiratória. Não é incomum enfrentar situações onde os pacientes se negam a dar continuidade à terapia com CPAP em decorrência de sintomas nasais ou desconforto causado pela máscara, apesar de sua clara indicação ⁸².

Desta forma o estudo dos fatores que freqüentemente levam os pacientes a abandonarem o tratamento com CPAP se faz extremamente necessário e de grande importância.

Os sintomas nasais são os efeitos colaterais mais comuns e freqüentes do CPAP ⁵⁸. Alguns trabalhos mostram que até 60% dos usuários de CPAP sofrem destes sintomas ⁸³. Dentre os principais sintomas nasais relatados podemos destacar a obstrução nasal, o ressecamento nasal e de garganta e a rinorréia ou coriza ³. Sabe-se que a obstrução nasal e resistência nasal aumentada antes do início do tratamento com CPAP tem um efeito negativo e significativo na aceitação do tratamento ¹².

Ao investigar-se os sintomas respiratórios pré e pós início da terapia com CPAP deve-se levar em consideração alguns aspectos como por exemplo: A congestão nasal é causada por um ingurgitamento dos vasos sangüíneos nasais que se expandem e podem restringir ou obstruir completamente a passagem do ar. A obstrução nasal associada a congestão nasal pode ser distinguida facilmente de uma obstrução anatômica pela aplicação de um descongestionante nasal tópico. Qualquer restrição de fluxo aéreo nasal pós tratamento com um descongestionante tópico pode indicar obstruções anatômicas como desvio de septo, por exemplo ⁸⁴. O exame de escolha para avaliar objetivamente a resistência e obstrução nasal é a rinomanometria, que consiste do estudo da pressão transnasal e fluxo aéreo nasal ⁸⁵. Medidas objetivas de permeabilidade nasal podem ser influenciadas por patologias nasais e conseqüente processo inflamatório que diminuem a área transeccional da cavidade nasal. Vários outros fatores podem influenciar a percepção subjetiva de obstrução nasal, como por exemplo, a estimulação de receptores de frio presentes nas vias aéreas, inalação de mentol, congestão da área etmoidal e tuba de Eustáquio, causam a percepção de congestão e pressão, o que não se correlaciona com alterações de resistência nasal ⁸⁶. Adicionalmente, o fluxo aéreo nasal é influenciado pela postura. Alterações do fluxo aéreo em diversas posturas foram demonstradas em indivíduos sadios, e tendem a ser desenvolver em maior magnitude em pacientes com rinite ^{87,88}.

Pacientes com SAOS se queixam com freqüência de obstrução nasal e rinite alérgica ⁸⁹ e a SAOS tem sido associada a vários graus de inflamação

nasal, congestão da mucosa nasal e hiperreatividade de vias aéreas⁹⁰. A inflamação de vias aéreas superiores em pacientes com SAOS pode ser decorrente do trauma mecânico repetitivo relacionado com a oclusão intermitente da orofaringe, que é típica da patologia. Outros mecanismos em potencial são a hipóxia intermitente noturna que através de um fenômeno de isquemia e reperfusão causa lesões ao epitélio e conseqüente produção de radicais livres que por sua vez causam inflamação local e sistêmica⁹⁰. Alguns autores ainda destacam o papel dos mediadores inflamatórios circulantes tais como as citocinas pró-inflamatórias e óxido nítrico exalado como determinantes da inflamação em pacientes com SAOS⁹⁰.

Os sintomas nasais de pacientes com SAOS parece estar relacionados a alterações histológicas da mucosa nasal e estas alterações são diferentes em pacientes com SAOS tratados e não-tratados com CPAP⁹¹. Rubisntein et al, 1995 estudaram amostras de lavado nasal de pacientes com SAOS e compararam com lavado nasal de indivíduos normais. Seus resultados mostram que a inflamação nasal está presente em pacientes com SAOS moderada e grave mesmo na ausência de sintomas clínicos e é manifestada por aumento da proporção de leucócitos polimorfonucleares e concentrações de bradicinina e VIP (vasoactive intestinal peptide)¹³. Neste trabalho o número total de células presentes em amostras de lavado nasal de pacientes com SAOS antes e após uma noite de sono foi significativamente maior (0.6 ± 0.1 e $0.96 \pm 0.4 \times 10^6$ células/ ml, respectivamente) do que o número total de células de indivíduos sadios nas mesmas condições (0.2 ± 0.04 e $0.19 \pm 0.03 \times 10^6$ células/ ml - média \pm DV). A porcentagem de

neutrófilos no lavado nasal dos pacientes com SAOS antes e após uma noite de sono respectivamente foi de: $62 \pm 12\%$ e $68 \pm 11\%$ e a de indivíduos sadios foi de $33 \pm 11\%$ e $30 \pm 13\%$ ¹³.

Estas condições nasais pré-existentes podem favorecer a ocorrência da SAOS e de certa forma tornar estes pacientes mais susceptíveis a desenvolverem sintomas nasais depois do uso do CPAP quando comparados com pacientes que não apresentam queixas nasais prévias ¹⁴.

Patologias nasais como condições pré-existentes assim como sintomas de claustrofobia, predominância de respiração bucal, idade, uso de medicamentos como antihipertensivos e cirurgias de vias aéreas superiores, são fatores muito importantes na escolha da interface que possibilitará a terapia com CPAP; e quando corretamente considerados podem evitar ou minimizar o desconforto, vazamento aéreo e sintomas respiratórios ^{82,92}. A escolha da interface deve ter como objetivo a obtenção do maior grau de vedação possível, para evitar vazamento aéreo, com o maior grau de conforto possível para o paciente ⁵³. Existe uma grande variedade de modelos e tamanhos de interfaces e as opções hoje disponíveis são: máscara nasal, almofada nasal, máscara oronasal, máscara facial e oral. A adesão ao tratamento com máscara nasal parece ser melhor do que com almofadas nasais, máscara oronasal ou oral ⁹². O limitado número de estudos disponíveis que comparam os vários tipos de interfaces, não permite estabelecer a superioridade de um tipo de interface sobre o outro ⁹³.

Os mesmos fatores acima mencionados são também preditores da necessidade do uso de um umidificador com o CPAP ¹⁴. Na prática clínica

a umidificação é reservada a pacientes com queixas de sintomas respiratórios graves e persistentes. Esperar pelo desenvolvimento de sintomas respiratórios pós CPAP, pode ajudar a identificar os pacientes que realmente precisam da umidificação, mas atrasar sua introdução pode reduzir seus possíveis benefícios na aderência ao tratamento ⁸. Dois tipos de umidificação podem ser empregados: Umidificação com ou sem aquecimento do ar inspirado ⁹. A umidificação aquecida é descrita como a forma mais eficaz de tratamento de sintomas nasais decorrentes da terapia com CPAP ¹⁴. Sabe-se que o transporte mucociliar *in vitro* sofre alterações com queda da temperatura do ar inspirado de 37 para 30 °C mesmo com umidade relativa de 100% após seis horas; o que ressalta um efeito adicional benéfico da umidificação aquecida ⁹⁴. Para se conseguir os benefícios da terapia com umidificação aquecida, alguns pontos devem ser observados: 1) Como o umidificador se posiciona a uma certa distância da conexão do circuito a paciente, o gás pode se resfriar durante a passagem pelo circuito, devido à troca de calor com o meio ambiente, pelo mau isolamento oferecido pelos tubos. Em conseqüência, pode ocorrer condensação e acúmulo de água nos sistema respiratório e a inalação de ar frio; 2) Como os umidificadores de água aquecida são capazes de liberar vapor saturado a alta temperatura; além da excessiva umidificação pode ocorrer hipertermia e possíveis danos ao trato respiratório e proliferação de microorganismos no aparelho de CPAP e circuitos ⁶¹; 3) Os umidificadores podem expor a mucosa respiratória a uma ampla variação de temperatura e umidade do gás inspirado, algumas das quais podem ser excessivas e

causar danos ao epitélio. O gás umidificado é carreador de água e energia. Cada respiração contém um volume de água e energia térmica que estimula a mucosa respiratória. Quando estes estímulos superam a capacidade da mucosa de se adaptar, as disfunções do epitélio respiratório aparecem, começando pelos processos de secreção das células e progredindo para prejuízo da função do epitélio como um todo ⁹⁵.

Sabe-se que a inalação de ar frio e seco e o vazamento aéreo com CPAP são fatores que contribuem significativamente para a exacerbação ou desenvolvimento de sintomas nasais e que os possíveis efeitos deletérios do CPAP ao epitélio respiratório podem ser completamente prevenidos pela umidificação e aquecimento do ar inspirado ⁵.

Togias et al, 1985 demonstraram pela primeira vez que uma estimulação física do trato respiratório humano (inalação de ar seco e frio) causa *in vivo* a liberação de mediadores inflamatórios como a histamina e PGD₂ (prostaglandina 2). O aparecimento destes mediadores se correlacionou com a sintomatologia nasal (congestão nasal e coriza) e é possível que tenha contribuído para sua aparição tanto em indivíduos saudáveis como em indivíduos com história de rinite sazonal ou perene ⁶³. Richards et al, 1996 estudaram seis indivíduos saudáveis que deveriam simular um vazamento aéreo pela boca enquanto usavam o CPAP durante diferentes condições de temperatura e umidade. Com a inalação de ar ambiente, esta simulação causou sintomas de ressecamento nasal, congestão nasal seguida de aumento de secreção nasal em todos os indivíduos estudados. Houve um aumento significativo da resistência nasal que se perpetuou além dos 20 minutos de intervenção. Estes efeitos foram prevenidos pela

completa umidificação do ar inspirado ⁶. Hayes et al, 1995 estudaram oito indivíduos saudáveis que deveriam também simular vazamento aéreo pela boca enquanto utilizavam o CPAP com uma máscara nasal. Concluiu-se que mesmo curtos períodos (\pm 10 minutos) de uso do CPAP com a boca aberta levam a um aumento do fluxo sanguíneo da mucosa nasal e conseqüente diminuição do volume da cavidade nasal. Estes efeitos foram também prevenidos pela umidificação e aquecimento do ar inspirado ⁵.

A inalação de ar frio e seco não correlaciona-se apenas com o aparecimento de sintomas nasais e liberação local de mediadores inflamatórios agudamente; alguns indivíduos apresentam uma resposta tardia a esta estimulação (ar frio e seco), que constitui-se de uma re-elevação dos níveis de mediadores inflamatórios no lavado nasal e reaparecimento de rinorréia e congestão nasal horas mais tarde ^{96,97}.

O fato de que a umidificação e aquecimento do ar inspirado pode prevenir alterações da mucosa nasal causadas pelo vazamento aéreo, sugere que o resfriamento e ressecamento do ar inspirado são os responsáveis por estas alterações ⁵. A mucosa nasal tem uma capacidade considerável de aquecer e umidificar o ar inspirado, mesmo em ambiente desfavorável ⁹⁸, mas esta capacidade pode ser ultrapassada frente a altos níveis de fluxo aéreo e particularmente sob condições de fluxo unidirecional, pois a mucosa nasal geralmente recupera um terço da água adicionada ao ar inalado durante a expiração ⁶.

O vazamento aéreo causa um fluxo de ar unidirecional, resseca a mucosa, estimula nervos locais e leva também a liberação de mediadores inflamatórios locais ⁶³. Em muitas espécies, ambos os nervos simpáticos e

parassimpáticos inervam as glândulas submucosas das vias aéreas, e estimulação de diversas vias sensoriais no nariz, laringe e faringe aumenta a taxa de secreção destas células via reflexos autonômicos. Nos humanos as influências colinérgicas predominam. Com o exercício ou hiperventilação voluntária, o transporte mucociliar de indivíduos saudáveis pode aumentar apesar de ocorrer um resfriamento intenso do ar, como sugerem algumas evidências. Estas situações não são análogas à pura respiração de ar frio ao repouso. Os efeitos colinérgicos e simpáticos gerados pelo exercício e as conseqüências mecânicas da hiperpnéia podem elevar o fluido periciliar ou a freqüência de batimento ciliar e desta forma sobrepõem qualquer possível efeito térmico local⁹⁹. De importante relevância é o fato de que o grau com que a água perdida pela superfície das vias aéreas é repostada pela microvasculatura local é dependente da integridade do epitélio respiratório e é essencial no desenvolvimento de ressecamento desta mucosa. Em nosso estudo, os indivíduos estudados supostamente apresentavam um epitélio respiratório saudável, portanto uma possível reação inflamatória local conseqüente do ressecamento da mucosa respiratória pode ter sido agudamente mascarada¹⁰⁰.

A adição de umidificação neste estudo alterou significativamente a temperatura e umidade relativa do ar inspirado quando comparados com o ar ambiente. Evidências mostram que a umidade relativa é responsável por alterações do transporte mucociliar em casos de ventilação mecânica invasiva e que o ideal seria que esta fosse mantida sempre a 100% e que a umidade absoluta do ar fosse também controlada e mantida em níveis

adequados ($44 \text{ mgH}_2\text{O.L}^{-1}$)¹⁰¹. O impacto da umidificação sobre os sintomas respiratórios decorrentes do uso do CPAP nasal é evidente⁸. Em nosso estudo o emprego da umidificação mesmo quando os voluntários deveriam simular um vazamento aéreo foi capaz de prevenir ou diminuir o desenvolvimento dos sintomas estudados após o CPAP. Por outro lado, a umidificação não demonstrou ter impacto significativo nos efeitos do CPAP sobre o transporte mucociliar nasal *in vivo* ou transportabilidade *in vitro* do muco. Mostrar que os efeitos agudos do CPAP são pouco influenciados pela adição da umidificação aquecida ao circuito, não significa que estamos sugerindo que esta é dispensável. Pelo contrário, reafirmamos que sintomas respiratórios específicos que comprometem o uso do CPAP foram relatados com muito menos frequência com a utilização da umidificação.

Não foram evidenciadas diferenças significativas entre a contagem total ou diferencial de células inflamatórias antes e após as intervenções com o CPAP em nosso estudo; o que nos permite sugerir que o uso agudo do CPAP com ou sem umidificação e com ou sem vazamento aéreo por 30 minutos não foi capaz de produzir uma reação inflamatória local na população estudada. A porcentagem de algumas células inflamatórias presente em amostras de lavado nasal pré-intervenção se encontram acima dos níveis descritos para indivíduos normais^{96,73}. Talvez, a realização de lavagens nasais antes da coleta do lavado nasal pré-intervenção reduzisse a concentração de células inflamatórias a seus níveis basais, uma vez que o laboratório onde o trabalho foi realizado se localiza em uma das regiões mais poluídas da cidade de São Paulo. Nossas observações não excluem a

possibilidade de que alguns dos indivíduos estudados apresentavam algum tipo de atopia não diagnosticada. Não estudamos a duração dos efeitos do CPAP e pode ser que a longo prazo estes se modifiquem. A extrapolação destes resultados para pacientes deve ser cautelosa, uma vez que respostas de um epitélio respiratório alterado frente aos mesmos estímulos podem ser diferentes. De especial relevância é o fato do número total de células inflamatórias do lavado nasal pós **CPAP U-V+** ter se correlacionado significativamente com a percepção subjetiva de coriza. Este pode ser um pequeno indício de que os sintomas respiratórios decorrentes do uso incorreto do CPAP estejam relacionados a um processo inflamatório local.

O uso agudo do CPAP produziu um aumento significativo do transporte mucociliar nasal *in vivo*, independente da umidificação ou vazamento aéreo, que em somente uma das intervenções correlacionou-se com sintomas nasais. Rubin et al, 1992, demonstraram que o transporte mucociliar de fumantes assintomáticos é melhor do que o de indivíduos sadios pareados para idade e sexo. Os autores descrevem este achado como uma reação aguda de defesa epitelial contra agentes agressores e que neste caso era mediada por alterações das propriedades físicas do muco respiratório ¹⁰². Não evidenciamos em nosso estudo alterações significativas das propriedades físicas do muco nasal, portanto como analogia, sugerimos que este aumento agudo do transporte mucociliar nasal causado pelo CPAP, seja uma resposta de defesa epitelial contra o estímulo físico do ar pressurizado e que seja mediada por um aumento da frequência de batimento ciliar. A frequência de batimento ciliar sofre a influência de

diversos mediadores inflamatórios como o óxido nítrico exalado, substância P e bradicinina ¹⁰³. Não mensuramos as concentrações destas substâncias em nossas amostras de lavado nasal, mas como não houve diferença na contagem total ou diferencial de células inflamatórias pós intervenções com o CPAP, podemos inferir que qualquer alteração da frequência de batimento ciliar ocorrida durante nossos experimentos tenha sido mediada por estimulação nervosa autônoma.

As intervenções aplicadas no presente estudo foram desenvolvidas para simular o uso do CPAP nasal com e sem umidificação do ar inspirado e com e sem vazamento aéreo, assim como acontece com pacientes com SAOS tratados com CPAP, mas estas intervenções diferem da prática clínica em alguns aspectos. 1) Pacientes desenvolvem o vazamento aéreo durante o sono e de maneira ideal o estudo deveria ser conduzido em indivíduos que estivessem dormindo ou pelo menos deitados. Infelizmente a coleta do muco e lavado nasal não seria possível nestas condições assim como a realização do teste da sacarina. Existem controvérsias sobre a influência da postura sobre o transporte mucociliar nasal e as possíveis diferenças do teste da sacarina não foram sistematicamente estudadas em pacientes sentados e deitados ^{104,105,106}; 2) Os indivíduos estudados não eram portadores de SAOS, mas pacientes com SAOS, como já mencionado, podem apresentar muitas condições nasais que dificultariam a interpretação dos reais efeitos do CPAP, umidificação e vazamento aéreo no transporte mucociliar nasal, inflamação nasal e sintomas respiratórios; 3) O período das intervenções e coleta de dados foi curto quando comparados com uma

situação clínica onde o vazamento aéreo pode ocorrer repetitivamente durante toda a noite. Contudo, ao iniciar o uso do CPAP, os pacientes geralmente passam por uma adaptação ao CPAP que consiste da escolha e uso por um curto período de tempo junto a um profissional de saúde. Alguns sintomas respiratórios, a necessidade de umidificação ou troca do modelo de máscara já podem ser detectados aí.

O estudo deste mesmos efeitos em pacientes com SAOS se faz necessário porém, acreditamos que nossos resultados são de considerável relevância clínica.

6. CONCLUSÕES

O uso agudo do CPAP em indivíduos normais

- a. aumenta significativamente o transporte mucociliar nasal *in vivo* independente da umidificação e vazamento aéreo;
- b. com ou sem umidificação ou vazamento aéreo, não altera a transportabilidade *in vitro* do muco respiratório
- c. com ou sem umidificação ou vazamento aéreo, não altera a composição celular de amostras de lavado nasal
- d. sem umidificação e com vazamento aéreo provoca sintomas respiratórios caracterizados por ressecamento nasal, ressecamento de garganta, coriza e obstrução nasal.

7. ANEXOS

7.1 Anexo 1

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

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

- 1. NOME DO PACIENTE:** _____
DOCUMENTO DE IDENTIDADE N°: _____ **SEXO:** () F () M
DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____
ENDEREÇO _____ **N°** _____ **APTO** _____
CEP: _____ **TELEFONE:** DDD() _____
- 2. RESPONSÁVEL LEGAL:**
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador, etc): _____
DOCUMENTO DE IDENTIDADE N°: _____ **SEXO:** () F () M
DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____
ENDEREÇO _____ **N°** _____ **APTO** _____
CEP: _____ **TELEFONE:** DDD() _____
-

II – DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

- 1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:** Efeitos agudos da pressão positiva contínua de vias aéreas (CPAP) e impacto da umidificação e vazamento aéreo sobre o transporte mucociliar e inflamação nasal de indivíduos saudáveis.
- 2. PESQUISADOR:** Geraldo Lorenzi Filho
CARGO/FUNÇÃO: Médico. Inscrição Conselho Regional CRM 52063
UNIDADE DO HCFMUSP: ICHC Divisão de Clínica Médica – Pneumologia
- 3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:** (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)
SEM RISCO () RISCO MÍNIMO (X) RISCO MÉDIO ()
RISCO BAIXO () RISCO MAIOR ()
- 4. DURAÇÃO DA PESQUISA:** 2 anos

7.2 Anexo 2

Questionário de investigação de afecções respiratórias

Nome: _____

Sexo: ()M ()F Idade: _____ Peso: _____ Altura: _____

IMC: _____

Endereço: _____ Fone: _____

Ocupação: _____

Tabagismo: () Não () Sim () Ex-fumante () Mora com fumantes

Cigarros por dia: _____

Medicações gerais em uso: _____

Queixas respiratórias freqüentes:

Apresenta coceira no nariz com freqüência? () Sim () Não

Se sim em que situações:

Apresenta crises de espirros freqüentes? () Sim () Não

Se sim em que situações:

Sente o nariz entupido com freqüência? () Sim () Não

Se sim em que situações:

Sente o nariz escorrer com freqüência? () Sim () Não

Se sim em que situações:

Voce já foi diagnosticado com alguma patologia nasal ou de garganta? (ex: desvio de septo, rinite, sinusite, hipertrofia de adenóides)

Faz uso de algum medicamento para tratar problemas respiratórios?

Respira com mais dificuldade em lugares que tenham muita poeira, ou quando o clima muda?

Você sabe se tem alergia a alguma coisa em específico? (alimento, animais, pólen...)

8. REFERÊNCIAS

1. Figueiredo AC, Lorenzi MC, Prezzoti S, Cabral MM, Sennes LU, Lorenzi-Filho G. Efeitos da pressão positiva contínua em vias aéreas sobre os sintomas nasofaríngeos em pacientes com a síndrome da apnéia obstrutiva do sono. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 2004; 30(6): 535-539.
2. Strohl PK, Cherniack NS, Gothe B. Physiologic Basis of therapy for Sleep Apnea. *The American Review of Respiratory Disease* 1986; 134: 791-802.
3. Brander PE, Soirinsuo M, Lohela P. Nasopharyngeal Symptoms in Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Respiration* 1999; 66: 128-135.
4. Reeves-Hoche MK, Meck R, Zwillich C. Nasal CPAP: An objective evaluation of patient Compliance. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1994; 149: 149-154.
5. Hayes MJ, McGregor FB, Roberts DN et al. Continuous nasal positive airway pressure with a mouth leak: effect on nasal mucosal blood flux and nasal geometry. *Thorax* 1995; 50; 1179-1182.
6. Richards GN, Cistulli PA, Ungar G, Berthon-Jones M, Sullivan CE. Mouth leak with nasal continuous positive airway pressure increases nasal airway resistance. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1996; 154: 182-186.

7. Barry PW, Mason NP, O'Callaghan C. Nasal mucociliary transport is impaired at altitude. *European Respiratory Journal* 1997; 10:35-37.
8. Araújo MTM, Vieira SB, Vasquez EC. Heated humidification or face mask to prevent upper airway dryness during continuous positive airway pressure therapy. *Chest* 2000; 117: 142-147.
9. Massie C A, Hart R W, Peralez K, Richards G. Effects of Humidification on Nasal Symptoms and Compliance in Sleep Apnea Patients Using Continuous Positive Airway Pressure. *Chest* 1999; 116: 403-408.
10. Rakotonanahary D, Pelletier-Fleury N, Gagnadoux F, Fleury B. Predictive Factors for the need for Additional Humidification during Nasal Continuous Positive Airway Pressure therapy. *Chest* 2001; 119: 460-465.
11. Rappai M, Collop N, Kemp S, deShazo R. The nose and Sleep-Disordered Breathing. What we know and what we do not know. *Chest* 2003; 124 (6): 2309 - 2323.
12. Sugiura T, Noda A, Nakata S, Yasuda Y, Soga T, Miyata S, Nakai S, Koike Y. Influence of nasal resistance on initial acceptance of Continuous Positive Airway Pressure in Treatment for Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Respiration* 2005; 18: 110-118.
13. Rubinstein I. Nasal Inflammation in Patients with Obstructive Sleep Apnea. *Laryngoscope* 1995; 105: 175-177.
14. Pépin JL, Leger P, Veale D, Langevin B, Robert D, Lévy P. Side effects of nasal continuous positive airway pressure in sleep apnea syndrome. *Chest* 1995; 107; 375-381.

15. Lorenzi-Filho G, Saldiva PHN. Aspectos Funcionais do Aparelho Mucocilar. In: Tavares T. *Atualizações em Fisiologia – Respiração*. São Paulo: Ed. Cultura Médica; 1991. 86-99.
16. Houtmeyers E, Gosselink R, Gayan-Ramirez G, Decramer M. Regulation of mucociliary clearance in health and disease. *European Respiratory Journal* 1999; 13: 1177-1188.
17. Constantinidis J, Knöbber D, Steinhart H, Kuhn J, Iro H. Fine-structural investigation of the effect of nCPAP-mask application on the nasal mucosa. *Acta Otolaryngologica* 2000; 120: 432-437.
18. Bossi R, Piatti G, Roma E, Ambrosetti U. Effects of long-term nasal continuous positive airway pressure therapy on morphology, function, and mucociliary clearance of nasal epithelium in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Laryngoscope* 2004; 114 1431-1434.
19. Oliveira LR, Albertini-Yagi CS, Figueiredo AC, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G. Short-term effects of nCPAP on nasal mucociliary clearance and mucus transportability in healthy subjects. *Respiratory Medicine*. 2006; 100: 183-185.
20. Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *New England Journal of Medicine* 1993; 328-1230-5.
21. Neil JD. *Clinician's Guide to Sleep Medicine*. Great Britain: Arnold; 2002. 24-99.
22. Malhotra A, White DP. Pathogenesis of Obstructive Sleep Apnea Syndrome. In: McNicholas WT, Phillipson EA. *Breathing Disorders in Sleep*. London: Ed. Saunders; 2003. 44-63.

23. Becker HF, Jerrentrup A, Ploch T, Psych D, Grote L, Penzel T, Sullivan CE, Peter JH. Effect of Nasal Continuous Positive Airway Pressure Treatment on Blood Pressure in Patients with Obstructive Sleep Apnea. *Circulation* 2003; 107: 68-73.
24. Schwab RJ. Upper airway imaging. *Clinics in Chest Medicine* 1998; 19(1): 33-54.
25. Ahmed MM, Schwab RJ. Upper airway imaging in obstructive sleep apnea. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2006; 12(6): 397-401.
26. Mezzanotte WS, Tangel DJ, White DP. Waking genioglossal electromyogram in sleep apnea patients versus normal controls (a neuromuscular compensatory mechanism). *Journal of Clinical Investigation* 1992; 89: 1571-1579.
27. Mortimore IL, Marshall I, Wraith PK, Sellar RJ, Douglas NJ. Neck and total body fat deposition in nonobese and obese patients with sleep apnea compared with that in control subjects. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 157: 280-3.
28. Kushida CA, Efron B, Guilleminault C. A predictive morphometric model for the obstructive sleep apnea syndrome. *Annals of Internal Medicine* 1997; 127: 581-7.
29. Richard R, Gay PC, Farrell PC. The economics of sleep-disordered breathing. *RT Magazine*: June 2006. Available from: www.rtmagazine.com.
30. Artz M, Young T, Finn L, Skatrud JB, Bradley TD. Association of sleep disordered breathing and the occurrence of stroke. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2005; 172(11):1447-51.

31. Kanagala R, Murali NS, Friedman PA. Obstructive sleep apnea and the recurrence of atrial fibrillation. *Circulation* 2003; 107 (20): 2589-94.
32. Sassani A, Findley LJ, Kryger M, Goldlust E, George C, Davidson TM. Reducing motor-vehicle collisions, costs, and fatalities by treating obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep*. 2003;27(3):453-8.
33. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Augusti AG. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnea-hypopnea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet* 2005; 365 (9464): 1046-53.
34. Kindgen-Milles D, Muller E, Buhl R, et al. Nasal-continuous positive airway pressure reduces pulmonary morbidity and length of hospital stay following thoracoabdominal aortic surgery. *Chest* 2005; 128(2); 821–8.
35. White D, Cadieux R, Lomard R. The effects of nasal anesthesia on breathing during sleep. *American Review of Respiratory Diseases* 1985; 132: 972-975.
36. McNicholas W, Coffey M, Boyle T. Effects of nasal airflow on breathing during sleep in normal humans. *American Review of Respiratory Diseases* 1993; 147: 620-623.
37. Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiologia Médica*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006.
38. Lung MA. The role of the autonomic nerves in the control of nasal circulation. *Biological Signals* 1995; 4(3):179-85.
39. Toskala E. Aspects of mucociliary flow and mechanics in nasal cavity and sinuses. In: Baum GL, Priel Z, Roth Y, Liron N, Ostfeld EJ. *Cilia Mucus and Mucociliary Interactions*. New York: Marcel Decker, Inc; 1998. 227-230.

-
40. Fishman AP, Elias JA. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. 3a ed. New York: McGraw Hill; 1998.
 41. Polito AJ, Proud D. Epithelial cells as regulators of airway inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1998; 102: 714-718.
 42. Saldiva PHN. Aparelho Mucociliar: aspectos funcionais e métodos de estudo. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 1990; 16 (3): 161-170.
 43. Welsh, MJ. Production and control of airway secretions. In: Fishman, AP. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. 3a ed. New York: McGraw Hill; 1998. 113-118.
 44. Wanner A, Salathe M, O'Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1996; 154: 1868-1902.
 45. Boucher RC. Human airway ion transport – part one and part two. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1994; 150: 271-281/ 581-593.
 46. Verdugo P. Goblet cells secretion and mucogenesis. *Annual Review of Physiology*. 1990; 52: 157-176.
 47. Satir P, Sleight MA. The physiology of cilia and mucociliary interactions. *Annual Review of Physiology*. 1990; 52: 137-155.
 48. Lorenzi G, Bohm GM, Guimarães ET, Vaz MA, King M, Saldiva PH. Correlation between rheologic properties and in vitro Ciliary transport of rat nasal mucus. *Biorheology*. 1992; 29(4): 433-40.

49. Lévy P, Pépin JL. Management options in obstructive sleep apnea syndrome. In: McNicholas WT, Phillipson EA. *Breathing Disorders in Sleep*. London: Saunders; 2003. 44-63.
50. Phillips CL, Cistulli PA. Obstructive sleep apnea and hypertension: epidemiology, mechanisms and treatment effects. *Minerva Medicine* 2006; 97 (4): 299 – 312.
51. Veasey SC, Guilleminault C, Strohl KP, Sanders MH, Ballard RD, Magalang UJ. Medical therapy for obstructive sleep apnea: a review by the Medical Therapy for Obstructive Sleep Apnea Task Force of the Standards of Practice Committee of the American Academy of Sleep Medicine. *Sleep* 2006; 29(8): 1036-44.
52. Sullivan CE, Berthon-Jones M, Issa FG et al. Reversal of obstructive sleep apnoea by continuous positive airway pressure applied through the nares. *Lancet* 1981; 1: 862-865.
53. Il Consenso Brasileiro de Ventilação Mecânica. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 2000; 26(2): 1-68.
54. Douglas NJ. Systematic review of the efficacy of nasal CPAP. *Thorax* 1998; 53: 414-15.
55. Ballester E, Badia JR, Hernandez L, Carrasco E, de Pablo J, Fornas C. Evidence of the effectiveness of continuous positive airway pressure in the treatment of sleep apnea/hypopnea syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1999; 159: 495-501.
56. Findley L, Smith C, Hooper J, Dineen M, Suratt PM. Treatment with nasal CPAP decreases automobile accidents in patients with sleep apnea. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2000; 161: 857-9.

-
57. Ohga E, Tomita T, Wada H, Yamamoto H, Nagase T, Ouchi Y. Effects of obstructive sleep apnea on circulating ICAM-1, IL-8, and MCP-1. *Journal of Applied Physiology* 2003; 94 (1): 179-84.
 58. Hoffstein V, Szalai JP. Predictive value of clinical features in diagnosing obstructive sleep apnea. *Sleep* 1993; 16:118-122.
 59. Bachour A, Maasilta P. Mouth breathing compromises adherence to nasal continuous positive airway pressure therapy. *Chest* 2004; 126 (4): 1248- 54.
 60. Winck JC, Delgado JL, Almeida J, Marques JA. Heat it or Wet it? Nasal symptoms secondary to the use of continuous Positive Airway Pressure in Sleep Apnea. *Chest*. 2001; 119 (1): 310-311.
 61. Bisinotto FMB, Braz JRC, Martins RHG. Umidificação dos gases inalados. *Revista Brasileira de Anestesiologia* 1999; 49 (5): 349-359.
 62. Salah B, Xuan Dihn AT, Fouilladieu JL, Lockhart A, Regnard J. Nasal mucociliary transport in healthy subjects is slower when breathing dry air. *European Respiratory Journal* 1988; 1: 852-855.
 63. Togias AG, Naclerio RM, Proud D, Fish JE, Adkinson NF, Kagey-Sobotka A, Norman PS, Lichtenstein LM. Nasal Challenge with Cold, Dry Air results in release of Inflammatory Mediators. *Journal of Clinical Investigation* 1985; 76: 1375-1381.
 64. Nakagawa NK, Franchini ML, Driusso P, Oliveira LR, Saldiva PHN, Lorenzi- Filho G. Mucociliary clearance is impaired in acutely ill patients. *Chest* 2005; 128: 2772-77.

65. Andersen I, Camner P, Jensen PL, Philipson K, Proctor DF. A comparison of nasal and tracheobronchial clearance. *Archives of Environmental Health* 1974; 29(5): 290-3.
66. Puchelle E, Aug F, Pham QT. A comparison of three methods for measuring nasal mucociliary clearance in man. *Acta Otolaryngologica* 1981; 91: 297-303.
67. King M, Macklem PT. Rheological properties of microliter quantities of normal mucus. *Journal of Applied Physiology* 1977; 42: 797-802.
68. King M. Relationship between mucus viscoelasticity and ciliary transport in guaran gel/frog palate model system. *Biorheology*. 1980; 17: 249-254.
69. Rubin BK, Ramirez O, King M. Mucus-depleted frog palate as a model for the study of mucociliary clearance. *Journal of Applied. Physiology* 1990; 69 (2): 424-429.
70. Macchione M, Guimarães E T, Saldiva P H N, Lorenzi-Filho G. Methods for Studying Respiratory Mucus and Mucus Clearance. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1995; 28:1355-60.
71. Nakagawa NK. Efeitos do furosemide, hipovolemia e choque hemorrágico sobre o muco respiratório e diferença de potencial transepitelial traqueal em cães. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo; 2001.
72. Raulf-Heimsoth M, Wirtz C, Papenfuss F, Baur X. Nasal Lavage mediator profile and cellular composition of nasal brushing material during latex challenge tests. *Clinical and Experimental Allergy* 2000; 30: 110-121.
73. Saraiva-Romanholo BM, Barnabé V, Carvalho ALI, Martins MA, Saldiva PHN, Nunes MPT. Comparison of three methods for differential count in induced sputum. *Chest* 2003; 124: 1060-1066.

74. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squilace D, Gleich GJ, Dolovich J, Hargreave FE. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1996; 154 (2): 308-17.
75. Aitken RC. Measurements of feelings using visual analogue scales. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1969; 62: 989-93.
76. Conover WJ. Practical nonparametric statistics. 2a. ed. New York: Wiley; 1980. 493p.
77. Neter J, Kutner M, Nachtsheim CJ, Wasserman W. Applied inear Statistical Models. 4a.ed. Illinois: Irwing; 1996. 1408p.
78. Sanders MH, Gruendl CA, Rogers RM. Patient compliance with nasal CPAP therapy for sleep apnea. *Chest*. 1986; 90 (3): 330-333.
79. Weaver TE, Kribbs NB, Pack AI, Kline LR, Chugh DK, Maislin G. Night-to-Night variability in CPAP use over the first three months of treatment. *Sleep* 1997; 20: 278-83.
80. Kribbs NB, Pack AI, Kline LR, Smith PI, Schwartz AR, Schubert NM. Objective measurement of patterns of nasal CPAP use by patients with obstructive sleep apnea. *American Review of Respiratory Diseases* 1993; 147: 887-95.
81. McArdle N, Devereux G, Heidarnejad H, Engleman HM, Mackay TW, Douglas NJ. Long term use of CPAP therapy for sleep apnea/hypopneas syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1999; 159: 1108 -14.
82. Denehy L, Berney S. The use of positive pressure devices by physiotherapists. *European Respiratory Journal*. 2001; 17: 821-829.

-
83. Engleman HM, Asgari-Jirhandeh N, McLeod AL, Ramsay CF, Deary IJ, Douglas NJ. Self-reported use of CPAP and benefits of CPAP therapy: a patient survey. *Chest* 1996; 109: 1470-6.
 84. Broms P, Malm L, Svensson G. Nasal airway resistance in perennial non-allergic rhinitis. Postural variations and effects of topical application of terbutaline. *Rhinology*. 1982; 20(7): 73-9.
 85. Davis SS, Eccles R. Nasal Congestion: mechanisms, measurements and medications. Core information for the clinician. *Clinical Otolaryngology* 2004; 29: 659-666.
 86. Quine SM, Eccles R. Nasal resistance from laboratory to clinic. *Current Opinion on Otolaryngology, Head and Neck Surgery* 1999; 7: 20-25.
 87. Hasegawa M. Nasal cycle and postural variations in nasal resistance. *Annals of Otolaryngology, Rhinology and Laryngology* 1982; 91: 112-114.
 88. Hasegawa M. Posture induced nasal obstruction in patients with allergic rhinitis. *Clinical Otolaryngology* 1994; 19: 125-137.
 89. Series F, St Pierre S, Carrier G, Surgical correction of nasal obstruction in treatment of mild sleep apnea: importance of cephalometry in predicting outcome. *Thorax* 1993; 48:360-63.
 90. Sabato R, Guido P, Salermo FG, Resta O, Spanevello A, Barbaro MP. Airway inflammation in patients affected by obstructive sleep apnea. *Monaldi Archives of Chest Disease* 2006; 65(2): 102-5.
 91. Schrodter S, Bierman E, Halata Z. Histologic evaluation of nasal epithelium of the middle turbinate in untreated OSAS patients and during nCPAP therapy. *Rhinology*. 2004; 42 (3): 153-7.
 92. Weaver TE. Adherence to positive airway pressure therapy. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. 2006; 12(6): 409-13.

-
93. Chai CL, Pathinathan A, Smith B. Continuous Positive Airway Pressure delivery interfaces for obstructive sleep apnoea. *Cochrane Database System Review*. 2006; 18 (4): CD005308.
 94. Kilgour E, Rankin N, Ryan S, Pack R. Mucociliary function *deteriorates in the clinical range of inspired air temperature and humidity*. *Intensive Care Medicine*. 2004; 30(7):1491-4.
 95. Williams RB. The effects of excessive humidity. *Respiratory Care Clinics of North America*. 1998; 4(2): 215- 28.
 96. Iliopoulos O, Proud D, Norman PS, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Naclerio RM. Nasal challenge with cold, dry air induces a late-phase reaction. *American Review of Respiratory Diseases*. 1988; 138 (2):400-5.
 97. Togias A, Naclerio RM, Proud D, Pipkorn U, Bascom R, Iliopoulos O, Kagey-Sobotka A, Norman PS, Lichtenstein LM. Studies on the allergic and nonallergic nasal inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1988; 81 (5): 782-90.
 98. Takayagi Y, Proctor DF, Salman S, Evering S. Effects of cold air and carbon dioxide on nasal air flow resistance. *The Annals of Otolology, Rhinology and Laryngology* 1969; 78: 40-48.
 99. Van Oostdam JC, Walker DC, Knudson K, Dirks P, Dahlby RW, Hogg JC. Effect of breathing dry air on structure and function of airways. *Journal of Applied Physiology* 1986; 61(1): 312-317.
 100. Boatsman JE, Calhoun KH, Ryan MW. Relationship between rhinosinusitis symptoms and mucociliary clearance time. *Otolaryngology, Head and Neck Surgery*. 2006; 134 (3) 491-3.
 101. McFadden ER. Respiratory heat and water exchange: physiological and clinical implications. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology* 1983; 54 (2):331-336.

-
102. Rubin BK, Ramirez O, Zayas G, Finegan B, King M. Respiratory Mucus from asymptomatic smokers is better hydrated and more easily cleared by mucociliary action. *American Review of Respiratory Diseases*. 1992; 145: 545-547.
103. Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS. The biology of nitrogen oxides in the airways. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1994; 149: 538-551.
104. Nuutinen J. Asymmetry in the nasal mucociliary transport rate. *Laryngoscope* 1996; 106: 1424- 1428.
105. Soane RJ, Carney AS, Jones NS, Frier M, Perkins AC, Davis SS, Illum L. The effect of the nasal cycle on mucociliary clearance. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences* 2001; 26(1): 9-15.
106. Cole P, Haight JSJ. Posture and the nasal cycle. *Annals of Otolaryngology, Rhinology and Laryngology* 1986; 95: 233-237.