Michelle Lisidati Franchini

**Efeitos do oxigênio umidificado e não umidificado via cateter
nasal sobre o transporte mucociliar e muco nasal**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências

Programa de Ciências da Reabilitação

Orientadora: Profa. Dra. Naomi Kondo Nakagawa

(versão corrigida – Resolução CoPGr 6018, de 13 de outubro de 2011. A versão original está
disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2015

*Dedico esta dissertação aos meus pais, Carlos e
Gisleine, ao meu marido Marcos e minha filha amada
Ana Beatriz, que fizeram o possível e o impossível para
me impulsionar na direção dos meus sonhos.
Obrigado por tudo gratidão.*

AGRADECIMENTOS

*À minha orientadora, **Profa. Dra. Naomi Kondo Nakagawa**, que sempre acreditou no meu potencial, esteve ao meu lado mostrando qual direção seguir, dividindo não só os dados desse trabalho, mas contribuindo para minha formação profissional e pessoal, minha eterna gratidão e admiração.*

*Aos amigos do laboratório e alunos, **Tômas de Santana Carvalho, Tatiana Satie Kawauchi, Juliana Araújo Nascimento, Geisa Andrade, Daniela Utiyama, Carolina Tieko Yoshida, Camila Arcas, Marina Lazzari Nicola, Cristiane Mayumi Kazama, Janaína Proença Oliveira-Maul, Guillermo Mazzucco, Danielle Miyuki Goto e a Iracema loco Kikuchi Umeda** pela parceria e apoio, com quem pude contar e compartilhar momentos de alegrias e tristezas. Obrigada pelo carinho.*

*Aos professores **Bruce K. Rubin e Paulo Hilário Nascimento Saldiva** pelos ensinamentos científicos e colaboração com o planejamento até a publicação de nosso trabalho.*

*Aos pesquisadores, **Dra. Regiani Carvalho Oliveira, Dra. Mariângela Macchione, Dra. Kelly Yoshizaki, Luís Fernando Amato-Lourenço, Tiana Moreira.***

*A todos os colegas e colaboradores do **Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental (LIM 5)** e do **Laboratório de Ciências da Reabilitação (LIM 34)** pela colaboração e amizade.*

*Aos professores examinadores da minha banca de qualificação: **Prof. Dr. Heráclito Barbosa de Carvalho, Profa. Dra. Carolina Fu** e a **Profa. Dra. Iracema loco Kikuchi Umeda** pelas preciosas sugestões que me ajudaram a*

melhorar minha dissertação.

*À **Biblioteca da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo** em especial a **Márcia Arruda** pela ajuda nas pesquisas e a **Valéria de Vilhena Lombardi** pelo auxílio na elaboração da ficha catalográfica desta dissertação.*

*Ao **Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo** pelo meu aceite como pós graduanda e pela assistência prestada no desenvolvimento deste trabalho, e às secretárias **Ana Nakazone e Marilisa Fernandes** pela atenção e auxílio nas dúvidas burocráticas.*

*Ao ambulatório de DPOC e bronquiectasia do Hospital das Clínicas de São Paulo, em especial ao **Dr. Rodrigo Athanazio** por toda ajuda com o recrutamento dos voluntários e contribuição na discussão do nosso trabalho.*

*Aos meus amigos mais que especiais **Cassio Couto Moraes, Camila Vilas Boas e Maíra Caricari Savedra** obrigada pelo carinho e por torcerem sempre por mim e serem os melhores amigos que alguém poderia ter Amo vocês!*

*Aos meus amigos **Fernanda Bellintane, Ana Carolina Sanchez, Anderson da Silva Rosa e Tony Wendel** por quem tenho grandes admirações e o prazer de ter dividido ótimos momentos. Foram vocês os responsáveis em plantar em mim uma semente na linha de pesquisa.*

*Ao **Luís Fernando Amato, Dra Carmen Diva Saldiva de André e Hayala Cavenague de Souza** pela colaboração e apoio nas análises estatísticas.*

*Às minhas amigas **Vanluiza Nicomédio dos Santos e Patricia***

Campos Cruz que mesmo de longe sempre estiveram na torcida para eu realizar essa conquista.

Aos meus amigos de trabalho **Mateus de Oliveira, Flavia Chino, Daniela Cardilli, Ilva Almeida, Saulo Ciasa, Adriana Miranda, Mirian Ribeiro, Carla Soleman, Aline Thomaz, Fernanda Rodrigues, Roberta Igreja, Valeria Oto, Débora Rubio dos Santos, Rodrigo Pinto Pacheco** obrigado pela parceria de sempre.

Ao **Sr. Alcenyr Pitton** (em memória) por ter dividido comigo tantos momentos agradáveis desde minha infância, pela sensibilidade de perceber sempre que eu precisava de uma palavra amiga, pelos ensinamentos relacionado a Deus. Foi um grande exemplo de ser humano.

E principalmente, meu especial agradecimento, a todos **voluntários** que participaram do nosso estudo, sem vocês não seria possível concluir esse trabalho.

À toda minha família que acompanhou cada etapa do meu mestrado, esta vitória também é de vocês e para vocês!

A todos minha sincera e eterna gratidão pois sem vocês minha história não seria completa !

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de símbolos e unidades

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Condicionamento dos gases inspirados.....	4
1.2 Transporte mucociliar	6
 2. OBJETIVO.....	 11
 3. MÉTODO.....	 13
3.1 Sujeitos do estudo.....	13
3.2 Avaliação.....	14
3.3 Questionário.....	14
3.3.1 Questionário geral.....	14
3.3.2 Questionário SNOT-20.....	14
3.4 Exame físico	15
3.4.1 Transporte mucociliar nasal por meio do Teste de Trânsito da Sacarina	16
3.4.2 Coleta e análise do muco nasal.....	17
3.4.3 Análise do ângulo de contato do muco.....	18
3.4.4 Coleta do condensado do ar exalado e análise do pH.....	20
3.4.5 Coleta do lavado nasal.....	21
3.4.6 Contagem total e diferencial das células do lavado nasal.....	22
3.4.7 Quantificação de citocinas em lavado nasal	22
3.5 Análise estatística.....	22

4. RESULTADOS.....	25
5. DISCUSSÃO.....	36
6. CONCLUSÃO	45
7. ANEXOS	47
Anexo A. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FMUSP	47
Anexo B. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal da Saúde/SMS.....	48
Anexo C. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	49
Anexo D. Questionário geral.....	52
Anexo E. Questionário de desconforto sino nasal (SNOT-20).....	54
8. REFERÊNCIAS	56
APÊNDICES	68
Apêndice 1. Artigo publicado na revista científica CHEST (Fator de Impacto: 7,48) sob o título: <i>Oxygen with cold bubble humidification is no better than dry oxygen in preventing mucus dehydration, decreased mucociliary clearance, and decline in pulmonary function.</i> Franchini ML, Athanazio R, Amato-Lourenço LF, Carreirão-Neto W, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G, Rubin BK, Nakagawa NK. Doi:10.1016/j.chest.2016.03.035	

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise da variância
BFON	Baixo fluxo de oxigênio via cateter nasal
CEP	Comitê de ética e pesquisa
DM	Diabetes mellitus
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EBC	Condensado do ar exalado
EGF	Fator de crescimento epidermal
FC	Frequência cardíaca
FiO ₂	Fração inspirada de oxigênio
HAS	Hipertensão arterial
IFN- α	Interferon-alpha
IL-1 β	Interleucina-1beta
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IL-10	Interleucina-10
IMC	Índice de massa corpórea
IQR	Intervalo interquartil
LN	Lavado nasal
n	Número de pacientes

PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
PaO ₂	Pressão parcial de oxigênio arterial
SNOT- 20	Questionário <i>Sino-Nasal Outcome Test – 20</i>
SpO ₂	Saturação periférica de oxigênio
STT	Teste de trânsito da sacarina
TMC	Transporte mucociliar
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

°	grau
°C	grau Celsius
bpm	batimento por minuto
H ₂ O	água
kg/m ²	quilograma por metro quadrado
L	litro
%	porcentagem
mL	mililitro
mg	miligrama
mg/L	miligrama por litro
min	minuto
mm	milímetro
mmHg	milímetro de mercúrio
NaCl ⁻	cloreto de sódio
O ₂	oxigênio
pg/mL	picograma por mililitro
rpm	respiração por minuto
μL	microlitro
μm	micrometro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estudos que avaliaram a oxigenoterapia via cateter nasal sobre os sintomas de vias aéreas, as exacerbações e a fração inspirada de oxigênio	9
Tabela 2	Dados demográficos e clínicos de pacientes dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado analisados por meio do Teste-T (^T), Teste Mann Whitney (^{MW}) ou Teste Exato de Fisher (^F). Os valores estão apresentados como médias ± DP ou números de casos e proporções	27
Tabela 3	Tabela 3. Os valores médios (± DP) de temperatura (T) e umidade absoluta (UA) do oxigênio seco e oxigênio umidificado com 2 e 3 L/min no final do cateter e na mucosa nasal durante a inspiração (^a vs ^b p < 0,001 , ^a vs ^c p < 0,001 , ^d vs ^e p < 0,001 , ^d vs ^f p = 0,002)	28
Tabela 4	Valores médios ± DP ângulo de contato do muco nasal, pH do lavado nasal e pH do condensado do ar exalado dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado ao longo do estudo. Análise por meio da two-way ANOVA para medidas repetidas e com ajustes de Bonferroni	31
Tabela 5	Número de células totais, células diferenciadas e quantificação de citocinas em lavado nasal nos pacientes do grupo Oxigênio Seco e grupo Oxigênio Umidificado ao longo do estudo. Os valores estão apresentados como média ± DP. Análise por meio da two-way ANOVA não paramétrico	32
Tabela 6	Os valores médios (± DP) de dados de espirometria. Análise por meio da ANOVA para medidas repetidas	33
Tabela 7	Frequência (%) de sintomas (tosse e sono) relatados pelos pacientes Oxigênio Seco (n=10) e Oxigênio Umidificado (n=8) ao longo do estudo. Análise por meio de ANOVA para medidas repetidas. ^a p = 0,041 e ^b p = 0,025 vs basal e 12 horas , ^c p = 0,019 vs 7 dias e 30 dias	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Desenho esquemático do transporte mucociliar nasal. Adaptado e com permissão de Nakagawa et al. (1997)	8
Figura 2	Teste de trânsito da sacarina. A: colocação da sacarina e B: cronometragem do tempo	17
Figura 3	Coleta do muco nasal <i>in situ</i> : por meio de um pincel	18
Figura 4	Equipamentos para análise do ângulo de contato do muco. A: foco de luz multidirecional, B: estereomicroscópio, C: câmera conectada ao estereomicroscópio e ao computador, D: computador com o programa Axiovision de análise de imagem, E: determinação do ângulo por meio de uma reta na superfície da lâmina e outra reta na superfície do muco após cinco minutos	19
Figura 5	Coleta do condensado do ar exalado. A: sistema coletor resfriado, B: fluido coletado em frasco de vidro, C: análise do pH por meio de micropHmetro	20
Figura 6	Coleta do lavado nasal. A: instilação de soro fisiológico 0,5% por meio de uma seringa em uma das narinas e B: coleta do lavado nasal em frasco estéril	21
Figura 7	Diagrama esquemático CONSORT com recrutamento, inclusão, aleatorização dos tratamentos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado e avaliações dos pacientes ao longo do estudo	26
Figura 8	Comportamento do transporte mucociliar nasal (médias $\pm$ DP) dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado ao longo de 24 meses (* $p=0,049$ e † $p=0,017$ vs basal)	29
Figura 9	Comportamento do ângulo de contato do muco nasal (médias $\pm$ DP) dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado ao longo de 24 meses	30

RESUMO

Franchini ML. *Efeitos do oxigênio umidificado e não umidificado via cateter nasal sobre o transporte mucociliar e muco nasal* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

O transporte mucociliar (TMC) é um mecanismo básico de defesa do sistema respiratório necessário na resistência à infecção. A efetividade desse mecanismo de defesa depende da composição e profundidade do muco, da integridade e da função dos cílios e da interação muco-cílio. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos crônicos do oxigenoterapia de baixo fluxo via cateter nasal com e sem umidificação sobre o TMC nasal, nas propriedades físicas do muco, na inflamação e nos sintomas de vias aéreas em pacientes com hipoxemia crônica com necessidade de oxigenoterapia domiciliar de longo prazo (>15 horas/dia). Dezoito pacientes (idade média de 68 anos, 7 do sexo masculino, índice de massa corpórea (IMC) médio de 26 kg/m², 66% com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), 60% com hipertensão arterial (HAS) e ex-tabagistas) iniciando oxigenoterapia de baixo fluxo via cateter nasal foram randomizados para o grupo Oxigênio Seco (n=10) ou Oxigênio Umidificado (n=9). Os pacientes foram avaliados nos tempos: basal, 12 horas, 7 dias, 30 dias, 12 meses e 24 meses para o TMC nasal por meio do teste de trânsito da sacarina, as propriedades físicas do muco por meio de ângulo de contato, a inflamação por meio de quantificação do número total de células e diferenciais e da concentração de citocinas no lavado nasal assim como para sintomas por meio do questionário SNOT-20. O sintoma mais importante relatado por pacientes no basal foi tosse que melhorou após 7 dias de oxigenoterapia. No nosso estudo, os pacientes de ambos grupos apresentaram prolongamento significativo (40%) do TMC nasal ao longo do estudo. O lavado nasal mostrou um aumento das proporções de neutrófilos, das células caliciformes e da concentração do fator de crescimento epidermal (EGF) assim como reduções em macrófagos e concentrações de interferon alfa (IFN- α), interleucina (IL)-8 e IL-10 ao longo do estudo. Não houve alterações na proporção de células ciliadas, na concentração de IL-6 e no ângulo de contato

do muco em ambos os grupos. A tosse e os sintomas de sono diminuíram significativamente em ambos os grupos. Nosso estudo sugere que a umidificação não tem impacto sobre o TMC nasal, as propriedades do muco, a inflamação e os sintomas em pacientes com baixo fluxo de oxigênio via cateter nasal (BFON).

Descritores: oxigenoterapia; cateteres; depuração mucociliar; inflamação; fisioterapia

ABSTRACT

Franchini ML. *The effects of humidified and dry oxygen via nasal catheter on mucociliary clearance and mucus* [dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

Mucociliary clearance (MCC) is a basic defense mechanism of the respiratory system against respiratory infection. The efficiency of this defense mechanism depends on the mucus composition and mucus depth, on the cilia integrity and function and the mucus-cilia interaction. The aim of this study was investigate the long-term effects of low-flow oxygen via nasal catheter (NLFO) using dry oxygen (Dried-NLFO) or humidified oxygen (Humidified-NLFO) on nasal mucociliary clearance, mucus properties, inflammation and symptoms in patients with chronic hypoxemia requiring long-term domiciliary oxygen therapy (> 15 hours/day). Eighteen patients (mean age of 68 years, 7 male, mean BMI of 26 kg/m², 66% COPD, 60% hypertensive and former smokers) initiating NLFO were randomized to Dried-NLFO (n=10) or Humidified-NLFO (n=9). Patients were assessed at baseline and along 12 hours, 7 days, 30 days, 12 months and 24 months for nasal MCC using saccharine test, mucus properties by means of contact angle, inflammation using total number of cells and cytokines concentration in nasal lavage fluid as well as symptoms by SNOT-20 questionnaire. The most important airway symptom reported by patients at baseline was cough that improved after 7 days of oxygen therapy. In our study, nasal MCC prolonged significantly (40%) and similarly in both groups along the study. Nasal lavage showed increased proportions of neutrophils, goblet cells and epidermal growth factor concentration as decreases in macrophages, IFN- α , IL-8 and IL-10 concentrations along the study. No changes in the proportion of ciliated cells, IL-6 and mucus contact angle were observed in both groups. Coughing and sleep symptoms significantly decreased similarly in both groups. Our study suggests that humidification does not impact on nasal MCC, mucus properties, inflammation and symptoms in patients using NLFO.

Key words: oxygen inhalation therapy; catheters; mucociliary clearance; inflammation, physical therapy

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

De acordo com o Ministério da Saúde do Brasil (2010), a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) afeta 210 milhões de pessoas, é a quarta causa de mortalidade e representa 4,8% dos óbitos em todo o mundo, crescendo progressivamente nessa escala. Similarmente, as doenças respiratórias do trato inferior (DPOC, asma e outras) foram contabilizadas em geral como terceira causa de morte (total aproximado de 235.000 mortes) nos Estados Unidos da América (NHLBI, 2012).

No desenvolvimento das doenças respiratórias graves ou em seus estágios avançados, os pacientes podem desenvolver insuficiência respiratória crônica, hipoxemia crônica, redução da função pulmonar, inflamação persistente das vias aéreas acompanhada por retenção de muco, exacerbações frequentes da doença e qualidade de vida reduzida. No caso de pacientes com hipoxemia crônica secundária às doenças respiratórias, a oxigenoterapia de longa duração é usada no tratamento de pacientes com DPOC (*Nocturnal Oxygen Therapy Group*, 1980; Croxton e Bailey, 2006), fibrose cística (Zinman et al., 1989), bronquite crônica e enfisema grave (*Report of the Medical Research Council Working Party*, 1981) com o objetivo de aumentar a sobrevida desses pacientes. Em 2000, a Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (2000) relatou uma prevalência aproximada de 65.000 pacientes com hipoxemia crônica no Brasil e sob uso crônico de oxigênio domiciliar de longa duração. A oxigenoterapia de longa duração é

definida como o uso de oxigênio por pelo menos 15 horas por dia (Hardinge et al., 2015).

A indicação de oxigenoterapia de longa duração é baseada em dados gasométricos e clínicos, e entre eles: (1) pressão parcial de oxigênio arterial $\leq$ 55 mmHg ou saturação de oxigênio arterial $\leq$ 88% em repouso ou (2) pressão parcial de oxigênio arterial entre 56 e 59 mmHg ou saturação de oxigênio arterial de 89% associada a: (a) edema pulmonar por insuficiência cardíaca, (b) evidência de cor pulmonale e/ou (c) hematócrito $\geq$ 56% (Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, 2000; *American Association for Respiratory Care*, 2007).

Para prover um baixo fluxo de oxigênio via cateter nasal (BFON) de 0,5 a 5 L/min ao paciente são necessários alguns equipamentos e materiais. Os reservatórios de oxigênio ou fontes de oxigênio disponíveis são: cilindros de oxigênio comprimido, cilindros de oxigênio líquido e concentradores de oxigênio do ambiente (Tiep e Carter, 2008). Entre os materiais de interface entre a fonte e o paciente, o cateter nasal tem sido a escolha padrão-ouro para ofertar oxigenoterapia de baixo fluxo (Campbell et al., 1988; Ricard e Boyer, 2009). O cateter nasal proporciona um volume maior de oxigênio que o ar atmosférico e a cada litro por minuto se acrescenta aproximadamente 3 a 4% de fração inspirada de oxigênio (FiO_2) (*American Thoracic Society* e *European Respiratory Society*, 2004).

1.1 Condicionamento dos gases inspirados

Fisiologicamente, durante a respiração espontânea de indivíduos normais, as vias aéreas superiores e inferiores realizam o condicionamento dos gases inspirados constituído por umidificação, aquecimento e filtração. Na respiração normal, o ar atinge uma temperatura de 37°C e 100% de umidade relativa logo abaixo da carina em um ponto imaginário denominado de ponto de saturação isotérmica para favorecer uma troca gasosa eficiente nos alvéolos (Shelly et al., 1988; Nakagawa et al., 2006; Chidekel et al., 2012). Em pacientes que têm as vias aéreas superiores ultrapassadas por um tubo traqueal (como por exemplo aqueles pacientes submetidos à ventilação mecânica invasiva) utiliza-se aquecimento e umidificação para garantir a integridade das vias aéreas e da função mucociliar (Branson et al., 1993; Nakagawa et al., 2000). Branson et al. (1993) sugerem que a umidificação mínima necessária deve fornecer umidade absoluta de 12 a 15 mg H₂O/L para prevenir essas alterações estruturais e funcionais. Williams et al. (1996) em modelo conceitual de função da mucosa *versus* curva de umidade absoluta inspirada sugerem que níveis adequados de umidade absoluta estão entre 33 mg de H₂O/L e 44 mg de H₂O/L, sendo que níveis inferiores aplicados em tempo ≥ 24 horas estão associados à disfunção do batimento ciliar, da profundidade de muco e do transporte mucociliar (TMC) (Williams et al., 1996). Nessa direção, outros estudos mostram que, em geral, a oferta de gases secos e frios ou com umidificação insuficiente pode estar associada com alteração da função e estrutura do epitélio traqueobrônquico (Branson, 1998) como por exemplos

ressecamento da mucosa, ruptura de membrana basal, perda de cílios e descamação da mucosa assim como alterações do batimento ciliar, das propriedades físicas do muco e do TMC (Salah et al., 1988; Nakagawa et al., 2000). Adicionalmente, eventos clínicos também podem decorrer do condicionamento insuficiente do gás como broncoespasmo, atelectasia e obstrução de cânula de intubação por rolha de muco.

Quanto à umidificação do oxigênio de baixo fluxo, a *American College of Chest Physicians* discutiu essa temática em 1984 (Fulmer et al., 1984) e concluiu não haver evidências científicas para essa prática. A *American Association for Respiratory Care* (1992) e a *American Thoracic Society* (1995) seguiram essa mesma linha de recomendação (não umidificação do oxigênio via cateter nasal de baixo fluxo) por falta de evidências científicas. Na prática clínica, observamos a aplicação dessa recomendação de não umidificar BFON em diversos serviços hospitalares. As justificativas das comissões de controle de infecção hospitalar têm sido: evitar a contaminação da água dos reservatórios por manuseio inadequado do dispositivo (Golar et al., 1993; Yamashita et al., 2005) ou evitar que essa água do reservatório não se torne um meio de crescimento de microorganismos e, dessa forma, reduzir o risco de infecção respiratória hospitalar. Contudo, outros estudos mostram baixas taxas de contaminação bacteriana em umidificadores de bolhas reutilizáveis ou descartáveis por até 56 dias em pacientes críticos internados em Unidades de Terapia Intensiva (Yamashita et al., 2005).

Por outro lado, há estudos que mostram efeitos deletérios com essa prática. O estudo de Dellweg et al. (2013) relataram que o uso de oxigênio seco

via cateter nasal até 3 L/min durante 3 respirações diminui significativamente a umidade nasal causando ressecamento da mucosa e sugeriram que a exposição crônica poderia causar inflamação local e sangramento. Miyamoto et al. (2008) também relataram que o fluxo de oxigênio seco de 1 a 5 L/min via cateter nasal pode levar a um aumento de sintomas de desconforto como secura na boca, no nariz e na traqueia além de cefaleia e desconforto torácico após aplicação imediata (um minuto) em jovens saudáveis e pacientes com DPOC. Mas que houve redução na gravidade dos sintomas após três dias de umidificação (Campbell et al., 1988).

1.2 Transporte mucociliar

O TMC é um dos mecanismos mais importantes envolvidos na remoção de agentes estranhos (partículas, microorganismos) do sistema respiratório e é composto por três elementos básicos: (a) cílio (estrutura e função), (b) muco respiratório (composição e quantidade) e (c) interação muco-cílio (Saldiva, 1990; Nakagawa, 1997). A efetividade desse mecanismo de defesa respiratório depende da integridade, da função e da coordenação integrada entre estes três elementos. Há diversas doenças respiratórias que podem prejudicar a função ciliar, alterar a composição e a produção de muco, interferir no reflexo da tosse, e dessa forma favorecer o acúmulo de secreções e obstrução de vias aéreas, colonização, infecção bacteriana, resposta inflamatória, aumento de resistência e lesão parenquimatosa (Stanley et al., 1986; Campbell et al., 1988; Capellier et al., 1997; Nakagawa et al., 2000; Volsko, 2013).

O epitélio respiratório das vias aéreas é pseudoestratificado, repousa sobre a membrana basal e é constituído de seis tipos celulares, sendo a célula ciliada o tipo mais abundante. Cada célula ciliada possui cerca de 200 cílios na sua superfície apical (Junqueira e Carneiro, 2008). Cada cílio tem um diâmetro aproximado de 0,25 μm e comprimento de 5 a 50 μm . Essa variação de comprimento é dependente da localização das células ciliadas, quanto mais proximal os cílios são mais longos e quanto mais distal, os cílios são mais curtos (Nakagawa et al., 2006). O batimento ciliar é responsável pela propulsão do muco de forma coordenada em ondas mecatrônicas na direção da orofaringe, onde será deglutido ou expectorado (Nakagawa et al., 2006; Braiman e Priel, 2008) (Figura 1). A frequência de batimento ciliar é de aproximadamente 10 a 20 ciclos/s (Hz) e o batimento ciliar é dividido em duas fases, a efetiva e a fase de recuperação. Na fase efetiva, o cílio se estende totalmente e o seu topo carrega o muco para a região proximal das vias aéreas, em seguida, na fase de recuperação, onde o cílio curvado retorna lentamente à posição original dentro do fluído periciliar (Nakagawa et al., 2006).

O muco é um fluido viscoelástico que consiste basicamente de água e de outras substâncias, entre elas lipídios, peptídeos e proteínas, principalmente mucinas que são proteínas de alto peso molecular (Rubin, 2014). Estima-se que o volume de muco produzido em indivíduos saudáveis varia de 10 a 100 mL por dia. O muco é composto por duas camadas: (a) camada periciliar, que recobre os cílios de forma contínua e (b) o muco propriamente dito.

Figura 1. Desenho esquemático do transporte mucociliar nasal. Adaptado e com permissão de Nakagawa et al. (1997)

A camada de muco varia de 2 a 5 μm na traqueia e se estende dos bronquíolos para as vias aéreas superiores (Rubin, 2002). O muco que protege o epitélio de partículas estranhas inaladas é produzido por células caliciformes e por glândulas da submucosa do epitélio respiratório, possui diversas funções como lubrificar, umidificar a superfície das vias aéreas, isolar e proteger o epitélio de agressores exógenos. Alterações no grau de hidratação do muco e na espessura da camada periciliar alteram o adequado funcionamento dos cílios e do transporte de muco (Nakagawa et al., 2006; Junqueira e Carneiro, 2008; Fahy e Dickey, 2010). No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos do oxigênio de baixo fluxo via cateter nasal (BFON) e de longa duração, Umidificado e Seco, sobre mecanismos de defesa do sistema respiratório. Há poucos estudos que avaliaram a oxigenoterapia via cateter nasal sobre os sintomas de vias aéreas, as exacerbações e a fração inspirada de oxigênio (Tabela 1). Nós hipotetizamos que a oferta de oxigênio seco via cateter nasal de baixo fluxo pode induzir ao aumento de sintomas de vias aéreas e problemas de sono, redução do TMC nasal, alteração das propriedades do muco nasal e inflamação nasal em pacientes com insuficiência respiratória crônica.

Tabela 1. Estudos que avaliaram a oxigenoterapia via cateter nasal sobre os sintomas de vias aéreas, as exacerbações e a fração inspirada de oxigênio

Autores	Sujeitos e Métodos	Resultados	Conclusão
Dewan et al., 1990	Grupos: Grupo 1: DPOC com O ₂ n=20, 63 ± 6 anos (15 homens) Grupo 2: DPOC sem O ₂ n=20, 66 ± 8 anos (15 homens) Grupo 3: Controle n=20, 62 ± 6 anos (15 homens) Fluxo: 1-2 L/min Análise estatística: Coeficiente de correlação linear de Pearson e Teste T	Questionário Olfato: Grupo 1: 27,70 ± 6,07 Grupo 2: 31,10 ± 4,95 Grupo 3: 35,35 ± 3,58 Grupo 1 vs Grupo 2: p=0,066 Questionário Paladar: Grupo 1: 14,0 ± 2,3 Grupo 2: 12,8 ± 2,2 Grupo 3: 15,8 ± 1,8 Grupo 2 vs Grupo 1: p<0,05 Grupo 2 vs Grupo 3: p<0,05	O ₂ durante 6 meses não prejudica o olfato nem o paladar
Campbell et al., 1998	n=185 pacientes internados Grupos: Umidificado: 66 ± 14 anos (64 homens/35 mulheres) Seco: 66 ± 13 anos (56 homens/30 mulheres) Fluxo: ≥ 5 L/min Análise estatística: Teste T, Qui-quadrado e ANOVA para medidas repetidas	Questionário de sintomas A: nariz seco p=0,580 B: garganta seca p=0,45 C: dor de cabeça p=0,41 D: dor no peito p=0,215	Sintomas similares: Umidificado-Seco
Yamashita et al., 2005	Modelo experimental de observação de pó e contaminação de dispositivos com Gram-positive cocci por meio de análise de 54 pontos cada um dos 12 umidificadores a cada 7 dias durante 56 dias Grupos: Grupo 1: Umidificadores descartáveis (n=6) Grupo 2: Umidificadores reutilizáveis (n=6) Fluxo: 5 L/min Análise estatística: descritivo e cálculo do poder do estudo	Grupo 1: a) não foi observado pó b) contaminação de 1 dispositivo no 21º dia: 40 unidades de colônias Grupo 2: a) foi observado pó no 35º dia b) contaminação de 1 dispositivo no 28º dia: 10 unidades de colônias Poder da amostra: 0,75	Não houve contaminação bacteriana em umidificadores por 56 dias
Wettstein et al., 2005	n=10 Saudáveis em uso de umidificação por bolhas Questões de pesquisa: FiO₂ 1: FiO ₂ Repouso x Respiração rápida 2: FiO ₂ Boca aberta vs Boca fechada Fluxo: 1-15 L/min Análise estatística: Teste T	Questão 1 - Fluxo 1-5 L/min: Repouso: 26 ± 54% Respiração rápida: 24 ± 45% Questão 1 - Fluxo 6-15 L/min: Repouso: 54 ± 75% Respiração rápida: 49 ± 72% Questão 2: aberta>fechada P=0,003	FiO ₂ respiração boca aberta > boca fechada
Miyamoto et al., 2008	Grupos: Grupo 1: Saudáveis: n=20, idade: 24 ± 1 anos Grupo 2: DPOC: n=18, idade: 68 ± 3 anos Fluxo: 1-5 L/min durante 1 minuto Análise estatística: Two Way ANOVA e post hoc Scheffé	Desconforto nasal: Escala visual analógica para secura nasal Seco vs Umidificado para ambos p<0,05	Fluxo <5 L/min umidificar
Nasilowski et al., 2008	n=13 DPOC, idade: 66 ± 11 anos (7 homens) Grupos: Grupo 1: O ₂ portátil Grupo 2: O ₂ líquido Grupo 3: Ar comprimido Fluxo: 3 L/min Análise estatística: Teste Friedman seguido de post hoc signed rank test	Teste de caminhada dos seis minutos: SpO₂: Grupo 1: SpO ₂ = 93 ± 3 % Grupo 2: SpO ₂ = 92 ± 2 % Grupo 3: SpO ₂ = 88 ± 3 % Grupo 1 e Grupo 2 vs Grupo 3 (p<0,05) Dispneia: Grupo 1 e Grupo 2 vs Grupo 3 (p<0,05)	Fluxo 3 L/min não é suficiente para evitar hipoxemia durante o exercício
Rea et al., 2010	Grupos: Grupo 1: DOPC n=63, idade: 66 ± 10 anos n=34 tratados 1-2 horas n= 29 controles Grupo 2: Bronquiectasia n=45, idade: 69±11 anos n=26 tratados 1-2 horas n=19 controles Fluxo: 20-25 L/min Análise estatística: cálculo do poder do estudo	Grupos 1 ou Grupos 2: tratamento vs controle Número de exacerbações 18 dias/ano vs 34 dias/ano (p=0,05) e Primeira exacerbação 52 dias vs 27 dias (p=0,05) Escala Qualidade de vida (Score) 50 unidades vs 49 unidades Poder da amostra: 0,80	O ₂ umidificado de alto fluxo utilizado entre 1 e 2 horas melhorou as exacerbações e escore de qualidade de vida
Dellweg et al., 2013	n=12 Saudáveis, idade: 20 a 60 anos (8 homens) Fluxo: 1 a 3 L/min de oxigênio seco Análise estatística: Teste de Levene, Coeficiente de Correlação Linear de Pearson confirmado pelo Teste Kolmogorov-Smirnov e post hoc com teste de Scheffé	Higrômetro padrão vs novo higrômetro: r=0,99 e p < 0,001 a) umidade relativa nasal: basal: 40 ± 9 % 1 L/min: 35,3 ± 5,8% (vs basal: p<0,001) 2 L/min: 32 ± 6% (vs basal: p<0,001) 3 L/min: 29 ± 7% (vs basal: p<0,001)	Umidade nasal ↓ quando O ₂ seco é aplicado via cateter nasal

OBJETIVO

2. OBJETIVO

O objetivo principal desse estudo foi comparar os efeitos do Oxigênio Seco e do Oxigênio Umidificado via cateter nasal sobre o transporte mucociliar nasal, a propriedade de superfície do muco nasal, a resposta inflamatória nasal e em vias aéreas e pulmões e os sintomas de vias aéreas ao longo de 7 dias, 30 dias, 12 meses e 24 meses.

MÉTODO

3. MÉTODO

Nosso estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP: 041/13) (Anexo A) e da Secretaria Municipal de Saúde (CEP: 205/11) (Anexo B) e registrado no clinicaltrials.gov (NCT 02515786).

3.1 Sujeitos do estudo

Foram recrutados 27 pacientes nas Unidades Básicas de Saúde Cambuci, Nossa Senhora do Brasil e Humaitá da Supervisão de Saúde da Região Centro-Oeste da Cidade de São Paulo e no ambulatório de DPOC e Bronquiectasia do Hospital das Clínicas de São Paulo, no período de três anos. Foram incluídos no estudo pacientes de ambos os sexos com idade ≥ 20 anos após concordância com o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo C).

Foram incluídos nesse estudo, os pacientes com insuficiência respiratória crônica com indicação de uso de oxigênio domiciliar via cateter nasal de baixo fluxo pela primeira vez. Entre os critérios de exclusão foram: (a) cirurgia nasal prévia, (b) uso de medicamentos nasais, (c) incapacidade de sentir o gosto da sacarina e (c) infecção respiratória, (30 dias anteriores à admissão no estudo) e não compreensão dos procedimentos.

3.2 Avaliação

Todos os pacientes com indicação de oxigenoterapia domiciliar prolongada, residentes nas áreas de abrangências das três Unidades Básicas de Saúde da região centro oeste e pacientes acompanhados no Ambulatório de bronquiectasia e DPOC do Hospital das Clinicas de São Paulo, Brasil, foram avaliados em visitas domiciliares entre 7 e 9 horas da manhã. A avaliação foi constituída de anamnese clínica por meio de questionários, exame físico e coleta de fluidos (muco nasal, lavado nasal e condensado do ar exalado). Os pacientes foram orientados a evitar álcool, café e chá durante 8 horas. Os pacientes foram randomizados por meio de sorteio envelopes selados para o grupo oxigênio seco ou oxigênio umidificado.

3.3 Questionário

3.3.1 Questionário geral

Foram obtidas informações do histórico de saúde, antecedentes pessoais, exame físico, medicamentos em uso, internações prévias e histórico de tabagismo (Anexo D).

3.3.2 Questionário SNOT-20

Aplicamos um questionário de avaliação de sintomas de rinossinusite e

de desconforto das vias aéreas, denominado SNOT-20 (Piccirillo et al., 2002; Brant et al., 2014) validado para a língua portuguesa por Bezerra et al. (2011) em todos os tempos do estudo (Anexo E).

O questionário SNOT-20 é composto por 20 itens, sendo as respostas pontuadas como problemas em uma escala de zero a cinco: (0) nenhum, (1) muito pequeno, (2) pequeno, (3) moderado, (4) sério e (5) pior possível.

Além disso, podemos destacar separadamente até cinco sintomas de acordo com que o indivíduo julgar o mais prejudicial no seu dia a dia para sua saúde.

3.4 Exame físico

Após o preenchimento dos questionários os indivíduos permaneceram em repouso, sentados, para a coleta dos seguintes parâmetros clínicos:

(a) as pressões arteriais sistólica e diastólica (mmHg) foram aferidas com um esfigmomanômetro (modelo Premium, Accumed-Glicomed Ind., Rio de Janeiro, Brasil) e um estetoscópio (Classic II, Littmann Ind., Minnesota, USA) no membro superior esquerdo,

(b) a frequência cardíaca (bpm) e a saturação periférica de oxigênio (%) foram aferidas com auxílio de um oxímetro de pulso (Modelo CMS 50D, Oled Ind., Hebei, China) no dedo indicador direito até estabilização, e (c) a frequência respiratória (rpm) aferida pela contagem de excursões torácicas durante um minuto.

3.4.1 Transporte mucociliar nasal por meio do Teste de Trânsito da Sacarina

O teste de trânsito da sacarina (STT) consiste na observação direta do TMC nasal *in vivo*. O STT é considerado um método simples e pouco invasivo e tem sido utilizado como um indicador de defesa pulmonar (Nakagawa et al., 2005; Goto et al., 2010), sendo o valor de referência normal para indivíduos adultos saudáveis descrito como igual ou abaixo de 12 minutos (Oliveira-Maul et al., 2013).

Para a realização do STT (Figura 2), solicitamos ao paciente sentar-se em uma cadeira com encosto e manter o olhar para o horizonte. Solicitamos ao paciente uma leve extensão cervical e em seguida, depositamos uma pequena quantidade de sacarina (25 mg) introduzida delicadamente por meio de um canudo plástico (2 mm de diâmetro e 5 cm de comprimento) (Nakagawa et al., 2005; Goto et al., 2011) e posicionada 2 cm na superfície inferior da narina direita ou narina de fluxo aéreo livre. Em seguida, solicitamos ao paciente que reposicionasse sua cabeça e instruímos o paciente a relatar o momento em que sentisse o gosto da sacarina. O tempo de TMC nasal foi observado por meio de um cronômetro acionado assim que a sacarina foi introduzida e a cabeça reposicionada, com o olhar direcionado ao horizonte e acionado novamente no momento do relato de degustação da sacarina. Recomendamos ao paciente que ele mantivesse o padrão respiratório normal, evitasse falar, tossir ou inspirar profunda ou rapidamente durante o procedimento. No caso do paciente não sentir o gosto da sacarina após 60 minutos da inserção da

sacarina na narina, o procedimento foi interrompido e um grânulo de sacarina foi colocado na ponta da língua para assegurar o mesmo que fosse capaz de sentir o gosto da sacarina. Em caso do paciente ser sensível ao paladar doce, o procedimento foi repetido após 24 horas. Monitoramos os dados de temperatura e umidade relativa de ambiente com termohigrômetro digital (Modelo 7666, Incoterm Ind. Ltda, Brasil).

Figura 2. Teste de trânsito da sacarina. A: deposição da sacarina e B: cronometragem do tempo

3.4.2 Coleta do muco nasal

Após o STT, realizamos a coleta do muco nasal dos pacientes (Figura 3) nos tempos basal, 12 horas, 7 dias, 30 dias, 12 meses e 24 meses (12 – 24 horas) e os orientamos a realizar extensão de cabeça de aproximadamente 30°. Coletamos o muco nasal na narina oposta ao STT com auxílio de um pincel macio, higienizado com álcool 90%, armazenado em tubo plástico identificado e mantido sob -80°C para análise subsequente.

Figura 3. Coleta do muco nasal *in situ*: por meio de um pincel

3.4.3 Análise do ângulo de contato do muco

A adesividade e “wettabilidade” representam propriedades físicas relevantes no transporte do muco através dos cílios e da tosse (Puchelle et al., 1987). A “wettabilidade” de um fluido é a propriedade de se espalhar quando colocado sobre uma superfície sólida. Quanto maior o ângulo de contato, menor é a “wettabilidade”. O ângulo de contato também nos dá uma inferência da adesividade, pois a aderência entre o muco e a superfície sólida específica é o reflexo da tensão superficial do muco e do seu ângulo de contato. O ângulo de contato é o ângulo formado entre a tangente da interface ar-fluido e a horizontal (lâmina de vidro) (Hills, 1985; Puchelle et al., 1987; Alberts et al., 1996). A lâmina de vidro sobre a qual depositamos o muco foi tratada anteriormente com solução sulfocrômica para retirada de cargas elétricas da sua superfície e lavada com água deionizada. Posicionamos as amostras de aproximadamente 25 μL com ajuda de um estilete sobre a lâmina tratada. A

seguir, colocamos a lâmina com o muco a ser medido sobre um suporte e efetuamos a medida do ângulo de contato em graus utilizando o goniômetro. Analisamos o ângulo de contato (Figura 4) após cinco minutos da deposição do muco sobre a lâmina de vidro utilizando um programa de análise de imagem (Interactive AxionVision 4.7, Carl Zeiss, Göttinger, Germany) e uma lupa estereoscópica (Stemi 2000C, Carl Zeiss, Göttinger, Germany) conectada a uma câmera (Axiocam HSC, Carl Zeiss, Göttinger, Germany). Foram realizadas três medidas de ângulo para cada amostra, sendo a média o resultado final das medidas.

Figura 4. Equipamentos para análise do ângulo de contato do muco. A: foco de luz multidirecional, B: estereomicroscópio, C: câmera conectada ao estereomicroscópio e ao computador, D: computador com o programa Axiovision de análise de imagem, E: determinação do ângulo por meio de uma reta na superfície da lâmina e outra reta na superfície do muco após cinco minutos

3.4.4 Coleta do condensado do ar exalado e análise do pH

Para a coleta do condensado do ar exalado (EBC) orientamos o paciente a realizar enxágue oral com água bidestilada, engolir a saliva e manter uma leve extensão de cabeça (aproximadamente 15°). Sentado, o paciente manteve respiração normal pela boca e foi conectado a um aparelho que coleta o condensado com gelo seco por meio de um bucal (Figura 5). Aproximadamente, após 15-20 minutos foram coletados cerca de 1,5 a 2 mL de fluído exalado (Cepelak et al., 2007). As amostras foram armazenadas em tubos de polipropileno de 1,5 mL e imediatamente após a coleta foi realizada análise de pH. Anterior à leitura de pH, foi realizada a calibração do pHmetro (827 pH Lab, Metrohn Ltd., Herisau, Switzerland) com pHs de 4, 7 e 9. A degaseificação da amostra (500 µL) foi realizada com gás argônio 99,9% (Gama Gases Ltda, São Paulo, Brasil) durante 15 minutos com fluxo de 350 mL/min. As amostras de lavado nasal (LN) também foram submetidas à análise do pH de forma similar ao EBC.

Figura 5. Coleta do condensado do ar exalado. A: sistema coletor resfriado, B: fluído coletado em frasco de vidro, C: análise do pH por meio de micropHmetro

3.4.5 Coleta do lavado nasal

Para coleta do LN, orientamos o paciente a não respirar durante o procedimento (10 segundos) e a não engolir a solução salina (0,9%) instilada. Com os pacientes sentados com extensão de cabeça de aproximadamente 30°, instilamos 5 mL de solução salina (NaCl 0,9%) em temperatura ambiente com uma seringa em uma das narinas e solicitamos pausa inspiratória de 10 segundos. Os pacientes expeliram o LN em frascos plásticos estéreis, inclinando a cabeça para frente e assoando as narinas. Repetimos o procedimento na outra narina (Figura 6). A amostra foi homogeneizada e centrifugada durante 10 minutos com uma velocidade de 1.800 rpm e temperatura a 5°C. Em seguida, o sobrenadante foi separado do “pellet” e imediatamente transferido para tubos de polipropileno estéreis, identificados e armazenados em freezer -80°C para posterior determinação de citocinas. Ao “pellet” adicionamos 1 mL de PBS (solução tampão fosfato salina) para posterior contagem total e diferencial de células.

Figura 6. Coleta de lavado nasal. A: instilação de soro fisiológico 0,5% por meio de uma seringa em uma das narinas e B: coleta do lavado em frasco estéril

3.4.6 Contagem total e diferencial das células do lavado nasal

A contagem total de células foi realizada em câmara de Neubauer (20 µl de amostra, sob microscopia óptica (400x). As amostras (100 µL) foram centrifugadas em cytospin durante seis minutos com velocidade de 1.000 rpm, 25°C para a contagem diferencial de células (Naclerio et al., 1983; Belda et al., 2001). O esfregaço foi corado com solução rápida para diferenciação dos elementos figurados do sangue (Instant Prov, New Prov Produtos para Laboratório, Paraná, Brasil). Após pelo menos 24 horas para fixação da solução, a leitura foi realizada em microscópio ótico com aumento total de 1000x.

3.4.7 Quantificação de citocinas em lavado nasal

A quantificação das citocinas e fatores de crescimento em amostras de sobrenadantes de LN (IFN α , IL-6, IL-8, IL-10 e EGF) foram determinadas por meio de um painel multiplex de alta sensibilidade para humanos (HCTYT0MAG-60K, EMD Milipore Corp, Missouri, EUA). As concentrações detectáveis mínimas (pg/mL) para IFN α foi de 2,9, para IL-8 foi de 0,4, para IL-10 foi de 1,1 e para o EGF foi de 2,8 pg/mL.

3.5 Análise Estatística

Calculamos o tamanho da amostra para este estudo (dois grupos ao

longo de 6 períodos de tempo) a partir do software G* Power versão 3.9.1.2 (<http://www.gpower.hhu.de/en.html>), e o resultado foi um número total de 18 indivíduos. Nós utilizamos o tempo de trânsito sacarina como o principal variável desfecho, esperando um efeito de 25%, com $\alpha=0,05$ e um poder de 0,79. A análise estatística foi conduzida por meio do *Software Statistical Package for Social Sciences* versão 19.0 (IBM Corp. de Chicago, IL, EUA). Os resultados foram apresentados como média (DP), mediana (IQR) ou número de casos e proporções quando apropriados. Analisamos as variáveis demográficas e as variáveis clínicas entre os grupos pelo Teste T ou Teste de Mann-Whitney. Analisamos as variáveis categóricas por meio do Teste Exato de Fisher. Frequência dos sintomas mais importantes de vias aéreas e analisamos os problemas de sono ao longo do estudo por meio da ANOVA para medidas repetidas, seguida por análise post hoc de pares. Para comparar o tempo de trânsito da sacarina e o ângulo de contato do muco entre os grupos ao longo do estudo, utilizamos o Two-Way ANOVA para medidas repetidas seguido pelo ajuste de Bonferroni para a multiplicidade. Para comparar as concentrações de citocinas inflamatórias e células epiteliais no fluido do LN dos dois grupos, realizamos o Two-Way ANOVA para medidas repetidas não-paramétrico. Após a correção com comparações múltiplas, uma probabilidade de $p<0,05$ foi considerada significativa.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização da população

Recrutamos 27 pacientes no total em três Unidades Básicas de Saúde da Região Centro-Oeste de São Paulo e no ambulatório de DPOC e bronquiectasia do Hospital das Clínicas de São Paulo. Destes, excluímos oito pacientes devido ao uso prévio de BFON (Figura 7). Incluímos no estudo dezenove pacientes com indicação de BFON que foram aleatoriamente divididos em dois grupos: Oxigênio Seco (n=10) e Oxigênio Umidificado (n=9). Uma paciente do grupo Oxigênio Umidificado desistiu do estudo após a primeira avaliação e seus dados não foram incluídos na análise estatística. Dessa forma permaneceram no estudo 10 pacientes do grupo Oxigênio Seco e nove pacientes do grupo Oxigênio Umidificado.

Os dados demográficos foram semelhantes entre os grupos quando comparados idade, IMC, PAS, PAD e FC. Não observamos diferenças significativas entre os grupos, considerando o número de pacientes com DPOC, bronquiectasia, fibrose pulmonar e hipertensão pulmonar bem como o número de ex-tabagistas. A frequência de ex-tabagistas do grupo Oxigênio Seco e de pacientes que nunca fumaram foi semelhante entre os dois grupos, Oxigênio Umidificado (n=6 e n=4, respectivamente) e Oxigênio Seco (n=5 e n=3, respectivamente). O uso de medicamentos foi similar entre os dois grupos de pacientes (Tabela 2).

Figura 7. Diagrama esquemático CONSORT com recrutamento, inclusão, aleatorização dos tratamentos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado e avaliações dos pacientes ao longo do estudo

Ao longo do estudo, dois pacientes apresentaram um episódio de exacerbação da doença e não houve hospitalizações: um paciente do grupo Oxigênio Seco aos sete dias do estudo e um paciente do grupo Oxigênio Umidificado aos 30 dias. Um paciente do grupo Oxigênio Seco fez uso de antibioticoterapia a cada 3 dias de acordo com prescrição médica.

Tabela 2. Dados demográficos e clínicos de pacientes dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado analisados por meio do Teste-T (^T), Teste Mann Whitney (^{MW}) ou Teste Exato de Fisher (^F). Os valores estão apresentados como médias ± DP ou números de casos e proporções

	Seco n=10	Umidificado n=8	Valor de p
Idade , anos	67 ± 14	68 ± 9	0,898 ^T
Sexo , masculino	4 (40)	3 (38)	>0,999 ^F
IMC , Kg/m ²	26 ± 9	25 ± 7	0,707 ^T
PAS , mmHg	125 ± 10	124 ± 11	0,814 ^T
PAD , mmHg	82 ± 8	78 ± 8	0,897 ^{MW}
FC , bpm	80 ± 15	76 ± 11	0,308 ^T
Morbidades, n (%)			
DPOC	6 (60)	6 (75)	0,640 ^F
Bronquiectasia	3 (30)	1 (13)	0,590 ^F
Fibrose Pulmonar	1 (10)	1 (13)	>0,999 ^F
Hipertensão pulmonar	1 (10)	1 (13)	>0,999 ^F
Hipertensão	5 (50)	5 (63)	0,660 ^F
Diabetes mellitus	1 (11)	1 (13)	>0,999 ^F
Ex-tabagistas	6 (60)	5 (63)	>0,999 ^F
Medicações, n (%)			
Broncodilatador	10 (100)	8 (100)	1,000 ^F
Diurético	5 (50)	1 (13)	0,150 ^F
Beta bloqueador	1 (10)	1 (13)	>0,999 ^F
Antibiótico	2 (20)	1 (13)	>0,999 ^F

Abreviaturas: IMC, índice de massa corpórea, PAS, pressão arterial sistólica, PAD, pressão arterial diastólica, FC, frequência cardíaca, DPOC, doença pulmonar obstrutiva crônica

Neste estudo, o BFON entre 2 e 3 L/min aumentou a SpO₂ nos grupos, Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado. Os pacientes apresentaram uma SpO₂ média de 90% no basal que se elevou para 96% após 12 horas sendo mantido essa SpO₂ até 24 meses.

Observamos que ao final do cateter nasal, a umidade absoluta do O₂ é maior com o O₂ Umidificado comparado com O₂ Seco (Tabela 3), porém com o condicionamento do gás na mucosa nasal, essa diferença desaparece tanto com 2 ou com 3 L/min dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado.

Tabela 3. Os valores médios ($\pm$ DP) de temperatura (T) e umidade absoluta (UA) do oxigênio seco e oxigênio umidificado com 2 e 3 L/min no final do cateter e na mucosa nasal durante a inspiração (^a vs ^b p < 0,001 , ^a vs ^c p < 0,001 , ^d vs ^e p < 0,001 , ^d vs ^f p = 0,002)

	2 L/min		3 L/min	
	Seco	Umidificado	Seco	Umidificado
Cateter Nasal				
T ° C	30,3 $\pm$ 0,2	31,4 $\pm$ 0,2	29,8 $\pm$ 0,3	30,6 $\pm$ 0,1
UA , mg/L	9,0 $\pm$ 0,0 ^a	21,0 $\pm$ 0,0 ^b	9,1 $\pm$ 0,3 ^d	21,0 $\pm$ 0,0 ^e
Mucosa Nasal				
T ° C	31,0 $\pm$ 1,5	32,5 $\pm$ 1,5	30,0 $\pm$ 2,3	32,7 $\pm$ 0,5
UA , mg/L	22,3 $\pm$ 1,9 ^c	24,3 $\pm$ 2,1	21,0 $\pm$ 2,5 ^f	25,2 $\pm$ 1,2

Os valores médios no tempo basal do teste de trânsito da sacarina (Figura 8) foram semelhantes entre os dois grupos Oxigênio Seco (11,0 $\pm$ 5,6 minutos) e Oxigênio Umidificado (12,1 $\pm$ 3,0 minutos) e foi observado um aumento significativo (p=0,049) após 12 meses e (p=0,017) no tempo de trânsito após 24 meses de uso de oxigenoterapia.

Figura 8. Comportamento do transporte mucociliar nasal (médias $\pm$ DP) dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado ao longo de 24 meses (* $p=0,049$ e † $p=0,017$ vs basal)

Não observamos alterações nas propriedades físicas do muco (Figura 9). O comportamento do ângulo de contato foi semelhante em ambos os grupos do basal até os 24 meses do estudo.

Figura 9. Comportamento do ângulo de contato do muco nasal (médias $\pm$ DP) dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado ao longo de 24 meses

Também não observamos alterações ao longo de 24 meses ou diferenças significativas entre os grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado no pH do lavado nasal e no pH do condensado do ar exalado (Tabela 4).

Os números de células totais e proporção de células diferenciais foram semelhantes entre os dois grupos no tempo basal. Ao longo do estudo, os grupos apresentaram um aumento dos neutrófilos e nas células caliciformes, com maior proporção no grupo Oxigênio Seco comparado com o grupo Oxigênio Umidificado. Os macrófagos diminuíram em ambos os grupos sem diferença estatística significativa. As células ciliadas permaneceram inalteradas nos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado (Tabela 5).

Tabela 4. Valores médios $\pm$ DP de ângulo de contato do muco nasal, pH do lavado nasal e pH do condensado do ar exalado dos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado ao longo do estudo. Análise por meio da two-way ANOVA para medidas repetidas e com ajustes de Bonferroni

	O ₂	Basal	12 horas	7 dias	30 dias	12 meses	24 meses	Interação G-T Valor de p	Tempo Valor de p	Grupo Valor de p
Ângulo de contato	Seco	50 $\pm$ 19	43 $\pm$ 16	41 $\pm$ 16	47 $\pm$ 21	57 $\pm$ 19	57 $\pm$ 19	0,894	0,069	0,936
	Umidificado	51 $\pm$ 18	40 $\pm$ 12	43 $\pm$ 13	52 $\pm$ 20	68 $\pm$ 6	68 $\pm$ 6			
pH LN	Seco	7,52 $\pm$ 0,70	7,38 $\pm$ 0,68	7,59 $\pm$ 0,72	7,62 $\pm$ 0,50	7,33 $\pm$ 0,27	7,34 $\pm$ 0,26	0,405	0,167	0,405
	Umidificado	7,23 $\pm$ 0,25	7,42 $\pm$ 0,38	7,53 $\pm$ 0,36	7,45 $\pm$ 0,40	7,33 $\pm$ 0,27	7,35 $\pm$ 0,24			
pH EBC	Seco	7,20 $\pm$ 0,65	7,20 $\pm$ 0,65	7,25 $\pm$ 0,61	7,43 $\pm$ 0,56	7,24 $\pm$ 0,34	7,22 $\pm$ 0,32	0,382	0,401	0,929
	Umidificado	7,20 $\pm$ 0,66	7,21 $\pm$ 0,66	7,25 $\pm$ 0,61	7,43 $\pm$ 0,56	7,25 $\pm$ 0,34	7,22 $\pm$ 0,32			

Abreviações: LN, lavado nasal, EBC, condensado do ar exalado, G-T, grupo-tempo

Tabela 5. Número de células totais, células diferenciadas e quantificação de citocinas em lavado nasal nos pacientes do grupo Oxigênio Seco e grupo Oxigênio Umidificado ao longo do estudo. Os valores estão apresentados como média $\pm$ DP. Análise por meio da two-way ANOVA não paramétrico

	O ₂	Basal	12 horas	7 dias	30 dias	12 meses	24 meses	Interação T-G Valor de p	Tempo Valor de p	Grupo Valor de p
Cels Totais.10⁻⁶	Seco	92 $\pm$ 52	89 $\pm$ 45	90 $\pm$ 42	96 $\pm$ 47	75 $\pm$ 36	78 $\pm$ 34	0,789	0,115	0,186
	Umificado	67 $\pm$ 30	77 $\pm$ 41	98 $\pm$ 55	94 $\pm$ 56	59 $\pm$ 9	66 $\pm$ 12			
Neutrófilos, %	Seco	1,9 $\pm$ 1,8	1,7 $\pm$ 1,8	1,5 $\pm$ 0,9	1,5 $\pm$ 1,5	1,8 $\pm$ 1,0	2,3 $\pm$ 0,5	0,332	<0,001	<0,001
	Umificado	0,2 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,4	0,6 $\pm$ 0,5	1,2 $\pm$ 0,6	1,9 $\pm$ 1,1			
Macrófagos, %	Seco	65,3 $\pm$ 9,3	67,5 $\pm$ 11,4	66,1 $\pm$ 10,5	61,6 $\pm$ 11,0	60,9 $\pm$ 9,2	57,2 $\pm$ 10,8	0,544	0,017	0,378
	Umificado	63,3 $\pm$ 11,2	69,8 $\pm$ 13,7	68,5 $\pm$ 13,3	69,6 $\pm$ 11,2	68,1 $\pm$ 8,5	57,4 $\pm$ 7,6			
Cels ciliada, %	Seco	28,7 $\pm$ 8,9	28,4 $\pm$ 11,1	29,9 $\pm$ 8,7	34,9 $\pm$ 10,2	34,3 $\pm$ 9,7	36,1 $\pm$ 10,8	0,236	0,079	0,825
	Umificado	35,3 $\pm$ 10,1	29,0 $\pm$ 14,4	28,4 $\pm$ 14,4	26,4 $\pm$ 13,7	29,4 $\pm$ 9,5	37,6 $\pm$ 6,6			
Cels caliciformes, %	Seco	1,9 $\pm$ 0,9	1,5 $\pm$ 0,7	2,3 $\pm$ 2,4	0,8 $\pm$ 1,0	1,4 $\pm$ 1,1	2,3 $\pm$ 1,0	0,137	0,007	0,034
	Umificado	1,0 $\pm$ 0,8	0,8 $\pm$ 1,4	0,6 $\pm$ 0,5	0,8 $\pm$ 1,2	1,6 $\pm$ 0,9	1,5 $\pm$ 0,8			
Citocinas										
IFN α , pg/mL	Seco	15,3 $\pm$ 16,5	1,2 $\pm$ 2,1	1,0 $\pm$ 1,0	11,9 $\pm$ 12,3	8,8 $\pm$ 3,9	1,9 $\pm$ 2,9	0,636	<0,001	0,101
	Umificado	14,4 $\pm$ 13,2	1,3 $\pm$ 0,9	5,4 $\pm$ 11,6	20,4 $\pm$ 16,2	15,1 $\pm$ 10,8	5,7 $\pm$ 11,5			
IL-6, pg/mL	Seco	17,0 $\pm$ 32,7	3,6 $\pm$ 7,4	16,5 $\pm$ 36,2	6,9 $\pm$ 10,8	4,2 $\pm$ 10,2	35,2 $\pm$ 64,9	0,494	0,246	0,604
	Umificado	10,8 $\pm$ 27,2	2,9 $\pm$ 3,7	5,6 $\pm$ 11,9	4,1 $\pm$ 7,6	1,4 $\pm$ 0,9	1,2 $\pm$ 0,5			
IL-8, pg/mL	Seco	337,4 $\pm$ 568,4	162,2 $\pm$ 154,6	795,1 $\pm$ 1535,7	361,1 $\pm$ 522,0	128,1 $\pm$ 311,9	767,7 $\pm$ 1023,0	0,386	0,029	0,567
	Umificado	309,9 $\pm$ 771,5	366,0 $\pm$ 480,2	950,3 $\pm$ 1774,7	203,8 $\pm$ 288,0	324,6 $\pm$ 664,1	125,4 $\pm$ 141,8			
IL-10, pg/mL	Seco	1,4 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,5	0,336	<0,001	0,022
	Umificado	1,9 $\pm$ 1,8	0,9 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,3			
EGF, pg/mL	Seco	55,6 $\pm$ 53,6	77,6 $\pm$ 38,4	87,0 $\pm$ 74,0	58,7 $\pm$ 74,2	24,4 $\pm$ 15,0	73,7 $\pm$ 45,8	0,443	<0,001	0,219
	Umificado	52,4 $\pm$ 73,9	122,6 $\pm$ 87,4	92,2 $\pm$ 50,6	42,7 $\pm$ 28,0	66,9 $\pm$ 71,0	91,4 $\pm$ 40,7			

Abreviações: O₂, oxigênio, Cels, células, IFN- α , interferon alpha, IL, interleucina, EGF, fator de crescimento epidérmico, T-G, tempo-grupo

As concentrações de citocinas no fluido do LN nos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado foram semelhantes no início do estudo. Não observamos diferenças significativas entre os grupos na concentração de IL-6. Após sete dias de uso de oxigenoterapia a concentração de IL-8 aumentou em ambos grupos e posteriormente somente o grupo Oxigênio Seco continuou elevado. Ao longo do estudo, a concentração de EGF aumentou e foi acompanhada por uma diminuição do IFN- α mais acentuadamente no grupo Oxigênio Umidificado que também apresentou uma diminuição da concentração de IL-10 ao longo do estudo (Tabela 5).

Os grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado tinham função pulmonar semelhante observada por valores espirométricos absolutos e preditos de CVF e VEF₁ (Tabela 6). Os resultados dos exames espirométricos mostraram que os grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado apresentaram valores similares de CVF e VEF₁, porém uma correlação significativa entre STT e VEF₁ ($p=0,007$).

Tabela 6. Os valores médios ($\pm$ DP) de dados de espirometria. Análise por meio da ANOVA para medidas repetidas

	Basal		24 meses		Valor de p
	Seco	Umidificado	Seco	Umidificado	
Espirometria					
CVF, L	1,79 ± 0,34	2,00 ± 0,65	1,36 ± 0,25	1,50 ± 0,69	0,122
CVF pred %	61,2 ± 12,4	55,3 ± 10,7	47,7 ± 15,8	45,8 ± 19,0	0,089
VEF ₁ , L	0,99 ± 0,33	1,22 ± 0,66	0,68 ± 0,11	0,68 ± 0,24	0,061
VEF ₁ , pred %	37,2 ± 21.5	36,7 ± 7,2	32,0 ± 12,0	26,8 ± 7,9	0,356

O questionário SNOT-20 tem dois domínios: o primeiro domínio composto de avaliação de sintomas de vias aéreas (Questões de 1 a 10) e o segundo domínio composto de avaliação de problemas de sono (Questões de 11 a 20). Na Tabela 7 estão expressos os principais sintomas relatados pelos pacientes nos dois domínios. Observamos que a tosse foi o sintoma de vias aéreas mais importante relatado pelos pacientes de ambos grupos no início do estudo. Ambos os grupos relataram melhora significativa da tosse após sete dias de BFON.

Os problemas de sono mais relatados foram: dificuldade em adormecer, acordar durante a noite e má noite de sono, as atividades diárias melhoraram nos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado após 12 meses de tratamento.

Tabela 7. Frequência (%) dos problemas de tosse e sono relatados pelos pacientes Oxigênio Seco (n=10) e Oxigênio Umidificado (n=8) ao longo do estudo. Análise por meio da ANOVA para medidas repetidas. ^a p = 0,041 e ^b p = 0,025 vs basal e 12 horas, ^c p = 0,019 vs 7 dias e 30 dias

	Basal	12 horas	7 dias	30 dias	12 meses	24 meses
Tosse						
Seco	50	50	10 ^a	10 ^a	0 ^a	10 ^a
Umidificado	44	22	11 ^a	0 ^a	0 ^a	11 ^a
Problemas do sono						
Seco	63	57	50	50	10 ^{b, c}	20 ^{b, c}
Umidificado	44	29	26	22	11 ^{b, c}	15 ^{b, c}

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O TMC é um mecanismo de defesa básico do trato respiratório. A disfunção do TMC pode levar à retenção de muco, à inflamação e à infecção. Nós observamos uma disfunção no TMC nasal em 45% nos pacientes no início do estudo. Essa disfunção do TMC nasal piorou ao longo do estudo e atingiu em similar extensão 89% dos pacientes dos dois grupos. Após 24 meses de BFON, nós observamos uma melhora significativa na tosse, nos problemas de sono assim como redução de citocinas nasais, porém sem diferenças significativas entre os grupos Oxigênio Umidificado e Oxigênio Seco. Dessa forma, a umidificação parece não afetar o TMC nasal, as propriedades do muco, os biomarcadores inflamatórios ou os sintomas nasais.

No início do nosso estudo, nós hipotetizamos que o BFON seco pudesse promover alterações deletérias sobre o TMC, aumentar os sintomas e aumentar a resposta inflamatória quando comparado com o BFON umidificado como relatado em outros estudos (Salah et al., 1988; Campbell et al., 1988; Miyamoto et al., 2008) com indivíduos saudáveis. O sistema frio de bolhas mostrou um desempenho insuficiente na umidificação do oxigênio na mucosa nasal para promover diferenças significativas quando comparado com o seco. Ambos grupos apresentaram piora do TMC nasal ao longo do tempo. Esses resultados são similares a Nakamura et al. (1996) que não observaram alterações significativas sobre o STT com o uso de oito horas do BFON seco ou do umidificado em pacientes com insuficiência respiratória crônica clinicamente estáveis. Por outro lado, Capellier et al. (1997) mostraram que o

BFON com 4 L/min induz um prolongamento aproximado de 20% no STT de indivíduos saudáveis após aproximadamente cinco horas de exposição. Embora nós tenhamos observado disfunções do TMC nasal, nossa variável desfecho primária, surpreendentemente as disfunções do TMC nasal foram similares em ambos grupos e a umidificação não melhorou ou reduziu as disfunções do TMC nasal.

De fato, nós nos surpreendemos com a ausência de diferenças no nosso estudo quando comparamos os dois grupos. E aventamos várias possibilidades. A primeira possibilidade pode ser que o nosso estudo tenha um poder baixo para detectar mudanças clínicas significativas. Outra possibilidade que pode explicar nossos resultados é que incluímos pacientes com doenças pulmonares graves e com hipoxemia, e que a inclusão de indivíduos com disfunção do TMC nasal no basal em proporções acima do normal possa ter sido um fator que dificultou a detecção de diferenças entre os dois grupos, Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado. Consistente com essa hipótese foi que observamos no início do estudo, somente 10 pacientes (55%) com TMC nasal normal. Em estudos prévios do nosso laboratório usamos o TMC nasal como um indicador de defesa pulmonar (Nakagawa et al., 2005; Goto et al., 2010) e recentemente (Oliveira-Maul et al., 2013) mostramos que em uma população geral, cerca de 80% de indivíduos adultos saudáveis têm valores normais de STT (≤ 12 minutos e diferente de zero).

Uma outra possibilidade que poderia ser levantada é a de que o BFON pudesse ter alterado o paladar desses pacientes e dessa forma interferido nos resultados de STT de ambos grupos. Em nosso estudo não avaliamos o

paladar ou olfato, porém os pacientes não apresentaram queixas de alteração de paladar e olfato, assim como, todos os pacientes realizaram o STT sem problemas de sentir o gosto da sacarina. Similarmente ao nosso estudo, Dewan et al. (1990) não encontraram alterações do olfato e do paladar em pacientes com DPOC em uso crônico (6 meses) de BFON com fluxos de 1 a 2 L/min. Além disso, diversos fatores como o envelhecimento, o diabetes mellitus (DM) e/ou a hipertensão arterial (HAS) são fatores de risco para a disfunção do STT. Nesse estudo para cada ano que o indivíduo envelhece ocorre um aumento de 2% nos valores do STT e quando associados ao DM e/ou à HAS o risco para o prolongamento do STT aumenta 2,6 vezes (Oliveira-Maul et al., 2013).

Estudos com indivíduos saudáveis mostram valores médios de STT em indivíduos normais e em indivíduos sob condições como tabagismo, uso de diuréticos e com insuficiência respiratória. O tabagismo também pode ser um fator que afeta o TMC nasal. Estudos mostram resultados adversos em relação à disfunção do TMC nasal em tabagistas, mostrando o efeito prolongado do STT em indivíduos tabagistas quando comparados aos não tabagistas (Stanley et al., 1986; Ramos et al., 2011; Habesoglu et al., 2012).

Os pacientes com doenças respiratórias crônicas como DPOC, bronquiectasia, asma, entre outras, podem ter alterações do TMC nasal devido a alterações da estrutura e função ciliar assim como de propriedades do muco respiratório, inflamação ou infecção respiratória (Rubin et al., 1992; Kim e Nadel, 2004; Roger, 2005; Pitrowska et al., 2010; Afonso et al., 2013) o que pode aumentar o risco de exacerbação da doença (Roger, 2005). O muco

respiratório é um outro elemento fundamental do TMC, é produzido por glândulas secretoras de submucosa e por células caliciformes que se encontram no epitélio das vias aéreas. O aumento no ângulo de contato tem sido associado à redução do TMC (Puchelle et al., 1987). Em escarro, um ângulo de contato em torno de 20° tem sido indicado como ideal para proteger e lubrificar o muco (Girod et al., 1992). No nosso estudo, amostras de muco nasal de pacientes de ambos grupos foram semelhantes no tempo basal e ao longo do estudo com um ângulo de contato médio superior a 29°. Em outro estudo os valores do ângulo de contato foram similares entre jovens tabagistas e não tabagista de 40° (Nicola et al., 2014). Nós devemos considerar em nossos resultados que o tipo de umidificador (de bolhas) que utilizamos talvez não tenha oferecido umidificação suficiente para promover diferenças significativas quando comparado com o seco. A umidificação obtida por meio de um umidificador de passagem de bolhas é em torno de 57% de umidade relativa (Chang et al., 2011). No nosso estudo, observamos uma maior umidade absoluta do Oxigênio Umidificado (~21 mg/L) em comparação com o Oxigênio Seco (9 mg/L) no final do cateter. Porém, quando esse gás se encontra na mucosa nasal, um condicionamento desse gás é realizado quase que imediatamente: o oxigênio atinge uma temperatura de ~31°C e uma umidade absoluta de ~21 mg/L com o sistema Oxigênio Seco e ~25 mg/L com o sistema Oxigênio Umidificado. Portanto, esses resultados são pertinentes com os achados de inflamação nasal

A tosse é um mecanismo fisiológico essencial para proteção do sistema respiratório porém quando crônica em pacientes com DPOC, bronquiectasia,

fibrose cística e asma, a tosse está associada à diminuição da qualidade de vida desses pacientes (Ternesten-Hasseus et al., 2002; Hurst et al., 2004; Polley et al., 2008). Outros estudos mostram que esses pacientes também têm redução da qualidade do sono como na DPOC (Ezzeie et al., 2008), na bronquiectasia (Faria Jr et al., 2015), na fibrose pulmonar (Milioli et al., 2015) e na hipertensão pulmonar (Ulrich et al., 2008). No nosso estudo, o sintoma de via aérea mais relatado pelos pacientes foi a tosse e também foram prevalentes os sintomas de distúrbios do sono, tais como dificuldade em pegar no sono, acordar durante a noite, uma noite de sono ruim, acordar cansado e produtividade diminuída de vida diária. A tosse melhorou significativamente após sete dias de uso de oxigenoterapia domiciliar e os sintomas do sono melhoraram após 12 meses de BFON, resultando em melhora da qualidade de vida em pacientes com hipoxemia. A melhora na tosse e nos sintomas de sono após o início da BFON dá suporte ao uso da oxigenoterapia de longa duração em pacientes com doenças pulmonares graves (fibrose cística, bronquiectasia, fibrose pulmonar, hipertensão pulmonar) e hipoxemia crônica devendo refletir em uma melhor qualidade de vida desses pacientes e aparentemente foi suficiente para reduzir e/ou eliminar os sintomas causados pela secreção do gás inalado.

A inflamação de vias aéreas é uma característica comum em vários pacientes com doenças respiratórias e é relatado ser um fator de risco para o declínio da função pulmonar (Rogers, 2005). Nesse estudo, a resposta inflamatória foi avaliada por meio de pH do EBC, pH do LN, citocinas e células inflamatórias e epiteliais. Os pacientes de ambos os grupos, Oxigênio Seco e

Oxigênio Umidificado, apresentaram um perfil inflamatório no lavado nasal similar: uma acidificação do EBC e do LN mantida até 24 meses. Nossos valores de pH do EBC e do LN são similares aos resultados de um estudo prévio do nosso laboratório (Lima et al., 2014) em controladores de tráfego e trabalhadores de escritório expostos à poluição atmosférica. O epitélio ciliado da via aérea desempenha um papel fundamental no controle de muitas funções das vias respiratórias, incluindo a regulação das respostas inflamatórias em diversas condições clínicas. As células epiteliais (ciliadas e caliciformes) que revestem as vias aéreas assim como os neutrófilos, os macrófagos e os linfócitos estão envolvidos no processo inflamatório na DPOC (Celik et al., 2015), na bronquiectasia (King, 2009; Moulton et al., 2012) e em outras doenças respiratórias graves. Essas células liberam citocinas nas vias aéreas em resposta a agressões por microorganismos e antígenos inalados. As citocinas são polipeptídeos com um papel importante no controle da inflamação da via aérea (Abbas et al., 2008). Alguns estudos avaliaram a resposta inflamatória ao oxigênio por meio de quantificação de células inflamatórias e citocinas em lavado nasal de indivíduos saudáveis, tabagistas, indivíduos com DPOC e asmáticos. No conjunto de nossos resultados observamos aumento de macrófagos, IFN- α e IL-8 e redução de IL-10 ao longo do tempo em ambos grupos Oxigênio Seco e Oxigênio Umidificado. Evidências recentes implicam o EGF na produção de mucinas por células epiteliais nas vias respiratórias (Roger, 2005) assim como mostram o EGF associado à reparação tecidual em vias aéreas (Burgel e Nadel, 2004). Nós observamos um aumento de concentração de EGF e podemos supor que com a melhora da oxigenação

induzida pelo BFON, após 24 meses observamos um quadro de reparação tecidual. Portanto, nós confirmamos que os pacientes com doenças respiratórias crônicas que necessitam de oxigenoterapia domiciliar tem aumento de células inflamatórias e citocinas pró-inflamatórias que se mantêm estáveis ao longo do tempo (24 meses). A umidificação com bolhas de oxigênio via cateter nasal não melhora essa inflamação.

Uma das limitações do estudo foi a demora no recrutamento e na inclusão de pacientes por algumas dificuldades, como barreiras na comunicação com as equipes médicas que indicavam a oxigenoterapia domiciliar aos pacientes e os pesquisadores deste estudo. Muitos dos pacientes ao obterem a indicação médica de oxigenoterapia domiciliar procuraram obter o BFON praticamente de forma imediata. Um outro aspecto é que seria inapropriado extrapolar nossos resultados para pacientes com disfunções respiratórias menos graves ou para pacientes com necessidade de oxigenoterapia via cateter nasal de alto fluxo (≥ 20 L/min). A oxigenoterapia via cateter nasal de alto fluxo tem sido utilizada em pacientes com insuficiência respiratória aguda como uma alternativa à ventilação mecânica não invasiva (Frat et al., 2015; Nagata et al., 2015). A oxigenoterapia via cateter nasal de alto fluxo é sempre administrada ao paciente com aquecimento e umidificação porque gases secos podem causar eventos adversos como sintomas e disfunções em vias aéreas. Nosso estudo pode também ter um poder menor para detectar mudanças clínicas significativas. Nós observamos disfunção do TMC, nossa variável primária, em ambos grupos, e essa disfunção não melhorou com a umidificação fria e de bolhas. Nós encontramos associações

significativas entre o STT e VEF1. A piora do TMC nasal possivelmente não foi um efeito adverso da oxigenoterapia mas sim resultante de umidificação insuficiente do gás inalado e com a gravidade e progressão da doença pulmonar (Walker e Wells, 1961; Rogers, 2005). Pode ser também devido a diferenças na casuística. Estudos prévios foram conduzidos com voluntários saudáveis enquanto que nosso estudo os indivíduos tinham doença pulmonar grave o que pode ter favorecido a inclusão de indivíduos com disfunção basal onde mudanças podem ser difíceis de se detectar. Consistente com essa hipótese foi que observamos no basal, somente 10 indivíduos (55%) tinham STT dentro da faixa de normalidade (Oliveira-Maul et al., 2013).

Portanto, a umidificação fria com bolhas apresentou um desempenho semelhante ao oxigênio seco não havendo impacto sobre o TMC nasal, os sintomas nasais, os biomarcadores inflamatórios, as propriedades do muco e a função pulmonar.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Os nossos resultados nos permitem concluir que em pacientes sob oxigenoterapia de baixo fluxo via cateter nasal, a umidificação fria com bolhas não umidifica adequadamente o oxigênio inspirado e não previne a disfunção do TMC nasal, a inflamação nasal e a piora da função pulmonar.

7. Anexos

Anexo A. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FMUSP

APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de **27/02/2013**, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **041/13** intitulado: **“EFEITOS DO OXIGÊNIO UMIDIFICADO E NÃO UMIDIFICADO VIA CATETER NASAL SOBRE O TRANSPORTE MUCOCILIAR E MUCO NASAL.”** apresentado pelo **Departamento de FISIOTERAPIA, FONOAUDIOLOGIA E TERAPIA OCUPACIONAL**

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: Naomi kondo Nakagawa

Pesquisador (a) Executante: Michelle Lisidati Franchini

CEP-FMUSP, 04 de Março de 2013.

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina
e-mail: cep.fm@usp.br

Anexo B. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde/SMS

SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE Comitê de Ética em Pesquisa/SMS

São Paulo, 07 de Julho de 2011.
PARECER Nº 205/11 – CEP/SMS
CAAE: 0062.0.162.444-11

Ilma. Sra.
Michelle Lisidati Franchini

Projeto de Pesquisa: Efeitos do oxigênio umidificado e não umidificado via cateter nasal sobre o transporte mucociliar e muco nasal

Pesquisador Responsável: Michelle Lisidati Franchini

Instituição: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Local onde os dados serão coletados: UBSs da Supervisão de Saúde Sé

Patrocinador: FAPESP

I - Sumário Geral do Protocolo

Introdução e justificativa

Os pulmões possuem a maior área epitelial em contato direto com o meio ambiente e são alvos de microorganismos, material particulado e gases tóxicos inalados. O transporte mucociliar (TMC) é particularmente necessário na resistência à infecção respiratória e sua efetividade depende de (1) composição e profundidade do muco que recobre as vias aéreas, (2) integridade e organização dos cílios e (3) acoplamento muco-cílio. Frações elevadas de oxigênio inspirado têm sido associadas a efeitos deletérios sobre o batimento ciliar e TMC nasal. Recentemente, na rotina de muitos hospitais e assistência domiciliar, o oxigênio ofertado ao paciente via cânula nasal tem sido aplicado sem umidificação, porém, os efeitos do oxigênio umidificado e não umidificado via cânula nasal, sobre o epitélio respiratório, particularmente sobre o TMC e muco nasal, ainda são desconhecidos. Os resultados deste estudo poderão contribuir no desenvolvimento de futuras estratégias preventivas e terapêuticas hospitalares e domiciliares visando redução de complicações respiratórias em pacientes potencialmente ou gravemente enfermos com uso de oxigenioterapia via cânula nasal.

Objetivo e métodos

O objetivo do estudo será avaliar os efeitos do oxigênio umidificado e não umidificado, via cânula nasal (12 horas) em 50 indivíduos com indicação médica de oxigenioterapia domiciliar, ambos os gêneros, com idade acima de 50 anos sobre: (1) o transporte mucociliar nasal por meio do teste da sacarina, (2) as propriedades físicas do muco nasal por meio da máquina simuladora da tosse e do ângulo de contato, (3) a celularidade de lavado nasal por meio de contagem total e diferencial de células e (4) quantificação de citocinas (Interleucina-4 e 8) em lavado nasal por meio do método de enzima-imunoensaio (ELISA). Os voluntários serão recrutados nas Unidades Básicas de Saúde do Cambuci, de Humaitá e de Nossa Senhora do Brasil, da Supervisão de Saúde Sé, Secretaria Municipal de Saúde da Cidade de São Paulo, no período de julho de 2011 a dezembro de 2012. Os dados serão analisados com Teste T pareado ou Teste de Wilcoxon, quando apropriado. Uma diferença de $p < 0,05$ será considerada estatisticamente significativa.

II - Considerações

Local de Realização

O projeto não é multicêntrico.

Apresentação do Protocolo

A Folha de Rosto está corretamente preenchida.

* Rua General Jardim, 36 – 1º andar – V. Buarque - fone: 3397.2464 – email: smscep@gmail.com
http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/comite_de_etica/

Página 1/2

CAAE: 62 /11

São Paulo, 14 de Janeiro de 2013.
PARECER Nº 006/13 – CEP/SMS

Ilma. Sra.
Michelle Lisidati Franchini

Projeto de Pesquisa: Efeitos do oxigênio umidificado e não umidificado via cateter nasal sobre o transporte mucociliar e muco nasal
Pesquisador Responsável: Michelle Lisidati Franchini
Instituição: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Local onde os dados serão coletados: UBSs da Supervisão de Saúde Sé
Patrocinador: FAPESP

I. Solicitação de Adendo enviada pela pesquisadora em 14/01/2013:

II.
“ O projeto foi aprovado para ser executado de julho de 2011 a dezembro de 2012 com recrutamento de 50 pacientes. Porém, devido a diversas dificuldades no recrutamento de voluntários (pacientes com indicação médica de uso de oxigênio domiciliar), conseguimos até o momento apenas inclusão de 8 pacientes. Solicitamos mais dezoito meses de prorrogação de execução nas UBS's Nossa Senhora do Brasil, Humaitá e Cambuci da Supervisão de saúde Centro Oeste.”

III. Considerações

Do ponto de vista ético, este adendo não muda a essência do estudo que continua a mesma, estando de acordo com a Resolução 196/96 e suas complementares.

III - Situação do Protocolo: **Aprovado**

Para início da coleta dos dados, o pesquisador deverá se apresentar na mesma instância que autorizou a realização do estudo (Coordenadoria, Supervisão, SMS/Gab, etc).

O sujeito de pesquisa (ou seu representante) e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo, conforme Carta Circular no 003/2011 da CONEP/CNS.

Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Ao pesquisador cabe manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP (Res. CNS 196/96 item IX. 2. e).

Uma cópia digital (CD/DVD) do projeto finalizado deverá ser enviada ao CEP e outra à instância que autorizou a realização do estudo, via correio ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Luis Gracindo Costa Bastos
Vice-Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/SMS

* Rua General Jardim, 36 – 1º andar – V. Buarque - fone: 3397.2464 – email: smscep@gmail.com
http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/comite_de_etica/

Anexo C. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : ☐ M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP:
TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE: CEP:
TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: EFEITOS DO OXIGÊNIO UMIDIFICADO E NÃO UMIDIFICADO VIA CATETER NASAL SOBRE O TRANSPORTE MUCOCILIAR E MUCO NASAL
2. PESQUISADORES: FT. MICHELLE LISIDATI FRANCHINI e DRA. NAOMI KONDO NAKAGAWA.
CARGO/FUNÇÃO: FISIOTERAPEUTA E PROFESSORA DE FISIOTERAPIA (respectivamente)
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº CREFITO 37670-F e CREFITO 5076-F
UNIDADE DO HCFMUSP: LABORATÓRIO DE POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA EXPERIMENTAL FMUSP
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐
4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 3 anos.

TCLE - FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

1 – O presente projeto avaliará os efeitos do oxigênio umidificado e não umidificado via cateter nasal sobre o transporte mucociliar e muco nasal, em indivíduos com idade superior a 20 anos, com indicação médica para uso de oxigenoterapia domiciliar. Esses resultados poderão contribuir no desenvolvimento de futuras estratégias preventivas e terapêuticas hospitalares e domiciliares visando redução de complicações respiratórias em pacientes potencialmente ou gravemente enfermos que fazem uso de oxigênio via cateter nasal.

2 – Se o(a) senhor(a) concordar em participar do estudo, faremos 6 avaliações em quatro dias diferentes de visita domiciliar. Na avaliação inicial aplicaremos questionários (dados pessoais), seguidos de exame físico para medida de pressão arterial, oximetria de pulso, temperatura corporal, frequência respiratória e frequência cardíaca. Em seguida, verificaremos qual a narina desobstruída para o teste da sacarina. Colocaremos 8 grãos de sacarina no nariz e marcaremos com cronômetro o tempo que sr(a) referir sentir o gosto do adoçante na garganta. Em seguida, coletaremos o muco nasal com ajuda de um pincel. Depois faremos o teste do lavado nasal onde colocaremos 5 mL de soro fisiológico por meio de uma seringa no seu nariz e o(a) sr(a) ficará 10 segundos sem respirar e devolver em um pote o soro fisiológico do seu nariz. Para a coleta do EBC o paciente será posicionado sentado, o qual será orientado a respirar pela boca, conectada a um aparelho, que coletará o condensado do ar exalado em um tudo estéril. Estas avaliações serão realizadas em dias diferentes porque o(a) sr(a) usará o tratamento por 12 horas, 7 dias, 30 dias, 12 meses e 24 meses: (1) oxigênio umidificado e (2) oxigênio sem umidificação.

3 – Não há qualquer obrigatoriedade da sua participação neste estudo. Da mesma forma, a qualquer momento o(a) senhor(a) poderá deixar de participar do estudo, sem que isto traga qualquer prejuízo à continuidade do seu atendimento. Os riscos do estudo são praticamente inexistentes, as avaliações já foram utilizadas em crianças, jovens, idosos e inclusive em pacientes gravemente enfermos. Além disto, contará com a ajuda para quaisquer esclarecimentos por parte da equipe de saúde que acompanhará todo o estudo.

4 – O maior desconforto será a necessidade de se submeter às quatro avaliações. Os grãos de sacarina

colocados no nariz podem causar leve sensação de doce no final do teste ou vontade de espirrar no início. No teste do lavado nasal, o(a) sr(a) poderá sentir pequeno desconforto de ficar sem respirar por 10 segundos.

5 – Não há benefício direto para o(a) sr(a). Trata-se de estudo experimental testando a hipótese de que a os efeitos do oxigênio umidificado e não umidificado via cateter nasal sobre o transporte mucociliar, muco nasal, lavado nasal e condensado do ar exalado em indivíduos com idade superior a 50 anos são iguais. Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum efeito.

6 – O(a) senhor(a) tem garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

7. É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

8. Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não será divulgada a identificação de nenhum paciente;

9. Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

10. Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

11. Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa. Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Efeitos do Oxigênio umidificado e não umidificado via cânula nasal sobre o transporte mucociliar, muco nasal, lavado nasal e condensado do ar exalado".

Eu discuti com a Dra. Michelle Lisidati Franchini sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante L legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____
para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

ANEXO D – Questionário Geral

Nome: _____

Documento de Identidade No. _____ Sexo: M ☐ F ☐

Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Altura: _____ Peso: _____

Endereço: _____ No. _____

apto: _____ Bairro: _____ Cidade: _____

Estado: _____ CEP: _____

Telefone: (____) _____ Celular: (____) _____ e-mail _____

Grau de escolaridade: _____ Profissão: _____

Estado civil: _____

HD: _____

Doenças Prévias:

1) HAS ()

medicamentos: _____

Quanto _____

tempo: _____

2) DM ()

medicamentos: _____

Quanto _____

tempo: _____

3) DPOC ()

medicamentos: _____

Quanto _____

tempo: _____

4) Depressão

medicamentos: _____

Quanto _____

tempo: _____

5) Outras _____

medicamentos: _____

Quanto _____

tempo: _____

Internações Hospitalares Prévias (Quando? Por quê?): _____

Infecção Respiratória: () Não () Sim Antibiótico: _____

Quando: _____

Tabagista: () Sim () Não Quantos cigarros por dia? _____ Há quanto tempo: _____

Dieta (restrições): _____

Faz acompanhamento médico? () SIM () NÃO

Com qual frequência? _____ local? _____

Quem indicou O2: AMA (), PSF (), Especialista () Qual? _____

Fluxo _____ Quantidade de horas/dia: _____

Segue corretamente a orientação médica? () SIM () NÃO

Faz controle glicêmico em casa? () SIM () NÃO

Realiza alguma atividade física? () SIM () NÃO

Quando foi sua última refeição? _____

O quê comeu e bebeu? _____

Parâmetros	TEMPO 0 (Basal)	TEMPO 2 (12 horas)	TEMPO 3 (7 dias)	TEMPO 4 (30 dias)	TEMPO 5 (12 meses)	TEMPO 6 (24 meses)
Data						
O2 l/Min						
Temperatura ambiente						
Umidade relativa						
Frequência cardíaca						
Pressão arterial						
Temperatura						
Oximetria de pulso						
Frequência respiratória						
Sacarina						
PH EBC						
PH lavado						
Número total de células						
Neutrófilos						
Macrófagos						
Eosinófilos						
Linfócito						
Ciliadas						
Caliciformes						

Anexo E. Questionário de desconforto sino nasal (SNOT-20)

Questionário (SNOT-20)							
	Nenhum problema	Problema muito pequeno	Problema pequeno	Problema moderado	Problema sério	Pior problema possível	5 itens mais importantes
1. Necessidade de assoar o nariz	0	1	2	3	4	5	☐
2. Espirros	0	1	2	3	4	5	☐
3. Nariz escorrendo	0	1	2	3	4	5	☐
4. Tosse	0	1	2	3	4	5	☐
5. Secreção nasal escorrendo para a garganta	0	1	2	3	4	5	☐
6. Secreção nasal grossa	0	1	2	3	4	5	☐
7. Ouvido tampado	0	1	2	3	4	5	☐
8. Tontura	0	1	2	3	4	5	☐
9. Dor de Ouvido	0	1	2	3	4	5	☐
10. Dor/ pressão na face	0	1	2	3	4	5	☐
11. Dificuldade de pegar no sono	0	1	2	3	4	5	☐
12. Acordar durante a noite	0	1	2	3	4	5	☐
13. Falta de uma boa noite de sono	0	1	2	3	4	5	☐
14. Acordar cansado	0	1	2	3	4	5	☐
15. Fadiga	0	1	2	3	4	5	☐
16. Produtividade diminuída	0	1	2	3	4	5	☐
17. Concentração reduzida	0	1	2	3	4	5	☐
18. Frustrado / Inquieto/ Irritado	0	1	2	3	4	5	☐
19. Triste	0	1	2	3	4	5	☐
20. Envergonhado com a doença	0	1	2	3	4	5	☐

Bezerra TFP, Piccirillo JF, Fornazieri MA, Pilan RRM, Abdo TGT, Pinna FR, Padua FGM, Voegels RL (2011)

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, editor. *Imunologia Celular e molecular*. Rio de Janeiro: Elsevier: 2008. Cap 12, p.267-301: Citocinas.
2. Afonso JL, Tambascio J, Souza HCD, Jardim JR, Martinez JAB, Gastaldi AC. Transport of mucoid mucus in healthy individuals and patients with chronic obstructive pulmonary disease and bronchiectasis. *Rev Port Pneumol*. 2013;19(5):211-216.
3. Albers GM, Tomkiewicz RP, May MK, Ramirez OE, Rubin BK. Ring distraction technique for measuring surface tension of sputum: relationship to sputum clearability. *J Appl Physiol*. 1996;81:2690-95.
4. American Association for Respiratory Care. Clinical Practice Guideline for oxygen therapy in home or extended care facility. *Respir Care*. 1992;37(8):918–922.
5. American Association for Respiratory Care. Oxygen therapy in the home or alternate site health care facility. *Respir Care*. 2007;52(1):1063–1068.
6. American Thoracic Society. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(5 Pt 2):77–120.
7. American Thoracic Society / European Respiratory Society Task Force. Standards for the diagnosis and management of patients with COPD.[Internet]. Version 1.2. New York: American Thoracic Society; 2004. Available from: <http://thoracic.org/go/copd>.

8. Bezerra TFP, Piccirillo JF, Fornazieri MA, Pilan RRM, Abdo TRT, Pinna FR, Padua FGM, Voegels RL. Cross-cultural adaptation and validation of SNOT-20 in Portuguese. *Int J Otolaryngol*. 2011 doi: 10.1155/2011/306529.
9. Braiman A, Priel Z. Efficient mucociliary transport relies on efficient regulation of ciliary beating. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008;163:202-207.
10. Branson RD, Davis Jr K, Campbell RS, Johnson DJ, Porembka DT. Humidification in the intensive care unit. Prospective study of a new protocol utilizing heated humidification and a hygroscopic condenser humidifier. *Chest*. 1993;104(6):1800-1805.
11. Branson RD. The effects of inadequate humidity. *Respir Care Clin N Am*. 1998;4(2):199-214.
12. Brant TCS, Yoshida CT, Carvalho TS, Nicola ML, Martins JA, Braga LM, Oliveira RC, Leyton V, André CS, Saldiva PHN, Rubin BK, Nakagawa NK. Mucociliary clearance, airway inflammation and nasal symptoms in urban motorcyclist. *Clinics*. 2014;69(12):867-870.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Doenças respiratórias crônicas. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2010.
14. Burgel PR, Nadel JA. Roles of epidermal growth factor receptor activation in epithelial cell repair and mucin production in airway epithelium. *Torax*. 2004;59:992-996.

15. Cahill CK, Heath J. Sterile water used for humidification in low-flow oxygen therapy: is it necessary? *Am J Infect Control*. 1990;18:13-17.
16. Campbel EJ, Baker D, Crites-Silver P. Subjective effects of humidification of oxygen for delivery by nasal cannula. *Chest*. 1988;93:289-293.
17. Capellier G, Zhang Z, Maheu MF, Pointet H, Racadot E, Kantelip B, Reginard J, Barale F. Nasal mucosa inflammation induced by oxygen administration in humans. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1997;41:1011-1016.
18. Celik H, Akpinar S, Karabulut H, Oktar P, Dursun B, Erguden HC, Gunay S, Sipit T. Evaluation of IL-8 nasal lavage levels and the effects of nasal involvement on disease severity in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Inflammation*. 2015;38(2):616-622.
19. Cepelak I, Dodig S. Exhaled breath condensate: a new method for lung disease diagnosis. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(8):945-952.
20. Chang GY, Cox CA, Shaffer TH. Nasal cannula, CPAP, and high-flow nasal cannula: effect of flow on temperature, humidity, pressure, and resistance. *Biom Instrum Technol*. 2011;1:69-74.
21. Chidekel A, Zhu Yan, Wang J, Mosko JJ, Rodriguez E, Shaffer TH. The effects of gas humidification with high-flow nasal cannula on cultured human airway epithelial cells. *Pul Med*. 2012 doi:10.1155/2012/380686.
22. Croxton TL, Bailey WC. Long-term oxygen treatment in chronic obstructive pulmonary disease: recommendations for future research. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174:373–378.

23. Dellweg D, Wenzel M, Hoehn E, Bourguind O, Haidl P. Humidification of inspired oxygen is increased with pre-nasal cannula, compared to intranasal cannula. *Respir Care*. 2013;58(8):1323-1328.
24. Dewan NA, Willian CB, Moore J, Anderson B, Kirchain W, Pharm D, O'Donohue Jr W. Smell and taste function in subjects with chronic obstructive pulmonary disease. Effect of long-term oxygen via nasal cannulas. *Chest*. 1990;97:595-599.
25. Ezzie ME, Parsons JP, Mastronarde JG. Sleep and obstructive lung diseases. *Sleep Med Clin*. 2008;3(4):505-515.
26. Fahy J, Dickey BF. Airway mucus function and dysfunction. *N Engl J Med*. 2010;363(23):2233-2247.
27. Faria Jr NS, Oliveira LVF, Perez EA, Oliveira EF, Apostólico N, Pereira NA, Santos IR, Urbano JJ, Souza ID, Polonio IB, Romaldini JBG, Pereira DM, Alves VLS, Souza AH, Nascimento AO, Jardim JR, Stirbulov R. Observation study of sleep, respiratory mechanics and quality of life in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis: a protocol study. *BMJ Open*. 2015;5:1-6
28. Frat JP, Brugiere B, Ragot S, Chatellier D, Veinstein A, Goudet V, Coudroy R, Petilpas F, Roberto R, Thille, Gerault. Sequential application of oxygen therapy via high-flow nasal cannula and noninvasive ventilation in acute respiratory failure: an observational pilot study. *Respir Care*. 2015;60:170-78.

29. Fulmer JD, Snider GL. National conference on oxygen therapy. *Chest*. 1984;86:234-247.
30. Girod S, Zahm JM, Plotrowski C, Beck G, Puchelle E. Role of the physicochemical properties of mucus in the protection of the respiratory epithelium. *Eur Respir J*. 1992;5:477-487.
31. Golar SD, Sutherland LLA, Ford GT. Multipatient use of prefilled disposable oxygen humidifiers for up to 30 days: patient safety and cost analysis. *Respir Care*. 1993;38:343-347.
32. Goto DM, Torres GM, Seguro AC, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G, Nakagawa NK. Furosemide impairs nasal mucociliary clearance in humans. *Respir Physiol Neurobiol*. 2010;170:246-252.
33. Habesoglu M, Demir K, Ymusakhuylu AC, Yilmaz AS, Oysu C. Does passive smoking have an effect on nasal mucociliary clearance? *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012;147(1):152-156.
34. Hardinge M, Annandale J, Bourne S, Cooper B, Evans A, Freeman D, Green A, Hippolyte S, Knowles V, MacNee W, McDonnell L, Pye K, Suntharalingam J, Vora V, Wilkinson T. British Thoracic Society guidelines for oxygen use in adults. *Thorax*. 2015;70 Suppl 1:i1-i43.
35. Hurst JR, Wilkinson TMA, Donaldson GC, Wedzicha JA. Upper airway symptoms and quality of life in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Respir Med*. 2004;98:767-770.

36. Junqueira LC, Carneiro J. Aparelho respiratório. In: Histologia básica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;2008.p.339-358.
37. Kim S, Nadel JA. Role of neutrophils in mucus hypersecretion in COPD and implications for therapy. *Treat Respir Med*. 2004;3(3):147-159.
38. King PT. The pathophysiology of bronchiectasis. *Inter J of COPD*. 2009;4:411-419.
39. Lima TM, Kazama CM, Koczulla AR, Hiemstra PS, Macchione M, Fernandes ALG, Santos UP, Bueno-Garcia ML, Zanetta DM, Andre CDS, Saldiva PHN, Nakagawa NK. pH in exhaled breath condensate and nasal lavage as a biomarker of air pollution-related inflammation in street traffic-controllers and office-workers. *Clinics*. 2013;68(12):1488-1494.
40. Manthei DM, Schwantes EA, Mathur SK, Guadarrama AG, Kelly EA, Gern JE, Jarjour NN, Denlinger LC. Nasal lavage VEGF and TNF- α levels during a natural cold predict asthma exacerbations. *Clin Exp Allergy*. 2014;44:1484-1493.
41. Milioli G, Bosi M, Poletti V, Tomassetti S, Andrea Grassi, Riccardi S, Terzano MG, Parrino L. Sleep and respiratory sleep disorders in idiopathic pulmonary fibrosis. *Sleep Med Rev*. 2015;10(26):57-63.
42. Miyamoto K, Nishimura M. Nasal dryness discomfort in individuals receiving dry oxygen via nasal cannula. *Respir Care*. 2008; 53:503-504.
43. Moulton BC, Barker AF. Pathogenesis of bronchiectasis. *Clin Chest Med*. 2012;33:211-217.

44. Naclério RM, Meir HL, Kagey-Sobotka A, Adkison Jr, NF, Meyers DA, Norman PS, Lichtenstein LM. Mediator release after nasal airway challenge with allergen. *Am Rev Respir Dis*. 1983;128:597–602.
45. Nakagawa NK. Estudo dos efeitos de Sistema de umidificação em pacientes ventilados mecanicamente sobre as propriedades físicas do muco respiratório e sua transportabilidade por cílio e tosse [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo;1997.
46. Nakagawa NK, Franchini ML, Driusso P, Oliveira LR, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G. Mucociliary clearance is impaired in acutely ill patients. *Chest*. 2005;128:2772-2777.
47. Nakagawa NK, Macchione M, Petrolino HMS, Guimarães ET, King M, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G. Effects of a heat and moisture exchanger and a heated humidifier on respiratory mucus in patients undergoing mechanical ventilation. *Crit Care Med*. 2000;28(2):312-317.
48. Nakagawa NK, Saldiva PHL, Lorenzi-Filho G. Mecanismo de defesa pulmonar. In: Nakagawa NK, Barnabé V. Fisioterapia do sistema respiratório. São Paulo: Sarvier; 2006. p. 207-228.
49. Nakamura S, Mori Y, Takizawa J, Kawakami M. Effect of on-demand inhalation of dry oxygen on nasal mucociliary clearance. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*. 1996;34(11):1189-1193.

50. Nagata K, Morimoto T, Fujimoto D, Otoshi T, Nakagawa A, Otsuka K, Seo R, Alsumi T, Tomii R. Efficacy of high-flow nasal cannula therapy in acute hypoxemic respiratory failure: decreased use of mechanical ventilation. *Respir Care*. 2015;60:1390-96.
51. Nasilowski J, Przybylowski T, Zielinski J, Chazan R. Comparing supplementary oxygen benefits from a portable oxygen concentrator and a liquid oxygen portable device during a walk test in COPD patients on long-term oxygen therapy. *Respir Med*. 2008;102:1021-1025.
52. National Heart, Lung, and Blood Institute. Disease Statistics - NHLBI [citaded 11 nov.2015]. Available from:
<http://www.nhlbi.nih.gov/about/documents/factbook/2012/chaper4>
53. Nicola ML, Carvalho HB, Yochida CT, Anjos F, Nakao M, Santos UP, Cardoso KHM, Carvalho VM, Pinto E, Farsky SHP, Saldiva PHN, Rubin BK, Nakagawa NK. Young “healthy” smokers have functional and inflammatory changes in the nasal and lower airways. *Chest* 2014;145(5):998-1005.
54. Nocturnal Oxygen Therapy Group (no authors listed). Continuous or nocturnal oxygen therapy in hypoxemic chronic obstructive lung disease: a clinical trial. *Ann Int Med* 1980;93:391-398.
55. Oliveira-Maul JP, Carvalho HB, Goto DM, Maia RM, Fló C, Barnabé V, Franco DR, Benabou S, Perracini MR, Jacob-Filho W, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G, Rubin BK, Nakagawa NK. Aging, diabetes, and hypertension are associated with decreased nasal mucociliary clearance. *Chest*. 2013;143(4):1091-1097.

56. Piccirillo JF, Merritt-Jr MG, Richards ML. Psychometric and clinimetric validity of the 20-item SinoNasal Outcome test (SNOT20). *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;126(1):41-47.
57. Piotrowska VM, Piotrowski WJ, Kumanowska Z, Marczac J, Górski P, Antczak A. Rhinosinusitis in COPD: symptoms, mucosal changes, nasal lavage cells and eicosanoids. *Int J of Chron Obstruct Pulmol Dis.* 2010;5:107-117.
58. Poley L, Yaman N, Heaney L, Cardwell C, Murtagh E, Ramsey J, MacMahon J, Costello RW, McGarvey L. Impact of cough across different chronic respiratory diseases. Comparison of two cough-specific health-relates quality of life questionnaires. *Chest.* 2008;134:295-302.
59. Puchelle E, Zahm JM, Jacquot J, Plotkowski C, Duvivier C: A simple technique for measuring adhesion properties of human bronchial secretions. *Eur J Resp Dis.* 1987;71:281-282.
60. Ramos EM, Toledo AC, Xavier RF, Fosco LC, Vieira RP, Ramos D, Jardim JR. Reversibility of impaired nasal mucociliary clearance in smokers following a smoking cessation programme. *Respirol.* 2011;16:849-855.
61. Rea H, McAuley S, Jayaram L, Garrett J, Hochev H, Storey L, Storey L, O'Donnel K. The clinical utility of long-term humidification therapy in chronic airway disease. The clinical utility of long-term humidification therapy in chronic airway disease. *Respir Med.* 2010;104:525-533.

62. Report of the Medical Research Council Working Party. Long term domiciliar oxygen therapy in chronic hypoxic cor pulmonale complicating chronic bronchitis and emphysema. *Lancet*. 1981;1:681-688.
63. Ricard JD, Boyer A. Humidification during oxygen therapy and non-invasive ventilation: do we need some and how much? *Intensive Care Med*. 2009;35:963-965.
64. Rodrigues FMM, Ramos D, Xavier RF, Ito JT, Souza AP, Fernandes RA, Cecchini R, Macchione M, Toledo-Arruda AC, Guarnier FA, Ramos EMC. Nasal and systemic inflammatory profile after short term smoking cessation. *Respir Med*. 2014;108:999-1006.
65. Rogers DF. Mucociliary dysfunction in COPD: effect of current pharmacotherapeutic options. *Pulm Pharmacol Ther*. 2005;18:1-8.
66. Rogers DF. The role of airway secretions in COPD: pathophysiology, epidemiology and pharmacotherapeutic options. *COPD*. 2005;2(3):341-353.
67. Rubin BK. Physiology of airway mucus clearance. *Respir Care*. 2002;47(7):761-768.
68. Rubin BK. Secretion properties, clearance, and therapy in airway disease. *Transl Respir Med*. 2014;2:6.
69. Rubin BK, Ramirez O, Zayas JG, Finegan B, King M. Respiratory mucus from asymptomatic smokers is better hydrated and more easily cleared by mucociliary action. *Am Rev Respir Dis*. 1992;145(3):545-547.

70. Salah B, Dinh-Xuan AT, Fouilladieu JL, Lockhart A, Regnard J. Nasal mucociliary transport in healthy subjects is slower when breathing dry air. *Eur Respir J*. 1988;1:852-855.
71. Saldiva PHN. Aparelho mucociliar: aspectos funcionais e métodos de estudo. *J Pneumol*. 1990;16:161-170.
72. Shelly MP, Lloyd GM, Park GR. A review of the mechanisms and methods of humidification of inspired gases. *Intensive Care Med*. 1998;14:1-9.
73. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Consenso brasileiro de oxigenioterapia domiciliar prolongada (ODP). *J Pneumol*. 2000;26(6):341-350.
74. Stanley PJ, Wilson R, Greenstone MA, Macwilliam L, Cole PJ. Effect of cigarette smoking on nasal mucociliary clearance and ciliary beat frequency. *Thorax*. 1986;41:519-523.
75. Tambascio J, Souza HCD, Martinez JAB, Afonso JL, Jardim JR, Gastaldi AC. The influence of purulence on ciliary and cough transport in bronchiectasis. *Respir Care*. 2013;58(12):2101-2106.
76. Ternesten-Hasseus E, Farbrot A, Löwhagen O, Millquist E. Sensitivity to methacholine and capsaicin in patients with unclear respiratory symptoms. *Allergy*. 2002; 57:501–507.
77. Tiep B, Carter R. Oxygen conserving devices and methodologies. *Chron Respir Dis*. 2008;5:109-114.
78. Ulrich S, Fischler M, Rudolf S, Bloch KE. Sleep-related breathing disorders in patients with pulmonary hypertension. *Chest*. 2008; 133:1375-

1380.

79. Volsko TA. Airway clearance therapy: finding the evidence. *Respir Care*. 2013;58(10):1669-1678.

80. Walker JEC, Wells RE. Heat and water exchange in the respiratory tract. *Am J Med*. 1961;30:259-29.

81. Wettstein RB, Shelledy DC, Peters JI. Delivered oxygen concentrations using low-flow and high-flow nasal cannulas. *Respir Care*. 2005;50(5):604-609.

82. Williams R, Rankin N, Smith T, Galler D, Seakins P. Relationship between the humidity and temperature of inspired gas and the function of the airway mucosa. *Crit Care Med*. 1996;24(11):1920-1929.

83. Wouters IM, Hilhorst SKM, Kleppe P, Doekes G, Douwes J, Peretz C, Heederik D. Upper airway inflammation and respiratory symptoms in domestic waste collectors. *Occup Environ Med*. 2002;59:106-112.

84. Yamashita K, Nishiyama T, Yokoyama T, Abe H, Manabe M A. Comparison of the rate of bacterial contamination for prefilled disposable and reusable oxygen humidifiers. *J Crit Care*. 2005;20:172-175.

85. Zinman R, Corey M, Coates AL, Canny GJ, Connolly J, Levison H. Nocturnal home oxygen in the treatment. *J Pediat*. 1989;114(3):368–377.

109.

APÊNDICES

Title Page

Oxygen with cold bubble humidification is no better than dry oxygen in preventing mucus dehydration, decreased mucociliary clearance, and decline in pulmonary function

Authors: Michelle Lisidati Franchini¹, Rodrigo Athanazio², Luis Fernando Amato-Lourenço³, Waldir Carreirão-Neto⁴, Paulo Hilario Nascimento Saldiva³, Geraldo Lorenzi-Filho¹, Bruce K. Rubin⁵ and Naomi Kondo Nakagawa¹

Institutions:

1. Department of Physiotherapy, Communication Science and Disorders and Occupational Therapy, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Sao Paulo, Brazil; 2. Pulmonary Division, Heart Institute (InCor), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil; 3. Department of Pathology, LIM-5, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Sao Paulo, Brazil; 4. Federal University of Santa Catarina, Santa Catarina, Brazil; and 5. Pediatrics Department, Virginia Commonwealth University, Virginia, USA.

Correspondence: Naomi Kondo Nakagawa, MSc, PhD

Department of Department of Physiotherapy, Communication Science and Disorders and Occupational Therapy, LIM 34, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil. Av. Dr. Arnaldo, 455, Room 1150, Cerqueira Cesar, São Paulo, Brazil

CEP 01246-903 Phone: +55 11 3061-8529 Fax: +55 11 3061-8521

E-mail: naomi.kondo@usp.br

Running title: Airway humidification and mucus

Key-words: oxygen therapy, humidity, mucociliary transport, inflammation

Source of financial support: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 13/13598-1).

Current knowledge

Nasal low-flow oxygen therapy can be administered with or without supplemental humidification. However, the effects of cold bubble humidification or no humidification on mucociliary transport, mucus properties, and airway symptoms are not well established

What this paper contributes to our knowledge

Our study shows that unheated bubble humidification does not humidify inspired oxygen to prevent deterioration of mucociliary clearance, mucus hydration, and pulmonary function and that this performed no better than no humidification at all.

Conflict-of-interest statement for each author: None of the authors report a conflict of interest related to this manuscript.

Contributions of each author to the manuscript:

Literature search: Michelle L. Franchini, Rodrigo Athanazio, Waldir Carreirão-Neto and Naomi K. Nakagawa

Study design: Michelle L. Franchini, Paulo H. N. Saldiva, Bruce K. Rubin and Naomi K. Nakagawa

Data collection: Michelle L. Franchini and Rodrigo Athanazio

Analysis of data: Michelle L. Franchini, Rodrigo Athanazio, Luiz F. Amato-Lourenço, Paulo H. N. Saldiva and Naomi K. Nakagawa

Manuscript preparation: Michelle L. Franchini, Rodrigo Athanazio, Luiz F. Amato-Lourenço, Waldir Carreirão-Neto, Paulo H. N. Saldiva, Geraldo Lorenzi-Filho, Bruce K. Rubin and Naomi K. Nakagawa

Review of manuscript: Bruce K. Rubin and Naomi Kondo Nakagawa

Naomi Kondo Nakagawa had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis, including and especially any adverse effects.

All authors have agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. Registration at Clinicaltrials.gov (NCT02515786). The authors' e-mail addresses are the following:

Michelle Lisidati Franchini: mi.fisio@usp.br

Rodrigo Athanazio: rathanazio@yahoo.com.br

Luis Fernando Amato: luisfamato@gmail.com

Waldir Carreirão-Neto: carreiraoneto@hotmail.com

Paulo Hilario Nascimento Saldiva: pepino@usp.br

Geraldo Lorenzi-Filho: geraldo.lorenzi@gmail.com

Bruce K. Rubin: bruce.rubin@vcuhealth.org

Naomi Kondo Nakagawa: naomi.kondo@usp.br

List of Abbreviations:

COPD, chronic obstructive pulmonary disease

EGF, epidermal growth factor

FEV₁, forced expiratory volume

FVC, forced vital capacity

IL, interleukin

MCC, mucociliary clearance

NLF, nasal lavage fluid

NLFO, nasal low-flow oxygen

RH, relative humidity

SNOT-20, Sino-Nasal Outcome Test-20

STT, saccharine transit time test

Abstract (250 words)

BACKGROUND: Little is known on the effects of long-term nasal low flow oxygen (NLFO) on mucus and symptoms and how this is affected by dry or cold humidified gas. The aim of this study was to investigate the effects of dry-NLFO and cold bubble humidified-NLFO on nasal mucociliary clearance (MCC), mucus properties, inflammation and symptoms in subjects with chronic hypoxemia requiring long-term domiciliary oxygen therapy. **METHODS:** Eighteen subjects (68 years, 7 male, 66% COPD, 60% hypertensive and former-smokers) initiating NLFO were randomized to Dry-NLFO (n=10) or Humidified-NLFO (n=8). Subjects were assessed at baseline, 12 hours, 7 days, 30 days, 12 months and 24 months by measuring nasal MCC using saccharine test, mucus contact angle (surface tension), inflammation (total cells and cytokine concentration in nasal lavage) and symptoms by the Sino-Nasal Outcome Test-20. **RESULTS:** Nasal MCC decreased significantly (40% longer saccharine times) and similarly in both groups over study. There was significant association between impaired nasal MCC and lung function decline. Nasal lavage showed increased proportion of macrophages, IL-8 and EGF concentrations combined with decreased IL-10 during the study. No changes in the proportion of ciliated cells or contact angle were observed. Coughing and sleep symptoms decreased similarly in both groups. There were no outcome differences when comparing dry to cold bubble humidified NLFO. **CONCLUSIONS:** In subjects receiving chronic NLFO, the cold bubble humidification does not adequately humidify inspired oxygen to prevent deterioration of MCC, mucus hydration, and pulmonary function. Additionally, the unheated bubble humidification performed no better than no humidification.

Registration at Clinicaltrials.gov (NCT02515786)

INTRODUCTION

Long-term oxygen therapy is used to treat patients with chronic hypoxemia in order to improve pulmonary hemodynamics, symptoms, quality of life and survival [1-3]. Long-term oxygen therapy is defined as oxygen use for at least 15 hours per day [4, 5], and for 30 or more days under optimal regimen in a stable state for approximately 30 days [6]. Low-flow oxygen therapy is generally provided via nasal cannula without supplemental humidification [4, 7, 8]. The use of dry nasal low-flow oxygen (NLFO) in clinical practice intends to prevent bacterial contamination of the reservoir water and to reduce the risk for respiratory infection [9, 10]. However, the inhalation of dry air may cause ciliary dysfunction, alterations in mucus properties and mucociliary clearance (MCC) impairment [11-13]. Studies investigating dry NLFO on airway symptoms reported acute dryness in the mouth, nose and trachea as well as headache and chest discomfort in healthy subjects [14] and in patients after 92 days [15]. After humidification, there was some relief of nasal symptoms. However, the effects of cold bubble humidification or no humidification on mucociliary transport, mucus properties, and airway symptoms are not well established.

The aim of this study was to investigate the effects of long-term dry NLFO and cold bubble humidified NLFO on nasal MCC, airway symptoms, and nasal inflammation in subjects with chronic hypoxemia. We hypothesized that the long term use of dry nasal oxygen would increase nasal symptoms and inflammation and decrease nasal MCC.

METHODS

This randomized clinical trial was approved by the Institutional Ethical Committee for Research (CEP 041/13), is done in compliance with the Helsinki Declaration and registered at clinicaltrials.gov (NCT02515786). We recruited female and male subjects aged ≥ 18 years from the Basic Health Units of São Paulo City and the Pulmonology Ambulatory of Hospital das Clínicas from January 2013 through May 2015. Subjects entered the study after informed consent. Inclusion criteria included subjects with chronic lung disease and hypoxemia and recent prescription of domiciliary long-term NLFO [4, 5]. The exclusion criteria were prior use of NLFO, nasal surgery, use of nasal medications, diagnoses of chronic rhinosinusitis, inability to taste saccharin, respiratory infections within 30 days of starting the study, and difficulty in understanding the protocol procedures. Subjects were randomized to interventions: NLFO with dry gas (Dry-NLFO) or NLFO with humidification (Humidified-NLFO). Both groups received an unheated bubble humidifier (71-1392, Airliquide Ind., São Paulo, Brazil), and water was added in the system of the Humidified-NLFO group. Randomization was performed using sealed envelopes.

We oriented patients to avoid alcohol, coffee, and tea for 8 hours before clinical assessments; all performed between 7 and 9 AM. Subjects were studied at entry (baseline), 12 hours, 7 days, 1 month, 3 months, 12 months and 24 months after NLFO initiation. We assessed the clinical history including pulmonary disease exacerbations, nasal symptoms, nasal mucus and nasal lavage fluid collections at each time-point. Exacerbations of diseases were considered as emergency department evaluation or hospitalizations. Nasal symptoms were obtained using the Sino-Nasal Outcome Test (SNOT)-20 questionnaire [16, 17]. Briefly, the SNOT-20 consists of 20 items in two major domains: the upper airway

symptoms (questions 1 to 10) and sleep quality (questions 11 to 20) each graded from zero to five; 0=no symptoms, 1=minimal symptoms, 2=small, 3=moderate, 4=serious and 5=the greatest symptoms possible. At each study visit, we also measured heart rate and arterial blood pressure.

Nasal MCC was assessed using the saccharin transit test (STT). Normal STT time is ≤ 12 minutes [18]. Subjects spent 15 minutes resting with a normal breathing pattern and avoiding talking, coughing, sneezing, or deep/fast inhalation during the procedure. We choose the more patent nostril to perform STT analysis and if patency was similar, we chose the right nostril. Saccharine powder 25 μg was deposited on the anterior portion of the middle turbinate. Subjects were instructed to keep their head vertical. Nasal MCC was measured in minutes as the time elapsed between the deposition of the saccharin and the first perception of a sweet taste [19].

Nasal mucus was collected from the nostril not used for STT. Subjects were instructed to maintain 30° of head extension and mucus was collected with a soft brush, stored in a labeled tube and kept in -80°C for analysis. Contact angle measures the solid-air-liquid interface, or wettability and is associated with mucus sneeze clearability [20]. Contact angle was measured using a stereomicroscope (Stemi 2000C, Carl Zeiss, Göttinger, Germany) and microcomputer image processing system (Interactive AxionVision 4.7, Carl Zeiss, Göttinger, Germany).

We collected nasal lavage fluid (NLF) at each time point. Subjects sat with head extended 30° and we instilled 5 mL of room temperature 0.9% saline into one nostril followed by a 10 seconds dwell time with no swallowing. The subject was then to expelled the NLF into a sterile plastic bottle. We repeated the procedure in the other nostril. As previously described [17, 21], the sample was homogenized and centrifuged for 10 minutes at a speed of 1,800 rpm and a temperature of 5°C. The supernatant was separated from the pellet, transferred to sterile polypropylene tubes, and stored in -80°C for quantification of epidermal growth factor (EGF), interleukin (IL)-8 (CXCL8) and IL-10 using a human multiplex ELISA assays (HCYT0MAG-60K, EMD Millipore Corp, Missouri, USA. The pellet was used for total and differential cells count. We suspended the pellet with 1 mL of phosphate buffered saline solution and performed the cell count in the Neubauer chamber (20 μL sample, 400x magnification). Samples were centrifuged at 96g, 25°C for 6 minutes. The slide was stained with May-Grunwald-Giemsa for cell counts. Mucus and NLF samples were coded for laboratory analysis performed by two technicians.

Lung function was performed according to the recommendations of the American Thoracic Society and the European Respiratory Society [22] to determine forced exhaled volume in the first second (FEV_1) and forced vital capacity (FVC). Data interpretation were performed using the predicted values examined in a Brazilian population [23]. Temperature and relative humidity were measured at the end of the nasal cannula and at the nose of the patient using 2 and 3 LPM of dry and humidified oxygen with the aid of a thermo-hygrometer (MTH-1380 Termopar K, Minipa Ind., São Paulo, Brazil). The absolute humidity [24] was determined using temperature, relative humidity and atmospheric pressure at the level of the city (700-706 mmHg).

Statistical Analysis

We used Statistical Package for Social Sciences version 19.0 for analyses (IBM Corp., Chicago, IL, USA). Results are presented as mean values $\pm$ SD or proportions (%) when appropriate. Descriptive statistics were used to summarize subject demographics. Demographic and clinical characteristics between groups were analyzed using t-test or Mann-Whitney test. Categorical variables were analyzed using the Fisher Exact Test. Frequency of the most important airway symptoms and sleep problems were analyzed along the study using ANOVA for repeated measures followed by pairwise analysis. To compare saccharine transit time and mucus contact angle between groups along the study, we used two-way ANOVA for repeated measures followed by Bonferroni adjustment for multiplicity. To compare cytokines concentrations and inflammatory and epithelial cells in NLF of the two groups, we performed non-parametric two-way ANOVA for repeated measures. After post hoc correction for multiple comparisons, a probability of $p < 0.05$ was considered significant. Spearman's Correlation Coefficient was performed to assess associations between variables.

Using the software G* Power version 3.9.1.2 (<http://www.gpower.hhu.de/en.html>), the total sample size for this study (two groups along 6 time-periods) was calculated as 18 subjects. We used saccharin transit time as the main outcome with an effect size of 25%, $\alpha=0.05$ and a power of 0.79.

RESULTS

Twenty-seven patients were listed to start home oxygen therapy and 19 subjects were eligible and randomized to receive NLFO at 2-3 LPM with or without humidification (Fig. 1). One subject in the Humidified-NLFO group dropped out of the study after the baseline assessment and her data were not included in the statistical analysis. Three subjects had exacerbations of lung disease during the study, two in the Dry-NLFO group and one in the Humidified-NLFO, and one of these in the Dry-NLFO group died during the exacerbation of bronchiectasis at 11 months of the study. One additional subject in the Dry-NLFO died after 12 months due to severe pulmonary fibrosis at 15 months of the study. Demographic data were similar between groups (Table 1). No significant differences were observed between Dry-NLFO and Humidified-NLFO groups in the number of subjects with COPD, bronchiectasis, pulmonary hypertension and/or diabetes or in the number of former smokers.

Table 2 shows significant differences between Dry and Humidified oxygen in absolute humidity at the end of the cannula but not at the nasal mucosa.

Cough was the most significant airway symptom reported at baseline by both groups of patients and this improved by day 7 of oxygen therapy (Table 3) with no significant differences between groups ($p=0.391$). Sleep symptoms frequently reported were difficult falling asleep, waking up at night and bad night sleep at the beginning of the study. Significant and similar improvements in sleep symptoms were reported after 12 months by both groups of patients. There was no changes in mucus contact angle in either group of subjects, Dry and Humidified groups. Compared with baseline, mean values of STT prolonged (Fig. 2) at 12 months ($p=0.049$) and 24 months ($p=0.017$) with no significant differences between groups ($p=0.224$).

Lung function results were similar between Dry and Humidified-NLFO groups at baseline and 24 months (Table 4). There was a significant correlation between STT and FEV₁ (-0.56 and p=0.007). The total number of cells in the NLF was similar between the two groups at baseline and 24 months study period (Table 4). Ciliated cells and mucus properties did not change during the study. Both groups had small increases (< 5%) in neutrophils and goblet cells with a decrease in macrophages. The NLF EGF concentration increased while IFN- α , CXCL8 and IL-10 concentrations decreased.

DISCUSSION

MCC is a primary defense mechanism of the respiratory tract. Impaired MCC may lead to mucus retention, inflammation and infection. We found that after NLFO therapy, there were significant improvements in symptoms of coughing and sleep disturbance but there were no significant differences Dry and Humidified NLFO groups. Nasal MCC impairment was noted in 45% of subjects and this worsened over time (89% of subjects) and to a similar extent in both groups. Cold bubble humidification had similar performance as no humidification at the nasal mucosa of the patient showing no impact on MCC, mucus properties, inflammation, or symptoms.

At the start of the study, we hypothesized that dry oxygen would impair MCC, increase inflammation and increase symptoms when compared with humidified gas; consistent with previous studies [13, 14]. Our findings showed that cold bubble humidification was no better than no humidification in preventing nasal MCC impairment, mucus dehydration and decline in pulmonary function. Humidification using unheated bubble humidifiers is limited by the surface area of the gas/water interface, the temperature of the water and the flow through the humidifier [25-27]. We found higher absolute humidity obtained with cold bubble humidifier (~21 mg/L) as compared with no humidification (9 mg/L) at the end of the nasal catheter. This may not have a clinical effect because at the nasal mucosa (~30-32°C), the absolute humidity reached was similar using the two systems (~21 mg/L Dry vs 25 mg/L “Humidified”). As well, the oxygen received by the patient through a nasal cannula is part of the total inspired volume [28]. With no humidification or cold bubble humidification, the absolute humidity provided to the patient was much lower than provided by heated wire humidifiers (44 mg/L) [25]. Fully saturated inspired gas with higher absolute humidity at near body temperature (37°C) preserves MCC and pulmonary function [24, 25]. However, the clinical importance of heated humidification during NLFO was beyond the scope of this study.

Airway inflammation is a common feature in many patients with respiratory diseases and is reported to be a risk factor for lung function decline [29]. In this study, patients receiving dry or humidified oxygen had a similar inflammatory profile in NLF that persisted over time with increased macrophages and IL-8, and decreased concentrations of IL-10. Epidermal growth factor (EGF) was also increased in both groups and is reported to participate in mucin production by epithelial cells and in process for tissue repairing [29, 30]. We confirm that patients with severe chronic airway disease who require domiciliary oxygen therapy have increased nasal inflammatory cells and pro-inflammatory cytokines and that remained stable over time. Cold bubble “humidification” of inspired oxygen does not ameliorate this inflammation.

Improvements in sleep problems and nasal symptoms after starting oxygen therapy support the use of NLFO in patients with chronic hypoxemia and it may also be that improvements due to oxygen supplementation were sufficient to blunt impairment caused by humidification of dryness. Symptomatic improvement of cough and airway discomfort were clearly documented by day 7 of therapy and persisted for the duration of the study. Improvement in sleep was observed only after 12 months of therapy.

The study may have been underpowered to detect clinically significant changes. We did see impairment of MCC, the primary outcome variable, in both and was not ameliorated by cold humidification. We found significant associations between mucociliary transport measured by nasal saccharine transit time (STT) and FEV1. The slowing of nasal MCC is not likely to be a side effect of oxygen therapy, but rather to insufficient humidification of inspired air and with the severity and progression of the pulmonary disease. Pulmonary disease has been reported to affect the ability of the respiratory tract to exchange heating and moisture during respiration [24, 29]. It may also be that previous studies were primarily conducted in healthy volunteers while our study, in subjects with severe lung disease and hypoxemic, may have included subjects with such severe baseline impairment that changes may have been difficult to detect. Consistent with this conjecture was the observation that at baseline study initiation, only 10 subjects (55%) had normal MCC. Another aspect is that our results should not be applied to patients receiving nasal high flow oxygen (20 LPM or more), those receiving noninvasive ventilation, and intubated patients as these conditions were not studied.

In subjects receiving NLFO therapy, the cold bubble humidification does not adequately humidify inspired oxygen and does not prevent slowing of mucociliary clearance, mucus dehydration, and worsening pulmonary function; cold bubble humidification performed no better than no humidification ‘.

Acknowledgements: The authors would like to thank Tmas de Santana Carvalho for helping us with mucus analysis and Professor Julio Singer, Professor Carmen Diva Saldiva de Andr and Dr. Hayala Cristina Cavenague de Souza for helping us with statistical analysis. We also would like to thank Fundao de Amparo Pesquisa do Estado de So Paulo for financial support to this study (FAPESP 2013/13598-1). The authors contributed to the manuscript in these: literature search (MLF, RA, WCN, NKN), study design (MLF, PHNS, BKR, NKN), data collection (MLF, RA), analysis of data (MLF, RA, LFAL, PHNS, NKN), manuscript preparation (MLF, RA, LFAL, WCN, PHNS, GLF, BKR, NKN), and review of manuscript (BKR, NKN). Naomi Kondo Nakagawa had full access to all data and takes responsibility for the integrity and the accuracy of the data analysis, including and especially any adverse effects. All authors have agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Legends of Figures

Figure 1. CONSORT flowchart of the study

Figure 2. Nasal mucociliary clearance and mucus contact angle in Dry NLFO (n=10) and

Humidified NLFO (n=8 Figure 2: Nasal mucociliary clearance and mucus contact angle in Dry NLFO (n=10) and Humidified NLFO (n=8) over the study period using ANOVA for repeated measures with Bonferroni's adjustments for multiple comparisons. Both groups had significant worsening of MCC at 12 (* p=0.049) and 24 months († p=0.017) but there was no difference in the amount of worsening between groups (p=0.224).

Table 1. Characteristics of subjects. Means $\pm$ SD or number of cases (proportions) in Dry NLFO (n=10) and Humidified NLFO (n=8) analyzed using T-test or Mann-Whitney (^a) or Fisher Exact Test for categorical variables

Table 2. Mean values ($\pm$ SD) of temperature (T) and absolute humidity (AH) of dry and humidified oxygen (O₂) at 2 and 3 LPM at the end of the nasal cannula and at the nasal mucosa during inspiration in six patients. ^a vs ^b p<0.001, ^a vs ^c p<0.001, ^d vs ^e, p<0.001, ^d vs ^f p=0.002

Table 3. Mean frequency (%) of cough and sleep problems; defined as difficulty falling asleep, waking at night and poor night's sleep, was similar between Dry- NLFO (n=10) and Humidified-NLFO (n=8). ANOVA for repeated measures followed by Bonferroni adjustments, ^a p = 0.041 and ^b p=0.025 vs Baseline and 12 hours, ^c p=0.019 vs 7 and 30 days with no significant differences between Dry and Humidified groups (p=0.391)

Table 4. Mean values ($\pm$ SD) of spirometry data and median values (IQR) of number of cells (n) or proportion of cells (%) and cytokines concentrations (pg/mL) obtained in nasal lavage fluid (NLF) of Dry-NLFO and Humidified-NLFO groups. Comparisons were performed with non-parametric two-way ANOVA for repeated measures (^a vs Humidified at the same time-point)

References

1. Report of the Medical Research Council Working Party. Long-term domiciliary oxygen therapy in chronic hypoxic cor pulmonale complicating chronic bronchitis and emphysema. *Lancet*. 1981;1:681-86.
2. Zinman R, Corey M, Coates AL, Canny GJ, Connolly J, Levison H. Nocturnal home oxygen in the treatment of hypoxemic cystic fibrosis patients. *J Pediatr*. 1989;114(3):368-77.
3. Croxton TL, Bailey WC. Long-term oxygen treatment in chronic obstructive pulmonary disease: Recommendations for future research. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174:373-78.
4. Hardinge M, Annandale J, Bourne S, Cooper B, Evans A, Freeman D, et al. British Thoracic Society guidelines for home oxygen use in adults. *Thorax*. 2015;70(1):i1-i43.
5. Roberts CM, Franklin J, O'Neill A, Roberts RPL, Ide J, Hanley ML, et al. Screening patients in general practice with COPD for long term domiciliary oxygen requirement using pulse oxymetry. *Respir Med*. 1998;92:1265-68.
6. Fulmer JD, Snider G. ACCP-NHLBI National Conference on oxygen therapy. *Chest*. 1984;86(2):234-47.
7. Ricard JD, Boyer A. Humidification during oxygen therapy and non-invasive ventilation: do we need some and how much? *Intensive Care Med*. 2009;35:963-65.
8. American Association for Respiratory Care. Clinical practice guideline oxygen therapy in the home or extended care facility. *Respir Care*. 1992;37:918-22.

9. Golar SD, Sutherland LLA, Ford GT. Multipatient use of prefilled disposable oxygen humidifiers for up to 30 days: patient safety and cost analysis. *Respir Care*. 1993;38:343-47.
10. Yamashita K, Nishiyama T, Yokoyama T, Abe H, Manabe M. A comparison of the rate of bacterial contamination for prefilled disposable and reusable oxygen humidifiers. *J Crit Care*. 2005;20:172-75.
11. Shalon J, Loew DAY, Malebranche J. Effects of dry anesthetic gases on tracheobronchial ciliated epithelium. *Anesthesiology*. 1972;37(3):338-43.
12. Salah B, Dinh-Xuan AT, Fouilladieu JL, Lockhart A, Regnard J. Nasal mucociliary transport in healthy subjects is slower when breathing dry air. *Eur Respir J*. 1988;1:846-49.
13. Nakamura S, Mori Y, Takizawa J, Kawakami M. Effect of on-demand inhalation of dry oxygen on nasal mucociliary clearance. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*. 1996;34(11):1189-93. *This article is in Japanese.*
14. Miyamoto K, Nishimura M. Nasal dryness discomfort in individual receiving dry oxygen via nasal cannula. *Respir Care*. 2008;53:503-04.
15. Campbell EJ, Baker D, Crites-Silver P. Subjective effects of humidification of oxygen for delivery by nasal cannula. *Chest*. 1988;93:289-93.
16. Piccirillo JF, Merritt-Jr MG, Richards ML. Psychometric and clinimetric validity of the 20-Item Sino-Nasal Outcome Test (SNOT-20). *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002;126:41-47.
17. Brant TCS, Yoshida CT, Carvalho TS, Nicola ML, Martins JA, Braga LM, et al. Mucociliary clearance, airway inflammation and nasal symptoms in urban motorcyclists. *Clinics*. 2014;69:867-70.
18. Oliveira-Maul JP, Carvalho HB, Goto DM, Maia RM, Fló C, Barnabé V, et al. Aging, diabetes, and hypertension are associated with decreased nasal mucociliary clearance. *Chest*. 2013;143:1091-97.
19. Andersen IB, Lundqvist GR, Proctor DF. Human nasal mucosal function under four controlled humidities. *Am Rev Respir Dis*. 1972;106:438-49.
20. Albers GM, Tomkiewicz RP, May MK, Ramirez OE, Rubin BK. Ring distraction technique for measuring surface tension of sputum: relationship to sputum clearability. *J Appl Physiol*. 1996;81:2690-95.
21. Naclério RM, Meir HL, Kagey-Sobotka A, Adkison Jr NF, Meyers DA, Norman PS, et al. Ediator release after nasal airway challenge with allergen. *Am Rev Respir Dis*. 1983;128:597-602.
22. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. ATS/ERS Task force: standardization of lung function testing. *Eur Respir J*. 2005;26(2):319-38,
23. Pereira CAC, Sato T, Rodrigues SC. New reference values for forced spirometry in White adults in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2007;33(4):397-406.
24. Walker JEC, Wells RE. Heat and water exchange in the respiratory tract. *Am J Med*. 1961;30:259-67.
25. Williams R, Rankin N, Smith T, Galler D, Seakins P. Relationship between the humidity and temperature of inspired gas and the function of the airway mucosa. *Crit Care Med*. 1996;24:1920-29.
26. Darin J, Broadwell J, MacDonell R. An evaluation of water-vapor output from four

- brands of unheated, prefilled bubble humidifiers. *Respir Care*. 1981;27(1):41-50.
27. Shelly MP, Lloyd GM, Park GR. A review of the mechanisms and methods of humidification of inspired gases. *Intensive Care Med*. 1988;14:1-9.
28. Miyamoto K. Is it necessary to humidify inhaled low-flow oxygen or low-concentration oxygen? *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. 2004;42(2):138-44. This article is in Japanese.
29. Rogers DF. The role of airway secretions in COPD: pathophysiology, epidemiology and pharmacotherapeutic options. *COPD*. 2005;2(3):341-53.
30. Riechelmann H, Deutschle T, Friemel E, Gross HJ, Bachem M. Biological markers in nasal secretions. *Eur Respir J*. 2003;21:600-05.
31. Burgel PR, Nadel JA. Roles of epidermal growth factor receptor activation in epithelial cell repair and mucin production in airway epithelium. *Thorax*. 2004;59:992-96.

Table 1. Characteristics of subjects. Means $\pm$ SD or number of cases (proportions) in Dry NLFO (n=10) and Humidified NLFO (n=8) analyzed using T-test or Mann-Whitney (^a) or Fisher Exact Test for categorical variables

	Dry-NLFO	Humidified-NLFO	P-value
Age, years	67 $\pm$ 14	68 $\pm$ 9	0.898
Male, n	4 (40)	3 (38)	>0.999
BMI, kg/m ²	26 $\pm$ 8	25 $\pm$ 7	0.707
Systolic pressure, mmHg	125 $\pm$ 10	126 $\pm$ 11	0.814
Diastolic pressure, mmHg	82 $\pm$ 8	79 $\pm$ 8	0.897 ^a
Heart Rate, bpm	80 $\pm$ 15	74 $\pm$ 8	0.308
Morbidities, n (%)			
COPD	6 (60)	6 (75)	0.640
Bronchiectasis	3 (30)	1 (13)	0.590
Pulmonary fibrosis	1 (10)	1 (13)	>0.999
Pulmonary hypertension	1 (10)	1 (13)	>0.999
Hypertension	5 (50)	5 (63)	0.660
Diabetes	1 (10)	1 (13)	>0.999
Former smokers	6 (60)	5 (63)	>0.999
Medications, n (%)			
Bronchodilators	10 (100)	8 (100)	1.000
Diuretics	5 (50)	1 (13)	0.150
Beta-blockers	1 (10)	1 (13)	>0.999
Antibiotics	2 (20)	1 (13)	>0.999

Abbreviations: NLFO, nasal low-flow oxygen, BMI, body mass index, COPD, chronic obstructive pulmonary disease

Table 2. Mean values ($\pm$ SD) of temperature (T) and absolute humidity (AH)) of dry and humidified oxygen (O₂) at 2 and 3 LPM at the end of the nasal cannula and at the nasal mucosa during inspiration in six patients. ^a vs ^b p<0.001, ^a vs ^c p<0.001, ^d vs ^e p<0.001, ^d vs ^f p=0.002

	2 LPM		3 LPM	
	Dry O ₂	Humidified O ₂	Dry O ₂	Humidified O ₂
At nasal cannula				
T, °C	30.3 $\pm$ 0.2	31.4 $\pm$ 0.2	29.8 $\pm$ 0.3	30.6 $\pm$ 0.1
AH, mg/L	9.0 $\pm$ 0.0 ^a	21.0 $\pm$ 0.0 ^b	9.1 $\pm$ 0.3 ^d	21.0 $\pm$ 0.0 ^e
At nasal mucosa				
T, °C	31.0 $\pm$ 1.5	32.5 $\pm$ 1.5	30.0 $\pm$ 2.3	32.7 $\pm$ 0.5
AH, mg/L	22.3 $\pm$ 1.9 ^c	24.3 $\pm$ 2.1	21.0 $\pm$ 2.5 ^f	25.2 $\pm$ 1.2

Table 3. Mean frequency (%) of cough and sleep problems; defined as difficulty falling asleep, waking at night and poor night's sleep, was similar between Dry- NLFO (n=10) and Humidified-NLFO (n=8). ANOVA for repeated measures followed by Bonferroni adjustments, ^a p = 0.041 and ^b p=0.025 vs Baseline and 12 hours, ^c p=0.019 vs 7 and 30 days with no significant differences between Dry and Humidified groups (p=0.391)

	Baseline	12 hours	7 days	30 days	12 months	24 months
• Cough						
Dry-NLFO	50	50	10 ^a	10 ^a	0 ^a	10 ^a
Humidified-NLFO	44	22	11 ^a	0 ^a	0 ^a	11 ^a
• Sleep problems						
Dry-NLFO	63	57	50	50	10 ^{b, c}	20 ^{b, c}
Humidified-NLFO	44	29	26	22	11 ^{b, c}	15 ^{b, c}

Abbreviations: NLFO, nasal low-flow oxygen

able 4. Mean values ($\pm$ SD) of spirometry data and median values (IQR) of number of cells (n) or proportion of cells (%) and cytokines concentrations (pg/mL) obtained in nasal lavage fluid (NLF) of Dry-NLFO and Humidified-NLFO groups. Comparisons were performed with non-parametric two-way ANOVA for repeated measures (^a vs Humidified at the same time-point)

	Baseline		24 months		p-value
	Dry	Humidified	Dry	Humidified	
Spirometry					
FVC, L	1.79 ± 0.34	2.00 ± 0.65	1.36 ± 0.25	1.50 ± 0.69	0.122
FVC pred %	61.2 ± 12.4	55.3 ± 10.7	47.7 ± 15.8	45.8 ± 19.0	0.089
FEV ₁ , L	0.99 ± 0.33	1.22 ± 0.66	0.68 ± 0.11	0.68 ± 0.24	0.061
FEV ₁ pred %	37.2 ± 21.5	36.7 ± 7.2	32.0 ± 12.0	26.8 ± 7.9	0.356
Total n cells.10 ⁻⁶	67 (18)	59 (20)	69 (15.5)	68 (8.5)	0.200
Neutrophils, %	1.5 (3.0) ^a	0.0 (0.5)	2.0 (1.0) ^a	2.0 (1.8)	0.015
Macrophages, %	65.5 (13.0)	63.0 (19.5)	54.0 (21.0)	57.5 (11.0)	0.761
Ciliated cells, %	26.5 (13.0)	35.0 (16.5)	41.0 (20.0)	39.0 (10.5)	0.210
Goblet cells, %	2.0 (0.0) ^a	1.0 (1.0)	2.0 (1.0) ^a	2.0 (1.0)	0.007
Cytokines NLF					
IL-8, pg/mL	112.0 (246.1)	52.4 (59.6)	102.8 (1297.4)	63.7 (24.7)	0.471
IL-10, pg/mL	1.3 (0.2)	1.4 (0.2)	0.9 (0.3)	0.9 (0.2)	0.297
EGF, pg/mL	36.4 (43.2)	25.6 (45.4)	60.9 (59.6)	90.5 (70.1)	0.716

Abbreviations: NLFO, nasal low-flow oxygen, FVC, forced vital capacity, FEV₁, forced expiratory volume in the first second, IL, interleukin, EGF, epidermal growth factor