

LUCIANA MAZOTI LOPES DA FONSECA

**Qualidade de vida, qualidade de sono, transporte mucociliar,
citocinas inflamatórias e endotipos na rinite alérgica e na
rinossinusite crônica**

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

Programa de Otorrinolaringologia

Orientador: Prof. Dr. Richard Louis
Voegels

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Fonseca, Luciana Mazoti Lopes da
Qualidade de vida, qualidade de sono, transporte
mucociliar, citocinas inflamatórias e endotipos na
rinite alérgica e na rinossinusite crônica / Luciana
Mazoti Lopes da Fonseca. -- São Paulo, 2018.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Otorrinolaringologia.
Orientador: Richard Louis Voegels.

Descritores: 1.Sinusite 2.Rinite 3.Obstrução
nasal 4.Sono 5.Interleucina-4 6.Interleucina-5
7.Interleucina-8 8.Interleucina-17 9.Interleucina-
22 10.Interferon gama

USP/FM/DBD-398/18

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Aos meus pais, Leonildo e Marcia, pelo amor, pelo incentivo e por todo o apoio nas horas fáceis e nas não tão simples assim.

Ao meu amado Fabricio, esposo querido, melhor amigo e revisor mais crítico, pela paciência, pela dedicação e pelo companheirismo.

A minha pequena Mariana, que me mostra, a cada dia, a doçura da redescoberta do mundo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre e em primeiro lugar.

Ao Prof. Dr. Richard Louis Voegels, pelo auxílio e pela orientação.

À Profa. Dra. Naomi Kondo Nakagawa, pelos ensinamentos e pela disponibilidade constante.

Ao meu irmão Marcos, pelo amor e pela amizade.

Aos meus cunhados, Priscilla, Nilson, Carla e Petrúcio, por todo apoio.

Aos meus sogros, Eunirde e Nilson, pelo amor e carinho.

Aos meus sobrinhos João Pedro, Ana Letícia, Luis Felipe, Luiza e Laura, por todos os momentos de alegria.

Ao Dr. Fabio de Rezende Pinna, pelo auxílio para que este estudo se concretizasse.

Ao Prof. Dr. Paulo Hilário Nascimento Saldiva, titular do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP no início deste trabalho, por tornar possível sua realização.

Aos meus amigos queridos, que, de uma forma ou de outra, sempre estiveram presentes, pela ajuda e pelo apoio sempre.

Ao pacientes, que, com todos os contratemplos, participaram deste estudo, e sem os quais nada seria possível.

“Cientista é aquele que, à luz da experiência, descobriu o caminho que conduz às verdades profundas da vida e que, de alguma forma, desvela-lhe os segredos fascinantes”.
(Maria Montessori)

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese 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 SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO	2
2	OBJETIVOS.....	6
2.1	Objetivo primário.....	6
2.2	Objetivos secundários.....	6
3	REVISÃO DA LITERATURA	8
3.1	Fisiopatologia.....	10
3.2	Etiologia e patogenia da rinosinusite crônica	11
3.3	Fenótipos da rinosinusite crônica	14
3.4	Expressão de citocinas e endotipos na rinosinusite crônica ..	14
3.5	Endotipos na rinite alérgica	16
3.6	Divisão em endotipos e o tratamento da RSC	17
3.7	Biomarcadores e tratamento.....	18
4	PACIENTES E MÉTODOS	21
4.1	Pacientes.....	21
4.2	Métodos	22
4.2.1	Questionários	23
4.2.2	Endoscopia nasal.....	24
4.2.3	Tomografia computadorizada	25
4.2.4	Coleta do material	25
4.2.5	Análise das citocinas.....	28
4.3	Análise estatística	30
5	RESULTADOS.....	32
6	DISCUSSÃO	56
7	CONCLUSÕES	62

8	ANEXOS	64
8.1	ANEXO A – Termos de Consentimento Livre e Esclarecido	64
8.2	ANEXO B – Ficha dos pacientes	72
8.3	ANEXO C - 20-Item Sino-Nasal <i>Outcome Test</i> em Português (SNOT-20p)	74
8.4	ANEXO D - <i>Nasal Obstruction Symptom Evaluation</i> (NOSE)	75
8.5	ANEXO E - Índice de Qualidade do Sono de <i>Pittsburgh</i> (PSQI-BR)	76
8.6	ANEXO F – Questionário ECRHS	78
8.7	ANEXO G - Endoscopia nasal (Escore de <i>Lund-Kennedy</i> modificado)	80
8.8	ANEXO H – Escore tomográfico de <i>Lund-Mackay</i>	81
9	REFERÊNCIAS	83

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

µg	Microgramas
µl	Microlitro
AAS	Ácido Acetilsalicílico
Bpm	Batimentos por minuto
CO	Monóxido de carbono
ECRHS	<i>European Community Respiratory Health Survey</i>
EPOS	<i>European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps</i>
GA2LEN	<i>Global Allergy and Asthma Network of Excellence</i>
IFN α	Interferon alfa
IFN β	Interferon beta
IFN γ	Interferon gama
IgE	Imunoglobulina E
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-13	Interleucina 13
IL-17	Interleucina 17
IL-18	Interleucina 18
IL-22	Interleucina 22
IL-25	Interleucina 25
IL-33	Interleucina 33
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-9	Interleucina 9
ILC2	Célula linfoide inata tipo 2

ILCs	Células linfoides inatas (<i>Innate lymphoid cells</i>)
lpm	Incursões por minutos
ml	Mililitro
mmHg	Milímetros de mercúrio
NOSE	<i>Nasal Obstruction Symptom Evaluation</i>
°C	Graus Celsius
ppm	Partes por milhão
PSQI-BR	Índice de Qualidade do Sono de <i>Pittsburgh</i> (<i>Pittsburgh Sleep Quality Index</i>)
RA	Rinite Alérgica
Rpm	Rotações por minuto
RSC	Rinossinusite Crônica
SNOT-20p	<i>20-Item Sino-Nasal Outcome Teste</i>
TGF- β	Fator de Transformação do Crescimento Beta (<i>Transforming Growth Factor Beta</i>)
Th	Linfócito T <i>helper</i>
Th1	Linfócito T <i>helper</i> 1
Th17	Linfócito T <i>helper</i> 17
Th2	Linfócito T <i>helper</i> 2
Th21	Linfócito T <i>helper</i> 21
Th9	Linfócito T <i>helper</i> 9
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa (<i>tumor necrosis factor alpha</i>)
TC	Tomografia computadorizada
Treg	Linfócito T regulador

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Comparação dos grupos quanto ao escore total do SNOT-20p.....	34
Gráfico 2 - Comparação dos grupos quanto ao escore total do NOSE	36
Gráfico 3 - Comparação dos grupos quanto ao escore de endoscopia nasal	38
Gráfico 4 - Comparação dos grupos RSCCP e RSCSP quanto ao escore de <i>Lund-Mackay</i>	39
Gráfico 5 - Comparação do tempo total do Teste da Sacarina.....	42
Gráfico 6 - Comparação dos valores de pH do lavado nasal.....	43
Gráfico 7 - Comparação da contagem de células totais	45
Gráfico 8 - Comparação IL-5 do lavado nasal	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Distribuição dos grupos quanto à faixa etária	32
Tabela 2	- Distribuição dos grupos quanto ao sexo	33
Tabela 3	- Pacientes portadores de asma e intolerância a AAS e/ou AINH	33
Tabela 4	- Escore total do SNOT-20p (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	34
Tabela 5	- Cinco sintomas mais importantes conforme citação dos pacientes (Teste Exato de <i>Fisher</i>)	35
Tabela 6	- Comparação do escore do NOSE (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	35
Tabela 7	- Análise descritiva do PSQI-BR	36
Tabela 8	- Associação PSQI-BR (Teste Exato de <i>Fisher</i>).....	37
Tabela 9	- Associação <i>ECRHS</i> (Teste Exato de <i>Fisher</i>).....	37
Tabela 10	- Comparação do escore de endoscopia nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	37
Tabela 11	- Comparação do escore tomográfico de <i>Lund-Mackay</i> (Teste de <i>Mann-Whitney</i>)	38
Tabela 12	- Temperatura ambiente durante os exames da segunda visita.....	39
Tabela 13	- Umidade do ar durante os exames da segunda visita	39
Tabela 14	- Medida do CO exalado	40
Tabela 15	- Análise descritiva do Teste da Sacarina	41
Tabela 16	- Associação Teste da Sacarina (Teste Exato de <i>Fisher</i>)	41
Tabela 17	- Comparação do tempo total do Teste da Sacarina (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	41
Tabela 18	- Comparação do pH do condensado do ar exalado (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	42

Tabela 19 - Comparação dos valores do pH do lavado nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	43
Tabela 20 - Análise descritiva da contagem de células totais.....	44
Tabela 21 - Comparação entre os grupos da contagem de células totais (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	44
Tabela 22 - Comparação da contagem diferencial de linfócitos (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	45
Tabela 23 - Comparação da contagem diferencial de neutrófilos (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	45
Tabela 24 - Comparação da contagem diferencial de eosinófilos (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	46
Tabela 25 - Comparação da contagem diferencial de macrófagos (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	46
Tabela 26 - Comparação da contagem diferencial de células epiteliais (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	46
Tabela 27 - Comparação da contagem diferencial de células caliciformes (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	47
Tabela 28 - Comparação IL-4 do lavado nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	47
Tabela 29 - Comparação IL-5 do lavado nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	48
Tabela 30 - Comparação IL-8 do lavado nasal	49
Tabela 31 - Comparação IL-17A do lavado nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	49
Tabela 32 - Comparação IL-22 do lavado nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	50
Tabela 33 - Comparação IFN γ do lavado nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	50
Tabela 34 - Comparação TNF α do lavado nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	51
Tabela 35 - Comparação IL-5 condensado (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	51
Tabela 36 - Comparação IL-17A do condensado (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	52

Tabela 37 - Comparação IL-22 do condensado (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	52
Tabela 38 - Comparação IFN γ do condensado (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)	53
Tabela 39 - Separação dos pacientes com RSC nos grupos de Tomassen <i>et al.</i> ^{4,8}	54

RESUMO

Fonseca LML. *Qualidade de vida, qualidade de sono, transporte mucociliar, citocinas inflamatórias e endotipos na rinite alérgica e na rinossinusite crônica* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

Introdução: A rinite alérgica (RA) e a rinossinusite crônica (RSC) são doenças inflamatórias nasais com prevalência alta e crescente. Estima-se que 15,5% dos norte-americanos tenham RSC, e estudo recente encontrou prevalência de 5,51% na cidade de São Paulo, enquanto a RA acomete entre 10 e 20% da população mundial. Apesar de terem mecanismos fisiopatológicos distintos, em ambas, há recrutamento de células de defesa, principalmente linfócitos T, e produção de citocinas inflamatórias. Esses mediadores variam não apenas entre as doenças, mas também entre as populações acometidas, e seu conhecimento é importante para o diagnóstico correto e direcionamento da terapia escolhida. **Objetivos:** Mapear os mediadores inflamatórios presentes no lavado nasal e no condensado do ar exalado na RSC e na RA, avaliando possíveis biomarcadores da doença, e analisar o endotipo inflamatório dos pacientes estudados. Além disso, avaliar a qualidade de vida, o nível de obstrução nasal, a qualidade do sono dos pacientes afetados, o transporte mucociliar e coletar material para análise de pH, contagem de células totais e seu diferencial. **Pacientes e métodos:** Estudo exploratório prospectivo em corte transversal, sendo os pacientes divididos em quatro grupos: 1) Grupo-controle com pacientes sem queixas; 2) Pacientes com RA com *prick test* positivo; 3) Pacientes com RSC com polipose; e 4) Pacientes com RSC sem polipose. Todos os pacientes responderam a quatro questionários: *20-Item Sino-Nasal Outcome Test* (SNOT-20p), *Nasal Obstruction Symptom Evaluation* (NOSE), o Índice de Qualidade do Sono de *Pittsburgh* (*Pittsburgh Sleep Quality Index* – PSQI-BR) e o questionário para triagem e diagnóstico da asma da *European Community Respiratory Health Survey* (ECRHS). Foi realizado exame físico, incluindo endoscopia nasal (escore de *Lund-Kennedy* modificado) e, nos pacientes com RSC, avaliação da tomografia computadorizada (TC) de face (escore de *Lund-Mackay*). Foi também avaliado o transporte mucociliar por meio do teste da sacarina. Coletou-se o condensado do ar exalado para análise do pH e lavado nasal para avaliação do pH, da presença de citocinas e da celularidade (total e diferencial). Foi avaliada a presença de IL-4, IL-5, IL-8, IL-17A, IL-22, TNF α e IFN γ no lavado nasal e IL-5, IL-17A, IL-22 e IFN γ no condensado do ar exalado. **Resultados:** Os pacientes com RSC apresentaram escores significativamente piores nos questionários de obstrução nasal (NOSE, $p < 0,01$) e qualidade de vida (SNOT-20p, $p < 0,01$) quando comparados aos controles, e tanto os pacientes com RSC quanto com RA apresentaram pior

qualidade do sono (PSQI-BR, $p < 0,01$). O escore de extensão de *Lund-Mackay* foi mais elevado nos pacientes com RSC com polipose ($p < 0,02$). O teste da sacarina apresentou tempo mais prolongado no grupo RSC com polipose ($p < 0,01$). O pH do condensado do ar exalado não diferiu entre os grupos. O grupo RSC com polipose apresentou tanto diferença do pH ($p < 0,01$) quanto da contagem de células totais do lavado nasal ($p < 0,01$) quando comparado ao grupo-controle, porém sem diferença na contagem diferencial. IFN γ do condensado foi mais elevado no grupo RA em comparação ao grupo C ($p = 0,05$), enquanto IL-5 foi mais alto no grupo RSC com polipose quando comparado ao grupo RSC sem polipose ($p = 0,02$). Os pacientes foram, então, divididos em endotipos, segundo os grupos descritos por Tomassen *et al.*, sendo que endotipos são os subtipos da doença definidos funcionalmente e patologicamente por mecanismos moleculares distintos. **Conclusão:** Pacientes com RSC apresentaram escores piores nos questionários de qualidade de vida (SNOT-20p e NOSE), o que, em parte, poderia ser atribuído à pior qualidade do sono apresentada tanto por estes pacientes quanto pelos portadores de RA. O teste da sacarina evidenciou pior transporte mucociliar nos pacientes com RSC com polipose. Não houve diferença do pH do condensado do ar exalado, sugerindo que, apesar de interessante na avaliação das vias aéreas inferiores, este pode não ser um bom teste para análise das vias aéreas superiores. Foram encontradas alterações significantes tanto do pH quanto da contagem de células totais do lavado nasal do grupo com RSC com polipose, sem, no entanto, haver diferença na contagem diferencial. Dos 17 pacientes com RSC com perfil completo de citocinas, 12 se encaixam em endotipos já descritos, sendo que, dos cinco restantes, dois apresentam o mesmo perfil, podendo indicar um novo subgrupo.

Descritores: Sinusite; rinite; qualidade de vida; obstrução nasal; sono; interleucina-4; interleucina-5; interleucina-8; interleucina-17; interleucina-22; interferon gama; fator de necrose tumoral alfa.

ABSTRACT

Fonseca LML. *Quality of life, sleep quality, mucociliary transport, inflammatory cytokines and endotypes in allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

Introduction: Allergic rhinitis (AR) and chronic rhinosinusitis (CRS) are nasal inflammatory diseases with high and increasing prevalence. It is estimated that 15.5% of Americans have CRS, and a recent study found a prevalence of 5.51% in the city of São Paulo, while AR affects between 10 and 20% of the world population. Although they have distinct pathophysiological mechanisms, in both there is recruitment of defense cells, mainly T lymphocytes, and production of inflammatory cytokines. These mediators vary not only between diseases but also among affected populations, and their knowledge is important for the correct diagnosis and targeting of the therapy chosen. **Objectives:** To map the inflammatory mediators present in the nasal wash and the exhaled breath condensate in the CRS and AR, evaluating possible biomarkers of these diseases, and to analyze the inflammatory endotype of the patients studied. In addition, assess quality of life, level of nasal obstruction, sleep quality of affected patients, mucociliary transport and collect samples for pH analysis, total cell count and its differential. **Patients and Methods:** Prospective cross-sectional exploratory study, divided into four groups: 1) Control group with patients without complaints 2) Patients with AR with prick test positive 3) Patients with CRS with polyps 4) Patients with CRS without polyps. All patients responded to four questionnaires: 20-Item Sino-Nasal *Outcome Test* (SNOT-20p), *Nasal Obstruction Symptom Evaluation* (NOSE), *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI-BR) and European Community Respiratory Health Survey (ECRHS) questionnaire for screening and diagnosis of asthma. A physical examination was performed, including nasal endoscopy (modified *Lund-Kennedy* score) and, in patients with CRS, a computerized tomography (*Lund-Mackay* score) evaluation. The mucociliary transport was also evaluated through the saccharin test. The exhaled breath condensate was collected for pH analysis and the nasal wash for evaluation of pH, cytokines and cellularity (total and differential). The presence of IL-4, IL-5, IL-17, IL-17A, IL-22, TNF α and IFN γ in the nasal wash and IL-5, IL-17A, IL-22 and IFN γ in the exhaled breath condensate. **Results:** Patients with CRS had significantly worse scores in the nasal obstruction questionnaire (NOSE, $p < 0.01$) and quality of life questionnaire (SNOT-20p, $p < 0.01$) when compared to controls, and both patients with CRS and AR presented worse sleep quality (PSQI-BR, $p < 0.01$). The *Lund-Mackay* extension score was higher in patients with CRS with polyps ($p < 0.02$). The saccharin test showed longer time in the CRS group with polyps ($p < 0.01$). The pH of the exhaled breath condensate did

not differ between groups. The CRS with polyps group presented both pH difference ($p < 0.01$) and higher total nasal wash cell count ($p < 0.01$) when compared to the control group, but with no difference in the differential count ($p = 0.05$), while IL-5 was higher in the CRS group with polyps when compared to the RSC without polyps group ($p = 0.02$). Patients were then divided into endotypes according to the groups described by Tomassen et al, Endotypes are the subtypes of the disease defined functionally and pathologically by distinct molecular mechanisms. **Conclusions:** Patients with CRS presented worse scores on quality of life questionnaires (SNOT-20p and NOSE), which could be attributed in part to the poorer quality of sleep presented by both patients with CRS and AR. The saccharin test evidenced worse mucociliary transport in patients with CRS with polyps when compared with control group. There was no difference in the pH of the exhaled breath condensate, suggesting that, although interesting in the evaluation of the lower airways, this may not be a good test for analyzing the upper airways. Significant alterations were found in both pH and total nasal wash cell count in the CSR group with polyposis, but there was no difference in the differential count. Of the 17 patients with CRS with complete cytokine profile, 12 fit into already described endotypes, and of the remaining five, two have the same profile, which may indicate a new subgroup.

Descriptors: Sinusitis; rhinitis; quality of life; nasal obstruction; sleep; interleukin-4; interleukin-5; interleukin-8; interleukin-17; interleukin-22; interferon gamma; tumor necrosis factor alpha.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A rinite alérgica (RA) e a rinossinusite crônica (RSC) são doenças inflamatórias crônicas nasais com prevalência crescente. Estima-se que entre 12,5 e 15,5% dos norte-americanos tenham rinossinusite crônica, enquanto a rinite alérgica afetaria 10 a 20% da população mundial^{1,2}. Um estudo recente encontrou prevalência de RSC de 5,51% na cidade de São Paulo³. Além disso, são afecções importantes por impactarem significativamente na qualidade de vida dos indivíduos afetados, e por seus altos custos diretos e/ou indiretos¹⁻⁴.

Tanto a RA quanto a RSC envolvem a produção de citocinas e recrutamento de células de defesa, em especial, linfócitos T^{1,2}. Apresentam, no entanto, mecanismos distintos. A fisiopatologia da RA envolve reação de hipersensibilidade mediada por Imunoglobulina E (IgE), sendo resultante da interação entre susceptibilidade genética, sistema imune e fatores ambientais. Por sua vez, a RSC é considerada uma doença multifatorial, sendo influenciada por fatores genéticos, anatômicos, alérgicos, patógenos, biofilme bacteriano, imunodeficiências e alterações no transporte mucociliar, variáveis que redundariam em uma relação ambiente-hospedeiro disfuncional^{1,5,6}.

A RSC apresenta dois fenótipos principais, de acordo com o quadro clínico: RSC com polipose e RSC sem polipose⁵. A RSC com polipose se caracteriza por edema, baixos níveis de Fator de Transformação do Crescimento Beta (*Transforming Growth Factor Beta* – TGF- β) e redução da atividade do linfócito T regulador (Treg), enquanto a RSC sem polipose apresenta fibrose, níveis altos de TGF- β e aumento na atividade do Treg⁵.

As citocinas inflamatórias na RSC vêm sendo estudadas há mais de uma década^{5,7}. Para tanto, as formas mais comuns de coleta de material para análise tem sido a biópsia intraoperatória, a dosagem sérica e a dosagem em secreção nasal. Tanto na RSC com polipose quanto na RSC

sem polipose foram demonstradas diferenças no perfil de citocinas entre os fenótipos, além de investigadas como marcadores na avaliação do prognóstico após cirurgia^{5,7}.

No entanto, observou-se que os perfis se aplicavam apenas a uma parcela dos pacientes. Recentemente, aventou-se a hipótese de existirem, dentro de um mesmo fenótipo, indivíduos com mecanismos inflamatórios distintos⁸. Cada subtipo da doença definido por mecanismos moleculares diferentes foi denominado *endotipo*, apresentando peculiaridades quanto ao mecanismo fisiopatológico e à expressão de citocinas^{5,9}.

Tomassen *et al.*⁸, em estudo com 173 pacientes com RSC e 89 controles, avaliaram a expressão de citocinas, dividindo os casos em dez perfis inflamatórios diferentes. Apenas posteriormente, estes endotipos foram correlacionados com o fenótipo clínico. Dentre estes dez grupos, quatro não apresentaram interleucina 5 (IL-5) e seis apresentaram níveis elevados. Outras citocinas utilizadas nesta divisão foram o superantígeno do *Staphylococcus aureus*, a interleucina 6 (IL-6), a proteína catiônica eosinofílica, a imunoglobulina E (IgE), a mieloperoxidase, a interleucina 8 (IL-8), a interleucina 17 (IL-17), a interleucina 22 (IL-22) e o interferon gama (IFN γ).

Em paralelo com a RSC, foram propostos quatro endotipos para a RA: rinite com resposta imunológica tipo 2 (associado à rinite alérgica), rinite com resposta imunológica tipo 1 (associado à rinite infecciosa), rinite neurogênica (ligada à rinite gustatória, rinite do idoso e rinite idiopática com hiperreatividade nasal) e disfunção epitelial¹⁰⁻¹².

O estudo dos endotipos torna possível selecionar o melhor tratamento disponível para cada paciente em específico, no que vem sendo chamado de medicina de precisão. Isto se aplica tanto para o tratamento tradicional, auxiliando na escolha da antibioticoterapia, na indicação cirúrgica e na avaliação do risco de recorrência, quanto para o uso de novas drogas. Os estudos mais recentes^{9,10,12} mostram a aplicação de imunobiológicos, principalmente anti-interleucina 4 (anti-IL-4) e anti-IL-5 para o tratamento da RSC. Para a abordagem da asma com perfil de resposta linfócitos T helper 2

(Th2), já há diversos trabalhos com o uso de imunobiológicos, mas ainda são poucos os estudos na RA isolada¹².

Na RSC, o uso de imunobiológicos já é comprovadamente benéfico, mas em apenas uma parcela dos pacientes^{5,9}. Entretanto, os estudos já realizados não utilizaram biomarcadores ou perfil de citocinas para a seleção dos casos, o que levaria a uma melhor aplicação da droga em estudo e, conseqüentemente, deve levar também a melhores resultados clínicos⁹.

Em um futuro próximo, provavelmente, apenas exame clínico e endoscopia nasal não serão suficientes para o manejo da RA e da RSC. Biomarcadores séricos ou da secreção nasal poderão indicar o tratamento mais adequado a cada caso. Nesse sentido, o conhecimento dos marcadores inflamatórios presentes em nossa população, seus valores de normalidade e o mapeamento dos endotipos é fundamental. Este estudo busca mapear os mediadores inflamatórios em uma subpopulação paulista, identificando possíveis biomarcadores, quantificando seus valores em grupo-controle e, posteriormente, separando os pacientes por endotipo, com o intuito de, futuramente, ser possível dar maior suporte à medicina de precisão. Até o momento, os autores desconhecem estudo nacional que tenha realizado painel semelhante.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

- a) comparar os mediadores inflamatórios encontrados no lavado nasal e no condensado do ar exalado de pacientes com RSC com polipose, RSC sem polipose, rinite alérgica e controles normais, avaliando a presença e quantidade destes mediadores e comparando os valores entre os grupos.

2.2 Objetivos secundários

- a) Comparar qualidade de vida, obstrução nasal, qualidade do sono e triagem positiva para asma por meio de questionários;
- b) Comparar a extensão da doença por meio de endoscopia nasal e de escore de tomografia computadorizada (TC), relacionando os achados com a resposta aos questionários e o perfil de citocinas;
- c) Comparar o tempo de transporte mucociliar, o pH do lavado nasal e o pH do condensado do ar exalado;
- d) Comparar a contagem de células totais e seu diferencial no lavado nasal.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

A Rinossinusite é definida como o processo inflamatório da mucosa nasossinusal. O termo rinossinusite foi adotado no lugar de sinusite, pois a inflamação dos seios da face em geral coexiste com a rinite, ocorrendo, raramente, sem acometimento da mucosa nasal. Pode ser classificada em aguda, quando o tempo de duração dos sintomas é inferior a 12 semanas, ou crônica, quando o quadro persiste por 12 ou mais semanas sem resolução completa dos sintomas^{2,13,14}.

A rinossinusite crônica (RSC) é uma doença de alta prevalência e considerável morbidade. Estima-se que afete 31 milhões de americanos por ano, com cerca de 12,5 a 15,5% da população adulta acometida. Um estudo conduzido pela *Global Allergy and Asthma Network of Excellence (GA2LEN)*, em 12 países europeus, encontrou prevalência de 10,9%, segundo critérios do *European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps – EPOS*^{2,4}. Seguindo os mesmos critérios, Pilan *et al.* mostraram prevalência de 5,51% na população acima de 12 anos da cidade de São Paulo, sem diferença entre gêneros³. Acredita-se que sua ocorrência esteja aumentando e que, atualmente, seja mais comum do que a Artrite ou a Hipertensão Arterial Sistêmica, e que seu impacto individual, social e econômico, em geral, seja subestimado¹⁵. O impacto na qualidade de vida dos pacientes afetados é significativo, mesmo quando comparado a Diabetes Mellitus e à Insuficiência Cardíaca Congestiva, e o absenteísmo é próximo ao encontrado nos pacientes com asma^{2,3,13,16}. Má qualidade do sono também é uma queixa comum¹⁷. Além disso, há considerável impacto em saúde pública, quando se leva em conta os gastos com consultas médicas, exames laboratoriais, exames de imagem, internações, cirurgias e medicações, tendo custos diretos e indiretos elevados^{3,16,18,19}.

De acordo com o EPOS 2012², a RSC é definida como a presença por 12 ou mais semanas de dois ou mais dos seguintes sintomas, sendo um deles, obrigatoriamente, bloqueio/obstrução/congestão nasal ou rinorreia:

- a) bloqueio/obstrução/congestão nasal;
- b) rinorreia (gotejamento nasal anterior ou posterior);
- c) pressão/dor facial;
- d) hiposmia/anosmia.

Associado a sinais endoscópicos de:

- a) pólipos nasais; e/ou
- b) rinorreia mucopurulenta em meato médio; e/ou
- c) edema/obstrução mucosa no meato médio.

E/ou alterações em Tomografia Computadorizada (TC):

- a) alterações da mucosa no complexo osteomeatal e/ou nos seios da face.

Pode-se dividir a RSC com base nos achados da endoscopia nasal em “com polipose” e “sem polipose”. Nos pacientes nunca submetidos à sinusectomia, a RSC com polipose é definida como a presença bilateral de pólipos no meato médio, enquanto a RSC sem polipose é definida como sua ausência².

Assim como a rinosinusite, a Rinite Alérgica (RA) também é uma doença inflamatória nasal, porém mediada por IgE e desencadeada após exposição da mucosa nasal a um alérgeno. Acredita-se que afete de 10 a 20% da população mundial, embora este número, provavelmente, esteja subestimado, pois grande parte dos pacientes não reconhece a rinite como doença. Além disso, observa-se um aumento em sua prevalência nos últimos 50 anos. É considerada um problema de saúde global, por atingir

todos os grupos étnicos e todas as faixas etárias. Estimativas conservadoras apontam para mais de 500 milhões de indivíduos afetados mundialmente¹.

Apesar de não ter custos diretos elevados, a rinite alérgica apresenta altos custos indiretos. Acomete a qualidade de vida do paciente por atingir sua vida social e interferir no sono, nos estudos e no trabalho. O quadro clínico inclui rinorreia anterior ou posterior, obstrução nasal, prurido e/ou espirros, podendo haver conjuntivite alérgica associada. Caracteriza-se por apresentar melhora completa dos sintomas de maneira espontânea ou após tratamento^{1,20-22}.

3.1 Fisiopatologia

Apesar de ambas serem doenças inflamatórias nasais, RSC e RA têm etiologia e mecanismos fisiopatológicos particulares, que envolvem a diferenciação de linfócitos T e de citocinas inflamatórias^{1,2,20}.

As citocinas são proteínas moduladoras importantes na sinalização celular que são produzidas e liberadas por uma grande quantidade de células, incluindo macrófagos, mastócitos e linfócitos B e T; além de células epiteliais, endoteliais e fibroblastos. Elas desencadeiam diversos mecanismos imunológicos envolvidos na alergia, na inflamação e em doenças autoimunes²³.

Os linfócitos T helper (Th) são os responsáveis pela defesa contra micro-organismos, induzindo inflamação. Classicamente, foram divididos em T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2), classificação baseada em seu perfil de citocinas. A resposta Th1 é caracterizada pela produção de interleucina 12 (IL-12) e interferon gama (IFN γ), sendo promotora da defesa contra agentes intracelulares. Já a resposta Th2 é caracterizada pela produção de interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5) e interleucina 13 (IL-13), sendo importante na defesa contra parasitas e associada com asma e alergia^{2,6,24}.

Essa divisão foi revista quando foram descobertos, primeiramente, o T regulatório (Treg), secretor de interleucina 10 (IL-10), e TGF β , mediador da

imunossupressão e associado a doenças autoimunes, e, posteriormente, o T helper 17 (Th17), produtor de interleucina 17 (IL-17) e ativo no combate a bactérias extracelulares. Mais recentemente, foram também descritos o T helper 9 (Th9) T helper 21 (Th21)^{2,15,23,24}.

A RA é considerada uma doença inflamatória crônica das vias aéreas superiores cujo desenvolvimento requer uma interação entre susceptibilidade genética, sistema imune e fatores ambientais. Desencadeada por antígenos ambientais, a produção de IgE resulta de uma interação complexa entre linfócitos B, linfócitos T, mastócitos e basófilos. Tanto os linfócitos B quanto T também interagem com uma série de moléculas de adesão, numa resposta polarizada para Th2, com diminuição do Treg e envolvendo a produção de IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e interleucina 18 (IL-18). Além de induzir a síntese de IgE, essas citocinas aumentam a produção de outras citocinas nas células epiteliais e nos fibroblastos, promovendo a migração de outras células inflamatórias como os mastócitos^{1,23}.

3.2 Etiologia e patogenia da rinosinusite crônica

A RSC é uma síndrome caracterizada pela inflamação persistente e sintomática da mucosa do nariz e dos seios paranasais. É uma doença multifatorial influenciada por fatores genéticos, anatômicos, alérgicos, patógenos (bactérias e fungos), biofilme bacteriano, imunodeficiências e alterações no transporte mucociliar, sendo discutida ainda a influência de fatores ambientais como tabagismo e poluição^{2,15,16}. Acredita-se que resulte de uma resposta imune exacerbada a agentes externos, levando à inflamação persistente, à migração celular, a sintomas característicos e a alterações dos exames radiológicos. Apesar de todas as teorias até hoje existentes, a etiologia e a patogenia da RSC ainda não estão bem definidas, e a maioria dos casos permanece classificada como idiopática^{2,6}.

Historicamente, a RSC foi, inicialmente, descrita como uma rinosinusite aguda não tratada ou como um caso muito grave de alergia respiratória. Nos últimos vinte anos, diversas hipóteses etiológicas foram propostas. A primeira tentativa de elucidar a etiopatogenia da RSC foi a “teoria fúngica”, que propunha haver uma resposta eosinofílica exacerbada à infecção fúngica por *Alternaria*. O *Alternaria* seria o gatilho para a degranulação de eosinófilos, o que seria consistente com uma hipersensibilidade mediada por linfócitos T e não por IgE. A RSC com polipose e a RSC sem polipose seriam causadas pelo mesmo mecanismo, porém em diferentes intensidades. Esta teoria inicial, embora promissora, foi abandonada por não se demonstrar sua fisiopatologia, e após estudos com anfotericina tópica não resultarem em melhora da doença. No entanto, acredita-se que os fungos apresentem um papel modulador em algumas formas de RSC^{2,6,25}.

Posteriormente, surgiu a “teoria do superantígeno”, propondo que *Staphylococcus aureus* causariam a RSC com polipose agindo em múltiplas células simultaneamente. Enterotoxinas secretadas pelo *S. aureus* resultariam em estimulação em massa dos linfócitos T, recrutando Th2 e inibindo Treg, levando à liberação de citocinas e produção local de IgE policlonal, o que estimularia o recrutamento de eosinófilos e mastócitos, levando às alterações clínicas e histológicas da RSC com polipose^{2,6,26,27}. No entanto, demonstrou-se influência do superantígeno em apenas metade dos pacientes com RSC com polipose, e o *S. aureus* é visto, atualmente, mais como agente modificador da doença do que como agente etiológico^{2,6}.

Foi proposto ainda que defeitos na via de síntese dos eicosanóides poderiam ser uma causa da RSC com polipose, principalmente quando associada à intolerância ao Ácido Acetilsalicílico (AAS). Além disso, o aumento da síntese de leucotrienos pró-inflamatórios associada à redução da produção de prostaglandinas anti-inflamatórias poderiam causar tanto a RSC com polipose associada à doença respiratória exacerbada por AAS quanto a tolerante a AAS².

Posteriormente, a “teoria da barreira imunológica” propôs que defeitos inatos e/ou mecânicos na barreira imunológica nasal permitiriam a passagem e o processamento de antígenos por meio do epitélio nasal, causando o infiltrado inflamatório crônico da RSC. Esses defeitos teriam causas genéticas, epigenéticas ou adquiridas/ambientais, e levariam a um aumento da colonização microbiana. Entretanto, esta teoria não aborda diretamente o recrutamento de linfócitos T helper e sua polarização, observados nos pacientes com RSC com polipose^{2,6}.

Mais recentemente, os biofilmes foram aventados como possível causa da RSC. Definidos como comunidades bacterianas ancoradas a uma superfície e protegidas por matriz extracelular de polissacarídeos, são resistentes a flutuações de pH, de temperatura e de umidade. Pode-se sugerir que defeitos na barreira imunológica facilitariam sua formação, porém o mecanismo exato pelo qual ela acontece permanece desconhecido, assim como sua forma de ação sobre a RSC^{2,28,29}.

De tal forma que, atualmente, a etiologia e a patogênese da RSC permanecem em discussão. A doença ainda é descrita como multifatorial, porém acredita-se que seja causada por uma relação ambiente-hospedeiro disfuncional. Os superantígenos foram implicados na modulação da via de síntese do eicosanoides, sugerindo uma ligação entre essas duas teorias. A presença de *S. aureus* nas células do epitélio nasal de pacientes com RSC com polipose, e sua ausência nos pacientes com RSC sem polipose sugere um defeito de barreira e/ou imunidade local. Além disso, biofilmes poderiam direcionar a resposta para Th2, independentemente dos superantígenos. Por sua vez, os fungos seriam capazes de comprometer a barreira, produzindo proteases com ação sobre as *tight junctions*. Todas as teorias confluem na interação entre fatores externos e alterações do hospedeiro, porém o papel representado por cada uma permanece desconhecido^{2,6,28,29}.

3.3 Fenótipos da rinossinusite crônica

São diversos os fenótipos da RSC utilizados na prática clínica. Os mais usados são RSC com polipose e RSC sem polipose, porém também são descritos outros mais raros, como RSC na fibrose cística, RSC na doença respiratória exacerbada por AAS, entre outros. Essa definição clínica, no entanto, não define o mecanismo envolvido em cada doença⁹.

A divisão clínica endoscópica da RSC foi associada, em muitos estudos, com a divisão clássica da diferenciação do linfócito Th. A RSC com polipose teria um perfil de citocinas com polarização Th2, e RSC sem polipose, com polarização Th1. Porém, com a descoberta de Treg, de Th17, Th9 e Th21, essa divisão passou a ser revista. Ao mesmo tempo, o modelo RSC com polipose/Th2 passou a ser questionado, ao se identificar populações asiáticas que exibiam resposta associada a Th1 e Th17³⁰. Assim, uma nova hipótese foi desenvolvida, sugerindo que a RSC sem polipose seja caracterizada por fibrose, níveis altos de TGF- β e aumento na atividade do Treg, enquanto a RSC com polipose seria caracterizada por edema, baixos níveis de TGF- β e redução da atividade do Treg^{2,6,24}. A RSC com polipose e a RSC sem polipose têm sido vistas dessa forma como fenótipos da mesma doença.

3.4 Expressão de citocinas e endotipos na rinossinusite crônica

O conceito de endotipo vem sendo discutido desde 2011, tendo sido descrito, inicialmente, para a asma. Endotipos são os subtipos da doença definidos funcionalmente e patologicamente por mecanismos moleculares distintos. Cada endotipo inflamatório teria um mecanismo fisiopatológico diferente, variando na sua expressão de citocinas^{9,15,31,32}.

A diferenciação dos endotipos tem sido feita com base nos padrões das células inflamatórias, em especial, linfócitos T e células linfoides inatas (ILCs). A resposta imune mediada por células tipo 2, rica em eosinófilos,

basófilos e Th2, faz parte da linha de defesa contra doenças provocadas por helmintos, participando, também, na gênese de doenças eosinofílicas crônicas, como RSC com polipose, asma e dermatite atópica⁹.

Atualmente, o mecanismo mais aceito para o desenvolvimento da RSC com perfil Th2 seria, inicialmente, a secreção pelo epitélio de interleucina 25 (IL-25), interleucina 33 (IL-33) e linfopoetina tímica estromal, desencadeada por micro-organismos (colonização, biofilme), em um epitélio com barreira celular mal funcionante e em um ambiente com disfunção de Treg. A ILC2 participaria na ativação tanto de linfócitos B quanto de linfócitos T. Haveria, então, um recrutamento de células inflamatórias com ativação de Th2 e consequente produção de IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-25 e IL-33, tanto por Th2 quanto pelo próprio epitélio. IL-5, IL-25 e IL-33 induziriam eosinofilia, enquanto IL-4 e IL-13 ativariam linfócitos B, desencadeando a produção local e sistêmica de IgE em pacientes alérgicos. Este seria o mecanismo mais frequente na RSC com polipose⁹.

A maioria dos casos de RSC com polipose encontrada nos países ocidentais apresenta pólipos eosinofílicos⁸, porém sabe-se que pacientes asiáticos apresentam, em grande parte, pólipos neutrofílicos³⁰. Em número considerável dos pacientes, a presença de eosinofilia é associada a IL-5, citocina produzida, principalmente, por Th2 e ILC2. Ademais, sabe-se que estes pacientes têm maior chance de apresentar asma como comorbidade, e se beneficiam do tratamento com anti-IL-5. Dessa forma, a diferenciação entre pacientes com RSC com polipose que apresentam expressão de citocinas tipo 2 e que apresentam outros padrões inflamatórios é de grande relevância na prática clínica⁹.

Por outro lado, a presença de pólipos neutrofílicos pode ser associada à presença de IFN γ , IL-17 ou de ambos⁸. Já foi descrito, ainda, um perfil misto, que pode ser classificado como Th0⁹.

Nos pacientes com RSC sem polipose, o mecanismo mais comum seria a resposta Th1, Th17 ou Th0 (mista), associada à neutrofilia e à expressão de TGF- β . Acredita-se que a colonização por bactérias e fungos tenha papel importante, assim como o aumento de TGF- β e de seu receptor.

A ativação do epitélio levaria à produção de IL-6, IL-8, interferon alfa (IFN α) e interferon beta (IFN β), com a ativação de células dendríticas. Estas células seriam as responsáveis por sensibilizar os linfócitos Th1 e Th0, levando à produção de IL-8 e IL-17, causando neutrofilia e ativação das células B⁹.

A interação entre células T e epitélio na RSC aparenta ser bifásica. As células T que são, inicialmente, ativadas estimulam as células epiteliais, que passam a produzir citocinas inflamatórias. As células epiteliais ativadas entram em processo de apoptose, com descamação do epitélio, levando à quebra da barreira celular e aumentando a susceptibilidade à colonização bacteriana, formação de biofilme e manutenção do processo inflamatório^{9,33}.

3.5 Endotipos na rinite alérgica

A rinite, assim como a RSC, pode ter perfil inflamatório tipo 2 e não tipo 2, tendo sido, recentemente, proposta a existência de quatro endotipos¹⁰:

- a) rinite com resposta imunológica tipo 2: caracterizada por resposta alérgica imediata com presença de IgE antígeno-específica, inflamação eosinofílica e hiper-reatividade da via aérea, com recrutamento de ILC2 (expressando IL-5, IL-13 e IL-9), ativação epitelial (IL-33), mastócitos (IL-4, IL-13, IL-9) e linfócitos Th2 (IL-4, IL-5, IL-13). É o endotipo associado à rinite alérgica;
- b) rinite com resposta imunológica tipo 1: resposta imune inata e adaptativa mediada por Th1/Th17, levando ao influxo de neutrófilos e à expressão de IFN γ . É associada à rinite infecciosa;
- c) rinite neurogênica: caracterizada por aumento da expressão de receptores potenciais transcientes nos nervos trigeminais e altas concentrações de substância P. Ligada à rinite gustatória, à rinite do idoso e à rinite idiopática com hiper-reatividade nasal;

- d) disfunção epitelial: pode ser primária ou secundária à inflamação produzida por resposta imune tipo 1 ou 2. Dividida em disfunção ciliar e disfunção de barreira¹⁰⁻¹².

O conhecimento do endotipo da doença facilitaria a escolha da abordagem ideal, aumentando a chance de sucesso. No tratamento da asma, já vêm sendo desenvolvidos novos fármacos para o endotipo com resposta imune tipo 2. Para a rinite e mesmo para a asma não tipo 2, ainda há pouca informação disponível¹⁰⁻¹².

3.6 Divisão em endotipos e o tratamento da RSC

A divisão da RSC já foi feita com base em sintomas, em questionários de qualidade de vida e na celularidade do pólipó nasal (eosinofílico e neutrofílico). Nenhuma dessas divisões reflete, no entanto, o perfil inflamatório do indivíduo examinado. Para melhor avaliar os processos inflamatórios inerentes a cada caso, a divisão em endotipos deve ser feita por meio de mediadores e citocinas inflamatórias⁹.

Tomassen *et al.*⁸ avaliaram, em estudo multicêntrico, amostra de 173 pacientes e 89 controles em centros europeus e chineses. Foi feita análise de interleucina 1 beta (IL-1 β), IL-5, IL-6, IL-8, IL-17A, IL-22, TNF α , TGF β 1, IFN γ , albumina, proteína catiônica eosinofílica, mieloperoxidase, IgE e enterotoxina do *Staphylococcus aureus*. Foi possível dividir os pacientes em 10 grupos, os quatro primeiros com baixos níveis de IL-5 e os outros seis com níveis elevados. Posteriormente, foi feita a análise do fenótipo dos pacientes, e observou-se que grupos com perfil inflamatório diferente apresentavam correlação com o fenótipo apresentado⁸.

Fenótipos distintos, como RSC com polipose e RSC relacionada à doença respiratória exacerbada por AAS, podem estar em endotipos relacionados. Nestes casos, ambas possuem perfil inflamatório tipo 2, apresentando eosinofilia e aumento de IgE, além de polipose nasal,

associação com asma e recorrência dos pólipos após cirurgia^{7,34}. Ambas responderiam a medicamentos imunobiológicos visando à inflamação tipo 2³⁴. Por outro lado, RSC presente nas imunodeficiências e na fibrose cística se caracterizam por neutrofilia desencadeada por agentes infecciosos, apresentando perfil inflamatório Th1/Th17, de forma que a ação de imunobiológicos nestes pacientes é incerta⁹.

3.7 Biomarcadores e tratamento

Uma mesma abordagem, provavelmente, não terá a mesma resposta em pacientes diferentes. Essa afirmação é verdadeira tanto para RSC quanto para RA. Na RSC, mesmo tratamentos já utilizados, como corticoides e antibioticoterapia, apresentam resultados muito desiguais. Isto também se aplica para a indicação e técnica cirúrgica, e para os imunobiológicos. Já foram estudados anti-IL-5 (reslizumab, mepolizumab)^{35,36}, anti IgE (omalizumab) e anti-IL-4 (dupilumab)³⁷. Todos tiveram resposta positiva, porém apenas em um subgrupo de pacientes. Gevaert *et al.*, em estudo randomizado e duplo-cego com pacientes portadores de RSC com polipose grave e recorrente, obtiveram bons resultados com mepolizumab em cerca de dois terços dos casos^{15,35}. O mesmo autor realizou trabalho com reslizumab, também com resultados positivos^{15,36}. Bachert *et al.* utilizaram dupilumab associado a furoato de mometasona tópico, com melhora dos sintomas^{15,37}. Nenhum destes estudos utilizou biomarcadores ou perfil de citocinas para seleção de pacientes. Desta forma, o modo de seleção e de indicação dos imunobiológicos nesses estudos é o exemplo mais concreto da necessidade da identificação dos endotipos^{9,34}.

Assim, com a caracterização mais precisa dos endotipos, os aspectos clínicos como endoscopia nasal e tomografia computadorizada não serão os únicos fatores utilizados na avaliação do paciente com RSC e RA. Uma combinação de biomarcadores avaliada em material de biópsia, secreção

nasal ou sangue possibilitará a determinação do endotipo, da severidade da inflamação e, possivelmente, da resposta ao tratamento^{9,11}.

Neste sentido, a identificação e seleção de biomarcadores e perfis específicos para cada endotipo da RSC e da RA é de fundamental importância, na medida em que permitiria a seleção de tratamentos direcionados para cada paciente na prática clínica, aumentando as chances de sucesso. Por tais premissas, procuramos identificar os mediadores inflamatórios mais frequentes na população estudada, separando os indivíduos por endotipo, por meio de biomarcadores do lavado nasal, já que não há, até o momento, estudo semelhante em nosso país.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Pacientes

O projeto foi enviado via Plataforma Brasil para o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Após aprovação pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa (CEP-CAPPesq), foi iniciada a coleta de dados.

Foi realizado estudo exploratório prospectivo em corte transversal. Por ser exploratório, não foi possível realizar o cálculo do tamanho da amostra, sendo que esta foi dimensionada de acordo com a capacidade do *kit* de análise das citocinas. Foram incluídos pacientes com 18 ou mais anos de idade, divididos em quatro grupos, da seguinte forma:

- a) grupo 1 (n=11): pacientes acompanhados no Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) por outras causas (por exemplo, disfonia ou perda auditiva), sem queixas nasais, e funcionários do HCFMUSP voluntários e sem queixas (grupo C);
- b) grupo 2 (n=7): pacientes acompanhados no serviço de Otorrinolaringologia do HCFMUSP com diagnóstico de rinite alérgica e com *prick test* positivo para um ou mais dos seguintes alérgenos: fungos, pólen, epitélio de gato, epitélio de cão, insetos e ácaros (grupo RA);
- c) grupo 3 (n=10): pacientes acompanhados no serviço de Otorrinolaringologia do HCFMUSP com diagnóstico de RSC com polipose segundo os critérios do EPOS² (grupo RSCCP);

- d) grupo 4 (n=10): pacientes acompanhados no serviço de Otorrinolaringologia do HCFMUSP com diagnóstico de RSC sem polipose segundo os critérios do EPOS² (grupo RSCSP).

Foram critérios de exclusão²:

- a) fibrose cística com base em teste do suor positivo ou alelos de DNA;
- b) imunodeficiência (congenita ou adquirida);
- c) problemas mucociliares congênitos, como discinesia ciliar primária;
- d) rinosinusite fúngica: bolas fúngicas não invasivas e doença fúngica invasiva;
- e) vasculite sistêmica e doenças granulomatosas;
- f) uso de cocaína, tabagismo e etilismo;
- g) neoplasia nasal atual ou anterior ou neoplasia em outro sítio em tratamento com quimioterapia ou radioterapia;
- h) cirurgia nasal prévia de qualquer tipo;
- i) monóxido de carbono (CO) exalado acima de 9 partes por milhão (ppm);
- j) resfriado ou gripe nos 30 dias anteriores ao exame;
- k) uso de corticosteroide sistêmico nos sete dias anteriores a avaliação.

4.2 Métodos

Todos os dados foram coletados sequencialmente em um período de seis meses. Após preenchimento de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A), os pacientes incluídos foram avaliados em duas visitas, com intervalo de sete dias, sendo seus dados registrados em ficha individual desenvolvida para este estudo (Anexo B).

4.2.1 Questionários

Na primeira visita, foram aplicados quatro questionários: *20-Item Sino-Nasal Outcome Test* (SNOT-20p, Anexo C), *Nasal Obstruction Symptom Evaluation* (NOSE, Anexo D), o Índice de Qualidade do Sono de *Pittsburgh* (*Pittsburgh Sleep Quality Index* – PSQI-BR, Anexo E), e o questionário para triagem e diagnóstico da asma da *European Community Respiratory Health Survey* (ECRHS – Anexo F).

O *20-Item Sino-Nasal Outcome Test* (SNOT-20) é um questionário validado em Inglês, em 2002³⁸, e, em Português, em 2011 (SNOT-20p)³⁹, que foi desenvolvido para avaliação da qualidade de vida em pacientes com rinosinusite. Consiste em 20 itens aos quais o paciente atribui valores de 0 a 5, sendo que 0 corresponde a “nenhum problema” e 5 a “pior problema possível”, apontando, no final, até 5 itens que considerar os mais importantes. O escore final é a média simples da somatória das respostas de todos os itens, variando de 0 a 5, sendo que, quanto maior o valor, maior o impacto da rinosinusite na qualidade de vida^{38,39}. Recentemente, vem sendo utilizado também na avaliação dos sintomas da rinite alérgica⁴⁰.

O NOSE (*Nasal Obstruction Symptom Evaluation Scale*) foi validado em Inglês, em 2004⁴¹, e, em Português, em 2010⁴², e desenvolvido para avaliar o grau de obstrução nasal. Consiste em 5 itens aos quais o paciente atribui valores de 0 (“não é um problema”) a 4 (“problema grave”). O valor assim encontrado é, então, multiplicado por 5, de forma que o resultado final varia de 0 a 100, sendo que, quanto maior o valor final, maior o desconforto com a obstrução nasal^{41,42}.

O Índice de Qualidade do Sono de *Pittsburgh* (*Pittsburgh Sleep Quality Index* – PSQI) foi validado em Inglês em 1989⁴³, e desenvolvido especialmente para avaliar a qualidade do sono no período de um mês. Foi validado em Português em 2008 (PSQI-BR)⁴⁴. Fornece informações quantitativas e qualitativas sobre o sono, sendo composto por 19 questões, que se agrupam em 7 componentes: qualidade subjetiva do sono, latência, duração, eficiência, transtornos do sono, uso de medicações para dormir e

disfunção diurna. A pontuação final varia de 0 a 21, sendo que, quanto maior o valor, pior a qualidade do sono. Resultados acima de 5 indicam má qualidade do sono^{43,44}.

A *European Community Respiratory Health Survey* (ECRHS) teve seu primeiro protocolo iniciado em 1990, e vem, desde então, coletando informações sobre a asma, sua prevalência e seus fatores de risco em 56 centros de 24 países. Foi utilizado o questionário para triagem de asma ECRHS II, validado para o Português em 2007. Foi considerado positivo para asma o questionário com resposta positiva para uma das três perguntas⁴⁵⁻⁴⁷:

- a) “Você teve chiado ou aperto no peito nos últimos 12 meses?”
- b) “Você teve uma crise de asma nos últimos 12 meses?”
- c) “Você está usando no momento algum medicamento (incluindo inalações, bombinhas ou comprimidos) para asma?”

4.2.2 Endoscopia nasal

Após a aplicação dos questionários, os pacientes foram submetidos à endoscopia nasal sob anestesia tópica com lidocaína 2% sem vasoconstritor, com endoscópio rígido de 0° e 4 mm (Karl-Storz GmbH & Co. KG, Alemanha). A lidocaína foi escolhida por seu efeito anestésico potente, sua boa aceitação pelo paciente em administração tópica e pelo fato de, aparentemente, não alterar o edema da mucosa nasal. Optou-se por realizar o exame endoscópico na primeira visita para que a diminuição da motilidade ciliar provocada pela lidocaína não alterasse o resultado dos demais exames⁴⁸⁻⁵¹. Foi avaliada a presença de secreção, edema da mucosa, pólipos ou outras alterações no exame nasal, recebendo pontuação conforme escore de *Lund-Kennedy* modificado (Anexo G)^{2,52}. Nos pacientes com RSC com polipose, a extensão da doença foi classificada segundo o tamanho do pólipo em^{2,53,54}.

- a) grau I: pólipos confinados ao meato médio;
- b) grau II: pólipos ultrapassam o nível da borda inferior da concha média sem tocar o assoalho da fossa nasal (não causa obstrução total);
- c) grau III: pólipos ultrapassam o nível da borda inferior da concha média, tocando o assoalho da fossa nasal (obstrução total).

4.2.3 Tomografia computadorizada

Os pacientes com RSC acompanhados pelo grupo de Rinologia do Serviço de Otorrinolaringologia do HCFMUSP são submetidos à tomografia computadorizada de face como parte da rotina para avaliação cirúrgica, de forma que, nesses pacientes, também foi avaliado o índice de *Lund-Mackay* (Anexo H). Assim, cada grupo de seios paranasais foi avaliado separadamente na tomografia computadorizada, atribuindo a cada um notas de 0 a 2, de acordo com o grau de opacidade observado no exame de imagem (livre, parcialmente opacificado, totalmente opacificado), com o resultado final variando entre 0 e 24^{2,53,55-57}.

4.2.4 Coleta do material

A segunda visita foi agendada sempre no período da manhã, entre 8 e 13 horas, devido à variação circadiana do transporte mucociliar. Os pacientes foram orientados a não ingerir bebidas alcoólicas a partir do dia anterior, e, no dia da coleta, a não realizar lavagem nasal, não utilizar medicação tópica nasal, não ingerir alimentos contendo cafeína nem bebidas alcoólicas e a comparecer em jejum de 2 horas. O uso de corticosteroide tópico nasal foi suspenso por um dia^{58,59}.

Inicialmente, foram registrados temperatura e umidade ambiente com termo-higrômetro (Modelo TH 01, Impac Ind, China). Foi, então, aplicado aos

pacientes questionário sobre aspectos de saúde geral, hábitos e vícios, antecedentes pessoais e dados socioeconômicos. Em seguida, foi realizado exame físico, que incluiu:

- a) frequência cardíaca, em batimentos por minuto (bpm);
- b) frequência respiratória, em incursões por minutos (ipm);
- c) temperatura corporal, aferida em graus Celsius (°C) com termômetro axilar de mercúrio Thermofácil, BD, China;
- d) aferição da pressão arterial em mmHg com esfigmomanômetro (Premium, Accumed, Rio de Janeiro, Brasil) e estetoscópio (Littmann, 3M, Saint Paul, Minnesota, EUA) no membro superior esquerdo;
- e) saturação de oxigênio em ar ambiente, aferida com oxímetro de pulso (BCI 3303, Smiths Medical, Ohio, EUA).

Em seguida, foi realizada medida do CO exalado, expressa em partes por milhão (ppm), com microanalisador Cardinal Health U.K. 232 Ltd., Chatham, Reino Unido. Os pacientes foram instruídos a inspirar profundamente, manter pausa de 20 segundos, e expirar lentamente no bocal do microanalisador.

Na sequência, foi avaliado o transporte mucociliar nasal, por meio do teste da sacarina. É um teste simples e acessível, considerado dentro da normalidade quando o tempo até degustação da sacarina é menor ou igual a 12 minutos. Sentados, os pacientes foram orientados a respirar e deglutir normalmente, evitando falar, tossir, espirrar, realizar inspirações profundas e se movimentar em excesso. Foram, então, depositados 25 microgramas (μg) de sacarina em pó anteriormente à cabeça da concha inferior da narina com melhor fluxo de ar. Nesse momento, foi acionado um cronômetro, e a contagem de tempo foi realizada até o paciente relatar ter sentido o gosto da sacarina. Se o tempo ultrapassasse 60 minutos, o teste era interrompido e o paciente recebia uma pequena quantidade de sacarina na língua. Naqueles

que conseguiram perceber o sabor da sacarina, o teste era repetido no dia seguinte⁶⁰⁻⁶³.

A seguir, foi realizada a coleta de material, primeiramente do condensado do ar exalado e, em seguida, do lavado nasal.

A coleta do condensado do ar exalado foi feita, inicialmente, pedindo-se para os pacientes que realizassem enxague bucal com água bidestilada e que engolissem a saliva. Sentados, foram posicionados com leve extensão cervical de cerca de 15°C, e orientados a respirar normalmente por meio de máscara conectada por válvula unidirecional a um condensador com gelo seco, cuja temperatura atinge cerca de -80°C. Após 15 a 30 minutos, foram obtidos entre 2 e 5ml de condensado, que foram armazenados em tubos de polipropileno⁶⁴.

A análise do pH do condensado do ar exalado foi realizada imediatamente após sua coleta. Para isso, inicialmente, calibrou-se o pHmetro (827 pH Lab, Metrohm Ltd., Herisau, Switzerland) com pHs de 4, 7 e 9. Em seguida, foi feita a desgaseificação de 0,5ml da amostra com gás argônio ultrapuro (99,9%) (Gama Gases Ltd., São Paulo, Brasil) durante 15 minutos com fluxo de 350 ml/minuto. Fez-se, então, a leitura do pH, sendo que as amostras para isso utilizadas foram, logo depois, descartadas^{64,65}.

Em seguida, foi realizada a coleta do lavado nasal. Com o paciente ainda em posição sentada e com leve extensão da coluna cervical, foram instilados 5 ml de soro fisiológico 0,9% em temperatura ambiente em uma das narinas, com auxílio de uma seringa estéril. O paciente foi orientado a não engolir o soro e a não respirar por 10 segundos. Em seguida, foi solicitado que inclinasse a cabeça ligeiramente para a frente e assoasse gentilmente as narinas, expelindo o lavado nasal em frasco estéril. O mesmo procedimento foi repetido na outra narina⁴⁸. Foi realizada a análise de pH imediatamente após a coleta, seguindo os mesmos métodos da análise do pH do condensado. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas e centrifugadas por 10 minutos com velocidade de 1800 rotações por minutos (rpm) a 5°C, separando-se o sobrenadante do precipitado. O sobrenadante

foi colocado em tubos de polipropileno estéreis identificados, e mantido a -80°C para posterior análise de citocinas.

Ao precipitado, foi adicionado 1 ml de solução tampão fosfato salina, seguida por homogeneização da amostra. Primeiramente, foi feita a contagem de células totais com 20µl de amostra em câmara de Neubauer, sob microscopia óptica com aumento de 400 vezes. Em seguida, 100µl de amostra foram centrifugados por 6 minutos em 1000 rpm a 25°C. O esfregaço foi corado em solução de hematoxilina e eosina (HE), e a lâmina utilizada para contagem de diferencial de células⁶⁴. A contagem foi realizada no período de 30 dias por um único profissional, mascarado para a identificação dos pacientes.

4.2.5 Análise das citocinas

A escolha das citocinas a serem analisadas foi baseada em estudos recentes de endotipagem nas rinossinites crônicas^{9,15,61}. Optou-se por analisar interferon gama (IFN γ), interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 8 (IL-8), interleucina 17 A (IL-17A), interleucina 22 (IL-22) e fator de necrose tumoral alfa (*tumor necrosis factor alpha* – TNF α).

A análise destas citocinas foi realizada por meio de dois *kits* vendidos comercialmente no exterior e importados exclusivamente para este fim:

- a) Cat # HCYTOMAG60K-03 (IL-4, IL-8 e TNF α) - Lote: 2970757, com validade até 31/10/2018 (*Millipore Corporation, St. Charles, Missouri, USA*);
- b) Cat # HTH17MAG-04 (IFN γ , IL-5, IL-17A e IL-22) - Lote: 3037934, com validade até 31/10/2018 (*Millipore Corporation, St. Charles, Missouri, USA*).

As amostras foram encaminhadas ainda congeladas e em gelo seco para empresa externa, e sua preparação e leitura foi realizada por biomédica

treinada. Na preparação, foram utilizados pipetas monocal e multicanal, e microcentrífuga (*Eppendorf*), ponteiras e microtubos de pressão (*Axygem*), agitador de tubos vortex (*Equipar*) e de placas (*Bras Serum*), além de lavadora automática magnética (*Bioteck*) e banho de ultrassom (*Cristofoli*). A leitura foi feita no equipamento *Luminex 200 – SoftwarexPonent/Analyst* versão 4.2. Foram testados curvas e controles de ambos os *kits*, com resultado satisfatório.

Ambos os *kits* utilizam metodologia *xMAP*, que é uma análise por imunoensaio, em que MAP corresponde a *Multiple Analyte Profiling* e “x” a sua variável (neste estudo, as citocinas analisadas). A Tecnologia *Luminex™ xMAP* consiste em um processo que cora microesferas de látex com dois fluoróforos. Utilizando-se proporções precisas de cada um, podem ser criados cem conjuntos diferentes de microesferas, cada uma delas com uma assinatura baseada em código de cores e que podem ser identificadas pelo instrumento *Luminex*. Os *kits* utilizam estas microesferas como base dos imunoensaios *multiplex*, que se fundamentam na metodologia “sanduíche” convencional de dois sítios, em que a mistura de esferas é incubada com padrões e amostras em formato de placa de 96 poços. Cada conjunto de microesferas está acoplado com anticorpos de captura específicos para cada citocina escolhida. Inicialmente, a amostra se liga aos anticorpos de captura localizados na superfície das microesferas. Em seguida, o anticorpo de detecção biotilado se liga ao analito específico. O resultado final é amplificado por meio de incubação com o conjugado repórter *estreptavidina-ficoeritrinaum* (PE), que se liga ao repórter biotilado e emite sinal fluorescente. O equipamento *Luminex 200* movimenta estas esferas em fila única através de feixes de dois *lasers* diferentes em um citômetro de fluxo. O primeiro feixe de *laser* detecta e classifica a microesfera (o código de cor para o ensaio) e o segundo laser quantifica o sinal de reporte em cada microesfera. O resultado é apresentado de forma quantitativa para cada citocina escolhida.

Além da análise dos valores de citocina em cada grupo, foi, posteriormente, realizada a divisão dos pacientes dos grupos RSC com

polipose e RSC sem polipose em endotipos, seguindo a classificação descrita por Tomassen *et al.*⁸.

4.3 Análise estatística

Inicialmente, foi feita análise exploratória dos dados, com o objetivo de sintetizar valores da mesma natureza e obter uma visão global, organizando-os em gráficos e tabelas.

Para as variáveis quantitativas, foram calculados n, média, desvio padrão, mínimo, primeiro quartil, mediana, terceiro quartil e máximo.

Para verificar a associação entre duas variáveis qualitativas, foi proposto o teste exato de *Fisher*, que foi usado na comparação dentre os grupos no PSQI-BR, questionário *ECRHS* e no Teste da Sacarina. Para estimar o *Odds Ratio*, foi utilizada uma regressão logística exata, a fim de quantificar a associação entre PSQI-BR e grupo.

Para comparar os grupos RSCSP e RSCCP quanto ao escore de *Lund-Mackay*, foi utilizado o teste *Mann-Whitney*, teste não paramétrico usado para duas amostras independentes.

As demais comparações dentre os grupos foram feitas pelo teste de *Kruskal-Wallis*, técnica não paramétrica que permite a comparação de mais de dois grupos sem que haja suposições quanto à distribuição dos dados. Também foi utilizado o pós-teste de *Dunn*, sendo que, na notação adotada, as letras diferentes representam diferenças entre os grupos (“a” diferente de “b”, “ab” semelhante a “a” e “b”).

Para todas as comparações, adotou-se um nível de significância de 5%, e todas as análises apresentadas foram realizadas com auxílio do software SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) e R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria)^{66,67}.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Foram coletadas amostras de 40 pacientes, sendo dois excluídos, um por, posteriormente, admitir ser tabagista e outro por material insuficiente. Os 38 pacientes restantes foram divididos em quatro grupos, conforme os critérios de inclusão:

- a) grupo C: 11 pacientes;
- b) grupo RA: 7 pacientes;
- c) grupo RSCCP: 10 pacientes;
- d) grupo RSCSP: 10 pacientes.

Quanto à idade, variou entre 27 e 73 anos, com média de 40,27 no grupo C, 29,71 no grupo RA, 44,7 no grupo RSCCP e 50 no grupo RSCSP (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição dos grupos quanto à faixa etária

Grupo	N	Idade						
		Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
C	11	40,27	15,51	30	31	32	52	70
RA	7	29,71	1,98	27	28	30	31	33
RSCCP	10	44,7	12,52	31	31	46	55	62
RSCSP	10	50	13,69	31	39	51,5	61	73

Em relação ao sexo (Tabela 2), dos 38 pacientes incluídos; 20 eram mulheres (52,63%) e 18 homens (47,36%), com ligeiro predomínio do sexo feminino no grupo C (63,74%) e do sexo masculino no grupo RA (57,14%).

Tabela 2 - Distribuição dos grupos quanto ao sexo

Variáveis/Grupo	C (n=11)	RA (n=7)	RSCCP (n=10)	RSCSP (n=10)	Total
Sexo					
Feminino	7 63,64%	3 42,86%	5 50%	5 50%	20
Masculino	4 36,36%	4 57,14%	5 50%	5 50%	18

Dentre todos os pacientes incluídos, seis declararam ser portadores de asma, sendo dois no grupo RA, três no grupo RSCCP e um no grupo RSCSP (Tabela 3). Dos seis, apenas um paciente do grupo RSCCP relatou hipersensibilidade a ácido acetilsalicílico (AAS) e/ou anti-inflamatório não hormonal (AINH).

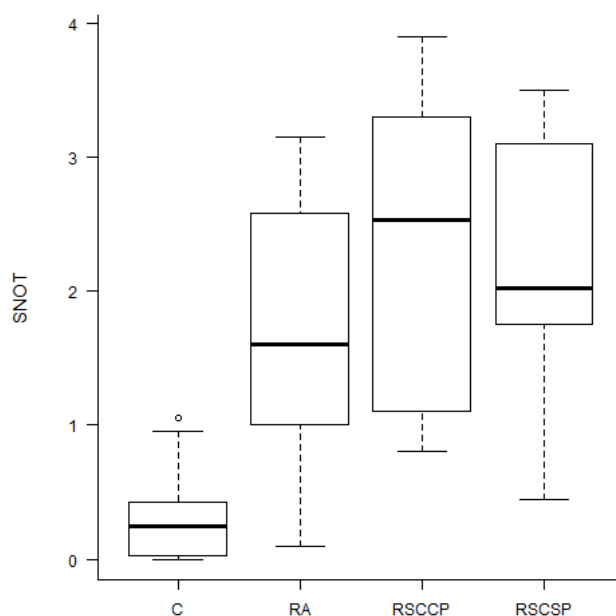
Tabela 3 - Pacientes portadores de asma e intolerância a AAS e/ou AINH

Variáveis/Grupo	C (n=11)	RA (n=7)	RSCCP (n=10)	RSCSP (n=10)	Total
Asma					
Não	11 100%	5 71,43%	7 70%	9 90%	32
Sim	0 0%	2 28,57%	3 30%	1 10%	6
Intolerância a AAS/AINH					
Não	11 100%	7 100%	9 90%	10 100%	37
Sim	0 0%	0 0%	1 10%	0 0%	1

A análise do SNOT-20p foi realizada sob dois aspectos: escore total (analisada pelo Teste de *Kruskal-Wallis*) e cinco sintomas mais importantes apontados pelo paciente (associação avaliada com o Teste Exato de *Fisher*). O escore total apresentou-se diferente entre o grupo C comparado com grupo RSCCP e grupo C comparado com grupo RSCSP (Tabela 4 e Gráfico 1), observando-se valores mais baixos no grupo-controle ($p < 0,01$).

Tabela 4 - Escore total do SNOT-20p (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Escore total do SNOT-20p (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)										
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de <i>Dunn</i>
C	11	0,32	0,38	0	0	0,25	0,5	1,05	<0,01	A
RA	7	1,71	1,15	0,1	0,45	1,6	2,8	3,15		Ab
RSCCP	10	2,37	1,13	0,8	1,1	2,53	3,3	3,9		B
RSCSP	10	2,25	0,94	0,45	1,75	2,03	3,1	3,5		B

Gráfico 1 - Comparação dos grupos quanto ao escore total do SNOT-20p

Dentre os cinco sintomas mais relevantes apontados pelo paciente (Tabela 5), apenas o sintoma número 5 (secreção nasal escorrendo para a garganta) foi mais citado de maneira significativa nos Grupos RA e RSCSP, quando comparado aos demais grupos ($p < 0,01$).

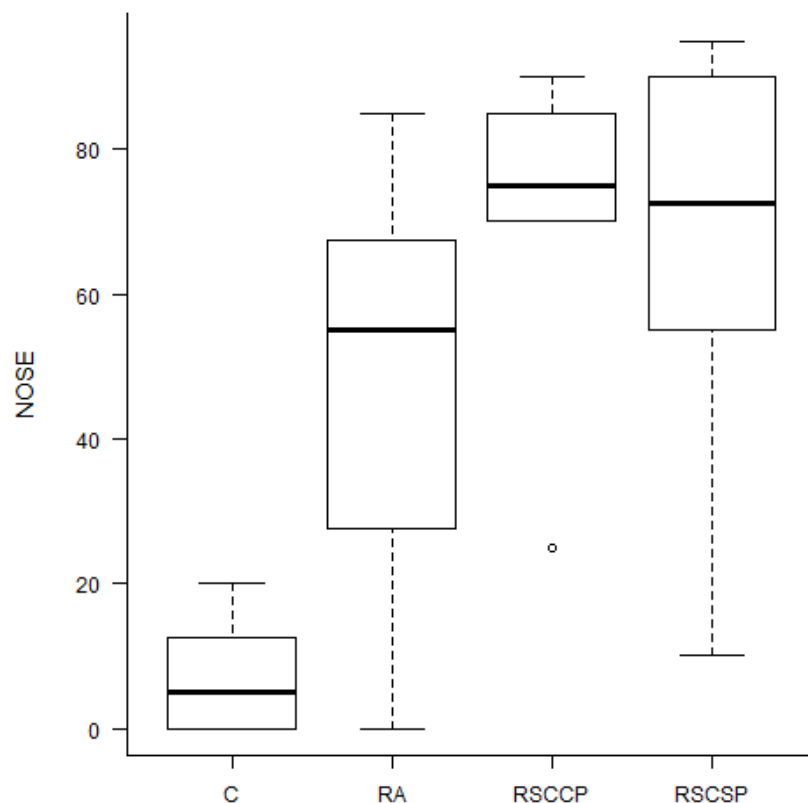
Tabela 5 - Cinco sintomas mais importantes conforme citação dos pacientes (Teste Exato de Fisher)

Cinco sintomas mais significativos do SNOT-20p (Teste exato de Fisher)					
Variáveis/Grupo	C (n=11)	RA (n=7)	RSCCP (n=10)	RSCSP (n=10)	Valor p
SNOT 1	4 (36,4%)	2 (28,6%)	6 (60%)	3 (30%)	0,56
SNOT 2	2 (18,2%)	4 (57,1%)	3 (30%)	3 (30%)	0,42
SNOT 3	1 (9,1%)	3 (42,9%)	5 (50%)	2 (20%)	0,16
SNOT 4	1 (9,1%)	0 (0%)	2 (20%)	0 (0%)	0,47
SNOT 5	0 (0%)	4 (57,1%)	1 (10%)	5 (50%)	<0,01
SNOT 6	0 (0%)	1 (14,3%)	3 (30%)	2 (20%)	0,27
SNOT 7	0 (0%)	2 (28,6%)	3 (30%)	1 (10%)	0,18
SNOT 8	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)	3 (30%)	0,14
SNOT 9	0 (0%)	1 (14,3%)	2 (20%)	0 (0%)	0,20
SNOT 10	0 (0%)	3 (42,9%)	3 (30%)	4 (40%)	0,08
SNOT 11	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)	1 (10%)	0,69
SNOT 12	0 (0%)	1 (14,3%)	2 (20%)	2 (20%)	0,49
SNOT 13	0 (0%)	1 (14,3%)	2 (20%)	2 (20%)	0,49
SNOT 14	1 (9,1%)	2 (28,6%)	3 (30%)	1 (10%)	0,50
SNOT 15	1 (9,1%)	2 (28,6%)	2 (20%)	2 (20%)	0,77
SNOT 16	0 (0%)	1 (14,3%)	1 (10%)	1 (10%)	0,69
SNOT 17	1 (9,1%)	2 (28,6%)	2 (20%)	0 (0%)	0,32
SNOT 18	1 (9,1%)	2 (28,6%)	2 (20%)	4 (40%)	0,39
SNOT 19	0 (0%)	1 (14,3%)	0 (0%)	2 (20%)	0,20
SNOT 20	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)	2 (20%)	0,36

Na análise dos resultados do escore do NOSE (Tabela 6 e Gráfico 2), os valores do Grupo C foram menores do que os encontrados nos outros três grupos, porém só houve diferença entre o grupo C, e os grupos RSCCP e RSCSP ($p < 0,01$).

Tabela 6 - Comparação do escore do NOSE (Teste de *Kruskal-Wallis*)

NOSE (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)										
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de Dunn
C	11	6,82	7,51	0	0	5	15	20	<0,01	A
RA	7	47,14	29,84	0	25	55	70	85		AB
RSCCP	10	72,5	17,99	25	70	75	85	90		B
RSCSP	10	66	29,89	10	55	72,5	90	95		B

Gráfico 2 - Comparação dos grupos quanto ao escore total do NOSE

Na avaliação do PSQI-BR, o valor mínimo referido foi 1 (Grupo C), e o máximo 16 (grupo RSCCP), sendo que a média dos valores encontrados foi de 4,55 no Grupo C, 6,86 no Grupo RA, 7,4 no grupo RSCCP e 9,2 no Grupo RSCSP (Tabelas 7 e 8). O número de pacientes com PSQI-BR alterado foi maior nos grupos RA, RSCCP e RSCSP quando comparados com o grupo C ($p < 0,01$), com *Odds Ratio* (OR) de 4,01 no grupo RA (0,41-61,70, IC 95%), 6,30 no grupo RSCCP (0,73-90,81 IC 95%) e 17,92 no grupo RSCSP (2,13-infinito IC 95%).

Tabela 7 - Análise descritiva do PSQI-BR

Grupo	N	PSQI-BR						
		Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
C	11	4,55	2,66	1	1	5	7	8
RA	7	6,86	2,73	4	5	6	9	12
RSCCP	10	7,4	3,89	2	6	7	9	16
RSCSP	10	9,2	1,93	6	8	9,5	11	12

Tabela 8 - Associação PSQI-BR (Teste Exato de Fisher)

Grupo	PSQI-BR - Teste exato de Fisher				Valor p	Odds Ratio (IC 95%)
	Alterado (n=27)		Normal (n=11)			
	n	%	N	%		
C	4	36,4	7	63,6	<0,01	Ref
RA	5	71,4	2	28,6		4,01 (0,41; 61,70)
RSCCP	8	80,0	2	20,0		6,30 (0,73; 90,81)
RSCSP	10	100,0	0	0,0		17,91 (2,13; inf)

Quatro pacientes que não referiram asma apresentaram resultado positivo no questionário *ECRHS*, sendo três no grupo RA, quatro no RSCCP e três no RSCSP, não havendo diferença entre os grupos (Tabela 9).

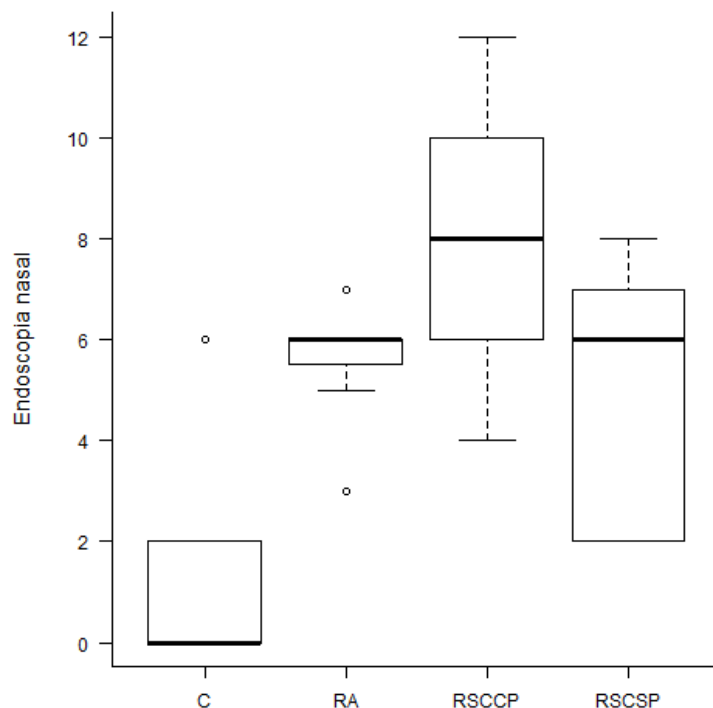
Tabela 9 - Associação *ECRHS* (Teste Exato de Fisher)

Grupo	Negativo (n=29)		Positivo (n=10)		Valor p
	n	%	n	%	
C	11	100.0	0	0.0	0.09
RA	4	57.1	3	42.9	
RSCCP	7	63.6	4	36.4	
RSCSP	7	70.0	3	30.0	

Os valores do escore de endoscopia nasal (*Lund-Kennedy* modificado) variaram entre 0 (grupo C) e 12 (grupo RSCCP), com médias de 1,27 no grupo C, 5,57 no grupo RA, 8,1 no grupo RSCCP e 5,1 o grupo RSCSP (Tabela 10 e Gráfico 3). Os valores encontrados foram significativamente maiores nos grupos RSCCP e RSCSP quando comparados ao grupo C ($p < 0,01$).

Tabela 10 - Comparação do escore de endoscopia nasal (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Escore de endoscopia nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)										
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de Dunn
C	11	1,27	1,85	0	0	0	2	6	<0,01	A
RA	7	5,57	1,27	3	5	6	6	7		AB
RSCCP	10	8,1	2,56	4	6	8	10	12		B
RSCSP	10	5,1	2,38	2	2	6	7	8		B

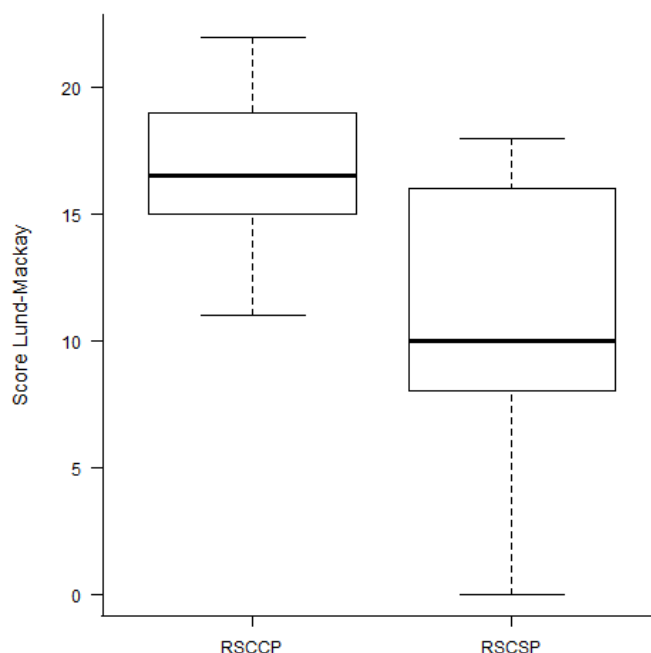
Gráfico 3 - Comparação dos grupos quanto ao escore de endoscopia nasal

Na avaliação do escore tomográfico de *Lund-Mackay*, observou-se que o grupo RSCCP teve escores maiores ($p=0,02$) do que o grupo RSCSP (Tabela 11 e Gráfico 4).

Tabela 11 - Comparação do escore tomográfico de *Lund-Mackay* (Teste de *Mann-Whitney*)

Escore tomográfico de <i>Lund-Mackay</i> (Teste de <i>Mann-Whitney</i>)									
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p*
RSCCP	10	16,5	3,27	11	15	16,5	19	22	0,02
RSCSP	9	10,33	5,92	0	8	10	16	18	

Gráfico 4 - Comparação dos grupos RSCCP e RSCSP quanto ao escore de *Lund-Mackay*



Antes da realização dos testes seguintes, foram medidas temperatura e umidade ambiente. A temperatura variou entre 17,9°C e 22,9°C (Tabela 12), e a umidade, entre 39% e 67% (Tabela 13).

Tabela 12 - Temperatura ambiente durante os exames da segunda visita

Temperatura ambiente								
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
C	11	21,07	0,81	19,7	20,3	21,1	21,8	22,1
RA	7	21,7	0,72	21	21,1	21,4	22,3	22,8
RSCCP	10	20,07	1,56	17,9	18,4	20,15	21,6	22
RSCSP	10	20,71	1,45	18,4	19,8	20,4	21,7	22,9

Tabela 13 - Umidade do ar durante os exames da segunda visita

Umidade								
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
C	11	49,73	3,64	43	48	50	52	56
RA	7	55	7,72	47	48	53	61	67
RSCCP	10	53,5	9,14	39	50	53	62	67
RSCSP	10	52,3	8,72	41	47	51,5	54	67

Durante o exame físico inicial, a frequência cardíaca observada variou entre 60 e 96 bpm, a frequência respiratória variou entre 12 e 19 ipm, a temperatura, entre 35,2 e 36,7°C, a pressão arterial sistólica, entre 95 e 150 mmHg, a pressão arterial diastólica, entre 62 e 100 mmHg, e a saturação de oxigênio em ar ambiente, entre 94 e 98%. A medida do CO exalado variou entre 0 e 7 ppm, com média 2,09 no grupo C, 0,57 no grupo RA, 0 no grupo RSCCP e 0,1 no grupo RSCSP (Tabela 14).

Tabela 14 - Medida do CO exalado

Grupo	n	CO exalado						
		Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
C	11	2,09	2,21	0	0	2	3	7
RA	7	0,57	1,13	0	0	0	1	3
RSCCP	10	0	0	0	0	0	0	0
RSCSP	10	0,1	0,32	0	0	0	0	1

No Teste da Sacarina, o valor mínimo obtido foi 1,34 minuto, no grupo C, e o valor máximo foi 54,23 minutos no grupo RSCCP. Nenhum paciente ultrapassou o limite de 60 minutos (Tabela 15). Quando comparados os números de testes alterados em cada grupo, o valor não foi significativo (Tabela 16), porém, ao se comparar o tempo de cada paciente (Tabela 17 e Gráfico 5), sem considerar o valor de corte, houve diferença entre o grupo C e o grupo RSCCP ($p < 0,01$).

Tabela 15 - Análise descritiva do Teste da Sacarina

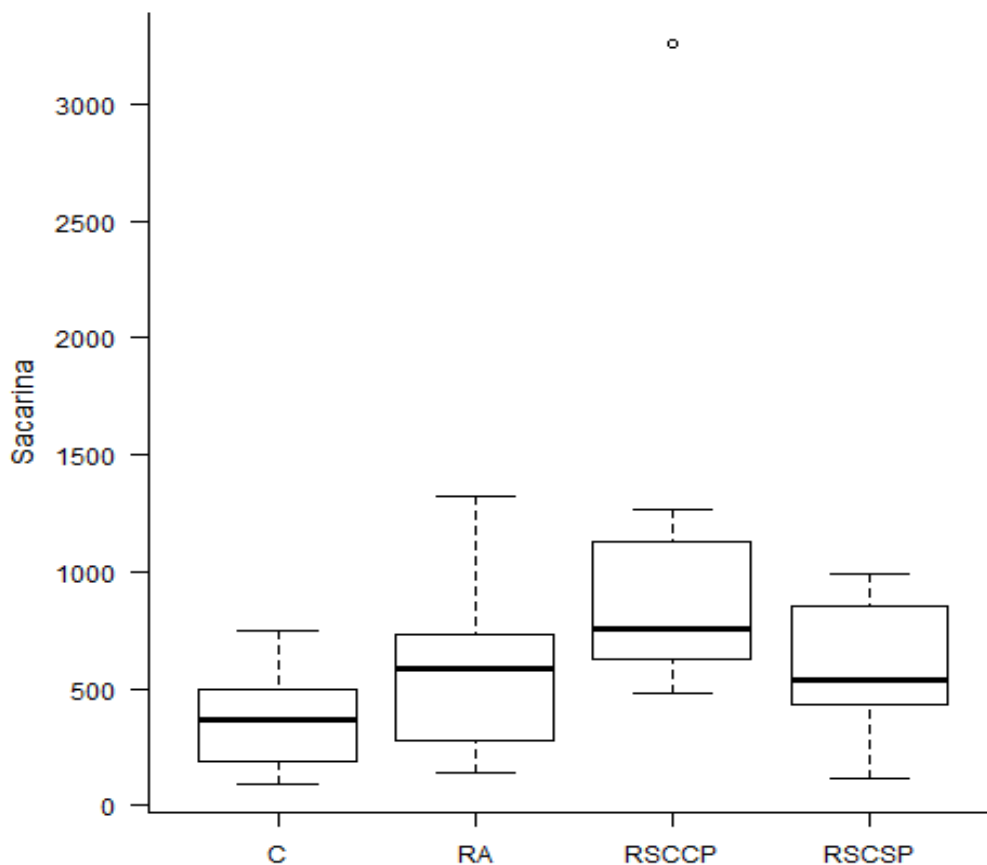
Sacarina								
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
C	11	5,69	3,58	1,34	2,59	6,08	8,31	12,24
RA	7	9,47	6,8	2,21	4,17	9,47	13,28	22,01
RSCCP	10	16,81	13,78	8	10,22	11,81	16,5	54,23
RSCSP	10	9,53	4,42	1,52	7,11	8,78	14,09	16,31

Tabela 16 - Associação Teste da Sacarina (Teste Exato de Fisher)

Grupo	Teste da Sacarina (Teste Exato de Fisher)				Valor p
	Alterado (n=27)		Normal (n=11)		
	N	%	n	%	
C	1	9,1	10	90,9	0,25
RA	2	28,6	5	71,4	
RSCCP	5	50,0	5	50,0	
RSCSP	3	30,0	7	70,0	

Tabela 17 - Comparação do tempo total do Teste da Sacarina (Teste de Kruskal-Wallis)

Grupo	Teste da Sacarina (Teste de Kruskal-Wallis)									
	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de Dunn*
C	11	354.82	212.36	94	179	368	511	744	<0,01	a
RA	7	581.71	404.83	141	257	587	808	1321		ab
RSCCP	11	1036.73	787.91	480	622	756	1239	3263		b
RSCSP	10	584.8	262.48	112	431	537.5	849	991		ab

Gráfico 5 - Comparação do tempo total do Teste da Sacarina

O condensado do ar exalado apresentou pH mínimo de 7,38 no grupo RSCSP e máximo de 8,39 no grupo C, sendo as médias 7,98 no grupo C, 7,75 no grupo RA, 7,8 no grupo RSCCP e 7,79 no grupo RSCSP. Quando comparados os grupos, não houve diferença significativa (Tabela 18).

Tabela 18 - Comparação do pH do condensado do ar exalado (Teste de *Kruskal-Wallis*)

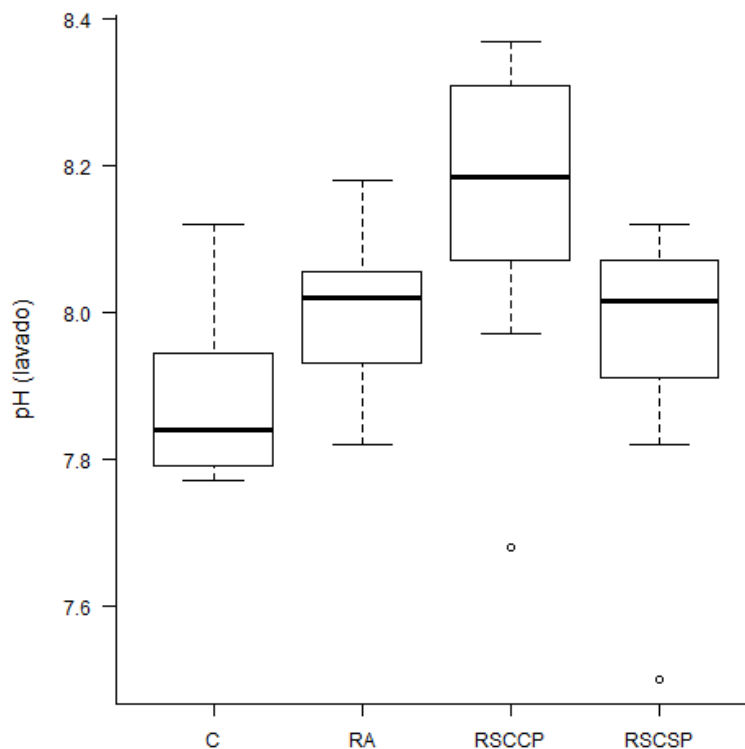
pH do condensado do ar exalado (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)									
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	11	7,98	0,24	7,62	7,83	7,93	8,13	8,39	0,12
RA	7	7,75	0,22	7,48	7,58	7,73	7,79	8,19	
RSCCP	10	7,8	0,21	7,59	7,64	7,77	7,9	8,28	
RSCSP	10	7,79	0,2	7,38	7,71	7,81	7,89	8,14	

O lavado nasal apresentou pH mínimo de 7,5 no grupo RSCSP e máximo de 8,37 no grupo RSCCP, sendo as médias 7,88 no grupo C, 8 no grupo RA, 8,15 no grupo RSCCP e 7,95 no grupo RSCSP (Tabela 19 e Gráfico 6). Na comparação entre os grupos, os valores encontrados no grupo RSCCP foram mais elevados em comparação com os encontrados no grupo C ($p < 0,01$).

Tabela 19 - Comparação dos valores do pH do lavado nasal (Teste de *Kruskal-Wallis*)

pH do lavado nasal (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)										
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de <i>Dunn</i>
C	11	7,88	0,11	7,77	7,79	7,84	7,95	8,12	<0,01	A
RA	7	8	0,13	7,82	7,84	8,02	8,07	8,18		AB
RSCCP	10	8,15	0,21	7,68	8,07	8,19	8,31	8,37		B
RSCSP	10	7,95	0,18	7,5	7,91	8,02	8,07	8,12		AB

Gráfico 6 - Comparação dos valores de pH do lavado nasal



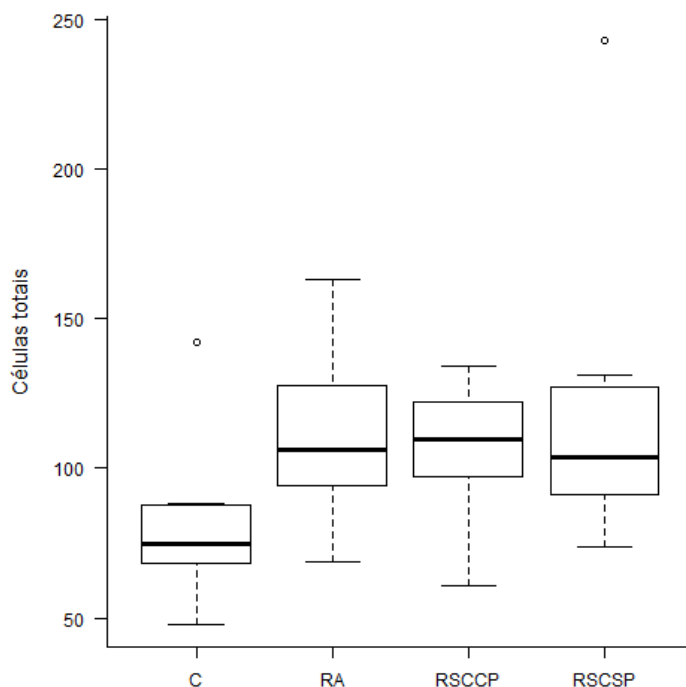
A contagem de células totais apresentou valor mínimo de 48 células no grupo-controle e máximo de 243 células no grupo RSCSP, com médias de 80,55 no grupo C, 111,57 no grupo RA, 108,1 no grupo RSCCP e 117 no grupo RSCSP (Tabela 20). Na comparação entre os grupos, o número de células encontradas foi significativamente maior ($p < 0,02$) no grupo RSCCP quando comparado ao grupo C (Tabela 21 e Gráfico 7). Não foi encontrada diferença significativa na contagem diferencial de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, células epiteliais e células calciformes (Tabelas 22, 23, 24, 25, 26 e 27).

Tabela 20 - Análise descritiva da contagem de células totais

Contagem de células totais								
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
C	11	80,55	23,53	48	68	75	88	142
RA	7	111,57	32,63	69	85	106	145	163
RSCCP	10	108,1	21,69	61	97	109,5	122	134
RSCSP	10	117	47,53	74	91	103,5	127	243

Tabela 21 - Comparação entre os grupos da contagem de células totais (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Contagem de células totais (Teste de <i>Kruskal-Wallis</i>)										
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de Dunn
C	11	80,55	23,53	48	68	75	88	142	0,02	A
RA	7	111,57	32,63	69	85	106	145	163		AB
RSCCP	10	108,1	21,69	61	97	109,5	122	134		B
RSCSP	10	117	47,53	74	91	103,5	127	243		AB

Gráfico 7 - Comparação da contagem de células totais**Tabela 22** - Comparação da contagem diferencial de linfócitos (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	7	44.57	4.65	41	41	42	49	53	0.45
RA	5	39	6.04	33	35	37	42	48	
RSCCP	8	41.75	9.59	23	40	40.5	47.5	55	
RSCSP	7	42.29	5.09	33	38	45	46	47	

Tabela 23 - Comparação da contagem diferencial de neutrófilos (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Neutrófilos									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	7	17	3.46	13	15	16	18	24	0.31
RA	6	28.17	11	15	16	31	37	39	
RSCCP	8	25.25	13.75	10	17.5	21	30	55	
RSCSP	7	23.43	14.95	12	14	16	42	48	

Tabela 24 - Comparação da contagem diferencial de eosinófilos (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Eosinófilos									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	7	4.29	1.89	1	3	4	6	6	0.17
RA	6	2.83	2.23	1	1	2.5	3	7	
RSCCP	8	2.88	3.76	0	1	1	4	11	
RSCSP	7	2	1.15	0	1	2	3	3	

Tabela 25 - Comparação da contagem diferencial de macrófagos (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Macrófagos									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	7	28.29	4.42	24	24	28	31	36	0.25
RA	6	23.67	6.5	18	18	22	27	35	
RSCCP	8	23.38	5.63	14	21	23.5	25	34	
RSCSP	7	24.57	8.5	8	19	28	31	32	

Tabela 26 - Comparação da contagem diferencial de células epiteliais (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Células Epiteliais									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	7	4	1.83	2	3	3	6	7	0.98
RA	6	4	1.79	2	3	3.5	5	7	
RSCCP	8	4	2.39	2	2.5	3	5	9	
RSCSP	7	4.43	2.57	1	2	5	7	8	

Tabela 27 - Comparação da contagem diferencial de células calciformes (Teste de *Kruskal-Wallis*)

Células Calciformes									
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	7	1.86	1.07	1	1	2	2	4	0.23
RA	6	1.83	1.17	1	1	1.5	2	4	
RSCCP	8	2.75	1.49	1	2	2	4	5	
RSCSP	7	3.29	2.63	1	2	3	3	9	

No lavado nasal, foram analisados IL-4, IL-5, IL-8, IL-17A, IL-22, TNF α , IFN γ . IL-4 apresentou valor mínimo de 0,44 no grupo C e valor máximo de 16,87 no grupo RA, não havendo, porém, diferença significativa entre os grupos (Tabela 28).

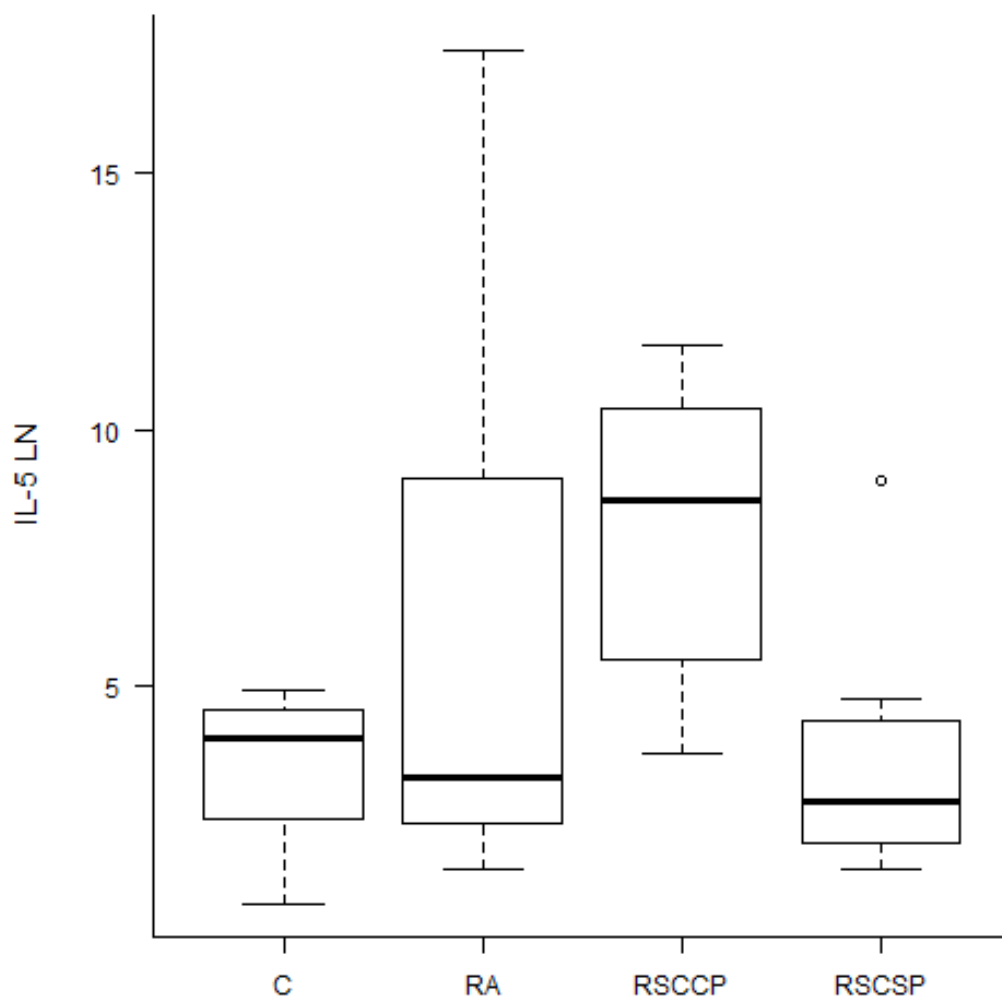
Tabela 28 - Comparação IL-4 do lavado nasal (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IL-4 Lavado Nasal									
Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	10	1.23	0.57	0.44	1.01	1.15	1.61	2.42	0.34
RA	7	3.48	5.92	0.78	0.78	1.29	1.99	16.87	
RSCCP	9	1.8	0.75	0.68	1.29	1.61	2.42	2.92	
RSCSP	8	1.26	0.39	0.59	1.04	1.29	1.61	1.61	

A interleucina IL-5 teve valor mínimo de 0,74 no grupo C e máximo de 17,43 no grupo RA, com médias de 3,41 no grupo C, 6,39 no grupo RA, 7,88 no grupo RSCCP e 3,53 no grupo RSCSP (Tabela 29 e Gráfico 8). Houve diferença entre os grupos RSCCP e RSCSP ($p=0,02$).

Tabela 29 - Comparação IL-5 do lavado nasal (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IL-5 Lavado Nasal										
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de <i>Dunn</i> *
C	10	3.41	1.39	0.74	2.39	3.96	4.53	4.92	0.02	AB
RA	7	6.39	5.84	1.41	2.05	3.18	9.27	17.43		AB
RSCCP	9	7.88	3.06	3.67	5.49	8.64	10.43	11.67		A
RSCSP	8	3.53	2.47	1.41	1.91	2.71	4.3	9		B

Gráfico 8 - Comparação IL-5 do lavado nasal

IL-8 teve valor mínimo de 33,02 no grupo C e máximo de 1811 também no grupo C, não havendo diferença significativa entre os grupos (Tabela 30).

Tabela 30 - Comparação IL-8 do lavado nasal

IL-8 Lavado Nasal									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	10	475.63	552.08	33.02	54.55	332.5	690	1811	0.83
RA	7	369.78	277.36	95.49	111	309	483	907	
RSCCP	9	539.18	509.6	99.64	234	330	705	1665	
RSCSP	8	294.56	184.17	44.47	155.5	265.5	453	564	

O valor mínimo de IL-17A foi 1,34 no grupo RSCCP, e o valor máximo 22,65 no grupo RA, não havendo diferença significativa entre os grupos (Tabela 31).

Tabela 31 - Comparação IL-17A do lavado nasal (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IL-17A Lavado nasal									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	10	7.72	2.78	3.31	6.25	7.11	10.22	12.75	0.09
RA	7	11.88	5.37	7.97	8.34	8.96	14.78	22.65	
RSCCP	9	11.2	6.82	1.34	6.13	13.89	15.54	22.52	
RSCSP	8	6.28	3.07	2.54	3.59	5.8	9.1	10.72	

Os resultados de IL-22 tiveram como valor mínimo 0,03 no grupo RSCSP e máximo 0,13, no grupo RA, não havendo diferença significativa entre os grupos (Tabela 32).

Tabela 32 - Comparação IL-22 do lavado nasal (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IL-22 Lavado Nasal									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	10	0.06	0.02	0.04	0.05	0.06	0.07	0.1	0.29
RA	7	0.08	0.03	0.05	0.06	0.07	0.09	0.13	
RSCCP	9	0.07	0.02	0.04	0.05	0.05	0.08	0.11	
RSCSP	8	0.06	0.02	0.03	0.05	0.05	0.08	0.08	

O IFN γ teve valor mínimo de 1,09 no grupo-controle e máximo de 42,64 no grupo RA. Não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 33).

Tabela 33 - Comparação IFN γ do lavado nasal (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IFN γ Lavado Nasal									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	10	8.53	4.98	1.09	3.63	9.15	13.43	15.57	0.20
RA	7	18.59	14.26	3.88	4.63	15.57	29.86	42.64	
RSCCP	9	13.84	11.68	2.26	2.93	13.74	14.65	33.44	
RSCSP	8	6.78	4.25	2.26	3.41	6.08	9.64	13.74	

Os valores mínimo e máximo de TNF α foram, respectivamente, 0,64 no grupo-controle e 7,19 no grupo RSCCP, não havendo diferença significativa entre os grupos (Tabela 34).

Tabela 34 - Comparação TNF α do lavado nasal (Teste de *Kruskal-Wallis*)

TNF α Lavado Nasal									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	10	1.69	1.87	0.64	0.87	1.04	1.45	6.91	0.60
RA	7	1.2	0.73	0.76	0.76	0.98	1.16	2.81	
RSCCP	9	2.01	2.03	0.7	1.04	1.27	2.25	7.19	
RSCSP	8	1.09	0.38	0.7	0.82	1.03	1.25	1.87	

No condensado do ar exalado, foram avaliados IL-5, IL-17A, IL-22 e IFN γ .

IL-5 teve o valor de leitura mínimo de 0,65 no grupo-controle e máximo de 71,2 no grupo RSCSP. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (Tabela 35).

Tabela 35 - Comparação IL-5 condensado (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IL-5 Condensado									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	11	1.04	0.21	0.65	0.83	1.02	1.22	1.31	0.28
RA	7	1.16	0.31	0.65	1.02	1.22	1.41	1.61	
RSCCP	9	1.05	0.22	0.83	0.83	1.02	1.22	1.41	
RSCSP	8	9.94	24.75	1.02	1.02	1.22	1.41	71.2	

O valor mínimo de IL-17A foi de 1,92 no grupo C e o máximo 8,22 no grupo RSCSP, não se encontrando diferença significativa entre os grupos (Tabela 36).

Tabela 36 - Comparação IL-17A do condensado (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IL-17A Condensado									
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
C	11	4.66	1.09	1.92	4.11	5.04	5.28	6.25	0.12
RA	7	5.78	0.86	5.04	5.04	5.52	6.13	7.47	
RSCCP	9	5.03	0.5	4.34	4.57	5.04	5.52	5.76	
RSCSP	8	5.66	1.36	4.34	4.58	5.29	6.5	8.22	

Na análise de IL-22, o menor valor encontrado foi 0,05 no grupo C, e o maior 0,08 no grupo RA. O valor de p foi 0,05, porém, no pós-teste de *Dunn*, essa diferença não foi significativa.

Tabela 37 - Comparação IL-22 do condensado (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IL-22 Condensado										
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de <i>Dunn</i> *
C	11	0.065	0.007	0.05	0.06	0.07	0.07	0.07	0.05	NS
RA	7	0.071	0.004	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08		NS
RSCCP	9	0.069	0.003	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07		NS
RSCSP	8	0.064	0.005	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07		NS

O menor valor encontrado de IFN γ foi 1,84 no grupo C, e o maior 7,3 no grupo RSCSP. Houve diferença considerada significativa entre os grupos C e RA, com p=0,05 (Tabela 38).

Tabela 38 - Comparação IFN γ do condensado (Teste de *Kruskal-Wallis*)

IFN γ Condensado										
Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p	Pós-teste de <i>Dunn</i> *
C	11	2.97	1.1	1.84	2.26	2.7	3.16	5.14	0.05	A
RA	7	4.13	0.77	3.16	3.63	4.12	4.12	5.67		B
RSCCP	9	3.5	0.9	2.26	2.7	3.63	4.12	5.14		AB
RSCSP	8	3.89	1.51	2.48	3.16	3.4	4.13	7.3		AB

Dos 21 pacientes com RSC incluídos neste estudo, foi possível analisar IL-5, IL-8, IL-17A, IL-22 e IFN γ de 17 deles, o que possibilitou traçar um paralelo com os grupos descritos por Tomassen *et al.*⁸ (Tabela 39). Na ausência de valores pré-estabelecidos, foi considerado como normal o valor médio do grupo-controle para cada interleucina. Dentre os 17 pacientes, quatro tiveram perfil semelhante ao endotipo 1 (todas as interleucinas em níveis baixos), todos do grupo RSC sem polipose e nenhum com asma como comorbidade. Dois pacientes apresentaram o perfil do grupo 5 (IL-5 aumentada com as demais citocinas com valores baixos), ambos do grupo RSC com polipose e sem asma. Quatro pacientes foram incluídos no grupo 8 (todas as citocinas com valores altos), sendo três do grupo RSC com polipose e um RSC sem polipose, sendo que dois apresentavam asma, ambos do grupo RSC com polipose. Dois pacientes foram incluídos no grupo 10 (IL-5 e IL-8 aumentadas com o restante baixo), um do grupo RSC com polipose, que apresentava asma, e um do grupo RSC sem polipose, sem asma. Cinco pacientes não preencheram critério para inclusão em um grupo, sendo que dois deles apresentaram o mesmo padrão (todas as citocinas aumentadas, com exceção de IL-8), um do grupo RSC com polipose e um do grupo RSC sem polipose.

Tabela 39 - Separação dos pacientes com RSC nos grupos de Tomassen *et al.*^{4,8}

Grupo	Citocinas	Número pacientes	RSC com polipose	RSC sem polipose	Asma
1	IL-5 baixa IL-8 baixa IL-17A baixa IL-22 baixa IFN γ baixo	4	0	4	0
5	IL-5 alta IL-8 baixa IL-17A baixa IL-22 baixa IFN γ baixo	2	2	0	0
8	IL-5 alta IL-8 alta IL-17A alta IL-22 alta IFN γ alto	4	3	1	2
10	IL-5 alta IL-8 alta IL-17A baixa IL-22 baixa IFN γ baixo	2	1	1	1

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O impacto da RSC e da RA na qualidade de vida do paciente é significativo, sendo comparado ao de doenças crônicas como Diabetes Mellitus e Insuficiência Cardíaca Congestiva. Esse impacto foi evidenciado pelo escore total do SNOT-20p, questionário desenvolvido, inicialmente, para avaliar qualidade de vida e sintomas nasais, e que vem sendo aplicado também em estudos com RA. Foram observados valores maiores e, portanto, maior impacto na qualidade de vida, nos grupos RSCCP e RSCSP quando comparados ao grupo C. Dentre os 20 sintomas relacionados no teste, o mais referido como importante pelos pacientes foi “secreção nasal escorrendo para a garganta”, predominantemente nos grupos RA e RSCSP. Da mesma forma, ao se avaliar os resultados do NOSE, os pacientes com RSCCP e RSCSP apresentaram escores maiores do que os do grupo-controle, demonstrando a relevância dos sintomas obstrutivos. O grupo RA apresentou médias mais elevadas do que o grupo C nos dois questionários, mas essa diferença não foi significativa, o que pode ter ocorrido pelo fato dos sintomas nesta doença serem intermitentes^{1-3,13,40}.

A má qualidade do sono é uma queixa comum e ainda não muito estudada nos pacientes com RSC e RA. Todos os pacientes do grupo RSCSP apresentaram escore de PSQI-BR alterados, indicando má qualidade do sono, assim como 80% dos pacientes do grupo RSCCP e 71,4% dos pacientes do grupo RA. A má qualidade do sono pode ser um dos fatores que contribui para a piora da qualidade de vida, podendo, também, estar associada a transtornos de humor, principalmente depressão, e, no caso dos pacientes pediátricos, afetando, também, a qualidade do sono dos pais. Apenas uma paciente do grupo RSCSP referiu depressão^{17,21,22}.

A avaliação da extensão da doença foi feita por meio da endoscopia nasal pelo escore de Lund-Kenney modificado e, nos pacientes com RSC, da tomografia computadorizada (escore de *Lund-Mackay*). Observou-se que

os pacientes dos grupos RSCCP e RSCSP apresentaram escores de endoscopia significativamente mais altos do que o grupo C, enquanto o grupo RA, da mesma forma que nos questionários, apresentou média superior ao do grupo C, porém essa diferença não foi significativa. Na tomografia computadorizada, o escore de *Lund-Mackay* foi mais alto no grupo RSCCP em comparação ao RSCSP, evidenciando maior extensão da doença^{2,53,57}.

A realização do exame clínico anteriormente à coleta do material visou excluir pacientes com infecção aguda e tabagistas. Todos os pacientes apresentaram-se com frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corporal e saturação de oxigênio em ar ambiente dentro da normalidade. Quatro pacientes apresentaram medidas de pressão arterial sistólica inicial acima de 140mmHg e/ou pressão arterial diastólica inicial acima de 90 mmHg, dos quais dois referiram hipertensão arterial sistêmica prévia em tratamento, sendo que todos apresentaram normalização dos resultados após cerca de 20 minutos de repouso. Todos os pacientes tiveram valores de CO exalado abaixo de 9ppm, não havendo nenhuma exclusão por este critério.

O Teste da Sacarina foi utilizado para avaliar o transporte mucociliar. É um teste conhecido, com boa reprodutibilidade e tecnicamente simples de ser realizado, porém depende tanto da habilidade de quem o executa quanto da cooperação do paciente⁶⁴. Além disso, outros fatores podem contribuir para a diminuição do transporte, como o envelhecimento, algumas doenças crônicas, como discinesia ciliar e propriedades do muco nasal. Nenhum paciente ultrapassou o limite máximo de 60 minutos, e 90,9% dos controles apresentaram resultados normais. No grupo RA, 28,6% dos pacientes apresentaram resultados alterados, da mesma forma que 50% dos pacientes do grupo RSCCP e 30% dos pacientes com RSCSP⁶⁰⁻⁶². A média de 16,81 minutos do grupo RSCCP foi semelhante à relatada em estudo recentemente publicado, que encontrou média de 17,9 minutos⁶³. Ao se considerar o tempo, sem valor de corte, foi observada diferença entre os

grupos C e RSCCP ($p < 0,01$), possivelmente por alterações tanto do muco quanto de motilidade ciliar.

O lavado nasal e o condensado do ar exalado podem ser usados para avaliar marcadores inflamatórios da via aérea. Coletar o condensado do ar exalado é uma forma não invasiva de obter material para avaliar as vias aéreas superiores e inferiores. É método seguro e indolor, podendo ser repetido diversas vezes. O pH do condensado já foi estudado em diversas doenças e condições, principalmente pulmonares, como asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, bronquiectasia e tabagismo. Sua alteração evidencia a acidificação causada pelo estresse inflamatório nas doenças respiratórias. Um estudo de 404 pacientes saudáveis demonstrou que o pH médio do condensado é 8,0, com intervalo interquartil (25 a 75%) variando entre 7,8 e 8,1⁶⁵. Estudos anteriores demonstraram queda de seu pH em pacientes tabagistas, com diminuição de 0,05 em seu valor para cada ano-maço, o que poderia ser causado por uma resposta inflamatória à fumaça do cigarro⁶⁴. Não haviam sido realizados, até agora, estudos relacionando o pH do condensado na RSC e na RA, e, no presente estudo, não demonstramos diferença significativa entre os valores dos diversos grupos, sugerindo que, apesar de interessante na avaliação das vias aéreas inferiores, este pode não ser um bom teste para análise das vias aéreas superiores.

A análise do pH do lavado nasal procurou também avaliar proteínas inflamatórias, porém apenas em via aérea superior. Os valores encontrados foram mais elevados no grupo RSCCP ($p < 0,01$) em relação ao grupo C, sugerindo a presença de processo inflamatório mais acentuado neste grupo.

A contagem de células totais apresentou diferença entre os grupos RSCCP e C ($p < 0,02$), demonstrando maior recrutamento celular no paciente com RSC com polipose. Entretanto, esta diferença não se refletiu na contagem diferencial das células.

A avaliação das citocinas inflamatórias RSC tem sido descrita em diversas amostras de material biológico, a saber: tecido fresco (geralmente proveniente de cirurgia), contagem sérica e em secreção nasal⁹. A avaliação sanguínea tem o inconveniente de analisar apenas as citocinas sistêmicas,

sendo influenciada por outros sítios inflamatórios e excluindo as citocinas que porventura sejam expressas apenas localmente. O material a fresco tem sido muito utilizado, porém sua obtenção depende de procedimento mais invasivo. Dentre as formas de coleta de secreção nasal, optou-se pelo lavado nasal por ser de fácil realização, não necessitando de equipamento específico, e por apresentar baixo risco de complicações.

A expressão de IFN γ no condensado foi maior em pacientes do grupo RA em relação ao C, da mesma forma que IL-5 do lavado nasal foi maior no grupo RSCCP em relação ao grupo RSCSP. Este achado condiz com a trabalho de Tomassen *et al.*, que encontrou maior proporção de pacientes com polipose dentre aqueles com IL-5 alta, aventando a possibilidade de teste não invasivo para avaliar eventual benefício de terapia com imunobiológico.

A análise do perfil de citocinas permitiu avaliar, de forma pioneira, os endotipos da rinosinusite crônica em uma subpopulação brasileira. Observou-se concordância com os achados de Tomassen *et al.*, posto que foram encontrados pacientes com perfil semelhante a quatro endotipos por ele descritos. Dentre os cinco pacientes que não puderam ser classificados em nenhum grupo, observou-se que os valores das citocinas foram limítrofes. Desta forma, é possível que o eventual aumento de amostra populacional, com melhor acurácia do cálculo do valor de normalidade, leve a uma classificação diferente dos pacientes que, neste estudo, foram excluídos dos grupos já descritos. Por outro lado, dois pacientes dentre os cinco pacientes não enquadrados em endotipos descritos tiveram perfis concordantes. Frente a este fato, é interessante notar que Tomassen *et al.* realizaram seu estudo com populações europeias e chinesas, de forma que, numa população miscigenada como a brasileira, talvez se encontre um endotipo por ele ainda não descrito.

A análise isolada das citocinas apresentou dois resultados de maior interesse, quais sejam, a elevação de IFN γ no condensado do ar exalado no grupo RA em relação ao C e a elevação IL-5 no lavado nasal no grupo RSCCP em relação ao RSCSP. O IFN γ do condensado, ao diferenciar a

rinite alérgica do grupo-controle, poderia ser de utilidade para o profissional não otorrinolaringologista, se novos estudos desenvolverem teste não invasivo para ser aplicado na prática clínica. No entanto, seria necessário avaliar o comportamento do IFN γ nas rinites não alérgicas.

Já a IL-5 do lavado nasal abre um leque maior de possibilidades. Até o momento, a maioria dos estudos com concentração desta interleucina utilizou amostras de tecidos, de forma que, para avaliar pacientes candidatos ao uso de imunobiológicos, seria necessária a realização de biópsia (ressaltando-se, no entanto, que estudos anteriores com esta classe de medicamentos foram feitos sem a diferenciação dos pacientes por endotipos). Surge, assim, a possibilidade de realização desta triagem de forma simples e não invasiva, podendo ser feita mesmo em consultório. Existe, ainda, a possibilidade de utilização do lavado nasal na avaliação de candidatos ao uso de anti-IL-4 e anti IgE, a ser investigada em novos estudos.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Todos os pacientes incluídos apresentaram os marcadores estudados tanto no lavado nasal quanto no condensado, não havendo amostra negativa. No lavado nasal, a presença de IL-5 foi significativamente mais elevada no grupo RSCCP em comparação ao grupo RSCSP, enquanto, no condensado do ar exalado, a quantidade de IFN γ foi mais elevada no grupo RA quando comparado ao C.

Ao se comparar escores de qualidade de vida, os grupos RSCCP e RSCSP apresentaram valores mais elevados nos questionários SNOT-20p e NOSE quando comparados ao grupo C. Os grupos RA, RSCCP e RSCSP apresentaram maior número de pacientes com valores alterados no PSQI-BR quando comparados ao grupo C. Ao se aplicar o questionário *ECRHS*, todos os pacientes com asma apresentaram triagem positiva, além de quatro pacientes que não referiam a doença.

O escore de endoscopia nasal *Lund-Kennedy* modificado foi mais elevado nos grupos RSCCP e RSCSP quando comparado ao grupo-controle, sem, no entanto, apresentar diferença entre os grupos. O escore de *Lund-Mackay* foi mais elevado no grupo RSCCP em relação à RSCSP, possivelmente por maior extensão da doença.

O transporte mucociliar, avaliado por meio do teste da sacarina, teve tempo mais elevado no grupo RSCCP em relação ao grupo C. O pH do lavado nasal foi mais elevado no grupo RSCCP em comparação ao grupo C e não houve diferença no pH do condensado do ar exalado.

A contagem de células totais foi maior no grupo RSCCP, não sendo, no entanto, possível diferenciar os grupos com base na contagem diferencial.

8 ANEXOS

8.1 ANEXO A – Termos de Consentimento Livre e Esclarecido

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO-HCFMUSP
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

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 Mediadores Inflamatórios na Rinossinusite Crônica
 PESQUISADOR : Prof. Dr. Richard Louis Voegels
 CARGO/FUNÇÃO: professor associado INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº69.967
 UNIDADE DO HCFMUSP: Disciplina de Otorrinolaringologia do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
 RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO
 RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 36 meses

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____
 Rubrica do pesquisador _____

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

1 – Desenho do estudo e objetivo(s)

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica envolvendo pacientes apresentando o diagnóstico de rinossinusite crônica. Leia cuidadosamente este termo de consentimento livre e esclarecido e faça todas as perguntas que quiser antes de decidir se quer participar do estudo. Sua decisão de concordar em participar deste estudo é voluntária e você pode sair do estudo a qualquer momento. Se decidir não participar ou retirar-se do estudo, você não perderá os benefícios a que teria direito de outra forma. Você será informado sobre toda informação nova que possa surgir durante a pesquisa que possa alterar sua disposição em participar deste estudo. Seu médico pode descontinuar sua participação deste estudo, independentemente de seu consentimento, se ele/ela considerar que esta é a melhor conduta no seu caso em particular.

A rinossinusite crônica é uma doença em que o paciente tem obstrução ou entupimento nasal, secreção nasal purulenta, dor de cabeça e piora na capacidade de sentir cheiros por pelo menos 12 semanas. Uma parte das pessoas com esse problema tem também pólipos nasais. O objetivo deste estudo é pesquisar as substâncias inflamatórias envolvidos na rinossinusite crônica.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros;

Serão realizados exame físico (para uma avaliação geral do paciente), endoscopia nasal (para verificar a presença de secreção e pólipos), teste da sacarina (que verifica a movimentação dos cílios do nariz) e coleta para análise da secreção nasal, do lavado nasal e do ar exalado ou “respirado”, este último um exame experimental.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados

Serão realizados os seguintes procedimentos:

-aplicação de um questionário sobre dados pessoais e sintomas nasais (duração de cerca de 10 minutos);

-exame físico, que inclui medidas de peso, altura, temperatura, frequências cardíaca e respiratória e saturação de oxigênio (duração de cerca de 10 minutos);

-realização de endoscopia nasal, em que vamos colocar um anestésico tópico em spray pelas narinas (lidocaína 2%) e em seguida examinar as cavidades nasais com a colocação de um endoscópio nasal rígido (duração de cerca de 10 minutos).

-coleta de secreção nasal, em que coletaremos o muco presente no nariz com um pincel fino e delicado (cerca de 10 minutos);

-coleta do lavado nasal, com colocação de 5 ml de soro fisiológico em cada narina, uma de cada vez. Você precisará ficar sem respirar por 10 segundos, e em seguida assoar o soro em um recipiente plástico (duração de cerca de 10 minutos);

-coleta do condensado do ar exalado, exame experimental em que você colocará uma máscara parecida com a de um inalador, puxando o ar pela boca e soltando pelo nariz por cerca de 30 minutos, para que possamos coletar o vapor de água da respiração (duração de cerca de 30 minutos).

-teste da sacarina, que consiste na colocação de cerca de 5 grãos de adoçante na narina, enquanto cronometraremos o tempo que você leva para sentir o gosto do adoçante na garganta. Nesse exame é importante que você tente não falar, tossir ou se mexer até o final (duração de cerca de 30 minutos);

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

- 4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3;
Os riscos esperados neste estudo são mínimos. Pode haver ardência leve do anestésico e um pouco de desconforto durante os exames. Em alguns casos pode ocorrer um pequeno sangramento nasal ou tosse com raios de sangue após a endoscopia nasal.
- 5 – Benefícios para o participante
Não há benefício direto ao paciente ou compensação em dinheiro para aqueles que participam desse estudo. Os resultados do estudo poderão ajudar na melhor compreensão e tratamento da doença dos pacientes estudados.
- 6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar;
Não se aplica.
- 7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr (Dr Richard L. Voegels), que pode ser encontrado no endereço Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, 6º andar – Disciplina de Otorrinolaringologia, Telefone 2661-6539 Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: cappesq@hcnnet.usp.br.
- 8 – 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.
- 09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;
- 10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;
- 11 – 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.
- 12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____
Rubrica do pesquisador _____

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

1 – Desenho do estudo e objetivo(s)

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica envolvendo pacientes apresentando o diagnóstico de rinossinusite crônica. Leia cuidadosamente este termo de consentimento livre e esclarecido e faça todas as perguntas que quiser antes de decidir se quer participar do estudo. Sua decisão de concordar em participar deste estudo é voluntária e você pode sair do estudo a qualquer momento. Se decidir não participar ou retirar-se do estudo, você não perderá os benefícios a que teria direito de outra forma. Você será informado sobre toda informação nova que possa surgir durante a pesquisa que possa alterar sua disposição em participar deste estudo. Seu médico pode descontinuar sua participação deste estudo, independentemente de seu consentimento, se ele/ela considerar que esta é a melhor conduta no seu caso em particular.

A rinossinusite crônica é uma doença em que o paciente tem obstrução ou entupimento nasal, secreção nasal purulenta, dor de cabeça e piora na capacidade de sentir cheiros por pelo menos 12 semanas. Uma parte das pessoas com esse problema tem também pólipos nasais. O objetivo deste estudo é pesquisar as substâncias inflamatórias envolvidos na rinossinusite crônica.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros;

Seu médico solicitou uma tomografia computadorizada da face, um exame que é indicado para o diagnóstico da rinossinusite crônica. É também usado para ver se há pólipos nasais e para avaliar a necessidade de cirurgia. Não vai haver nenhuma diferença no seu exame devido ao estudo, mas vamos utilizar a sua tomografia para adicionar novos dados na pesquisa

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados

A tomografia computadorizada é feita com o paciente deitado em uma máquina, sem se mexer por alguns minutos. É realizada por um aparelho, o tomógrafo, que emite raios x e depois processa os dados formando imagens no computador.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3;

O paciente deve ficar deitado durante o exame sem se mexer, e o aparelho, que é parecido com um “tubo”, pode ser desconfortável para quem tem claustrofobia ou medo de lugares apertados.

Como a tomografia utiliza radiação, existe a preocupação com o paciente que faz o exame várias vezes. A exposição acumulada à radiação ao longo do tempo aumenta o risco do aparecimento de alguns tipos de tumores, como o de tireoide, de mama e leucemia. Também devido à radiação, em geral o exame não é feito em gestantes.

5 – Benefícios para o participante

Não há benefício direto ao paciente ou compensação em dinheiro para aqueles que participam desse estudo. Os resultados do estudo poderão ajudar na melhor compreensão e tratamento da doença dos pacientes estudados.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____
Rubrica do pesquisador _____

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar;

Não se aplica.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Prof. Dr Richard L. Voegels, que pode ser encontrado no endereço Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, 6º andar – Disciplina de Otorrinolaringologia, telefone 2661-6539. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

8 – 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.

09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

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

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira

12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____
Rubrica do pesquisador _____

8.2 ANEXO B – Ficha dos pacientes

Mediadores Inflamatórios na Rinossinusite Crônica

() RSC com polipose () RSC sem polipose () Rinite Alérgica () Controle

1. Questionário de informações gerais sobre a saúde

Nome completo: _____
 RGHC: _____ idade: _____ sexo: () M () F religião: _____
 RG: _____ data de nascimento: ____/____/____ peso: ____ altura: ____
 Endereço: _____
 Bairro: _____ cidade: _____ estado: ____ CEP: _____
 Telefone: (____) _____ celular: (____) _____ estado civil: _____
 Grau de escolaridade: _____ profissão: _____
 Local de trabalho: _____ Moradia: () alvenaria () outros _____
 Animais dentro de casa: () nenhum () gato () cachorro () aves () roedores () outros _____
 Comorbidades:
 () Asma medicamentos: _____ quanto tempo: _____
 () HAS medicamentos: _____ quanto tempo: _____
 () DM medicamentos: _____ quanto tempo: _____
 () DPOC medicamentos: _____ quanto tempo: _____
 () Depressão medicamentos: _____ quanto tempo: _____
 Outras doenças: _____ quanto tempo: _____
 Medicções em uso atual: _____

Alergia a aspirina, AAS, ácido acetilsalicílico ou anti-inflamatórios () sim () não

Internações hospitalares prévias (quando? Por quê?): _____

Infecções respiratórias: () não () sim Quando: _____, antibiótico: _____
 Tabagismo: () não () sim Quantos cigarros por dia? ____ Há quantos anos? ____ Parou? () não () sim há ____
 Dieta (restrições): _____
 Faz acompanhamento médico? () Sim () Não Com qual frequência? _____ Local: _____
 Segue corretamente a orientação médica? () Sim () Não Machuca-se com frequência: () Sim () Não
 Realiza alguma atividade física? () Não () Sim Qual?/Duração: _____

Afastamento do trabalho? () Não () Sim Motivo e tempo: _____

2. Resultados dos questionários

Pontuação: NOSE: _____ SNOT-20: _____ ECRHS: _____ Pittsburgh: _____

3. Exames

Endoscopia nasal (____/____/20____): _____

Característica	Direito	Esquerdo
Pólipo (0, 1, 2, 3)		
Edema (0, 1, 2)		
Descarga (0, 1, 2)		
Total		

Escore tomográfico Lund-Mackay (TC de ____/____/20____): total

Seio	Direito	Esquerdo
Maxilar (0, 1, 2)		
Etmoidal anterior (0, 1, 2)		
Etmoidal posterior (0, 1, 2)		
Esfenoidal (0, 1, 2)		
Frontal (0, 1, 2)		
Complexo ostiomeatal (0,2)		

DATA:	RESULTADO	OBSERVAÇÃO
Temperatura ambiente		
Umidade		
Temperatura corporal		
FC		
FR		
PA		
SpO2		
Sacarina – lado _____		
CO exalado		
CO Hb		
pH lavado	Pré: Pós:	
pH EBC	Pré: Pós:	
Células Totais		

8.3 ANEXO C - 20-Item Sino-Nasal *Outcome Test* em Português (SNOT-20p)



GRUPO DE RINOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA USP

NOME: _____ SEXO: ____

R.GHC: _____ IDADE: __ TELEFONE: (____) _____ - _____

AVALIAÇÃO DE RESULTADOS NASOSSINUAIS (SNOT-20)

Você encontrará abaixo uma lista de sintomas e consequências sociais e emocionais da sua rinosinusite. Gostaríamos de saber mais sobre estes problemas e pedimos que responda-se às seguintes perguntas da melhor maneira possível. Não há respostas certas ou erradas e somente você pode nos dar essas informações. Por gentileza, dê uma nota para seus problemas conforme se apresentaram nas duas últimas semanas. Obrigado por sua participação. Caso tenha alguma dúvida, peça a nossa ajuda imediatamente.

1. Considerando a gravidade do problema, quando aparece e a frequência com que acontece, dê uma nota para cada item abaixo de acordo com o grau de intensidade do problema. Faça um círculo ao redor do número que corresponde ao que você sente. Use a escala ao lado:

	Nenhum problema	Problema muito pequeno	Problema pequeno	Problema moderado	Problema sério	Problema muito sério	Se tem mais problemas
1. Necessidade de escorrimento	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
2. Espirro	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
3. Mau odor	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
4. Tosse	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
5. Secreção nasal escorrendo para a garganta	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
6. Secreção nasal grossa	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
7. Coceira no nariz	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
8. Lombas	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
9. Dor de cabeça	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
10. Dor no pescoço ou no	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
11. Dificuldade de pagar no sono	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
12. Acordar durante a noite	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
13. Falta de uma boa noite de sono	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
14. Acordar cansado	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
15. Fadiga	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
16. Produtividade diminuída	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
17. Concentração reduzida	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
18. Frustração e inquietude irritada	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
19. Tristeza	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>
20. Emergência com a doença	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4	5	<input type="checkbox"/>

2. Favor marcar os itens mais importantes que estão prejudicando sua saúde (máximo de 5 itens) _____ #

8.4 ANEXO D - Nasal Obstruction Symptom Evaluation (NOSE)



Grupo de Rinologia do Hospital das Clínicas da USP

Nome: _____ Sexo: ____ Idade: ____

RGHC: _____ Telefone: (____) _____ - _____

Instrumento para Avaliação dos Sintomas da Obstrução Nasal NOSE

- Ao paciente: Pedimos que nos ajude a compreender melhor o impacto da obstrução nasal em sua qualidade de vida.
Por favor, dê suas respostas a esta pesquisa. Obrigada!

Durante o último mês qual foi a intensidade em que as situações abaixo foram um problema para você?

Faça um círculo na resposta mais correta

	Não é um problema	Problema muito pequeno	Problema moderado	Problema razoavelmente grave	Problema grave
1. Congestão nasal ou sensação de nariz cheio	0	1	2	3	4
2. Bloqueio ou obstrução nasal	0	1	2	3	4
3. Dificuldade para respirar pelo nariz	0	1	2	3	4
4. Dificuldade para dormir	0	1	2	3	4
5. Incapaz de respirar o suficiente pelo nariz durante exercício ou esforço	0	1	2	3	4

8.5 ANEXO E - Índice de Qualidade do Sono de *Pittsburgh* (PSQI-BR)

Índice de qualidade do sono de *Pittsburgh*

Nome: _____

RGHC: _____

Data de nascimento: _____ Data do preenchimento: _____

Instruções:

As questões a seguir são referentes aos hábitos de sono apenas durante o mês passado. Suas respostas devem indicar o mais corretamente possível o que aconteceu na maioria dos dias e noites do mês passado.

Por favor, responda a todas as questões.

1) Durante o mês passado, à que horas você foi deitar à noite na maioria das vezes?

HORÁRIO DE DEITAR: _____

2) Durante o mês passado, quanto tempo (em minuto) você demorou para pegar no sono, na maioria das vezes?

QUANTOS MINUTOS DEMOROU PARA PEGAR NO SONO: _____

3) Durante o mês passado, a que horas você acordou de manhã, na maioria das vezes?

HORÁRIO DE ACORDAR: _____

4) Durante o mês passado, quantas horas de sono por noite você dormiu? (pode ser diferente do número de horas que você ficou na cama)

HORAS DE SONO POR NOITE: _____

Para cada uma das questões seguinte escolha uma única resposta, que você ache mais correta. Por favor, responda a todas as questões.

5) Durante o mês passado, quantas vezes você teve problemas para dormir por causa de:

a) Demorar mais de 30 minutos para pegar no sono

() nenhuma vez () menos de uma vez por semana

() uma ou duas vezes por semana () três vezes por semana ou mais

b) Acordar no meio da noite ou de manhã muito cedo

() nenhuma vez () menos de uma vez por semana

() uma ou duas vezes por semana () três vezes por semana ou mais

c) Levantar-se para ir ao banheiro

() Nenhuma vez () menos de uma vez por semana

() uma ou duas vezes por semana () três vezes por semana ou mais

d) Ter dificuldade para respirar

() nenhuma vez () menos de uma vez por semana

() uma ou duas vezes por semana () três vezes por semana ou mais

e) Tossir ou roncar muito alto

() nenhuma vez () menos de uma vez por semana

() uma ou duas vezes por semana () três vezes por semana ou mais

f) Sentir muito frio

() nenhuma vez () menos de uma vez por semana

() uma ou duas vezes por semana () três vezes por semana ou mais

g) Sentir muito calor
 nenhuma vez menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

h) Ter sonhos ruins ou pesadelos
 nenhuma vez menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

i) Sentir dores
 nenhuma vez menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

j) Outra razão, por favor, descreva:

Quantas vezes você teve problemas para dormir por esta razão durante o mês passado?
 nenhuma vez menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

6) Durante o mês passado, como você classificaria a qualidade do seu sono?
 Muito boa ruim
 Boa muito ruim

7) Durante o mês passado, você tomou algum remédio para dormir, receitado pelo médico, ou indicado por outra pessoa (farmacêutico, amigo, familiar) ou mesmo por sua conta?
 nenhuma vez menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais
Qual(is)? _____

8) Durante o mês passado, se você teve problemas para ficar acordado enquanto estava dirigindo, fazendo suas refeições ou participando de qualquer outra atividade social, quantas vezes isso aconteceu?
 nenhuma vez menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

9) Durante o mês passado, você sentiu indisposição ou falta de entusiasmo para realizar suas atividades diárias?
 Nenhuma indisposição nem falta de entusiasmo
 indisposição e falta de entusiasmo pequenas
 Indisposição e falta de entusiasmo moderadas
 muita indisposição e falta de entusiasmo
Comentários do entrevistado (se houver): _____

10) Você cochila? Não Sim
Comentário do entrevistado (se houver): _____
Caso Sim – Você cochila intencionalmente, ou seja, pôr que quer?
 Não Sim
Comentários do entrevistado (se houver): _____
Para você, cochilar é
 Um prazer Uma necessidade Outro – qual? _____
Comentários do entrevistado (se houver): _____

8.6 ANEXO F – Questionário ECRHS

Questionário *ECRHS - Screening Questionnaire*

Nome: _____ RGHC: _____

Data de nascimento: _____ Data do preenchimento: _____

Para responder a estas questões, por favor, escolha a resposta apropriada e se você não estiver com certeza, por favor, responda “não”.

1. Você teve chiado ou aperto no peito alguma vez nos últimos 12 meses?

Se a resposta for “não”, vá para a questão 2. Se “sim”

1.1 Quando você teve chiado, sentiu falta de ar junto?

1.2 Quando você teve falta de ar, sibilos (chiado no peito) estavam sempre presentes?

1.3 Você teve chiado e sibilos (chiado no peito) mesmo quando não estava resfriado?

2. Você acordou com a sensação de aperto no peito alguma vez nos últimos 12 meses?

3. Você acordou por causa de uma crise de falta de ar nos últimos 12 meses?

4. Você acordou por causa de uma crise de tosse nos últimos 12 meses?

5. Você teve uma crise de asma nos últimos 12 meses?

6. Você está usando no momento algum medicamento (incluindo inalações, bombinhas ou comprimidos) para asma?

7. Você tem alguma alergia no nariz incluindo rinite alérgica a flores?

8. Qual é a sua data de nascimento?

9. Qual é a data de hoje?

10. Seu sexo é masculino ou feminino?

8.7 ANEXO G - Endoscopia nasal (Escore de *Lund-Kennedy* modificado)

Endoscopia nasal (___/___/20___): _____

Característica	Direito	Esquerdo
Pólipo (0, 1, 2, 3)		
Edema (0, 1, 2)		
Descarga (0, 1, 2)		
Total		

8.8 ANEXO H – Escore tomográfico de *Lund-Mackay*

Escore tomográfico *Lund-Mackay* (TC de ____ / ____ /20 ____): total _____

Seio	Direito	Esquerdo
Maxilar (0, 1, 2)		
Etmoidal anterior (0, 1, 2)		
Etmoidal posterior (0, 1, 2)		
Esfenoidal (0, 1, 2)		
Frontal (0, 1, 2)		
Complexo ostiomeatal (0,2)		

9 REFERÊNCIAS

9 REFERÊNCIAS

1. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, *et al.* Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*. 2008;63(Supl.86):8-60.
2. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, *et al.* EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology*. 2012;50(1):1-12.
3. Pilan RRD, Pinna FD, Bezerra TFP, Mori RL, Padua FGD, Bento RF, *et al.* Prevalence of chronic rhinosinusitis in Sao Paulo. *Rhinology*. 2012;50(2):129-38.
4. Hastan D, Fokkens WJ, Bachert C, Newson RB, Bislimovska J, Bockelbrink A, *et al.* Chronic rhinosinusitis in Europe - an underestimated disease. A GA(2)LEN study. *Allergy*. 2011;66(9):1216-23.
5. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, *et al.* EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology*. 2012;50(1):1-12.
6. Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, *et al.* Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: An immune barrier hypothesis. *Am J Rhinol*. 2008;22(6):549-59.
7. Voegels RL, Padua FGD. Expression of interleukins in patients with nasal polyposis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;132(4):613-9.
8. Tomassen P, Vandeplas G, Van Zele T, Cardell LO, Arebro J, Olze H, *et al.* Inflammatory endotypes of chronic rhinosinusitis based on cluster analysis of biomarkers. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(5):1449-56.
9. Bachert C, Akdis CA. Phenotypes and emerging endotypes of chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(4):621-8.
10. Muraro A, Lemanske RF, Hellings PW, Akdis CA, Bieber T, Casale TB, *et al.* Precision medicine in patients with allergic diseases: Airway diseases and atopic dermatitis-PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American

- Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(5):1347-58.
11. Hellings PW, Klimek L, Cingi C, Agache I, Akdis C, Bachert C, *et al*. Non-allergic rhinitis: position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2017;72(11):1657-65.
 12. Sakano E, Sarinho ESC, Cruz AA, Pastorino AC, Tamashiro E, Kuschnir F, *et al*. IV Brazilian Consensus on Rhinitis - an update on allergic rhinitis. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2018;84(1):3-14.
 13. Benninger MS, Ferguson BJ, Hadley JA, Hamilos DL, Jacobs M, Kennedy DW, *et al*. Adult chronic rhinosinusitis: definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003;129(3 Suppl):S1-32.
 14. Anselmo-Lima WT, Sakano E, Tamashiro E, Nunes AAA, Fernandes AM, Pereira EA, *et al*. Rhinosinusitis: evidence and experience. A summary. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2015;81(1):8-18.
 15. Scheckenbach K, Wagenmann M. Cytokine Patterns and Endotypes in Acute and Chronic Rhinosinusitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2016;16(1):8.
 16. Hamilos DL. Chronic rhinosinusitis: Epidemiology and medical management. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(4):693-709.
 17. Alt JA, Smith TL, Mace JC, Soler ZM. Sleep Quality and Disease Severity in Patients With Chronic Rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2013;123(10):2364-70.
 18. Bhattacharyya N, Orlandi RR, Grebner J, Martinson M. Cost burden of chronic rhinosinusitis: a claims-based study. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011;144(3):440-5.
 19. Bhattacharyya N. Contemporary assessment of the disease burden of sinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2009;23(4):392-5.
 20. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, *et al*. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(3):466-76.
 21. Ridolo E, Caffarelli C, Olivieri E, Montagni M, Incorvaia C, Baiardini I, *et al*. Quality of sleep in allergic children and their parents. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2015;43(2):180-4.
 22. Yuksel H, Sogut A, Yilmaz H, Yilmaz O, Dinc G. Sleep actigraphy evidence of improved sleep after treatment of allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009;103(4):290-4.

23. Pawankar R, Hayashi M, Yamanishi S, Igarashi T. The paradigm of cytokine networks in allergic airway inflammation. *Curr Op Allergy Clin Immunol*. 2015;15(1):41-8.
24. Tato CM, O'Shea JJ. Immunology - what does it mean to be just 17? *Nature*. 2006;441(7090):166-8.
25. Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB, Homburger HA, Frigas E, Gaffey TA, *et al*. The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis. *Mayo Clin Proc*. 1999;74(9):877-84.
26. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SGO, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(4):607-14.
27. Bachert C, Zhang N, Patou J, van Zele T, Gevaert P. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008;8(1):34-8.
28. Foreman A, Holtappels G, Psaltis AJ, Jervis-Bardy J, Field J, Wormald PJ, *et al*. Adaptive immune responses in Staphylococcus aureus biofilm-associated chronic rhinosinusitis. *Allergy*. 2011;66(11):1449-56.
29. Bezerra TFP, Padua FGD, Gebrim E, Saldiva PHN, Voegels RL. Biofilms in Chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011;144(4):612-6.
30. Zhang N, Van Zele T, Perez-Novo C, Van Bruaene N, Holtappels G, DeRuyck N, *et al*. Different types of T-effector cells orchestrate mucosal inflammation in chronic sinus disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(5):961-8.
31. Anderson GP. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *Lancet*. 2008;372(9643):1107-19.
32. Lotvall J, Akdis CA, Bacharier LB, Bjermer L, Casale TB, Custovic A, *et al*. Asthma endotypes: A new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(2):355-60.
33. Basinski TM, Holzmann D, Eiwegger T, Zimmermann M, Klunker S, Meyer N, *et al*. Dual nature of T cell-epithelium interaction in chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(1):74-80.
34. Bachert C, Zhang L, Gevaert P. Current and future treatment options for adult chronic rhinosinusitis: Focus on nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(6):1431-40.

35. Gevaert P, Van Bruaene N, Cattaert T, Van Steen K, Van Zele T, Acke F, *et al.* Mepolizumab, a humanized anti-IL-5 mAb, as a treatment option for severe nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(5):989-U428.
36. Gevaert P, Lang-Loidolt D, Lackner A, Stammberger H, Staudinger H, Van Zele T, *et al.* Nasal IL-5 levels determine the response to anti-IL-5 treatment in patients with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(5):1133-41.
37. Bachert C, Mannent L, Naclerio RM, Mullol J, Ferguson BJ, Jiao L, *et al.* Dupilumab in chronic sinusitis with nasal polyposis, with and without asthma. *Allergy.* 2015;70:107-.
38. Piccirillo JF, Merritt MG, Richards ML. Psychometric and clinimetric validity of the 20-Item Sino-Nasal *Outcome Test* (SNOT-20). *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;126(1):41-7.
39. Bezerra TF, Piccirillo JF, Fornazieri MA, de M Pilan RR, Abdo TR, de Rezende Pinna F, *et al.* Cross-Cultural Adaptation and Validation of SNOT-20 in Portuguese. *Int J Otolaryngol.* 2011;2011:306529.
40. Weinstein SF, Katial R, Jayawardena S, Pirozzi G, Staudinger H, Eckert L, *et al.* Efficacy and safety of dupilumab in perennial allergic rhinitis and comorbid asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;142(1):171-77.
41. Stewart MG, Witsell DL, Smith TL, Weaver EM, Yueh B, Hannley MT. Development and validation of the *Nasal Obstruction Symptom Evaluation* (NOSE) scale. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;130(2):157-63.
42. Bezerra TF, Padua FG, Pilan RR, Stewart MG, Voegels RL. Cross-cultural adaptation and validation of a quality of life questionnaire: the Nasal Obstruction Symptom Evaluation questionnaire. *Rhinology.* 2011;49(2):227-31.
43. Buysse DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The *Pittsburgh* sleep quality index - a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989;28(2):193-213.
44. Bertolazi AN. *Tradução, adaptação cultural e validação de dois instrumentos de avaliação do sono: Escala de Sonolência de Epworth e Índice de Qualidade de Sono de Pittsburgh* [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
45. Burney P, Jarvis D. *Protocol for the European Community Respiratory Health Survey II.* Department of Public Health Sciences, King's College London; 2002.

46. Andrade E. *Validação do questionário de triagem de asma do inquérito de saúde respiratória da Comunidade Européia (ECRHS) na cidade de Manaus-AM* [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.
47. Centre Ec-o. *Symptom outcome measures in teh ECRHS*. Available from: <http://www.ecrhs.org/publications.htm>2014.
48. Belda J, Parameswaran K, Keith PK, Hargreave FE. Repeatability and validity of cell and fluid-phase measurements in nasal fluid: a comparison of two methods of nasal lavage. *Clin Exp Allergy*. 2001;31(7):1111-5.
49. Holmberg K, Bake B, Pipkorn U. The effect of topical nasal anaesthesia on allergen-induced symptoms, obstruction and blood flow. *Clin Exp Allergy*. 1989 Jul;19(4):443-7.
50. Cole P, Haight J. Nasal mucosal anaesthesia and airflow resistance. *Rhinology*. 1985. p. 209-12.
51. Ingels K, Nijziel MR, Graamans K, Huizing EH. Influence of cocaine and lidocaine on human nasal cilia - beat frequency and harmony in-vitro. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1994;120(2):197-201.
52. Lund VJ, Kennedy DW, Draf W, Friedman WH, Gwaltney JM, Hoffman SR, *et al*. Quantification for staging sinusitis. The Staging and Therapy Group. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1995;104(10):17-21.
53. Hopkins C, Browne JP, Slack R, Lund V, Brown P. The *Lund-Mackay* staging system for chronic rhinosinusitis: how is it used and what does it predict? *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007;137(4):555-61.
54. Lildholdt T, Rundcrantz H, Bende M, Larsen K. Glucocorticoid treatment for nasal polyps - The use of topical budesonide powder, intramuscular betamethasone, and surgical treatment. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1997;123(6):595-600.
55. Lund VJ, Mackay IS. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology*. 1993;31(4):183-4.
56. Lund VJ, Kennedy DW. Staging for rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1997;117(3 Pt 2):S35-40.
57. Falco JJ, Andrew J, Thomas AJ, Quin X, Ashby S, Mace JC, Deconde AS, *et al*. *Lack of correlation between patient reported location and severity of facial pain and radiographic burden of disease in chronic rhinosinusitis*. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6(11):1173-81.

58. Rizzo MC, Sole D, Naspitz CK. Corticosteroids (inhaled and/or intranasal) in the treatment of respiratory allergy in children: safety vs. efficacy. *Allergol Immunopathol.* 2007;35(5):197-208.
59. Chong Neto HJ, Rosário CS, Rosário NA. Corticosteroides intranasais. *Rev Bras Alerg Immunopatol.* 2010;33(2):51-7.
60. de Oliveira-Maul JP, de Carvalho HB, Goto DM, Maia RM, Flo C, Barnabe V, *et al.* Aging, diabetes, and hypertension are associated with decreased nasal mucociliary clearance. *Chest.* 2013;143(4):1091-7.
61. Goto DM, Torres GM, Seguro AC, Saldiva PHN, Lorenzi G, Nakagawa NK. Furosemide impairs nasal mucociliary clearance in humans. *Respir Physiol Neurobiol.* 2010;170(3):246-52.
62. Haxel BR, Clemens M, Karaiskaki N, Dippold U, Ketterer L, Mann WJ. Controlled trial for long-term low-dose erythromycin after sinus surgery for chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2015;125(5):1048-55.
63. Varvyanskaya A, Lopatin A. Efficacy of long-term low-dose macrolide therapy in preventing early recurrence of nasal polyps after endoscopic sinus surgery. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2014;4(7):533-41.
64. Nicola ML, de Carvalho HB, Yoshida CT, dos Anjos FM, Nakao M, Santos UD, *et al.* Young "healthy" smokers have functional and inflammatory changes in the nasal and the lower airways. *Chest.* 2014;145(5):998-1005.
65. Paget-Brown AO, Ngaintrakulpanit L, Smith A, Bunyan D, Hom S, Nguyen A, *et al.* Normative data for pH of exhaled breath condensate. *Chest.* 2006;129(2):426-30.
66. SAS/STAT User's Guide, Version 9.0. Cary, NC, EUA: SAS Institute Inc.; 2002.
67. Team RC. *R: a language and environment for statistical computing.* Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2014.