

# Teste da sacarina e de palato de rã: ferramentas para estudo do transporte mucociliar

## *Saccharin test and frog palate model: tools for studying mucociliary transport*

Lilian Louise Coelho Pereira<sup>1</sup>; Juliana Santi Sagin Torres Pinto<sup>2</sup>; Luciana Dias Chiavegato<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Fisioterapia, Programa de Mestrado e Doutorado em Fisioterapia – Universidade Cidade de São Paulo – Unicid. São Paulo, SP – Brasil.

<sup>2</sup>Mestranda, Programa de Mestrado e Doutorado em Fisioterapia – Universidade Cidade de São Paulo – Unicid. São Paulo, SP – Brasil.

<sup>3</sup>Docente, Programa de Mestrado e Doutorado em Fisioterapia – Universidade Cidade de São Paulo – Unicid. São Paulo e Fisioterapeuta – Universidade Federal de São Paulo – Unifesp, SP – Brasil.

### Endereço para correspondência

Luciana Dias Chiavegato  
R. Cesário Galeno, 475, Tatuapé  
03071-000 – São Paulo – SP [Brasil]  
luciana.chiavegato@unicid.edu.br

### Resumo

**Introdução:** Distúrbios no transporte mucociliar (TMC) podem afetar o clearance de secreções, que pode ser medido *in vivo*, utilizando sacarina, ou *in vitro*, usando palato de rã. **Objetivo:** Rever e analisar publicações e resultados sobre TMC com referência sobre teste de sacarina e palato de rã. **Métodos:** A revisão inclui artigos publicados em periódicos indexados nas bases Medline/Embase, CINAHL e SciELO realizada por três revisores. As palavras-chave utilizadas foram: (*mucociliary or mucus*) and [(*transport or clearance*) and (*methods and saccharin test/ frog palate*)]. **Resultados:** Foram encontrados 186 artigos, sendo excluídos: 90 pelo título, 41 por resumo, 4 pela língua, 11 não acessíveis, 20 por métodos do TMC incompatíveis com este estudo. Portanto, 20 estudos foram incluídos nesta revisão. **Conclusão:** Baseando-se nas evidências dos estudos encontrados, observou-se que, na prática clínica, o teste da sacarina mostrou-se mais factível, de baixo custo e boa reprodutibilidade, além promover fácil e rápida análise do TMC.

**Descritores:** Depuração mucociliar; Palato; Sacarina.

### Abstract

Disorders in mucociliary transport (MCT) can affect the clearance of respiratory secretions. MCT can be measured either *in vivo*, using substances such as saccharin, or *in vitro*, using frog palates. **Objective:** To review and analyse publications and results of MCT with references to the saccharin test and the frog palate model. **Methods:** Three reviewers examined articles published in journals indexed in Medline, Embase, CINAHL and SciELO. The following key words were used: (*mucociliary or mucus*) and [(*transport or clearance*) and (*methods and saccharin test/ frog palate*)]. **Results:** We found a total of 186 articles, 146 of which were excluded for the following reasons: title not related to our objectives (90), availability of just the abstract (41), language (4), article unavailability (11), and incompatibility of the MCT tests with our objectives (20). Hence, 20 studies were included in this review. **Conclusion:** In clinical practice, the saccharin test was more feasible, offering low cost and good reproducibility, in addition to promoting easy and rapid analysis of MCT.

**Key words:** Mucociliary clearance; Palate; Saccharin.

## Introdução

A mais importante das funções do epitélio respiratório saudável é a secreção de muco e seu transporte, promovendo a remoção de partículas depositadas nas vias aéreas. O epitélio possui também papel importante na homeostase do organismo, regulando a umidade do ar inspirado, participando de ajuste da temperatura corpórea e ajuste entre ventilação e perfusão nos pulmões<sup>1-3</sup>. A morfologia das células ciliadas, o número de células produtoras de muco e seus produtos de secreção, a densidade de células neuroendócrinas e a presença de outros tipos celulares vão sendo regulados de forma a atender as solicitações funcionais específicas de cada microambiente do trato respiratório<sup>4</sup>.

Alterações ultraestruturais dos cílios, como ausência dos braços internos ou externos de dineína, deleção ou transposição de pares de microtúbulos centrais ou periféricos, produzem alterações significativas na frequência e padrão do batimento ciliar, as quais geram estase de secreções e infecções respiratórias de repetição, a exemplo das discinesias ciliares primárias<sup>5,6</sup>. A ausência ou redução das mucinas aumenta a vulnerabilidade das vias aéreas à colonização de bactérias gram negativas, como por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa* (cepa mucoide)<sup>7,8</sup>. O grau de hidratação e as propriedades físicas do muco são influenciados pelas características poliônicas das mucinas, e transporte de íons sódio, cloro, água e altitude<sup>9,10</sup>. A manutenção do volume da camada periciliar ou camada sol é crucial para o funcionamento adequado do cílio e transporte de muco e, possivelmente, para a defesa contra infecções<sup>11,12</sup>.

A avaliação do TMC é essencial em pacientes com bronquiectasia, fibrose cística, infecções respiratórias recorrentes e em indivíduos com suspeita de discinesia ciliar primária ou com doença ocupacional ou, até mesmo, nos que usam drogas por problemas dermatológicos<sup>13-17</sup>. Torna-se, portanto, fundamental o desenvolvimento e utilização de métodos que permitam análise tanto experimental como com aplicabi-

lidade clínica dos três principais componentes do TMC: (1) frequência e padrão de batimento ciliar, (2) propriedades físicas e de transportabilidade do muco respiratório e (3) interação entre os cílios e camada de muco sobrejacente<sup>18</sup>.

A velocidade do TMC pode ser medida *in vivo* usando substâncias com sabor característico, por exemplo, a sacarina, sendo mensurado o tempo de trânsito desta<sup>19-23</sup>. O teste da sacarina foi descrito em 1974 e é bem aceito na literatura como sendo simples, pouco invasivo, de baixo custo<sup>22,23</sup> e que apresenta resultados semelhantes aos obtidos com uso de partículas de radioisótopos para análise do TMC. Para a realização da medida *in vitro*, pode-se usar o palato de rã, que é parecido com o epitélio das vias aéreas humanas. O palato de rã vem sendo estudado desde 1948, e a sua preparação constitui um conveniente sistema para estudo do TMC e da interação muco-cílio<sup>24</sup>.

Muitos pesquisadores encontram dificuldades na escolha do melhor método, já que para avaliação do TMC faz-se necessária a utilização de uma técnica sensível e específica. Assim, optou-se, neste trabalho, por revisar o teste da sacarina e o método de estudo pelo palato de rã, com intuito de direcionar futuras pesquisas na escolha do método mais factível, de menor custo e que propicie melhor avaliação clínica e terapêutica.

## Materiais e métodos

Este estudo trata-se de uma revisão sistemática da literatura que inclui artigos publicados em periódicos indexados nas bases Medline/Embase, CINAHL e SciELO, no período de dezembro de 2012 a julho de 2013, realizada por três revisores. Na base de dados Medline, os trabalhos foram pesquisados utilizando as terminologias cadastradas no Medical Subject Headings da US National Library of Medicine (Mesh). As palavras-chave utilizadas foram: *mucociliary*, *mucus*, *transport*, *clearance*, *methods*, *saccharin test*, *frog palate*. Os limites utilizados

foram artigos publicados em inglês, português e espanhol nos últimos 16 anos (1997-2013) e que contemplassem os métodos teste da sacarina e palato de rã. Os identificadores *and*, *or*, *not* foram usados para combinar os descritores e termos utilizados.

Na base de dados SciELO, a busca foi realizada usando as terminologias cadastradas nos Descritores em Ciência da Saúde (DeCS): “depução mucociliar”, “métodos”, “diagnóstico”.

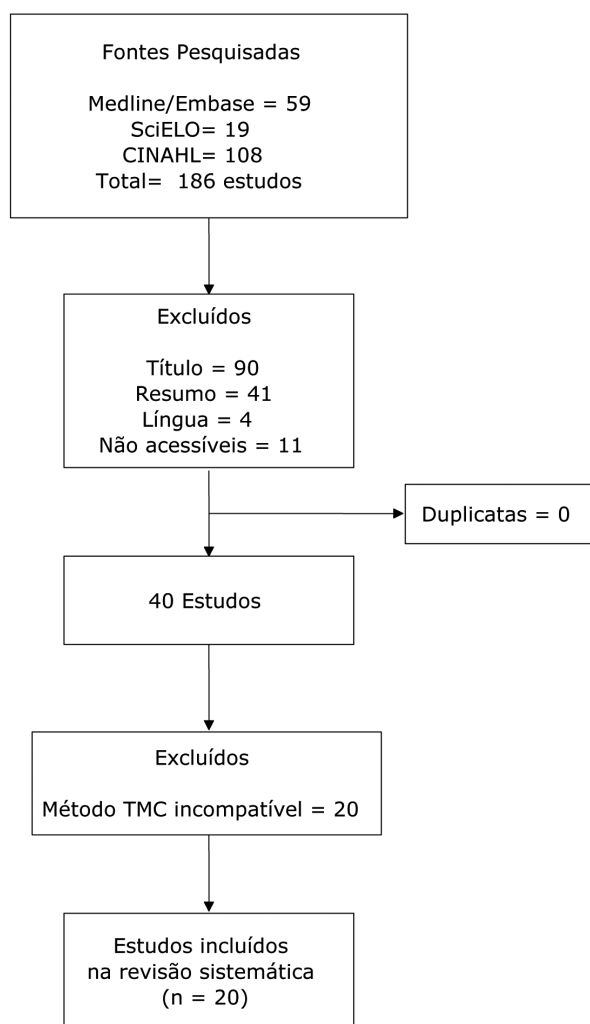
Os resultados da busca foram registrados, respeitando os critérios de inclusão, além disso, verificou-se a duplicidade dos artigos utilizando-se um programa para organização bibliográfica, o EndNote X2. Para seleção dos estudos, consideraram-se os seguintes critérios: (1) ano de publicação, (2) língua escrita, (3) uso de ferramentas para análise do TMC. Foram excluídos os artigos não encontrados integralmente para a consulta, com os títulos e resumos que não contemplavam os métodos deste estudo e os que utilizaram outras técnicas para análise do TMC pouco difundidas na literatura e na prática clínica.

## Resultados

Foram encontrados 186 artigos, sendo excluídos: 90 pelo título, 41 por resumo, 4 pela língua, 11 não acessíveis, 20 por métodos do TMC incompatíveis com este estudo (Figura 1). Portanto, 20 trabalhos foram incluídos nesta revisão, e seus resultados estão expostos na Figura 2. Verificou-se que 17 artigos abordaram o teste da sacarina; e três, o palato de rã.

## Discussão

Nesta pesquisa, realizou-se uma revisão crítica da literatura na qual encontraram-se mais artigos em que foi abordado o estudo do TMC utilizando-se o teste da sacarina do que qualquer outra técnica, incluindo o método de estudo pelo palato de rã, motivo pelo qual não se discorre aqui sobre este último método. Isto cor-



**Figura 1:** Fluxograma da revisão crítica sobre TMC

roborar os aspectos observados nos trabalhos em relação às facilidades de acesso ao teste de sacarina e de realização deste. Apesar do fator subjetivo, ou seja, de depender das condições físicas do paciente e da temperatura e umidade do local a ser realizado, o teste da sacarina é uma técnica bem definida para avaliação do TMC, quando aplicado em indivíduos com facilidade de percepção do sabor doce. Existe uma variedade de métodos para estudo do *clearance* mucociliar; entretanto, os mais sensíveis e específicos podem ser mais complexos e menos disponíveis<sup>24</sup>.

Alguns fatores comuns aos dois métodos foram observados. No estudo de Valia et al.<sup>13</sup>, observou-se que seis dos participantes apresen-

Estudo	Descrição amostra	Método	Resultados	Conclusão
Barry et al. <sup>10</sup> , 1997	54 pacientes saudáveis viajantes para altas altitudes, idade 15-55 anos.	Teste da sacarina	Comparando a média das velocidades do TMC a 5000 m de altitude com os valores obtidos ao nível do mar encontraram aumento significativo no tempo de trânsito da sacarina em 25 dos 33 sujeitos ( $p < 0,01$ ).	A obstrução nasal pode dificultar a respiração e afetar negativamente o desempenho em altas altitude.
Ho et al. <sup>25</sup> , 2000	90 sujeitos (ambos os sexos).	Teste da sacarina	Acima de 40 anos observou-se aumento do desarranjo dos microtúbulos, e diminuição da frequência de batimento ciliar.	Com o envelhecimento ocorre uma diminuição da eficiência do TMC.
Constantinidis et al. <sup>26</sup> , 2000	10 pacientes, 44-69 anos, SAOS.	Teste da sacarina	Células com formato irregular, células inflamatórias, aglomeração e diminuição das microvilosidades, diminuição das células calciformes e distúrbios do núcleo e das organelas citoplasmáticas, houve aumento do TMC.	A adesão ao CPAP nasal, normalização da temperatura e umidade relativa do ar = efeito positivo.
Yadav et al. <sup>3</sup> , 2001	100 crianças normais, 4-15 anos de idade.	Teste da sacarina	As amostras foram diferentes em 3 grupos: (A) 4-7 anos, (B) 8-11 anos e (C) 12-15 anos. A média do TMC foi a de $5,7 \pm 2,59$ . Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B, A e C (adenóide hipertrófica).	O TMC é comprometido nas crianças com idade 4-11 anos, retornando aos níveis normais na puberdade devido à involução da adenoide.
Buchman et al. <sup>27</sup> , 2002	32 adultos, vírus sincicial respiratório e mantidos em clausura. TMC avaliado diariamente.	Teste da sacarina	2 grupos: (1) pelo menos uma cultura e sorologia VRS+ (2) não foi detectado vírus sincicial respiratório nos exames. TMC (1) $14,8 \pm 16,9$ min (2) $8,3 \pm 9,2$ min.	Não houve diferença no TMC, quando comparado os tipos de vírus.
Kamel et al. <sup>12</sup> , 2004	32 pacientes com CNF submetidos à radioterapia.	Teste da sacarina	Edema e dano ao epitélio nasal adjacente, consequentemente, observou-se uma diminuição na velocidade de transporte, quando comparado ao período pré-radioterapia $p < 0,0001$ .	A diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa.
Kim et al. <sup>7</sup> , 2006	20 pacientes SC receberam mitomicina C em uma narina, e na outra, soro fisiológico para controle.	Teste da sacarina	Verificou-se aumento significativo na dimensão da sinusite no lado tratado com mitomicina C e não encontraram diferenças nos valores do teste da sacarina.	Em um curto prazo de aplicação, a mitomicina C tópica aumentou a dimensão da sinusite.
Valía et al. <sup>13</sup> , 2008	249 pacientes, 10-83anos, 3 grupos (idade e sexo).	Teste da sacarina	TMC 6 min, em 6 sujeitos; $16 \pm 4$ min, na maioria. Não houve diferença significativa entre os sexos. Correlação maior entre idade e TMC ( $p < 0,001$ ).	O teste da sacarina pode interpretar alterações de TMC relacionadas à idade. Factual, reproduzível e de baixo custo.

**Figura 2:** Sumarização dos 20 estudos encontrados nesta revisão

TMC – transporte mucociliar; CCP – cirurgia cabeça e pescoço; RGE – refluxo gastroesofágico; TS – teste da sacarina; PEPO – pressão expiratória positiva oscilante; FC – fibrose cística; BC – bronquite crônica; SC – sinusite crônica; SAOS – síndrome da apneia obstrutiva no sono; CPAP – pressão positiva no final da expiração.

Estudo	Descrição amostra	Método	Resultados	Conclusão
Kesimci et al. <sup>8</sup> , 2008	60 pacientes CCP, sob anestesia, Alteração do TMC por 3 tipos de anestésicos diferentes.	Teste da sacarina	Realizadas 2 mensurações do TMC. O grupo controle foi a avaliação pré-operatória. Os sujeitos foram divididos em 3 grupos. O TMC aumentou em todos os indivíduos no pós-operatório.	Comparando os grupos a diferença não foi estatisticamente significativa (p=0,05).
Rubin et al. <sup>15</sup> , 2006	17 pacientes FC, 14-38 anos. Propriedades físicas do muco antes e após timosina $\beta$ 4 e dornase alfa.	Palato de rã	Observaram aumento de 71% da transportabilidade do muco <i>in vitro</i> .	Timosina $\beta$ 4 e dornase alfa reduzem a viscoelasticidade do muco e promovem a melhora do <i>clearance</i> mucociliar <i>in vitro</i> .
Redding et al. <sup>16</sup> , 2008	8 crianças com bronquiectasia; 14, com FC, 7-9 anos, e 31 adultos, com BC.	Palato de rã	A viscosidade, elasticidade e adesividade foram menores nos bronquiectásicos. O TMC foi estatisticamente semelhante nos 3 grupos.	Nos portadores de bronquiectasia a tosse pode ser suficiente para melhora do <i>clearance</i> mucociliar.
Ramos et al. <sup>28</sup> , 2009	15 pacientes com Bronquiectasia, 2 intervenções (PEPO) - 15 e 25 cmH20, 24 h de intervalo.	Palato de rã	Houve diminuição significativa da viscosidade do escarro e não houve diferença significativa entre todas as amostras para transportabilidade.	O estudo sugere que não há necessidade de altas pressões expiratórias para obter o resultado desejado.
Borin et al. <sup>22</sup> , 2009	17 pacientes submetidos ao TS.	Teste da sacarina	TMC dentro da normalidade: 2 min e 34 s.	O TS é um bom teste para pacientes de protocolos de estudo.
Durmus et al. <sup>6</sup> , 2010	50 pacientes com RGE e 30 voluntários saudáveis.	Teste da sacarina	Não houve diferença estatisticamente significativa entre resultados do teste da sacarina.	O refluxo gastroesofágico não interfere no TMC.
Singh et al. <sup>2</sup> , 2010	Dois grupos: controle, com 100 sujeitos saudáveis, 18-45 anos e estudo com 43 sujeitos com rinossinusite crônica.	Teste da sacarina	Grupo controle: o TMC foi 6,61 $\pm$ 0,84 min; no grupo estudo, o TMC foi 13,45 $\pm$ 2,07 min e 21,31 $\pm$ 0,76 min (sinusites unilaterais e bilaterais, respectivamente). Houve um aumento estatisticamente significativo no tempo do TMC em todos os grupos de doentes. Todos melhoraram após a cirurgia.	Medir o TMC ajuda na seleção de pacientes para a cirurgia. Podendo ser utilizado como medida pré-operatória e como indicador de sucesso.
Goto et al. <sup>17</sup> , 2011	27 cortadores de cana, 21-45 anos foram avaliados após um período de 6 meses de colheita e após 3 meses sem colheita.	Teste da sacarina	Durante a colheita apresentaram TMC de 7,83 min ( 1,88-13,78 ), aumento do ângulo de contato do muco em 8,68 graus (3,18 - 14,17 ) e diminuição da transportabilidade por espirro em 32,12 milímetros (-44,83 a -19,42) em comparação com o período sem colheita.	A colheita da cana após a queima afeta negativamente o sistema respiratório, prejudicando o TMC e as propriedades do muco.

**Figura 2 (Continuação):** Sumarização dos 20 estudos encontrados nesta revisão

TMC – transporte mucociliar; CCP – cirurgia cabeça e pescoço; RGE – refluxo gastroesofágico; TS – teste da sacarina; PEPO – pressão expiratória positiva oscilante; FC – fibrose cística; BC – bronquite crônica; SC – sinusite crônica; SAOS – síndrome da apneia obstrutiva no sono; CPAP – pressão positiva no final da expiração.

Estudo	Descrição amostra	Método	Resultados	Conclusão
Arnaoutakis et al. <sup>4</sup> , 2011	35 crianças saudáveis, 3-18 anos, de ambos os sexos, submetidas a adenoamigdalectomia ou adenoidectomia.	Teste da sacarina	O tempo e a velocidade do TMC melhoraram no pós-operatório (média de $3,64 \pm 0,84$ min e média $1,96 \pm 0,90$ cm/min, respectivamente), além da qualidade de vida.	Houve melhora sintomática, e o TS pode fornecer informações no pós-operatório sobre o TMC.
Satdhabudha et al. <sup>14</sup> , 2012	81 crianças com rinite alérgica sintomática. Cada participante foi tratado de forma aleatória com solução salina normal ou hipertônica.	Teste da sacarina	O grupo tratado com solução salina hipertônica (SSH) teve melhora no TMC ( $39,2\%$ versus $15,5\%$ , $P = 0,009$ ), em relação ao grupo de solução salina normal (SSN). Melhora significativa da qualidade de vida ( $P = 0,04$ ).	Irrigação nasal com SSH promove melhora no TMC e na qualidade de vida, em relação à SSN.
de Oliveira-Maul et al. <sup>29</sup> , 2012	252 indivíduos divididos em: (1) saudável ( $n = 79$ , 18-94 anos) e (2) DM ( $n=37,14-90$ anos), HAS ( $n=89$ , 23-90 anos) e DM + HAS ( $n=84$ , 25-82 anos).	Teste da sacarina	Indivíduos com idade > 60 mostraram diminuição no SF36. Envelhecimento e DM e/ou HAS aumentaram de forma independente o risco de tempo do transporte mucociliar prolongado.	O envelhecimento e DM, HAS, ou ambas estão associadas com diminuição do TMC.
Takci et al. <sup>18</sup> , 2013	21 pacientes com acne moderada ou grave (18 do sexo feminino, e 3, do masculino), entre 15-32 anos. O TS foi realizado antes e após o terceiro mês de tratamento com Isotretinoína.	Teste da sacarina	Encontrada diferença significativa no TMC ( $2,88 \pm 1,48$ vs $4,1 \pm 3,2$ segundos, respectivamente, $P = 0,009$ ).	Isotretinoína altera o TMC e o epitélio respiratório houve aumento de células escamosas) e aumento de neutrófilos.

**Figura 2 (Continuação):** Sumarização dos 20 estudos encontrados nesta revisão

TMC – transporte mucociliar; CCP – cirurgia cabeça e pescoço; RGE – refluxo gastroesofágico; TS – teste da sacarina; PEPO – pressão expiratória positiva oscilante; FC – fibrose cística; BC – bronquite crônica; SC – sinusite crônica; SAOS – síndrome da apneia obstrutiva no sono; CPAP – pressão positiva no final da expiração.

taram o valor do TMC muito acima da média (36 segundos x  $16 \pm 4$  segundos). Uma explicação para tal discrepância poderia ser a heterogeneidade desses voluntários em relação à idade, entre 10 e 83 anos. Acredita-se que estes seis participantes fossem os mais idosos, já que a conclusão do estudo é a relação estatisticamente significativa da idade com o TMC, corroborando também o estudo de Ho et al.<sup>25</sup> e de Oliveira-

Maul<sup>29</sup>, os quais relatam que com o envelhecimento aumenta o desarranjo dos microtúbulos, diminui a frequência de batimento ciliar e a eficiência do TMC, demonstrando a importância da idade na investigação do TMC.

A fisioterapia pneumofuncional, mais usualmente chamada de fisioterapia respiratória, tem papel primordial na manutenção da permeabilidade das vias aéreas, principalmen-

te quando envolve patologias hipersecretivas. Terapias de higiene brônquica objetivam prevenir ou reduzir as consequências mecânicas da obstrução, infecções e irritabilidade da mucosa aumentando o *clearance* mucociliar. Técnicas que envolvem somente exercícios respiratórios ou associados à pressão positiva expiratória oscilante promovem diminuição da tosse e falta de ar e melhoram a qualidade de vida e capacidade física em portadores de bronquiectasia<sup>28,30</sup>.

Observa-se também na prática clínica o uso frequente da ventilação não invasiva (VNI) pelos portadores de doenças neuromusculares, de apneia do sono e de doença pulmonar obstrutiva crônica. Constantinidis et al.<sup>26</sup> observaram que o uso prolongado da VNI aumenta a quantidade de células inflamatórias, promovendo modificações do *clearance* mucociliar, apresentando uma velocidade de transporte menor, em todos os indivíduos. Confirmando o trabalho de Buchman et al.<sup>27</sup>, essas informações mostram a importância de estar-se atento aos pacientes que necessitam utilizar a VNI e que, por ventura, também se apresentam hipersecretivos. De alguma maneira deve-se melhorar a hidratação das secreções, porém sem impor riscos de aumento de infecções.

## Conclusão

Estes resultados são de extrema importância, pois trabalha-se frequentemente com técnicas de fisioterapia respiratória que visam a melhor higiene brônquica, portanto, melhor *clearance* mucociliar, a fim de minimizar os efeitos deletérios da hipersecreção e mesmo dos sintomas relatados pelos pacientes. Ao conhecer-se a praticidade do teste e sua eficácia, poder-se-ia avaliar e interpretar melhor os resultados acerca deste e, dessa forma, contribuir para o entendimento das técnicas fisioterapêuticas mais utilizadas na prática clínica<sup>31</sup>.

O exposto acima, sugere um campo aberto para novos estudos, que otimizem não só as técnicas, mas também os atendimentos fisiotera-

pêuticos com vantagens para os profissionais e, principalmente, para o bem-estar do paciente, o principal foco.

Com base nestas evidências, conclui-se que na prática clínica, o teste da sacarina mostrou-se mais factível, de baixo custo, com boa reprodutibilidade, além de promover fácil e rápida análise do TMC. Quanto ao teste com palato de rã, este foi pouco abordado nos trabalhos pesquisados, impossibilitando melhor análise neste estudo.

## Referências

1. Nakagawa NK, Franchini ML, Driusso P, Oliveira LR, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G. Mucociliary clearance is impaired in acutely ill patients. *Chest*. 2005;128:2772-7.
2. Singh M, Chandra M, Gupta SC, Sharma D. Role of measurement of nasal mucociliary clearance by saccharine test as a yard stick of success of functional endoscopic sinus surgery. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;62(3):289-95.
3. Yadav J, Ranga RK, Singh J, Gathwala G. Nasal mucociliary clearance in healthy children in a tropical country. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2001;57:21-4.
4. Arnaoutakis D, Collins WO. Correlation of mucociliary clearance and symptomatology before and after adenoidectomy in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2011;75(10):1318-21.
5. Chilvers MA, Rutman A, O' Callaghan. Ciliary beat pattern is associated with specific ultrastructural defects in primary ciliary dyskinesia. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:518-24.
6. Durmus R, Naiboglu B, Tek A, Sezikli M, Cetinkaya ZA, Toros SZ, et al. Does reflux have an effect on nasal mucociliary transport? *Acta Otolaryngol*. 2010;130:1053-7.
7. Kim ST, Gang IG, Cha HE, Ha JS, Chung YS. Effect of mitomycin C on the size of antrostomy after endoscopic sinus surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2006;115:673-8.
8. Kesimci E, Bercin S, Kutluhan A, Ural A, Yamanturk B, Kanbak O. Volatile anesthetics and mucociliary clearance. *Minerva Anesthesiol*. 2008;74:107-11.
9. Boucher RC. Human airway ion transport. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;150:271-81.



10. Barry PW, Mason NP, O'Callaghan C. Nasal mucociliary transport is impaired at altitude. *Eur Respir J.* 1997;10: 35-7.
11. Bouquit S, Morel H, Hinnrasky J, Naline E, Puchelle E, Chinet T. Characterization of Ion and Fluid Transport in Human Bronchioles. *Am J Respi Cell Mol Biol.* 2002;27:503-10.
12. Kamel R, Al-Badawy S, Khairy A, Kandil T, Sabry A. Nasal and paranasal sinus changes after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: *Acta Otolaryngol.* 2004;124(4):532-5.
13. Valía PP, Valero FC, Pardo JM, Rentero DB, Monte CG. Saccharin test for the study of mucociliary clearance: reference values for a spanish population. *Arch Bronconeumol.* 2008;44:540-5.
14. Satdhabudha A, Poachanukoon O. Efficacy of buffered hypertonic saline nasal irrigation in children with symptomatic allergic rhinitis: a randomized double-blind study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2012;76(4):583-8.
15. Rubin BK, Kater AP, Goldstein AL. Thymosin  $\beta$ 4 Sequesters Actin in Cystic Fibrosis Sputum and Decreases Sputum Cohesivity in Vitro. *Chest.* 2006;130:1433-40.
16. Redding RGJ, Kishioka C, Martinez P, Rubin BK. Physical and transport properties of sputum from children with idiopathic bronchiectasis. *Chest.* 2008;134:1129-34.
17. Goto DM, Lança M, Obuti CA, Galvão Barbosa CM, Nascimento Saldiva PH, Trevisan Zanetta DM, et al. Effects of biomass burning on nasal mucociliary clearance and mucus properties after sugarcane harvesting. *Environ Res.* 2011;111(5):664-9.
18. Takci Z, Simsek GG, Karabulut H, Buran Y, Karadag AS. Effect of systemic isotretinoin therapy on mucociliary clearance and nasal surface mucosa in acne patients. *J Drugs Dermatol.* 2013;12(8):124-8.
19. Trindade SHK, Melo Jr JF, Mion OG, Lorenzi-Filho G, Macchione M, Guimarães ET, et al. Métodos de estudo do transporte mucociliar. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2007;73:704-12.
20. Andersen I, Camner P, Jensen PL, Philipson K, Proctor DF. A comparison of nasal and tracheobronchial clearance. *Arch Environ Health.* 1974;29:290-3.
21. Antunes MB, Cohen NA. Mucociliary clearance – a critical upper airway host defense mechanism and methods of assessment. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2007;7:5-10.
22. Borin A, Abib-Júnior E, Araújo CI, Martinez LL, Rodrigues H. Standardizing selection criteria in nasal medication studies. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2009;75:872-8.
23. Plaza PV, Carrión FV, Marin JP, Bautista DR, González CM. Saccharin test for the study of mucociliary clearance: reference values for a Spanish population. *Arch Bronconeumo.* 2008;44:540-5.
24. Wills PJ, Pritchard K, Cole PJ. Mucus transportability: the bovine trachea and frog palate models compared. *Eur Respir J.* 1998;12:837-41.
25. Ho JC, Chan KN, Hu WH, Lam WK, Zheng L, Tipoe GL, et al. The effect of aging on nasal mucociliary clearance, beat frequency, and ultrastructure of respiratory cilia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;163:983-8.
26. Constantinidis J, Knöbber D, Steinhart H, Kuhn J, Iro H. Fine-structural Investigations of the effect of nCPAP-mask application on the nasal mucosa. *Acta Otolaryngol.* 2000;120:432-7.
27. Buchman CA, Doyle WJ, Pilcher O, Gentile DA, Skoner DP. Nasal and otologic effects of experimental respiratory syncytial virus infection in adults. *Am J Otolaryngol.* 2002;23:70-5.
28. Ramos EMC, Ramos D, Iyomasa DM, Moreira GL, Melegati KCT, Vanderlei LCM et al. Influence that oscillating positive expiratory pressure using predetermined expiratory pressures has on the viscosity and transportability of sputum in patients with bronchiectasis. *J Bras Pneumol.* 2009;35:1190-7.
29. de Oliveira-Maul JP, de Carvalho HB, Miyuki Goto D, Mendonça Maia R, Fló C, Barnabé V, et al. Aging, diabetes, and hypertension are associated with decreased nasal mucociliary clearance. *Chest.* 2013;143(4):1091-7.
30. Lavery K, Neill BO, Elbom JS, Reilly J, Bradley JM. Self-management in bronchiectasis: the patients' perspective. *Eur Respir J.* 2007;29:541-7.
31. Van der Schans CP, Postma DS, Koëter GH, Rubin BK. Physiotherapy and bronchial mucus transport. *Eur Respir J.* 1999;13:1477-86.