

Evaluación de algunos parámetros inmunológicos y epidemiológicos en pacientes con poliposis nasal de localización etmoidal

Evaluation of some immunological and epidemiological parameters in patients with ethmoidal nasal polyposis

Ricardo Cardona, MD, MSc* ; Carlos Simón Duque, MD**; Luis Fernando Ochoa, MD**; María Isabel Acosta, MD***, Lisandro Guerra, MD***; Santiago Osorno, MD***, Germán de Jesús Osorio, MD****, Beatriz Vieco****; María Eugenia Medina*****; Gustavo Adolfo Madrid*****; Claudia Bermúdez*****; Natalia Marulanda*****; Julio César Orrego, MD*****, Fernando Montoya, MD, MSc*****

RESUMEN

La poliposis nasal es una enfermedad crónica inflamatoria de la mucosa rinosinusal que afecta entre 1% a 5% de la población general. Si bien se han encontrado varias citocinas implicadas en la patogénesis de la poliposis, el mecanismo fisiopatológico permanece por esclarecer. En este trabajo se determinó la presencia de Interleucina 13 (IL-13) tanto en secreción como en tejido de mucosa sana

* Docente, Unidad de Alergia, Facultad de Medicina Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad de Antioquia.

** Docente, Departamento de Otorrinolaringología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Hospital Pablo Tobón Uribe.

*** Residente, Otorrinolaringología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Correspondencia:

Carlos Simón Duque, MD
Casidduque@hotmail.com

Recibido: 08/IX/2008

Aprobado: 25/IX/2008

y polipoide, y se relacionó este hallazgo con la reactividad alérgica de los pacientes y el grado de infiltración por células CD4+ y CD8+.

Métodos: Se estudiaron 27 pacientes con poliposis diagnosticada por TAC, de los cuales se obtuvo historia clínica completa, muestra de secreción mucosa y biopsia de tejido polipoide y de mucosa sana. Mediante ELISA se detectó la presencia de IL-13 en las secreciones del tejido nasal sano o afectado por pólipos y por inmunohistoquímica se detectaron células IL-13 + y linfocitos T CD4+ y CD8+, tanto en tejido sano como afectado. Además se realizaron pruebas cutáneas para aeroalergenos.

Resultados: En todos los pólipos se encontraron células IL13 +. En todos los casos se detectaron células CD4+ y CD8+, tanto en la mucosa normal como en el tejido polipoide. Sin embargo, el grado de infiltración fue mayor en este último. No se encontró asociación entre el grado de infiltración de células IL13+, CD4+ y CD8+ con la reactividad a las pruebas cutáneas. No hubo diferencia significativa en la concentración de IL-13 en secreción mucosa de pólipo respecto a mucosa sana. No hubo correlación entre los datos demográficos y los antecedentes familiares con el grado de infiltración de células IL13+, CD4+ y CD8+.

Conclusiones: Se encontró en las biopsias estudiadas una alta densidad de células positivas para IL-13. En 14/27 casos las concentraciones de IL-13 fueron mayores que las del tejido nasal normal con niveles de hasta 120 pg/ul. No se demostró asociación entre el estado alérgico con la expresión de células IL-13+, ni con el grado de infiltración de linfocitos T CD4+ y CD8+.

Palabras clave: poliposis nasal, interleucina 13 (IL-13), linfocitos T CD4+ y CD8+, pruebas cutáneas para aeroalergenos (Prick test).

ABSTRACT

Nasal Polyposis is a chronic inflammatory disease of the rhinosinusal mucosa that affects 1% to 5% of the general population. Several cytokines have been detected in high concentrations in polyp tissues, but the mechanisms implicated remains to be clarified. In this work the presence of Interleukine 13 (IL-13) was determined as much in secretion as in healthy mucous membrane and polyp tissue, relating this finding with the allergic reactivity of the patients and the infiltration grade for cells CD4 + and CD8 +.

Methods: We studied 27 patients with diagnosed ethmoidal nasal polyposis confirmed by computerized tomography. Secretions and biopsy specimens were taken from both polyp and healthy turbinate tissues. IL-13 ELISA technique was done in secretion samples and an immunohistochemical procedure was realized to detect IL-13+, CD4+ and CD8+ cells in biopsy specimens. Additionally, skin tests for air allergens were done.

**** Docente, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

***** Docente, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

***** Estudiante, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

***** Investigador, grupo de inmunodeficiencias primarias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

***** Docente, Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Results: *IL-13+ cells were detected in all nasal polyp samples. CD4+ and CD8+ cells were found in both polyp and healthy turbinate tissues; however, the infiltration degree was higher in the nasal polyp specimens. No association was found between the degree of infiltration of IL-13+, CD4+ and CD8+ cells with the skin test reactivity. Equally concentrations of IL-13 were detected in both polyp and turbinate mucosa secretions. There was no association between the demographic data and the family history with the degree of infiltration of IL-13+, CD4+, CD8+ cells.*

Conclusion: *Our findings confirm the presence of and increase number of IL-13+ cells in all nasal polyp specimens. In 14/27 studied cases they had concentrations of IL-13 higher than those of the nasal normal mucosa with levels of up to 120 pg / ul. There is no association between the allergic state with the IL-13+ cell expression, nor with the degree of infiltration of CD4+ and CD8+ T cells.*

Key words: *nasal polyps, interleukine 13 (IL-13), CD4+ and CD8+ T cells, Skin test (Prick test).*

INTRODUCCIÓN

La poliposis nasal es una enfermedad crónica inflamatoria de la mucosa rinosinusal caracterizada por el crecimiento de proyecciones edematosas gris-pálidas hacia la luz aérea, originadas en la mucosa especialmente de los senos etmoidales en la vecindad del cornete medio (1-3).

Su prevalencia en la población general varía entre 1% a 5%, manifestándose usualmente después de los 20 años y con una relación hombre:mujer de 2:1 (1). Varios estudios han demostrado una mayor reactividad alérgica en los pacientes con pólipos (4-6) e incluso Kirtsreesakul y cols. observaron menor respuesta al tratamiento con esteroides nasales en los pacientes con poliposis y pruebas cutáneas positivas (7).

Los estudios histológicos han mostrado que hasta el 80% de los pólipos son dominados por la presencia de eosinófilos, y en el restante 20% por neutrófilos, sugiriendo que son estas las principales células efectoras del daño tisular y la remodelación de la mucosa. Los linfocitos T CD4+, T CD8+, mastocitos, macrófagos, basófilos, fibroblastos y células epiteliales acompañan el proceso inflamatorio y juegan papeles importantes de mediación y comunicación celular (8-9).

Varios estudios han revelado la participación de diferentes componentes celulares y moleculares que posiblemente juegan un papel importante en la formación del pólipo nasal. Sin embargo, no se han logrado establecer claramente los mecanismos desencadenantes claves de la alteración del tejido nasal (10-15).

Se ha descrito como las IL-4, IL-5 e IL-13 podrían jugar un papel importante en la patogénesis de la poliposis, al

inducir la producción de mediadores en el tejido polipoideo, específicamente de las eotaxinas 1, 2 y 3, además de otros quimiotácticos inespecíficos (16-18). Numerosos son los estudios que han puesto de manifiesto la secreción exagerada o la alta densidad de expresión de células positivas para IL-4, IL-5 y de otros mediadores inflamatorios, pero sólo en 1996 se publicó el primer hallazgo que puso en evidencia la participación de la IL-13 como otro de los mediadores asociados con los fenómenos inflamatorios presentes en los pacientes con poliposis nasal. Hamilos y cols. mediante hibridización *in situ* encontraron una mayor expresión de células positivas para mRNA de IL-13 en células de pólipos nasales comparado con lo encontrado en células de cornete medio de individuos sanos (9). Dado el interés que ha despertado la IL-13 en diferentes patologías respiratorias decidimos estudiarla en individuos adultos con poliposis nasal de naturaleza alérgica o no alérgica, detectando su presencia tanto en secreción como en tejido, sea en mucosa sana o en mucosa afectada, relacionando dicho hallazgo con la reactividad alérgica de los pacientes y el grado de infiltración del tejido sano y enfermo por células CD4+ y CD8+.

En Colombia es el primer estudio molecular e histoquímico que se realiza sobre poliposis.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

En el presente estudio se utilizó un modelo de casos y controles, teniendo como casos las muestras obtenidas del tejido afectado y como controles las muestras de la mucosa sana adyacente. Varios autores han descrito que los cambios celulares y bioquímicos observados en el tejido polipoideo, no ocurren en la mucosa macroscópicamente normal (3, 10).

Características de los participantes

Se estudiaron 27 adultos de ambos sexos con historia clínica de poliposis confirmada mediante tomografía axial computarizada de senos paranasales y en algunos casos por rinosinuscopia. Todos los pacientes fueron sometidos a cirugía endoscópica en el Servicio de Otorrinolaringología de los hospitales que participaron en este estudio: Clínica CES, Clínica de Occidente, Hospital Universitario San Vicente de Paúl y Hospital La María, todos de la ciudad de Medellín, Colombia, Suramérica.

Criterios de exclusión:

- Tratamiento con esteroides tópicos o parenterales en los tres meses previos.
- Tratamiento con antibióticos en los tres meses previos.
- Diagnóstico de enfermedad sistémica concomitante.
- Mujeres en embarazo.
- Pacientes pediátricos.
- Pacientes fumadores.

Todos los pacientes fueron informados de los protocolos a seguir y entraron a la investigación previo consentimiento escrito, con aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia.

Toma de muestra de secreción de mucosa nasal polipoidea y de mucosa sana para ELISA

Se realizó lavado de la cavidad nasal con 10 cc de solución salina normal. Bajo visión directa se colocó una tirilla Periopaper (Periopaper, Ora flow Inc. Plainview, NY) en contacto con el tejido polipoideo por 30 segundos. El mismo procedimiento se realizó en la mucosa nasal sana debajo del cornete inferior. La tirilla se llevó al Periotrón 8000 (PRO FLOW Amityville, NY) para registrar su volumen, luego de acuerdo al método de Tsai y col., la tira se pasó por un vial que contenía 100 ml de solución Hanks con 5% de albúmina sérica bovina (ASB). Posteriormente fueron centrifugadas por 10 minutos a 3000 g/4°C; se tomó el fluido y se guardó a -70°C hasta su análisis mediante la técnica de ELISA (19).

Pruebas cutáneas para aeroalergenos (Prick Test)

Se realizaron pruebas cutáneas para aeroalergenos mediante la técnica de puntura con lanceta (prick test) siguiendo el protocolo aceptado internacionalmente (20-21). Se utilizó un panel de 36 extractos alergénicos que incluía ácaros, cucaracha, epitelios, mohos, pólenes de árboles, gramíneas y malezas, además de un control positivo de histamina y un control negativo de fosfato salino.

Toma de biopsia

Después de la inducción anestésica, se tomaron biopsias del tejido polipoideo y de mucosa sana adyacente de mínimo 3x2 mm, incluyendo todo el espesor del epitelio. El tejido era introducido en un criovial que contenía OCT, el cual inmediatamente se llevaba a congelación en nitrógeno líquido, para seguir los pasos descritos para la histoquímica.

Pruebas a realizar en el laboratorio

ELISA

Los niveles de IL-13 en las secreciones nasales se determinaron mediante el método de ELISA (R & D Systems, Minneapolis, Mn, USA). La lectura de la prueba se hizo en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 490 nm. Los datos fueron analizados de acuerdo a curvas de calibración logradas con concentraciones conocidas de IL-13 recombinante. La IL-13 se estimó en pg/ml.

Inmunohistoquímica para detectar presencia de IL-13 en tejido

Después de congelado el tejido en nitrógeno líquido, se realizaron cortes con crióstato a -20°C, de 5 mm de espesor y se dejaron secar al aire, fijándolo posteriormente en acetona fría durante 5 minutos. Luego se congelaron a -70°C hasta la ejecución del proceso de inmunohistoquímica. Se destinó una placa para la coloración inmunohistoquímica y otra para colorear con Hematoxilina/Eosina, con el objeto de observar la correcta orientación del tejido y la morfología celular.

Para la inmunodetección de la IL-13 se utilizó la técnica de la inmunoperoxidasa (técnica ABC), que se vale de las propiedades de la Avidina - Biotina. Esta técnica utilizó un anticuerpo primario seguido de un anticuerpo biotinilado secundario, además de un complejo macromolecular preformado de Avidina y Peroxidasa biotinilada (Vectastain ABC Kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). La actividad de la peroxidasa endógena fue bloqueada en un baño de peróxido de hidrógeno al 6% durante 10 minutos (22-24). El tampón utilizado para los lavados fue PBS (pH 7.6). Para evitar la unión inespecífica del anticuerpo, se incubó la muestra en suero normal de caballo diluido 1:5 durante 20 minutos. Todas las incubaciones se hicieron en cámara húmeda y a temperatura ambiente. La cantidad empleada de PBS fue de 80 ml por cada incubación. Las muestras fueron lavadas con PBS y luego incubadas con anti-IL13 a su dilución óptima durante 1 hora. Después de lavar en PBS, se incubó el tejido con el anticuerpo secundario biotinilado durante 30 minutos. Nuevamente se lavó y se

incubó con el complejo Avidina-Biotina- Peroxidasa (Vectastain Elite, Vector Laboratorios) ABC durante 30 minutos. El revelado se hizo con 3-3 Diaminobencidina durante 10 minutos y se contrastó con Hematoxilina de Harris durante 1 minuto. Se deshidrataron los cortes en alcoholes, se aclararon en Xilol y se montaron en bálsamo del Canadá. Al observar con el microscopio de luz se observó un precipitado café oscuro en el sitio donde ocurrió la reacción antígeno-anticuerpo, en un fondo azul oscuro, concepto que se tomó como positivo (22-24).

Inmunohistoquímica para detectar células T CD4+ y CD8+

Se utilizó el método de Avidina Biotina peroxidasa (ABC) para detectar células CD4+ y CD8+ usando anticuerpos monoclonales a su dilución óptima, siguiendo el mismo procedimiento descrito para la IL-13 (22-24).

Cuantificación de linfocitos CD4+, CD8+ y células IL13+

El recuento celular se efectuó con microscopio de luz con ocular 10x y objetivo de 40x. Se ubicaron los campos más representativos de cada placa y se obtuvo un promedio de al menos dos de los campos. Los recuentos se informaron en una escala arbitraria de + a +++++. Una + representaba hasta 10 células por campo de 400x (CAP), ++ entre 10 y 20 células por CAP, +++ entre 20 y 30 células y +++++ más de 30 células por CAP.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para variables proporcionales/interválicas u ordinales se utilizaron las pruebas t de Student o de Wilcoxon; respectivamente. Para variables categóricas se utilizaron la prueba exacta de Fisher o la prueba de McNemar. Cuando fue procedente se determinaron las razones de disparidad "odds ratio" (OR) y sus intervalos de confianza (IC). Se trabajó con un nivel de confianza del 95% y un punto de corte para la significancia de $p=0.05$.

RESULTADOS

Entre octubre de 2001 y octubre de 2004 se evaluaron 27 pacientes con poliposis etmoidal que consultaron a los servicios de Otorrinolaringología de las instituciones participantes. Se incluyeron 16 hombres y 11 mujeres. El rango de edad de los hombres fue de entre 27 y 78 años, con

un promedio de 49 años y una desviación estándar (DE) de 14. Las mujeres tuvieron un rango de edad entre 18 y 61 años, con un promedio de 38 y una desviación estándar de 13 años. La edad de las mujeres fue en promedio 10 años menor que la de los hombres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. La enfermedad predominó entre los hombres en los mayores de 40 años (11/16), y entre las mujeres en las mayores de 30 años (8/11), prueba exacta de Fisher ($p<0.05$).

En la tabla 1 se muestra la distribución de los casos de poliposis según su clasificación etiológica. Únicamente se incluyeron 22 de los 27 casos dado que en 5 de ellos no se realizó el prick test para aeroalergenos. La forma alérgica fue igual de frecuente que la no alérgica. Como no alérgica se catalogó al grupo conformado por la idiopática y la asociada a AINES.

Tabla 1
Poliposis nasal de origen etmoidal.
Clasificación etiológica

Etiología	Nº	%
Alérgica	11	50
Idiopática	8	36.3
AINES*	3	13.7

* Antiinflamatorios no esteroideos.

De los 11 pacientes con poliposis alérgica, definida por las pruebas cutáneas, en 7 su enfermedad estaba asociada a asma, rinitis o rinosinusitis. En los 4 restantes su única manifestación clínica fue la poliposis. En 5 de los 8 casos idiopáticos, la poliposis se asoció a asma.

Los 3 pacientes con poliposis asociada con AINES presentaron manifestaciones de asma y/o rinitis, y en 2 de ellos las pruebas cutáneas fueron positivas.

El asma como enfermedad concomitante se presentó en 10 de los 22 pacientes estudiados. Su presencia fue mayor en los pacientes no alérgicos que en los alérgicos. Sin embargo, esta asociación no fue estadísticamente significativa, prueba exacta de Fisher ($p > 0.05$), Figura 1.

Los antecedentes familiares de asma y/o rinitis estuvieron disponibles en 19 de 22 pacientes a quienes se les realizaron pruebas cutáneas de alergia. De estos 19, a 16 se les halló un antecedente familiar positivo. Sin embargo, dicho dato no permitió predecir los casos de poliposis alérgica, tabla 2.

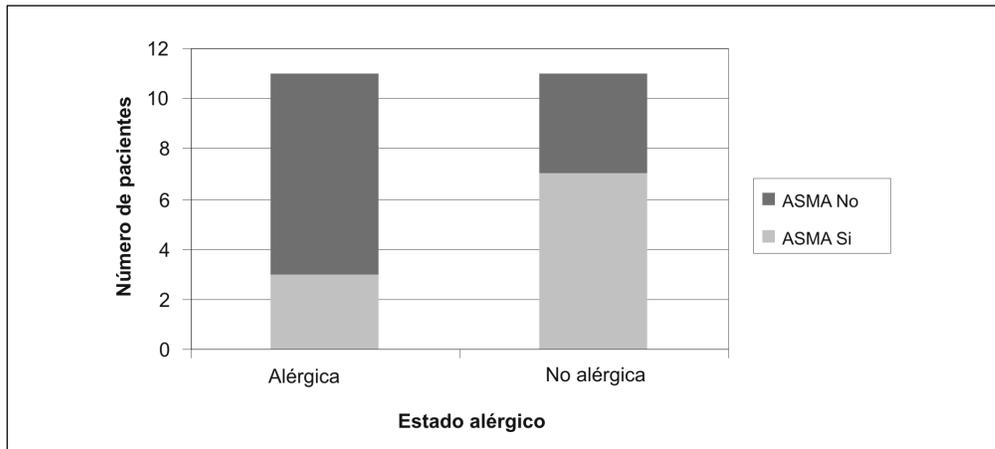


Figura 1. Prevalencia de asma según estado alérgico en pacientes con poliposis nasal.

Tabla 2
Antecedentes familiares y variedad de poliposis nasal

		Poliposis alérgica	
		Sí	No
Antecedente familiar de asma/rinitis	Sí	10	6
	No	1	2

Con relación a los resultados de las pruebas cutáneas, en 12 pacientes estas fueron positivas (44,4%), en 10 negativas (37%) y en 5 pudieron ser realizadas (18,6%).

En la Figura 2 se muestra la distribución de los alérgenos sensibilizantes en los casos con pruebas cutáneas positivas.

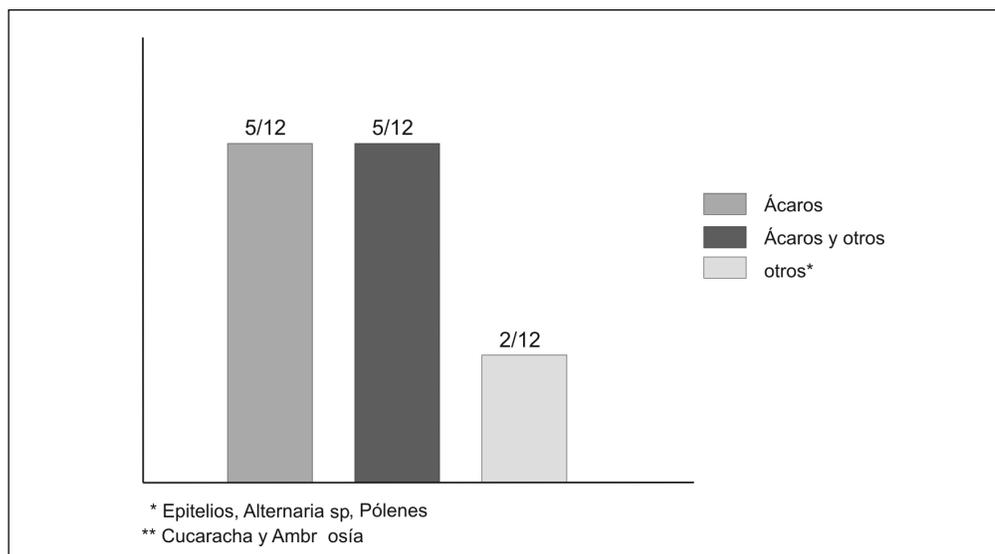


Figura 2. Alérgenos sensibilizantes en pacientes con poliposis nasal

Tabla 3
Distribución de ácaros sensibilizantes en casos de poliposis nasal

Especie	Nº de casos sensibilizados
B. tropicalis	1
B. tropicalis y Dermatophagoides sp*	5
Dermatophagoides sp	6

* Se incluyeron las especies *D. farinae* y *D. pteronyssinus*.

En 10/12 casos (83,3%) los ácaros fueron los alérgenos predominantes. El género *Dermatophagoides* prevaleció sobre la *Blomia tropicalis*, tabla 3.

En la tabla 4 se presentan los resultados de la cuantificación de la IL-13 en las secreciones. Los datos no siguen una distribución normal por lo que se maneja como una variable

ordinal. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de IL-13 entre la mucosa sana y la polipoidea, o respecto al sexo, pruebas de los rangos con signo de Wilcoxon ($p > 0.05$). En 14 casos la concentración de IL-13 de la secreción del pólipo superó la de la respectiva mucosa sana adyacente en concentraciones que llegaron a alcanzar niveles de hasta 120 pg/ul.

Tabla 4
Concentración de IL-13 en pólipos nasales y mucosa nasal sana

Secreción	Me (pg/ul)	RIC (pg/ul)
Pólipo	6.19	6.16
Fosa sana	6.7	10.26

En la coloración mediante inmunohistoquímica de células CD4+, CD8+ e IL13+ sólo se incluyeron 21 casos, en los 6 restantes no hubo muestra suficiente para realizar el procedimiento. En todas las biopsias de tejido polipoideo se encontraron células IL13+ (21/21), en cambio en la mucosa sana sólo se encontró en 6 de 21 casos, prueba exacta de Fisher ($p < 0.001$, OR=16 IC95%: 8.5 hasta +Inf). En la mucosa sana se presentó infiltrado de células IL13+ en de 21 muestras (++)/++++), en cambio en tejido polipoideo se encontró en 14 de 21 (++)/++++), prueba exacta de Fisher ($p < 0.001$, OR=19 IC95%: 2.93-196.3). Infiltrado celular mayor (+++ ó ++++/++++) se presentaron en la mucosa sana en 1 de 21 muestras y en tejido polipoideo en 7 de 21 ($p < 0.05$, OR=10 IC95%: 1.04-472.6). No se encontró asociación entre el grado de infiltración de células IL13+ y la reactividad a las pruebas cutáneas, prueba exacta de Fisher ($p > 0.05$).

Se encontraron células CD4+ y CD8+ en todos los casos (21/21) tanto en la mucosa normal como en el tejido polipoideo. En forma similar a la coloración para células

IL13+, los infiltrados de células CD4+ y CD8+ fueron mayores en el tejido polipoideo. El grado de infiltración de células CD4+ fue igual o mayor a ++ en 13 de 21 muestras de pólipos y en la mucosa normal en 5 de 21, prueba exacta de Fisher ($p < 0.05$, OR=5.20, IC95%: 1.16-24.91). Infiltrados de +++ o más se presentaron en 11 de 21 pólipos y sólo en un tejido normal (1/21), prueba exacta de Fisher ($p < 0.005$, OR=22 IC95%: 2.39-992.8).

El grado de infiltración de células CD8+ fue de ++ o más en 18 de 21 pólipos y en 13 de 21 mucosas sanas, prueba exacta de Fisher ($p > 0.05$) y de +++ o más en 11 de 21 pólipos y 2 de 21 mucosas sanas, prueba exacta de Fisher ($p < 0.05$, OR=10.45 IC95%: 1.68-108.5).

Si comparamos las OR de las células CD4+ y CD8+ en los infiltrados de +++ o más encontramos que la mayor infiltración se hizo a expensas de las células CD4+ (22/10.45 = 2.1 veces), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. En todas las mucosas sanas se encontraron

células CD4+ y CD8+ en cantidades discretas, pero células IL13+ sólo se identificaron en escaso número en el 28% de las muestras de tejido sano (6/21), prueba exacta de Fisher ($p < 0.001$). Los hallazgos anteriores comprueban el importante incremento en la infiltración por células IL-13+, sin asociación con factores como la edad, el sexo, la reactividad alérgica del paciente o la intolerancia a AINES.

DISCUSIÓN

No existen en la literatura mundial estudios sobre poliposis nasal con grandes muestras poblacionales y los datos acerca de su epidemiología provienen de trabajos con pequeñas muestras. Encontramos en el presente estudio una relación Hombre:Mujer de 1.45:1, cercana a la relación de 2:1 reportada por Settípane (1). La edad promedio de nuestros pacientes fue de 49 años en los hombres y de 38 años en las mujeres, siendo la diferencia de edad entre sexos significativa. Este hallazgo coincide con lo reportado igualmente por Settípane (1).

En el 50% de los pacientes a los que se les realizaron pruebas cutáneas para aeroalergenos, el resultado fue positivo. El anterior hallazgo está concuerda con los resultados de estudios previos de varios autores que encontraron una prevalencia de entre el 63% y el 68,3%. En la literatura hay consenso en el sentido de que la respuesta atópica no es un marcador fidedigno de poliposis, pero los pacientes con poliposis tienen una mayor frecuencia de atopía que la población general (4-6).

La poliposis nasal asociada con asma se presentó en aproximadamente la mitad de los casos y la mayor frecuencia de ésta se presentó entre los pacientes con prueba cutánea negativa para aeroalergenos, la diferencia no alcanzó, sin embargo, a ser estadísticamente significativa. Acerca de este hallazgo no encontramos en la literatura otros trabajos que lo exploren.

En los pacientes con prueba cutánea positiva la mayor reactividad se presentó frente a antígenos perennes como *Dermatophagoides* spp. y *Blomia tropicalis*. Tanto en países con ciclos estacionales como en los tropicales, se ha encontrado entre los pacientes con poliposis una mayor sensibilización a ese tipo de alérgenos (5).

Tanto los linfocitos T CD4+ como CD8+ presentaron una mayor densidad tisular en los tejidos poliposos; sin

embargo, la mayor infiltración fue a expensas de la subpoblación CD4+. Resultados semejantes han sido informados por He y cols. quienes encontraron una relación de CD4+/CD8+ de 1.95 (13), casi igual a la de este estudio (CD4+/CD8+ = 2.1).

Con excepción de las interleucinas IL-9 e IL-11 todas ellas desde la IL-1 beta hasta la IL-13 se han estudiado en las secreciones o en los fragmentos de tejido polipoide. Sin excepción su expresión determinada por inmunocitoquímica, hibridización *in situ*, RT-PCR o citometría de flujo siempre se ha detectado incrementada al compararse al tejido nasal normal. Igual hallazgo se ha tenido al determinar la expresión tisular de IFN-gamma, TNF-alfa, eotaxin, P-selectina, VCAM-1 y RANTES. La determinación de los anteriores mediadores en la secreción del tejido polipoideo mediante ELISA o RIA ha confirmado un incremento en su concentración con relación a la secreción nasal normal y sólo en los casos de TNF-alfa e IL-13 su concentración ha sido igual a la de la secreción nasal normal (10, 12, 25-30). Este último hallazgo está de acuerdo con lo encontrado en este trabajo.

En otros estudios se han informado concentraciones semejantes a las del tejido normal con sICAM-1, ácido hialurónico y leucotrienos LtC4/D4/E4 y concentraciones elevadas de IgE, IgG, IgA, albúmina, GM-CSF y óxido nítrico (NO) (30-32). Como hallazgo excepcional la concentración de TGF beta está muy por debajo de los niveles que se encuentran en la secreción nasal normal (28). Es importante destacar que hasta la fecha se encuentran sólo 4 estudios en PubMed respecto sobre determinación de IL-13 en tejidos o en secreciones de pólipos nasales. Los métodos de determinación han sido ELISA en dos de ellos (18, 33) e hibridización *in situ* en los dos restantes (9, 34). El presente estudio es el primero en utilizar inmunohistoquímica en la detección tisular de células IL-13 positivas y es igualmente el primero en utilizar simultáneamente en la determinación de IL-13 en pacientes con poliposis nasal, ELISA para la secreción e inmunohistoquímica en las biopsias. Los estudios referidos coinciden con lo encontrado en esta investigación.

Son muchas las moléculas que intervienen en la cascada inflamatoria de la poliposis nasal pero carecemos de una teoría que en forma coherente explique estos hallazgos. Hay que resaltar, sin embargo, que el paradigma propuesto de las patologías TH1 y TH2 no es sostenible en esta compleja enfermedad y desconocemos el papel que puede desempeñar la IL-13, objeto de nuestra investigación, excepción hecha de su omnipresencia en el tejido afectado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Settipane GA: *Epidemiology of nasal polyps*. Allergy Asthma Proc. 1996; 17: 231-236.
2. Slavin RG. Nasal polyps and sinusitis. In Middleton E Jr, Yunginger JW, Busse WW, editors. *Allergy principles & practice*, vol. 2 St Louis, MO: Mosby. 1998; 1024.
3. Norlander T, Bronnegard M. *The relationship of nasal polyps, infection and inflammation*. Am J Rhinol 1999, 13: 349-355.
4. Bernstein JM, Gorfien J, Noble B. *Role of allergy in nasal polyposis: a review*. Otolaryngol Head Neck Surg. 1995; 113 (6): 724-732.
5. Asero R, Bottazzi G. *Nasal polyposis: a study of its association with airborne allergen hypersensitivity*. Ann Allergy Asthma Immunol. 2001; 86 (3): 283-285.
6. Kirtsreesakul V. *Nasal polyps: The relationship to allergy, sinonasal infection and histopathological type*. J Med Assoc Thai. 2004; 87 (3): 277-282.
7. Kirtsreesakul V. *Roll of allergy in the therapeutic response of nasal polyps*. Asian Pac J Allergy Immunol. 2002; 20(3):141-146.
8. Hellquist HB. *Nasal polyps update: Histopathology*. Allergy Asthma Proc 1996; 17 (5): 237-242.
9. Hamilos DL, Leung DY, Wood R, Bean DK, Song YL, Schotman E, Hamid Qutayba. *Eosinophil infiltration in nonallergic chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis*. Am J Respir Cell Mol Biol 1996; 15 (4): 443-450.
10. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Cuvelier C, van Cauwenberge P. *Nasal polyposis: from cytokines to growth*. Am J Rhinol 2000; 14 (5): 279-290.
11. Wang D, Lévassieur-Acker GM, Jankowski R, Kanny G, Moneret-Vautrin DA, Charron D, Lockhart A, Swierczewski E. *HLA class II antigens and T-lymphocytes in human nasal epithelial cells*. Modulations of the HLA class II gene transcripts by gamma interferon. Clin Exp Allergy 1997; 27 (3): 306-314.
12. Yuan X, Yu D, Yu Y. *T-lymphocyte subsets and inflammatory cytokines of interleukin-5 and interleukin-10 expression in human nasal polyp tissue*. Asian Pac J Allergy Immunol. 2000; 35 (5): 363-366.
13. He L, Chen R, Shi J, Xu G. *The T-lymphocytes subsets expression in the human recurrent nasal polyps*. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. 2004; 18 (2): 97-99.
14. Bartees J, Maune S: *Increased eotaxin-mRNA in non atopic and atopic nasal polyps: comparison to RANTES and MCP-3 expression*. Rhinology 1997; 35: 171-174.
15. Caversaccio M, Hartnell A, Calnan D, Jose P, Mackay IS, Ugucioni M, Baggolini M, Williams TJ, Conroy DM. *The roll of chemokines in nasal polyps*. Schweiz Med Wochenschr. 2000; Suppl 125: 92s-95s.
16. Lezcano-Mesa D, Davila-Davila B, Vega-Miranda A, Negrete-Garcia MC, Teran LM. *Interleukin-4 and to a lesser extend either IL-13 or Interferon-gamma regulate the production of eotaxin-2 / CCL24 in nasal polyps*. Allergy. 2003; 58 (10): 1011-1017.
17. Xu R, Li Y, Xie M, Xu G, Zhang G, Wang S. *The Concentration and expression of IL-5 in human nasal polyp tissue*. Asian Pac J Allergy Immunol. 2000; 35 (4): 251-254.
18. Woodworth BA, Joseph K, Kaplan AP, Schlosser RJ. *Alterations in eotaxin, monocyte chemoattractant protein-4, interleukin-5 and interleukin-13 after systemic steroid treatment for nasal polyps*. Otolaryngol Head Neck Surg. 2004; 131 (5): 585-589.
19. Chung RM, Grbic JT, Lamster IB. *Interleukin 8 and B-glucuronidase in gingival crevicular fluid*. J Clin Periodontol. 1995; 24:146-152.
20. American AAAI. *The use of standardized allergen extract. Position Statement American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAI)*. J Allergy Clin Immunol. 1997; 99: 583-586.
21. Dreborg S, Frew A. *Allergen standardization and skin test. EAACI position paper*. Allergy. 1993; 48(Suppl. 14): 1-20.
22. Nadji M, Morales A. *Immunoperoxidase techniques; a practical approach to tumor diagnosis*. American Society of Clinical Pathologist Press. 1986: 1-10.
23. Taylor C. *Immunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist*. 2a ed. Ny: W.B. Saunders Company, vol. 1. 1994.
24. Colvin R, Bhan AK. *Diagnostic immunopathology*. (2 ed.) New York: Raven Press, vol. 1, 1995.
25. Berstein JM, Ballow M, Rich G, Allen C, Swanson M, Dmochowski J. *Lymphocyte subpopulations and cytokines in nasal polyps: is there a local immune system in the nasal polyp?* Otolaryngol Head Neck Surg. 2004; 130 (5): 526-535.
26. Min YG, Lee CH, Rhee CS, Kim KH, Kim CS, Koh YY, Min KU, Anderson PL. *Inflammatory cytokine expression on nasal polyps developed in allergic and infectious rhinitis*. Acta Otolaringol. 1997; 117 (2): 302-306.
27. Li X, Huang A. *Significance and detection of interleukin-8 in human nasal polyps*. Asian Pac J Allergy Immunol. 2000; 35 (4): 255-256.
28. Hirschberg A, Jokuti A, Darvas Z, Almay K, Repassy G, Falus A. *The pathogenesis of nasal polyposis by immunoglobulin E and interleukin-5 is completed by transforming growth factor-beta1*. Laryngoscope. 2003; 113 (1): 120-124.
29. Liang Y, Lin S. *Expression and significance of interleukin-6, 8 in human nasal polyps*. Asian Pac J Allergy Immunol. 2001; 36 (2): 94-96.
30. Cao Z, Lu H. *Expressions of Immunoglobulin E, Interleukin-5 and granulocyte-macrophage colony-stimulation factor in nasal polyps tissue*. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. 2004; 18 (5): 276-278.
31. Fan J, Qin G, Ren Z, Liang C. *The expression and relevant study of NO and TNF-alpha in nasal polyp tissue*. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. 2003; 17 (5): 268-271.
32. Kramer MF, Ostertag P, Pfrogner E, Rasp G. *Nasal interleukin-5, immunoglobulin E, eosinophilic cationic protein, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in chronic sinusitis, allergic rhinitis, and nasal polyposis*. Laryngoscope. 2000; 110 (6): 1056-1062.
33. Li H, Xu G, Li Y, Xie M, Zhang G. *Expression of Th1, Th2 – typed cytokines and its significance in nasal polyps*. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. 2001; 15 (2): 51-52.
34. Hamilos DL, Thawley SE, Kramper MA, Kamil A, Hamid QA. *Effect of intranasal fluticasone on cellular infiltration, endothelial adhesion molecule expression, and proinflammatory cytokine mRNA in nasal polyp disease*. J Allergy Clin Immunol. 1999; 103 (1 pt 1): 79-87.

