

ARACY PEREIRA SILVEIRA BALBANI

**Ação do estrógeno e progesterona na mucosa nasal humana :**

avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina e pesquisa de  
receptores hormonais através de método imuno-histoquímico

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

Área de concentração: Otorrinolaringologia

Orientador: Prof. Dr. Silvio Antonio Monteiro Marone

SÃO PAULO  
2001

Aos meus pais,

**LÚCIA e JOSÉ AMARO.**

Ela, dulcíssima; ele, singular.

Quando penso em respeito, honestidade,

coragem e justiça,

penso neles.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Aroldo Miniti**, grande incentivador, tão atencioso e delicado em todos esses anos de convivência, a quem externo meu imenso respeito e afeto.

Ao Prof. Dr. **Ossamu Butugan**, pelo interesse, sugestões sempre oportunas e confiança depositada neste e em outros trabalhos. É impossível conhecê-lo sem admirá-lo, respeitá-lo e estimá-lo profundamente.

Ao Prof. Dr. **Ricardo Ferreira Bento**, cujo espírito prático tem propiciado não só a pesquisa na Disciplina, mas também o comprometimento dos otorrinolaringologistas com seu papel na sociedade.

Ao Prof. Dr. **Silvio Antonio Monteiro Marone**, que norteou os caminhos como orientador, tendo sempre acolhido incondicionalmente os novos projetos. Cúmplice na satisfação de ver realizado este estudo.

Ao Prof. Dr. **Paulo Hilário Nascimento Saldiva**, merecedor de respeito e admiração por tudo de bom que tem oferecido durante tantos anos: a excelência de seus conhecimentos, a dedicação à pesquisa médica e a busca de um ambiente mais saudável para todos.

À Dra. **Felicia Yumi Ito**, sempre competente, paciente e dedicada, capaz de enriquecer o trabalho científico e, mais do que isso, oferecer amizade e lealdade irrestritas.

Ao Dr. **João Ferreira de Mello Júnior**, pelo concurso fraterno, interesse ímpar nesta pesquisa e pelos ensinamentos contínuos sobre as rinites. Sua simplicidade é a maior expressão da riqueza de seu caráter.

À Dra. **Mônica Menon Miyake**, companheira de estudos, amiga sincera, personificação da gentileza e solidariedade. Tão rara e delicada, que a ela só se pode dedicar o melhor carinho fraterno.

Ao Dr. **Edigar Rezende de Almeida**, à Dra. **Signe Schuster Grasel** e ao Dr. **Richard Louis Voegels** pelas críticas e sugestões que enriqueceram a tese.

Aos **médicos residentes** da Divisão de Clínica Otorrinolaringológica do Hospital das Clínicas.

A **Antonio Belo, Darci, Fabíola, Gildete, Kátia, Maria Aparecida, Maria de Lourdes, Marinalva, Milton, Nascimento, Rogéria, Valéria e Vera**, da Biblioteca Central da Faculdade de Medicina da USP, cuja competência e boa vontade sem limites permitiram a realização de extensa pesquisa bibliográfica.

A **Bárbara, Edzira, Márcia, Marilede, Martha Regina e Ofélia**, da Disciplina de Otorrinolaringologia, e a **Ana Lúcia Garippo, Lenira e Maria Eli**, do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP, pelo auxílio valiosíssimo durante a Pós-Graduação. Eficiência e simpatia cativantes.

A **Ângela, Angelina, Aparecida Rosa (Cidinha), Celina, Claudecy, Deise, Esmeralda, Geraldo, Leônidas, Marcos, Maria Aparecida Almeida (Cida), Maria José, Marilene, Marisa, Mery, Milva, Paulo e Rita**, da enfermagem e secretaria da Divisão de Clínica Otorrinolaringológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, que contribuíram também para tornar mais feliz o trabalho no Hospital.

Aos **pacientes e voluntários** que participaram do estudo.

Gratidão perene a todas essas pessoas queridas, na certeza de que foi um privilégio contar com sua colaboração.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** o agradecimento pelo apoio financeiro a este trabalho.

*“A principal coisa da vida não é o conhecimento, mas o uso que se faz dele”.*

Talmud

Que este estudo consiga despertar o interesse dos colegas no assunto e possa contribuir de forma efetiva em benefício das pacientes com afecções nasais.

## ***SUMÁRIO***

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE SIGLAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	6
2.1. TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL	6
2.1.1. Aspectos fundamentais	6
2.1.2. Transporte mucociliar nasal de sacarina em humanos	9
2.2. AÇÃO DOS HORMÔNIOS FEMININOS NA MUCOSA NASAL: ALTERAÇÕES MORFOFUNCIONAIS	11
2.2.1. Estudos Experimentais	11
2.2.2. Estudos em humanos	13
2.3. RECEPTORES PARA ESTRÓGENO E PARA PROGESTERONA	16
2.3.1. Aspectos fundamentais	16
2.3.2. Receptores para estrógeno e progesterona na mucosa nasal humana	19
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	21
3.1. CASUÍSTICA	22
3.1.1. Grupo A	23
3.1.2. Grupo B	24
3.2. MÉTODOS	26
3.2.1. Avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina	26
3.2.2. Pesquisa dos receptores para estrógeno e progesterona na mucosa nasal humana	28
3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	31

4. RESULTADOS	32
4.1. AVALIAÇÃO DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DE SACARINA	32
4.2. PESQUISA DOS RECEPTORES PARA ESTRÓGENO E PROGESTERONA NA MUCOSA NASAL HUMANA	39
5. DISCUSSÃO	42
5.1. AVALIAÇÃO DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DE SACARINA	42
5.2. PESQUISA DE RECEPTORES PARA ESTRÓGENO E PROGESTERONA NA MUCOSA NASAL HUMANA	47
6. CONCLUSÕES	56
7. ANEXOS	58
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

## *LISTA DE ABREVIATURAS*

a.C.	antes de Cristo
AD	adenoidectomia
DS	desvio septal
ed.	edição
et al.	e outros
fig.	figura
HAD	hipertrofia da adenóide (tonsila nasofaríngea)
Nº	número
p.	página
RE	receptores para estrógeno
RA	rinite alérgica
RINA	rinite não alérgica
RP	receptores para progesterona
RSP	rinosseptoplastia
SP	septoplastia
TIP	turbinectomia parcial da concha inferior
v.	volume



## *LISTA DE SÍMBOLOS*

kg	quilograma
m	metro
mg	miligrama
min	minutos
ml	mililitro
M/l	molar por litro
mm	milímetro
µm	micrômetro
°C	graus Celsius
p	nível descritivo de significância
pH	potencial hidrogeniônico
<	menor que
=	igual a
÷	dividido por

## LISTA DE SIGLAS

BSA	soroalbumina bovina (“bovine seroalbumin”)
DAB	3,3-tetrahidrocloroeto de diaminobenzidina
DNA	ácido desoxirribonucléico
DNAC	ácido desoxirribonucléico complementar
IMC	índice de massa corpórea
LSAB	complexo streptavidina-biotina (“labeled streptavidin-biotin complex”)
PBS	salina tamponada fosfatada (“phosphate-buffered saline”)
RNA <sub>m</sub>	ácido ribonucléico mensageiro
SPSS	“Statistical Package for Social Science”

## RESUMO

BALBANI, A.P.S. **Ação do estrógeno e progesterona na mucosa nasal humana: avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina e pesquisa de receptores hormonais através de método imuno-histoquímico.** São Paulo, 2001. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Apesar do estudo exaustivo do transporte mucociliar nasal, ainda há dados controversos sobre a influência direta dos hormônios sexuais femininos nesse mecanismo. O presente estudo teve por objetivos: 1. avaliar o transporte mucociliar nasal de sacarina nos sexos masculino e feminino, comparando-o nas fases folicular, periovulatória e lútea de ciclos ovarianos consecutivos e 2. identificar a expressão e a localização dos receptores para estrógeno e progesterona na mucosa nasal humana em conchas nasais inferiores de indivíduos dos sexos masculino e feminino na idade reprodutiva. O transporte mucociliar nasal de sacarina foi avaliado prospectivamente em 14 voluntários não fumantes, sem queixas nasais, com idades entre 15 e 30 anos (7 homens e 7 mulheres, com média de idade 23,5 anos). Nas mulheres, o transporte mucociliar nasal de sacarina foi medido nas fases folicular, periovulatória e lútea durante dois ciclos ovarianos consecutivos (em cinco casos) ou três ciclos consecutivos (em dois casos). Nos homens, o transporte mucociliar nasal de sacarina foi avaliado em medidas repetidas aleatoriamente três vezes (em dois casos) ou seis vezes (em cinco casos). A expressão dos receptores para estrógeno e progesterona na mucosa nasal humana foi avaliada por método imuno-histoquímico, de modo retrospectivo, em conchas nasais inferiores conservadas em formaldeído e fixadas na parafina, arquivadas após a cirurgia de turbinectomia parcial da concha inferior a que foram submetidos 20 pacientes da mesma faixa etária dos voluntários (10 pacientes do sexo masculino e 10 do sexo feminino, com idades entre 15 e 33 anos, média de idade 22,1 anos). Para a imuno-histoquímica utilizaram-se anticorpos monoclonais de camundongo contra receptores para estrógeno (clone 6F11, Novocastra) e para progesterona (clone 16, Novocastra) separadamente. Não houve diferenças significativas no transporte mucociliar nasal de sacarina entre as fases folicular, periovulatória e lútea em ciclos ovarianos consecutivos, nem entre os sexos ( $p=0,08$ ). Entretanto, considerando-se apenas o primeiro ciclo ovariano, o transporte mucociliar nasal de sacarina foi mais rápido durante a fase folicular ( $p=0,03$ ). Os receptores para estrógeno e progesterona foram encontrados no citoplasma das glândulas serosas da lâmina própria exclusivamente no sexo masculino (6/10 homens e 3/10 homens respectivamente). Concluindo, o estrógeno e a progesterona não influenciaram as medidas repetidas do transporte mucociliar nasal de sacarina em indivíduos sem queixas nasais. Contudo, os receptores para estrógeno e progesterona foram encontrados nas glândulas seromucosas da lâmina própria no sexo masculino, indicando que ambos os hormônios poderiam agir diretamente sobre a produção do muco nasal.

## SUMMARY

**BALBANI, A.P.S. Estrogen and progesterone influence in human nasal mucosa: evaluation of nasal saccharin mucociliary transport and test for hormone receptors with immunohistochemical staining.** São Paulo, 2001. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Although nasal mucociliary clearance has been thoroughly studied, there is controversial evidence that it is directly influenced by female sex hormones. This study focused on: 1. evaluating saccharin nasal mucociliary transport in both sexes and during the follicular, periovulatory and luteal phases of consecutive ovarian cycles, and 2. identifying the expression and localisation of estrogen and progesterone receptors in human nasal mucosa from inferior turbinates of patients in reproductive age. Saccharin nasal mucociliary transport was prospectively evaluated in 14 nonsmoking healthy volunteers aged 15 to 30 years (7 males and 7 females, mean age 23.5 years) who had no nasal complaints. In females, saccharin nasal mucociliary transport was measured in the follicular, periovulatory and luteal phases during two consecutive ovarian cycles (five cases) or three consecutive cycles (two cases). In males, the saccharin nasal mucociliary transport was randomly repeated three times (two cases) or six times (five cases). Estrogen and progesterone receptor expression in human nasal mucosa was retrospectively assessed by immunohistochemistry in archival, formalin-fixed, paraffin-embedded inferior nasal conchae from 20 patients submitted to partial inferior turbinectomy whose ages were matched to their of the volunteers (10 male and 10 female patients aged 15 to 33 years, mean age 22.1 years). Immunohistochemistry used mouse monoclonal antibodies against estrogen receptor (6F11 clone, Novocastra) and progesterone receptor (16 clone, Novocastra) separately. There were no significant differences in saccharin nasal mucociliary transport among follicular, periovulatory and luteal phases in consecutive ovarian cycles, nor between sexes ( $p=.08$ ). Even though, considering the first ovarian cycle only, saccharin nasal mucociliary transport was faster during the follicular phase ( $p=.03$ ). Estrogen and progesterone receptors were found in the cytoplasm of serous glands of the lamina propria exclusively in males (6/10 males and 3/10 males respectively). In conclusion, estrogen and progesterone did not influence repeated measures of saccharin nasal mucociliary transport in males and females with no nasal complaints. Nevertheless, estrogen and progesterone receptors were found in seromucous glands of the lamina propria in males, indicating that both hormones might act directly over nasal mucus production.

## **1. INTRODUÇÃO**

A crença na relação entre o nariz e o aparelho reprodutor é antiga. O “Ayurveda”, “Livro do Conhecimento” da Medicina hindu, já mencionava o ato sexual como causador da coriza em 800 a.C., e a sociedade indiana da época punia o crime de adultério com a amputação nasal (ARMENGOT et al., 1990a). Na Grécia e em Roma, o nariz era símbolo da masculinidade, pois se acreditava que fosse diretamente proporcional ao pênis (STEVENSON; GUTHRIE, 1949). Para um jovem romano, possuir o nariz avantajado contava pontos para ser escolhido como parceiro sexual e também no alistamento militar. Àquele tempo, os soldados mais fortes e valentes chamavam-se “nasuti”. Contudo, assim como aos hindus, aos adúlteros romanos igualmente era aplicada a pena de mutilação nasal (MACKENZIE, 1898).

Ao longo da História, o nariz manteve a conotação de órgão sexual e, por esse motivo, a interpretação dos sintomas nasais sofreu distorções. No século XIX estava em evidência a teoria do “reflexo naso-genital”. FLIESS (1896) apud BORGHEGAN (1931) afirmava que várias mulheres obtinham alívio da dismenorréia após a aplicação de cocaína na concha inferior e na

parte cartilaginosa do septo nasal. Essas áreas, supostamente capazes de interagir com os órgãos reprodutores, foram designadas “zonas genitais”. Supunha-se que a mucosa nasal apresentaria variações morfofuncionais de forma reflexa durante o ciclo ovariano e a gestação (MACKENZIE, 1898). Nos meninos, a epistaxe significava o advento da puberdade; nas mulheres, menstruação vicariante. Nos homens, via-se o plexo cavernoso das conchas nasais como coadjuvante na ereção peniana e entendia-se que a obstrução (priapismo) nasal decorria da excitação sexual perniciosa (ARMENGOT et al., 1990a). Para a rinite “da lua-de-mel”, cujos sintomas coincidiam com o início da atividade sexual nas recém-casadas, o tratamento preconizado era a abstinência (SEILER, 1889). A rinorréia observada nas rinites era denominada “coriza sexual”, atribuída à lascívia e perversão sexual dos pacientes (MACKENZIE, 1898).

No começo do século XX houve um avanço na terapêutica da rinite “da lua-de-mel” e a abstinência sexual cedeu lugar aos tônicos de estricnina, quinino e ácido arsênico para amenizar os sintomas das moças (KYLE, 1916). Mais tarde, o efeito dos esteróides sexuais femininos na mucosa nasal passou a ser visto de forma estritamente científica. Sabe-se que os contraceptivos orais com altas doses de estrógenos podem provocar obstrução nasal como efeito colateral (SCHREIBER, 1973), aventando-se a hipótese de uma reação de hipersensibilidade imediata a eles (PELIKAN, 1978). Verifica-se que as manifestações da rinite alérgica ocorrem mais rapidamente em animais de experimentação com níveis plasmáticos elevados de  $17\beta$ -estradiol (BU et al., 1993), possivelmente pelo aumento da

adesão de eosinófilos ao endotélio vascular (HAMANO et al., 1997) e da expressão de receptores H1 da histamina no epitélio nasal (HAMANO et al., 1998). Por outro lado, ainda há controvérsia sobre a flutuação da congestão nasal ao longo do ciclo ovariano. Alguns estudos registram congestão no período menstrual (BOMPIANI, 1925, ELLEGÅRD, KARLSSON, 1994), outros não (PAULSSON et al., 1997, HAEGGSTRÖM et al., 2000). Cerca de 27% das gestantes queixam-se de crises de espirros e 20% têm epistaxe (ARRARTE et al., 1996), mas a fisiopatologia da rinite gravídica, caracterizada pela obstrução nasal durante o segundo ou terceiro trimestres que desaparece espontaneamente no puerpério, continua obscura: não se encontra  $17\beta$ -estradiol aumentado nessas pacientes, antes considerado o responsável pelo problema (MABRY, 1986, BENDE et al., 1989, ELLEGÅRD et al., 1998, BENDE; GREDMARK, 1999). No fim do século, a terapia de reposição hormonal no climatério evoluiu para o aerossol nasal de progesterona (CICINELLI et al., 1994) e  $17\beta$ -estradiol (STUDD et al., 1999, MATTSSON et al., 2000, GOMPEL et al., 2000), aparentemente sem induzir sintomas nasais significativos.

Dentre os múltiplos aspectos da influência dos hormônios sexuais femininos na mucosa nasal, um merece destaque: o efeito sobre a fisiologia do transporte mucociliar nasal, importante mecanismo para a defesa das vias aéreas contra os agentes tóxicos e irritantes ambientais (LEOPOLD, 1992, CLARKE; YEATES, 1994, WAGUESPACK, 1995 WANNER et al., 1996).

É provável que os hormônios femininos interfiram no transporte mucociliar nasal. ARMENGOT et al. (1990b) apontam que o transporte de partículas de carvão vegetal em mulheres sem queixas nasais é mais rápido na fase periovulatória, coincidindo com os altos níveis estrogênicos. Aplicando o método do carvão vegetal em ambos os sexos, ARMENGOT et al. (1993) observam que o transporte mucociliar nasal é mais rápido nas mulheres, mas HELLÍN-MESEGUER; MERINO-GÁLVEZ (1994) verificam tendência oposta. Já KAO et al. (1994), utilizando radioisótopo para estudo do transporte mucociliar nasal, não encontram diferença sexual. Cabe salientar que não existem dados sobre a influência hormonal na velocidade de transporte mucociliar nasal em humanos no nosso meio.

Não se sabe se as diferenças sexuais eventualmente encontradas no transporte mucociliar nasal seriam decorrentes da ação direta do estrógeno ou da progesterona no epitélio ciliado, nas glândulas produtoras de muco, ou em ambos. Um dos caminhos para investigar-se qual(is) é(são) o(s) alvo(s) da ação dos hormônios sexuais na mucosa nasal é a procura pelos receptores para estrógeno (RE) e receptores para progesterona (RP), moduladores da transcrição do código genético celular.

WILSON et al. (1986) e SIIVONEN (1994) encontram RE e RP em pequenas quantidades na mucosa nasal de pacientes com rinite crônica, mas o método bioquímico, empregado nesses trabalhos, não é capaz de



determinar sua localização. Usando a técnica de imuno-histoquímica\* com anticorpos monoclonais contra RE e RP em biópsias da mucosa de conchas nasais de mulheres, PAULSSON et al. (1997) obtêm resultado negativo nos oito casos analisados, ao contrário de KRÖTSCH; RIEDERER (1998), que localizam RE nas glândulas serosas da lâmina própria e RP na região subepitelial e na lâmina própria. Restritos ao sexo feminino, os dois últimos estudos não esclarecem se há variação dos receptores hormonais entre os sexos. No Brasil, embora exista vasta literatura sobre os aspectos histológicos da mucosa das conchas nasais em humanos (BAMBIRRA et al., 1994, CAMPOS, 1994, RAMOS, 1997, BRAZ, 1998, AUGUSTO et al., 1999), não chegou ao nosso conhecimento, até o momento, nenhuma publicação que contemple a pesquisa de receptores para estrógeno e progesterona com reações imuno-histoquímicas.

O presente trabalho tem os seguintes **objetivos**:

1. avaliar o transporte mucociliar nasal de sacarina em indivíduos sem queixas nasais na faixa etária reprodutiva
  - 1.1. no sexo masculino;
  - 1.2. no sexo feminino, nas fases folicular, periovulatória e lútea de ciclos ovarianos consecutivos;
2. avaliar, através de método imuno-histoquímico, a expressão e a localização dos receptores para estrógeno e progesterona na mucosa de conchas nasais inferiores de indivíduos dos sexos masculino e feminino na faixa etária reprodutiva.

---

\* De acordo com: GARNIER, M.; DELAMARE, V. **Dicionário de termos técnicos em Medicina**. 20<sup>a</sup>. ed. São Paulo, Andrei Editora Ltda., 1984. p.598.

## ***2. REVISÃO DA LITERATURA***

Para melhor compreensão do assunto, a revisão de literatura será subdividida nos seguintes tópicos:

2.1. Transporte mucociliar nasal

2.2. Ação dos hormônios femininos na mucosa nasal: alterações morfofuncionais

2.3. Receptores para estrógeno e progesterona

### ***2.1. TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL***

#### **2.1.1. Aspectos fundamentais**

PROCTOR (1983) afirma que o mecanismo de depuração mucociliar nasal é capaz de reter 75 a 90% do material particulado entre 3 e 5 $\mu$ m de diâmetro presente no ar inalado. O autor sustenta que o transporte mucociliar no aparelho respiratório ocorre graças às propriedades reológicas do muco (isto é, sua viscoelasticidade), ao batimento ciliar em ondas metacrônicas e ao acoplamento entre os cílios e o muco. Essas

características dependem da morfologia do epitélio e da lâmina própria. O epitélio das cavidades nasais é rico em células secretoras (também denominadas caliciformes), e a lâmina própria contém numerosas glândulas seromucosas.

De acordo com BARANIUK; KALINER (1990), FESTA (1993), WANNER et al. (1996) e QURAISHI et al. (1998), as células serosas do epitélio glandular estão envolvidas na produção de glicoproteínas neutras (fucomucinas) que compõem a fase aquosa do muco respiratório. Por sua vez, as células secretoras e mucosas elaboram glicoproteínas ácidas (sialomucinas e sulfomucinas), que formam um fluido espesso. O conjunto das secreções é o muco que reveste o epitélio ciliado, formado por uma **hipofase sol** (fluido periciliar) e uma **epifase gel** (camada em contato com o topo dos cílios). A quantidade e a composição bioquímica do muco são essenciais ao mecanismo de transporte mucociliar. Se há excesso de fluido periciliar, ocorre desacoplamento da epifase gel dos cílios; se há desidratação da epifase gel e aumento de seu teor protéico, o aumento de viscosidade reduz a eficiência do batimento ciliar.

BARANIUK; KALINER (1990) apontam que o tecido glandular da lâmina própria tem pequena inervação simpática, porém, numerosas fibras parassimpáticas. A estimulação parassimpática mediada por acetilcolina, polipeptídeo vasoativo intestinal (VIP) e peptídeo histidina-metionina (PHM) aumenta a secreção glandular.

WANNER et al. (1996) salientam que o batimento ciliar nas vias aéreas tem a finalidade única de transportar o muco. O mecanismo de

batimento, exhaustivamente descrito na literatura, pode ser sintetizado em duas etapas: **batimento efetivo** (quando o cílio está completamente estendido, promovendo a propulsão da epifase gel) e **batimento de recuperação** (momento em que retorna à posição inicial, mantendo-se próximo à superfície celular). O batimento ciliar, em condições normais, é coordenado, resultando numa onda que transporta o muco e as partículas a ele adsorvidas em direção à orofaringe, de onde são eliminados (Figura 1).

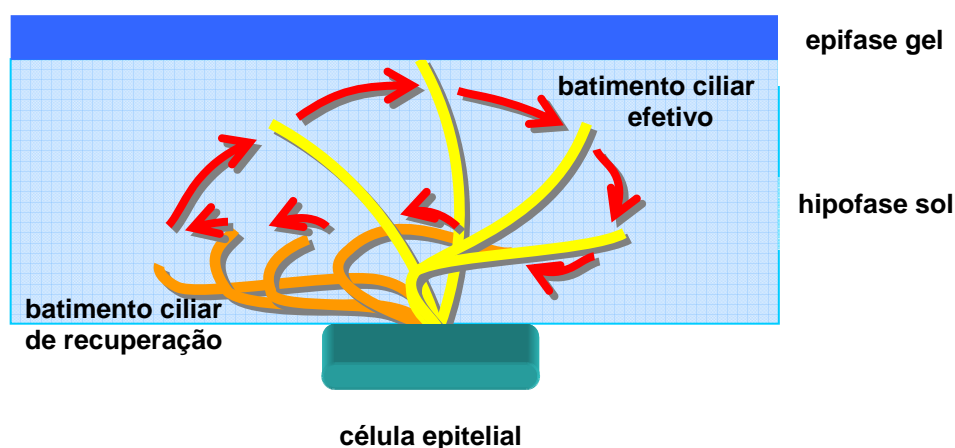


FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL

YANG; MACCAFFREY (1996) afirmam que o sistema nervoso parassimpático desempenha papel importante na regulação do batimento ciliar. Em explantes de tecido da adenóide, verificam que a incubação com metacolina aumenta a frequência de batimento através da ligação aos receptores muscarínicos M1 e M3.

### 2.1.2. Transporte mucociliar nasal de sacarina em humanos

Nesta seção não será obedecida a apresentação da revisão de literatura em ordem cronológica para facilitar a leitura do texto.

SENENT-SÁNCHEZ et al. (1990) afirmam que existem duas alternativas para avaliação do transporte mucociliar nasal “in vivo” em humanos: o uso de **partículas insolúveis** (resina, teflon, enxofre coloidal, alumínio, carvão), que podem ou não ser marcadas por isótopos radioativos, e o uso de **traçadores solúveis** (*substâncias coloridas* – tinta nanquim e azul de metileno - ou *com sabor característico* - sacarina), observando-se seu deslocamento através da cavidade nasal em direção à orofaringe (Figura 2).

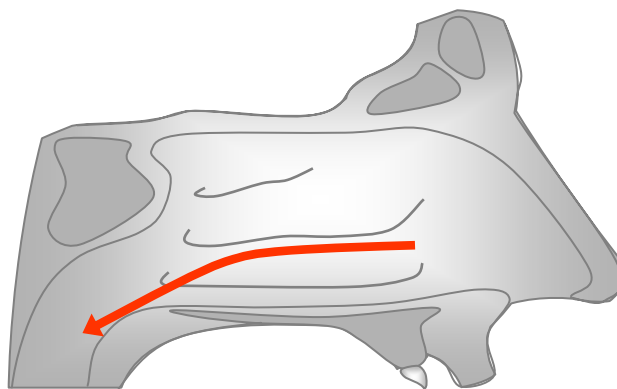


FIGURA 2 – MOVIMENTO DOS TRAÇADORES DESDE A CAVIDADE NASAL ATÉ A OROFARINGE PELA AÇÃO DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL

SAKAKURA et al. (1983) salientam que o transporte dos materiais insolúveis pode refletir somente a taxa de transporte da epifase gel do muco respiratório. Crêem que é mais confiável o emprego de materiais solúveis, que refletem tanto o transporte do fluido periciliar quanto da epifase gel.

ANDERSEN; PROCTOR (1983), que desenvolveram o teste da sacarina para a avaliação do transporte mucociliar nasal na década de 1970, ressaltam que o método tem a desvantagem de ser subjetivo. Entretanto, isso pode ser contornado através da aplicação de um corante à partícula de sacarina, permitindo ao examinador observar o aparecimento do corante na faringe nos casos em que há dúvida se o paciente teve a sensação gustativa.

SEMENT-SÁNCHEZ et al. (1990) assinalam que a avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina é um bom meio para triagem de casos suspeitos de discinesia ciliar primária, embora não possa ser tomada como método diagnóstico da doença. Ressaltam que o teste da sacarina é seguro para uso na prática clínica, ao contrário da técnica que emprega radioisótopos, a qual apresenta risco (ainda que pequeno) de irradiação para as estruturas oculares.

ENGLENDER et al. (1990) consideram normal o transporte mucociliar nasal da sacarina em até 20 minutos, aceitando como patológica a ausência de sensação gustativa após uma hora.

RIZZO (1994), avaliando o transporte mucociliar nasal de sacarina em nove indivíduos normais, verificam que o tempo médio decorrido até a sensação de gosto doce é de cinco minutos.

FERGUSON; MABRY (1997) comentam que o transporte mucociliar nasal da sacarina apresenta boa reprodutibilidade em medidas repetidas no mesmo indivíduo, mas pode ter variações intra-individuais de até 43%, enquanto as variações no método de partículas radioativas chegam a 74%.

Consideram normal o tempo de cinco a oito minutos para transporte nasal da sacarina e assinalam que quando o transporte demora mais de 25 minutos o achado é sugestivo de doenças que afetam o mecanismo de depuração mucociliar (discinesia ciliar primária e fibrose cística, por exemplo).

ADDE; ROZOV (1997) ressaltam a facilidade da execução das medidas de transporte mucociliar nasal de sacarina em 238 crianças normais matriculadas em escolas de São Paulo. Observam que o tempo médio de transporte de sacarina nessas crianças é de 7,5 minutos, compatível com os dados da literatura estrangeira. Nessa casuística, três crianças necessitaram ser reavaliadas pelo fato de não sentirem o gosto da sacarina após 60 minutos de exame. Destas, duas tiveram desempenho normal num segundo exame, enquanto uma não teve percepção do gosto doce após 60 minutos em três avaliações subseqüentes.

## ***2.2. AÇÃO DOS HORMÔNIOS FEMININOS NA MUCOSA NASAL: ALTERAÇÕES MORFOFUNCIONAIS***

### **2.2.1. Estudos Experimentais**

MORTIMER et al. (1936) descrevem que a mucosa das conchas nasais de fêmeas adultas da espécie *Macaca mulatta* apresenta-se hiperemiada e congesta durante a época do acasalamento, quando os níveis estrogênicos estão elevados. A injeção de estrona e estriol em macacos pré-púberes e adultos - machos e fêmeas - induz congestão mucosa

semelhante, e os autores concluem que os estrógenos têm ação trófica sobre o epitélio nasal.

ZANZUCCHI (1937), RODOLFO-MASERA (1940), CLERICI; PESTALOZZA (1958), LI (1991) e ZHAO et al. (1994) conduzem experimentos de castração e reposição estrogênica em diversas espécies de mamíferos, observando restituição da altura do epitélio nasal em resposta ao hormônio.

REYNOLDS; FOSTER (1940) verificam, através de técnicas histoquímicas, aumento do conteúdo de acetilcolina na mucosa nasal de coelhos e gatos fêmeas submetidos a ooforectomia e reposição estrogênica.

HELMI et al. (1975) mostram metaplasia escamosa do epitélio respiratório, hiperplasia glandular e congestão vascular na mucosa nasal de fêmeas de porquinhos-da-Índia que receberam etinilestradiol.

KONNO et al. (1986) demonstram aumento da densidade de receptores colinérgicos muscarínicos em resposta ao estradiol e redução dos receptores  $\alpha 1$  adrenérgicos em resposta à progesterona na mucosa nasal de porquinhos-da-Índia machos.

PONTES et al. (1989) observam aumento da população de células secretoras no epitélio nasal de ratas albinas prenhes.

SALDIVA et al. (1995), considerando que, na fase periovulatória, o epitélio ciliado da tuba uterina tem maior frequência de batimento, facilitando o transporte do óvulo, e a rigidez do muco cervical diminui, favorecendo a migração dos espermatozóides, presumem que no sexo feminino também o transporte mucociliar no aparelho respiratório apresente variações ao longo do



ciclo ovariano, ainda que sutis. Em experimento com ratos Wistar adultos, não encontram grandes variações da altura do epitélio e do volume glandular entre os sexos, nem entre as fases do ciclo estral. Porém, o fenótipo celular no epitélio e nas glândulas da lâmina própria varia de acordo com os níveis estrogênicos: nas fêmeas em estro (fase do ciclo estral com altos níveis de estrógenos) há menos glicoproteínas ácidas do que nas fêmeas em diestro (baixos níveis de estrógenos) e nos machos. Nas fêmeas em diestro há menor densidade de células secretoras de mucinas. Avaliando o transporte mucociliar nasal “in situ” com partículas de carvão vegetal, observam que os machos têm transporte mais rápido do que as fêmeas e, nas fêmeas em estro, a velocidade de transporte é significativamente maior do que no diestro, aproximando-se da dos machos. Analisando a reologia do muco nasal, mostram que a secreção de fêmeas em diestro é mais rígida, o que explica o transporte mucociliar mais lento. Os autores concluem que, nas fêmeas, o muco permanece mais tempo em contato com o epitélio nasal, exercendo um efeito citoprotetor sobre o mesmo.

### **2.2.2. Estudos em humanos**

SOUTHAM; GONZAGA (1965) relatam que o muco nasal, assim como o cervical uterino, apresenta cristalização durante a fase folicular do ciclo ovariano, refletindo a variação na sua composição bioquímica em resposta ao estrógeno.

TOPPOZADA et al. (1981), estudando a mucosa nasal humana por microscopia eletrônica de transmissão e técnicas histoquímicas, não encontram diferenças ultra-estruturais entre os sexos, nem durante o ciclo menstrual. Todavia, na biópsia da mucosa nasal de três mulheres descrevem grande atividade colinérgica em glândulas e vasos sanguíneos.

TOPPOZADA et al. (1982), analisando a mucosa nasal de 30 gestantes, observam aumento do número de células secretoras epiteliais, repletas de grânulos de secreção.

TOPPOZADA et al. (1984) encontram metaplasia escamosa epitelial, hiperplasia glandular e proliferação histiocítica na mucosa nasal (características histológicas observadas na rinite crônica não alérgica) em dez usuárias de contraceptivos orais.

ARMENGOT et al. (1990b) demonstram que o transporte de partículas de carvão vegetal em nove mulheres sem queixas nasais é mais rápido na fase periovulatória. Todavia, deve-se ressaltar que os autores estudaram um único ciclo ovariano nessas mulheres e, portanto, o estudo não permite concluir se esse achado é ou não reprodutível.

HELLÍN-MESEGUER; MERINO-GÁLVEZ (1994) estudam o transporte mucociliar nasal de partículas de carvão vegetal em 132 indivíduos sadios de cinco a 80 anos. Verificam que o tempo de transporte mucociliar nasal no sexo masculino oscila entre três e 19 minutos, com média de 9,3 minutos. No sexo feminino, o tempo de transporte mucociliar nasal das partículas de carvão também oscila entre três e 19 minutos, porém com média de 8,7 minutos. Concluem que não há diferença estatisticamente significativa entre

os sexos feminino e masculino para o transporte mucociliar nasal das partículas de carvão.

KAO et al. (1994) avaliam o transporte mucociliar nasal através de traçador radioativo (tecnécio-99m) em 46 indivíduos saudáveis, cujas idades variam entre 27 e 75 anos. Não encontram diferença no transporte mucociliar nasal entre os sexos feminino e masculino.

Fica a ressalva de que os grupos de estudo de HELLÍN-MESEGUER; MERINO-GÁLVEZ (1994) e KAO et al. (1994) incluem uma ampla faixa etária (cinco a 80 anos e 27 a 75 anos respectivamente), impedindo a mensuração de eventuais diferenças sexuais na idade reprodutiva especificamente.

HELLÍN-MESEGUER et al. (1994) observam que o transporte mucociliar nasal de partículas de carvão vegetal em 30 gestantes é mais lento do que no grupo controle, formado por 70 mulheres entre 10 e 60 anos.

ELLEGÅRD; KARLSSON (2000) registram aumento da velocidade do transporte mucociliar nasal de sacarina em gestantes com rinite gestacional em relação às gestantes sem queixas nasais. Ressaltam que o aumento de velocidade do transporte mucociliar nasal nas pacientes com sintoma de obstrução nasal não tem relação com as medidas objetivas do fluxo aéreo nasal através do pico de fluxo (“peak flow”) expiratório nasal.

### **2.3. RECEPTORES PARA ESTRÓGENO E PARA PROGESTERONA**

#### **2.3.1. Aspectos fundamentais**

Nesta seção a revisão de literatura não será apresentada em ordem cronológica para facilitar o entendimento do texto.

Os receptores para estrógeno (RE) e os receptores para progesterona (RP) pertencem à superfamília dos receptores nucleares para fatores de transcrição, a qual inclui também os receptores para outros hormônios esteróides, hormônios tireoideanos, vitamina D e retinóides (GIANGRANDE; MACDONNEL, 1999).

O mecanismo geral de ação dos RE e RP pode ser resumido no seguinte modelo:

1. Enquanto não estão ligados aos estrógenos ou à progesterona, os respectivos receptores permanecem inativos. Nessa situação, os receptores usualmente não interferem com a transcrição do ácido desoxirribonucléico (DNA) celular.

2. Quanto o estrógeno liga-se aos RE, ou a progesterona aos RP, os respectivos receptores sofrem mudanças na sua conformação, passando de monômeros a dímeros.

3. Os dímeros acoplam-se, então, a regiões específicas do DNA celular, denominadas elementos de resposta aos estrógenos (ERE) e sítios AP1 (ambos para estrógeno) ou elementos de resposta à progesterona (PRE). Essas regiões do DNA localizam-se nas proximidades do segmento

que contém a seqüência promotora da transcrição de um gene. A interação do conjunto receptor-hormônio com o DNA é um mecanismo complexo, dependente de fatores co-ativadores (proto-oncogenes, por exemplo) e co-repressores. Os co-ativadores facilitam a ação dos receptores sobre o DNA celular, enquanto os co-repressores dificultam-na. O resultado final da interação dos receptores com o DNA é a transcrição ou não de genes envolvidos na divisão, diferenciação, homeostase e metabolismo celular (KUREBAYASHI et al., 1997). Por isso, os receptores para estrógeno e progesterona são ditos **fatores transcripcionais** (PAECH et al., 1997, GIANGRANDE; MACDONNEL, 1999, DICKSON; STANCEL, 2000, HAGER et al., 2000, PAVAO; TRAISH, 2001).

A Figura 3 representa esquematicamente o mecanismo de ação dos RE.

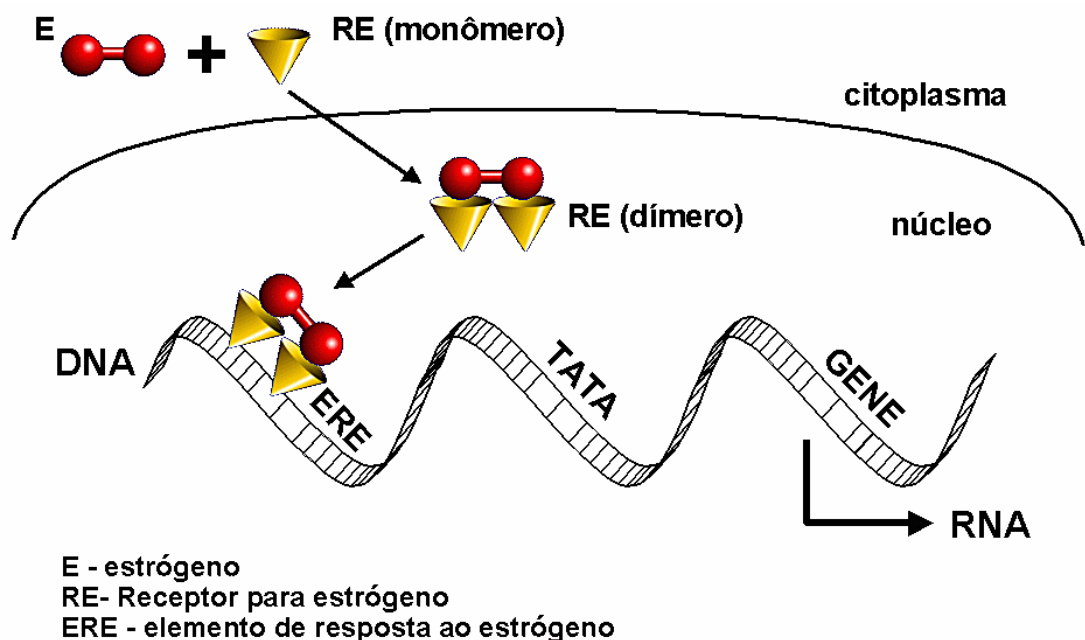


FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MECANISMO DE AÇÃO CELULAR DOS RECEPTORES PARA ESTRÓGENO

A proteína dos receptores para estrógeno (RE) é identificada na década de 1960 (BROWN, 1994).

Em 1995, através da técnica de clonagem do ácido desoxirribonucléico complementar (DNAC) dos RE, descobre-se que existem na realidade duas variantes de receptores de alta afinidade e especificidade para estrógenos em humanos. Essas variantes (ou isoformas) dos RE são denominadas RE $\alpha$  e RE $\beta$ . Elas são codificadas por genes diferentes (o gene dos RE $\alpha$  foi mapeado no braço longo do cromossomo 6 e o do RE $\beta$ , no braço curto do cromossomo 14) e possuem diferenças também na seqüência de aminoácidos (PAVAO; TRAISH, 2001).

A proteína dos receptores para progesterona (RP) é identificada em 1970, e seu DNAC, seqüenciado em 1987 (BOUCHARD, 1999). Atualmente, sabe-se que também os RP apresentam duas isoformas, chamadas RP-A e RP-B (CONNELLY; LYDON, 2000). Ambas as isoformas são codificadas pelo mesmo gene, porém a transcrição genética é modulada pelos RE, podendo gerar RP-A e RP-B em diferentes proporções ao longo do ciclo ovariano (GIANGRANDE; MACDONNEL, 1999).

A existência das isoformas dos receptores para estrógeno e progesterona tem um significado fisiológico importantíssimo. Esse fenômeno possibilita a ação seletiva de cada hormônio nos diferentes tecidos, já que a expressão de RE $\alpha$ /RE $\beta$  e RP-A/RP-B é variável de um tecido para outro (BOUCHARD, 1999). O RE $\alpha$ , por exemplo, é encontrado principalmente nos órgãos envolvidos na reprodução (útero, vagina e mama), enquanto o RE $\beta$  é expresso em maior quantidade no sistema nervoso central, sistemas

cardiovascular e imunológico, trato urogenital, aparelho digestivo e pulmão (BRANDENBERGER et al., 1997, KUIPER et al., 1997).

A expressão dos receptores para estrógeno e progesterona é regulada pelos próprios níveis hormonais. A progesterona induz redução numérica (“down-regulation”) dos próprios receptores, bem como dos RE, além de antagonizar a ação estrogênica em nível molecular. Por outro lado, o estrógeno estimula a expressão dos RP, o que, em conjunto, promove equilíbrio entre os efeitos dos estrógenos e da progesterona em todo o organismo (BOUCHARD, 1999).

### **2.3.2. Receptores para estrógeno e progesterona na mucosa nasal humana**

WILSON et al. (1986), usando método bioquímico, analisam a presença de receptores para estrógeno e progesterona na mucosa nasal de 27 mulheres e 11 homens submetidos a turbinectomia parcial da concha nasal inferior. Encontram apenas traços de RE em metade das mulheres e dos homens. No sexo feminino, detectam RP em 18% dos casos. No sexo masculino, não encontram RP.

SIIVONEN (1994), também através de estudo bioquímico, encontra RE e RP em pequenas quantidades na mucosa nasal de pacientes com rinite crônica.

Vale notar que o método bioquímico, empregado nesses dois trabalhos, não é capaz de determinar a localização dos receptores hormonais.

PAULSSON et al. (1997) aplicam a técnica de imuno-histoquímica com anticorpos monoclonais contra RE e RP em biópsias de mucosa da concha nasal inferior de oito mulheres. Não observam reação positiva em nenhum caso.

KRÖTSCH; RIEDERER (1998), também utilizando o método imuno-histoquímico com anticorpos monoclonais contra os receptores hormonais em biópsia da concha nasal inferior de 40 mulheres, localizam RE citoplasmáticos nas glândulas serosas da lâmina própria e feixes nervosos e RP intranucleares na região subepitelial e no tecido conjuntivo das glândulas seromucosas da lâmina própria. Entretanto, não fornecem detalhes sobre o número de lâminas positivas para cada reação (RE e RP).



### ***3. CASUÍSTICA E MÉTODOS***

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (processo número 133/98) e realizado em obediência às normas éticas da Instituição. Todos os participantes (ou seus responsáveis legais, nos casos de menores de 18 anos) forneceram consentimento livre e esclarecido por escrito.

O trabalho foi concebido de forma a subdividir-se em duas linhas de pesquisa:

1. avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina (estudo prospectivo realizado no período de 08/01 a 27/04/2001);
2. pesquisa dos receptores para estrógeno e progesterona na mucosa de conchas nasais inferiores (estudo retrospectivo envolvendo os pacientes submetidos à cirurgia de turbinectomia parcial da concha nasal inferior no período de 17/09/1999 a 23/05/2000).

### 3.1. CASUÍSTICA

Foram estudados 34 indivíduos no total, divididos em dois grupos:

**Grupo A:** destinado à avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina.

**Grupo B:** destinado à pesquisa dos receptores para estrógeno e progesterona na mucosa de conchas nasais inferiores.

Foram considerados **critérios de inclusão para ambos os grupos:**

1. indivíduo em idade reprodutiva (entre 15 e 35 anos);
2. indivíduo com índice de massa corpórea (IMC) menor ou igual a 25, calculado pela fórmula\*:

$$\text{IMC} = \text{peso (kg)} \div \text{altura}^2 \text{ (m)}$$

Além dos critérios anteriores, **no Grupo A exigiu-se também:**

1. que os indivíduos não tivessem sintomas nasais (obstrução, coriza, prurido ou espirros);
2. que os indivíduos não tivessem queixas gustativas, para aumentar a fidedignidade da avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina;
3. que seu exame físico otorrinolaringológico (otoscopia, endoscopia nasal rígida e orofaringoscopia) fosse normal;
4. no sexo feminino: ciclos menstruais regulares nos últimos seis meses, com duração maior ou igual a 23 dias, para reduzir-se a probabilidade de os ciclos serem anovulatórios.

Foram considerados **critérios de exclusão para ambos os Grupos:**

---

\*A conversão periférica da testosterona em 17- $\beta$  estradiol pela enzima aromatase nos adipócitos em indivíduos obesos (índice de massa corpórea superior a 30) pode elevar os

1. antecedente de neoplasia nasossinusal ou do aparelho reprodutor;
2. quadro de rinosinusite infecciosa;
3. hormonioterapia para tratamento de quaisquer neoplasias ou doenças endócrinas.

Além dos critérios anteriores, **no Grupo B também** foram **excluídas** pacientes do sexo feminino que estivessem utilizando contraceptivo oral com altas doses de estrógenos/progesterona ou contraceptivo injetável.

Obedecendo-se aos critérios de inclusão e exclusão, os grupos de estudo ficaram assim constituídos:

### **3.1.1. Grupo A**

Compôs-se de 14 voluntários sem queixas nasais, não fumantes. Todos eram da raça branca, e suas idades variaram de 15 a 30 anos, com média de 23,5 anos e desvio-padrão de 4,8 anos. Sete indivíduos eram do sexo feminino, cujas idades variaram de 15 a 30 anos, com média de 22,4 anos e desvio-padrão de 5,7 anos. Sete voluntários eram do sexo masculino, cujas idades variaram de 20 a 30 anos, com média de 24,7 anos e desvio-padrão de 3,8 anos (Anexo A).

### 3.1.2. Grupo B

Constituiu-se de 20 pacientes submetidos à cirurgia de turbinectomia parcial da concha inferior para tratamento da obstrução nasal (cirurgia realizada de acordo com a técnica descrita por MISSAKA, 1972, ELWANY; HARRISON, 1990). As cirurgias realizadas nesses pacientes consistiram em: turbinectomia parcial da concha inferior associada à septoplastia pela técnica de Cottle em 13 casos; turbinectomia parcial da concha inferior associada à rinosseptoplastia em três casos; turbinectomia parcial da concha inferior associada à septoplastia e adenoidectomia em três casos e turbinectomia parcial da concha inferior associada à septoplastia e estreitamento da columela em um caso (Anexo B).

Dezoito pacientes eram acompanhados no ambulatório da Divisão de Clínica Otorrinolaringológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e foram operados nesta Instituição. Dois pacientes (GP1 e GP2) foram acompanhados e operados em clínica privada. Todos eram da raça branca e suas idades variaram de 15 a 33 anos, com média de 22,1 anos e desvio-padrão de 5,2 anos. Dez pacientes eram do sexo masculino, cujas idades variaram de 15 a 33 anos, com média de 20,8 anos e desvio-padrão de 5,7 anos. Dez pacientes eram do sexo feminino, cujas idades variaram de 18 a 32 anos, com média de 23,5 anos e desvio-padrão de 4,5 anos. Dois pacientes do sexo masculino (GP1 e GP2) eram gêmeos monozigóticos (Anexo C).

Salientamos que não foi realizada biópsia do tecido nasal para a pesquisa de receptores hormonais nos voluntários sadios para não submetê-los aos riscos desse procedimento invasivo. Preferimos utilizar para a pesquisa dos receptores hormonais a mucosa nasal de pacientes operados para turbinectomia parcial da concha inferior, com o cuidado de selecionar pacientes não obesos, cuja faixa etária foi igual à dos voluntários, dos quais apenas uma era fumante. Por outro lado, não se cogitou realizar as medidas de transporte mucociliar nasal de sacarina nos pacientes submetidos à turbinectomia parcial da concha inferior porque, nesses indivíduos, fatores como desvio de septo nasal, hipertrofia da adenóide e hipertrofia da concha nasal inferior (no pré-operatório), ou formação de sinéquias nas cavidades nasais e crises de rinite (no pós-operatório) sabidamente reduzem a velocidade de transporte mucociliar nasal\*.

A Figura 4 ilustra a distribuição dos grupos de estudo.

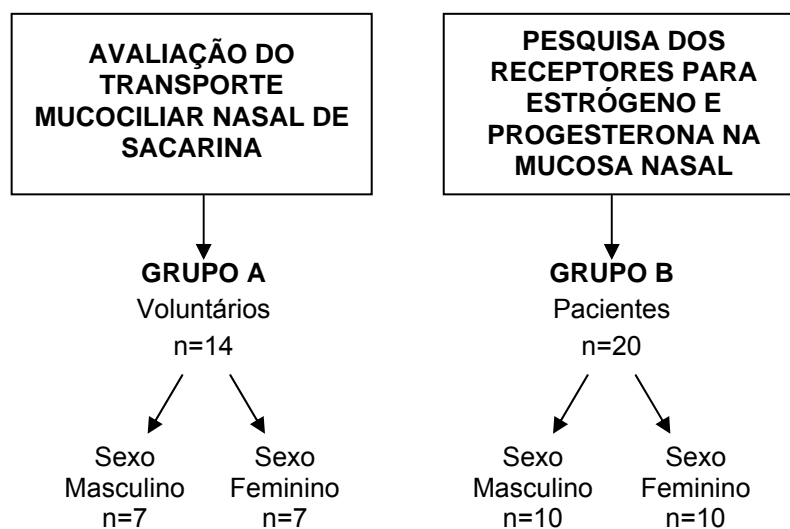


FIGURA 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO

\*De acordo com: ENGLENDER et al. (1990), PASSÀLI et al. (1995), MOCELLIN et al. (1998) e PASSÀLI et al. (1999).

## 3.2. MÉTODOS

### 3.2.1. Avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina

Os dados antropométricos de peso e altura necessários ao cálculo do IMC foram obtidos diretamente de cada um dos participantes do Grupo A.

As medidas do transporte mucociliar nasal de sacarina foram feitas sempre pela mesma examinadora, em condições constantes de temperatura (20 a 25°C) e umidade do ambiente (umidade relativa do ar maior que 30%). Nenhum dos participantes apresentou sintomas ou sinais de infecção das vias aéreas (coriza, tosse, obstrução nasal ou espirros) durante o período em que se realizaram as medidas.

As medidas do transporte mucociliar nasal de sacarina foram realizadas da seguinte forma:

**Para os participantes do sexo masculino:** em datas diferentes, escolhidas de forma aleatória, perfazendo um total de seis medidas em cinco indivíduos e três medidas em dois indivíduos.

**Para os participantes do sexo feminino:** em datas diferentes, distribuídas nas três fases do ciclo ovariano. As medidas da **fase folicular** foram feitas entre o 1º e 4º dia do ciclo; as da **fase periovulatória**, entre o 13º e 16º dia e as da **fase lútea**, entre o 23º e 27º dia do ciclo. Foram estudados dois ciclos ovarianos consecutivos em cinco mulheres e três ciclos ovarianos consecutivos em duas mulheres.

Os participantes foram orientados a não ingerir alimentos adoçados natural ou artificialmente nos 30 minutos que antecederam as medidas do transporte mucociliar da sacarina. As medidas em cada voluntário foram realizadas sempre na mesma cavidade nasal (ou sempre direita ou sempre esquerda) já que, segundo a literatura consultada, é irrelevante a diferença de velocidade do transporte mucociliar nasal entre as duas cavidades de um mesmo indivíduo sem queixas nasais, não havendo necessidade de medir-se-lhe o transporte mucociliar nasal em ambas as cavidades\*.

Todas as medidas foram feitas de acordo com a técnica descrita na literatura (CANCIANI et al., 1988, SENENT-SÁNCHEZ et al., 1990, ADDE; ROZOV, 1997, MOCELLIN et al., 1998). Sob visão direta, depositou-se uma partícula de 1mm de sacarina sódica colorida com azul de metileno sobre a mucosa da face medial da concha nasal inferior, a um centímetro da cabeça da concha, iniciando-se a cronometragem.

Solicitou-se aos participantes do estudo que mantivessem a cabeça imóvel, não aspirando nem assoando a secreção nasal durante o exame. Caso espirrassem, a medida seria invalidada. Os participantes foram instruídos a deglutir a intervalos regulares, informando à examinadora o momento em que sentiram gosto doce na faringe. Caso houvesse dúvida quanto à percepção gustativa, a orofaringe seria examinada à procura de coloração azul.

O tempo registrado pelo cronômetro (cronômetro digital Balance Starlight) foi anotado em minutos.

---

\*De acordo com: KAO et al., 1994.

### **3.2.2. Pesquisa dos receptores para estrógeno e progesterona na mucosa nasal humana**

Os dados clínicos e antropométricos dos pacientes do Grupo B foram obtidos dos registros nos respectivos prontuários e posteriormente confirmados junto aos mesmos. Também foram anotadas num questionário padronizado as informações sobre hábito tabágico para todos os indivíduos, além de idade da menarca e uso de contraceptivos orais por ocasião do procedimento cirúrgico para as pacientes do sexo feminino. Os diagnósticos pré-operatórios e procedimentos realizados nas cirurgias foram transcritos dos prontuários.

As conchas nasais inferiores removidas no ato cirúrgico foram conservadas em solução de formaldeído a 10% tamponado até seu processamento em blocos de parafina para cortes com coloração pela hematoxilina-eosina para microscopia de luz.

Os blocos de parafina foram, então, novamente cortados, confeccionando-se duas lâminas com 3µm de espessura preparadas com o adesivo 3-aminopropiltriétoxissilane (Sigma Pharmaceuticals) para cada caso, destinadas à pesquisa de RE e RP separadamente.

Utilizou-se para a pesquisa dos receptores para estrógeno e para progesterona a técnica da imunoperoxidase (de acordo com descrições prévias de TAYLOR et al., 1981, ALBERTS et al., 1996, GRASEL, 1997, LEIMOLA-VIRTANEN et al., 2000, NEWMAN et al., 2000, SUMIYOSHI et al., 2001), realizada no Laboratório de Imuno-histoquímica do Departamento de



Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. As lâminas foram submetidas aos seguintes procedimentos:

1. Desparafinização pela ação do xilol a quente por 20 minutos, seguida de três banhos de xilol a frio;
2. Hidratação com álcoois (absoluto, 95° e 70%) e enxágüe em água corrente e água destilada.
3. Bloqueio da atividade da peroxidase endógena com 10 banhos de peróxido de hidrogênio 10 volumes com duração de quatro minutos cada um.
4. Enxágüe em água corrente e água destilada.
5. Enxágüe em solução salina tamponada (PBS – salina tamponada fosfatada ou “phosphate-buffered saline”) na concentração 0,1M/l, em pH 7,2-7,4.
6. Recuperação antigênica com solução de citrato em pH 6.0 em alta temperatura (na panela de pressão por 1 minuto e 30 segundos).
7. Enxágüe em PBS.
8. Aplicação dos anticorpos primários contra os receptores para estrógeno e receptores para progesterona humanos, diluídos em soroalbumina bovina (BSA), com incubação em câmara úmida por 12-18 horas. Para isso, foram usados anticorpos monoclonais de camundongo contra RE (clone 6F11, código D115145) na titulação 1:60 e RP (clone 16, código D131203) na titulação 1:250 para reações em tecidos fixados na parafina (Novocastra).
9. Enxágüe em PBS.

10. Aplicação do anticorpo secundário (ou de ligação) anti-imunoglobulina G de camundongo do “kit” LSAB Plus – “labeled streptavidin-biotin complex” - (DAKO Corporation) a 37°C por 30 minutos.
11. Enxágüe em PBS.
12. Incubação do complexo streptavidina-peroxidase do “kit” LSAB Plus (DAKO Corporation) a 37°C por 30 minutos.
13. Enxágüe em PBS.
14. Aplicação da solução cromógena: 50mg de 3,3-tetrahydroclorato de diaminobenzidina (DAB) (Sigma Pharmaceuticals) diluídos em 100ml de PBS e 4ml de peróxido de hidrogênio 10 volumes, com revelação por três minutos.
15. Enxágüe em água corrente, contra-coloração pela hematoxilina de Harris por 30 segundos, desidratação em álcoois (70%,95° e absoluto) e diafanização com três banhos de xilol.
16. Montagem com lamínula e resina sintética para microscopia de luz.

Os controles positivos para os receptores para estrógeno e progesterona foram obtidos de pacientes com carcinoma ductal de mama. Os controles positivos foram submetidos às reações imuno-histoquímicas simultaneamente ao tecido nasal em estudo. Ambos os controles (RE e RP) exibiam coloração granular acastanhada em depósitos no compartimento celular onde havia ocorrido a ligação do antígeno com o anticorpo primário (núcleos celulares).

As lâminas de mucosa das conchas nasais inferiores foram examinadas em microscopia de luz sempre pela mesma médica patologista, analisando-se a presença de granulação acastanhada semelhante à dos controles positivos, bem como sua distribuição nas células da mucosa. Adotou-se o critério qualitativo para análise dos resultados da reação imuno-histoquímica no tecido nasal (coloração positiva ou negativa).

### ***3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA***

O tempo de transporte mucociliar nasal da sacarina (em valor absoluto) foi submetido à análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Foram consideradas as variáveis sexo e fase do ciclo ovariano (folicular, periovulatória ou lútea), analisadas pelo teste de Friedman. Para tanto, utilizou-se o programa de computador “Statistical Package for Social Science” versão 6.0 (“SPSS for Windows”).

Foi adotado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) na interpretação dos resultados.

## ***4. RESULTADOS***

### ***4.1. AVALIAÇÃO DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DE SACARINA***

O tempo de transporte mucociliar nasal de sacarina verificado no Grupo de Estudo A variou entre 2 e 26 minutos, não se registrando nenhum caso em que o indivíduo não sentisse o gosto do adoçante. O tempo médio de transporte mucociliar nasal de sacarina nos indivíduos de ambos os sexos foi de 9,3 minutos com desvio-padrão de 5,4 minutos.

O tempo decorrido para o transporte mucociliar nasal da sacarina no sexo feminino ao longo dos ciclos ovarianos estudados está representado na Tabela 1.

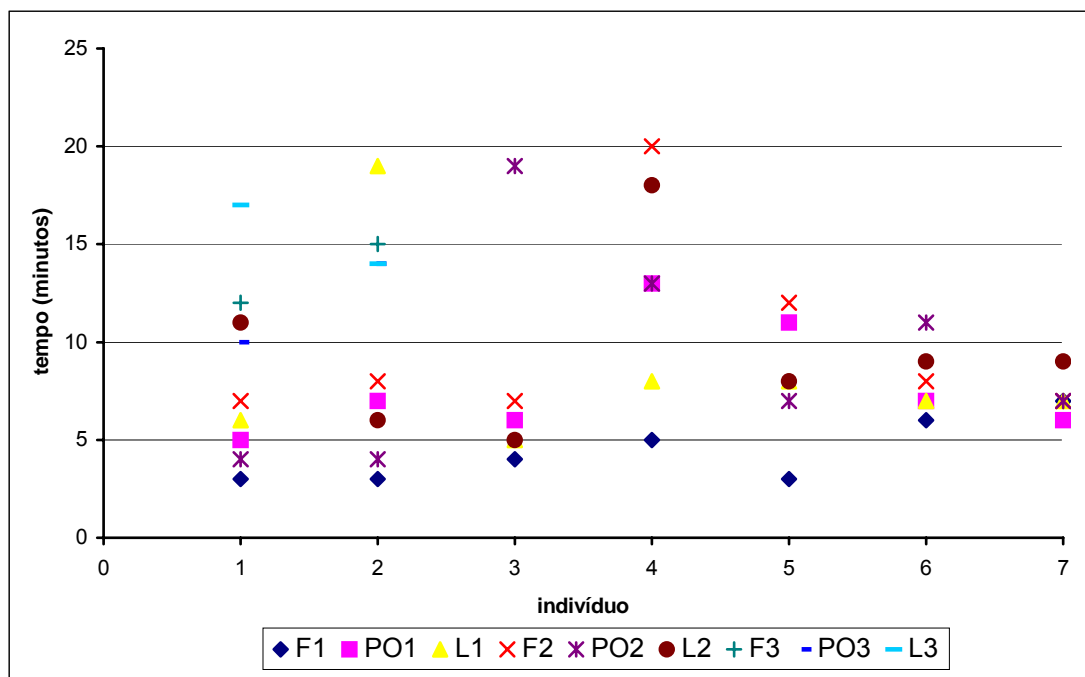
TABELA 1 – TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DA SACARINA NO SEXO FEMININO  
(EM MINUTOS) NOS CICLOS OVARIANOS ESTUDADOS

<b>INDIVÍDUO (iniciais)</b>	<b>F1 (min)</b>	<b>PO1 (min)</b>	<b>L1 (min)</b>	<b>F2 (min)</b>	<b>PO2 (min)</b>	<b>L2 (min)</b>	<b>F3 (min)</b>	<b>PO3 (min)</b>	<b>L3 (min)</b>
AS	3	5	6	7	4	11	12	10	17
TS	3	7	19	8	4	6	15	14	14
RGS	4	6	5	7	19	5	-	-	-
CCA	5	13	8	20	13	18	-	-	-
NMF	3	11	8	12	7	8	-	-	-
PGO	6	7	7	8	11	9	-	-	-
ADP	7	6	7	7	7	9	-	-	-

NOTA: F1: fase folicular do primeiro ciclo ovariano  
 F2: fase folicular do segundo ciclo ovariano  
 F3: fase folicular do terceiro ciclo ovariano  
 PO1: fase periovulatória do primeiro ciclo ovariano  
 PO2: fase periovulatória do segundo ciclo ovariano  
 PO3: fase periovulatória do terceiro ciclo ovariano  
 L1: fase lútea do primeiro ciclo ovariano  
 L2: fase lútea do segundo ciclo ovariano  
 L3: fase lútea do terceiro ciclo ovariano  
 min: minutos

A dispersão das medidas do transporte mucociliar nasal de sacarina obtidas para cada indivíduo do sexo feminino é representada no Gráfico 1.

GRÁFICO 1 – DISPERSÃO DAS MEDIDAS DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DE SACARINA (EM MINUTOS) NO SEXO FEMININO



NOTA: F1: fase folicular do primeiro ciclo ovariano  
 F2: fase folicular do segundo ciclo ovariano  
 F3: fase folicular do terceiro ciclo ovariano  
 PO1: fase periovulatória do primeiro ciclo ovariano  
 PO2: fase periovulatória do segundo ciclo ovariano  
 PO3: fase periovulatória do terceiro ciclo ovariano  
 L1: fase lútea do primeiro ciclo ovariano  
 L2: fase lútea do segundo ciclo ovariano  
 L3: fase lútea do terceiro ciclo ovariano

As médias e os respectivos intervalos de confiança do tempo de transporte mucociliar nasal de sacarina nas fases dos ciclos ovarianos encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2 – MÉDIAS E DESVIO-PADRÃO DAS MEDIDAS DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DE SACARINA (EM MINUTOS) NO SEXO FEMININO

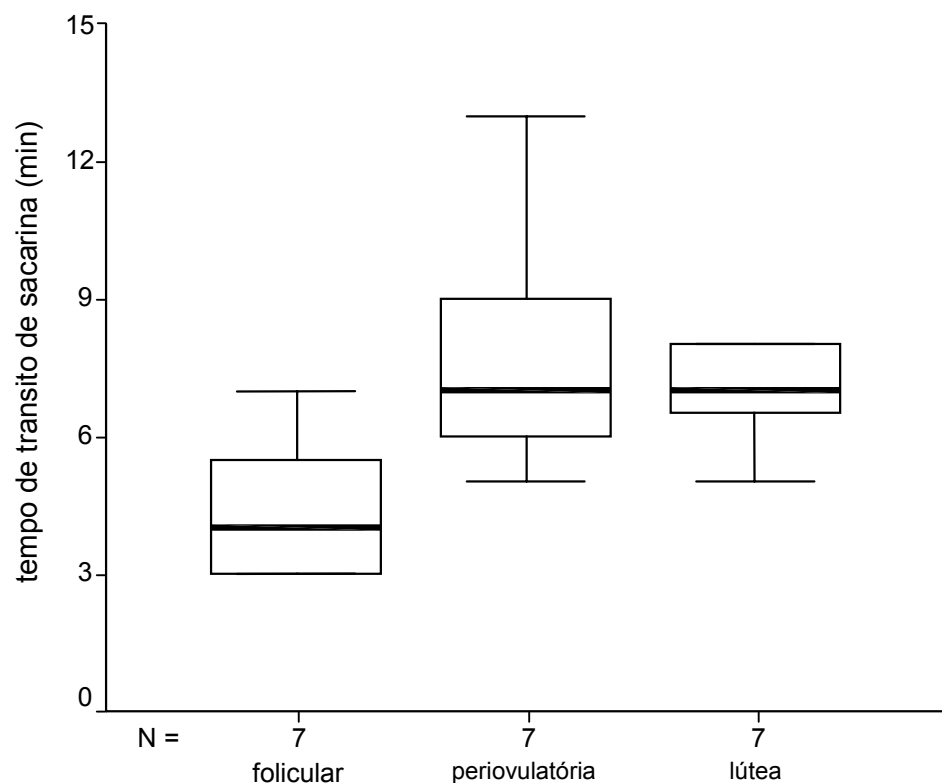
	<b>F1</b>	<b>PO1</b>	<b>L1</b>	<b>F2</b>	<b>PO2</b>	<b>L2</b>	<b>F3</b>	<b>PO3</b>	<b>L3</b>
Média (min)	4,4	7,8	8,5	9,8	9,2	9,4	23,5	12	15,5
Desvio-padrão	1,6	2,9	4,7	4,8	5,4	4,2	2,1	2,8	2,1
Número de indivíduos	7	7	7	7	7	7	2	2	2

NOTA: F1: fase folicular do primeiro ciclo ovariano  
F2: fase folicular do segundo ciclo ovariano  
F3: fase folicular do terceiro ciclo ovariano  
PO1: fase periovulatória do primeiro ciclo ovariano  
PO2: fase periovulatória do segundo ciclo ovariano  
PO3: fase periovulatória do terceiro ciclo ovariano  
L1: fase lútea do primeiro ciclo ovariano  
L2: fase lútea do segundo ciclo ovariano  
L3: fase lútea do terceiro ciclo ovariano  
min: minutos

À análise estatística, verificou-se que, entre as mulheres, a velocidade de transporte mucociliar nasal da sacarina foi significativamente maior na fase folicular apenas no primeiro ciclo ovariano estudado ( $p=0,03$ ). No segundo e terceiro ciclos ovarianos estudados não houve diferenças significativas do ponto de vista estatístico ( $p=0,05$  e  $p=0,53$  respectivamente) entre as fases folicular, periovulatória e lútea.

O Gráfico 2 representa as médias e os intervalos de confiança para o transporte mucociliar nasal de sacarina ao longo do primeiro ciclo ovariano analisado no sexo feminino.

GRÁFICO 2 – MEDIDAS DO TRANSPORTE MUCOCILIAR DE SACARINA (EM MINUTOS) NAS TRÊS FASES DO PRIMEIRO CICLO OVARIANO: MÉDIA E INTERVALO DE CONFIANÇA NO SEXO FEMININO





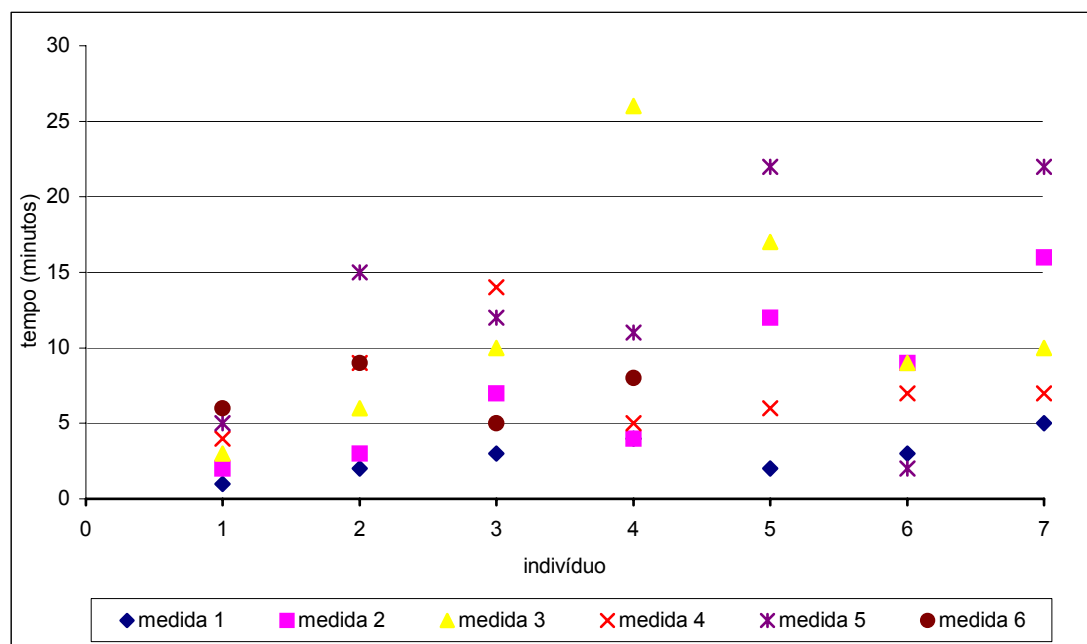
O tempo decorrido para o transporte mucociliar nasal da sacarina no sexo masculino está representado na Tabela 3. A dispersão das medidas obtidas para cada indivíduo do sexo masculino é representada no Gráfico 3.

TABELA 3– TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DE SACARINA NO SEXO MASCULINO (EM MINUTOS)

INDIVÍDUO (iniciais)	1 <sup>a</sup> (min)	2 <sup>a</sup> (min)	3 <sup>a</sup> (min)	4 <sup>a</sup> (min)	5 <sup>a</sup> (min)	6 <sup>a</sup> (min)
MAR	2	3	4	2	3	5
AGS	3	7	4	12	9	16
VP	6	10	26	17	9	10
MS	9	14	5	6	7	7
LSCF	15	12	11	22	2	22
AF	9	5	8	-	-	-
FH	20	22	17	-	-	-

NOTA: 1<sup>a</sup> à 6<sup>a</sup>: medidas do transporte mucociliar nasal da sacarina  
min: minutos

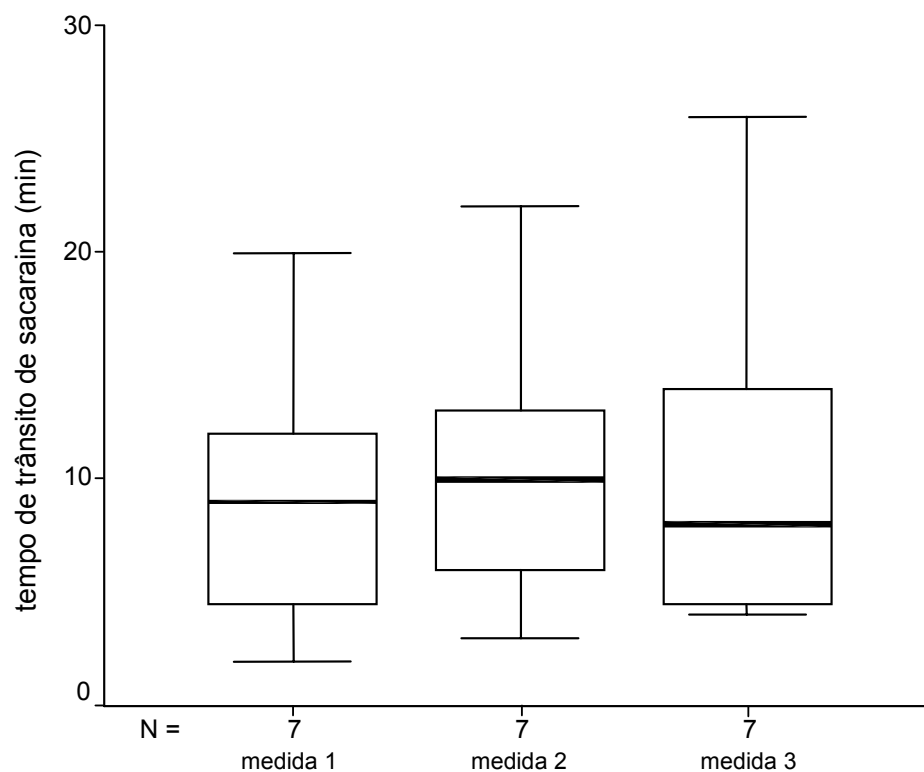
GRÁFICO 3 – DISPERSÃO DAS MEDIDAS DO TRANSPORTE MUCOCILIAR DE SACARINA (EM MINUTOS) NO SEXO MASCULINO



O tempo médio de transporte mucociliar nasal de sacarina no sexo masculino foi de 10 minutos, com desvio-padrão de 6,6 minutos.

À análise estatística, não houve diferenças significativas entre as três primeiras medidas do transporte mucociliar nasal da sacarina, realizadas em todos os indivíduos do sexo masculino ( $p>0,05$ ). O Gráfico 4 ilustra essas medidas, com suas médias e intervalos de confiança.

GRÁFICO 4 – TRÊS PRIMEIRAS MEDIDAS DO TRANSPORTE MUCOCILIAR DA SACARINA (EM MINUTOS) NO SEXO MASCULINO: MÉDIAS E INTERVALOS DE CONFIANÇA



Considerando-se as medidas em ambos os sexos, houve tendência de transporte mais rápido na fase folicular do primeiro ciclo ovariano quando estudado em relação às demais fases do ciclo e às medidas no sexo masculino, porém não significativa à análise estatística ( $p=0,08$ ).

#### **4.2. PESQUISA DOS RECEPTORES PARA ESTRÓGENO E PROGESTERONA NA MUCOSA NASAL HUMANA**

As Figuras 5 e 6 mostram, respectivamente, as lâminas de carcinoma ductal de mama utilizadas como controles positivos da reação imuno-histoquímica para receptores para estrógeno e progesterona.

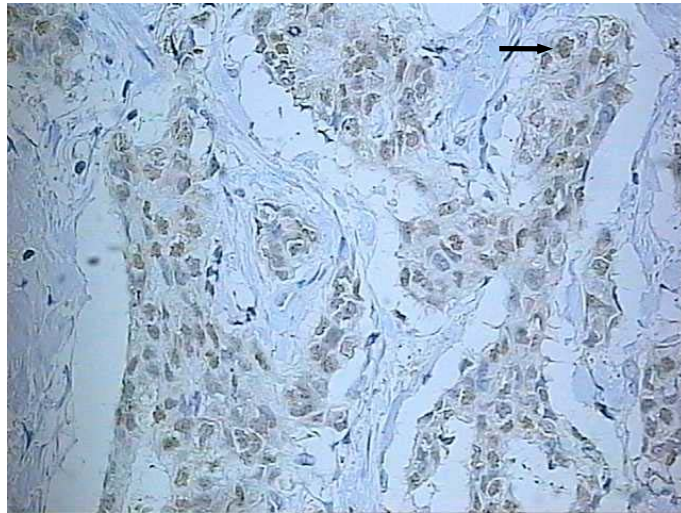


FIGURA 5 – LÂMINA DE CARCINOMA DUCTAL DE MAMA UTILIZADA COMO CONTROLE POSITIVO DA REAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA COM ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA RECEPTORES PARA ESTRÓGENO (AUMENTO DE 200 VEZES).

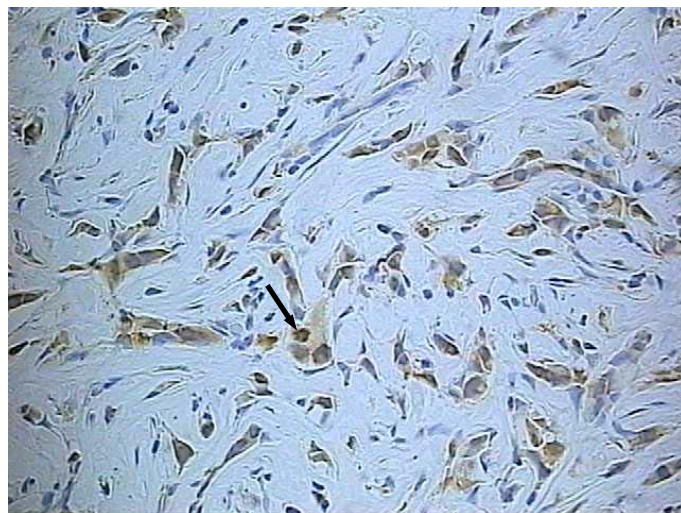


FIGURA 6 – LÂMINA DE CARCINOMA DUCTAL DE MAMA UTILIZADA COMO CONTROLE POSITIVO DA REAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA COM ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA RECEPTORES PARA PROGESTERONA (AUMENTO DE 200 VEZES).

Nas lâminas de conchas nasais inferiores submetidas às reações imuno-histoquímicas com anticorpos monoclonais contra receptores para estrógeno e receptores para progesterona observou-se que:

1. não houve expressão de RE nem RP nas conchas nasais de pacientes do sexo feminino;
2. houve expressão de RE e RP em conchas nasais de pacientes do sexo masculino.

Nos pacientes do sexo masculino, verificou-se a presença de RE em grande quantidade no citoplasma celular nas glândulas seromucosas da lâmina própria em seis casos (60%). A reação para RP (também intracitoplasmáticos nas glândulas seromucosas) foi fracamente positiva em três indivíduos (30%). Em três casos (30%) a pesquisa de ambos os receptores foi positiva. Os achados à pesquisa de RE e RP na mucosa nasal humana através da técnica imuno-histoquímica encontram-se sumarizados na Tabela 4.

Não foram encontrados RE nem RP no epitélio ciliado e nos vasos sangüíneos.

TABELA 4 – RECEPTORES PARA ESTRÓGENO E PROGESTERONA NAS CONCHAS NASAIS DE PACIENTES DO SEXO MASCULINO SUBMETIDOS A TURBINECTOMIA PARCIAL DA CONCHA INFERIOR

INDIVÍDUO NÚMERO	INICIAIS	RECEPTORES PARA ESTRÓGENO	RECEPTORES PARA PROGESTERONA
11	LCS	-	-
12	RVP	-	-
13	AMS	-	-
14	RPA	+	-
15	ASS	+	-
16	ELFE	+	+
17	PRS	-	-
18	MSO	+	-
19	GP(1)*	+	+
20	GP(2)*	+	+

NOTA: \* gêmeos monozigóticos

As Figuras 7 e 8 ilustram, respectivamente, os achados de reações imuno-histoquímicas positivas para RE e RP na mucosa da concha nasal inferior de indivíduo do sexo masculino (GP1).

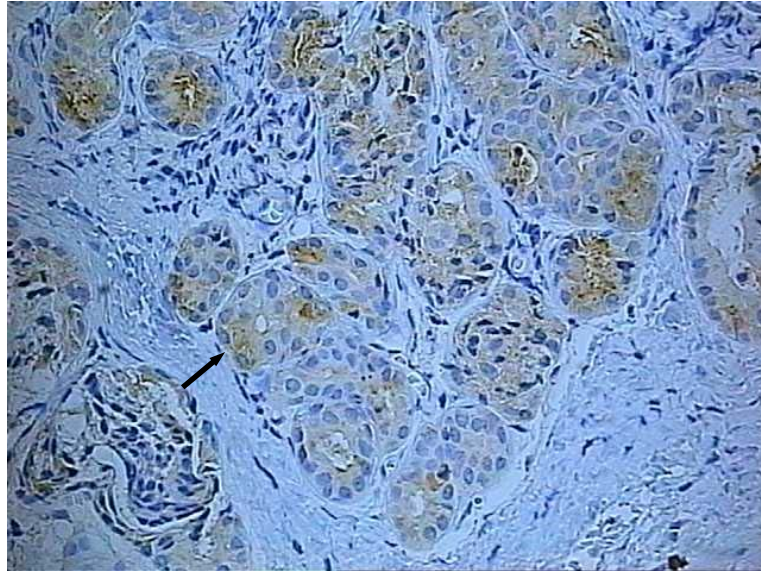


FIGURA 7 – LÂMINA DE MUCOSA DA CONCHA NASAL INFERIOR DE PACIENTE DO SEXO MASCULINO EXIBINDO REAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA POSITIVA PARA RECEPTORES PARA ESTRÓGENO NAS GLÂNDULAS SEROMUCOSAS DA LÂMINA PRÓPRIA (AUMENTO DE 200 VEZES).

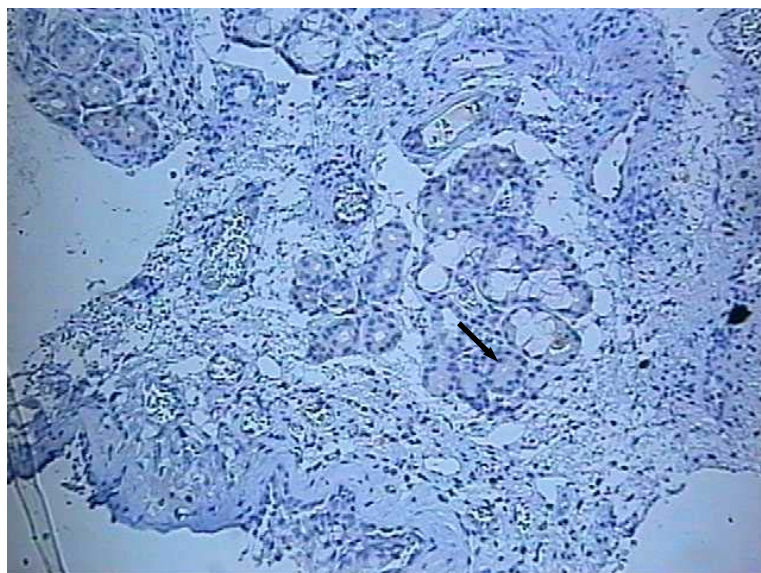


FIGURA 8 – LÂMINA DE MUCOSA DA CONCHA NASAL INFERIOR DE PACIENTE DO SEXO MASCULINO EXIBINDO REAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA POSITIVA PARA RECEPTORES PARA PROGESTERONA NAS GLÂNDULAS SEROMUCOSAS DA LÂMINA PRÓPRIA (AUMENTO DE 100 VEZES).

## **5. DISCUSSÃO**

### **5.1. AVALIAÇÃO DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DE SACARINA**

Empregamos neste estudo o método do transporte mucociliar nasal de sacarina em virtude de o mesmo ser largamente usado na prática clínica para avaliação do transporte mucociliar nasal desde 1970, não invasivo, atóxico, de fácil realização e baixo custo. Descartamos a hipótese de utilizar isótopos radioativos para a avaliação do transporte mucociliar nasal, dada a necessidade de realizar medidas repetidas nos indivíduos participantes do estudo, o que implicaria em maior risco potencial de lesão das estruturas oculares pela radiação.

Consideramos confiáveis os resultados obtidos na avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina em nossa casuística. Por precaução, conforme a técnica sugerida por ANDERSEN; PROCTOR (1983) adicionamos o corante azul de metileno à partícula de sacarina para nos certificarmos do tempo de transporte da sacarina caso houvesse dúvida quanto à sensação gustativa dos indivíduos participantes da pesquisa.

Porém, não foi necessário o exame da orofaringe para identificar o corante em nenhuma das medidas, sendo fidedignas todas as informações dos voluntários. Além disso, nenhum dos participantes apresentou, ao longo de todo o período de estudo, fatores que eventualmente pudessem prejudicar o transporte mucociliar nasal, tais como infecções respiratórias ou crises de rinite.

Concordamos com SENENT-SÁNCHEZ et al. (1990) e ADDE; ROZOV (1997) quanto à facilidade de execução do método da sacarina para mensurar o transporte mucociliar nasal. Porém, gostaríamos de lembrar um cuidado freqüentemente omitido na metodologia dos trabalhos que empregam essa técnica: deve-se depositar a partícula de sacarina sobre a mucosa concha nasal inferior com a menor manipulação possível. Esse procedimento evita o estímulo do sistema nervoso vegetativo, que poderia resultar em hipersecreção glandular - alterando o mecanismo de transporte mucociliar nasal - ou em espirros - invalidando o teste.

Ressaltamos que foram feitas medidas repetidas no sexo masculino a fim de mensurar eventuais variações inerentes ao próprio transporte mucociliar nasal de sacarina, portanto independentes da influência dos estrógenos e progesterona (hipótese testada no sexo feminino). Dois dos indivíduos do sexo masculino puderam realizar somente três medidas do transporte mucociliar nasal em virtude de problemas pessoais que os impossibilitaram de comparecer ao local de exame para completar o total de medidas previsto (seis).

O tempo de transporte mucociliar nasal de sacarina nos voluntários sem queixas nasais variou de dois a 26 minutos, não se registrando caso em que o indivíduo não sentisse o gosto do adoçante. A variação interindividual do tempo de transporte nasal de sacarina foi compatível com a descrita por FERGUSON; MABRY (1997) em pessoas normais. Salientamos que para um indivíduo do sexo masculino (caso número 3), registramos transporte mucociliar nasal da sacarina em 6 minutos na melhor medida e em 26 minutos na pior. Isoladamente, essa medida de 26 minutos não significa que há alteração patológica do mecanismo de depuração mucociliar nasal neste voluntário. O estudo precedente de ADDE; ROZOV (1997) igualmente aponta para a existência de pessoas normais com uma ocasional depuração mucociliar nasal mais lenta da sacarina mesmo em condições adequadas de temperatura e umidade relativa do ar. Já foram aventadas as hipóteses de influência do ritmo circadiano, do ciclo nasal, do peso e altura do indivíduo sobre a velocidade de transporte mucociliar nasal em humanos normais (que talvez predispuessem à lentidão do transporte mucociliar nasais em determinadas situações), mas nenhuma dessas possibilidades foi comprovada segundo HELLÍN-MESEGUER; MERINO-GÁLVEZ (1994).

O tempo médio de transporte mucociliar nasal de sacarina obtido neste estudo foi de 9,3 minutos, um pouco superior ao relatado nos trabalhos de RIZZO (1994) e ADDE; ROZOV (1997) – também realizados com amostras da população brasileira -, porém perfeitamente dentro do limite considerado aceitável para o método, que é de uma hora de acordo com ENGLENDER et al. (1990).



Quanto à influência dos hormônios femininos no transporte mucociliar nasal, ARMENGOT et al. (1990b) em estudo com humanos, e SALDIVA et al. (1995) em estudo com animais, encontram velocidade de transporte mucociliar nasal maior no sexo feminino quando os níveis estrogênicos estão mais elevados (fase periovulatória e estro respectivamente). Nossos resultados, entretanto, apontaram para o aumento da velocidade de transporte mucociliar nasal de sacarina na fase folicular, justamente na qual os níveis de estrógenos são os *mais baixos*. Perante este fato, discordamos dos autores.

Com relação aos achados de ARMENGOT et al. (1990b), frisamos que os autores baseiam sua conclusão em medidas feitas nas três fases de um único ciclo ovariano. Em nossa casuística, observamos que o aumento da velocidade de transporte mucociliar nasal de sacarina ocorreu de modo considerável *apenas no primeiro ciclo ovariano* estudado. Considerando dois ciclos ovarianos consecutivos em cinco mulheres, e três ciclos consecutivos em duas mulheres, não se manteve a diferença estatística no transporte mucociliar nasal de sacarina na fase folicular. Portanto, parece-nos que a flutuação da velocidade de transporte mucociliar nasal nas várias fases do ciclo ovariano é puramente casual e não induzida pelos níveis estrogênicos.

Segundo SALDIVA et al. (1995) o transporte mucociliar nasal mais lento nas fêmeas de ratos Wistar em diestro (baixos níveis de estrógenos) predisporia ao maior tempo de contato entre o muco e o epitélio respiratório. Nesse contexto, o muco exerceria um papel citoprotetor, reduzindo o efeito deletério dos agentes tóxicos e irritantes inalados sobre a mucosa

respiratória e, por conseguinte, conferindo menor suscetibilidade às doenças das vias aéreas no sexo feminino. Não obstante, considerando nossos resultados concluímos que, em condições fisiológicas, isso parece não ocorrer na espécie humana durante a fase folicular do ciclo ovariano.

ARMENGOT et al. (1993) afirmam que, de modo geral, o transporte mucociliar nasal é mais rápido nas mulheres, mas parecem mais dignas de crédito as observações de HELLÍN-MESEGUER; MERINO-GÁLVEZ (1994) e KAO et al. (1994) sobre a inexistência de diferenças sexuais. Nosso achado foi concordante com o desses autores, e a crítica inicial de que a ampla faixa etária estudada nesses dois trabalhos poderia ter diluído as diferenças sexuais não se sustenta: as diferenças insignificantes no transporte mucociliar nasal na idade reprodutiva não alteram o resultado geral.

É necessária a realização de estudos dedicados exclusivamente ao transporte mucociliar nasal na gestação, já que a controvérsia sobre a influência dos estrógenos e outros hormônios nessa fase da vida da mulher é ainda maior (HELLÍN-MESEGUER et al., 1994, ELLEGÅRD; KARLSSON, 2000).

## ***5.2. PESQUISA DE RECEPTORES PARA ESTRÓGENO E PROGESTERONA NA MUCOSA NASAL HUMANA***

Adotamos neste trabalho a técnica imuno-histoquímica com anticorpos monoclonais uma vez que a mesma é empregada rotineiramente para pesquisa de receptores para estrógeno e progesterona no câncer de mama, possuindo metodologia bem conhecida no nosso meio.

Os resultados da reação imuno-histoquímica com anticorpos monoclonais para receptores para estrógeno (RE) e receptores para progesterona (RP) nesta pesquisa mostram que é possível encontrar ambos os receptores no tecido nasal humano.

O conhecimento da fisiologia dos RE e RP é, fundamentalmente, calcado no estudo do aparelho reprodutor feminino, onde os receptores são expressos em grande quantidade (PAECH et al., 1997, DICKSON; STANCEL, 2000, HAGER et al., 2000, PAVAO; TRAISH, 2001). No endométrio e glândula mamária existem milhares de RE por célula. Já a mucosa nasal, dentre outros tecidos extragenitais, não é alvo prioritário dos esteróides sexuais, possuindo baixa densidade de receptores, como indica o método bioquímico utilizado por WILSON et al. (1986) e SIIVONEN (1994). Desse modo, a técnica imuno-histoquímica nos moldes usados para os órgãos reprodutores pode ser insuficiente para gerar reação na mucosa nasal, dado o número reduzido de epítomos no tecido. Com efeito, verificamos que a concentração de anticorpos primários necessária para

reagir com os antígenos de RE e RP na mucosa nasal foi muito maior do que a utilizada rotineiramente para as lâminas de tecido mamário.

Encontramos dois relatos interessantes na literatura consultada e que contemplam esse aspecto. O primeiro é o de LEIMOLA-VIRTANEN et al (2000). Em glândulas salivares, a reação imuno-histoquímica para RE é negativa, mas a extração do ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) dos receptores, depois tratado pela transcriptase reversa para obtenção do DNA complementar do RE, por sua vez amplificado pela reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), mostra-se positiva. Portanto, em estudos futuros envolvendo receptores esteróidicos na mucosa nasal, talvez os métodos de biologia molecular como o “Western blot” para detecção da proteína dos RE e RP e a amplificação “in situ” de seu RNAm sejam mais indicados do que as reações imuno-histoquímicas com anticorpos monoclonais. O segundo relato, de SUMIYOSHI et al. (2001), acena com a possibilidade de aumentar-se a sensibilidade para detecção dos RE pelo desenvolvimento das próprias técnicas de imuno-histoquímica com anticorpos monoclonais. Estudando a expressão de RE em casos de câncer de mama, os pesquisadores afirmam que o uso do complexo streptavidina-biotina (o mesmo “kit” LSAB que empregamos neste trabalho) na reação imuno-histoquímica convencional pode ter baixa sensibilidade, levando a resultados falsos-negativos. Acreditam que a fixação do tecido no formaldeído e depois na parafina reduz a imunorreatividade dos epítomos dos RE. Os autores apresentam, então, uma variante da técnica imuno-histoquímica habitual, que utiliza ensaio imunoenzimático com tiramida biotinilada em lugar do “kit” LSAB. Relatam ter

encontrado 10 casos de câncer de mama negativos para RE pelo LSAB, mas que se revelaram positivos para RE pela nova metodologia. Comentam que essa nova alternativa pode aumentar a sensibilidade para detecção dos RE em até 10.000 vezes, sem perder-se a especificidade da reação. Além disso, a aplicação da tiramida biotinizada não se mostra tecnicamente mais complicada do que a reação imuno-histoquímica convencional. Infelizmente, o novo método não estava disponível em nosso laboratório por ocasião da realização deste estudo.

De acordo com nossos resultados, os homens são mais propensos a expressar RE e RP. Assim como PAULSSON et al. (1997), não encontramos os receptores na mucosa de mulheres. Uma explicação é que, no sexo feminino, ocorreria redução numérica (“down-regulation”) dos receptores em virtude dos elevados níveis circulantes de hormônios. A idéia é coerente com o mecanismo fisiológico de regulação da expressão de RE e RP descrito por BOUCHARD (1999). Parece improvável que os contraceptivos orais utilizados por três pacientes tenham influenciado no resultado negativo destes casos, uma vez que os medicamentos pertenciam ao grupo das pílulas de baixa dosagem hormonal (ambas contendo levonorgestrel 0,15mg e etinilestradiol 0,03mg).

Salientamos que houve discrepância em relação aos resultados de WILSON et al. (1986), SIIVONEN (1994) e KRÖTSCH; RIEDERER (1998), os quais identificam RE e RP na mucosa nasal de mulheres. Todavia, WILSON et al. (1986) e SIIVONEN (1994) obtêm concentrações mínimas de ambos os receptores na minoria dos casos. KRÖTSCH; RIEDERER (1998)

não divulgam o número de lâminas positivas dentre as 40 analisadas, nem a intensidade da reação imuno-histoquímica em cada caso.

A partir da experiência com as neoplasias de mama, acredita-se que, embora os RE e RP possam estar presentes também no citoplasma, são os receptores intranucleares que efetivamente deflagram os efeitos do hormônio no DNA celular através da ativação de proto-oncogenes. Por isso, para avaliar se a neoplasia é positiva para RE e RP (fator de prognóstico para terapia com anti-estrógenos), considera-se somente sua existência no núcleo celular.

Tanto no estudo de KRÖTSCH; RIEDERER (1998) quanto no nosso, os RE localizaram-se no citoplasma celular. Interpretando esse achado pelo critério adotado para as neoplasias de mama, pode-se supor que não há ação hormonal direta na mucosa nasal. Entretanto, cabem ressalvas:

1. Como não foi possível a fixação em parafina das conchas nasais logo após as cirurgias, a permanência do tecido na solução de formaldeído por tempo prolongado pode ter comprometido a imunogenicidade dos RE e RP intranucleares para as reações imuno-histoquímicas.
2. Pode ter havido ruptura da membrana nuclear durante o processamento histológico, com dispersão dos receptores intranucleares no citoplasma.

Para rever posteriormente a localização dos RE e RP nos diferentes compartimentos celulares, poder-se-ia submeter um fragmento da mucosa ao processamento histológico imediatamente após a cirurgia ou utilizar a técnica de congelamento do tecido ao invés da fixação na parafina. Talvez nessas situações fossem encontrados receptores intranucleares,

confirmando a ação hormonal diretamente no genoma celular, a qual, por ora, não pode ser descartada.

Quanto à distribuição dos receptores na mucosa nasal, observamos que há RE e RP nas glândulas da lâmina própria, mas não no epitélio. O fato é sugestivo de que possa haver influência dos hormônios sexuais femininos na modificação da quantidade e/ou das características do muco nasal, mas não na frequência do batimento ciliar epitelial. Isso se coaduna com as constatações de outros autores em relação ao componente secretor da mucosa (SOUTHAM; GONZAGA, 1965, HELMI et al., 1975, TOPPOZADA et al., 1982, TOPPOZADA et al., 1984, PONTES et al., 1989, SALDIVA et al., 1995).

Para KRÖTSCH; RIEDERER (1998), que identificaram RE em feixes nervosos das glândulas seromucosas, seria possível imputar o estímulo à secreção de muco através da ação neuroendócrina dos estrógenos nas terminações parassimpáticas, de forma coerente com outros dados da literatura (REYNOLDS; FOSTER, 1940, TOPPOZADA et al., 1981, KONNO et al., 1986 e BARANIUK; KALINER, 1990). Em nosso trabalho, não encontramos reação imuno-histoquímica nas fibras neurais. Poderíamos tentar estudar a ação hormonal no sistema nervoso vegetativo através de uma dupla reação histoquímica, procurando RE em terminações colinérgicas, por exemplo. Embora muito mais trabalhosa, a técnica é factível, e possibilitaria buscar uma explanação lógica para a “coriza sexual”.

Os dados de SALDIVA et al. (1995) mostram que não há diferença no volume glandular da lâmina própria entre machos e fêmeas de ratos Wistar,

nem entre as fases do ciclo estral. Os autores mostram, através de técnicas histoquímicas, que há sim modificações bioquímicas e reológicas do muco nasal, portanto *qualitativas*. Não se sabe quais seriam os genes modulados pelos RE e RP nas células das glândulas da lâmina própria. Um modo indireto de descobri-los seria analisar as mudanças no fenótipo celular em explantes incubados com  $17\beta$ -estradiol e progesterona separadamente. A coloração das células produtoras de mucinas poderia ser feita pelo ácido periódico de Schiff (PAS) e pelo Alcian Blue (AB), observando-se o perfil do tecido glandular em resposta aos hormônios.

O efeito trófico dos estrógenos na mucosa nasal defendido por MORTIMER et al. (1936), ZANZUCCHI (1937), RODOLFO-MASERA (1940), CLERICI; PESTALOZZA (1958), LI (1991) e ZHAO et al. (1994), provavelmente se deve à congestão vascular, e não à variação do fenótipo epitelial. Supomos que o epitélio nasal, não possuindo RE, não exiba as mesmas alterações morfológicas encontradas no revestimento vaginal, por exemplo. Tendemos a acreditar que a metaplasia escamosa do epitélio nasal vista por HELMI et al. (1975) e TOPPOZADA et al. (1984) após uso de estrógenos não seja causada pela ação hormonal direta sobre as células epiteliais.

Diferenças maiores em relação aos dados de KRÖTSCH; RIEDERER (1998) foram obtidas para os RP. Nossa reação resultou apenas fracamente positiva nas glândulas da lâmina própria, sem coloração no tecido conjuntivo glandular ou na região subepitelial. Uma hipótese é o artefato de coloração nessas regiões no material analisado pelos pesquisadores que nos



precederam. Aparentemente, a progesterona tem papel secundário na mucosa nasal.

Alguns aspectos não elucidados até o momento merecem pesquisas mais aprofundadas:

1. Os anticorpos monoclonais primários contra RE e RP empregados neste estudo reagiram com o total de RE e RP respectivamente. Tais anticorpos não eram dirigidos contra epítomos específicos de RE $\alpha$ , RE $\beta$ , RP-A ou RP-B, não permitindo detectar cada isoforma dos receptores de maneira isolada. As reações imuno-histoquímicas tão-somente permitiram concluir que há RE e RP nas glândulas seromucosas da lâmina própria. Resta identificar as isoformas RE $\alpha$ /RE $\beta$  e RP-A/RP-B, bem como sua proporção no tecido glandular nasal. Os trabalhos mais recentes envolvendo a fisiologia dos receptores têm sido direcionados nesse sentido, porque cada isoforma tem papel funcional distinto. Já estão disponíveis comercialmente alguns anticorpos monoclonais específicos para RE $\alpha$  e RE $\beta$ , e espera-se que no futuro próximo existam anticorpos similares para as isoformas dos RP.
2. Os gêmeos monozigóticos do sexo masculino participantes do estudo apresentaram reação imuno-histoquímica positiva para RE e RP. Seria interessante analisar outros pares de gêmeos de ambos os sexos para investigar o componente genético na expressão dos receptores esteroídicos na mucosa nasal.

Em resumo, nossos resultados mostraram que não houve diferenças sexuais nas medidas repetidas do transporte mucociliar nasal de sacarina em indivíduos sem queixas nasais na faixa etária reprodutiva. Da mesma forma, não ocorreram variações reprodutíveis do transporte mucociliar nasal de sacarina nas fases folicular, periovulatória e lútea em ciclos ovarianos subseqüentes no sexo feminino. Concluimos que a função de defesa inespecífica da mucosa nasal através do transporte mucociliar nasal não é prejudicada nem beneficiada pelos hormônios sexuais femininos em condições fisiológicas na espécie humana. Não há privilégio de nenhum sexo quanto à eliminação das partículas e irritantes ambientais das vias aéreas superiores, assim como nas mulheres não ocorre flutuação cíclica do transporte mucociliar coincidente com os ciclos ovarianos regulares.

Analisando o grupo de pacientes submetidos à turbinectomia parcial da concha inferior – homogêneo quanto à distribuição por sexo, faixa etária, índice de massa corpórea, idade da menarca e hábito tabágico em relação ao grupo de voluntários nos quais avaliamos o transporte mucociliar nasal de sacarina – percebemos que há possibilidade de ação direta do estrógeno e da progesterona sobre a síntese do muco nasal na espécie humana. Porém, parece que o tecido glandular nasal é pouco responsivo aos esteróides sexuais femininos em situação fisiológica, pela pequena densidade de RE e RP que possui, daí a ausência de reflexos dos níveis hormonais no transporte mucociliar nasal de sacarina.

Concluindo, é inegável a evolução da Medicina nos mais de 2.800 anos que separam o folclore dos narizes avantajados dos dias atuais.

Todavia, a influência hormonal sobre os processos fisiopatológicos nasais ainda é negligenciada na prática clínica. A rinite em mulheres hiperestrogênicas é subdiagnosticada, assim como não se dá à rinite gravídica a atenção que a mesma requer. Ainda há muito para ser estudado a esse respeito, mas o conhecimento dos meios pelos quais os hormônios sexuais modulam os processos fisiológicos na mucosa nasal pode começar a iluminar o caminho para melhor tratar essas pacientes.

## **6. CONCLUSÕES**

1. Com relação à avaliação do transporte mucociliar nasal de sacarina em indivíduos sem queixas nasais:
  - 1.1. não foram encontradas diferenças significativas entre os sexos feminino e masculino na faixa etária reprodutiva;
  - 1.2. considerando-se as fases folicular, periovulatória e lútea de ciclos ovarianos consecutivos no sexo feminino, observou-se que o transporte mucociliar nasal de sacarina foi mais rápido na fase folicular apenas no primeiro ciclo estudado, sem diferença significativa nos demais ( $p=0,08$ ).
  
2. Com relação à pesquisa de receptores para estrógeno e progesterona na mucosa de conchas nasais inferiores humanas através de método imuno-histoquímico:
  - 2.1. não foram encontrados receptores para estrógeno e progesterona na mucosa de conchas nasais inferiores de pacientes do sexo feminino. No sexo masculino, houve expressão de receptores para estrógeno em 60% dos casos, de receptores para progesterona em 30% dos

casos e, em 30% dos pacientes, foram encontrados ambos os receptores na mucosa das conchas nasais inferiores;

- 2.2. Os receptores para estrógeno e progesterona na mucosa de conchas nasais inferiores de pacientes do sexo masculino localizaram-se no citoplasma celular em glândulas seromucosas da lâmina própria.

## 7. ANEXOS

ANEXO A – AVALIAÇÃO DO TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL DE SACARINA:  
DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS (GRUPO A) SEGUNDO SEXO, IDADE,  
ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA (IMC) E IDADE DA MENARCA (ANOS)

INDIVÍDUO NÚMERO	INICIAIS	SEXO	IDADE (ANOS)	MENARCA (ANOS)	ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA
1	AS	F	29	11	25
2	TS	F	21	11	25,15
3	RGS	F	30	11	22,19
4	CCA	F	25	12	21,64
5	NMF	F	20	13	24,09
6	PGO	F	15	13	18,37
7	ADP	F	17	13	19,83
8	MAR	M	30	-	24,76
9	AGS	M	28	-	24,28
10	VP	M	26	-	22,49
11	MS	M	20	-	20,24
12	LSCF	M	26	-	24,54
13	AF	M	23	-	22,64
14	FH	M	20	-	24,84

NOTA: F: sexo feminino; M: sexo masculino

MÉDIAS DAS IDADES, IDADE DA MENARCA E ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO A

Média geral das idades:  $23,5 \pm 4,8$  anos

Média das idades no sexo feminino:  $22,4 \pm 5,7$  anos

Média de idade da menarca:  $12 \pm 1$  anos

Média das idades no sexo masculino:  $24,7 \pm 3,8$  anos

Média do IMC no sexo feminino:  $22,3 \pm 2,6$

Média do IMC no sexo masculino:  $23,4 \pm 1,7$

ANEXO B – PACIENTES SUBMETIDOS A TURBINECTOMIA PARCIAL DA CONCHA INFERIOR (GRUPO B): DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS SEGUNDO DIAGNÓSTICO PRÉ-OPERATÓRIO E CIRURGIA REALIZADA

PACIENTE NÚMERO	INICIAIS	DIAGNÓSTICO	CIRURGIA REALIZADA
1	GPDF	RA, DS para esquerda	SP, TIP bilateral
2	KAMS	RA, HAD DS para esquerda	SP, TIP direita, AD
3	CTM	RA, DS para direita	SP, TIP bilateral
4	OSQ	RINA, DS para esquerda	SP, TIP direita, estreitamento da columela
5	MRS	RINA, DS para direita	SP, TIP esquerda
6	LM	Trauma nasal, DS para esquerda	SP, TIP direita
7	CMP	RINA, DS para esquerda	SP, TIP direita
8	RAS	Trauma nasal, DS para esquerda	SP, TIP bilateral
9	RD	DS para esquerda rinomegalia	RSP, TIP bilateral
10	DAM	DS para direita rinomegalia	RSP, TIP bilateral
11	LCS	DS para esquerda	SP, TIP direita
12	RVP	DS para direita, HAD	SP, TIP bilateral, AD
13	AMS	DS para direita	SP, TIP bilateral
14	RPA	DS para esquerda, HAD	SP, TIP bilateral, AD
15	ASS	DS para esquerda	SP, TIP bilateral
16	ELFE	DS para direita rinomegalia	RSP, TIP esquerda
17	PRS	DS para direita	SP, TIP esquerda
18	MSO	DS para direita	SP, TIP bilateral
19	GP(1)	RA, DS para esquerda, HAD	SP, TIP direita, AD
20	GP(2)	RA, DS para direita	SP, TIP esquerda

NOTA: DS: desvio septal; HAD: hipertrofia de adenóide; RA: rinite alérgica; RINA: rinite não alérgica; SP: septoplastia; TIP: turbinectomia parcial da concha inferior; AD: adenoidectomia; RSP: rinosseptoplastia.

ANEXO C – PACIENTES SUBMETIDOS A TURBINECTOMIA PARCIAL DA CONCHA INFERIOR (GRUPO B): DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS SEGUNDO SEXO, IDADE, HÁBITO TABÁGICO, ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA (IMC), IDADE DA MENARCA (ANOS) E USO DE CONTRACEPTIVO HORMONAL

PACIENTE NÚMERO	INICIAIS	SEXO	IDADE (ANOS)	MENARCA (ANOS)	ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA	TABAGISMO	CONTRACEPTIVO HORMONAL
1	GPDF	F	30	12	25,72	Não	<sup>(1)</sup> Nordette
2	KAMS	F	19	12	22,19	Não	Não
3	CTM	F	18	12	22,66	Não	Não
4	OSQ	F	25	13	20,42	Não	<sup>(2)</sup> Microvlar
5	MRS	F	32	13	19,98	Não	Não
6	LM	F	21	14	20,31	Não	Nordette
7	CMP	F	23	14	24,09	Não	Não
8	RAS	F	21	12	20,96	Sim	Não
9	RD	F	25	10	20,66	Não	Não
10	DAM	F	21	11	22,98	Não	Não
11	LCS	M	26	-	24,77	Não	-
12	RVP	M	15	-	20,57	Não	-
13	AMS	M	22	-	20,72	Não	-
14	RPA	M	19	-	19,57	Não	-
15	ASS	M	19	-	23,59	Não	-
16	ELFE	M	15	-	15,51	Não	-
17	PRS	M	33	-	23,99	Não	-
18	MSO	M	25	-	23,18	Não	-
19	<sup>(3)</sup> GP(1)	M	17	-	23,04	Não	-
20	<sup>(3)</sup> GP(2)	M	17	-	24,62	Não	-

NOTA: F: sexo feminino; M: sexo masculino

<sup>(1)</sup> e <sup>(2)</sup> Contraceptivos para uso oral, ambos contendo levonorgestrel 0,15mg e etinilestradiol 0,03mg.

<sup>(1)</sup> Marca registrada de Wyeth

<sup>(2)</sup> Marca registrada de Schering

<sup>(3)</sup> Gêmeos monozigóticos

MÉDIAS DAS IDADES, IDADE DA MENARCA E ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA DOS PACIENTES DO GRUPO B

Média geral das idades: 22,1±5,2 anos

Média das idades no sexo feminino: 23,5±4,5 anos

Média de idade da menarca: 12,3±1,2 anos

Média das idades no sexo masculino: 20,8±5,7 anos

Média do IMC no sexo feminino: 22±1,8

Média do IMC no sexo masculino: 21,9±2,8



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

ADDE, F.V.; ROZOV, T. Teste de sacarina em crianças. **J. Pneumol.**, v.23, p.66-70, 1997.

ALBERTS, S.R.; INGLE, J.N.; ROCHE, P.R.; CHA, S.S.; WOLD, L.E.; FARR, G.H., Jr.; KROOK, J.E.; WIEAND, H.S. Comparison of estrogen receptor determinations by a biochemical ligand-binding assay and immunohistochemical staining with monoclonal antibody ER1D5 in females with lymph node positive breast carcinoma entered on two prospective clinical trials. **Cancer**, v.78, p.764-72, 1996.

ANDERSEN, I.; PROCTOR, D.F. Measurement of nasal mucociliary clearance. **Eur. J. Respir. Dis.**, v.64, p.37-40, 1983. Supplement 127.

ARMENGOT, M.; MARCO, J.; RUIZ, M.; BAIXAULI, A. Hormonas y mucosa nasal: una revision bibliografica. **An. Otorrinolaringol. Ibero Am.**, v.27, p.317-28, 1990a.

ARMENGOT, M.; BASTERRA, J.; MARCO, J. La fonction nasale mucociliaire au cours du cycle menstruel chez la femme en bonne santé. **Rev. Laryngol. (Bordeaux)**, v.111, p.107-9, 1990b.

ARMENGOT, M.; BARONA, R. GARIN, L; BASTERRA, J. The influence of

---

\*De acordo com:

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. **Estrutura e apresentação de dissertações e teses**. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha. São Paulo, Serviço de Biblioteca e Documentação, 1996.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS.

age, sex and circadian rhythms on the nasal mucosal in the mucociliary clearance. **An. Otorrinolaringol. Ibero Am.**, v.20, p.581-8, 1993.  
[Resumo]

ARRARTE, A.L.; RIBEIRO, E.; ARRARTE, J.L.F.; BATISTA, M.; SANT'ANNA, G.D.; LUBIANCA NETO, J.F. Manifestações rino-sinusais durante a gestação. **J. Bras. Ginecol.**, v. 106, p.301-4, 1996.

AUGUSTO, A.G.L.B.S.; BUSSOLOTTI FILHO, I.; DOLCI, J.E.L.; KÖNIG JÚNIOR, B. Estudo morfofuncional estrutural e ultra-estrutural da mucosa das regiões anteriores do septo e da concha inferior. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v.65, p.472-81, 1999.

BAMBIRRA, S.; ANSELMO-LIMA, W.T.; COLAFEMINA, J.F.; OLIVEIRA, J.A.A.; SOARES, E.G.; MELO, V.R. Avaliação clínica e histológica pré- e pós-operatória na associação da turbinectomia com septoplastia. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v.60, p.195-211, 1994.

BARANIUK, J.N.; KALINER, M.A. Neuropeptides and nasal secretion. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v.86; p.620-7, 1990.

BENDE, M.; HALLGÅRDE, U.; SJÖGREN, C.; UVNÄS-MOBERG, K. Nasal congestion during pregnancy. **Clin. Otolaryngol.**, v. 14, p.385-7, 1989.

BENDE, M.; GREDMARK, T. Nasal stuffiness during pregnancy. **Laryngoscope**, v.109, p.1108-10, 1999.

BOMPIANI, R. A proposito di correlazioni naso-genitali nella donna. Importanza del fattore endocrino costituzionale. **Clin. Ostetr.**, v.6, p.249-58, 1925.

BOUCHARD; P. Progesterone and the progesterone receptor. **J. Reprod. Med.**, v.44, p.153-7, 1999.

BRANDENBERGER, A.W.; TEE, M.K.; LEE, J.Y.; CHAO, V.; JAFFE, R.B. Tissue distribution of estrogen receptors alpha (ER $\alpha$ ) and beta (ER $\beta$ ) mRNA in the midgestational human fetus. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.82, p.3509-12, 1997.

BRAZ, R.M.A.S. **Cauterização termoeletrica submucosa de concha nasal inferior em pacientes com rinite hipertr6fica. Estudo de aspectos**

**histológicos**. São Paulo, 1998. 57p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

BROWN, M. Estrogen receptor molecular biology. **Hematol. Oncol. Clin. North Am.**, v.8, p.101-12, 1994.

BU, G.X.; DONG, Z.; ZHAO, X.J. Effect of female sex hormone on the nasal hyperreactivity. **Am. J. Rhinol.**, v. 7, p.331, 1993. [Resumo]

CAMPOS, C.A.H. **Da histoarquitetura da mucosa respiratória nasal em indivíduos normais ou com rinite alérgica**. São Paulo, 1994. 96p. Tese (Doutorado) – Escola Paulista de Medicina.

CANCIANI, M.; BARLOCCO, E.G.; MASTELLA, G.; DE SANTI, M.M.; GARDI, C.; LUNGARELLA, G. The saccharin method for testing mucociliary function in patients suspected of having primary ciliary dyskinesia. **Pediatr. Pulmonol.**, v. 5, p.210-4, 1988.

CICINELLI, E.; NAHOUL, K.; PETRUZZI, D.; GALANTINO, P.; SANTORO, G. Nasal spray administration of unmodified progesterone: evaluation of progesterone serum levels with three different radioimmunoassay techniques. **Maturitas**, v.19, p.43-52, 1994.

CLARKE, S.W.; YEATES, D. **Deposition and clearance**. In Murray, J.F.; Nadel, J.A. Textbook of respiratory medicine. Philadelphia, WB Saunders, v.1, 1994. p.345-369.

CLELAND, W.H.; MENDELSON, C.R.; SIMPSON, E.R. Effects of aging and obesity on aromatase activity of human adipose cells. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.60, p.174-7, 1985.

CLERICI, E.; PESTALOZZA, G. Delle correlazioni esistenti tra la ghiandola tiroide e le ghiandole sessuali con le sinusite iperplastico-polipoidi. Studio clinico e sperimentale. In: FERRERI, G., **Disturbi Ormonali e Neurovegetativi in Otorinolaringoiatria**. Roma, Ditta Luigi Pozzi Editore, 1958, p. 141-185.

CONNELLY, O.M.; LYDON, J.P. Progesterone receptors in reproduction: functional impact of the A and B isoforms. **Steroids**, v.65, p.571-7, 2000.

- DICKSON, R.B.; STANCEL, G.M. Estrogen receptor-mediated processes in normal and cancer cells. **J. Natl. Cancer Inst. Monogr.**, v.27, p.135-45, 2000.
- DRAGO, F.; LO PRESTI, L.; NARDO, F.; PANELLA, I.; MATERA, M.; SCAPAGNINI, U. Aromatization of testosterone by adipose tissue and sexual behaviour of castrated male rats. **Biol. Reprod.**, v.27, p.765-70, 1982.
- ELLEGÅRD, E.; KARLSSON, G. Nasal congestion during the menstrual cycle. **Clin. Otolaryngol.**, v.19, p.400-3, 1994.
- ELLEGÅRD, E.; OSCARSSON, J.; BOUGOUSSA, M.; IGOUT, A.; HENNEN, G.; EDEN, S.; KARLSSON, G. Serum level of placental growth hormone is raised in pregnancy rhinitis. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v.124, p.439-43, 1998.
- ELLEGÅRD, E.; KARLSSON, N.G. Nasal mucociliary transport in pregnancy. **Am. J. Rhinol.**, v.14, p.375-8, 2000.
- ELWANY, S.; HARRISON, R. Inferior turbinectomy: comparison of four techniques. **J. Laryngol. Otol.**, v.104, p.206-9, 1990.
- ENGLENDER, M.; CHAMOVITZ, D.; HARELL, M. Nasal transit time in normal subjects and pathologic conditions. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v.103: 909-12, 1990.
- FERGUSON, B.J.; MABRY, R.L. Laboratory diagnosis. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v.117, p.12-26, 1997. Supplement.
- FESTA, E. **Efeito do amiloride na velocidade de transporte mucociliar e na diferença de potencial transepitelial no palato isolado de rã.** São Paulo, 1993. 88p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- FLIESS, W. Die Beziehungen zwischen Nase, und weiblichen Geschlechtsorganen in ihrer biologischen Bedeutung dargestellt. Wien, 1896 *apud* BORGHESAN, E. Effetti della castrazione sperimentale sullo scheletro e sulla mucosa nasale. **Valsalva**, v.9, p. 626-46, 1931.

- GARNIER, M.; DELAMARE, V. **Dicionário de termos técnicos em Medicina**. 20<sup>a</sup>. ed. São Paulo, Andrei Editora Ltda., 1984. p.598.
- GIANGRANDE, P.; MACDONNEL, D.P. The A and B isoforms of the human progesterone receptor: two functionally different transcription factors encoded by a single gene. **Rec. Prog. Horm. Res.**, v.54, p.291-314, 1999.
- GOMPEL, A.; BERGERON, C.; JONDET, M.; DHONT, M.; VAN DER MOREN, M.J.; TOTH, K.S.; PANAY, N.; VON HOLST, T. Endometrial safety and tolerability of AERODIOL<sup>®</sup> (intranasal estradiol) for 1 year. **Maturitas**, v.36, p.209-15, 2000.
- GRASEL, S.S. **Efeitos do ácido sulfúrico sobre a mucosa nasal humana. Estudo clínico, histopatológico e imunohistoquímico em trabalhadores expostos a névoas de ácido sulfúrico**. São Paulo, 1997. 115p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- HAEGGSTRÖM, A.; ÖSTBERG, B.; STJERNA, P.; GRAF, P.; HALLÉN, H. Nasal mucosal swelling and reactivity during a menstrual cycle. **O.R.L. J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.**, v. 62, p.39-42, 2000.
- HAGER, G.L.; LIM, C.S.; ELBI, C.; BAUMANN, C.T. Trafficking of nuclear receptors in living cells. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v.74, p.249-54, 2000.
- HAMANO, N.; TERADA, N.; KONNO, A. The effects of female hormones on the eosinophilic inflammation of nasal mucosa. **Am. J. Rhinol.**, v.11, p.446, 1997. [Resumo]
- HAMANO, N.; TERADA, N.; MAESAKO, K.; IKEDA, K.; FUKUDA, S.; WAKITA, J.; YAMASHITA, T.; KONNO, A. Expression of histamine receptors in nasal epithelial cells and endothelial cells – the effects of sex hormones. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, v.115, p.220-7, 1998.
- HELLÍN-MESEGUER, D.; RUIZ-COTORRUELO, V.; RUIZ-FRANCO, M. Influencia de la gestación en el transporte mucociliar nasal. **An. Otorrinolaringol. Ibero. Am.**, v.5, p.595-601, 1994.
- HELLÍN-MESEGUER, D.; MERINO-GÁLVEZ, E. Transporte mucociliar nasal

- em sujetos normales. **An. Otorrinolaringol. Ibero. Am.**, v.5, p.503-19, 1994.
- HELMI, A.M.; EL-GHAZZAWI, I.F.; MANDOUR, M.A.; SHEHATA, M.A. The effect of oestrogen on the nasal respiratory mucosa. **J. Laryngol. Otol.**, v.8, p.1229-41, 1975.
- KAO, C.H.; JIANG, R.S.; WANG, S.J.; YEH, S.H. Influence of age, gender, and ethnicity on nasal mucociliary clearance function. **Clin. Nuclear Med.**, v.19, p.813-6, 1994.
- KONNO, A; TERADA, N.; OKAMOTO, Y. Effects of female hormones on the muscarinic and alpha-1 adrenergic receptors of the nasal mucosa. An experimental study in guinea pigs. **O.R.L. J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.**, v.48, p.45-51, 1986.
- KRÖTSCH, C.; RIEDERER, A. Estrogen and progesterone receptors in the nasal mucosa of women. In: XVIIth Meeting of the European Rhinologic Society, 1998. **Abstracts**, Vienna, 1998. p. 431.
- KUIPER, G.G.J.M.; CARLSSON, B.; GRANDIEN, K.; ENMARK, E.; HÄGGBLAD, J.; NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J. Å. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . **Endocrinology**, v.138, p.863-70, 1997.
- KUREBAYASHI, J.; OTSUKI, T.; KUNISUE, H.; TANAKA, K.; YAMAMOTO, S.; SONOO, H. Expression levels of estrogen receptor-alfa, estrogen receptor-beta, coactivators, and corepressors in breast cancer. **Clin. Cancer Res.**, v.6, p.512-8, 1997.
- KYLE, D.B. A Textbook of the Nose and Throat. Philadelphia, WB Saunders, pp 193-216, 1916.
- LEIMOLA-VIRTANEN, R.; SALO, T.; TOIKKANEN, S.; PULKKINEN, J.; SYRJANEN, S. Expression of estrogen receptor (ER) in oral mucosa and salivary glands. **Maturitas**, v.36, p.131-7, 2000.
- LEOPOLD, D.A. Pollution: the nose and sinuses. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v.106, p.713-9, 1992.

- LI, N. Effect of over dose sex hormone on rabbit's nasal mucosa. **Chung. Hua. Erh. Pi. Yen. Hou. Ko. Tsa. Chih.**, v.26, p.85-7, 1991. [Resumo]
- LONGCOPE, C.; BAKER, R.; JOHNSTON JR., C.C. Androgen and estrogen metabolism: relationship to obesity. **Metabolism**, v.35, p.235-7, 1986.
- MABRY, R.L. Rhinitis of pregnancy. **South. Med. J.**, v.79, p. 965-71, 1986.
- MACKENZIE, J.N. The physiological and pathological relations between the nose and the sexual apparatus of man. **Johns Hopkins Hosp. Bul.**, v.82, p.10-7, 1898.
- MATTSSON, L.A.; CHRISTIANSEN, C.; COLAU, J.C.; PALACIOS, S.; KENEMANS, P.; BERGERON, C.; CHEVALLIER, O.; VON HOLST, T.; GANGAR, K. Clinical equivalence of intranasal and oral 17 $\beta$ -estradiol for postmenopausal symptoms. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.182, p. 545-52, 2000.
- MISSAKA, L. **Da hipertrofia mucosa nasal predominante ao nível do corneto inferior: contribuição ao tratamento cirúrgico.** São Paulo, 1972. 89p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- MOCELLIN, M.; BARRIONUEVO, C.E.; PASINATO, R.C.; FERREIRA, R.F.; OURIQUES, F.L. Estudo da função mucociliar nasal em crianças com hipertrofia adenoamigdaliana no pré-operatório e 30 dias após a adenoamigdalectomia. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v.64, p. 241-6, 1998.
- MORTIMER, H.; WRIGHT, R.P.; BACHMAN, C.; COLLIP, J.B. Effect of oestrogenic hormone administration upon nasal mucous membrane of the monkey (*Macaca mulatta*). **Can. Med. Assoc. J.**, v.35, p.503-13, 1936.
- NEWMAN, S.R.; BUTLER, J.; HAMMOND, E.H.; GRAY, S.D. Preliminary report on hormone receptors in the human vocal fold. **J. Voice**, v.14, p.72-81, 2000.
- PAECH, K.; WEBB, P.; KUIPER, G.G.J.M.; NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J.-Å.; KUSHNER, P.J.; SCANLAN, T. Differential ligand activation of estrogen receptors ER $\alpha$  and Er $\beta$  at AP1 Sites. **Science**, v.277, p. 1508-10, 1997.

- PASSÀLI, D.; BELLUSSI, L.; LAURIELLO, M. The rheological characteristics of nasal mucus in patients with rhinitis. **Eur. Arch. Otorhinolaryngol.**, v.252, p.348-52, 1995.
- PASSÀLI, D.; FERRI, R.; BECCHINI, G.; PASSÀLI, G.C.; BELLUSSI, L. Alterations of nasal mucociliary transport in patients with hypertrophy of the inferior turbinates, deviations of the nasal septum and chronic sinusitis. **Eur. Arch. Otorhinolaryngol.**, v.256, p.335-7, 1999.
- PAULSSON, B.; GREDMARK, T.; BURIAN, P.; BENDE, M. Nasal mucosal congestion during the menstrual cycle. **J. Laryngol. Otol.**, v.111, p.337-9, 1997.
- PAVAO, M.; TRAISH, A.M. Estrogen receptor antibodies: specificity and utility in detection, localization and analyses of estrogen receptor alpha and beta. **Steroids**, v.66, p.1-16, 2001.
- PELIKAN, Z. Possible immediate hypersensitivity reaction of the nasal mucosa to oral contraceptives. **Ann. Allergy**, v.40, p.211-9, 1978.
- PONTES, P.A.L.; SIMÕES, M.J.; MERZEL, J. Detecção histoquímica de glicoproteínas e glicosaminoglicanos na mucosa respiratória de ratas albinas durante o ciclo estral, prenhez e puerpério. **Rev. Brasil. Biol.**, v.49, p.1125-9, 1989.
- PROCTOR, D.F. Nasal mucus transport and our ambient air. **Laryngoscope**, v.93, p.58-62, 1983.
- QURAIISHI, M.S.; JONES, N.S.; MASON, J. The rheology of nasal mucus: a review. **Clin. Otolaryngol.**, v.23, p.403-13, 1998.
- RAMOS, A.H.C. **Caracterização e quantificação de componentes da mucosa do meato médio nasal no homem: aspectos da unidade óstio-meatal.** São Paulo, 1997. 116p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- REYNOLDS, S.R.M.; FOSTER, F.I. Acetylcholine-equivalent content of the nasal mucosa in rabbits and cats before and after administration of estrogen. **Am. J. Physiol.**, v.131, p. 422-5, 1940.



- RIZZO, J.A. Avaliação do estudo da depuração mucociliar nasal com sacarina no diagnóstico de pacientes com síndrome de discinesia ciliar. **J. Pneumol.**, v.20, p.63-8, 1994.
- RODOLFO-MASERA, T. L'influenza della castrazione e degli ormoni sessuali femminili sulla mucosa nasale della cavia femmina. **Arch. Ital. Otol.**, v.52, p.525-38, 1940.
- SAKAKURA, Y.; UKAI, K.; MAJIMA, Y.; MURAI, S.; HARADA, T.; MIYOSHI, Y. Nasal mucociliary clearance under various conditions. **Acta Otolaryngol.**, v.96, p.167-73, 1983.
- SALDIVA, P.H.N.; PARADA, M.A.C.; MACCHIONE, M.; PAIVA, P.S.O.; GUIMARÃES, E.T.; LORENZI, G.; MARTINS, M.A.; MONTES, G.S.; BALBANI, A.P.S.; KING, M. Nasal Mucus Clearance in Rats: Differences with Sex and Phase of the Oestrous Cycle. **J. Appl. Toxicol.**, v.15, p.289-95, 1995.
- SCHREIBER, U. Vasomotorische rhinitis als Nebenwirkung hormonaler Kontrazeption. **H.N.O.**, v.21, p.180-1, 1973.
- SEILER, C. **Diseases of the nasal cavities and naso-pharynx**. In Seiler, C. Handbook of the Diagnosis and Treatment of Diseases of the Throat and Naso-pharynx. Philadelphia, Lea Brothers and Co., 1889. p. 251-73.
- SENENT-SÁNCHEZ, C.J.; PIRIS-PINILLA, M.A.; GONZÁLEZ-GUTIERREZ, M.L.; PANADERO-SEVILLA, P.; MENÉNDEZ-LOZANO, A. **Procedimientos diagnósticos en la discinesia ciliar primaria. Utilidad de la biopsia nasal**. Rev. Clin. Esp., v.187, p.263-8, 1990.
- SIIVONEN, L. Sex steroid receptors in papilloma, normal mucosa and polyps of the nose. **ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.**, v.56, p. 154-6, 1994.
- SOUTHAM, A.L.; GONZAGA, F.P. Systemic changes during the menstrual cycle. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.91, p.142-65, 1965.
- STEVENSON, R.S.; GUTHRIE, D. **A History of Oto-Laryngology**. Edinburgh, E. S. Livingstone Ltd., 1949. p. 7.

- STUDD, J.; PORNEL, B.; MARTON, I.; BRINGER, J.; VARIN, C.;  
TSOUDEROS, Y.; CHRISTIANSEN, C. Efficacy and acceptability of 17 $\beta$ -  
oestradiol for menopausal symptoms: randomized dose-response study.  
**Lancet**, v.353, p.1574-8, 1999.
- SUMIYOSHI, Y., SHIRAKUSA, T.; YAMASHITA, Y.; MAEKAWA, T.; SAKAI,  
T.; KIKUCHI, M. Highly sensitive immunohistological study for detection of  
estrogen receptor in human breast cancer. **J. Surg. Oncol.**, v.76, p.13-8,  
2001.
- TAYLOR, C.R.; COOPER, C.L.; KURMAN, R.J.; GOEBELSMANN, U.;  
MARKLAND, F.S. Detection of estrogen receptor in breast and  
endometrial carcinoma by the immunoperoxidase technique. **Cancer**,  
v.47, p.2634-40, 1981.
- TOPPOZADA, H.; MICHAELS, L.; TOPPOZADA, M.; EL-GHAZZAWI, I.;  
TALAAT, A.; ELWANY, S. The human nasal mucosa in the menstrual  
cycle. **J. Laryngol. Otol.**, v.95, p.1237-47, 1981.
- TOPPOZADA, H.; MICHAELS, L.; TOPPOZADA, M.; EL-GHAZZAWI, I.;  
TALAAT, A.; ELWANY, S. The human respiratory nasal mucosa in  
pregnancy. **J. Laryngol. Otol.**, v.96, p.613-26, 1982.
- TOPPOZADA, H.; TOPPOZADA, M.; EL-GHAZZAWI, I.; ELWANY, S. The  
human respiratory nasal mucosa in females using contraceptive pills. **J.**  
**Laryngol. Otol.**, v.98, p.43-51, 1984.
- WAGUESPACK, R. Mucociliary clearance patterns following endoscopic  
sinus surgery. **Laryngoscope**, v.105, p.1-30, 1995.
- WANNER, A.; SALATHÉ, M.; O'RIORDAN, T.G. Mucociliary clearance of  
the airways. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v.154, p.1868-1902, 1996.
- WILSON, J.A.; HAWKINS, R.A.; SANGSTER, K.; VON HAACKE, N.P.;  
TESDALE, A.; LEESE, A.M.; MURRAY, J.A.M.; MARAN, A.G.D.  
Estimation of oestrogen and progesterone receptors in chronic rhinitis.  
**Clin. Otolaryngol.**, v.11, p.213-8, 1986.
- YANG, B.; MACCAFFREY, T.V. The roles of muscarinic receptor subtypes in  
modulation of nasal ciliary action. **Rhinology**, v.34, p.136-9, 1996.

---

ZANZUCCHI, G. Osservazioni sull'azione dell'ormone ovarico e preipofisario sopra gli organi delle cavità nasale e paranasale negli animali castrati. **Arch. Ital. Otol.**, v.49, p. 255-76, 1937.

ZHAO, X.; DONG, Z.; YANG, Z. An experimental observation on the influence of the different levels of estradiol on the nasal mucosa. **Chung. Hua. Erh. Pi. Yen. Ko. Tsa. Chih.**, v.29, p.98-100, 1994. [Resumo]