HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FMRP USP

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E ANATOMIA

DIVISÃO DE CIRURGIA TORÁCICA

RENATA PEREIRA

MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO TRANSPORTE MUCOCILIAR, DO BATIMENTO CILIAR, DAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E DA TRANSPORTABILIDADE DO MUCO

Ribeirão Preto

2011

SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS
FUNDAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO ADMINISTRATIVO – FUNDAP
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Renata Pereira

Métodos de Avaliação do Transporte Mucociliar, do Batimento Ciliar, das Propriedades Reológicas e da Transportabilidade do Muco

Monografia apresentada ao Programa de Aprimoramento Profissional/SES, elaborada no Hospital das Clínicas da FMRP-USP para obtenção do título de aprimoramento em fisioterapia cardio-respiratória, sob a orientação do fisioterapeuta Paulo Eduardo Gomes Ferreira.

Ribeirão Preto

2011

SUMÁRIO

1- RESUMO.....4

2 – INTRODUÇÃO.....5

3 – OBJETIVO.....11

4 – METODOLOGIA.....12

4.1. Tipo de pesquisa

4.2. Local da pesquisa

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....13

5.1. Análise do muco.....13

5.1.1. Microrreômetro magnético.....13

5.1.2. Viscosímetro cone/placa.....14

5.1.3. Viscosímetro capilar.....15

5.1.4. Ângulo de contato.....16

5.2. Métodos de avaliação do transporte mucociliar em modelo experimental.....17

5.2.2. Palato de rã.....17

5.2.3. Traquéia bovina.....20

5.3. Métodos de avaliação do transporte mucociliar em humanos.....23

5.4. Máquina simuladora de tosse.....24

5.5. Métodos de estudo da Frequência de Batimento Ciliar em ex-vivos.....27

6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....28

7 – REFERÊNCIAS.....29

1 - RESUMO:

O transporte mucociliar é o principal mecanismo de defesa das VA**s (**Vias Aéreas) contra agentes agressivos e microorganismos, células ciliadas e células secretoras de muco são seus principais componentes. Há diversos métodos de avaliação do muco, do transporte pelos cílios em modelo experimental e em humanos, transporte pela tosse e avaliação do batimento ciliar, sendo essencial a avaliação de cada componente separadamente para realização de diagnóstico de patologias. O objetivo do presente estudo é a revisão da literatura dos métodos utilizados para avaliação do transporte mucociliar, do batimento ciliar, das propriedades reológicas e da transportabilidade do muco. Para avaliação do muco foi encontrado o uso de microrreômetros magnéticos, reômetros rotacionais, viscosímetros cone-placa e viscosímetro capilar, para avaliação da tensão superficial é utilizado a medida do ângulo de contato. O principal método utilizado para avaliação experimental do transporte mucociliar em animais é o palato de rã, mais recentemente também passou a ser utilizado a traquéia bovina, de rato e outros. O transporte mucociliar em humanos tem como padrão ouro o uso de partículas radioativas, mais recentemente o teste de sacarina passou a ser utilizado, sendo uma técnica mais barata e de mais simples aplicação. O transporte do muco em alta velocidade é avaliado pela máquina simuladora de tosse. O batimento ciliar pode ser avaliado tanto pela técnica videoscópica como videomicroscópica, sendo está ultima mais precisa. O uso das técnicas citadas acima é de fundamental importância para diagnóstico e tratamento de patologias, pesquisa e avaliação da eficácia do tratamento proposto.

2 - INTRODUÇÃO:

A superfície respiratória tem 70 a 80 m^2 aproximadamente, sendo a maior superfície corpórea. Diariamente, em repouso, os pulmões humanos ventilam aproximadamente 10.000 litros de ar, que contém muitas substâncias potencialmente patogênicas às vias aéreas. No entanto, distinguem-se três mecanismos de defesa das vias aéreas: a atividade mucociliar, a atividade fagocitária (realizada pelos macrófagos) e a atividade imunitária (humoral e celular). (TARANTINO, 1990)

O transporte mucociliar é o principal mecanismo de defesa das vias aéreas contra microorganismos e substâncias potencialmente agressivas, mas na superfície respiratória a defesa mais importante cabe aos macrófagos alveolares (TARANTINO, 1990). Células ciliadas e células secretoras de muco são os componentes estruturais da clearance mucociliar. (SALDIVA, 1990)

O trato respiratório é coberto por epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado desde as cavidades nasais até os bronquíolos respiratórios, sendo entremeado por células mucosas, serosas e da Clara, que são responsáveis pela produção de muco (SALDIVA, 1990).

Os cílios estão dispostos paralelamente nas vias aéreas, e são responsáveis pelo transporte do tapete mucoso, apresentando batimento ciliar de movimento pendular em uma seqüência coordenada e unidirecional, resultando em uma onda metacrônica que propele o muco, cujo mecanismo de controle permanece desconhecido. É fortemente influenciado pelas propriedades viscoelásticas e de transportabilidade do muco respiratório. (TARANTINO, 1990)

O batimento ciliar processa-se ao longo das duas fases do muco, sendo que a característica do movimento é diferente em cada uma. Na hipofase sol o movimento realiza-se

de maneira lenta, sendo a fase de recuperação, já que esta é menos densa, onde o cílio volta a sua posição original. Na hipofase gel o movimento é de progressão do muco e de partículas inaladas impactadas no mesmo, é mais rápido do que na fase anterior (AGNER 1991). Quando há espessamento da hipofase sol o muco é desacoplado do aparelho mucociliar, e quando há diminuição da espessura há interferência mecânica na fase de recuperação do cílio após o batimento efetivo (SALDIVA, 1990). O transporte ativo de íons regula a composição e volume do líquido periciliar, deixando o muco mais fluido, e essa regulação permite o máximo de efetividade no transporte das secreções (BOUCHER 1994).

O movimento do fluído periciliar é um estímulo para que se inicie o batimento ciliar, levando a uma movimentação do cílio vizinho e desencadeando uma reação em cadeia (AGNER 1991). Há pelo menos dois diferentes módulos de batimento ciliar: baixa velocidade e alta velocidade (TRINDADE 2007).

O muco tem diversas funções nas vias aéreas, a hidratação, a captação e transporte das partículas inaladas presentes no ar, a depuração biológica (proteínas e enzimas presentes no muco) e a proteção da ação lesiva do oxigênio na mucosa na árvore brônquica, são as principais. (TARANTINO, 1990)

O mesmo é constantemente produzido e renovado, sendo formado por diversas substâncias (enzimas, agentes bactericidas e materiais solubilizantes, etc), mas as mucinas, que são glicoproteínas de alto peso molecular e bastante glicosilada, são as principais.

Estas, apresentam características ora sol e ora gel, sendo responsável pela maior adaptação do muco em situações adversas (VERDUGO, 1990). Há três tipos fundamentais de mucoproteínas as sialomucinas, sulfomucinas e as fucomucinas, a composição bioquímica das mucoproteínas é de fundamental importância para a determinação de maior ou menos viscoelasticidade das secreções, influenciando, portanto, na transportabilidade do muco. (TARANTINO, 1990)

Este comportamento ora sol ora gel é referido como viscoelástico, visto que se comporta de maneira viscosa quando há um transporte mais lento (batimento ciliar) e de maneira elástica quando o transporte é feito mais rápido (tosse e espirro). O que caracteriza o muco como um fluido não-newtoniano, devido a variação do seu comportamento de acordo com a tensão a que é exposto, apresentando características de elemento sólido (elástico) e de elemento líquido (viscoelástico) (MACCHIONE 1995). Portanto, é de grande importância o estudo do muco em estímulos de baixa freqüência (transporte pelos cílios) e de alta freqüência (transporte pela tosse e espirro). (SALDIVA, 1990)

A análise reológica do muco fornece informações sobre essas propriedades viscoelásticas, permitindo a compreensão da função normal e fatores responsáveis por anormalidades nas doenças (TRINDADE 2007, MACCHIONE 1995).

As propriedades reológicas do muco são (MACCHIONE 1995):

- A tixotropia, que é a capacidade de voltar às características iniciais após ter sofrido agitações;
- A espinability que é a coesão das forças internas e a capacidade de formar filos ou filamentos;
- A viscosidade que é a capacidade de deslocamento em dois planos;
- A elasticidade que é a capacidade de se deformar e voltar a forma original.

Além das propriedades reológicas, o muco apresenta outras propriedades físicas que interferem no transporte, como a adesividade, que é a força necessária para a separação entre o fluido adesivo (muco) e a superfície aderente (epitélio respiratório), controlando a eficácia do transporte pela tosse. A w*ettability* é outra propriedade física, que caracteriza a habilidade do fluído de espalhar-se por uma superfície plana, sólida e lisa, e isenta de carga eletrostática, esta é determinada pelo ângulo de contato entre a tangente da interface líquido/ar e o plano

horizontal, que é visualizado com lupa e medido com goniômetro. Quanto menor o ângulo de contato melhor o transporte pela tosse. (TRINDADE 2007, MACCHIONE 1995)

Fatores externos que levam a alteração no transporte mucociliar podem levar ao desenvolvimento de doenças do sistema respiratório, quer por alterações na estrutura dos cílios ou por mudança estrutural do muco (AGNER 1991). A bronquiectasia é um exemplo de patologia que, em muitos casos, é secundária a outras patologias de vias aéreas. Inflamação, diminuição do transporte mucociliar e infecção formam o ciclo vicioso de Peter Cole, que descreve o ciclo patológico da bronquiectasia. (COLE, 1997)

A discinesia ciliar primária é um exemplo de doença genética na qual ocorre uma malformação de proteínas que coordenam o batimento ciliar, o que leva a alterações no transporte do muco pelos cílios, resultando em obstrução crônica do trato respiratório superior e inferior, caracterizada por infecções recorrentes, o que pode levar ao desenvolvimento de bronquiectasia (OLM, 2007). A fibrose cística é uma patologia que também é de origem genética (autossômica recessiva), acometendo principalmente o trato respiratório e pâncreas, devido a alteração no transporte de eletrólitos, principalmente de cloro. No trato respiratório há alteração do transporte mucociliar devido à deficiência na hidratação do muco levando a colonização crônica do trato respiratório inferior. (MATTOZO, 2005)

Muitos fatores interferem no transporte mucociliar, a diabetes mellitus (YUE, 1989), indivíduos HIV positivo (ROSEN, 2005), gestação (ELLEGARD, 2000; PHILPOTT, 2003), ar seco (SALAH, 1988), cirurgia das vias aéreas superiores (YANEZ, 2008), hábito de fumar (STANLEY, 1986), idade (MALLOL, 1999; YADAV, 2001), sexo (MALLOL, 1999), patologias agudas e crônicas das VAs (RUTLAND, 1981), são alguns exemplos.

Houtmeyer et. al. em 1999 cita como variáveis do transporte mucociliar a estrutura ciliar, batimento ciliar, composição e propriedades reológicas do muco respiratório, idade, sexo, postura, sono, exercício físico, gases poluentes e patologias das vias aéreas como asma,

bronquiectasia, bronquite crônica, fibrose cística e a síndrome de Kartagener (HOUTMEYER, 1999).

Quando há processos irritativos das VAs, sendo eles o fumo, infecção bacteriana ou viral, gases irritantes, e etc, há uma modificação na composição do muco. A quantidade de glicoproteínas e as substâncias a ela ligadas são responsáveis por essas alterações, mudando as propriedades viscoelásticas e deixando o muco mais espesso, dificultando a depuração mucociliar. Há também diminuição da proporção de células ciliadas e serosas, aumentando o número de células caliciformes e de secreção mucosa, havendo transformação de células serosas e da Clara em células caliciformes. Isso leva a estase do muco e conseqüentemente à dificuldade de eliminação de microorganismos das VAs, facilitando a instalação de patologias. (SALDIVA, 1990).

Quando isso ocorre, a tosse e o espirro se tornam alternativas para o transporte do muco, já que os cílios apresentam uma menor capacidade de mover o muco purulento. (AGNER 1991, TRINDADE 2007, MACCHIONE 1995)

No estudo realizado por Zanchet et al em 2006, foi demonstrado que o escarro de pacientes portadores de bronquiectasia com presença de bactérias potencialmente patogênicas, apresentou menor transportabilidade pelos cílios (palato de rã) e maior deslocamento pela tosse (máquina simuladora de tosse), comparado ao escarro de portadores de bronquiectasia sem presença de bactérias potencialmente patogênicas nas vias aéreas. A cor do escarro também demonstrou ser uma avaliação importante para a transportabilidade do muco, sendo que secreções mais escuras apresentaram menor velocidade de transporte ciliar e maior deslocamento por tosse, em relação às mais claras. (ZANCHET, 2006)

A fisioterapia respiratória atua nas doenças pulmonares hipersecretivas, promovendo a clearance do muco respiratório com aumento do mecanismo de transporte. (MARTINS 2005, APP 1998)

A purulência do muco piora qualitativamente o perfil reológico do mesmo. No estudo realizado por Martins et. al. em 2005 demonstrou melhora de perfil reológico do muco brônquico após técnicas de fisioterapia respiratória para higiene brônquica, também aumentando quantitativamente a expectoração de secreção traqueobrônquica. (MARTINS 2005)

Baseado no exposto acima, há muitos fatores que influem no transporte mucocilar e na transportabilidade do muco. Portanto, é necessário a adequada avaliação de cada componente individualmente para que se possa identificar a origem da alteração da clearance e o adequado tratamento, assim como o diagnóstico adequado de patologias que levam a alterações no transporte mucociliar ou que decorrem dessas alterações.

Há métodos utilizados para a avaliação do batimento ciliar, das propriedades do muco, do transporte mucociliar, assim como o transporte pela tosse. Sendo métodos de fundamental importância para a avaliação da transportabilidade do muco.

3 - OBJETIVO:

O objetivo do presente estudo é a revisão da literatura dos métodos utilizados para avaliação do transporte mucociliar, do batimento ciliar, das propriedades reológicas e da transportabilidade do muco.

4 - METODOLOGIA:

4.1. Tipo de pesquisa

Tratou-se de uma pesquisa descritiva

4.2. Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP.

Foi realizado pesquisa bibliográfica nas principais bases de dados (Bireme, scielo, cochrane, pubmed), a consulta foi realizada de abril a setembro de 2011, as palavras-chave utilizadas foram: transporte mucociliar, clearance mucociliar, mucociliary clearance, transporte mucociliar nasal, clerance mucociliar nasal, nasal mucociliary clearance, nasal mucociliary transport, palato de rã, frog palate, máquina simuladora de tosse, cough machine, simulated cough, microrreometria magnética, magnetic microrheometer, traquéia bovina, bovine trachea, viscosímetros capilares, reômetros rotacionais e métodos de avaliação do transporte mucociliar.

Os artigos utilizados foram no intervalo de 1968 a 2010, sendo o idioma dos estudos em português, inglês ou espanhol. Foram selecionados 69 artigos e desses, 30 foram utilizados no presente estudos.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise do muco

O método mais utilizado de análise das propriedades reológicas do muco é a técnica de microrreometria magnética, que consiste na vibração de uma micro esfera de metal submersa no muco através de campo magnético de corrente alternada, determinando o tempo entre a aplicação da força e a deformidade sofrida, podendo decompor os resultados em elementos elásticos e plásticos separadamente. (AGNER, 1991; TRINDADE, 2007; MARTINS, 2005; MACCHIONE, 1995; TTENUMA, 1991; GIORDANO, 1978; KING, 1997; MAJIMA 1999).

Viscosímetros capilares, viscosímetros cone-placa e reômetros rotacionais são outras técnicas utilizadas para a análise das propriedades reológicas do muco. (MARTINS, 2005; LIEBERMAN, 1968; DULFANO, 1975; RAMOS, 2003; DENEUVILLE, 1997; SHIBUYA, 2003)

5.1.1. Microrreometria magnética

A técnica de microrreometria magnética desenvolvida por King et al em 1977, da seguinte forma: três bobinas de aproximadamente 500 voltas cada são envolvidas em aço toroid do qual uma área de 2,5mm foi removida. As amostras de muco foram colocadas em um recipiente retangular claro que foi colocado na lacuna do toroid. Uma esfera pequena (diam 50-150 μm) foi inserida no muco, e as amostras foram embebidas em óleo de parafina (viscosidade <1 P, saturado com água) para minimizar evaporação. O magneto e o recipiente foram posicionados no microscópio. Todas as amostras foram realizadas na temperatura da sala (23 ± 2°C). Os volumes das amostras de muco foram tipicamente entre 2-5μl, e as dimensões internas do recipiente foram tipicamente 1,5 mm de largura (direção da movimentação da esfera), 6 mm de comprimento, e 4 mm em altura. As amostras, por causa

da elasticidade, tensão superficial, e tamanho, normalmente se espalha ou derrama muito pouco. Dessa forma as dimensões típicas de 2 μl de amostras eram 1,5 mm de largura, ~1,5 mm de comprimento, e ~1 mm de altura. Para amostras maiores, as duas ultimas dimensões podem ser apropriadamente maiores. (recipiente de comprimento de 1,5 mm era eficaz para amostras pequenas com módulos de baixa elasticidade, o qual poderia tender a deslizar). Cuidado era tomado para posicionar a esfera próximo ao centro da amostra de muco para diminuir as chances de ficar na borda ou no fim. A força magnética é gerada pela passagem de corrente pelas bobinas. A força age sobre a partícula magnética. A força motora magnética tem oposição da viscosidade e da força inercial da partícula e do muco. A imagem da esfera é projetada em uma tela. (KING, 1977)

Quantidade da amostra, e necessidade de várias freqüências vibratórias para avaliação do muco para avaliação adequada da viscoelasticidade do mesmo são alguns fatores limitantes para análise reológica do muco, sendo a técnica de microrreometria magnética mais adequada para essa análise. Sendo o microrreômetro magnético um tipo de elastômetro dinâmico, que funciona a partir do estudo da relação temporal entre deslocamento e força de uma esfera de aço submetida a um campo magnético que oscila em padrão sinusoidal. Neste exame a sombra da esfera é projetada através de um microscópio para duas fotocélulas, que permite obter o deslocamento da esfera de acordo com a força a ela aplicada. É necessário uma pequena quantidade de secreção, somente alguns mililitros, sendo uma vantagem da técnica. A esfera é submersa no centro do muco, e essa esfera é movimentada dentro do muco pela ação de força magnética de caráter sinusoidal. As forças que se opõe a movimentação da esfera são de natureza elástica e viscosa. As forças inerciais são desprezíveis pelo fato de a esfera estar em movimento constante. (SALDIVA, 1990)

5.1.2. Viscosímetro cone-placa

Lieberman em 1968 utilizou um viscosímetro de micro-reologia para avaliação das propriedades reológicas do muco. Para a avaliação do muco é colocado 2 ml de escarro em um Becker previamente marcado com 2 ml, e o escarro é colocado no centro da placa do viscosímetro. A placa do viscosímetro é então conectada ao viscosímetro, e o escarro é deixado em temperatura de 37°C por 2 a 4 minutos sem rotação do cone. Cada amostra é submetida a vários graus de cisalhamento (0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20, 50, e 100 rpm), em ordem ascendente, com 2 minutos de intervalo. Muitas leituras instantâneas foram então realizadas durante os níveis descendentes das rotações do cone. (LIEBERMAN, 1968)

Tem o inconveniente de que ocasionalmente, especialmente com alta viscosidade das amostras mucóides, movimentos erráticos da caneta indicadora indicam que a amostra fica confinada sob o cone, sendo necessário rearranjar o escarro na câmara. (LIEBERMAN, 1968)

5.1.3. Viscosímetro capilar:

No estudo de Ramos et al em 2009 a viscosidade foi analisada por meio de um viscosímetro duplo capilar, constituído por um capilar de aço no interior de um capilar de vidro. O sistema de capilares foi conectado a uma coluna de pressão de água. Na extremidade proximal do capilar de vidro, conectada à coluna de pressão de água, foi depositada uma quantidade de escarro que preenchesse 5 mm do capilar. Com a imposição da pressão no interior do capilar, foram determinados o descolamento do escarro, a pressão, o tempo e o recuo. Com a utilização da equação de Poiseuille ($\eta = \varpi \times r4 \times \Delta P/8 \times l \times Q$; onde η: viscosidade; r: raio do tubo em cm; ΔP: pressão da amostra através do tubo em cmH2O; l: comprimento do tubo em cm; e Q: razão de fluxo volumétrico), obteve-se o valor da viscosidade. Para a análise, foi utilizado o valor médio da viscosidade, que foi obtido por meio da mensuração da viscosidade de cinco amostras do mesmo escarro. (RAMOS, 2009)

5.1.4. Avaliação do ângulo de contato

O ângulo de contato representa a tensão superficial do muco sobre uma superfície plana e sólida. (TAMBASCIO, 2010)

Zanchet et al em 2006 realizou a avaliação do ângulo de contato do muco assim como descrito no estudo de Girod et al, sendo o mesmo analisado imediatamente após a deposição do muco sobre a lâmina. Foram realizadas cinco medidas de ângulo de contato de cada amostra e foi calculada sua média. (ZANCHET, 2006)

Fernandes at al em 2008 realiza a medida do ângulo de contato das amostras de muco foi realizada utilizando-se uma lente ocular com aumento de 25× equipada com um goniômetro com escala de 0 a 180 graus. As amostras foram colocadas sobre lâminas tratadas com ácido sulfocrômico para eliminação das cargas elétricas das mesmas, e o ângulo formado entre a interface ar-líquido e a superfície da lâmina era registrado. (FERNADES, 2008)

Para a medida do ângulo de adesão Ramos at al em 2009 realiza o teste de modo parecido ao descrito por Fernandes et al em 2008, mas este utiliza uma lente com aumento 5x maior. O escarro foi depositado em uma lâmina deionizada, tratada com solução sulfocrômica, e visualizado por meio de uma ocular com goniômetro, com aumento de 20×. O ângulo de contato foi medido em graus, imediatamente após a amostra ser depositada na lâmina e após 5 min. O ângulo formado entre o escarro e a superfície sólida reflete a tensão superficial e a força de adesão do escarro. (RAMOS, 2009)

No estudo de Tambascio et al em 2010, o estudo também é realizado de modo semelhante ao de Ramos et al em 2009 e Fernandes et al em 2008, sendo que este estudo cita estes dois estudos. O ângulo formado entre o muco e a superfície de vidro foi medido com um goniômetro em uma lente com aumento de 20×. A superfície de vidro utilizada para essas análises era tratada com ácido sulfocrômico para a remoção das cargas elétricas. A amostra

era avaliada cinco vezes e utilizou-se a média dessas medidas, realizada em graus. (TAMBASCIO, 2010)

5.2. Análise em modelo experimental do transporte mucociliar

5.2.1. Palato de rã

O palato de rã é um método utilizado para o estudo do transporte mucociliar e interação muco-cílio (TRINDADE 2007, MACCHIONE 1995). É um sistema adequado para estudo do aparelho mucociliar, pois tem um epitélio muito parecido com o das vias aéreas dos mamíferos. (SALDIVA, 1990)

O palato de rã vem sendo utilizado para estudos da atividade mucociliar desde 1948 e em estudos de muco pulmonar nas ultimas 3 décadas. (apud WILLS 1998)

Apresenta a vantagem de ser uma superfície plana passível de observação direto por microscópio. (SALDIVA, 1990)

No estudo de Puchelle et al em 1982 para a preparação tecidual, após ser realizada a dissecção do palato da rã, o mesmo é colocado em uma câmera de plexiglas na qual a temperatura (30 ± 0,5°C) e umidade relativa (100%) permanecem constantes. O palato é depositado sobre um algodão úmido e fixado em um suporte móvel. A câmara é colocada sobre uma mesa de mármore para reduzir a interferência vibracional. O palato é iluminado por uma fibra óptica. Esta fonte de luz fria é para evitar qualquer interferência da radiação de calor, e a sua mobilidade permite obter o ângulo de incidência que fornece a maior intensidade de luz refletida. Para aparato óptico é utilizado um estéreo microscópio equipado com uma objetiva com ampliação de 8X e um tubo de extensão lateral. A ocular lateral apresenta amplificação de 25X. A ampliação total utilizada para a mensuração da freqüência mucociliar foi de 200. Entre a ocular e a objetiva, um diafragma foi colocado consistindo em um disco com abertura central e diâmetro variável (50, 100, e 400□m) permitindo uma

observação de 12.5, 25, e 100m, respectivamente. Variações na intensidade da luz devido ao batimento ciliar foram detectadas por um fotomultiplicador situado na ocular lateral. A sensibilidade espectral do fotomultiplicador (280-920nm com sensibilidade máxima de 550nm) foi similar ao espectro de transmissão da fibra óptica (480-850 nm, transmissão máxima de 650 nm). (PUCHELLE, 1982)

Saldiva em 1990 descreve o método do palato de rã. As rãs são espinaladas e em seguida a região do palato é dissecado. O palato é mantido por 48 horas a 4°C com 100% de umidade, para que o muco seja esgotado pela ação do seu próprio aparelho mucociliar, o muco da rã é coletado para ser utilizado como muco controle. É utilizado cerca de 5 ml de muco para avaliação do transporte pelos cílios. A velocidade do muco é dado em velocidade relativa em comparação com o muco da rã. (SALDIVA, 1990)

No estudo de Zanchet et al em 2006 também foi utilizado o palato de rã. Para cada amostra, utilizaram-se cinco medidas do tempo despendido para as amostras percorrerem 6 mm no palato de rã. A velocidade do muco foi expressa como velocidade relativa, a qual consiste na média da velocidade do muco teste dividida pela média da velocidade do muco da rã, utilizado como controle. Cada amostra de muco era de aproximadamente 2mm. (ZANCHET, 2006)

Assim como nos estudo anteriores, Fernandes et al também utilizou a velocidade relativa (rato/rã) para demonstrar os resultados. (FERNANDES, 2008)

Em estudo realizado por Ramos et. al. em 2009 é descrito que a cada quatro amostras testadas, era realizada uma medida com o muco da rã para o controle da integridade do palato. Resultados expressos em velocidade relativa (velocidade do escarro do paciente / velocidade do mudo endógeno). A mensuração da velocidade relativa do transporte do escarro em palato de rã (velocidade do escarro do paciente/velocidade do muco endógeno), foi avaliada por meio de uma lupa estereoscópica com ocular reticulada, com a utilização de um cronômetro

para a medição do tempo (em segundos) do deslocamento da amostra do escarro em direção cefalocaudal em 10 mm no palato. A cada quatro amostras testadas, foi realizada a medida com o muco da rã para o controle da integridade do palato. (RAMOS, 2009)

Foto de palato de rã retirada do estudo de Fernandes et. al. em 2008.

Em estudo recente de Tambascio et al em 2010 o estudo do transporte pelo palato de rã foi realizado da seguinte maneira:

Rãs (Rana catesbiana) tiveram seus palatos removidos por decapitação, e esses foram mantidos em temperatura de 4°C durante 48 h para a retirada do muco para controle endógeno. Pequenas quantidades de muco dos pacientes eram retiradas do tubo plástico, submersas em éter para a remoção do excesso de vaselina e depositadas em uma região do palato. O deslocamento da amostra era observado com o auxílio de um estereomicroscópio com aumento de 8×, e o tempo de transporte foi registrado com o auxílio de um cronômetro. Os resultados foram expressos em velocidade relativa de transporte, correspondendo à razão entre a média de cinco medidas da velocidade de transporte do muco experimental sobre a velocidade de transporte do muco de rã (média da soma da velocidade do muco de rã inicial e final). (TAMBASCIO, 2010)

A velocidade de TMC nas amostras de muco dos ratos foi comparada com a do muco da própria rã, sendo os resultados, dessa forma, expressos como velocidade relativa (rato/rã). A velocidade de TMC foi monitorada pela observação direta de partículas de carbono

depositadas sobre a camada de muco da região distal de cada brônquio utilizando-se um estereomicroscópio com ocular reticulada. (FERNANDES, 2008)

Nos estudos realizados com palato de rã citados há variações nas temperaturas de conservação, sendo que somente no estudos de Saldiva em 1990 e Tambascio em 2009 (T= 4°C) e de Puchelle em 1982 (T≅30ºC), expressaram a temperatura utilizada, mas a variação é de aproximadamente 26°C. Mas apesar dessa diferença, o método utilizado para avaliação do transporte no palato de rã não apresentou grandes alterações ao longo dos anos, apesar de haver falha nos estudos quanto a descrição dos métodos detalhadamente, como por exemplo, na maioria dos artigos não é descrito como as rãs são sacrificadas.

5.2.2. Traquéia Bovina:

A traquéia bovina é um estudo mais recente utilizado como método de avaliação do transporte mucociliar em modelo experimental animal, utilizando a traquéia de boi como substitutivo ao palato de rã, o método de referência de avaliação em ex-vivo do transporte mucociliar. Sendo inicialmente descrito no estudo de Wills et al em 1995. A traquéia bovina foi obtida com 4 horas de morte, dissecada em pedaços de 8x3 cm, e colocada em tampão de fosfato salino (pH7,4) a 4°C. O epitélio não foi removido dos anéis traqueais. As preparações podem ser estocadas por 4 dias sem diminuir a viabilidades. A depleção do muco é mais eficientemente realizada da seguinte maneira. O epitélio foi encubado por toda a noite a 37°C em uma cápsula de imã média contendo solução de antibiótico-antimicótico. Exposição do tecido no ar ajudou, e isso foi melhor executado sem dissecação pela colocação do lado epitelial para baixo no intermediário, somente em uma profundidade o suficiente para submergir a margem, e gentilmente agitar o recipiente. Uma quantidade considerável de muco de traquéia bovina colhido da porção cranial e do fim e foi utilizado nos ensaios como controle endógeno de escarro comparado a outras amostras de muco. Em seguida, a traquéia

foi colocada em uma câmara aquecida para manter a temperatura epitelial entre 35 e 37°C. Aproximadamente 0,5 ml de traquéia umedecida com solução salina de fosfato (PBS), foi aplicada repetidamente na extremidade caudal do tecido, permitindo que a traquéia transporte isso cranialmente. Esse processo precisou ser repetido 50 vezes, um processo durando 2 horas antes do estado de depleção do muco ser alcançado. Esse cuidado foi fornecido mantendo a traquéia úmida e capaz de realizar o transporte de 20 a 50 mm/min por muitas horas. Menos viabilidade foi aparente em velocidades menores do transporte pela traquéia bovina. (WILLS, 1995)

A transportabilidade do muco expectorado entre 35 e 37°C foi mensurado pela aplicação de 20 a 50 μl de amostra perto da porção caudal, permitindo um tempo de 1 minuto, gravando a distância percorrida a cada 15 segundos. Uma partícula de 1 mm^2 de alumínio foi aplicado na ponta do muco, e o seu progresso mensurado a cada 15 segundos de intervalo a olho nu usando uma escala milimétrica. Um gráfico foi construído, e o resultado foi expresso em porcentagem de velocidade média de traquéia bovina mensurado antes e depois da medição do escarro. Esse dados foram chamados de índice de transporte (IT). Por exemplo, uma amostra com IT de 25 foi transportada em um quarto da velocidade da traquéia bovina. O muco viaja em uma velocidade constante ao longo da traquéia exceto em 1 cm do corte final onde é mais lento; portanto, as mensurações não foram realizadas nessa região. Após cada medida, o escarro foi removido do tecido pela inundação com PBS aquecido e absorvido o excesso de muco e de líquido com um papel de tecido. Esse procedimento também serve para manter o epitélio hidratado. (WILLS, 1995)

Wills et al em 1998 também utilizou a traquéia bovina como descrito previamente por Wills et al em 1995. A transportabilidade do muco foi mensurada a 37°C na traquéia bovina depletada de muco. A depleção do muco endógeno foi feita pela prolongada exposição de ar, mas mantido com solução salina de fosfato (PBS), seguido pela repetição da aplicação de 0,5

mL de muco traqueal bovino. A traquéia foi considerada depletada de muco quando já não transportava pequenas partículas de metal. A velocidade de transporte das amostras de escarro ou muco traqueal bovino foram mensurados pela colocação de aproximadamente 50 μL na porção final e gravado a distancia percorrida em um intervalo de 15 segundos observando a olho nu. A velocidade de transporte foi deduzida de pelo menos 4 pontos de dados. (WILLS, 1998)

Artigos posteriores realizam o método da mesma maneira proposta desde 1995, assim como nos estudos de Wills e Cole em 1998, Wills et al em 1997 e Shibuya et al em 2001, mais atuais.

WILLS et al. em 1995 desenvolveu mamíferos alternativos ao uso do palato de rã, usando traquéia bovina depletada do muco endógeno para repetir a passagem do muco. Embora a preparação bovina pareça ser mais trabalhosa do que a tradicional de palato de rã, a qual não requer tratamento para a retirada do muco, WILLS et al. 1995 usou essa preparação como vantagem na monitorização do efeito do tratamento in vitro do muco com salcomo um potencial mucolítico terapêutico. Embora o palato de rã requeira somente microlitros de volume de muco, esse teste deve ser interpretado com cuidado em experimentos onde há resíduos no muco pode causar alterações na atividade ciliar do palato da rã e invalidar a suposição básica de que a atividade ciliar está normal. Na realidade, pela observação da clearance do muco coletado da rã ou na preparação padrão de muco, pode-se monitorar o efeito de drogas na ação ciliar do palato de rã, desde que variações na velocidade da clearance possa, neste caso, ser atribuída a atividade ciliar. Quando utilizado fresco, depois da depleção do muco endógeno (com 3 horas de excisão em temperatura ambiente), o palato de rã é um excelente modelo pra estudo de todas as variáveis relevantes do transporte mucociliar, especialmente na velocidade de secreção do muco, na reologia do muco, na freqüência de batimento ciliar, transepitelial, e a velocidade linear do muco. Nós temos usado o palato

excisado fresco em muitos estudos recentes, envolvendo alterações do íon epitelial em transporte de água com amilorida e trifosfato de uridina (UTP), e o efeito do surfactante pulmonar artificial. Traquéias de mamíferos podem ser também usados como um modelo integrado de sistemas para o transporte mucociliar. Gerber et al recentemente desenvolveu um estudo com traquéia de cavalo, que mensurou concomitantemente o transporte de partícula, freqüência de batimento ciliar, e classificação do muco foram realizados. Também em animais menores como rato, é possível realizar estudos integrados da função mucociliar. (WILLS, 1998)

5.3. Análise do transporte mucociliar em humanos

Nas décadas de 30 e 40 Hilding e Tremble, respectivamente, usaram corantes, colocando-os nas vias aéreas superiores e marcando o tempo até que fosse observada a coloração na orofaringe, para a mensuração do transporte do muco pelos cílios. (Apud TRINDADE 2007)

O radioaerossol é uma técnica mais recente utilizada para a mensuração do transporte mucociliar, e é mais precisa, já que a anterior era necessário a observação do corante na orofaringe. Mas é uma técnica mais cara de ser aplicada e necessita de equipamento específico. É baseado na inalação de partículas marcadas radioativamente, que impactam nas vias aéreas mais calibrosas e posteriormente faz-se a contagem das partículas e do tempo de clearance. (AGNER 1991)

Em 1984 Martins desenvolveu a técnica de estroboscopia, mas não teve muita aplicabilidade devido a dificuldade de manuseio do equipamento. (apud TRINDADE 2007)

O teste de sacarina foi originalmente descrito por Andersen et al em 1974, tendo como propósito a medida da velocidade do transporte mucociliar nasal. O teste é realizado colocando-se uma partícula de sacarina de aproximadamente 1 mm de diâmetro, sobre a superfície superior do corneto inferior de uma narina, o voluntário é instruído a engolir a cada

30 segundos e a avisar assim que perceber o gosto doce da sacarina. È medido com um cronômetro o tempo desde a colocação da sacarina nas fossas nasais, até que o paciente refira a sensação do gosto doce da sacarina, a distância do topo nasal até a nasofaringe posterior é mensurada com uma sonda, e assim, calculada a velocidade média de transporte. Em 1981 o teste foi modificado por Rutland e Cole em 1981, sendo que a modificação consiste em não instruir o paciente a engolir freqüentemente e a não mensurar a distância do topo da junção mucocutânea nasal até a nasofaringe posterior, sendo expresso o tempo da depuração mucociliar nasal. Na descrição de Rizzo em 1994 o teste é feito nas duas narinas, que tem a vantagem de se obter o tempo de transporte mucociliar da narina mais efetiva, já que pode haver diferença entre uma e outra narina de um mesmo individuo.

O teste de sacarina tem a vantagem de ser um teste barato, simples, reprodutível, não invasivo e tem os valores comparáveis aos testes que utilizam radioisótopos (ANDERSEN 1974; ANDERSEN, 1974).

Segundo estudos feitos por Rutland e cols (1982), não há diferença significativa na freqüência de batimento ciliar do nariz, traquéia e lobo inferior dos brônquios. Sendo assim a medida do transporte nasal têm uma correlação com o transporte das vias aéreas inferiores.

Embora o teste de sacarina represente a avaliação do transporte mucociliar de vias aéreas superiores, estudos prévios demonstraram correlação positiva entre a *clearance* de vias aéreas superiores e de vias aéreas inferiores, avaliado com a utilização de marcadores como radioisótopos. (ANDERSEN 1974; ANDERSEN, 1974).

5.4. Transporte pela tosse em máquina simuladora de tosse

A máquina simuladora de tosse é um exemplo de modelo experimental que foi desenvolvida por King et al em 1985 e é utilizada para a avaliação do transporte do muco pela tosse.

O sistema é composto por 6 elementos: um tanque de plexiglas de 8 litros equipado com manômetro de pressão servindo como um reservatório de gás pressurizado e simulando a capacidade funcional dos pulmões e das pequenas vias aéreas. A liberação de gás e controlada por uma válvula solenóide localizada no início da linha de saída. Um dispositivo constritivo foi anexado à saída da válvula solenóide. Que é composto por um tubo de borracha curto no qual o número e tamanho foram ajustados para tornar o fluxo e o tempo da maquina de tosse comparáveis com os da tosse humana. Dois dispositivos foram empregados, um de baixa resistência outro de alta resistência. Um pneomotacógrafo conectado imediatamente na frente da entrada do modelo de traquéia. A queda de pressão ao longo da porção final dos 30 centímetros do modelo de traquéia foi mensurado com um transdutor de pressão. Foi utilizado muco sintético para avaliação da eficácia da máquina simuladora de tosse para simular tosse. O muco sintético é um gel com propriedades reológicas similares ao muco respiratório que foi preparado com goma de alfarroba (LBG) ligado ao tetraborato de sódio ($Na_2B_4O_7$). Os géis eram preparados diariamente pela dissolução de LBG em uma apropriada quantidade de água destilada fervida. Após o resfriamento da temperatura da sala, a calha era coberta por um volume de solução de LBG calculada para dar a profundidade final desejada. Foi então adicionado à solução de LGB gotas de solução de borato com a pipeta de Pasteur. A concentração final de LGB foi de 0.4 a 2% wt/vol e de $Na_2B_4O_7$ de 1 a 3 mM. As propriedades viscoelásticas dos géis de LBG foram determinadas utilizando a técnica de microrreometria magnética, como anteriormente citado. (KING, 1985)

O modelo de traquéia apresenta 35 centímetros de comprimento com um interior de 2 centímetro de largura e 1 de altura. Isso foi construído com plexiglas claro e rígido. O fundo e

as laterais foram colados com solvente formando um tubo sólido em forma de U. O topo não foi colado, mas foi fixado com braçadeiras em C durantes os ensaios experimentais, permitindo fácil acesso para o revestimento da camada de muco e limpeza, mantendo uma vedação hermética. A secção transversal retangular foi escolhida para permitir um revestimento uniforme da camada de gel, que no caso de um tubo redondo o gel tenderia a fluir para o fundo. A relação entre fluxo constante e pressão foram qualitativamente similar àqueles relatados previamente, especificamente a duração elevada da queda de pressão (P) durante o alto fluxo (3 L/s) associado com a formação de ondas na camada de gel. (KING, 1985)

Mensuração da clearance: pequenas (0.7 mm) partículas esféricas e insolúveis compostas primariamente de amido foram utilizadas para determinar a clearance. As partículas eram grandes o suficiente para serem vistas prontamente, mas pequenas o suficiente para permitir a adequada flutuação na camada de muco. Para cada mensuração da clearance, um punhado de 6-10 partículas foram colocadas na camada de muco ao longo de uma linha perpendicular ao longo do eixo principal do tubo. A posição inicial e final marcada foi determinada visualmente e gravada direto no tubo. A clearance foi quantificada determinando o deslocamento liquido das partículas por manobra de tosse. Na maioria dos experimentos somente a mediana do deslocamento das partículas foi determinado, isso foi definido como o índice de clearance (CI) em centímetros. Em 10 experimentos, 2 corridas cada, a média do deslocamento das partículas foi também determinado. (KING, 1985)

Os estudos realizado Ramos at al em 2009 e Tambascio at al em 2010 também utilizaram a máquina simuladora de tosse, assim como o método descrito por King et al em 1985 descrito acima.

Já o estudo de Zanchet et al em 2006 o método utilizado é o modificado por Gastaldi et al, apresentando as seguintes características: pressão do oxigênio de 4,2 kgf/cm2; tempo de

abertura da válvula solenóide de um segundo; tubo cilíndrico de acrílico com 4 mm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento. Para cada amostra de muco foram realizadas cinco medidas de deslocamento. (ZANCHET, 2006)

É importante a avaliação da transportabilidade do muco sob grandes velocidades, já que no caso de patologias, em que há diminuição do transporte do muco pelos cílios, o espirro e a tosse são mais efetivos para o transporte do muco.

5.5. Métodos de estudo da Frequência de Batimento Ciliar em ex-vivos:

A técnica videoscópica, consiste na colocação de uma luz estroboscópica no tecido retirado e, por controle manual define-se a freqüência em que os disparos e o batimento ciliar tornam-se idênticos (TRINDADE, 2007).

A técnica de videomicroscopia é realizada fazendo-se gravações de microscopias ópticas de fragmento de epitélio ciliado, com câmaras de vídeo de alta velocidade. Obtêm-se centenas de poses por segundo e é mensurado a freqüência de batimento ciliar e verificado o padrão de batimento em diversas alterações do axonema ciliar, possibilitando o diagnóstico de discinesia ciliar. É o método de análise da freqüência de batimento ciliar mais confiável, já que detecta alterações no padrão de batimento ciliar que a técnica videoscópica não detecta. (TRINDADE, 2007)

6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Como o transporte mucociliar é o principal mecanismo de defesa das VAS é de fundamental importância o conhecimento de seus componentes separadamente. Tanto patologias levam a alterações do transporte, como essas alterações podem levar ao desenvolvimento de patologias. Dessa forma, o adequado diagnóstico de alterações em cada componente do transporte é substancial para o diagnóstico e tratamento de patologias.

O uso das técnicas descritas acima é de grande importância também para o desenvolvimento de pesquisas que aprofundem os conhecimentos sobre transporte mucociliar, transportabilidade do muco e seus componentes. Assim como para pesquisas que avaliem a eficácia de técnicas de fisioterapia respiratória para higiene brônquica, sendo a prevenção e tratamento da estase de secreção nas VAs um dos grandes focos de atuação da fisioterapia respiratória.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AGNER C, SOUZA CRS, BAKHIT S, SALDIVA PHN. Transporte mucociliar: implicações clínicas e métodos de estudo. Rev. Med. (São Paulo); 70 (1): 24-27, jan./abr. 1991.

ANDERSEN I, LUNDQVIST G, PROCTOR DF. Human Nasal Function in a Controlled Climate. Archs Envir Hlth; 23(6): 408-20, 1971.

ANDERSEN I, CAMNER P, JENSEN PL, PHILIPSON K, PROCTOR DF. A comparison of nasal and tracheobronchial clearance. Arch Environ Health; 29: 290-3, 1974.

ANDERSEN I, CAMNER P, JENSEN PL, PHILIPSON K, PROCTOR DF. Nasal clearance in monozygotic twins. Am Rev respir Dis; 110: 301-5, 1974.

APP EM, KIESELMANN R, REINHARDT D, LINDEMANN H, DASGUPTA B. Sputum rheology changes in cystic fibrosis lung disease following two different types of physiotherapy: flutter vs autogenic drainage. Chest; 114: 171-177, 1998.

BOUCHER RC. Human airway ion transport. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; 150: 271-281, 1994.

COHEN NA. Sinonasal mucociliary clearance in health and disease. Annals of Otology, Rhinology & Laryngology; 115 (9) suppl 196: 20-26, 2006.

COLE P. The damaging role of bacteria in chronic lung infection. Journal of Antimicrobial Chemotherapy; **40**(Suppl. A): 5–10, 1997.

DENEUVILLE E, PERROT-MINOT C, PENNAFORTE F, ROUSSEY M. Revisited physicochemical and transport properties of respiratory mucus in genotyped cystic fibrosis patients. Am J respir Crit Care Med; 156: 166-172, 1997.

DULFANO MJ, ADLER KB. Physical properties of sputum. VII. Rheologic properties and mucociliary transport. Am Rev Respir Dis; 112: 314-347, 1975.

ELLEGARD EK, KARISSON NG. Nasal mucociliary transport in pregnancy. Am J Rinol; 14(6): 375-378, nov-dec 2000.

FERNANDES PMP, SAID MM, PAZETTI R, MOREIRA LFP, JATENE FB. Efeitos da azatioprina sobre a depuração mucociliar após secção e anastomose brônquica em um modelo experimental em ratos. J Bras Pneumol.; 34(5):273-279, 2008.

GIORDANO AM, HOSCLAW D, LITT M. Mucus rheology and mucociliary clearance: normal physiologic state. Am Rev Respir Dis; 118: 245-250, 1978.

GIROL S, ZAHN JM, PLOTKOWSKI C, BECK G & PUCHELLE E. Role of the physicochemical properties of mucus in the protection of respiratory epithelium. European Respiratory Journal; 5 : 477-487, 1992.

HILDING A. Ciliary Activity and Course of Secretion Currents in the Nose. Proc Mayo Clin; 6: 825, 1931.

HOUTMEYERS E, GOSSELILINK, GAYAN-RAMIREZ G, DECRAMER M. Regulation of mucociliary clearance in health and disease. Eur Respir J; 13: 1177-88, 1999.

JAFEK BW, DENVER CO. Ultrastructure of human nasal mucosa. Laringoscopy; 93: 1576-1599, december 1983.

KING M, BROCK G, LUNDELL C. Clearance of mucus by simulated cough. J. Appl. Physiol.; 58(6): 1776-1782, 1985.

KING M, DASGUPTA B, TOMKIEWICZ RP, BROWN NE. Rheology of cystic fibrosis sputum after in vitro treatment with hypertonic saline alone and in combination with recombinant human deoxyribonuclease I. Am J Respir Crit Care Med; 156: 173-177, 1997.

LIEBERMAN J. Measurement of sputum viscosity in a cone-palate viscometer. I. Characteristics of sputum viscosity. Am Rev Respir Dis; 97: 654-661, 1968.

LORENZI G BÖRHM GM, GUIMARÃES ET, COSTA VAZ MA, KING M & SALDIVA PHN. Correlations between rheological properties and in vitro ciliary transport of rat nasal mucus. Biorheology; 29: 433-440, 1992.

MACCHIONE M, GUIMARÃES ET, SALDIVA PHN, LORENZI-FILHO G. Methods for studying respiratory mucus and mucus clearance. Braz. J Med Biol Res; 28 (11-12): 1347-1355, 1995.

MAJIMA Y, HARADA T, SHIMIZU T, TAKEUCHI K, SAKAKURA Y. Effect of biochemical components on rheologic properties of nasal mucus in chronic sinusits. Respir Crit care Med; 160(2): 421-426, 1999.

MALLOL J, OVALLE R, ESPEJO L. Tiempo de tránsito nasal de sacarina em escolares sanos. Bol Med Hosp Infant Mex; 56(7): 381-385, jul 1999.

MARTINS ALP, JAMAMI ME, COSTA D. Estudo das propiedades reológicas do muco brônquico de pacientes submetidos a técnica de fisoterapia respiratória. Rev. Bras. Fisioter. Vol 9(1): 33-39, 2005.

MARTINS ALP, JAMAMI M, COSTA D. Estudo das propriedades reológicas do muco brônquico de pacientes submetidos a técnicas de fisioterapia respiratória. Rev. Bras. Fisioter.; 9 (1): 33-39, 2005.

MATTOZO M, SOUZA LC. Triagem Neonatal em Santa Catarina: relato Histórico, aspetos fisiopatológicos e métodos de análise realizados pelo Laboratório Central da Secretaria de Saúde do Estado. Newslab; 68: 84-102, 2005.

OLM MNK, ADDE FV, SILVA FILHO LVF, RODRIGUES JC. Discinesia ciliar primária: quando o pediatra deve suspeitar e como diagnosticar? Rev Paul Pediatr; 25(4): 371-6, 2007.

PHILPOTT CM, CONBOY P, AL-AZZAWI F, MURTY G. Nasal physiological changes during pregnancy. Clin Otolaryngol; 29: 343-351, 2004.

PUCHELLE F, ZAHN SADOUL P. Mucociliary frequency of frog palate epithelium. Am J Physiol; 242: 31-5, 1990.

RAMOS EMC, RAMOS D, JARDIM JRB, FARESIN SM, SALDIVA PH. Drenagem postural x tapotagem x técnica de expiração forçada: análise da transportabilidade do muco brônquico. Rev Bras Fisiot; 7(3): 223-228, 2003.

RAMOS EMC, RAMOS D, IYOMASA DM, MOREIRA GL, MELEGATI KCT, VANDERLEI LCM, JARDIM JR, OLIVEIRA AS. Influência da técnica de pressão expiratória positiva oscilante utilizando pressões expiratórias pré-determinadas na viscosidade e na transportabilidade do escarro em pacientes com bronquiectasia. J Bras Pneumol. ;35(12):1190-1197, 2009.

RUBIN BK, RAMIREZ O, KING M. Mucus-depleted frog palate as a model for the study of mucociliary clearance. J Appl Physiol; 69: 424-9, 1990.

RUTLAND J, COLE PJ. Nasal mucociliary clearance and ciliary beat frequency in cystic fibrosis compared with sinusitis and bronchiectasis. Thorax; 36: 654-658, 1981.

RUTLAND J, GRINFFIN WM, COLE PJ. Human Ciliary Beat Frequency in Epithelium from Intrathoracic and Extrathoracic Airways. Am Rev Respir Dis; 125:100-105, 1982.

SALAH B, XUAN AT, FOUILLADIEU JL, LOCKHART A, REGNARD J. Nasal mucociliary transport in health subjects is slow when breathing dry air. Eur Resp J; 1: 852-855, 1988.

SALDIVA PHN. Aparelho mucociliar: aspectos funcionais e métodos de estudo. Jornal de Pneumologia; 16(3): 161-170, 1990.

SHIBUYA Y, WILLS PJ, COLE PJ. The Effect of Erythromycin on Mucociliary Transportability and Rheology of Cystic Fibrosis and Bronchiectasis Sputum. Respiration; 68:615–619, 2001.

SHIBUYA Y, WILLS PJ, COLE PJ. Effect of osmolarity on mucociliary transportability and rheology of cystic fibrosis and bronchiectasis sputum. Respiratory; 8: 181-185, 2003.

SPINA D, GOLDIE RG. Contractile properties of synthetic cationic polypeptides in guinea-pig isolated trachea. Br. J. Pharmacol.; 111:29-34, 1994.

STANLEY PJ, WILSON R, GREENSTONE MA, MACWILLIAM L, COLE PJ. Effect of cigarette smoking on nasal mucociliary clearance and ciliary beat frequency. Thorax; 41:519-523, 1986.

TAMBASCIO J, LISBOA RM, PASSARELLI RCV, MARTINEZ JAB, GASTALDI AC. Adesividade e purulência de secreções respiratórias: implicações no transporte mucociliar em pacientes com bronquiectasias. J Bras Pneumol.;36(5):545-553, 2010.

TARANTINO, AB. Doenças Pulmonares. O pulmão como órgão de defesa. Vol 3, Cap 8, pp 108-113, 1990.

TREMBLE GE. Clinical Observations in The Movement of Nasal Cilia. A Experimental Study. Laryngoscope; 58: 206, 1948.

TRINDADE SHK, MELLO JÚNIOR JF, MION OG, LORENZI-FILHO G, MACCHIONE M, GUIMARÃES ET, SALDIVA PHN. Métodos de estudo do transporte mucociliar. Rev. Bras. Otorrinolaringol.; 73 (5): 704-12, set./out. 2007.

TTENUMA Y, YASUOKA S, OGURA T. Relationship between dynamic viscoelasticity and biochemical parameters in whole sputum from patients with hypersecretory respiratory diseases. Tokushima J Exp Med; 38: 49-59, 1991.

VERDUGO P. Goblet cells secretion and mucogenesis. Annu Rev Physiol; 52: 157-76, 1990.

WILLS PJ, SUAREZ MJG, RUTMAN A, WILSON R, COLE PJ. The ciliary transportability of sputum is slow on the mucus-depletes bovine trachea. Am J respire Crit Care Med; 151: 1255-1258, 1995.

WILLS PJ, PRITCHARD K, COLE PJ. Mucus transportability: the bovine trachea and frog palate models compared. Eur Respir J; 12: 837–841, 1998.

YADAV J, RANGA RK, SINGH J, GATHWALA G. Nasal mucociliary clearance in health children in a tropical country. Inter J Ped Otorhinolaryngol; 57: 21-24, 2001.

YANEZ C, MORA N. Inferior turbinate debriding technique: ten-year results. Otolaryngol Head Neck Surg; 138: 170-175, 2008.

YUE WL. Nasal mucociliary clearance in patients with diabetes mellitus. J Laryngol Otol; 103: 853-855, 1989.

ZANCHET RC, MAGALHÃES AC, CORREIA AF, FEIJÓ G. A influência de bactérias patogênicas na transportabilidade do escarro e na qualidade de vida de portadores de bronquiectasia. Rev. bras. fisioter., São Carlos, v. 10, n. 4, p. 457-463, out./dez. 2006