

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Farmacología



TESIS DOCTORAL

Marcadores de sensibilidad a terapia corticoidea oral de la rinosinusitis crónica con poliposis nasal: papel de IL-5, MMP-9 y TIMP-1

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Gustavo Eisenberg Plaza

Director
María Ángeles Moro Sánchez

Madrid, 2014



Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Medicina
Departamento de Farmacología

**Marcadores de sensibilidad a terapia
corticoidea oral de la rinosinusitis crónica
con poliposis nasal: Papel de IL-5, MMP-9 y
TIMP-1.**

**TESIS DOCTORAL
Gustavo Eisenberg Plaza**

**Directores de Tesis
María Ángeles Moro Sánchez**

Guillermo Plaza Mayor

Madrid, 2014

Agradecimientos:

Desde estas líneas me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento a todos aquellos que han colaborado en el desarrollo de este trabajo. Ha sido un camino largo y difícil, aunque sin duda ha merecido la pena, sobre todo por la oportunidad que me ha brindado de compartir momentos y de aprender de brillantes y magníficos profesionales.

En primer lugar quisiera agradecer a María Angeles su constante disposición para la supervisión de esta tesis. Gracias por tu entusiasmo y pragmatismo. Excepcional como científica, ha sido todavía más gratificante conocerla como persona. Esta tesis ha sido posible gracias a ti.

También quiero agradecer a Guillermo su permanente interés y apoyo. Gracias Guillermo por tu respaldo y sobre todo por tu empuje constante, para la finalización de esta tesis y en lo que respecta a mi desarrollo profesional.

Quisiera agradecer a todo el personal del Departamento de Farmacología de la Universidad Complutense de Madrid el cariño con el que me acogieron. Por supuesto a Nacho y Juan Carlos, por vuestro constante ánimo con el que todo parece posible, sobre todo en los momentos difíciles. Y como no, a los integrantes de la UIN, por haberme hecho sentir desde el principio como uno más. Gracias por todo. Sois tantos a los que os tengo que agradecer vuestra ayuda que espero os deis todos por nombrados, y evitar así alguna omisión que me parecería imperdonable. De una manera más particular quisiera agradecer a Jesús e Iván todo el tiempo que me han dedicado. Sin vosotros esta tesis no habría podido ver la luz.

También quisiera agradecer a mis compañeros y amigos del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Universitario de Fuenlabrada hacerme sentir, a pesar de la presión del día a día, parte de un equipo de gente estupenda.

Gracias también a Luis Menchén, que a pesar de su sorpresa, ha colaborado mucho en la etapa final de esta tesis.

Finalmente quiero expresar mi más profundo agradecimiento y cariño a mi familia. A mi padre, por inspirarme permanentemente para ser mejor día a día, y a mi madre, por su cariño infinito y sus “pequeños consejos” con los que he resuelto mis “grandes problemas”. Y por supuesto a mis hermanos, Natalia, Max y Alex, con los que he compartido tantos momentos felices. Sois un motivo de orgullo y mi ejemplo a seguir.

Para acabar, quiero agradecer a Elena su constante apoyo. Gracias Elena por elegir compartir tu vida conmigo y hacerme sentir el hombre más afortunado del mundo. Y a mis hijos, Martina, Gustavo y Olivia, por revolver mi vida como lo habéis hecho.

A todos vosotros, muchas gracias.

ABREVIATURAS:

AAS: Ácido acetil salicílico

AINEs: Antinflamatorios no esteroideos

ARNm: Ácido desoxirribonucleico mensajero

CCL23: Quimioquina (C-C motivo) ligando 23

CCL5: Quimioquina (C-C motivo) ligando 5

cDNA: Ácido desoxirribonucleico complementario

CENS: Cirugía endoscópica nasosinusal

ECP: Proteína catiónica del eosinófilo

EDN: Neurotoxina derivada del eosinófilo

EP: Peroxidasa del eosinófilo

EREA: Enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina

EVA: Escala visual analógica

EVAo: Escala visual analógica valorando obstrucción nasal

EVAr: Escala visual analógica valorando rinorrea

EVAh: Escala visual analógica valorando hiposmia

EVAp: Escala visual analógica valorando presión/dolor facial

FQ: Fibrosis quística

GM-CSF: Factor estimulador de colonias granulocíticas

GR: Receptor glucocorticoideo

HLA: Complejo mayor de histocompatibilidad

ICAM: Molécula de adhesión intracelular

IFN: Interferon

IgA: Inmunoglobulina A

IgE: Inmunoglobulina E

kD: KiloDalton

IF: Inmunofluorescencia

IL: Interleuquina

LCR: Líquido cefalorraquídeo

MBP: Proteína básica principal

MCP-1: Proteína quimioatrayente de monocitos 1

MMP: Metaloproteinasa de la matriz

NF- κ B: Factor nuclear kappa B

RA: Rinitis alérgica

RSC: Rinosinusitis crónica

RSCcPN: Rinosinusitis crónica con poliposis nasal

RSCsPN: Rinosinusitis crónica sin poliposis nasal

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa transcripción inversa

SA: *Staphylococcus aureus*

TC: Tomografía computerizada

TGF: Factor de crecimiento transformante

TIMP: Inhibidor tisular de metaloproteinasa

TNF: Factor de necrosis tisular

TNF-alfa: Factor de necrosis tumoral alfa

TS SA: Toxina superantigénica de *Staphylococcus aureus*

TSLP: linfopoyetina tímica estromal

UEE: Uniones epiteliales estrechas

VCAM-1: Molécula de adhesión celular vascular

RESUMEN

La rinosinusitis crónica con poliposis nasal (RSCcPN) es una enfermedad inflamatoria de gran prevalencia. Los síntomas típicos consisten en obstrucción nasal, rinorrea y pérdida de olfato. De etiología desconocida, el objetivo del tratamiento es el de mejorar el cuadro clínico. Este está basado en la administración de corticoides tópicos u orales, en ciclos cortos, reservando la cirugía para aquellos pacientes que no responden a tratamiento médico (Fokkens, Lund, Mullol, & Al., 2012).

Recientemente existe un interés creciente en identificar diferentes fenotipos de pacientes con RSCcPN, con los mismos síntomas y exploración clínica, y diferentes mecanismos moleculares, lo que podría explicar la gran variedad de respuesta al tratamiento (Van Zele et al., 2010; Wen et al., 2012; Akdis et al., 2013). Por otro lado, los corticoides orales que son frecuentemente utilizados para tratar esta heterogénea enfermedad, suelen acompañarse de múltiples efectos adversos, como la alteración en el metabolismo de la glucosa, atrofia muscular o úlcera gástrica (Cave, Arlett, & Lee, 1999). Por ello, identificar marcadores moleculares para encontrar fenotipos sensibles a corticoides orales podría ser útil para individualizar el tratamiento.

HIPÓTESIS

La metaloproteinasa de la matriz 2 y 9 (MMP-2 y MMP-9) y su inhibidor tisular (TIMP-1) están involucrados en la remodelación tisular en múltiples procesos. Estos hallazgos son típicos de esta enfermedad. Por otro lado, la interleuquina 5 (IL-5), tiene un importante papel en la activación, atracción e inhibición de la apoptosis de eosinófilos, célula inflamatoria clave en la RSCcPN. Por ello

podrían ser considerados como marcadores de la actividad inflamatoria o remodelatoria de esta patología. Aquellos pacientes con altos niveles de estos marcadores podrían ser pacientes más sensibles a corticoesteroides.

OBJETIVOS:

1.- Confirmar el aumento de expresión y actividad de MMP-2 y MMP-9 en muestras de pólipos nasales.

2.- Estudiar la relación entre la expresión de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en pólipos nasales previo a tratamiento y la mejoría clínica debido a corticoides orales en RSCcPN, medido mediante parámetros objetivos y subjetivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de pólipos nasales de 15 pacientes y se procesaron para western-blot y citología para el análisis de expresión y actividad de MMP-2 y MMP-9. Como muestras control se tomaron biopsias de mucosa de cornete inferior de pacientes que fueron sometidos a cirugía funcional, sin patología inflamatoria nasosinusal.

Para el estudio del papel pronóstico de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en la RSCcPN, se tomaron muestras de pólipos nasales procedentes de veinte pacientes. De nuevo como control se tomaron muestras de cornete inferior de diez pacientes sometidos a cirugía por hipertrofia de cornetes.

La gravedad de la RSCcPN fue evaluada mediante escala visual analógica (VAS) de obstrucción nasal, rinorrea, hiposmia y presión facial, mientras que los parámetros clínicos objetivos se registraron mediante olfatometría, endoscopia nasal y tomografía computarizada (TC). A todos se les tomó

muestras de pólipos nasales, obtenidas en consulta e inmediatamente almacenadas a -80° C. Todos los pacientes recibieron una pauta de metilprednisolona oral de quince días. Tras una semana de tratamiento los pacientes fueron de nuevo evaluados, tomándose una nueva muestra de pólipo nasal en ocho de ellos. El seguimiento fue de al menos un año con revisiones en consulta cada tres meses.

Se estudió la relación entre la mejoría clínica tras administración de corticoides orales y la expresión de ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestras de pólipo nasal previo al tratamiento.

RESULTADOS

Los resultados confirmaron el aumento de expresión y actividad de MMP-9 en pólipo nasal cuando se comparó con mucosa nasal procedentes de pacientes control.

La administración de corticoides orales no tuvo el mismo efecto en todos los pacientes. De este modo se observó la existencia de correlación lineal entre la mejoría subjetiva y olfatometría con los niveles de ARNm de IL-5 procedentes de muestras de pólipo nasal. Aquellos pacientes con alta concentración de ARNm de IL-5 previo a tratamiento mostraron una mayor mejoría de parámetros subjetivos y objetivos, que aquellos con baja concentración. Estos resultados se comprobaron mediante inmunohistoquímica. La mejoría obtenida con el test de olfatometría tras tratamiento presentaba correlación lineal con la disminución de los niveles de IL-5 tras tratamiento. Sin embargo, el grupo de pacientes con mayores niveles de ARNm de IL-5 se operaron más frecuentemente, durante el tiempo del estudio, que los pacientes con niveles más bajos.

No se objetivó relación entre mejoría clínica tras tratamiento y los niveles de ARNm de MMP-9 y TIMP-1.

CONCLUSIONES

- 1.- La expresión y actividad de MMP-9, no de MMP-2, están aumentadas en poliposis nasal.
- 2.- Aunque el tratamiento con corticoides orales es una opción terapéutica útil, no todos los pacientes presentan una mejoría importante tras su administración.
- 3.- Altos niveles de ARNm de IL-5, procedentes de muestra de pólipos nasales, se relacionan con mejoría más extensa de parámetros clínicos objetivos y subjetivos tras tratamiento.
- 4.- Existe correlación lineal entre mejoría del olfato y disminución de ARNm de IL-5 en pólipo nasal tras tratamiento.
- 5.- La relación entre ARNm de IL-5 y la mejoría clínica es independiente del grado de infiltración eosinofílica de los pólipos nasales.
- 6.- Altos niveles de ARNm de IL-5 en pólipo nasal aumenta el riesgo de someterse a cirugía endoscópica nasosinusal.

SUMMARY

Chronic rhinosinusitis with nasal polyps (RSCcPN) is an inflammatory disease of great prevalence. Nasal obstruction, rhinorrhea and smell loss are typical symptoms. With an unknown etiology, the aim of its treatment is to improve its symptoms. It is based on administration of topical or oral short courses of corticoesteroids. Surgery is indicated to those patients who do not improve after medical therapy (Fokkens, Lund, Mullol, & Al., 2012).

Recently, there is a growing interest in identifying different phenotypes of nasal poliposys, which may develop different molecular mechanisms with the same symptoms and examination. This could explain why there is a great variety of treatment's results (Van Zele et al., 2010; Wen et al., 2012; Akdis et al., 2013).

On the other hand, oral corticoesteroids are largely used to treat this heterogeneous disease, despite the presence of many adverse effects related to continuous use as alterations on glucose metabolism, muscular atrophy or gastric ulceration (Cave, Arlett, & Lee, 1999). Thus, identifying molecular markers to find sensitive phenotypes to oral corticoesteroid could be helpful to customize the treatment.

HYPOTHESIS

Matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and MMP-9) and its tissular inhibitor (TIMP-1) are involved in usual tissue remodelling in this disease. On the other hand, interleukin 5 (IL-5) has an important role in activation, attraction and inhibition of apoptosis of eosinophils, which are key inflammatory cells in RSCcPN. Therefore, they have to be considered as reliable markers of inflammatory or remodellatory activity of this disease.

Patients with high level of these markers could be more sensitive to corticoesteroids.

OBJECTIVES

1.- To confirm the high expression and activity of MMP-2 and MMP-9 in nasal polyp samples.

2.- To study the relationship between expression of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and IL-5 in nasal polyps prior to treatment and the clinical improvement due to oral corticosteroids in RSCcPN measured by subjective and objective parameters.

MATERIAL AND METHODS

Nasal polyp samples from fifteen patients were taken and processed by western-blot technique and zimography to asses expression and activity of MMP-2 and MMP-9.

Samples of nasal mucosa from inferior turbinates of patients without inflammatory nasosinusal disease, who underwent functional nasal surgery, were taken as control samples.

To study the prognostic role of MMP-9, TIMP-1 and IL-5 in RSCcPN disease, nasal polyp samples were obtained from twenty patients with nasal polyps. Mucosa samples from inferior turbinate surgery of ten patients were taken as control patients.

The severity of symptoms of the RSCcPN were evaluated by visual analogic scale (VAS) of nasal obstruction, rhinorrea, hyposmia and facial pressure and objective clinical parameters by olfactometry test, nasal endoscopy and

computerized tomography (CT).

Sample of nasal polyps were obtained in the medical office and immediately stored at -80°C. All of the patients were treated with fifteen day oral course of methylprednisolone.

After one week of treatment, patients were evaluated again and new nasal polyp samples were obtained from eight of them. Patients were followed one year long with examinations every three months.

We studied the relationship between the clinical improvement after oral corticosteroid course and the expression of mRNA of MMP-9, TIMP-1 and IL-5 pre-treatment in nasal polyp samples.

RESULTS

Results confirm the overexpression and overactivity of MMP-9 in nasal polyps when compared to control nasal mucosa.

After oral corticosteroid treatment, improvement was not the same in all of them. We observe a lineal correlation between subjective improvement (VAS) and olfactometry test with the levels of mRNA IL-5 from nasal polyps. Patients with higher concentration of mRNA IL-5 showed a significant higher improvement of both parameters (VAS and olfactometry test) than those with low levels. This observation was confirmed with immunohistochemistry. Lineal correlation was confirmed as well when comparing olfactometry test improvement after one week of methylprednisolone and the decline of mRNA IL-5 in nasal polyps after treatment. However, the group of patients with high levels of mRNA of IL-5 was more likely to undergo surgery.

No relationship was observed between clinical improvement after treatment and levels of mRNA of MMP-9 and TIMP-1.

CONCLUSIONS

- 1.- Expression and activity of MMP-9 are increased in nasal polyps, but not in the case of MMP-2.
- 2.- Although oral corticosteroids treatment is a useful option, not all patients experiment an extense improvement after administration.
- 3.- High levels of mRNA of IL-5 from nasal polyp samples were related to a significant improvement of both subjective and objective clinical parameters after oral corticosteroid treatment.
- 4.- There is a lineal correlation between improvement of smell and decline of mRNA IL-5 levels in nasal polyps after treatment.
- 5.- The relationship between mRNA IL-5 levels and clinical improvement is independent from the grade of eosinophilic infiltration of nasal polyps.
- 6.- Higher levels of mRNA IL-5 in nasal polyps increase the risk of undergoing nasal endoscopic surgery.

ÍNDICE

I INTRODUCCIÓN 7

1.- Recuerdo histórico_____	8
2.- Anatomía_____	13
3.- RSC. Concepto y definición_____	16
4.- Epidemiología y factores relacionados_____	19
4.1.- Edad, sexo y raza_____	20
4.2.- Componente hereditario_____	20
4.3.- Alergia_____	22
4.4.- Asma_____	22
4.5.- Enfermedades sistémicas_____	25
5.- Mecanismos fisiopatológicos de la RSCcPN_____	26
5.1.- RSCcPN e inflamación_____	26
5.1.1.- Desencadenantes inflamatorios_____	28
5.1.1.1.- Superantígeno bacteriano_____	28
5.1.1.2.- Biofilms_____	30
5.1.1.3.- Hongos_____	31
5.1.1.4.- Alergenos_____	32
5.1.1.5.- Virus_____	32
5.1.1.6.- Toxinas ambientales_____	33
5.1.2.- Inflamación. Eosinófilos e IL-5_____	34
5.2.- RSCcPN y remodelación tisular_____	38
5.2.1.- MMP de la matriz_____	40
6.- Tratamiento de la RSCcPN_____	43
6.1.- Tratamiento farmacológico_____	43
6.1.1.- Terapia corticoidea_____	43

6.1.1.1.- Causas de la falta de respuesta de la RSCcPN al tratamiento con corticoides_____	47
6.1.1.1.1.- Resistencia a corticoides _____	47
6.1.1.1.2.- Influencia de la histología en la sensibilidad_____	49
6.1.2.- Terapia antibiótica_____	50
6.1.3.- Otros tratamientos farmacológicos_____	51
6.1.3.1.- Antileucotrienos_____	51
6.1.3.2.- Anticuerpo monoclonal frente a IL-5_____	52
6.1.3.3.- Anticuerpo monoclonal frente a IgE_____	53
6.1.3.4.- Desensibilización frente a AAS_____	54
6.2.- Tratamiento quirúrgico_____	54
7.- Detección de un problema_____	59

II HIPÓTESIS Y OBJETIVOS **61**

1.- Hipótesis_____	62
2.- Objetivos_____	63

III MATERIAL Y MÉTODO **65**

1.- Estudio de la actividad y expresión de MMP-9 y MMP-2 en la RSCcPN_____	66
1.1.- Tamaño muestral_____	66
1.2.- Criterios de inclusión_____	66
1.3.- Obtención y preparación de las muestras_____	67
1.4.- Determinación de los niveles proteicos de MMP-2 y MMP-9 por western-blot_____	68
1.5.- Determinación de la actividad de MMP-2 y MMP-9 por zimografía_____	68

1.6.- Análisis estadístico_____	68
2.- Estudio del papel pronóstico de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en la RSCcPN_____	69
2.1.- Tamaño muestral_____	69
2.2.- Criterios de inclusión_____	69
2.3.- Recogida de datos y evaluación en consulta_____	70
2.4.- Procesamiento de las muestras_____	74
2.4.1.- Determinación de ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 mediante RT-PCR_____	74
2.4.2.- Inmunofluorescencia_____	75
2.4.3.- Análisis estadístico_____	77

IV RESULTADOS **81**

1.- Estudio de confirmación de actividad y expresión, de MMP-9 y MMP-2 en muestra de pólipos nasal frente a muestra control_____	82
1.1.- Caracterización de la muestra_____	82
1.2.- Actividad y expresión de MMP-9 en muestra de pólipos nasal frente a muestra control_____	82
1.3.- Actividad y expresión de MMP-2 en muestra de pólipos nasal frente a muestra control_____	83
2.- Estudio de la relación entre los niveles de ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestra de pólipos nasal con la gravedad de la enfermedad, grado de respuesta a tratamiento con corticoides y curso de la RSCcPN_____	84
2.1.- Caracterización de la muestra_____	84
2.2.- Niveles de ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestras de pólipos nasal_____	85
2.3.- Relación entre los niveles de ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 con la gravedad de la enfermedad_____	87
2.4.- Efecto del tratamiento con corticoides orales sobre la RSCcPN_____	90

2.4.1.- Identificación de parámetros clínicos predictores de sensibilidad a terapia corticoidea_____	92
2.4.2.- Estudio de la relación entre los niveles pretratamiento de ARNm de IL-5, MMP-9 y TIMP-1 y eficacia de los corticoides orales en la mejoría clínica de la RSCcPN_____	94
2.4.3.- Estudio de la relación entre los niveles pre-tratamiento de IL-5 y eficacia de los corticoides orales en la mejoría de la RSCcPN. Resultados inmunohistología_____	101
2.4.4.- Relación entre la variación de niveles pre y post-tratamiento de ARNm de IL-5, MMP-9 y TIMP-1 con la mejoría clínica tras terapia con corticoides orales_____	106
2.4.5.- Relación entre niveles pretratamiento de ARNm de IL-5, MMP-9 y TIMP-1 y la evolución de la enfermedad_____	109

V DISCUSIÓN **111**

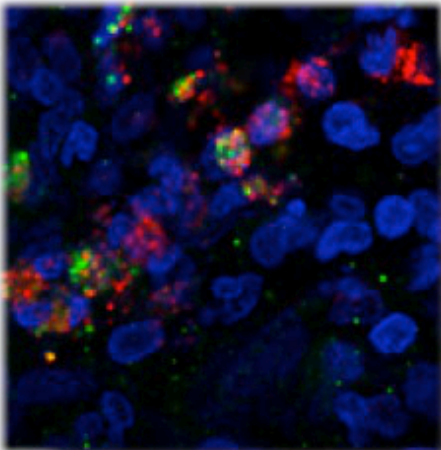
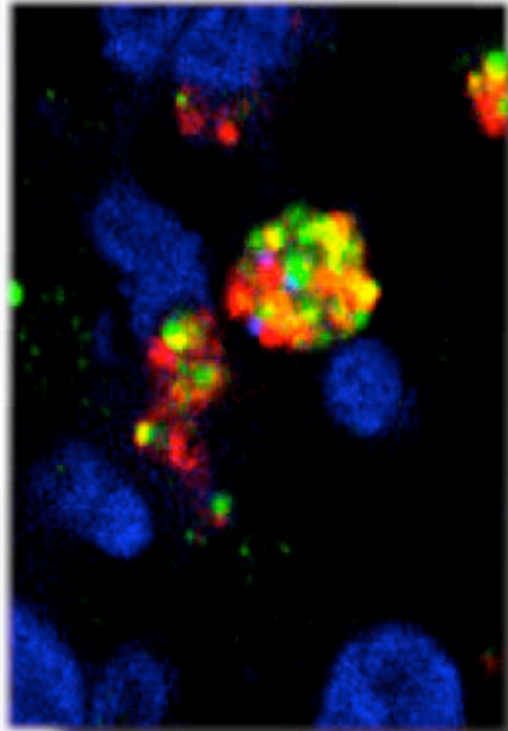
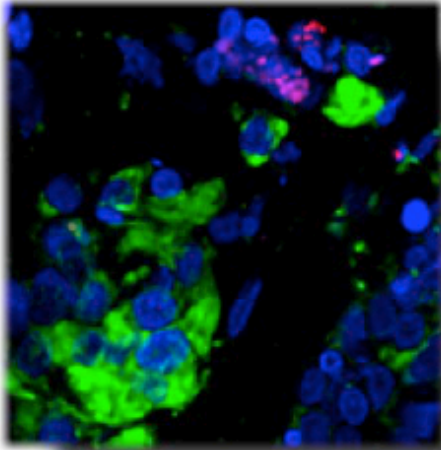
1.- RSCcPN y la terapia corticoidea oral_____	112
1.1.- La mejoría sintomática de los corticoides orales no siempre es relevante_____	113
1.2.- La gravedad de la enfermedad o la extensión de la misma no predicen respuesta a la terapia corticoidea_____	114
2.- RSCcPN y las metaloproteinasas de la matriz MMP-9 y MMP-2_____	115
2.1.- La MMP-9, no la MMP-2, presenta un aumento de expresión y de actividad en la RSCcPN frente a controles_____	116
2.2.- La MMP-9 no se relaciona con la gravedad o extensión de la RSCcPN_____	116
2.3.- Los niveles de MMP-9 pretratamiento en pólipo no predicen respuesta al tratamiento con corticoides orales. Los niveles de MMP-9 en pólipo nasal no se modifican tras este tratamiento_____	118

3.- RSCcPN e IL-5	118
3.1.- La IL-5 no se relaciona con la severidad ni la extensión de la RSCcP	119
3.2.- Niveles de IL-5 pretratamiento como marcador pronóstico de respuesta al tratamiento con corticoides orales	119
3.3.- La IL-5 se inhibe localmente tras tratamiento con corticoides orales. El descenso de los niveles de IL-5 tras tratamiento se correlaciona con la mejoría en la valoración objetiva del olfato	121
3.4.- Los niveles de IL-5 predicen la respuesta a los corticoides orales en la RSCcPN independientemente de la infiltración eosinofílica	122
3.5.- Los pacientes con niveles elevados de IL-5 en pólipos nasales tienen mayor riesgo de requerir tratamiento quirúrgico	123

VI CONCLUSIONES **127**

VII BIBLIOGRAFÍA **131**

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

La rinosinusitis crónica con poliposis nasal (RSCcPN) es una enfermedad de gran prevalencia que, si bien no es grave, está demostrado afecta de forma significativa a la calidad de vida de los que la sufren. De etiología aún desconocida, su cuadro clínico se basa en la congestión nasal crónica, que frecuentemente deriva en una obstrucción nasal evidente, una disminución del sentido del olfato, muchas veces total, afectando de forma importante al sentido del gusto, rinorrea y, en ocasiones, sensación de presión o dolor facial. Actualmente no existe tratamiento curativo, por lo que la finalidad de su tratamiento es el control o la disminución de los síntomas, relegándose la cirugía para aquellos casos con mala respuesta a la medicación. Su naturaleza recidivante, su variabilidad en la respuesta a los diversos tratamientos y su curso crónico hacen de esta enfermedad una patología muchas veces desesperante para el paciente y no pocas para el médico.

1.- Recuerdo histórico

El primer registro de pólipos nasales identificado hasta hoy, se encuentra en escritos egipcios que datan del año 2000 a. C. (Emani y Baroody, 2010). Sin embargo es Hipócrates (460-370 a. C.), conocido como padre de la medicina, quien nombró estas masas nasales como “pólipos”, debido a su parecido al pólipo de mar, manteniendo ese nombre hasta la actualidad (Emani y Baroody, 2010). Los describió como “sacos de flema que causan obstrucción nasal y alteran el sentido del olfato”. Conocedor de su naturaleza recidivante, ideó

diferentes métodos para su extracción. Uno de los habituales consistía en la introducción de una suave esponja en el interior de la fosa nasal, lo suficientemente grande como para llenarla, la cual estaba enganchada a una cadena. El otro extremo de ésta se conectaba a una sonda flexible que, introducida a través del vestíbulo, guiaba la cadena hasta la faringe. Al tirar de la cadena a través de la boca, empujaba la esponja por toda la fosa nasal arrastrando los pólipos y liberándolos de la fosa nasal. Este tratamiento fue ampliamente utilizado hasta finales del siglo XIX. Para pólipos más organizados recomendaba la exéresis del pólipo mediante un lazo. Rodeando con éste el pedículo del pólipo y haciendo pasar el otro extremo hacia la cavidad oral, producía la avulsión efectiva de éste. Otra técnica que aplicó fue la cauterización directa de los pólipos mediante barras de hierro calentadas. Posteriormente al tratamiento quirúrgico, recomendaba la aplicación de tampones empapados de miel y sales de cobre, con el fin de evitar la recidiva tras la excisión (Emani y Baroody, 2010).

Durante el imperio romano (27 aC – 476 d. C.), un ilustre médico romano, Galeno de Pérgamo (130 – 200 d. C.), recomendaba, antes de la extracción manual, la aplicación de aceite, grasa de ganso, sebo de becerro y trementina (Emani y Baroody, 2010).

Otro reconocido médico romano, Aulus Cornelius Celsus (25 a. C. – 50 d. C.), solía tratar los pólipos nasales mediante la aplicación de agentes caústicos. No obstante, para su exéresis también utilizaba una espátula afilada para separar el tejido poliposo del hueso y extraerlo con un instrumento con forma de gancho (Stevenson y Guthrie, 1949).

Durante la época medieval (s. V - XV) y siglos posteriores, el tratamiento de esta enfermedad siguió basándose en la exéresis más o menos exitosa de los

pólipos. En general, las herramientas utilizadas consistían en un asa metálica que una vez ceñida al pedículo de los pólipos, permitía su extracción tirando de ésta.

Durante mucho tiempo prevaleció la idea de que esta enfermedad era la manifestación de una enfermedad sistémica, pero a partir del siglo XVII se empezó a postular un problema local como origen de la patología. Fue Boerhaave (1668-1738), médico, botánico y humanista holandés, quién presumió que las masas nasales provenían de la elongación del revestimiento de las membranas sinusales (Emani y Baroody, 2010).

Más tarde, ya en el siglo XIX, Virchow (1821-1902), médico alemán y uno de los más destacados patólogos del siglo XIX, incluyó esas masas nasales como tumores primarios del tipo mixomas y fibromas (Emani y Baroody, 2010).

De los primeros autores que plantean el posible origen inflamatorio, tras estudios histológicos en cadáveres, fue Zuckerkandl (1849-1910), anatomista húngaro-austriaco (Zuckerkandl, 1892).

En la misma década, otro autor, Woakes (1837-1912), médico inglés, teoriza acerca del posible origen infeccioso del cuadro, localizando la enfermedad en el hueso etmoidal, cuya consecuencia final es una etmoiditis necrosante (Woakes, 1885).

Ya a mediados de siglo XX, Bourgeois (1877-1943) estudió la posible etiología alérgica de los pólipos nasales (Bourgeois, 1925). Dicha asociación permanecería durante décadas, hasta la aparición de trabajos epidemiológicos que reflejaban una prevalencia similar de rinitis alérgica en estos pacientes a la de la población general (Capllin et al., 1971).

Durante esos mismos años se descubrió la asociación en determinados pacientes, afectados de poliposis nasosinusal, con asma e intolerancia al

AAS, cuya administración desencadenaba un cuadro de broncoconstricción. La primera descripción de esta triada fue realizada por Widal y refutada posteriormente por estudios realizados por Samter (Widal et al., 1922; Samter y Beers, 1967).

En pleno siglo XX, otros autores, como Eggston y Wolff, interpretaron esas masas nasales como edema de la mucosa nasal que aparecía debido a cambios en la vascularización local por ataques repetidos de sinusitis o flebitis, dando lugar a congestión y edema (Eggston y Wolff, 1947), vislumbrando, junto con otros autores, un posible origen infeccioso del cuadro (Wright, 1914).

Los avances en inmunobiología e inmunohistoquímica en la década de los 40 llevaron a la descripción del abundante infiltrado de eosinófilos y linfocitos en los pólipos nasales (Emani y Baroody, 2010). La base inflamatoria de la enfermedad estaba bien establecido. Sin embargo el origen de ésta, aún hoy está por aclarar.

Respecto al tratamiento farmacológico de los pólipos nasales, no aparecieron novedades relevantes hasta el siglo XX, con la sospecha de un posible origen alérgico y con el desarrollo de los antihistamínicos en la década de los 30. Estos fueron utilizados no sólo como tratamiento primario sino también como refuerzo tras tratamiento quirúrgico. Sin embargo, la escasa eficacia de los antihistamínicos y un mayor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad, unidos a la ausencia de evidencias que avalasen la alergia como causa de la poliposis, fueron paulatinamente relegando este tratamiento.

En la misma década, se sintetizan los primeros fármacos corticoideos. Pero es a partir de 1970 cuando se desarrollan formas farmacéuticas eficaces para su administración tópica y sistémica, proporcionando un arsenal terapéutico más efectivo (Lildholdt et al., 1997). La mejoría clínica tras su administración

confirma la naturaleza inflamatoria de los pólipos nasales. Sin embargo, estos medicamentos no están exentos de complicaciones derivadas de su uso a largo plazo. Algunos autores promulgan su administración local, infiltrando en los mismos pólipos. La aparición de varios casos de ceguera relega este tipo de administración (Mabry, 1981). No obstante sí se hace popular su potente efecto, administrado de forma oral, aunque son relativamente recientes los primeros estudios en los que de forma controlada y enfrentados a placebo demuestran su eficacia para disminuir el volumen de los pólipos nasales y facilitar la intervención quirúrgica (Van Camp y Clement, 1994).

Respecto al tratamiento quirúrgico, debido a la naturaleza recidivante de esta patología, surgieron intervenciones quirúrgicas agresivas, como la etmoidectomía externa, antrostomía radical o Caldwell-Luc. Estos procedimientos permitían el acceso al interior de los senos desde incisiones faciales o desde la cavidad oral, lo que implicaba postoperatorios molestos y en ocasiones cicatrices en el rostro (Kennedy, 1985).

No es hasta 1901 cuando surge la primera descripción de la aplicación de la endoscopia en la fosa nasal. Fue Hirshmann quien, modificando un cistoscopio, observó el seno maxilar y el meato medio. A partir de 1960, a raíz de los trabajos de Messerklinger, gran estudioso y conocedor de la anatomía y fisiología de la mucosa nasosinusal e interesado en los procedimientos quirúrgicos mínimamente invasivos, la endoscopia gana popularidad. Gracias a los trabajos de este autor, se conocieron los patrones de aclaramiento del moco, mediante el transporte mucociliar, y cómo la alteración de este podía desencadenar la patología sinusal. Fue entonces, a finales de la década de los sesenta, cuando se desarrolló la cirugía endoscópica nasosinusal funcional, en la que se basa el tratamiento quirúrgico actual de la patología inflamatoria

crónica nasosinusal (Stammberger et al., 1987; Emani y Baroody, 2010). Los principios de dicha cirugía establecen el cuidado máximo por la mucosa sana, limitando la intervención a aquellas áreas enfermas y conservando la anatomía nasosinusal para no afectar de forma importante los patrones de transporte mucociliar.

2.- **Anatomía**

La región anatómica constituida por las fosas y senos paranasales es el resultado de la articulación de numerosos huesos que conforman unida una compleja estructura desde el punto de vista descriptivo (Testut, 1973).

El hueso etmoidal, hueso impar alrededor del cual se colocan el resto de las estructuras óseas, se articula cranealmente con el hueso frontal y forma parte mediante su cara superior, la lámina cribosa, del soporte de la fosa craneal anterior. Inferiormente se proyecta la lámina perpendicular, una placa ósea fina que formará parte del tabique nasal. A ambos lados de dicha lámina se encuentran las masas laterales del hueso etmoidal que contienen en su interior las celdas etmoidales las cuáles se dividen en celdas etmoidales anteriores y posteriores por la lámina basal del cornete medio. El límite externo de los complejos de celdillas etmoidales, denominado lámina papiirácea, constituye el límite medial de la pared orbitaria. En la cara medial de las masas laterales etmoidales aparecen los relieves que corresponden a la lámina del cornete medio, superior y el cornete supremo o de Santorini. Este último no es constante. Cada uno de estos cornetes limita junto con la cara medial de las masas laterales del etmoides un espacio denominado meato.

La bulla etmoidal representa la más constante de las células etmoidales

anteriores. De estructura semiesférica, se inserta lateralmente en la lámina papirácea. La apófisis unciforme, estructura ósea que se articula inferiormente en el proceso etmoidal del cornete inferior, lámina perpendicular del hueso palatino y anterosuperiormente y de forma variable en la base del cráneo, lámina papirácea o hueso lacrimal. Entre la apófisis unciforme, anteriormente y la cara anterior de la bulla etmoidal, posteriormente, se limita el hiato semilunar inferior, puerta de entrada del infundíbulo etmoidal. Este último, formado por el volumen delimitado por la cara anterior de la bulla etmoidal, apófisis unciforme y lámina papirácea, es el lugar donde desembocan el receso frontal y maxilar.

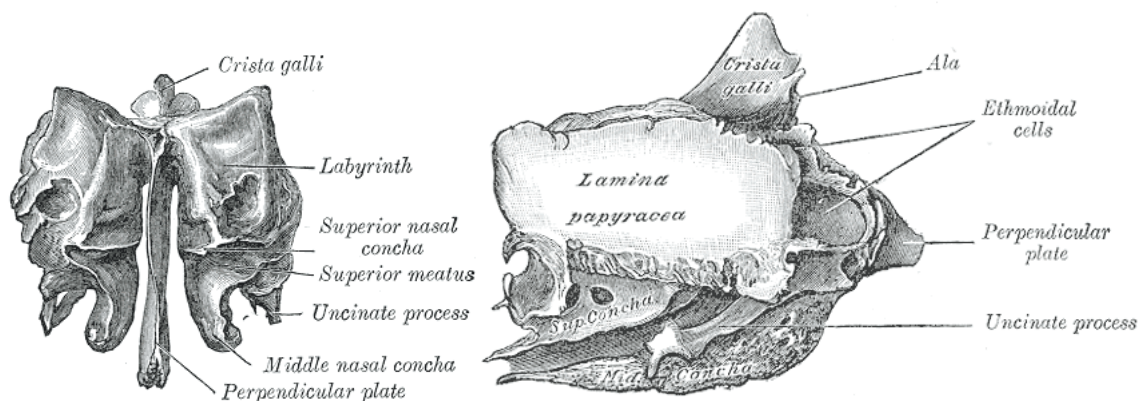


Figura 1. Visión anterior y lateral del hueso etmoidal. Tomado de Grey's Anatomy Descriptive and Surgical (Grey, 1858)

La invasión del hueso frontal por parte de las celdas etmoidales conforman el seno frontal, cuya pared posterior delimita la fosa craneal anterior. La pared inferior participa en la pared orbitaria superior.

La porción nasal del hueso frontal se articula con los huesos propios nasales, la apófisis ascendente del maxilar y el hueso lacrimal.

El seno maxilar clásicamente se describe como un espacio con forma de pirámide, donde la base estaría en la pared medial y su vértice en la apófisis

zigomática del hueso maxilar. La pared inferior, la apófisis palatina del maxilar y apófisis alveolar. La pared anterior, la cara anterior del hueso maxilar y la pared superior, el suelo de la órbita. Finalmente la pared posterior correspondería a la pared infratemporal del hueso maxilar. La desembocadura del infundíbulo maxilar al etmoidal queda cubierto parcialmente por la apófisis unciforme, el hueso lacrimal y la apófisis ascendente del hueso palatino.

La unión de las apófisis palatinas de los huesos maxilares forman gran parte del suelo de la fosa nasal. En la zona de unión existe un relieve, cresta nasal, donde se articula el vómer posteriormente y el cartilago septal anteriormente. En la zona posterior se articula con la apófisis horizontal del hueso palatino.

El hueso esfenoidal constituye el límite posterior del complejo nasosinusal articulándose con el etmoides, hueso palatino, vómer, maxilar y frontal. En el centro del hueso esfenoidal se encuentra el seno esfenoidal. Este último desemboca al receso esfeno-etmoidal delimitado por el septo óseo medialmente, cornete superior lateralmente y techo nasal superiormente. El centro de la cara anterior del cuerpo del esfenoides se articula con el septo óseo formado por la lámina perpendicular del etmoides y vómer (Massegur et al., 2005).

La vascularización de la fosa nasal y de los senos paranasales corre a cargo de ramas procedentes de la arteria carótida externa, así como de la carótida interna, siendo la contribución de esta última cuantitativamente menos importante. Las ramas arteriales de la carótida externa, sobre todo la arteria maxilar interna con su rama terminal esfenopalatina y la facial contribuyen mayoritariamente al aporte sanguíneo al complejo nasosinusal. La arteria carótida interna contribuye mediante las arterias etmoidales anterior y posterior, ramas de la arteria oftálmica.

El drenaje venoso tanto de las fosas nasales y senos paranasales corre a cargo de un complejo sistema venoso dispuesto en tres planos superpuestos. El sistema superficial, profundo intraperióstico y profundo intróseo. Esta región anatómica dispone de inervación sensitiva, que discurre a través del V par craneal, así como de inervación neurovegetativa, simpática y parasimpática.

3.- Rinosinusitis crónica. Concepto y definición

Han sido muchos los intentos de definir y clasificar esta enfermedad, surgiendo en la última década diversas guías y documentos de consenso con el fin de protocolizar tanto el diagnóstico como el tratamiento. Según el consenso europeo sobre rinosinusitis y pólipos nasales de 2012 (Fokkens et al., 2012), la definición de rinosinusitis crónica consiste en un cuadro que cursa con inflamación de la fosas nasales y de los senos paranasales, caracterizada por la presencia durante más de doce semanas de dos o más síntomas, uno de los cuales debe ser o bien bloqueo/obstrucción/congestión nasal o bien secreción nasal (rinorrea anterior/posterior). Otro de los síntomas puede ser dolor/sensación de presión facial o pérdida total o parcial del sentido del olfato.

Además, en la exploración clínica ha de objetivarse pólipos inflamatorios y/o secreción mucopurulenta principalmente en el meato medio y/o edema del meato medio (figura 2).

En los casos en los que se realice estudio de imagen, tomografía computerizada (TC), deben identificarse cambios en la mucosa del complejo osteomeatal y/o de los senos paranasales (figura 3).

Figura 2. Visión endoscópica de fosa nasal derecha. A Paciente sin patología nasosinusal. B Paciente afectado de RSCcPN. S: Septum, CM: Cornete medio, CI: Cornete inferior, P: Pólipos inflamatorios.

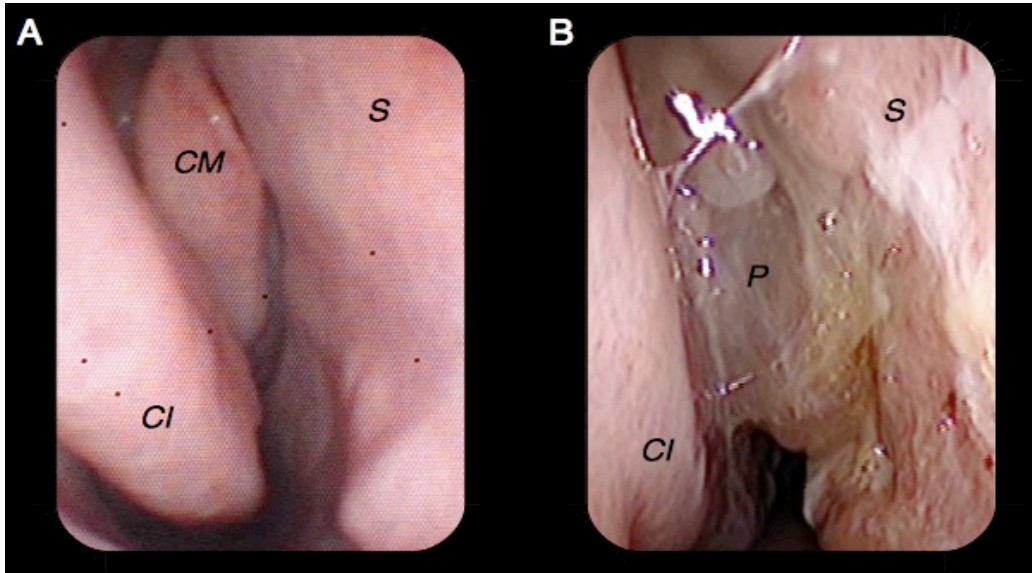
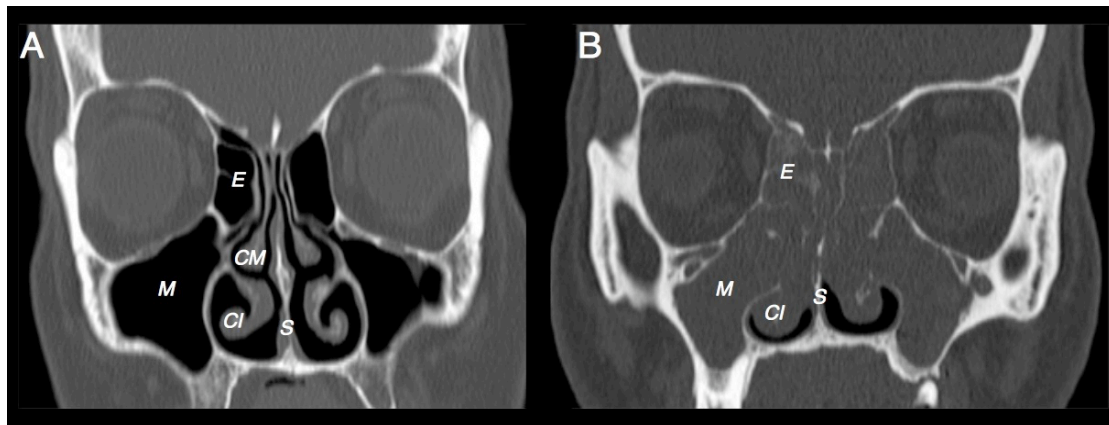


Figura 3. TC de senos paranasales. Corte coronal. A Paciente sin patología nasosinusal. B Paciente afectado de RSCcPN. M: Seno maxilar. E: Seno etmoidal, S: Septum, CM: Cornete medio, CI: Cornete inferior.



Existen básicamente dos formas de rinosinusitis crónica, atendiendo a que desarrollen o no pólipos en el interior de la fosa nasal y senos paranasales, distinguiéndose en la práctica clínica la rinosinusitis crónica sin polipos nasales (RSCsPN) y la rinosinusitis crónica con pólipos nasales (RSCcPN).

Siguiendo los consejos del consenso europeo (Fokkens et al., 2012), la gravedad del cuadro se determina mediante una escala visual analógica (EVA) en la que, sobre una línea de 10 cm tomando el extremo derecho como ninguna incomodidad y el extremo contrario como incomodidad máxima, el paciente marca según la molestia que la enfermedad le provoca. El resultado se expresa en centímetros, resultando la medición más leve 0 cm y más severa 10 cm.

La utilización de la EVA ha sido validada en la evaluación de la gravedad de la RSC, relacionando valores por encima de 5 con disminución de calidad de vida (Lim et al., 2007).

La validación de la medición subjetiva de la obstrucción nasal mediante una EVA específica para este síntoma, se ha llevado a cabo mediante su comparación con métodos objetivos de evaluación de la oclusión nasal. Este síntoma abarca no sólo una verdadera obstrucción al flujo aéreo por la fosa nasal, sino también una sensación de plenitud en la parte media de la cara (Fokkens et al., 2007). La valoración de gravedad de la obstrucción mediante EVA es un criterio bien validado y aceptado (Fairley et al., 1993; Fokkens et al., 2007).

Respecto a la rinorrea, las técnicas para su medición objetiva no son tan eficaces como en el caso de la obstrucción nasal. Existen diferentes técnicas, como el registro diario del número de veces que el paciente se suena, la recogida de los pañuelos desechables utilizados una sola vez, su pesado diario o el uso de tiras higroscópicas. Sin embargo no existen evidencias, ni a favor ni en contra, de una correlación razonable entre las mediciones objetivas y las subjetivas del paciente (Alobid et al., 2011).

La alteración del sentido del olfato en la RSC, hoy por hoy se asocia, no sólo a

la obstrucción mecánica hasta el nicho olfatorio, sino también a alteraciones inflamatorias de la mucosa olfatoria propias de la enfermedad o a tratamientos anteriores como intervenciones quirúrgicas previas (Fokkens et al., 2012). Existen múltiples métodos de evaluación objetiva del olfato, comprobándose una buena correlación entre la sensación subjetiva de este y los resultados de las pruebas objetivas, tanto en sujetos normales como en pacientes con RSC (Vento et al., 2001; Cardesín et al., 2006).

Tanto el dolor como la presión facial son síntomas frecuentemente evaluados en la RSC, aunque la importancia de este como síntoma fundamental de la RSC se ha puesto en duda (Jones y Cooney, 2003). No se han encontrado hasta la fecha evidencias de una buena correlación entre el dolor o sensación de presión subjetiva con las pruebas objetivas, como son las pruebas de imagen. El carácter difuso e intermitente que suele caracterizar este síntoma en la RSC puede debilitar esta relación (Fokkens et al., 2012).

4.- Epidemiología y factores relacionados

La RSCcPN es una enfermedad que requiere de una exploración endoscópica nasal para su diagnóstico. Son pocos los casos que pueden diagnosticarse mediante una simple rinoscopia anterior. De ese modo, muchos pacientes, bien porque sus síntomas pueden confundirse con una rinitis alérgica o idiopática y no son bien encauzados desde atención primaria, bien porque los síntomas son leves y menospreciados, no están diagnosticados. De hecho se estima que un tercio de los pacientes con RSCcPN no solicitan valoración médica para sus síntomas nasosinusales (Klossek et al., 2005). Son varios los estudios demográficos llevados a cabo para evaluar la frecuencia de esta enfermedad,

si bien sus resultados no son del todo homogéneos. La variedad se debe, al menos en parte, al método diagnóstico empleado, básicamente cuestionarios frente a exploración endoscópica. Un estudio prospectivo danés estimó la incidencia de esta enfermedad en 0,86 y 0,39 pacientes por 1000 habitantes/año para hombres y mujeres respectivamente. Por otro lado las cifras de prevalencia varían entre 0,5 y 4,3% (Min et al., 1996; Hedman et al., 1999; Johansson et al., 2003; Klossek et al., 2005). Un reciente trabajo llevado a cabo en Europa, basándose en los criterios establecidos en la guía de consenso europea, obtuvieron como resultado una prevalencia de RSC de 10,9%. El fenotipo con pólipos nasales se fijó en el 4% de la población (Hastan, 2011). Variaciones en la frecuencia se han descrito de acuerdo a elementos tales como edad, sexo, factores hereditarios y variaciones étnicas.

4.1.- Edad, sexo y raza

La media de edad de inicio está alrededor de los 42 años, siendo muy rara por debajo de los 20 años (Drake-Lee et al., 1984; Larsen y Tos, 1994; Setippane, 1996). La frecuencia de la poliposis nasal aumenta con la edad (Rugina et al., 2002; Klossek et al., 2005). En el estudio danés se alcanzó el pico de incidencia máximo, 1,68 y 0,82 por 1000 habitantes/año en hombre y mujer respectivamente, en el grupo de edad de 50-59 años (Larsen y Tos, 2002).

Respecto a la distribución por sexos, son más los trabajos científicos que apuntan a una mayor frecuencia en hombres que en mujeres (Hosemann et al., 1994; Hedman et al., 1999). El estudio de Larsen demuestra una mayor prevalencia entre hombres que en mujeres, casi tres veces más en el intervalo de edad entre 40-50 años y hasta seis veces más entre los 80 y 89 años

(Larsen y Tos, 2002).

Estudios multirraciales demuestran también diferencias, sobre todo respecto a la histología y fisiopatología de la poliposis nasal. En caucásicos, la infiltración eosinofílica de la mucosa nasosinusal enferma es un factor muy frecuente mientras que, en población asiática, suele ser más común la infiltración neutrofílica (Pearlman et al., 2010).

4.2.- Componente hereditario

Se han detectado antecedentes de poliposis nasal familiar en el 14% de los pacientes con RSCcPN (Greisner y Setippane, 1995). Otros estudios, sin embargo, los comprueban hasta en el 52% (Rugina et al., 2002). Sin embargo todavía no se ha identificado un claro patrón hereditario, suponiendo hoy en día la interacción del ambiente con la carga genética como desencadenante del cuadro (Pearlman et al., 2010). Aunque existen trabajos donde se describe el desarrollo de la enfermedad al mismo tiempo en gemelos idénticos, aún sin vivir juntos (Drake-Lee, 1992), otros similares en gemelos demuestran que no siempre la enfermedad se desarrolla, por lo que se especula con la influencia de factores ambientales para el desarrollo de la enfermedad (Lockey et al., 1973).

Muchas variantes genéticas se han relacionado con la RSCcPN. Sin embargo sólo algunas han podido ser confirmadas. Tal es el caso de las que afectan a los genes IL1-alfa, TNF y aciloxiacil hidrolasa (Karjalainen et al., 2003; Bernstein et al., 2009; Mfuna Endam et al., 2010; Mfuna-Endam et al., 2011).

El HLA es el nombre genérico de un grupo de genes del complejo mayor de histocompatibilidad, localizado en el cromosoma 6, que codifica las proteínas

que en la superficie celular se encargan de la presentación de antígenos. Portadores de HLA-A74, HLA-DR7-DQA1*0201, HLA-DR7-DQB1*0202 o HLA-DQA1*0201-DQB1*0201 padecen con mayor frecuencia de poliposis nasal (Luxenberger et al., 2000; Molnar-Gabor et al., 2000; Fajardo-Dolci et al., 2006). El mayor conocimiento del código genético humano y el avance tecnológico que permite, cada vez con mayor precisión, la identificación de genes alterados en pacientes afectados de una determinada patología frente a controles, ha permitido encontrar otras muchas mutaciones genéticas. Sin embargo, el significado real de estas, en la etiología o fisiopatología de la RSCcPN, está por determinar.

4.3.- Alergia

Clásicamente se ha asociado la poliposis nasal como un proceso de origen alérgico. Sin embargo, hoy en día no hay evidencias de dicha relación. De hecho, la frecuencia de rinitis alérgica en pacientes con poliposis nasal está entre 1,5 y 1,7%, aproximándose mucho a la incidencia a nivel de la población general (Settipane y Chafee, 1977). No obstante, otros trabajos refieren una alta frecuencia, de hasta el 25%, de poliposis nasal en pacientes afectados por rinitis alérgica, respecto al 3,9% de la población control (Kern, 1993), o de prevalencias elevadas de alergia en pacientes con RSCcPN (English, 1985). Sin embargo, son abundantes los trabajos científicos que no avalan la relación atopia y RSCcPN (Pepys y Duveen, 1951; Settipane, 1996). No obstante sí se ha descrito un aumento de incidencia entre la población afectada de RSCcPN de alergias alimentarias frente a población normal, 70-80% frente a 34-11% (Pang et al., 2000; Collins et al., 2006). Son precisos más estudios para aclarar

la relación entre esta enfermedad y la alergia a alimentos.

4.4.- Asma

No obstante, la poliposis nasal sí presenta una fuerte asociación con el asma bronquial no alérgico. Estudios de imagen detectan una alta prevalencia de patología sinusal en pacientes asmáticos (Schwartz et al., 1987). Así, el 7% de los pacientes asmáticos presentan poliposis nasal pero, en el subgrupo de pacientes asmáticos no atópicos, la incidencia sube hasta el 10-15% (Setippane, 1996). Por otro lado, el 26% de los pacientes con RSCcPN padecen asma, frente al 6% de los controles (Klossek et al., 2005). El 10% de los pacientes con RSCcPN y asma desarrolla ambas enfermedades simultáneamente, mientras que el resto desarrolla primero los pólipos y más tarde el asma (Larsen et al., 1997). Otros trabajos demuestran además que los pacientes con ambas patologías presentan mayor severidad de síntomas nasosinusales. La asociación con asma, particularmente asma persistente, agrava la afectación de la RSCcPN sobre el olfato frente a aquellos sin asma (Alobid et al., 2011) .

Ambas enfermedades, RSCcPN y asma, presentan abundantes similitudes, al menos histopatológicas. El infiltrado inflamatorio rico en eosinófilos, típico de los pólipos nasales, coincide con las muestras obtenidas de mucosa bronquial en pacientes con asma (Jankowski et al., 2002; Sutherland y Martin, 2003). La inflamación existente en la mucosa bronquial en pacientes asmáticos comparte otras muchas similitudes con la inflamación eosinofílica de la mucosa nasal de pacientes con RSCcPN, como la formación local de IgE, aumento de IL5 y eotaxina (Szabo et al., 2000).

Existe un subgrupo de pacientes con poliposis nasal y asma no atópica que presentan intolerancia al ácido acetil-salicílico (AAS), u otros antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), provocándoles una crisis asmática a los 30-90 minutos de su ingestión (Samter y Beers, 1968). La presencia de poliposis nasal, asma bronquial e intolerancia al AAS, se conoce como Triada de Samter, Triada ASA y más recientemente enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina (EREA). Estudios epidemiológicos demuestran dicha asociación, encontrándose polipos nasales en el 36-96% de los pacientes con intolerancia al AAS (Fokkens et al., 2012). Por otro lado el 36% de los pacientes con poliposis nasal tiene algún grado de intolerancia al AAS (Settipane, 1996). No obstante el desarrollo de la triada va adquiriéndose con el tiempo. Así, suele preceder los síntomas de la rinosinusitis crónica unos 5-10 años antes de la aparición de los cuadros de asma inducidos por la toma de AAS (Probst et al., 1992). Estos pacientes presentan unas características fisiopatológicas propias, la más importante, una alteración en el metabolismo del ácido araquidónico, con una reducción importante en la producción fisiológica de prostaglandina E2 (PGE2) y un aumento, al menos relativo de prostaglandina D2 (PGD2). Por otro lado se objetiva el aumento de actividad de la enzima 15 prostaglandin dehidrogenasa (15-PGDH) que inactiva la escasa PGE2 producida. La PGE2 tiene un efecto inhibitorio de la enzima 5 lipo-oxigenasa (5-LOX) que es responsable de la producción de cisteinil leucotrienos (CisLTs). A todo esto se suma la disminución en la síntesis de lipoxinas, antagonistas de los CisLTs. Estos últimos tienen la capacidad de desencadenar crisis de broncoconstricción e inflamación de la mucosa respiratoria provocando crisis de asma y rinitis. La administración ocasional de AINEs favorece la actividad metabólica de la 5-LOX, aumentando puntualmente aún más la concentración de Cis-LTs

(Narayanankutty et al., 2013). La poliposis nasal de la EREA constituye un cuadro diferenciado de la poliposis nasal general, siendo más graves sus síntomas, respondiendo peor a la terapia farmacológica e interviniéndose mayor número de veces que la poliposis nasal sin intolerancia a AAS ni asma, siendo más frecuentes sus recidivas (Kim y Kountakis, 2007). Además, se ha comprobado cómo los hijos de los pacientes con RSCcPN, asma e intolerancia al AAS padecen pólipos nasales con más frecuencia que los hijos de controles (May et al., 2000). El factor de histocompatibilidad HLA A1/B8 se presenta con mayor frecuencia entre los pacientes con asma e intolerancia al AAS (Moloney y Oliver, 1980).

4.5.- Enfermedades sistémicas

Existe un amplio abanico de enfermedades sistémicas entre cuyas manifestaciones se encuentra la existencia de pólipos nasales. Tal es el caso de la fibrosis quística (FQ), enfermedad autosómica recesiva caracterizada por la mutación en el gen que codifica una proteína reguladora de la conductancia transmembrana de las glándulas exocrinas (Pearlman et al., 2010) provocando problemas graves, principalmente, respiratorios y digestivos. Así, el 40% de los pacientes con FQ padecen RSCcPN (Hadfield et al., 2000). Por esta razón ha de descartarse dicha enfermedad en aquellos casos de RSCcPN por debajo de los 16 años (Pearlman et al., 2010).

La disquinesia ciliar primaria es un cuadro hereditario, autosómico recesivo, caracterizado por bronquiectasias, disposición de los órganos de forma contralateral a la habitual anatómica (*situs inversus*) y rinosinusitis crónica. También es conocido como síndrome de Kartagener (Pearlman et al., 2010). El

defecto de los brazos de dineína de los cilios provoca la inmovilidad de los mismos, favoreciendo la acumulación de secreciones a nivel respiratorio.

Otras patologías que cursan con pólipos nasales son el síndrome de Young, que también se caracteriza por patología respiratoria, poliposis nasal y azoospermia (Handelsman et al., 1984), o el síndrome de Churg-Strauss, que cursa con asma bronquial, rinosinusitis crónica, vasculitis eosinofílica y granulomas (Olsen et al., 1980).

5.- Mecanismos fisiopatológicos de la RSCcPN

5.1.- RSCcPN e inflamación

Hoy en día la poliposis nasal se incluye dentro del concepto de rinosinusitis crónica, de la cual aún hoy se dispone de información limitada en cuanto a su etiología y fisiopatología. La mayoría de investigadores entienden a la RSC como una enfermedad heterogénea siendo en la actualidad, del todo insuficiente, catalogarla según se objetiven pólipos o no en el interior de las fosas nasales. Así, a parte de los fenotipos de RSC conocidos RSCcPN y RSCsPN, existen múltiples evidencias que sugieren diferentes endotipos dentro de cada una de ellas, caracterizadas por mecanismos celulares y moleculares propios. Este hecho puede explicar diferentes respuestas frente al mismo tratamiento en pacientes pertenecientes al mismo fenotipo de RSC (Akdis et al., 2013). Recientes evidencias hacen pensar que esta enfermedad inflamatoria supone la manifestación de una alteración crónica inmunológica frente a un agente etiopatogénico todavía desconocido, provocando una respuesta inflamatoria persistente en la mucosa nasosinusal (Kern et al., 2010).

En este sentido, muchos autores consideran esta enfermedad como el resultado de una interacción anormal entre huésped-ambiente (Kern et al., 2010). Así, como ocurre en el resto de enfermedades inflamatorias crónicas de mucosas, la tendencia general es al entendimiento de estas patologías como el resultado final de las interacciones entre huésped, flora saprofita, patógenos potenciales y agentes estresantes exógenos (Littman y Pamer, 2011). Por todo esto, su origen se cree multifactorial y, hoy por hoy, no se reconoce un mecanismo concreto que explique los procesos intermedios entre el daño inicial y el cambio tisular (DeMarcantonio y Han, 2011). Se ha sugerido que daños en el epitelio respiratorio y/o alteración de su función como barrera, facilitarían la colonización por *Staphylococcus aureus* (SA). Así, la detección intracelular de SA en células epiteliales de pacientes con RSCcPN pero no en RSCsPN o controles indicaría una posible alteración en esta función de barrera o bien un defecto inmunológico local (Corriveau et al., 2009; Sachse et al., 2010). La liberación de toxinas por parte de este patógeno, con capacidad superantigénica, activaría múltiples líneas celulares como las propias células epiteliales, estimulando la liberación de múltiples citoquinas, entre las que se encuentra IL-32 y la linfopoyetina tímica estromal (TSLP). Muchas de estas citoquinas tendrían un papel quimiatractivo de linfocitos, eosinófilos, fibroblastos, macrófagos y mastocitos. Y en especial estas dos, la capacidad para estimular la diferenciación de linfocitos T hacia una respuesta inflamatoria tipo Th2, favoreciendo la producción de IgE policlonal local, atrayendo y aumentando la supervivencia de eosinófilos, activando la degranulación de mastocitos y alterando el metabolismo eicosanoide. Por otro lado, la activación de las células epiteliales suele desencadenar la apoptosis posterior de las mismas, comprometiendo la función de barrera del epitelio e incrementando la

susceptibilidad a la colonización bacteriana, formación de biofilm y persistencia de la cascada inflamatoria (Basinski et al., 2009). Todo este mecanismo promovería la generación de los pólipos nasales (figura 4) (Fokkens et al., 2012; Akdis et al., 2013).

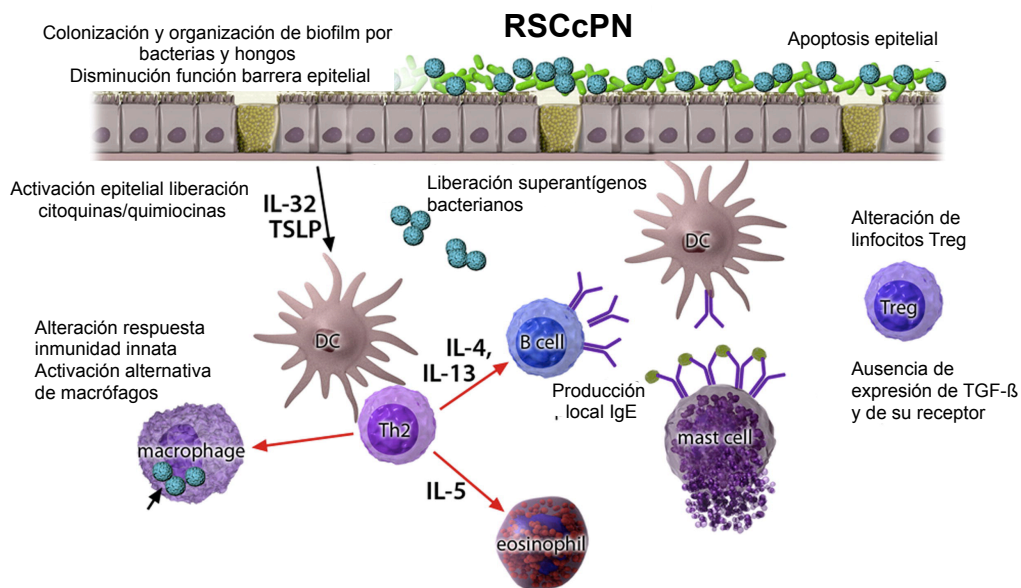


Figura 4. Mecanismos fisiopatológicos de RSCcPN. La liberación de toxinas superantigénicas de microorganismos colonizadores del epitelio respiratorio activaría múltiples líneas celulares con liberación de citoquinas y quimiocinas estimulando la activación de eosinófilos y de producción de IgE local. La apoptosis posterior a la activación de las células epiteliales comprometerían la función de barrera epitelial. DC: Célula dendrítica. B cell: Linfocito B. Treg: Linfocito T regulador. Mast cell: Mastocito. Eosinophil: Eosinófilo. *Modificado de consenso PRACTALL (Akdis et al., 2013)*

5.1.1.- Desencadenantes inflamatorios

5.1.1.1.- Superantígeno bacteriano

Ese agente extraño, desencadenante de la respuesta alterada, está aún por aclarar. Muchos autores consideran a las bacterias colonizadoras de la mucosa nasal como las causantes de dicha respuesta patológica. El SA es el patógeno

bacteriano más comúnmente identificado en los pacientes con RSC (Larson y Han, 2011). Las evidencias acumuladas respecto a sus efectos sobre la mucosa nasal de los pacientes enfermos permitieron establecer la hipótesis del superantígeno estafilocócico. Ésta propone que la liberación de una toxina liberada por la colonia colonizadora de SA en la mucosa nasal, que actúa a modo de superantígeno, estimula una reacción inmunológica que desemboca en la infiltración de ésta por eosinófilos y fomenta el desarrollo de los pólipos nasales (Bachert et al., 2008). En este sentido, se ha encontrado una alta correlación entre la presencia de SA en la mucosa nasal y la gravedad de la inflamación eosinofílica (Bachert et al., 2010) y la existencia de pólipos nasales (Van Zele et al., 2004). La presencia de IgE específica frente a la toxina superantigénica de SA (TS SA), así como la proliferación de linfocitos T activados frente a este antígeno, son hallazgos demostrables en al menos un 50% de los pacientes caucásicos con RSCcPN. Este porcentaje disminuye en la raza asiática (Fokkens et al., 2012). Estudios *in vitro* han certificado la respuesta inmunológica frente a la TS SA, comprobándose una liberación de citoquinas proinflamatorias, con un aumento de la liberación de IL-4 e IL-5 y una disminución de los niveles del factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta) e IL-10 (Patou et al., 2008; Pérez Novo et al., 2010; Fokkens et al., 2012). También se altera el metabolismo eicosanoide, favoreciendo un ambiente inflamatorio (Okano et al., 2009), y aumentando la migración y supervivencia de granulocitos (Huvenne et al., 2010) y la degranulación de mastocitos (Patou et al., 2008). Algunos autores han demostrado la producción de citoquinas y MMPs en cultivos celulares procedentes de pólipos nasales, vía superantigénica (Wang et al., 2010). Sin embargo, un 50% de los pacientes occidentales con RSCcPN no muestran evidencias de respuesta a antígenos

estafilocócicos, a pesar de presentar un cuadro fenotípico similar, por lo que los superantígenos estafilocócicos se consideran más como amplificadores o moduladores de la reacción inflamatoria crónica nasosinusal, que como el agente etiopatogénico de la enfermedad (Van Crombruggen et al., 2011). Este hecho podría explicarse por la capacidad antigénica de otros gérmenes colonizadores diferentes al SA, o bien, por un factor del propio huésped como la alteración de la inmunidad innata. Así, diversos estudios sugieren una disminución en la expresión de enzimas epiteliales antimicrobianas como la lisozima, lactoferrina o psoriasina en pacientes con RSC. Estas moléculas, algunas inducibles y otras constitutivas, muchas de ellas producidas por las células epiteliales, son responsables de la defensa frente a microorganismos colonizadores de las vías aéreas. La alteración de este sistema puede facilitar la interacción y generación de la respuesta inflamatoria típica de la RSC (Kern et al., 2010; Akdis et al., 2013) .

5.1.1.2.- **Biofilms**

Otro elemento ampliamente estudiado son los biofilms bacterianos. Esta estructura se compone de comunidades de bacterias organizadas y rodeadas de una matriz extracelular protectora, establecidas sobre superficies como la mucosa nasosinusal. Esta organización les permite sobrevivir y crecer en condiciones subóptimas, protegiéndoles de las defensas del huésped y de los antibióticos (Lewis, 2007; Suh et al., 2010). Se piensa que los biofilms son el origen de las exacerbaciones de la RSC, a través de la liberación de bacterias (Palmer, 2005). La presencia de biofilms en pacientes con RSCcPN varía entre el 30-100% de los pacientes estudiados. Estas diferencias se suponen

derivadas de los diferentes métodos de detección (Zernotti et al., 2010). Dentro de las bacterias identificadas, son SA y *Pseudomonas aeruginosa* las especies que se han asociado con una peor evolución postquirúrgica y, particularmente SA, con un peor pronóstico (Bendouah et al., 2006; Singhal et al., 2006; Psaltis et al., 2008). Por otro lado, se ha postulado que los biofilms positivos para SA promueven una respuesta inmunológica tipo Th2 por una vía diferente a la teoría superantigénica (Foreman et al., 2011). Recientes estudios sugieren que la disrupción del epitelio del huésped permitiría los efectos inflamatorios del biofilm sobre la mucosa nasosinusal (Wood et al., 2011). En este sentido, las uniones epiteliales estrechas (UEE), constituyen la unión más apical entre las células epiteliales nasosinuales, siendo responsables de la permeabilidad de la barrera epitelial, permitiendo el tráfico de sustancias a través de esta. Por otro lado, evitan la entrada de partículas extrañas a capas subepiteliales inmunoactivas (Kast et al., 2012). Estudios en muestras de mucosa sinusal de pacientes con RSCcPN muestran disminución en la expresión de las UEE (Soyka et al., 2012).

5.1.1.3.- Hongos

Otro agente etiopatogénico que ha sido implicado en la RSC son los hongos. Considerado como un posible detonante de una respuesta inmunológica inapropiada, se relacionaron sobre todo con colonización de la mucosa sinusal por *Alternaria* (Ponikau et al., 2005; Sasama et al., 2005). Por otro lado se les reconoce una capacidad proteolítica intrínseca, que podría degradar las uniones estrechas entre células epiteliales comprometiendo la función de barrera de la mucosa nasosinusal (Tieu et al., 2009; Kern et al., 2010). Los

pobres resultados obtenidos en ensayos clínicos con anfotericina han descartado, al menos, un papel fundamental en la generación de esta enfermedad (Ebbens et al., 2006, 2009; Fokkens et al., 2012).

5.1.1.4.- **Alergenos**

La reacción inflamatoria de la rinitis alérgica (RA) comparte muchos puntos con la estudiada en la RSC. La sensibilización a partículas antigénicas genera una respuesta inflamatoria tipo Th2 que incluye un perfil de citoquinas y de células inflamatorias, entre las que se encuentran los eosinófilos (Fokkens et al., 2012). Por otro lado, el cuadro clínico de la RA se solapa al menos en parte con el de la RSC. De hecho, estudios con técnicas de imagen describen frecuentes alteraciones de la mucosa sinusal en pacientes con RA (Naclerio et al., 1997; Baroody et al., 2008), por lo que, estrictamente hablando, la RA en realidad debería definirse como rinosinusitis alérgica, al menos en los casos más graves de RA perenne, cuya respuesta inflamatoria es mucho más intensa que la forma intermitente (Liu et al., 2010). Sin embargo, a pesar de estas similitudes, está comprobado que la presencia de RA no empeora la gravedad de los síntomas ni aumenta la extensión de la enfermedad de la RSC, medida en TC. Tampoco aumenta la proporción de fracaso quirúrgico (Pearlman et al., 2009; Robinson et al., 2006). Por otro lado, las medidas de evitación alérgicas o la inmunoterapia mejoran los síntomas propios de la RA pero no modifican la enfermedad nasosinusal crónica (Pant et al., 2004). A la luz de las evidencias existentes, la RA no forma parte de la etiología de la RSC.

5.1.1.5.- **Virus**

Escasamente estudiados, el papel de los virus en la etiología de la RSC es plausible, especialmente el de aquellos relacionados con infecciones de vías respiratorias altas, debido a su capacidad para provocar la disrupción de la barrera del epitelio respiratorio (Pedersen et al., 1983), pudiendo actuar bien como desencadenantes de episodios agudos en el curso de una RSC, bien como generadores de un daño inicial de la mucosa nasosinusal que predisponga al desarrollo de la RSC (Wood et al., 2011). No obstante, todavía no existen evidencias científicas que apoyen estas hipótesis (Fokkens et al., 2012).

5.1.1.6.- **Toxinas ambientales**

Sustancias ambientales como humo de tabaco, dióxido de nitrógeno, ozono, humo procedente de combustión de motores diésel son capaces de dañar el epitelio respiratorio y potenciar un estado inflamatorio previo. Estos agentes son capaces de inducir estrés oxidativo y nitrosativo mediante la producción de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno causando daño tisular (Pedersen et al., 1983; Fokkens et al., 2012).

El más estudiado es el tabaco, el cual altera la frecuencia de batido ciliar, la secreción de glándulas del epitelio respiratorio y favorece la presencia de biofilms bacterianos (Cohen et al., 2009; Goldstein-Daruech et al., 2011). Por otro lado, las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno producidos por el tabaco estimulan la producción de citoquinas proinflamatorias e inducen apoptosis de las células epiteliales alterando así la función de barrera de la

mucosa respiratoria nasosinusal (Comhair et al., 2001; Goldstein-Daruech et al., 2011; Xiao et al., 2011) . Sin embargo, de los estudios realizados no se han desprendido evidencias que indiquen un papel relevante del tabaco en la etiología de la RSC (Rudmik et al., 2011).

5.1.2.- **Inflamación. Eosinófilos e interleuquina 5**

En el sistema inmunológico humano existen dos perfiles diferentes de respuesta ante un agente patógeno reconocido como extraño. Así, los linfocitos T helper específicos pueden diferenciarse hacia un perfil de respuesta denominado **Th1**, para producir interferon gamma (IFN-gamma), TNF-beta e interleuquina 2 (IL-2), o hacia un perfil **Th2**, que produce interleuquinas 4, 5, 6, 9 y 10. En la respuesta **Th1** se estimula la diferenciación de los precursores a linfocitos T citotóxicos maduros y, parcialmente, también la respuesta humoral. En la respuesta **Th2** se estimula más específicamente la diferenciación de linfocitos B a células plasmáticas y producción de anticuerpos (Romagnani, 1991). El proceso inflamatorio en la RSCcPN, al menos en la raza blanca, se caracteriza por un patrón inflamatorio **Th2**, con predominancia eosinofílica con altos niveles de IL-5 e IgE (Hamilos et al., 1995; Bachert et al., 2001; Fokkens et al., 2012).

Está ampliamente demostrada la importante implicación de los eosinófilos en la fisiopatología de la RSCcPN, considerándose actualmente el daño de estas células a la mucosa sinusal, producido por sus productos de degranulación, como uno de los mecanismos centrales en la fisiopatología de la RSC (Harlin et al., 1988; Kaliner et al., 1997; Fokkens et al., 2012). De hecho, existen evidencias de la correlación del grado de eosinofilia tisular en pacientes con

RSC y de la gravedad objetiva de ésta y su extensión nasosinusal, evaluada mediante TC (Bachert et al., 2001; Bhattacharyya et al., 2001; Szucs et al., 2002; Soler et al., 2010). Los eosinófilos poseen gránulos en su citoplasma, en cuyo interior se ha identificado lisosomas y otras proteínas con capacidad lesiva. Estas proteínas tóxicas ejercen un papel fisiológico de defensa frente a numerosos patógenos, especialmente helmintos. No obstante, está descrito su implicación en el daño y descamación del epitelio de vías respiratorias, edema local e hiperreactividad en asma y en enfermedades alérgicas (Tiñana et al., 2010). Se asume que la liberación de estos productos tóxicos, procedentes de la degranulación de los eosinófilos, producen y colaboran de forma fundamental en el daño tisular y el crecimiento de los pólipos en la RSCcPN (Bachert et al., 2000).

Existen evidencias que ponen de manifiesto la debilidad de la barrera epitelial en la RSC, por lo que estos productos de degranulación no harían más que acentuar dicha alteración (Kern et al., 2010; Richer et al., 2008). Entre las moléculas identificadas en el interior de los gránulos, hay que resaltar una serie de proteínas eosinofílicas específicas, como la proteína básica principal (MBP), la proteína catiónica del eosinófilo (ECP), la neurotoxina derivada del eosinófilo (EDN) y la peroxidasa del eosinófilo (EP).

Numerosas citoquinas colaboran en la activación y degranulación de los eosinófilos para la liberación de estas sustancias tóxicas. Entre ellas, una de las más importantes es la IL-5. Los eosinófilos son una fuente importante de citoquinas proinflamatorias que, junto con otras proteínas liberadas por el propio eosinófilo como la MBP, tienen capacidad para seguir estimulando a estos para mantener la degranulación, estableciendo un mecanismo autocrino de activación eosinofílica (Kita et al., 1995; Tiñana et al., 2010). Por otro lado,

los eosinófilos expresan, en la RSCcPN, la quimioquina (C-C motivo) ligando 23 (CCL23), molécula quimiotáctica que actúa reclutando macrófagos y monocitos cuyos productos de degranulación también colaboran en la inflamación crónica de la mucosa (Poposki et al., 2011). No está claro los mecanismos implicados en la degranulación de los eosinófilos. Se ha sugerido el papel de la IgA como posible detonante (Abu-Ghazaleh et al., 1989; Pleass et al., 2007). Se ha demostrado que la degranulación puede producirse en ausencia de unión a antígeno (Bartemes et al., 2005). Por otro lado se han encontrado niveles altos de IgA en las muestras de pólipos nasales (Zelev et al., 2007). Además, está comprobado cómo, a nivel de vías respiratorias bajas, los eosinófilos promueven fibrosis en las capas subepiteliales colaborando en la remodelación tisular del asma, que tanta semejanza comparte con la existente en la RSC (Laitinen et al., 2000 ; Flood-Page et al., 2003). Sin embargo hay que destacar que no todos los pacientes con RSCcPN presentan infiltración eosinofílica en la mucosa nasosinusal. De hecho, esto sólo es demostrable en el 80% de la población afectada caucásica y menos del 50% de la población enferma asiática (Zhang et al., 2006; Cao et al., 2009). No obstante, aunque los eosinófilos no parecen ser esenciales en la fisiopatología de la RSC, sí que son considerados como marcadores de enfermedad grave, y rebelde a tratamiento, al menos en población caucásica (Matsuwaki et al., 2008), relacionándose aquellos pacientes con mayor concentración de eosinófilos infiltrados en la mucosa sinusal con mayor frecuencia de procedimientos quirúrgicos.

La acumulación de los eosinófilos y su activación en la RSC están básicamente favorecidas por la expresión local de quimioquinas, sobre todo por el epitelio nasosinusal, como la eotaxina 1-3, quimiocina (C-C motivo) ligando 5 (CCL5) y la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) y de moléculas que

favorecen la adhesión y la migración transendotelial. Entre estas últimas se han identificado la IL-5 y el factor estimulador de colonias granulocíticas (GM-CSF), entre otras. Sin embargo, la más importante es la molécula de adhesión vascular celular (VCAM-1), cuyos niveles altos en la mucosa nasosinusal de pacientes con RSCcPN se relacionan con alto riesgo de recurrencia postquirúrgica (Eweiss et al., 2009). También se ha comprobado la baja concentración de TGF-beta1, proteína implicada en múltiples funciones celulares, capaz de inhibir el efecto que GM-CSF tiene en la supervivencia de los eosinófilos e inducir su apoptosis, y la sobreproducción de eotaxina e IL-5 en pólipo nasal (Van Zele et al., 2006). Estas dos últimas colaboran en el aumento de supervivencia de los eosinófilos y la inhibición de su apoptosis (Ferguson, 2000; Van Zele et al., 2006). El cuanto a la IL-5, su aumento en mucosa nasal de pacientes con RSCcPN se ha confirmado no sólo por el aumento de ARN mensajero sino también por el aumento de la concentración de la proteína (Simon et al., 1997; Hamilos et al., 1998). Los eosinófilos responden al tratamiento con corticoides (Schleimer y Bochner, 1994), lo cual podría explicar, al menos en parte, los efectos terapéuticos de éstos en la RSC (Ebbens et al., 2011). De hecho hay abundantes evidencias científicas que demuestran cómo los glucocorticoides inhiben el reclutamiento, supervivencia y activación de los eosinófilos (Fokkens et al., 2012). El tratamiento de pacientes con pólipos infiltrados por abundantes eosinófilos con anticuerpo anti-IL5 da como resultado la apoptosis de los eosinófilos y la disminución de estos en los tejidos *in vitro* (Simon et al., 1997). También se ha comprobado cómo los pacientes con mayor concentración de IL-5 local, obtenidos mediante lavado nasal, responden bien al tratamiento con anticuerpo anti-IL-5 (Gevaert et al., 2006). En este estudio, seleccionando a aquellos pacientes con IL-5 local

elevada, la administración intravenosa del anticuerpo anti-IL-5, reslizumab, una vez al mes, dos meses consecutivos, logró la reducción significativa en el tamaño de los pólipos (valorados mediante endoscopia nasal) en 12 de 20 pacientes. Este hallazgo se confirmó mediante la realización de TC tras tratamiento.

Una de las teorías etiopatogénicas de la RSCcPN es la liberación por parte del SA, colonizador habitual de la mucosa nasal, de una enterotoxina que actúa como superantígeno, que es capaz de activar linfocitos T hacia una respuesta tipo Th2, con producción y liberación local de IL-5 e IgE, colaborando así en la producción y aumento de supervivencia de los eosinófilos (Sánchez-Segura et al., 1998; Bachert et al., 2008). Llamativamente, los pacientes chinos con poliposis nasal, aún presentando un cuadro clínico calcable a los pacientes afectados de raza caucásica, carecen de expresión de IL-5 y eotaxina en los pólipos nasales, existiendo una baja infiltración de éstos por eosinófilos (Zhang et al., 2006; Cao et al., 2009). El anticuerpo frente a TS SA se encuentra en el 80% de los pacientes con asma e intolerancia a AAS y en el 60-80% de los asmáticos (Pérez-Novo et al., 2004).

5.2.- RSCcPN y remodelación tisular

Los hallazgos histopatológicos característicos de la RSCcPN son la presencia de frecuentes lesiones epiteliales, adelgazamiento de la membrana basal, edema y, a veces, fibrosis del estroma con reducido número de vasos y sin prácticamente estructuras nerviosas (Taylor, 1963; Kakoi y Hiraide, 1987). En el estroma edematoso de los pólipos, se encuentran fibroblastos que actúan como sostén y un infiltrado de células inflamatorias localizadas alrededor de

formaciones pseudoquísticas. Entre esas células inflamatorias predominan los eosinófilos activados que aparecen en un 80% de los pólipos nasales (Stoop et al., 1993). La alteración de los componentes habituales del epitelio respiratorio y de sus capas subyacentes y la desestructuración de la matriz extracelular se han demostrado constantes en esta patología (Kostamo et al., 2007). Estos cambios, englobados dentro del concepto de remodelación tisular y que comparte la RSCcPN con el asma (Rehl et al., 2007), carecen todavía hoy de una explicación satisfactoria. Estudios recientes sugieren que el epitelio bronquial y sus capas subyacentes actúan como una unidad funcional, lo que se ha dado por denominar unidad *epitelio-mesenquimal*. Alteraciones estructurales o funcionales de esta unidad podrían considerarse como el desencadenante del proceso inflamatorio (Holgate, 2010; Xiao et al., 2011). Por otro lado, una alteración en la capacidad de cicatrización del epitelio, una barrera mecánica débil, una disminución de la secreción antimicrobiana y un aumento de la permeabilidad iónica a nivel del epitelio han sido demostrados en la RSCcPN (Bernstein et al., 1997; Dejima et al., 2006; Richer et al., 2008; Kern et al., 2010). Todos estos hallazgos que se resumen en una barrera epitelial defectuosa y vulnerable podrían explicar esta remodelación tisular.

Los patrones de remodelación de la matriz extracelular de la lámina propia de los pacientes con RSC se asocian con diferentes subgrupos de la enfermedad. Esta matriz rodea a las células y su alteración modifica su comportamiento en cuanto a su capacidad de migración, diferenciación, supervivencia y proliferación (Al-Muhsen et al., 2011). Los factores que determinan los patrones de remodelación aún hoy no se conocen. Sin embargo se ha sugerido un papel importante de TGF-beta, cuyos niveles están disminuidos en la RSCcPN y aumentados en la RSCsPN (Van Bruaene et al., 2008). Esta citoquina modula

el depósito de colágeno en la matriz extracelular (Halwani et al., 2011), por lo que se ha sugerido que los bajos niveles en la RSCcPN contribuirían a una disminución en la capacidad de reparación de los tejidos, con escasa producción de colágeno y una acumulación secundaria de albúmina y aparición de edema mientras que su exceso participaría en el depósito excesivo de colágeno y fibrosis (Van Bruaene et al., 2009; Li et al., 2010). A la luz de estos hallazgos, se extiende la hipótesis de que la RSC es primariamente una enfermedad remodeladora, más que inflamatoria, debiendo ajustar los tratamientos para evitar esos cambios histológicos (Van Crombruggen et al., 2011).

5.2.1.- Metaloproteinasas de la matriz

Recientemente se ha hallado el papel importante que tiene una familia de enzimas, dependientes de zinc, denominadas metaloproteinasas de la matriz (MMP), que explicarían, al menos en parte, las alteraciones estructurales que causan los pólipos nasales mediante la degradación de los componentes del tejido extracelular y además, actuarían como mediadores inflamatorios (Lechapt-Zalcman y Escudier, 2000; Watelet et al., 2004; Kostamo et al., 2008). La matriz extracelular es una estructura en permanente renovación, lo que conlleva procesos de síntesis y degradación. Este grupo de endopeptidasas, que se segregan en forma de zimógenos inactivos requiriendo la pérdida de un propéptido de 10 kDa a través de proteasas para pasar a su forma activa (Visse y Nagase, 2003), constituyen el sistema proteolítico más importante implicado en la remodelación de la matriz extracelular (Parks y Shapiro, 2001; Gueders et al., 2006). Numerosos estudios han descrito su implicación tanto en

procesos fisiológicos, como el desarrollo embriológico y remodelación tisular, como patológicos, como el asma y el desarrollo de tumores (Kahari y Saarialho-Kere, 1999; Parks y Shapiro, 2001; Gueders et al., 2006; Sorsa et al., 2006; Greenlee et al., 2007). La regulación de este sistema se lleva a cabo principalmente por un conjunto de moléculas llamado inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP) que, al unirse a las MMP, forman dímeros sin actividad (De et al., 2005). La hipótesis es que la alteración de la relación MMP/TIMP podría actuar como desencadenante de los cambios estructurales típicos de la RSCcPN. Dicha teoría se basa en parte por la diferente expresión de estas moléculas en la RSCcPN frente a RSCsPN y controles (Lechapt-Zalcman et al., 2001; Watelet et al., 2004; Li et al., 2010; Rehl et al., 2011). Recientes estudios sugieren que el SA favorecería la formación de los pólipos nasales alterando la relación MMP/TIMP (Wang et al., 2010). La implicación de estas moléculas en la RSCcPN está todavía por aclarar. Si bien existen trabajos que han descrito el aumento de la expresión de la isoforma MMP-9, también conocida como gelatinasa B o colagenasa tipo IV de 92 kiloDalton (kD) (Lechapt-Zalcman et al., 2001; Watelet et al., 2004), otros estudios no observan dicha sobreexpresión de MMP-9 y, sin embargo, sí que aprecian niveles elevados de otras MMPs, como MMP-2 (Bhandari et al., 2004), también conocida como gelatinasa A o colagenasa tipo IV de 72 kD, y MMP-7 (Lu et al., 2005). Tanto la MMP-9 como la MMP-2 son capaces de degradar el colágeno desnaturalizado (gelatina) así como el colágeno tipo IV, V, XI y la elastina (Collier et al., 1988; Wilhelm et al., 1989; Okada et al., 1992). La MMP-2 es producida de forma constitutiva por numerosos tipos celulares, entre ellos los fibroblastos, mientras que la MMP-9 es sobre todo producida por células inflamatorias como macrófagos, neutrófilos y células epiteliales respiratorias

(Hibbs et al., 1985; Welgus et al., 1990; Buisson et al., 1996). La producción local de MMP-9 parece ser responsable del aumento de permeabilidad vascular, favoreciendo el edema tisular y la transmigración celular, así como de la remodelación de la matriz extracelular en el epitelio respiratorio de pacientes con asma (Ohno et al., 1997; Hoshino et al., 1998; Lemjabbar et al., 1999). Estudios donde han comprobado el aumento de expresión de MMP-9 en RSCcPN, han confirmado su distribución mediante inmunohistopatología, localizando esta endopeptidasa no sólo en células inflamatorias sino también en el epitelio, glándulas submucosas, vasos sanguíneos y matriz extracelular (Chen et al., 2007). Sin embargo, aún presente en todas estas estructuras, un trabajo reciente centrado en la localización de metaloproteinasas en muestras de pólipo nasal frente a muestras control, confirmó su sobreexpresión en la matriz extracelular y su disminución en epitelio y glándulas (Borja et al., 2013). También se han demostrado células inflamatorias, incluyendo eosinófilos, marcadas para MMP-9 localizadas en el interior de los pseudoquistes presentes en el interior de los pólipos nasales, sugiriendo un efecto degradativo directo (Watelet et al., 2004; Borja et al., 2013). No obstante, sólo las células que se encuentran en el borde de una herida muestran importante expresión de MMP-9, por lo que la expresión de ésta a nivel de los pólipos nasales puede formar parte de un proceso reparativo más que de un efecto dañino. La MMP-9 también colabora en el control de la migración transepitelial de células inflamatorias, incluido eosinófilos (Corry et al., 2004), que son las células inflamatorias más importantes en los estudios histopatológicos de la RSCcPN. Existen estudios que han demostrado cómo los corticoides, el tratamiento más extendido y aceptado para el tratamiento de la RSCcPN, disminuyen *in vitro* la expresión de MMP-9 (Namba et al., 2004) y modifican el equilibrio entre estas

endopeptidasas y sus inhibidores (cociente MMP/TIMP), lo que se relaciona con la alteración y desestructuración de la matriz extracelular y de la membrana basal. Niveles elevados de MMP-9 en muestras de mucosa nasal tras cirugía por RSC se han relacionado con una peor cicatrización (Watelet et al., 2005). Sin embargo, otro estudio asoció valores elevados del cociente MMP-9/TIMP-1 con una menor infiltración eosinofílica en la mucosa nasosinusal y un menor riesgo de reintervención quirúrgica en pacientes con RSCcPN sugiriendo que, después de todo, la MMP-9 podría tener una función antiinflamatoria (Kostamo et al., 2007). La confusión respecto a la sobreexpresión y el papel de las MMP en la RSCcPN podría explicarse por el hecho de que éstas participan en la degradación de los tejidos y en la homeostasis celular, siendo factibles variaciones en su expresión según la fase de la enfermedad. Esto podría aclarar los resultados contradictorios obtenidos. Los niveles bajos de MMP serían imprescindibles para el normal equilibrio celular/tisular mientras su aumento se relacionaría con procesos destructivos/dañinos (Kostamo et al., 2008).

6.- Tratamiento de la RSCcPN

6.1.- Tratamiento farmacológico

6.1.1.- Terapia corticoidea

En el apartado de tratamiento, el papel de los corticoides, ya sea mediante administración tópica u oral, es indiscutible (Fokkens et al., 2007; Wright y Agrawal, 2007). Los corticoides actúan a nivel génico, incrementando la

transcripción de genes antiinflamatorios y reduciendo la de genes proinflamatorios, disminuyendo la permeabilidad vascular y el infiltrado inflamatorio (Mullol et al., 2009). Su mecanismo de acción es bien conocido. El fármaco, a través de su unión con el receptor glucocorticoideo (GR), atraviesa la membrana nuclear para actuar de dos maneras, uniéndose a los elementos de respuesta glucocorticoidea, que son dominios específicos de ADN que inducen o inhiben la transcripción (Hayashi et al., 2004; Necela y Cidlowski, 2004) o inactivando factores de transcripción como el factor nuclear kappa B (NF-kB) (Necela y Cidlowski, 2004). Está demostrado que el principal mecanismo antiinflamatorio de los corticoides es a través de la inhibición de los factores de transcripción (Necela y Cidlowski, 2004). Existen al menos dos isoformas bien conocidas del GR que se diferencian en el dominio de unión a hormona (Necela y Cidlowski, 2004). Mientras que la predominante es la isoforma GR alfa, con una gran afinidad por los glucocorticoides y una elevada actividad transcripcional, la acción de la isoforma GR beta básicamente se limita a la interacción con GR alfa en el núcleo, actuando como un inhibidor endógeno de la isoforma alfa (Pujols et al., 2003; Necela y Cidlowski, 2004). Los corticoides han demostrado ser efectivos tanto *in vivo* como *in vitro*, disminuyendo la expresión de genes implicados en la respuesta inflamatoria tipo Th2, disminuyendo el tamaño de los pólipos, mejorando los síntomas nasosinusales y limitando sus recurrencias tras intervención quirúrgica (Patiar y Reece, 2007; Joe et al., 2008). La administración vía tópica, a dosis dobles de las indicadas en ficha técnica, produce una mejoría estadísticamente significativa en la EVA de gravedad que se mantiene a los 5 años y en el tamaño de los pólipos e intensidad de edema visualizado, vía endoscópica, tras cirugía endoscópica nasosinusal (Alobid et al., 2005; Rowe-Jones et al., 2005).

Los efectos adversos de la administración de corticoides vía nasal dependen por un lado del grado de absorción sistémica de los mismos, lo cual a su vez depende de las características moleculares del corticoide, la dosis, el modo de administración y la gravedad de la enfermedad subyacente (Cave et al., 1999). Varios estudios han demostrado que el uso excesivo de corticoides administrados por vía intranasal puede provocar insuficiencia suprarrenal y disminuir la densidad mineral ósea (Licata, 2005). No obstante, es importante reseñar que los corticoides inhalados son parte del tratamiento fundamental del asma en niños y adultos y que esta vía de administración se asocia con más efectos colaterales que la intranasal (Allen, 2006). Mención aparte, la aplicación tópica de corticoides también se ha asociado con la aparición de perforaciones septales que, si bien están descritas, son raras y además no está aclarado si son debidas al tratamiento, a traumatismos repetidos por el dispositivo de aplicación sobre la mucosa y cartílago septal o a la enfermedad subyacente de la mucosa nasal por lo que se prescribió el fármaco (Cervin y Andersson, 1998). En general, el desarrollo de corticoides de administración tópica de última generación, caracterizados por su potente efecto antiinflamatorio y escasa biodisponibilidad, permite su uso durante largos periodos de tiempo, comprobándose un alto perfil de seguridad en tratamientos diarios de hasta 5 años (Alobid et al., 2011).

El tratamiento con corticoides orales está indicado de inicio para aquellos casos de obstrucción nasal grave y/o puntuaciones en EVA mayor de 3, así como en casos de ausencia de respuesta a tratamiento inicial con corticoides tópicos (Fokkens et al., 2012). La administración oral ha demostrado su eficacia mejorando los síntomas nasosinusales y disminuyendo el tamaño de los pólipos (Benitez et al., 2006; Van Zele et al., 2010; Alobid et al., 2013). Sin

embargo, no están aclarados los efectos que su administración oral provoca a nivel local. Así, si bien existen trabajos donde los corticoides orales demostraron escaso efecto sobre los niveles de IL-5 en secreciones nasales de pacientes con RSCcPN (Van Zele et al., 2010), otros demuestran reducción estadísticamente significativa de la concentración local de esta citoquina, aunque sin relacionarlo con la mejoría clínica del paciente (Woodworth et al., 2004). Por otro lado, sí se ha observado un importante descenso de los niveles de eosinófilos en sangre, aunque con un rebote precoz tras la última dosis de tratamiento (Van Zele et al., 2010). Respecto a la dosis a administrar, se recomienda una dosis variable entre 0,5-1 mg/kg/día de prednisolona o equivalente (Fokkens et al., 2007). No obstante, el uso de corticoides se relaciona, sobre todo en usos prolongados y de forma sistémica, con la aparición de efectos adversos como osteoporosis, glaucoma, cataratas, retraso de crecimiento en niños, alteraciones musculares y cutáneas e incluso supresión del eje hipotalámico-hipofisiario (Cave et al., 1999; Walsh et al., 2002). Esto último se ha demostrado en pautas de 40 mg/día de prednisolona o equivalente durante tres semanas, aunque la recuperación de la función es de 48-72 horas tras la supresión del tratamiento (Webb y Clark, 1981). Por esa razón, se recomienda limitar la administración del fármaco entre 10 días y tres semanas, incluida la pauta de reducción progresiva de dosis, aunque la pauta descendente puede evitarse si la duración del tratamiento es inferior a dos semanas (O'Driscoll et al., 1993; Hissaria et al., 2006; Wright and Agrawal, 2007). Dados los importantes efectos adversos asociados al uso crónico de los corticoides orales, se recomienda limitar su uso a dichas pautas cortas administradas 3-4 veces al año (Fokkens et al., 2012). La administración de corticoides orales también se aplica como tratamiento preoperatorio con la

finalidad de mejorar su resultado y postoperatorio para retrasar la aparición de recurrencias (Wright y Agrawal, 2007).

6.1.1.1.- Causas de falta de respuesta de la RSCcPN al tratamiento con corticoides

6.1.1.1.1.- Resistencia a corticoides

Se ha estudiado si la presencia de una alta concentración de GR beta, baja de GR alfa o bajo valor de GR alfa/GR beta como responsable del aumento de resistencia celular a glucocorticoides (Adcock y Caramori, 2001). El aumento de GR beta en pacientes con RSCcPN está ampliamente documentado (Hamilos et al., 2001; Pujols et al., 2003), así como, más recientemente, la regulación a la baja de la expresión de GR alfa (Li et al., 2005; Valera et al., 2010). Sin embargo, existen resultados contradictorios de estudios prospectivos centrados en poliposis nasal, en los que no se ha encontrado relación entre la expresión de las isoformas de GR y la resistencia clínica a glucocorticoides (Choi et al., 2006; Pujols et al., 2007). La resistencia a glucocorticoides también podría explicarse por la sobreexpresión de factores de transcripción, ya que estos pueden interactuar con el GR e inhibirse recíprocamente. Así un aumento de actividad de estos factores aumentaría la respuesta inflamatoria y facilitaría la resistencia celular a glucocorticoides (Barnes, 2004). El factor de transcripción NF-kB coordina y amplifica la respuesta inmunológica e inflamatoria, así como el crecimiento y la diferenciación celular y la apoptosis. Cuando se activa, se trasloca al núcleo donde se une directamente al ADN e induce la transcripción de genes de

citoquinas, quimioquinas y moléculas de adhesión como IL-1beta, TNF-alfa, IFN-gamma, eotaxina, GM-CSF, VCAM-1 y proteínas antiapoptóticas (Adcock and Caramori, 2001; Necela y Cidlowski, 2004). Tanto IL-1beta como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) son capaces de activar al NF-kB y de esta manera autoperpetuar el proceso inflamatorio local (Adcock y Caramori, 2001). Un estudio reciente con 20 pacientes afectados de RSCcPN y un seguimiento medio de 60 meses, registró su respuesta a tratamiento médico, la necesidad de intervenir quirúrgicamente y la expresión de NF-KB. Tras una primera evaluación y toma de biopsia de pólipo nasal, todos los pacientes fueron tratados con tratamiento tópico nasal. A aquellos en los que no se conseguía adecuado control de los síntomas se les administró un ciclo de corticoides orales, 1 mg/kg/día/15 días y antibióticos, amoxicilina con ácido clavulánico o levofloxacin, si requería el caso. A los 4 meses, si persistía mal control de los síntomas, se indicaba tratamiento quirúrgico. También se operaron aquellos casos con necesidad de frecuentes ciclos de corticoides orales. El estudio concluyó que aquellos pacientes con una alta concentración de NF-kB en pólipo nasal se relacionaban con una escasa respuesta al tratamiento médico, presentando estos pacientes 3,5 veces más riesgo de necesidad de cirugía que aquellos pacientes con baja concentración (Valera et al., 2010). El estudio concluye que el desarrollo de los inhibidores de NF-kB, solos o combinados con tratamiento corticoideo, puede mejorar el control de los síntomas de la RSCcPN. En esta misma línea, existe otro trabajo de los mismos autores, en los que tras evaluación clínica, endoscópica y toma de biopsia administran a los pacientes tratamiento corticoideo tópico, budesonida, reevaluando más tarde la respuesta al tratamiento y recogiendo una nueva muestra. En este estudio se determinó que los pacientes con alta expresión de NF-kB

pretratamiento, así como de la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) e IL-1beta, respondían peor que aquellos pacientes con baja expresión (Valera et al., 2009).

Por otro lado y de forma independiente a la resistencia celular, un reciente estudio cuyo objetivo era identificar factores clínicos pronósticos que indicaran pacientes más sensibles al tratamiento con corticoides, ha propuesto que poliposis extensas, grado III, se asocian con peor respuesta medida mediante escalas subjetivas de síntomas, hallazgos endoscópicos y medición del flujo nasal (Kirtsreesakul et al., 2011).

6.1.1.1.2.- Influencia de la histología en la sensibilidad a corticoides

Un reciente estudio asocia mayor infiltración neutrófilica de los pólipos nasales con una menor respuesta a tratamiento corticoideo. En este trabajo, clasificaron a los pacientes por la predominancia celular (eosinófilos *versus* neutrófilos) en las muestras de pólipo nasal.

Los pacientes fueron sometidos a terapia oral con corticoides (30 mg de prednisona cada 24 horas durante 7 días). Se registraron, tras el tratamiento, los cambios en los parámetros clínicos, como medición subjetiva de obstrucción nasal, rinorrea anterior y posterior e hiposmia, así como el tamaño de los pólipos visualizados endoscópicamente y la permeabilidad nasal medido mediante métodos objetivos. También se midió la producción de citoquinas y quimioquinas antes y después de tratamiento. El estudio concluyó que la infiltración por abundantes neutrófilos se relacionaba con una menor respuesta al tratamiento con corticoides que aquellos en los que no se identificaban neutrófilos o predominaban los eosinófilos. También confirmaron que el

tratamiento disminuía el número de eosinófilos y de IL-5, sin modificar el de neutrófilos ni de IL-8 (Wen et al., 2012).

6.1.2.- Terapia antibiótica

La utilidad de los antibióticos en la RSCcPN sigue siendo objetivo de numerosos estudios de investigación. La administración prologada de macrólidos a dosis bajas ha sido estudiada en diversos ensayos clínicos demostrando su eficacia en el control de los síntomas y el tamaño de los pólipos. Así, la administración de 150 mg cada 24 horas de roxitromicina durante tres meses mejoró no sólo las puntuaciones en los test de calidad de vida, sino también el tamaño de los pólipos visualizados vía endoscópica y la concentración de IL-8 (citoquina proinflamatoria) medida en las secreciones nasales (Wallwork et al., 2006). En otro ensayo clínico se comparó la eficacia del tratamiento quirúrgico seguido de tratamiento con corticoides intranasales vs la del tratamiento sin cirugía con administración de eritromicina a dosis de 250 mg/24 horas durante 3 meses. No hubo diferencias significativas respecto a la eficacia de las dos modalidades de tratamiento en el grupo de pacientes afectados por RSCcPN (Ragab et al., 2004). La eficacia de los macrólidos en el tratamiento de la RSCcPN no sólo respondió a su efecto antimicrobiano, sino que también se ha demostrado un efecto antiinflamatorio al disminuir la concentración de citoquinas proinflamatorias a través de su acción sobre el factor NF-kB (Cervin y Wallwork, 2007).

Valorando la relevancia de las MMP, todavía por aclarar, en la fisiopatología de la RSCcPN, se ha estudiado el posible papel de inhibidores de éstas como tratamiento de la enfermedad. Estudios sobre inhibidores potentes de MMPs en

cáncer han demostrado ausencia de eficacia, efectos secundarios y toxicidad (Coussens et al., 2002). Debido al papel necesario que presentan estas endopeptidasas en la homeostasis normal tisular, se ha postulado que una inhibición demasiado potente de su actividad puede llevar a la alteración del equilibrio normal celular, efectos secundarios e incluso progresión de la enfermedad, mientras que un inhibidor menos potente podría reducir el efecto destructivo y dañino de la sobreexpresión de la MMP y no interferir en su papel fisiológico (Sorsa y Golub, 2005). En este sentido, tetraciclinas como la doxiciclina han demostrado tener, a dosis subantimicrobianas, un efecto antiinflamatorio sistémico (Sorsa et al., 2006). Un reciente estudio midió la eficacia de la doxiciclina frente a corticoides orales. En este ensayo clínico se demostró que la administración de 100 mg de doxiciclina cada 24 horas durante 20 días fue más eficaz que una pauta descendente de metilprednisolona en la reducción de tamaño de los pólipos, aunque no tuvo efecto significativo en cuanto a mejoría de los síntomas (Van Zele et al., 2010). En este mismo estudio se comprobó cómo paralelamente a la mejoría en el tamaño de los pólipos, la administración de doxiciclina hizo disminuir el nivel de MMP-9 en la secreción nasal recogida de los pacientes con RSCcPN frente a los que recibieron placebo (Van Zele et al., 2010).

6.1.3.- Otros tratamientos farmacológicos

6.1.3.1.- Antileucotrienos

Otros ensayos clínicos han estudiado la relevancia de los antileucotrienos en la RSCcPN. Los leucotrienos son ácidos grasos derivados del metabolismo del

ácido araquidónico por la vía de la 5-lipoxigenasa con un potente efecto constrictor de la musculatura lisa. Los inhibidores de los receptores de leucotrienos son ampliamente utilizados en pacientes asmáticos (Mostafa et al., 2005). Así, en un estudio en pacientes intervenidos quirúrgicamente por RSCcPN, la administración de 10 mg/día de montelukast, inhibidor de cisteinil leucotrienos, durante un año fue tan eficaz como 400 μ g de beclometasona intranasal evitando la necesidad de cirugías de revisión o medicación de rescate (Mostafa et al., 2005). Sin embargo síntomas como congestión nasal y pérdida de olfato se controlaron mejor en el grupo tratado con corticoide. Actualmente sólo se recomienda su administración asociado a corticoide intranasal en aquellos casos de RSCcPN moderada-grave con coexistencia de asma o intolerancia a AAS (Alobid et al., 2011).

6.1.3.2.- Anticuerpo monoclonal frente a IL-5

Estudios experimentales han comprobado la eficacia del anticuerpo anti-IL-5, mepolizumab. En un ensayo clínico de 30 pacientes con RSCcPN con un seguimiento de 48 semanas se midió el efecto de este anticuerpo frente a placebo. Administrado de forma aleatorizada en dos ocasiones, separadas ambas por 4 semanas, se compararon los hallazgos endoscópicos, la afectación sinusal medida mediante TC, y la mejoría clínica de los pacientes. Doce de los veinte pacientes del grupo tratado con el anticuerpo mejoraron disminuyendo el tamaño de los pólipos, frente a uno de los diez pacientes control. Similares cifras se obtuvieron en el estudio radiológico. Sin embargo, no se obtuvo un efecto relevante en la mejoría sintomática, hecho que se explicó por la dosis limitada de fármaco administrado (Gevaert et al., 2011). En

un estudio similar previo, el mismo grupo encontró mejores resultados en aquellos pacientes con mayores niveles de IL-5 en secreción nasal (> 40 pg/ml) (Gevaert et al., 2006). No se registró ningún efecto adverso en el grupo tratado con mepolizumab, demostrándose como un fármaco seguro. Actualmente se considera como una alternativa terapéutica prometedora, todavía en fase de investigación. Resulta fundamental un mayor conocimiento de esta enfermedad para identificar fenotipos dentro de la RSCcPN que sean sensibles a este tratamiento.

6.1.3.3.- Anticuerpo monoclonal frente a IgE

En pacientes con RSCcPN se ha comprobado un aumento de IgE plasmática y nasosinusal, frente a muestras procedentes de pacientes control. El tratamiento con anticuerpo monoclonal frente a IgE, omalizumab, disminuye su concentración tanto a nivel local como sistémico y actualmente está aprobado en el asma alérgico moderado-severo y severo (Fokkens et al., 2012). Un ensayo clínico midió la eficacia de este tratamiento en pacientes con RSCcPN grave, resistente a tratamiento médico y quirúrgico. Como criterio de inclusión se requirieron niveles pretratamiento de IgE en sangre entre 30 y 700 IU/ml. Los resultados indicaron una mejoría significativa en la opacificación sinusal determinada por TC. Sin embargo no se hallaron diferencias en los test de calidad de vida, olfatometría o hallazgos endoscópicos (Pinto et al., 2010). Si bien se requieren más estudios para determinar el posible papel de este anticuerpo, su uso no se recomienda en RSCcPN por el riesgo de reacción anafiláctica, 1 por cada 1000 pacientes tratados, y su asociación a una mayor frecuencia de sufrir enfermedad cardiovascular, trombocitopenia y cáncer (Cox

et al., 2011; “Omalizumab: a second look in severe persistent asthma: new adverse effects.” 2011).

6.1.3.3.- Desensibilización frente a AAS

Otra modalidad de tratamiento alternativa consiste en la desensibilización frente a AAS. Ésta sólo es útil para aquellos pacientes con rinosinusitis crónica y poliposis nasal que además padecen asma no alérgica e hipersensibilidad a la AAS u otros fármacos inhibidores de la ciclooxygenasa 1. Se ha objetivado que, tras una crisis de broncoconstricción por exposición a AAS, sigue un periodo de 24-72 horas durante el cual no hay cambios bronquiales frente a nuevas exposiciones a AAS e incluso el paciente puede experimentar mejoría clínica (Stankiewicz et al., 2011). El tratamiento consiste por tanto en la administración a largo plazo de pequeñas dosis orales de AAS. No es una terapia inocua, pues existe el riesgo de una reacción de hipersensibilidad grave y de complicaciones gastrointestinales. La administración del AAS de forma tópica nasal disminuye estos riesgos. Sin embargo, la administración local de AAS no produjo diferencias frente a placebo respecto al control de la enfermedad (Parikh y Scadding, 2005). Dado que aún no existen evidencias de peso suficiente respecto a su eficacia y sus posibles complicaciones, no se recomienda su uso general (Stevenson et al., 1984; Forer et al., 2011; Kamani and Sama, 2011; Fokkens et al., 2012) .

6.2.- Tratamiento quirúrgico

Hasta la fecha, ningún tratamiento médico o quirúrgico se ha demostrado

efectivo para curar la enfermedad. Los pacientes frecuentemente son sometidos a varios procedimientos quirúrgicos a lo largo de su vida y requieren tratamiento corticoideo, intranasal de mantenimiento y ciclos orales ocasionales (Alobid et al., 2011) .

Es difícil evaluar la eficacia del tratamiento quirúrgico en la RSCcPN. Tanto por razones prácticas como éticas, resulta complicada la aplicación de los criterios para la realización de ensayos clínicos cuando se valoran tratamientos quirúrgicos (Fokkens et al., 2010). Ya no sólo porque el tratamiento quirúrgico es difícil de estandarizar, o que existan múltiples técnicas disponibles, sino también los pacientes afectados por RSCcPN presentan grados de enfermedad muy variables, debilitando así las posibles conclusiones a extraer de estos trabajos. También es frecuente la asociación con comorbilidades frecuentes como asma o intolerancia a AAS que está comprobado afectan al resultado quirúrgico (Fokkens et al., 2010). Además el tratamiento quirúrgico suele complementarse con un tratamiento médico preoperatorio y postoperatorio que confunde claramente los resultados.

Actualmente la cirugía endoscópica nasosinusal (CENS) es la técnica más universalmente aceptada como tratamiento quirúrgico de esta patología (Fokkens et al., 2007) mejorando la calidad de vida de los pacientes afectos sin curar la enfermedad (Alobid et al., 2005), por lo que tras la intervención quirúrgica, los pacientes han de seguir habitualmente con tratamiento médico para disminuir o retrasar la recidiva de la poliposis (Welch y Kennedy, 2010).

La mayoría de estudios que comparan el tratamiento farmacológico, incluyendo ciclos con corticoides orales, frente al quirúrgico concluyen que ambas tienen similar eficacia en el control de los síntomas (Lildholdt et al., 1989; Alobid et al., 2005). Dada la ausencia de evidencias que avalen el tratamiento quirúrgico

como tratamiento de elección, la CENS aparece en las guías de consenso como la alternativa al fracaso del tratamiento médico previo consistente básicamente en corticoides tópicos nasales y ciclos de corticoides orales cortos (Fokkens et al., 2012).

Esta se puede aplicar de forma conservadora, eliminando sólo las formaciones polipoideas y limpiando sólo aquellas zonas sinusales más afectas, lo que se denomina como cirugía “a demanda”, o utilizando técnicas más agresivas, denudando todo el complejo sinusal de su mucosa, pudiendo llegar a exponer toda la base del craneo, ambas láminas papiráceas lateralmente, eliminando todo el laberinto etmoidal y creando una apertura amplia del seno maxilar, frontal y esfenoidal (Alobid et al., 2011). Algunos autores defienden la técnica más “radical” frente a procedimientos quirúrgicos más conservadores. El trabajo liderado por Jankowski, en el que de forma prospectiva se enfrentaron dos grupos de pacientes, uno de los cuales fue sometido a una etmoidectomía radical o nasalización y el otro a una cirugía funcional, arroja mejores resultados en las valoraciones clínicas, exploraciones endoscópicas postquirúrgicas y menor tasa de recidiva en el grupo intervenido de forma más agresiva (Jankowski et al., 2006). Otro estudio, esta vez retrospectivo, confirmó una mejora clínica más relevante en el grupo de pacientes intervenidos de forma extensa, limpiando todo el etmoides, frente al grupo cuya intervención se limitó al etmoides anterior. En este trabajo además no se apreció que los procedimientos más extensos se asociaran a una mayor frecuencia de complicaciones quirúrgicas (Masterson et al., 2010).

Se estima que alrededor de un 10% de los pacientes responden de forma insuficiente al tratamiento quirúrgico por lo que requieren tratamiento médico intenso e incluso cirugía de revisión (Bhattacharyya, 2004). En un estudio con

118 pacientes con poliposis extensa, con un rango de seguimiento de 12-168 meses, el 60% de ellos desarrolló una recidiva de la poliposis. A un 47% se le ofreció cirugía de revisión, y finalmente se operó un 27% (Wynn y Har-El, 2004). Los factores relacionados con una mayor tasa de cirugía de revisión son asma, intolerancia a AAS, poliposis extensa y cirugía de revisión previa (King et al., 1994; Chu et al., 1997; Marks and Shamsa, 1997). La lateralización del cornete medio, cicatrices, sinequias, resecciones incompletas de la apófisis unciforme o celdas etmoidales sin abrir son hallazgos frecuentes en la cirugía de revisión (Ramadan, 1999; Musy y Kountakis, 2004). Las tasas de éxito de la cirugía de revisión están entre el 50-70% (Kennedy, 1992; King et al., 1994). Por otro lado, las tasas de complicaciones tienden a ser más altas en la cirugía de revisión que en la cirugía inicial, variando desde el 1 al 7% (Chu et al., 1997; Bhattacharyya, 2004).

Se calcula que aproximadamente un 10% de los pacientes intervenidos van a tener una pobre respuesta a dicha cirugía. Los factores de riesgo para requerir cirugía de revisión son (Bhattacharyya, 2004):

- Presencia de sinequias en meato medio
- Lateralización de cornete medio
- No eliminación de segmentos importantes de apófisis unciforme en la cirugía primaria
- Presencia de abundantes celdas etmoidales sin abrir en la cirugía primaria.

También la coexistencia de la RSCcPN con asma y/o intolerancia a AAS, o con enfermedades sistémicas con polipos nasales como la fibrosis quística empobrecen los resultados quirúrgicos (Alobid et al., 2011).

No obstante, independientemente del procedimiento quirúrgico, éste no está exento de complicaciones. En general, el porcentaje de estas varía entre 4,3 y 6% (Dalziel et al., 2003). Las complicaciones quirúrgicas pueden clasificarse en hemorrágicas, orbitarias e intracraneales.

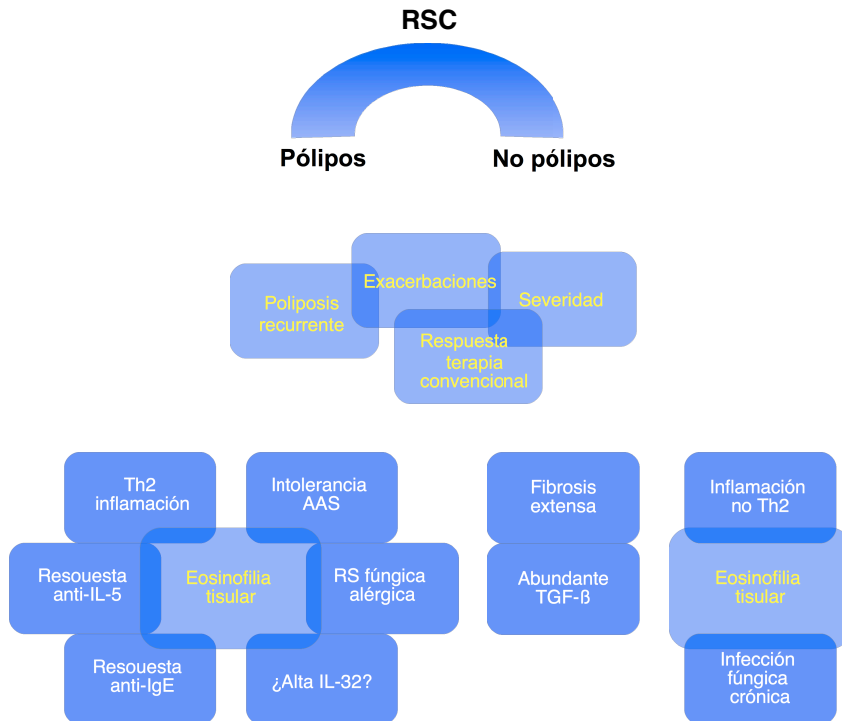
Las complicaciones hemorrágicas tras CENS suelen ser leves y sólo el 2,2% son graves o requieren reingreso hospitalario (Dalziel et al., 2006). No obstante hay casos descritos de complicaciones muy graves como la lesión de la arteria carótida interna durante CENS por RSCcPN (Koitschev et al., 2006). La complicación orbitaria más frecuente es la exposición del contenido de la órbita (periórbita, grasa) a la fosa nasal, lo cual ocurre en el 2,1%, sin provocar, habitualmente, sintomatología en el paciente (Dalziel et al., 2006). No obstante también está descrito lesión directa de la musculatura orbitaria, pudiendo provocar diplopia, e incluso lesión del nervio óptico con resultado de ceguera (Alobid et al., 2011). Las complicaciones intracraneales se producen como consecuencia de la entrada en la base del cráneo, sobre todo en aquellas regiones anatómicas de hueso más frágil como la lámina cribosa, desembocando en una fístula de líquido cefalorraquídeo (LCR) por la que éste fluye desde la apertura traumática de la duramadre hacia la fosa nasal. La frecuencia de fístula de LCR postquirúrgica varía entre 0,2 y 3% de los casos (Dalziel et al., 2006).

En general, todas estas complicaciones pueden clasificarse en leves o graves, según la severidad de las mismas. En general se estima que las leves aparecen en el 4% y las graves en el 0,5% de las cirugías nasosinuales vía endoscópica (Fokkens et al., 2007).

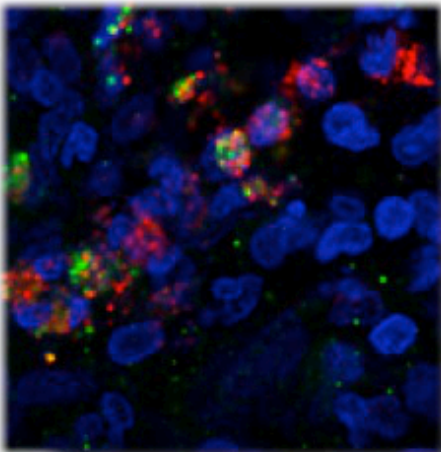
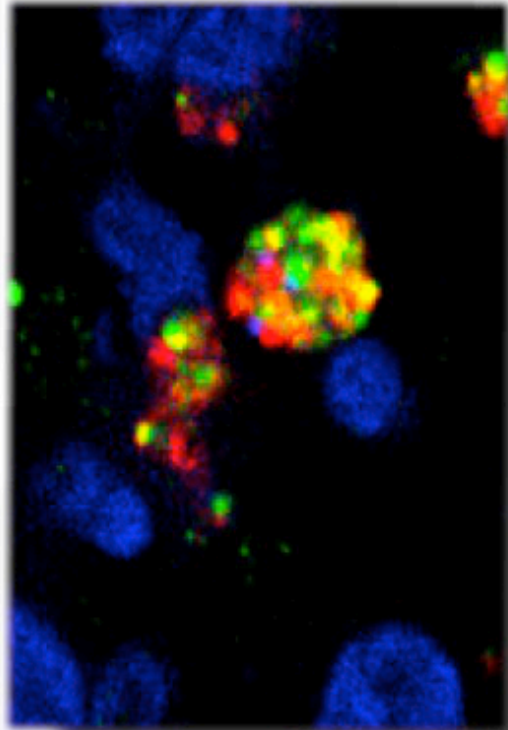
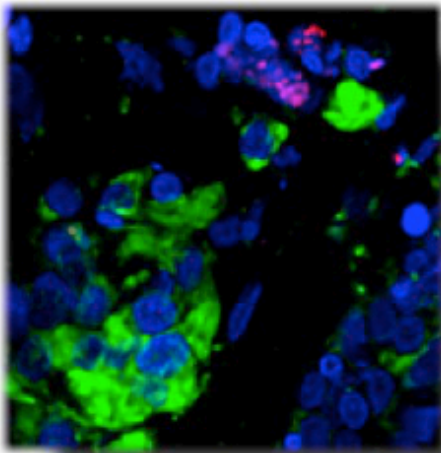
7.- Detección de un problema

En definitiva la RSCcPN es una enfermedad crónica, sin tratamiento curativo, sin un protocolo de manejo terapéutico único, cuyos pacientes están sometidos de forma continua a terapia con corticoides a los que no siempre responden y con el riesgo de desarrollar numerosos efectos secundarios. Hoy por hoy, la RSCcPN se considera una enfermedad heterogénea, en la que es fundamental identificar los diferentes fenotipos para aplicar tratamientos más ajustados que permitan un mejor control. De hecho, son múltiples los trabajos que en este sentido establecen posibles subclasificaciones de la enfermedad según diferencias histológicas y moleculares (Gevaert et al., 2011; Akdis et al., 2013; Ikeda et al., 2013). No todos los pacientes responden igual, necesitando cada uno de ellos una estrategia individualizada (Van Zele et al., 2010; Wen et al., 2012). Detectar, previo a la instauración de cualquier tratamiento, aquellos pacientes más sensibles a una de las opciones médicas disponibles, sería de gran utilidad, permitiendo seleccionar la terapia médica más adecuada.

Figura 5. Fenotipos en relación con endotipos propuestos y posibles asociaciones. Tomado de consenso PRACTALL (Akdís et al., 2013).



HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La poliposis nasal es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta aproximadamente a un 2-4% de la población general. Aún hoy se desconocen cuáles son los mecanismos etiológicos que la desencadenan. La mayoría de los autores la consideran fruto de la interacción de la genética con factores ambientales. Esta enfermedad, que afecta significativamente a la calidad de vida, carece de un tratamiento curativo, siendo el tratamiento farmacológico con corticoides tópicos y orales el más extendido. No obstante, no todos los pacientes controlan los síntomas con esta terapia necesitando otras modalidades terapéuticas como la cirugía. Según se profundiza en el conocimiento de la RSCcPN, cada vez es mayor la percepción de ésta como una patología heterogénea con diversos fenotipos, sin una respuesta uniforme al tratamiento. Dada la alta prevalencia de esta enfermedad y los efectos secundarios asociados al uso crónico de corticoides, nosotros planteamos la necesidad de identificar un parámetro o marcador que indique precisamente la disposición de la enfermedad a responder o no a un tratamiento. Esto permitiría individualizar la estrategia terapéutica para ofrecer la mejor opción disponible.

1.- Hipótesis

Tanto MMP-2, MMP-9 y TIMP-1, por su posible papel en la remodelación tisular típica de la enfermedad, como IL-5, por su función indispensable para atraer,

activar y perpetuar los eosinófilos, célula inflamatoria clave en la RSCcPN, a nivel local, pueden ser marcadores fiables de la actividad inflamatoria y/o remodeladora de la enfermedad. Aquellos pacientes con una mayor actividad serían los pacientes más sensibles a la terapia corticoidea.

2.- **Objetivos**

1.- Confirmar la expresión y actividad de MMP-2 y MMP-9 en muestras de pólipos nasales frente a muestras de mucosa nasal de sujetos sanos.

2.- Estudiar la relación entre la expresión de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en pólipos nasales y el efecto de los corticoides orales sobre la RSCcPN

2.1.- Confirmar la heterogeneidad de respuesta clínica de la RSCcPN tras tratamiento con corticoides orales.

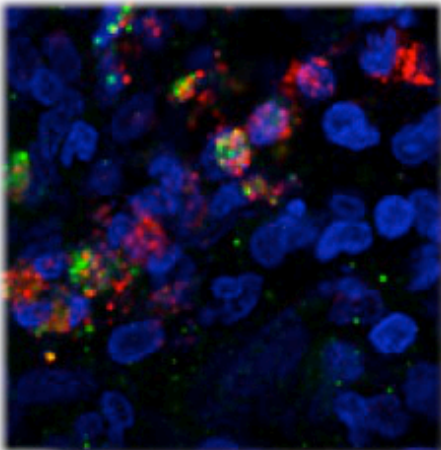
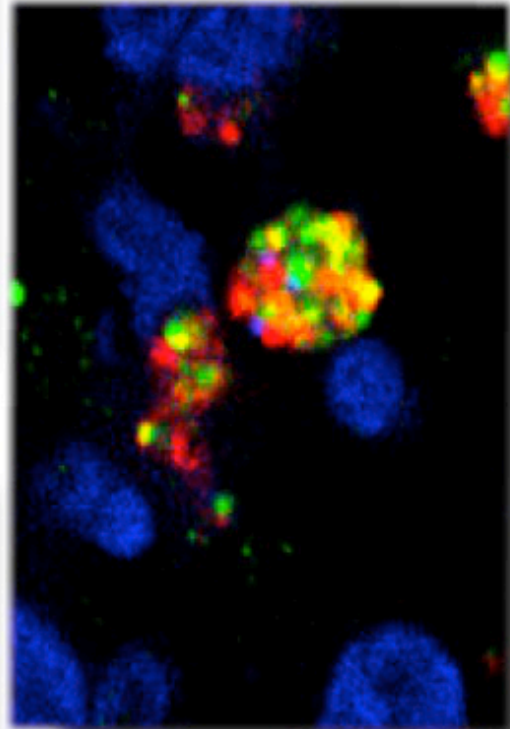
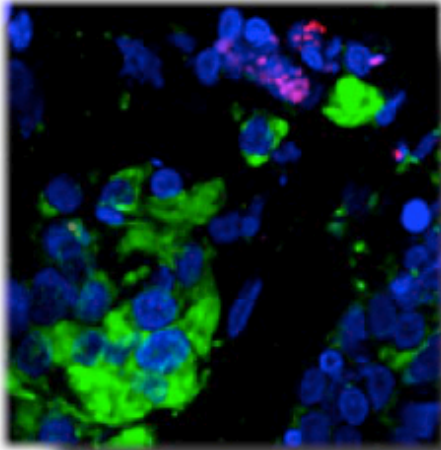
2.2.- Relacionar los niveles de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestras de pólipos nasales con la gravedad de la RSCcPN.

2.3.- Relacionar los niveles de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestras de pólipos nasales obtenidas antes de tratamiento con corticoides orales con la evolución de los síntomas tras tratamiento.

2.4.- Correlacionar la variación de los niveles de ARNm de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestras de pólipos nasales tras tratamiento con corticoides orales con la mejoría clínica del paciente.

2.5.- Relacionar los niveles de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestras de pólipos nasales obtenidas antes de tratamiento con corticoides orales con la necesidad de someterse a tratamiento quirúrgico.

MATERIAL Y MÉTODO



MATERIAL Y MÉTODO

1.- Estudio de la actividad y expresión de MMP-9 y MMP-2 en la RSCcPN

1.1.- Tamaño muestral

Para determinar el tamaño muestral requerido para el estudio se revisó bibliografía previa. En un trabajo sobre la expresión de MMP-9, MMP-7 y TIMP-1 en muestras de mucosa de pacientes con RSCcPN y RSCsPN frente a muestras de mucosa de cornete inferior de sujetos sanos que se operaban por insuficiencia respiratoria nasal, se establecieron tres grupos, un grupo control con n=10 pacientes, un grupo de pacientes con RSCcPN con n=8 y un último grupo con RSCsPN con n=10 (Watelet et al., 2004). En otro estudio se midieron los niveles de ARNm de MMP-2 y MMP-9 mediante PCR y la expresión de sus proteínas mediante inmunohistoquímica en 20 pacientes con RSCcPN frente a muestras de cornete inferior nasal de 20 sujetos sanos que se sometieron a turbinoplastia inferior por insuficiencia respiratoria nasal (Bhandari et al., 2004). Tras revisión de bibliografía se estableció la adquisición de muestras de 15 pacientes diagnosticados de RSCcPN y de 15 pacientes intervenidos, en el mismo periodo, de turbinoplastia, como muestras control.

1.2.- Criterios de inclusión

Se verificó que todos los pacientes incluidos en la muestra cumplieran los criterios recogidos en el documento de consenso europeo (Fokkens et al., 2012) para el diagnóstico de RSCcPN, a los que por falta de control de sus

síntomas con tratamiento médico se les indicó tratamiento quirúrgico. Se descartó a los pacientes con diagnóstico de asma o intolerancia al AAS. Tampoco aquellos afectados por enfermedades sistémicas asociadas a poliposis nasal como fibrosis quística, discinesia ciliar primaria o afectados de vasculitis.

Para el estudio no se incluyó ningún sujeto con diagnóstico de rinitis alérgica, comprobando la ausencia de dicha afección mediante la historia clínica y en los casos necesarios por el pricktest. El pricktest es una prueba cutánea de lectura inmediata, útil para confirmar una sospecha diagnóstica clínica de una forma simple, rápida, con bajo coste y alta sensibilidad (Rodríguez-Serna et al., 2004).

Ninguno de los participantes recibió tratamiento para su afección nasal en las 4-6 semanas antes de la intervención (momento del reclutamiento y la inclusión en lista de espera quirúrgica).

Este estudio fue presentado y aprobado por el comité ético del Hospital Universitario de Fuenlabrada, y todos los participantes entendieron y firmaron el consentimiento informado aprobado por dicho comité.

1.3.- Obtención y preparación de las muestras

Las muestras fueron obtenidas en quirófano, tras intubación orotraqueal, antes de iniciar la intervención quirúrgica, y almacenadas de forma inmediata en fresco a -80°C hasta su procesamiento. Una vez recogidas todas las muestras, éstas fueron homogeneizadas por disociación mecánica y posterior sonicación.

1.4.- Determinación de los niveles proteicos de MMP-2 y 9 por Western-blot

Los niveles proteicos de MMP-9 y MMP-2 se analizaron mediante Western-blot. Las muestras, con 20 μ g (microgramos) de proteína, procedentes de todos los pacientes se separaron por electroforesis en gel de poliacrilamida al 7% y se transfirieron posteriormente a una membrana de PVDF. Tras la incubación de la membrana con anticuerpos específicos para ambas proteínas (IgG de conejo anti-MMP-9 e IgG de ratón anti-MMP-2; Chemicon International), se procedió al revelado de las bandas, mediante un kit comercial de ECL (Amersham), siguiendo instrucciones del fabricante.

1.5.- Determinación de la actividad de MMP-2 y 9 por zimografía

La actividad enzimática de MMP-9 y MMP-2 se determinó mediante zimografía en muestras procedentes de todos los pacientes siguiendo protocolo previamente descrito (Caso et al., 2007).

Tras densitometría, los resultados se expresaron como densidad óptica (expresada en unidades arbitrarias; UA) de las bandas de expresión en los Western-blot, y de digestión en la zimografía.

1.6.- Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se consideró distribución no normal de la variable respuesta, por lo que se utilizó mediana con rango intercuartílico (RI) como medida de centralización y dispersión. Para contraste de hipótesis se utilizó test

de mediana. Se fijó el nivel de significación estadística en $p < 0,05$.

2.- Estudio del papel pronóstico de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en la RSCcPN

2.1.- Tamaño muestral

Para determinar el tamaño muestral requerido se valoraron trabajos similares previos. En un estudio sobre el papel pronóstico de la expresión del factor nuclear kappa B, se midió mediante PCR la expresión de dicho gen en muestras de pólipos nasales de 20 pacientes con RSCcPN, previo a tratamiento con corticoides tópicos y orales. Se estudió su correlación con los niveles de ARNm de dicho factor y la mejoría clínica de los pacientes (Valera et al., 2010). En otro estudio se relacionaron los niveles basales de IL5 en secreción nasal, determinados mediante ELISA, con la respuesta clínica al tratamiento con anticuerpo monoclonal frente a IL-5 (mepolizumab) en 12 de los 24 pacientes con RSCcPN incluidos en el estudio (Gevaert et al., 2006). Se estableció finalmente para nuestro estudio, un tamaño muestral de 20 pacientes. Como muestra control, se seleccionaron 10 pacientes control, pendientes de ser sometidos a turbinoplastia inferior por insuficiencia respiratoria nasal.

2.2.- Criterios de inclusión

Todos ellos cumplían con los criterios diagnósticos establecidos en la guía europea EPOS (Fokkens et al., 2012). Sólo se aceptaron para este estudio aquellos pacientes que no referían historia de asma ni intolerancia a AAS o afectados por enfermedades sistémicas asociadas a poliposis nasal como

fibrosis quística, discinesia ciliar primaria o afectados de vasculitis. También se descartaron aquellos pacientes con diagnóstico de rinitis alérgica, comprobando la ausencia de dicha afección mediante la historia clínica y en los casos necesarios pricktest. Los pacientes del estudio no habían recibido tratamiento con corticoides orales, tópicos ni antileucotrienos al menos 3 meses previos a la inclusión en el estudio. Tampoco referían antecedentes quirúrgicos previos en el área nasosinusal. Los pacientes de la muestra control no referían síntomas que hicieran sospechar patología inflamatoria, la exploración endoscópica tampoco reveló signos sugerentes de tal y los casos en los que en la historia clínica había indicios de coexistencia de rinitis alérgica, esta fue descartada por Prick-test.

2.3.- Recogida de datos y evaluación en consulta

Durante la primera consulta se recogieron datos demográficos, tales como sexo, edad y grupo étnico. Siguiendo los consejos del consenso europeo, la gravedad del cuadro se determinó mediante EVA, en la que sobre una línea de 10 cm., marcado en un extremo como ninguna incomodidad y en el otro extremo como incomodidad máxima, el paciente debe determinar la incomodidad de los síntomas de la rinosinusitis (obstrucción nasal, rinorrea, hiposmia y presión o dolor facial), marcando sobre la línea. El resultado se expresa en centímetros, resultando la medición más leve 0 cm. y más grave 10 cm. Calculando la media de los cuatro valores obtenidos puede clasificarse la gravedad del cuadro (Fokkens et al., 2007). La utilización de la EVA ha sido validada en la evaluación de la gravedad de la RSC (Lim et al., 2007).

- LEVE: 0-3 cm
- MODERADO: >3-7cm
- GRAVE: >7-10 cm

La pérdida objetiva de olfato fue estudiada mediante test de olfatometría del Connecticut Chemosensory Clinical Research Center (CCCRC) (Cain et al., 1988) validado para poliposis nasal (Toledano et al., 2007). Este test consta de dos partes. En la primera se somete al paciente a una presentación de recipientes, numerados del 0-8 que contienen una solución de butanol diluida al 4% de forma progresiva, avisando al paciente que señale cuando detecte sensación olfativa. De esa manera se registra el llamado umbral de olfacción, o lo que es lo mismo, la concentración mínima de butanol que el paciente es capaz de detectar. La segunda parte del test consiste en la capacidad que tiene el paciente para identificar olores de sustancias como jabón, naftalina, mentol, café, canela, cacahuete, polvos de talco y chocolate, de una lista con otros productos domésticos habituales, registrando el número de ellas que identifica correctamente. La media de ambos valores se define como *valor compuesto*, que define la capacidad olfativa del paciente en una escala de 0-8, considerándose una olfacción normal cuando se alcanza una puntuación igual o superior a 6.

La historia clínica se completó mediante endoscopia nasal, graduándose el tamaño de los pólipos en grados según clasificación endoscópica clásica descrita por Lildholdt (Lildholdt et al., 1997).

- Grado 0: Ausencia de pólipos.
- Grado 1: Pólipos de pequeño tamaño que no sobrepasan el cornete medio.

- Grado 2: Pólipos que están entre el borde craneal y caudal del cornete inferior.
- Grado 3: Pólipos que rebasan el borde inferior del cornete inferior.

Durante la endoscopia nasal, en consulta, se procedió a recoger dos muestras de pólipo nasal mediante pinza Blackesley y almacenamiento inmediato de una de ellas a -80°C hasta su procesamiento en laboratorio para análisis mediante reacción en cadena de la polimerasa transcripción inversa (RT-PCR). No se utilizó sustancia anestésica ni vasoconstrictora tópica previa a la toma de biopsia.

Del mismo modo, también se realizó estudio radiológico mediante TC en todos los casos, evaluando la extensión de la enfermedad mediante la escala Lund-Mackay, que mide la opacidad de los senos paranasales de forma individual (Lund y Mackay, 1993) (Figura 1).

Figura 1. Escala de extensión radiológica de RSC Lund-Mackay. El resultado de la escala se obtiene de la suma de las puntuaciones de cada uno de los senos. 0: sin anomalías; 1: opacificación parcial; 2: opacificación total. 0*: sin obstrucción; 2*: obstruido

Región sinusal	Izquierda	Derecha
Maxilar (0,1,2)		
Etmoides ant (0,1,2)		
Etmoides post (0,1,2)		
Esfenoides (0,1,2)		
Frontal (0,1,2)		
Complejo osteomeatal (0 ó 2)*		
Puntuación total		

Completada la primera consulta, a todos los pacientes se les pautó tratamiento

con corticoides orales, manteniendo la misma pauta de metil-prednisolona 1 mg/kg/día en una sola dosis diaria y disminuyendo progresivamente cada 3 días para completar un tiempo total de tratamiento de 15 días. Durante este periodo de tiempo se indicó a los pacientes que no se administraran corticoides vía tópica. En todos los casos se programó revisión en consulta a los 7 días para repetir de nuevo evaluación mediante endoscopia, medición subjetiva de síntomas nasosinusales (EVA) y olfatometría. En un subgrupo de 8 pacientes, los ocho últimos de la muestra total de 20 pacientes, en la primera consulta se recogió, además de la muestra para procesado para RT-PCR, muestra para estudio inmunohistoquímico, para lo que se almacenó ésta en formaldehído al 4%. En este subgrupo de 8 pacientes, coincidiendo con la consulta de re-evaluación clínica a la semana de inicio de tratamiento, se les tomó, de nuevo, muestra para determinación de ARNm.

A partir de la segunda evaluación en consulta se pautó, a todos los pacientes, tratamiento corticoideo tópico nasal con mometasona furoato 50 µg por fosa nasal cada 12 horas de mantenimiento y se programó revisión en consulta a los 3, 6 y 12 meses. Durante el seguimiento, a aquellos pacientes que refirieron persistencia de los síntomas molestos o empeoramiento respecto a la primera evaluación se les ofreció tratamiento quirúrgico mediante CENS.

Este estudio fue presentado y aprobado por el comité ético del hospital, y todos los participantes entendieron y firmaron el consentimiento informado aprobado por dicho comité previo a su inclusión en el estudio.

2.4.- Procesamiento de las muestras

2.4.1.- Determinación de ARNm de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e IL-5 mediante RT-PCR

Para determinar la expresión de ARN mensajero (ARNm) de diversos mediadores, se extrajo el ARN total de todas las muestras de pólipo nasal y de las muestras control. La extracción del ARN se realizó siguiendo el protocolo en un paso, basado en la separación de componentes celulares por su solubilidad en soluciones acuosas u orgánicas (Chomczynski y Sacchi, 1987). En este procedimiento, el tejido se homogeniza mecánicamente utilizando Trizol® Reagent (Invitrogen). Una vez homogenizado, se añadió cloroformo a partes iguales y tras mezclar por agitación, se centrifugaron las muestras obteniéndose dos fases: una acuosa donde está el ARN y otra orgánica donde están la mayoría de los componentes celulares. Se descartó la fase orgánica y el ARN se precipitó con isopropanol durante 10 minutos a temperatura ambiente. Una vez precipitado se lavó con etanol al 75% y se resuspendió en agua libre de RNasa (Invitrogen). La cantidad de ARN se determinó espectrofotométricamente (Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer) y la pureza se evaluó como el cociente entre los valores de absorbancia a 260nm y 280nm (1,8-2,0). Las muestras de ARN fueron almacenadas a -80°C hasta su utilización.

La síntesis del DNA complementario (cDNA) se hizo por transcripción reversa empleando la enzima Superscript II Reverse transcriptase (Invitrogen), siguiendo las indicaciones del fabricante. El cDNA fue almacenado a -20° C. El estudio de la expresión de ARNm se realizó con muestras por triplicado en un

termociclador Bio-Rad iQ5. Dicha expresión fue normalizada de acuerdo a la expresión génica de la actina, y todos los genes se sometieron a una desnaturalización a 95°C por 5 minutos, seguida de 45 ciclos de 95°C por 10 segundos, 60°C por 30 segundos, y 72°C por 40 segundos. Se incluyó un análisis de la curva de fusión con el fin de confirmar la formación de un único producto de PCR. Las secuencias de los cebadores (*primers*) usados se tomaron usando la biblioteca PUBMED:

Tabla 1. Secuencias de *primers* empleadas para los estudios de PCR a tiempo real

MMP-9	F: 5'-TGGGGGGCAACTCGGC-3' R: 5'-GGAATGATCTAAGCCCAG-3'
TIMP-1	F: 5'-CGCAGATCCAGCGCCCAGAG-3' R: 5'-GGGTGGGGTGGGACACAGGT-3'
IL-5	F: 5'-GGCACTGCTTTCTACTCATCGA-3' R: 5'-AGTTGGTGATTTTTATGTACAGGAACA-3'
Actina	F: 5'-GGCACCCAGCACAATGAAG-3' R: 5'-GCCGATCCACACGGAGTACT-3'

2.4.2.- Inmunofluorescencia

La detección de proteínas por inmunofluorescencia (IF) se realizó a partir de secciones de pólipo nasal de 50µm de grosor previamente fijadas en paraformaldehído. Tras la fijación, se procedió a la permeabilización y al bloqueo de uniones inespecíficas mediante la incubación de las secciones (agitación, 2h, temperatura ambiente) en T-KPBS, al que se le añadió un 5% del suero correspondiente (Jackson Immuno Research). El tipo de suero seleccionado dependió en todos los casos del animal empleado para la producción del anticuerpo secundario. Seguidamente, se procedió a la

incubación del anticuerpo primario en la misma solución de bloqueo (incubación en agitación, por toda la noche, 4°C). Tras 3 lavados con T-KPBS, las secciones se incubaron con su correspondiente anticuerpo secundario acoplado a fluorescencia (agitación, 2 horas, temperatura ambiente) o, en el caso de requerir una amplificación de la señal, se utilizó el sistema biotina-avidina. En todos los casos, previo al montaje, se procedió a la tinción de núcleos empleando TOPRO (Invitrogen). En la siguiente tabla se resumen los anticuerpos empleados para los estudios de IF.

Localización	Anticuerpo primario	Anticuerpo secundario	Anticuerpo terciario
IL-5	Rabbit anti IL-5 (Santa Cruz Biotechnology)	Goat anti rabbit Biotin (Vector Lab.)	Streptoavidina Alexa 488 (Invitrogen)
MBP	Mouse anti MBP (Santa Cruz Biotechnology)	Donkey anti mouse Cy3 (Vector Lab.)	---

La visualización y la toma de microfotografías de los muestras para IF se llevó a cabo empleando el microscopio confocal Zeiss y el software ZEN 2009 (Carl Zeiss Microimaging GmbH).

El análisis de las microfotografías obtenidas fue realizado mediante el software ImageJ (versión 1.46r; National Institute of Health, USA). Para el análisis de los resultados se siguió métodos previamente descritos en pólipo nasal (Groot Kormelink et al., 2012). Así, el conteo celular para cada anticuerpo, células positivas para IL-5 y para MBP, se obtuvo de la media del valor obtenido de 6 fotos, seleccionadas al azar, de cada muestra con una magnificación 200x.

Estos 8 pacientes se clasificaron en dos grupos. Pacientes con pólipos inflamatorios, los cuatro pacientes con menor media de número de eosinófilos/campo, y pacientes con pólipos eosinofílicos, los cuatro pacientes con mayor media de número de eosinófilos/campo.

2.4.3.- Análisis estadístico

Una vez medido el ARNm de todas las muestras de pólipo previo a tratamiento con metil-prednisolona, se subdividió a los pacientes de la muestra en dos grupos. El grupo con niveles de ARNm de IL-5 alto y el grupo con nivel bajo. Dado que el tamaño muestral diseñado no era elevado, se decidió como punto de corte el valor de mediana de ARNm de IL-5 obtenido de todas las muestras. Lo mismo se hizo para MMP-9 y TIMP-1.

Para relacionar el nivel de ARNm alto y bajo de IL-5, MMP-9 y TIMP-1 previo al tratamiento con corticoides orales con la mejoría en la EVA general y por síntomas (obstrucción, rinorrea, hiposmia y presión o dolor facial), así como con la medición objetiva de la mejoría del olfato por olfatometría, se utilizó el test no paramétrico U Mann-Whitney, considerando significativo valor de $p < 0,05$.

En un subgrupo de ocho pacientes se tomaron dos muestras de pólipo nasal. Una pretratamiento, y otra tras una semana desde el inicio de toma de corticoides orales. En cada paciente se registró:

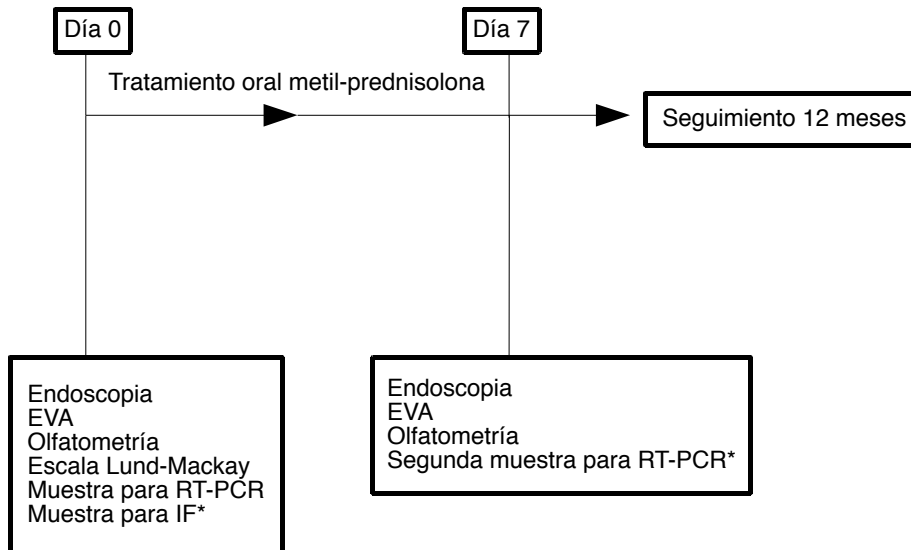
- Diferencia de ARNm, calculando la diferencia entre ARNm pre-tratamiento y ARN post-tratamiento de MMP-9, TIMP-1 e IL-5.
- Diferencia del valor de EVAc, calculando la diferencia entre EVAc pre-tratamiento y EVAc post-tratamiento. Al valor obtenido se le denominó cambio EVA general.
- Diferencia del valor de olfatometría, calculando la diferencia entre olfatometría pre-tratamiento y olfatometría post-tratamiento. Al valor obtenido se le denominó cambio olfatometría general.

Este grupo de 8 pacientes se subdividió en dos grupos de cuatro pacientes cada uno, por un lado, los cuatro pacientes en los que más se redujo la concentración de ARNm tras tratamiento con metil-prednisolona y los cuatro pacientes en los que menos diferencia se objetivó. Esta división en dos grupos se realizó por separado con el ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5.

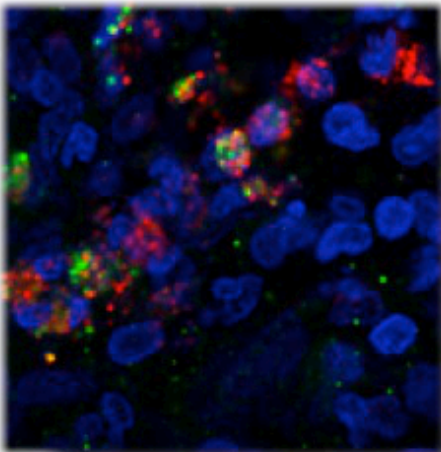
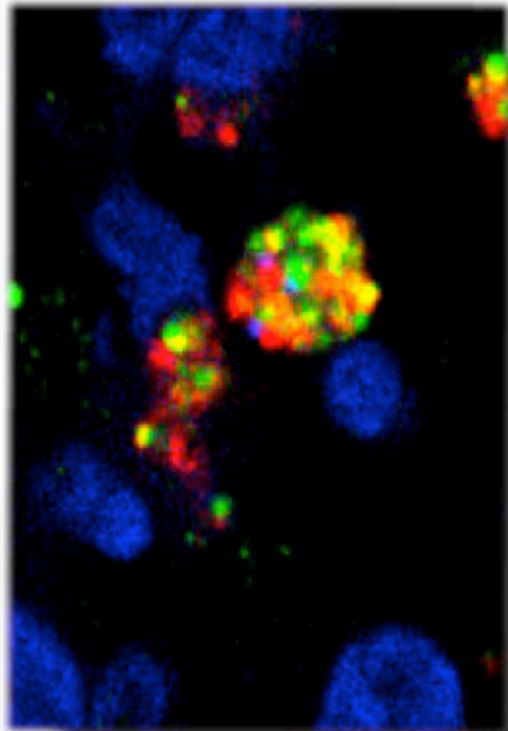
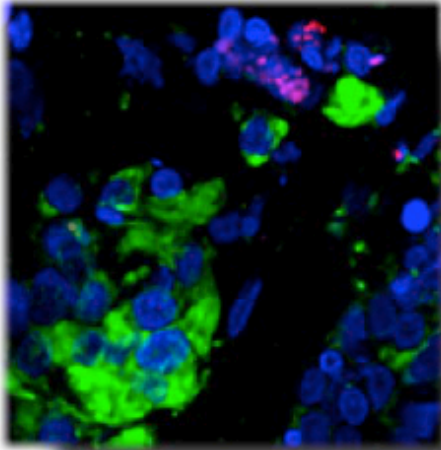
Posteriormente, se estudiaron las posibles diferencias de respuesta, tras corticoides orales, entre ambos grupos (para cada ARNm) con las variables cambio EVA general y cambio olfatometría general, utilizando de nuevo test no paramétrico de U de Mann-Whitney y considerando el mismo nivel de significación que en los estudios previos. También se buscó la correlación del cambio de expresión de los genes con el cambio EVA general y con el cambio olfatometría general. Para ello se utilizó la correlación no paramétrica de Spearman.

Para el estudio de la relación entre los niveles de ARNm IL-5, MMP-9 y TIMP-1 como factor pronóstico de necesidad de intervención quirúrgica mediante CENS por falta de control médico se compararon los dos grupos de pacientes, clasificados según niveles altos y bajos de ARNm IL-5 pretratamiento, MMP-9 pretratamiento y TIMP-1 pretratamiento mediante el método de Kaplan-Meyer, valorando como evento desfavorable el tratamiento quirúrgico durante los 12 meses de seguimiento para medir así la evolución de ambos grupos. Para el estudio estadístico se utilizó el test Mantel-Cox con el nivel de significación estadística establecido en $p < 0,05$.

Figura 2. Esquema de estudio. *Muestras tomadas sólo en los últimos 8 pacientes.



RESULTADOS



RESULTADOS

1.- Estudio de confirmación de actividad y expresión, de MMP-9 y MMP-2 en muestra de pólipos nasal frente a muestra control

1.1.- Caracterización de la muestra

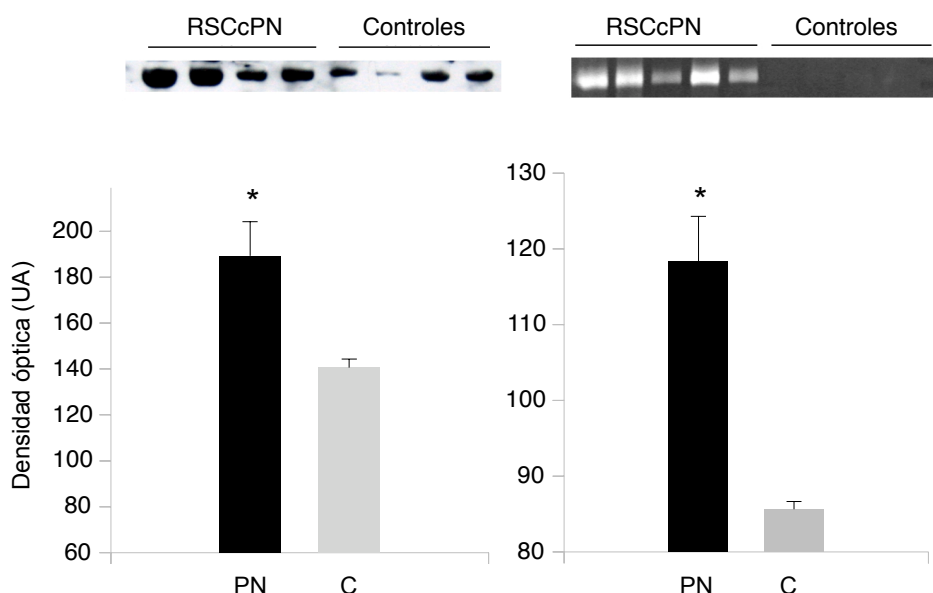
La media \pm desviación estándar de edad en el grupo de RScPN fue $39,6 \pm 11,1$ (intervalo, 26-68) años, frente a $31,8 \pm 7,8$ (intervalo, 19-42) años en el grupo control. La distribución por sexos fue: 60% varones y 40% mujeres en el grupo de poliposis y 53,3% varones y 46,7% mujeres en el grupo control. El 20% de los pacientes con RSC se declaró fumador (10 o menos cigarrillos/día) frente al 33,5% de los controles (sólo uno fumaba más de medio paquete/día). No se observó diferencia estadísticamente significativa en ninguna de las variables demográficas entre ambos grupos. En cuanto al grupo de pacientes con RSCcPN, el 60% tenía poliposis de grado III según la clasificación de Lildholt (Lildholdt et al., 1997), los demás presentaban grado II.

1.2.- Actividad y expresión de MMP-9 en muestra de pólipo nasal frente a muestra control

El análisis de los niveles proteicos mediante western-blot demostró una mayor expresión de MMP-9 en los pacientes con poliposis nasal (valor de mediana, 189,3 UA; RI, 162-204,2) que en el grupo control (140,6 UA; RI, 110-144,3) (fig. 1). Además, esta mayor expresión se correlacionó con una mayor actividad enzimática de MMP-9 determinada mediante cimografía, ya que los pacientes

afectados de RSCcPN mostraron una mayor actividad (118,3 UA; RI, 101,5-124,2) que los controles (85,6 UA; RI, 85-86,5) (figura 1). Por tanto, como resumen, nuestros resultados mostraron mayores niveles de MMP-9 en las muestras de pólipo nasal que las muestras de mucosa nasal sana procedentes de pacientes control.

Figura 1. Niveles proteicos y actividad de MMP-9 en pólipo nasal y mucosa nasal sana. PN: Pacientes con RSCcPN. C: Controles ; UA: unidades arbitrarias. *Contraste de hipótesis: test de mediana, $p < 0,05$.

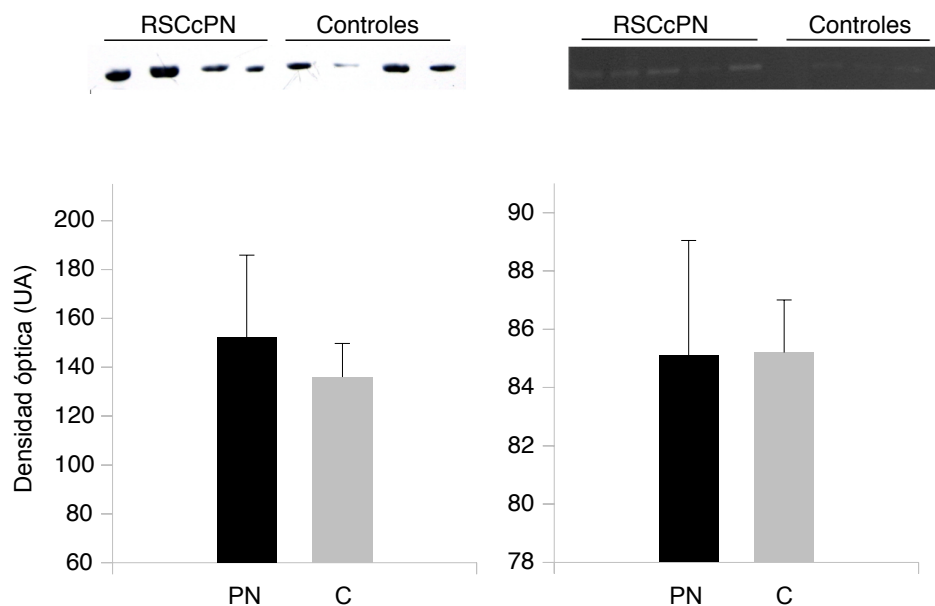


1.3.- Actividad y expresión de MMP-2 en muestra de pólipo nasal frente a muestra control.

La medida de expresión proteica de MMP-2 mediante Western blot no reveló diferencias estadísticamente significativas entre el grupo afectado por RSCcPN (152,3 UA; RI, 118,7-185,9) y el grupo control (136 UA; RI, 104-149,7) (figura 2).

Del mismo modo, tampoco se encontraron diferencias al evaluar su actividad enzimática mediante zimografía. La densidad óptica obtenida fue de 85,1 UA (RI, 83,3-89) en los pacientes con RSCcPN frente a 85 UA (RI, 83,4-87) en los controles (figura 2).

Figura 2. Niveles proteicos de MMP-2 en pólipo nasal y mucosa nasal sana. RSCPN: Pacientes con RSCcPN. C: Controles; UA: unidades arbitrarias. Contraste de hipótesis: test de mediana, $p > 0,05$.



2.- Estudio de la relación entre los niveles de ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestra de pólipo nasal con la gravedad de la enfermedad, el grado de respuesta a tratamiento con corticoides y el curso de la RSCcPN

2.1.- Caracterización de la muestra

La media \pm desviación estándar de edad de los pacientes con RSCcPN fue de $49,1 \pm 13,6$ (intervalo, 24-78) años. La distribución por sexos fue: 60% (12)

hombres y 40% (8) mujeres. Según la clasificación endoscópica de poliposis nasal, 5% (1) poliposis grado I, 60% (12) poliposis de grado II y 35% (7) poliposis grado III. En la tabla 1 aparece resumido el resto de valoraciones clínicas de la muestra.

Tabla 1. Resultados de la medición mediante EVA, olfatometría y escala Lund-Mackay en la muestra de 20 pacientes con RSCcPN.

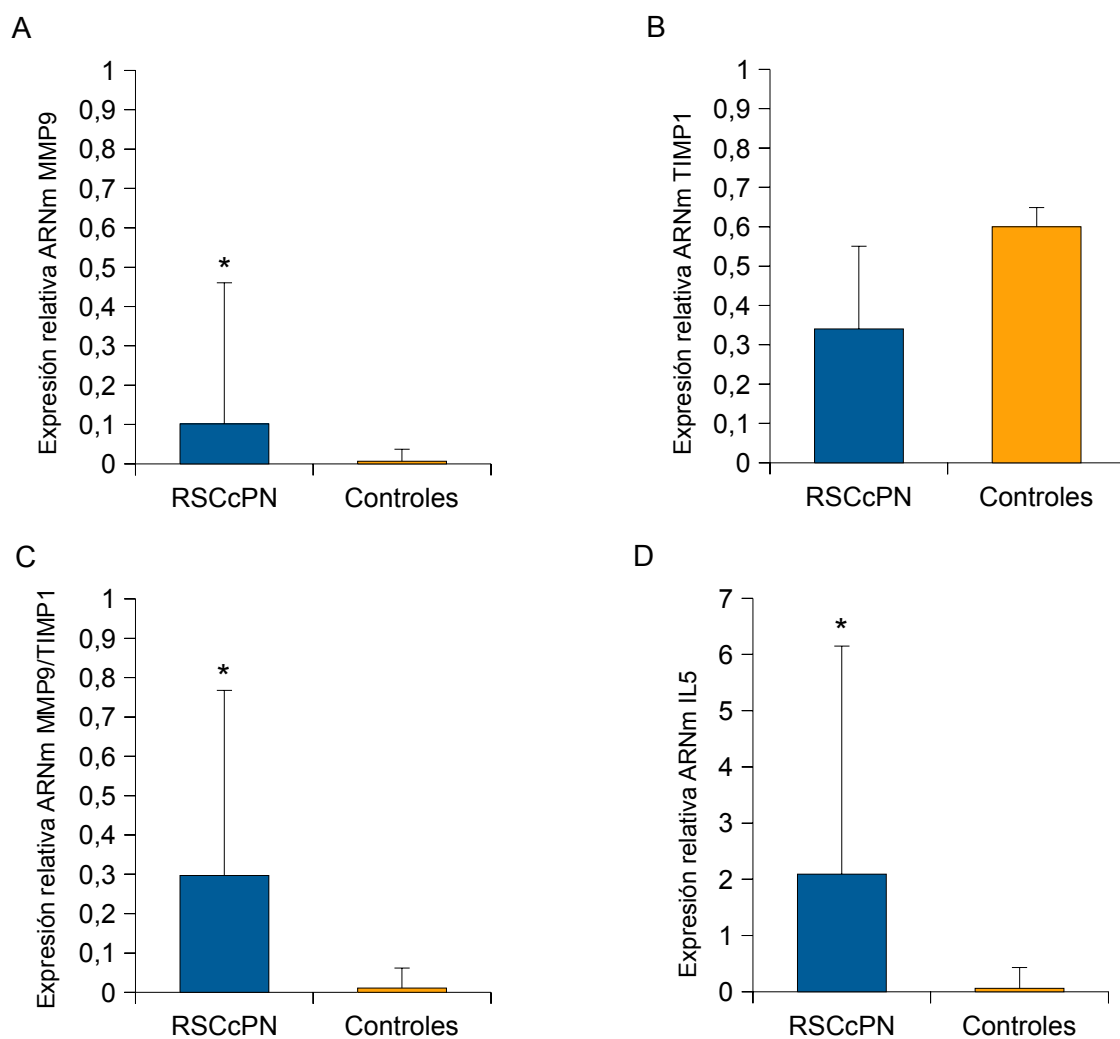
Medición	Media	Intervalo
EVAo	6,03	1,4-8,3
EVAr	5,96	1,1-9,5
EVAh	5,06	0-10
EVAp	2,82	0-7,9
EVAc	4,97	0,85-8,03
Olfatometría	3,34	0-7
Lund-Mackay	14,07	3-21

De la muestra control, el 70% (7) de los pacientes eran varones frente al 30% (3) que eran mujeres.

2.2.- Niveles de ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 en muestras de pólipos nasal

En la determinación de ARNm de todas las proteínas estudiadas, se procesaron, como controles, muestras de mucosa de pacientes intervenidos de hipertrofia de cornetes inferiores sin otra patología nasosinusal. Nuestros resultados confirman un aumento en los niveles de *IL-5*, *MMP-9* y en el cociente *MMP-9/TIMP-1* de las muestras de RSCcPN frente a controles (figura 3).

Figura 3. Niveles de *MMP-9*, *TIMP-1* e *IL-5* en pacientes con RSCcPN y pacientes control. Contraste de hipótesis: test U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$.



Gen	RSCcPN		Controles		p
	mediana	P 25-75	mediana	P 25-75	
MMP-9	0,1	0,008-0,46	0,01	0,001-0,037	0,031*
TIMP-1	0,34	0,28-0,55	0,6	0,52-0,65	0,11
MMP-9/TIMP-1	0,3	0,03-0,77	0,01	0,001-0,06	0,016*
IL-5	2,09	0,17-6,15	0,06	0-0,43	0,012*

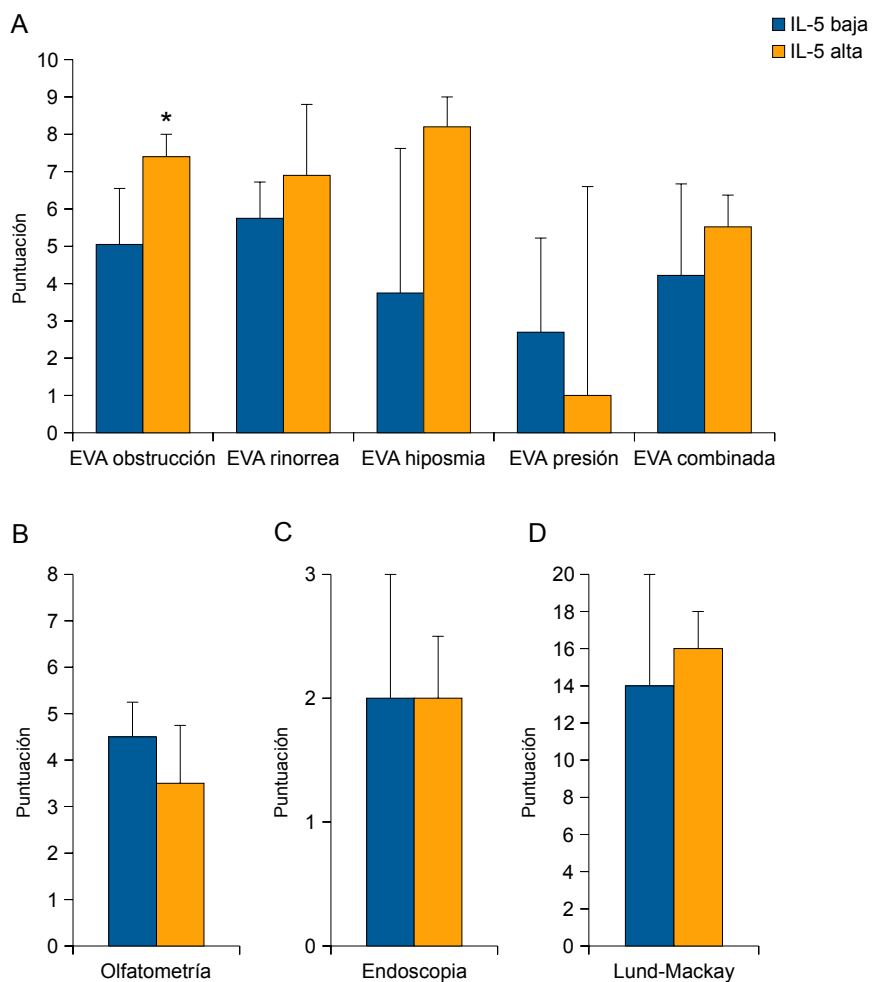
2.3.- Relación entre los niveles de ARNm de MMP-9, TIMP-1 e IL-5 con la gravedad de la enfermedad

El estudio de la relación entre los niveles de *IL-5*, *MMP-9* y *TIMP-1* con la severidad de la enfermedad reveló que el grupo de los pacientes con mayor concentración de *IL-5* presentaba una puntuación más severa en la EVA obstrucción nasal que los pacientes con baja concentración (mediana 7,4 vs 5,05 $p=0,013$) (figura 4A). El resto de valoraciones, EVA rinorrea, hiposmia, olfatometría, hallazgos endoscópicos y radiológicos, presentaban una tendencia a peor puntuación en los pacientes con altos niveles de *IL-5 versus* los pacientes con menor concentración, aunque no se demostró significación estadística (figura 4A, B, C y D).

El estudio de los niveles de *MMP-9* (figura 5A, B y C), *TIMP-1* (figura 6A, B y C) y el cociente *MMP-9/TIMP-1* (figura 7A, B y C) no reveló ninguna relación con la puntuación obtenida con EVA combinado o por síntomas, ni con la olfatometría ni con la extensión de la enfermedad evaluada en TC.

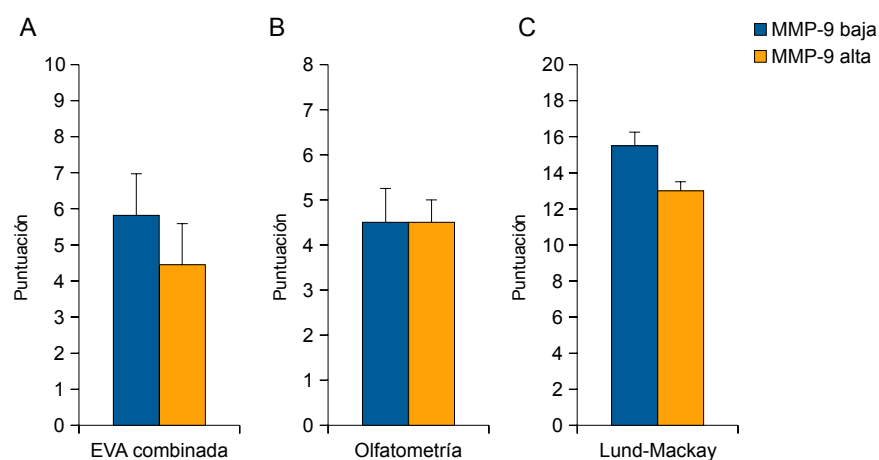
Resultados

Figura 4. Puntuaciones clínicas obtenidas según pacientes con nivel alto o bajo de IL-5. Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$.



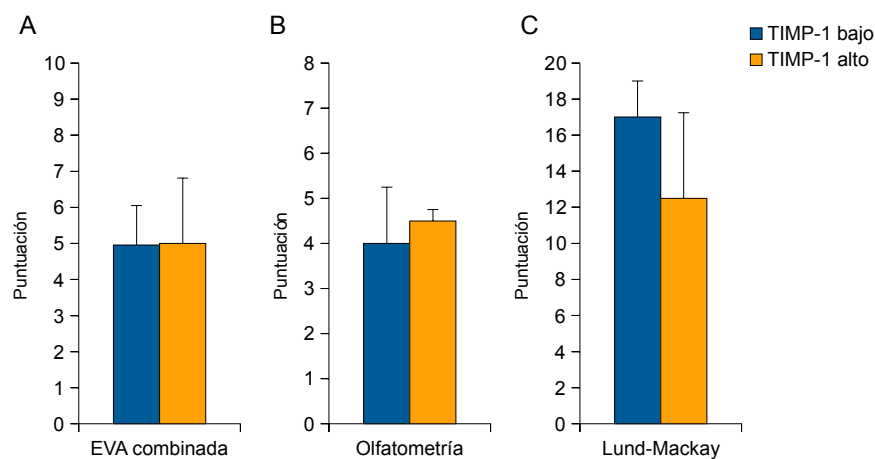
Variable	IL-5 baja		IL-5 alta		p
	mediana	P 25-75	mediana	P 25-75	
EVA obstrucción	5,05	4,32-6,55	7,4	5,90-8,0	0,013*
EVA rinorrea	5,75	4,50-6,72	6,9	4,2-8,8	0,32
EVA hiposmia	3,75	0,60-7,62	8,2	2,65-9,0	0,133
EVA presión	2,7	0-5,22	1	0-6,6	0,842
EVA combinada	4,22	2,44-6,67	5,52	4,47-6,37	0,13
Olfatometría	4,5	2,62-5,25	3,5	0-4,75	0,28
Endoscopia	2	2,0-3,0	2	2,0-2,5	0,4
Lund-Mackay	14	8,0-20,0	16	11,0-18,0	0,96

Figura 5. Puntuaciones clínicas obtenidas según pacientes con nivel alto o bajo de *MMP-9* Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$.



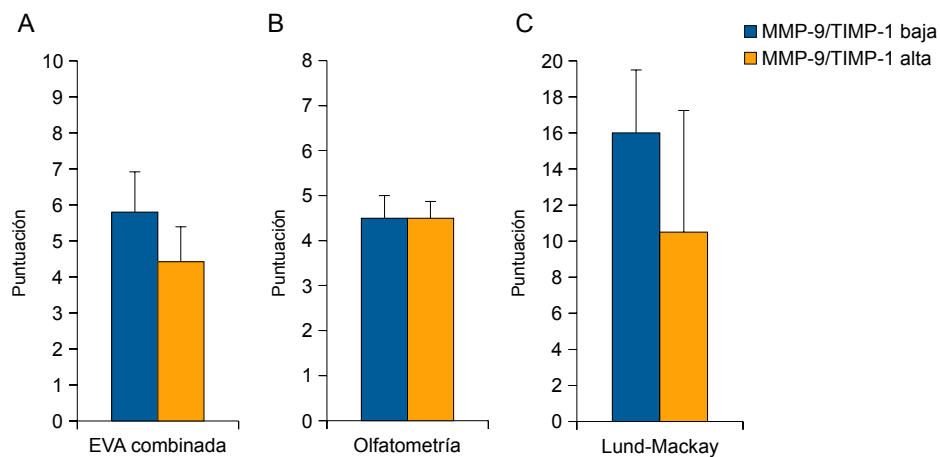
Variable	MMP-9 baja		MMP-9 alta		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
EVA combinada	5,82	4,29-6,97	4,45	3,76-5,59	0,095
Olfatometría	4,5	0-5,25	4,5	0,37-5	0,968
Lund-Mackay	15,5	11,75-18,75	13	7,0-18,0	0,229

Figura 6. Puntuaciones clínicas obtenidas según pacientes con nivel alto o bajo de *TIMP-1*. Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$.



Variable	TIMP-1 bajo		TIMP-1 alto		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
EVA combinada	4,96	2,44-6,05	5	4,26-6,81	0,447
Olfatometría	4	0-5,25	4,5	0,25-4,75	0,905
Lund-Mackay	17	13,0-19,0	12,5	8,75-17,25	0,475

Figura 7. Puntuaciones clínicas obtenidas según pacientes con nivel alto o bajo de *MMP-9/TIMP-1*. Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$.

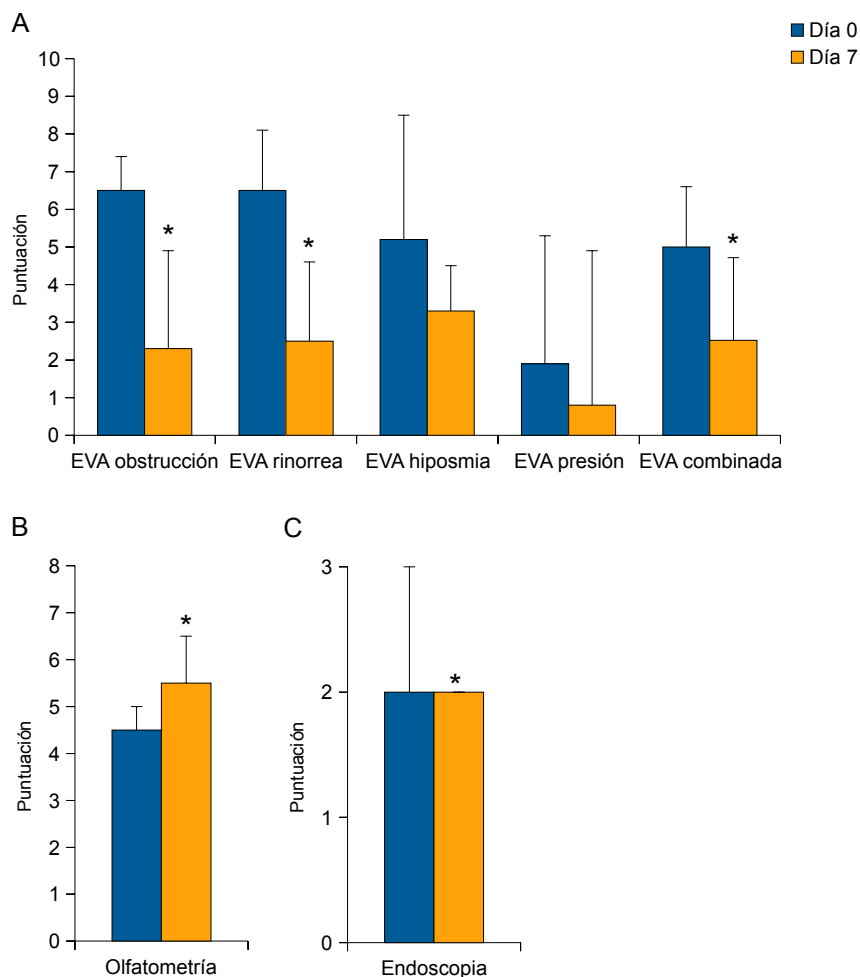


Variable	MMP-9/TIMP-1 pretto baja		MMP-9/TIMP-1 pretto alta		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
EVA combinada	5,8	4,27-6,92	4,42	2,88-5,39	0,062
Olfatometría	4,5	0-5	4,5	1,25-4,87	0,840
Lund-Mackay	16	12,5-19,5	10,5	6,0-17,25	0,060

2.4.- Efecto del tratamiento con corticoides orales sobre la RSCcPN

Tras una semana de tratamiento con corticoides orales, los pacientes mostraron una mejoría estadísticamente significativa tanto en la valoración subjetiva, con una mejoría en la EVA combinada, como en las objetivas, valoración endoscópica y olfatometría (figura 8A, B y C).

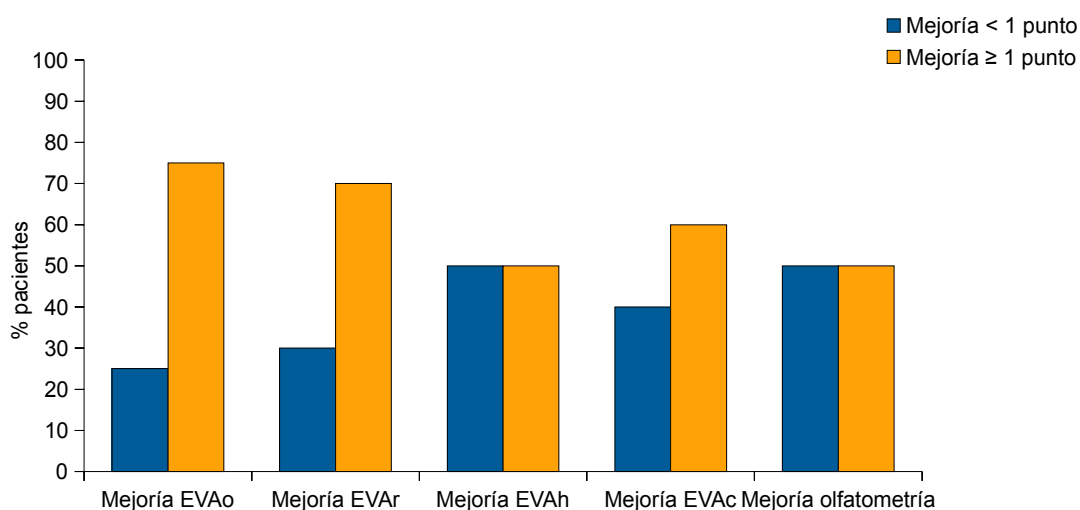
Figura 8. Cambios en puntuaciones clínicas tras tratamiento. Estudio estadístico (valoración día 0 versus día 7 de tratamiento) mediante test no paramétrico de muestras relacionadas (Wilcoxon). * $p < 0,05$.



Variable	Día 0		Día 7		p
	mediana	P25-P75	mediana	P25-75	
EVA obstrucción	6,5	5,0-7,4	2,3	1,0-4,9	0,000*
EVA rinorrea	6,5	4,5-8,1	2,5	0,7-4,6	0,000*
EVA hiposmia	5,2	0,9-8,5	3,3	0,6-4,5	0,103
EVA presión	1,9	0-5,3	0,8	0-4,9	0,244
EVA combinada	5	4,2-6,6	2,52	0,95-4,72	0,001*
Olfatometría	4,5	0-5	5,5	5,0-6,5	0,002*
Endoscopia	2	2,0-3,0	2	1,0-2,0	0,007*

No obstante, no todos los pacientes mejoraron de forma importante tras el tratamiento con corticoides. En un porcentaje no desdeñable, la mejoría fue clínicamente irrelevante. Respecto a la EVAc, un 40% de los pacientes experimentaron una mejoría menor de 1 punto (de escala de 0-10) tras el tratamiento. Por síntomas, mejoraron menos de un punto un 25% de los pacientes cuando se midió EVAo, un 30% en el caso de EVAr y un 50% en el de EVAh. Respecto a la olfatometría, sólo un 50% mejoró uno o más puntos tras el tratamiento (figura 9).

Figura 9. Distribución de los pacientes según mejoría menor, o igual o mayor de 1 punto en las escalas EVA y olfatometría tras tratamiento con CC orales.



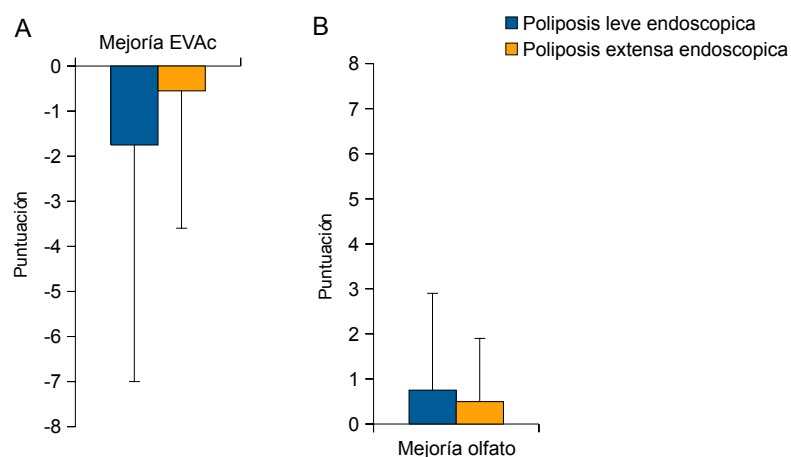
2.4.1.- Identificación de parámetros clínicos predictores de sensibilidad a terapia corticoidea

Se buscó relacionar el tamaño de los pólipos pretratamiento, evaluado mediante endoscopia, con la mejoría clínica de la enfermedad tras tratamiento. Los pacientes fueron divididos en dos grupos, un grupo de poliposis leve

endoscópica, que incluía aquellos pacientes con poliposis grado I y II de Lildholdt, y un grupo de pacientes con poliposis extensa endoscópica, con los pacientes con poliposis grado III de Lildholdt. Por otro lado, también se dividió a los pacientes en dos grupos según la extensión de la enfermedad a nivel nasosinusal, evaluado en TC, en pacientes con poliposis leve radiológica, pacientes cuya puntuación en la escala Lund-Mackay estaba por debajo del valor de mediana de todo el grupo, y los pacientes con poliposis extensa radiológica, con valores por encima de la mediana.

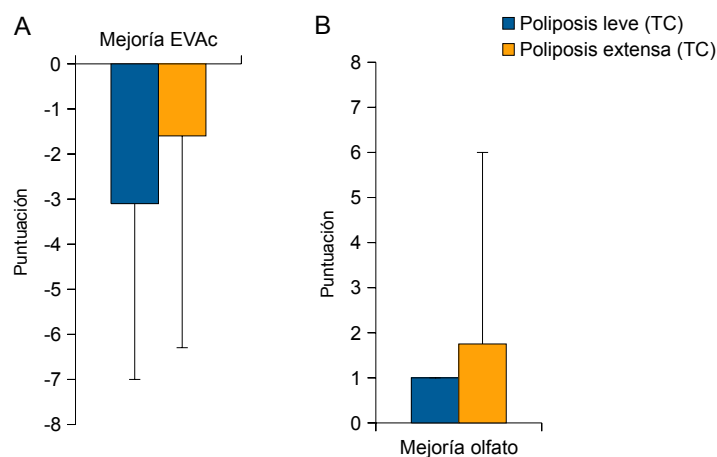
Nuestros resultados muestran que los pacientes con poliposis más extensas no mejoraban de manera distinta de los pacientes con enfermedades más leves (figuras 10 A-B y 11 A-B). Ninguno de los parámetros clínicos evaluados predijo la sensibilidad a los corticoides.

Figura 10. Diferencias en la respuesta a tratamiento según grado de poliposis medido mediante endoscopia nasal . Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney.



Variable	Poliposis leve endoscópica		Poliposis extensa endoscópica		p
	mediana	P25-P75	mediana	P25-75	
Mejoría EVAc	1,75	1,6-7	0,55	(-0,25)-3,6	0,053
Mejoría olfato	0,75	0,12-2,9	0,5	(-0,12)-1,9	0,437

Figura 11. Diferencias en la respuesta a tratamiento según extensión de enfermedad nasosinusal medida mediante TC. Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney.



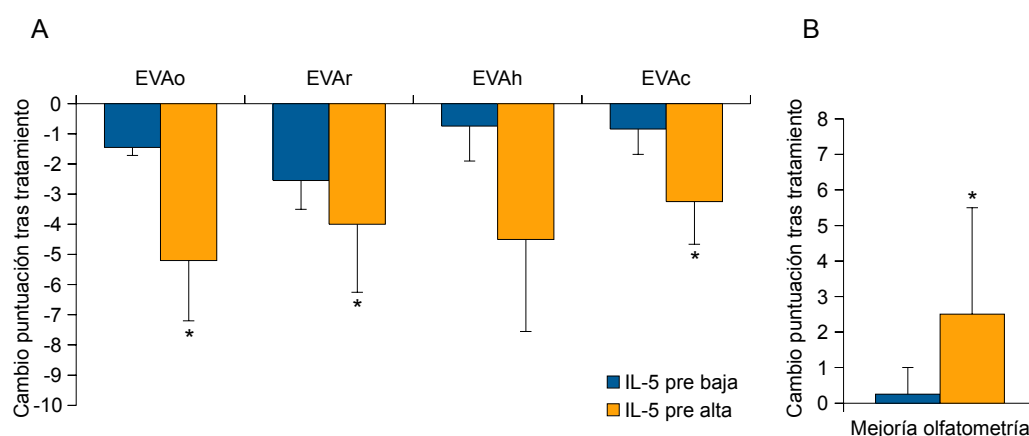
Variable	Poliposis leve radiológica		Poliposis extensa radiológica		p
	mediana	P25-P75	mediana	P25-75	
Mejoría EVAc	3,1	0,7-7	1,6	0,4-6,3	0,094
Mejoría olfato	1	0-1	1,75	0-6	0,463

2.4.2.- Estudio de la relación entre los niveles pretratamiento de *IL-5*, *MMP-9* y *TIMP-1* y eficacia de los corticoides orales sobre la mejoría clínica de la RSCcPN

Para evaluar el papel pronóstico de los niveles de *MMP-9*, *TIMP-1* e *IL-5* pretratamiento con la mejoría clínica de la RSCcPN tras tratamiento, se dividió a los pacientes en dos grupos, según la expresión de ARNm pretratamiento, alta o baja, tomando como valor de corte la mediana de ARNm obtenido. Los pacientes con alta expresión de *IL-5* pretratamiento mejoraron de forma más relevante, tras una semana de tratamiento con corticoides orales, en las valoraciones EVAc (figura 12A y 13G-H), EVAo (figura 12A y 13A-B), EVAr

(figura 12A y 13E-F) y olfatometría (figura 12B y 13I-J). El análisis de los datos demostró correlación lineal estadísticamente significativa entre la concentración de *IL-5* y la mejoría EVAc (Rho de Spearman $r=0,690$ $p=0,001$) (figura 14A) y olfatometría (Rho de Spearman $r=0,553$ $p=0,011$) (figura 14B). El estudio de la expresión de *MMP-9* (figura 15A, B, C y D), *TIMP-1* (figura 16A, B, C y D) y el cociente *MMP-9/TIMP-1* (figura 17A, B, C y D) no reveló ninguna relación entre su expresión pretratamiento y la mejoría clínica tras el tratamiento.

Figura 12. Mejoría de las puntuaciones EVA y olfatometría tras tratamiento según el nivel de expresión de *IL-5* pretratamiento. Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney. * $p<0,05$



Variable	IL-5 pretratamiento baja		IL-5 pretratamiento alta		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
Mejoría EVAo	1,45	0,62-1,72	5,2	2,9-7,2	0,006*
Mejoría EVAr	2,55	0,57-3,5	4	2,35-6,25	0,027*
Mejoría EVAh	0,75	-3,68-1,9	4,5	0,05-7,55	0,072
Mejoría EVAc	0,84	-0,5-1,68	3,25	2,59-4,66	0,002*
Mejoría olfatometría	0,25	0-1	2,5	0,75-5,5	0,023*

Resultados

Figura 13. Evolución de la puntuaciones de la EVA y olfatometría respecto a la puntuación original según el nivel de expresión de *IL-5* medido pretratamiento. Estudio estadístico mediante U Mann-Whitney. * $p < 0,05$.

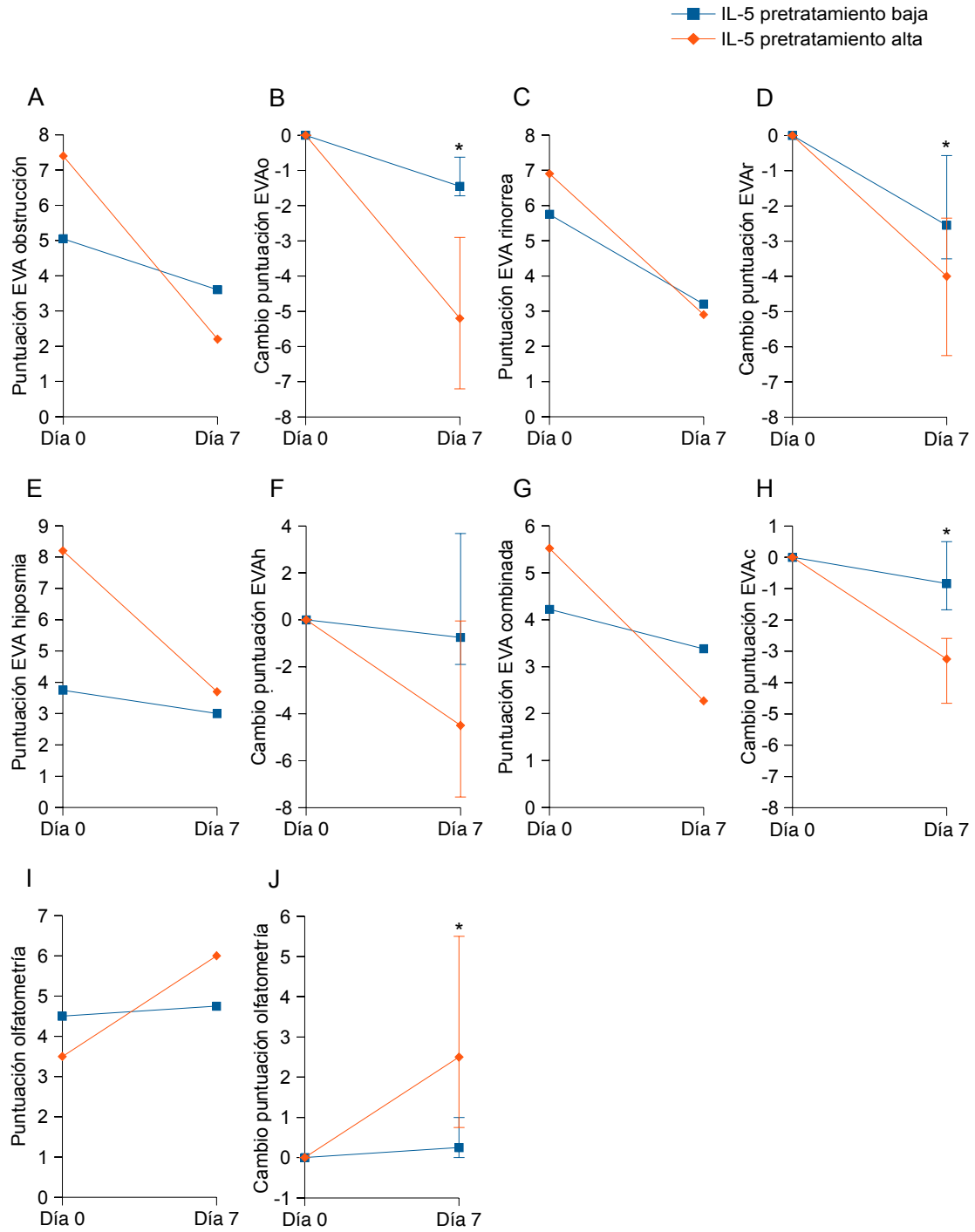


Figura 14. Correlación entre mejoría en la escala EVA y la olfatometría tras tratamiento con los niveles de IL-5 pretratamiento.

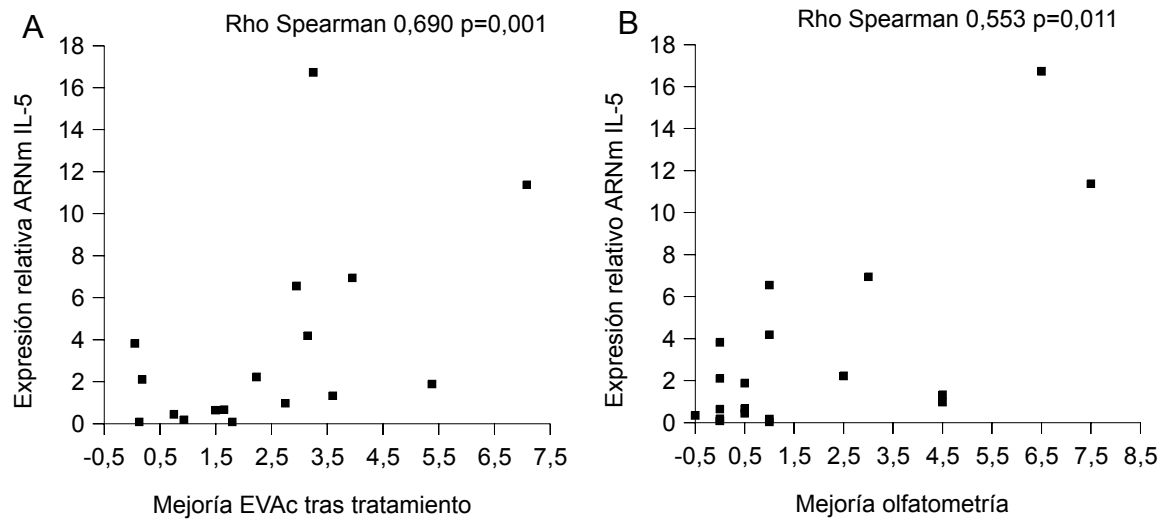
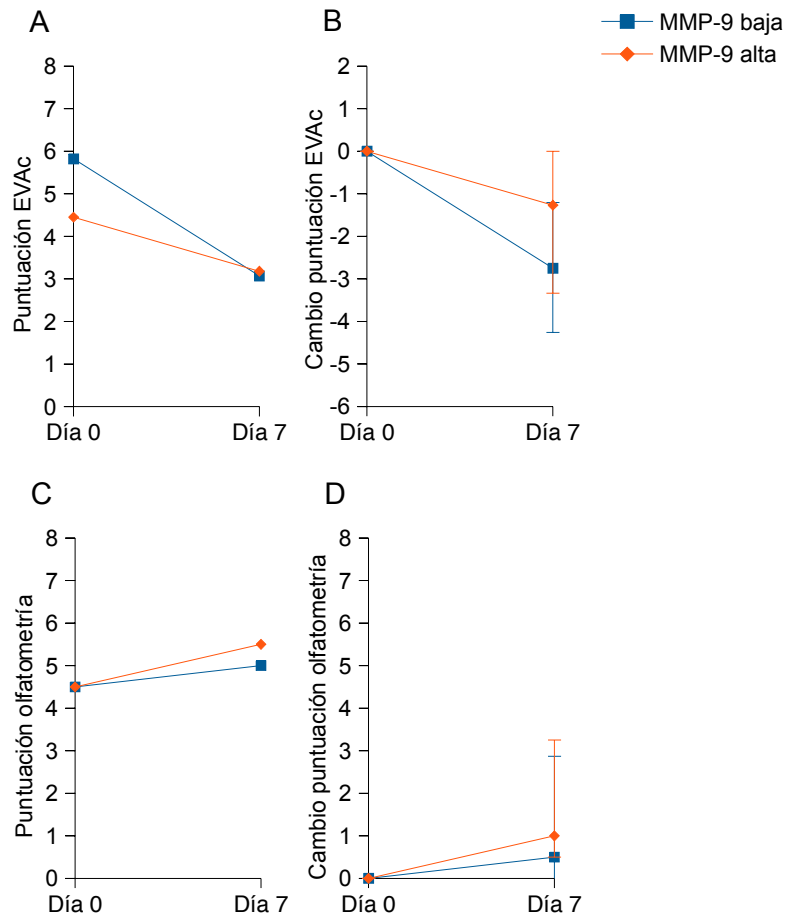
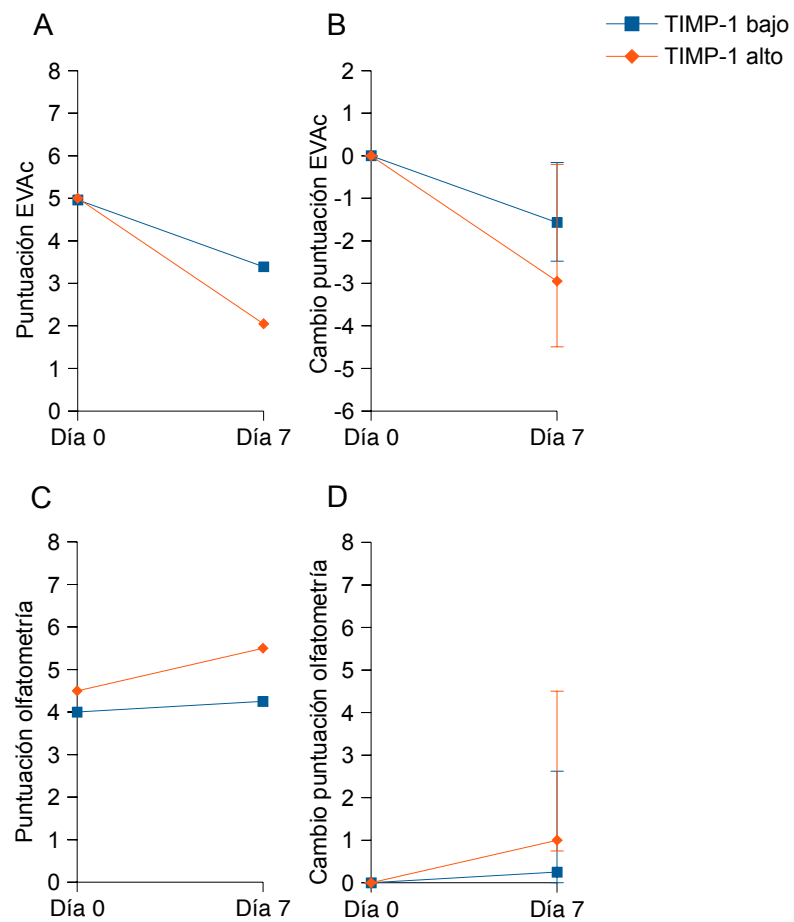


Figura 15. Mejoría de las puntuaciones EVA y olfatometría tras tratamiento según el nivel de expresión de *MMP-9* pretratamiento. Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney.



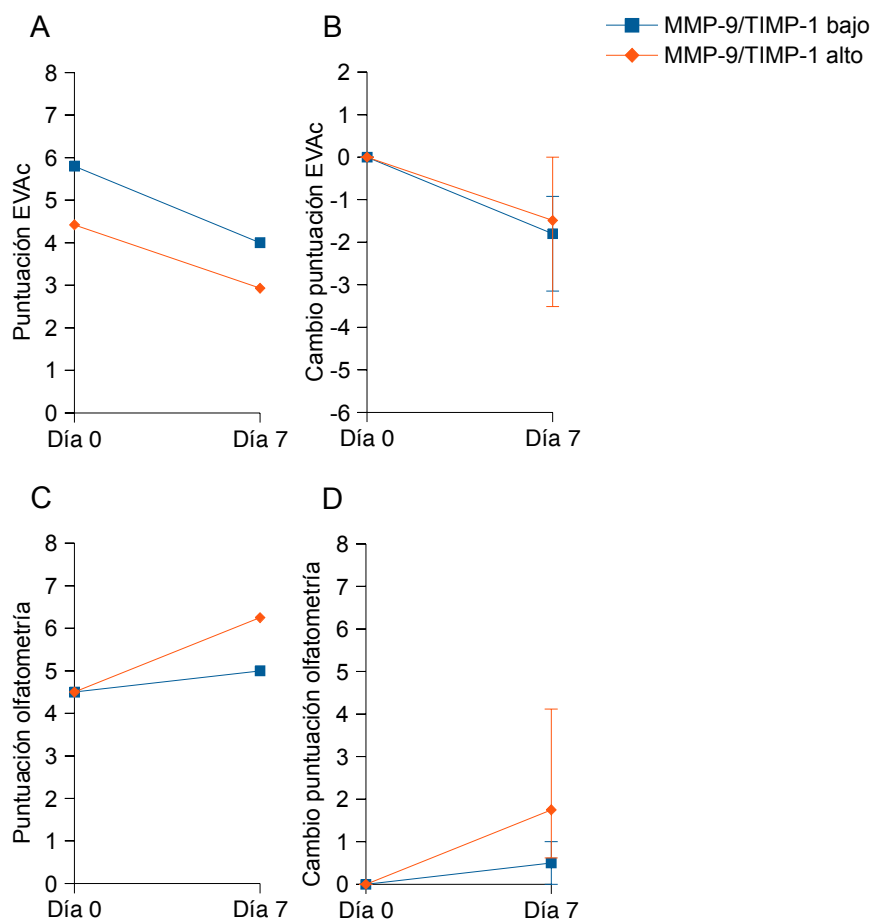
Variable	MMP-9 pretto baja		MMP-9 pretto alta		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
Mejoría EVAc	2,75	1,21-4,26	1,27	0-3,34	0,243
Mejoría olfato	0,5	0-2,75	1	0-3,37	0,780

Figura 16. Mejoría de las puntuaciones EVA y olfatometría tras tratamiento según el nivel de expresión de *TIMP-1* pretratamiento. Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney.



Variable	TIMP-1 pretto baja		TIMP-1 pretto alta		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
Mejoría EVAc	1,57	0,16-2,48	2,95	0,2-4,49	0,278
Mejoría olfato	0,25	0-2,62	1	0,75-4,5	0,113

Figura 17. Mejoría de las puntuaciones EVA y olfatometría tras tratamiento según el nivel de expresión de *MMP-9/TIMP-1* pretratamiento. Estudio estadístico mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney.



Variable	MMP-9/TIMP-1 pretto baja		MMP-9/TIMP-1 pretto alta		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
Mejoría EVAC	1,8	0,92-3,15	1,49	0-3,51	0,492
Mejoría olfato	0,5	0-1	1,75	0,62-4,12	0,206

2.4.3.- Estudio de la relación entre los niveles pretratamiento de *IL-5* y eficacia de los corticoides orales en la mejoría clínica de la RSCcPN.

Resultados de inmunohistología

En un grupo de ocho pacientes se tomaron muestras para el estudio inmunohistoquímico, observando variedad en la expresión de *IL-5* y de infiltración por eosinófilos entre los diferentes pacientes (figura 18). Nuestros resultados confirmaron los datos obtenidos del estudio de RT-PCR, demostrando que los pacientes con mayor expresión de *IL-5* pretratamiento respondían de forma mucho más eficaz a los corticoides orales, reflejando una relación lineal entre el número de células *IL-5* positivas previo al tratamiento y la mejoría medida en la EVAc y en la olfatometría (figura 19).

Estudiando la posible confusión que el grado de infiltración eosinofílica podría provocar en nuestros resultados, dado que los eosinófilos constituyen una de las fuentes de producción de *IL-5*, dividimos a los ocho pacientes en dos grupos, según mediana de número de eosinófilos por campo, 39,5 (máximo 45, mínimo 32) que denominamos pólipos eosinófilos vs 19,8 (máximo 26, mínimo 17,6) eosinófilos por campo, que denominamos pólipos inflamatorios. Observamos que los casos con pólipos infiltrados por abundantes eosinófilos, los niveles de células *IL-5* positivas estaban aumentados, de manera estadísticamente significativa (figura 20). No obstante, no observamos relación lineal entre el número de eosinófilos y el de células positivas para *IL-5* (figura 21). Este hecho estaría explicado por el hallazgo de otras fuentes celulares en el pólipo nasal de *IL-5* no eosinofílicas (figura 22A y B). Aún así, comprobamos como tampoco se cumplía ninguna relación lineal entre número de eosinófilos y la mejoría clínica, medido por EVAc y olfatometría, tras tratamiento (figura 21).

Figura 18. Localización de los marcadores IL-5 y MBP en pólipo nasal. A y B. Micrografías representativas de la co-localización de IL-5 (verde) y el marcador de eosinófilos MBP (rojo) previo a tratamiento con corticoides orales. A Pólipo inflamatorio con bajo nivel de IL-5. B Pólipo eosinófilo con altos niveles de IL-5. C. Control negativo para marcadores IL-5 y MBP. Barra de escala 25 μ M.

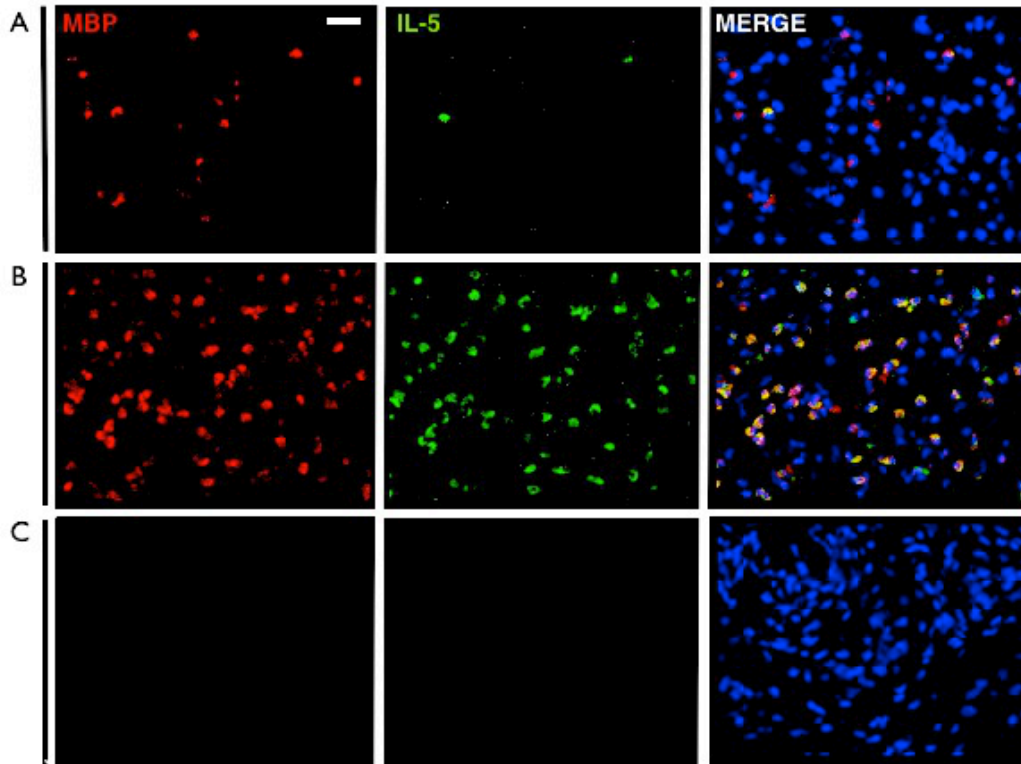


Figura 19. Correlación lineal entre el número de células IL-5+ y la mejoría en la EVAc y olfatometría tras tratamiento con corticoides orales.

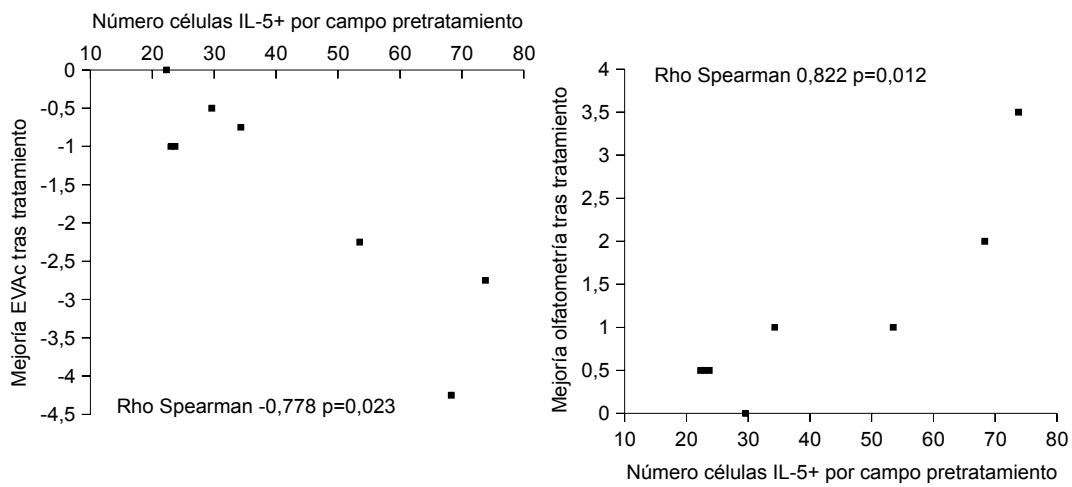
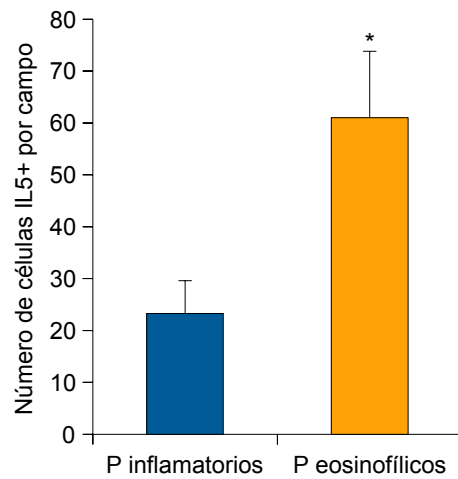


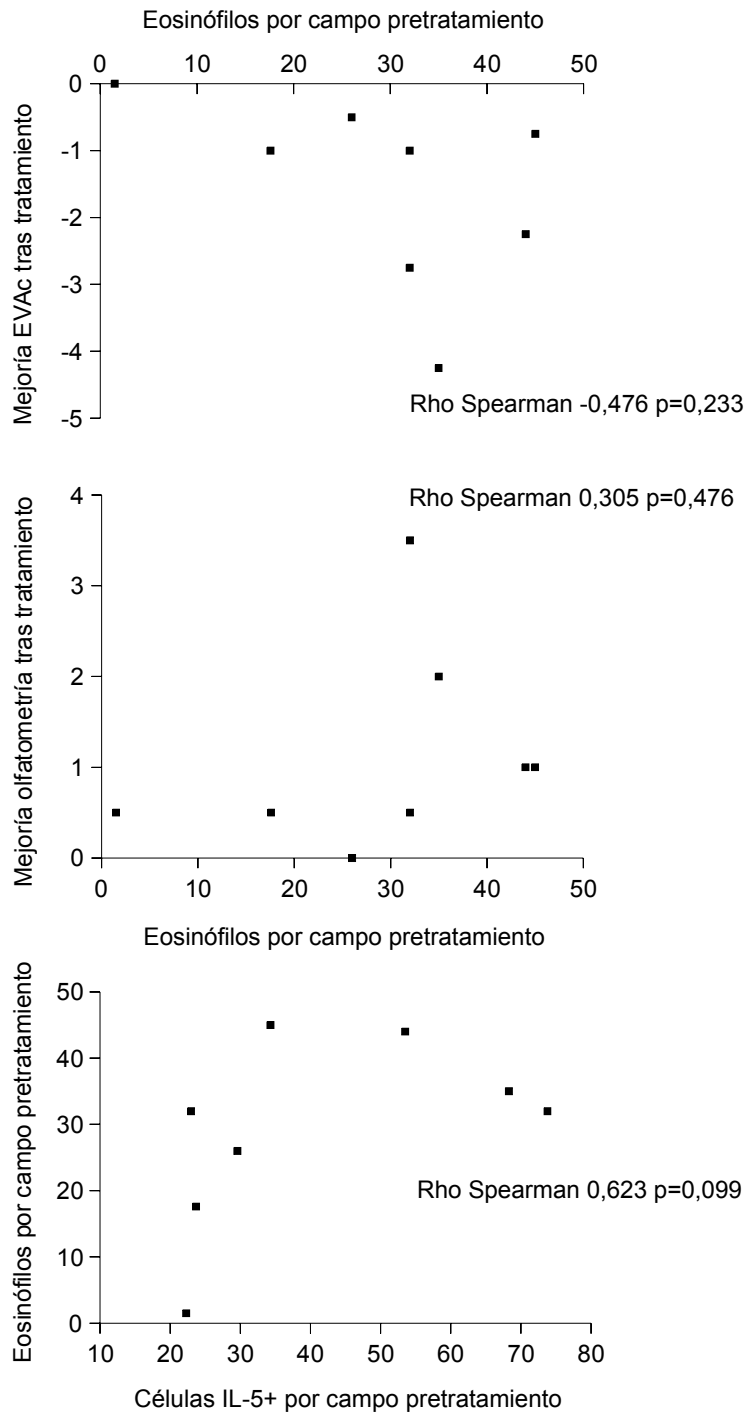
Figura 20. Diferencia de número de células IL-5 positivas en pólipos eosinofílicos e inflamatorios. Contraste de hipótesis mediante test U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$.



Variable	Pólipos eosinófilos		Pólipos inflamatorios		p
	Mediana	Min-Max	Mediana	Min-Max	
Número células IL-5 ⁺	61	34,3-73,8	23,3	22,3-29,6	0,029*

Resultados

Figura 21. Ausencia de correlación lineal entre número de eosinófilos y número de células IL-5+ por campo pretratamiento. De igual modo, ausencia de correlación lineal entre número de eosinófilos por campo pretratamiento y mejoría EVAc y olfatometría tras tratamiento.



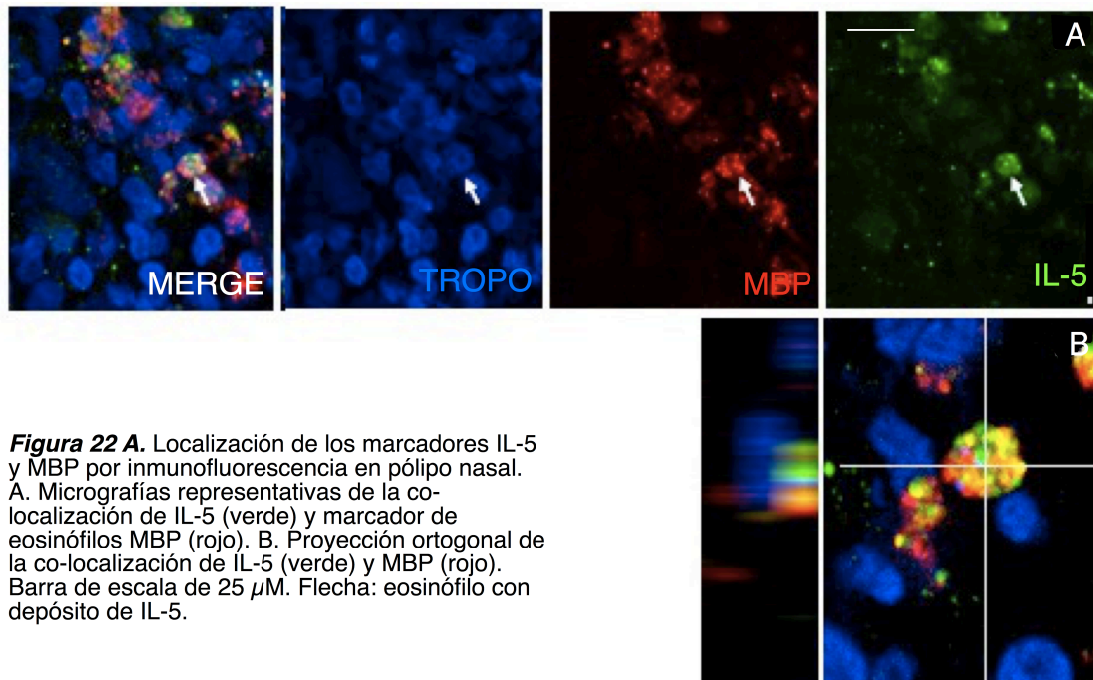


Figura 22 A. Localización de los marcadores IL-5 y MBP por inmunofluorescencia en pólipos nasales. A. Micrografías representativas de la co-localización de IL-5 (verde) y marcador de eosinófilos MBP (rojo). B. Proyección ortogonal de la co-localización de IL-5 (verde) y MBP (rojo). Barra de escala de 25 μ M. Flecha: eosinófilo con depósito de IL-5.

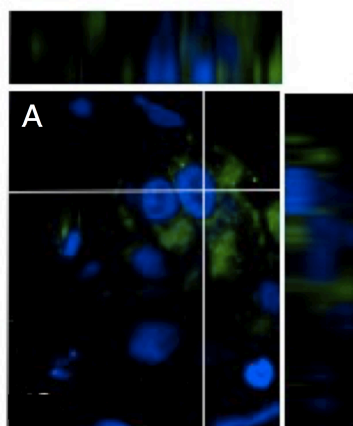
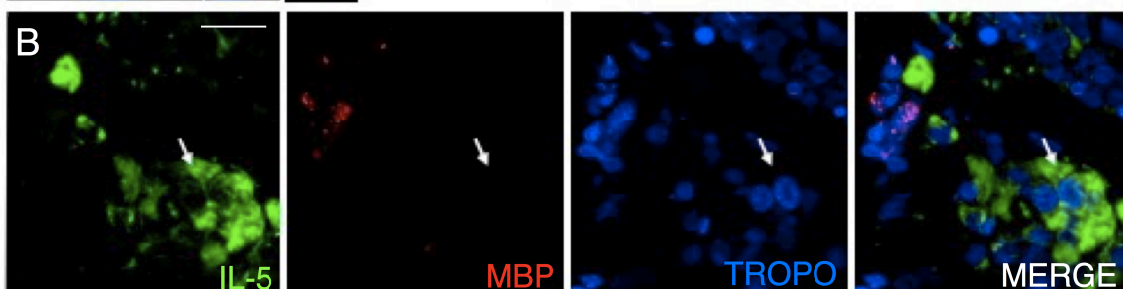


Figura 22 B. Localización de los marcadores IL-5 y MBP por inmunofluorescencia en pólipos nasales. A: Proyección ortogonal de la co-localización de IL-5 (verde) y ausencia de marcador de eosinófilos MBP (rojo), demostrando otras fuentes celulares de IL-5 diferente al eosinófilo. B: Micrografías representativas de la co-localización de IL-5 (verde) y marcador de eosinófilos MBP (rojo). Barra de escala 25 μ M. Flecha: célula no eosinofílica productora de IL-5.



2.4.4- Relación entre la variación de niveles pre y post-tratamiento de *IL-5*, *MMP-9* y *TIMP-1* con la mejoría clínica tras terapia con corticoides orales

En un subgrupo de ocho pacientes se comparó la respuesta de la enfermedad al tratamiento con corticoides orales con los cambios en los niveles de *IL-5*, *MMP-9* y *TIMP-1*. Se calculó primero el cambio de expresión de estos genes tras tratamiento según la fórmula valor ARNm pretratamiento – valor de ARNm posttratamiento. Si bien se observó disminución de los niveles de ARNm de *IL-5* y aumento de los de *MMP-9*, *TIMP-1* y *MMP-9/TIMP-1*, en ninguno de los casos se demostró que el cambio fuera estadísticamente significativo (tabla 2). Posteriormente se buscó relacionar a aquellos pacientes en los que los niveles de ARNm de *IL-5* disminuyeron más, tras tratamiento, con la mejoría clínica. Para ello, esta muestra de 8 pacientes se dividió en dos grupos, grupo con mayor disminución de *IL-5* tras tratamiento y grupo con menor disminución de *IL-5* tras tratamiento. El punto de corte fue el valor mediana de la disminución de *IL-5* tras tratamiento de los 8 pacientes. A pesar del tamaño reducido de la muestra, se observó una clara tendencia a una mayor mejoría en aquellos pacientes con disminución de *IL-5* tras tratamiento frente a los que no disminuyó, demostrándose diferencia estadísticamente significativa en la mejoría de la medición objetiva del olfato (figura 23 y 24). Los pacientes con descenso de la expresión local de este gen tras corticoides mejoraron 4,5 puntos (valor mediana) en la ofatometría frente a 0 puntos del grupo sin descenso. De hecho, se demostró relación lineal (coeficiente Rho de Spearman 0,812 p=0,014) entre la mejoría de la ofatometría y el descenso de la expresión del gen de *IL-5* (figura 25).

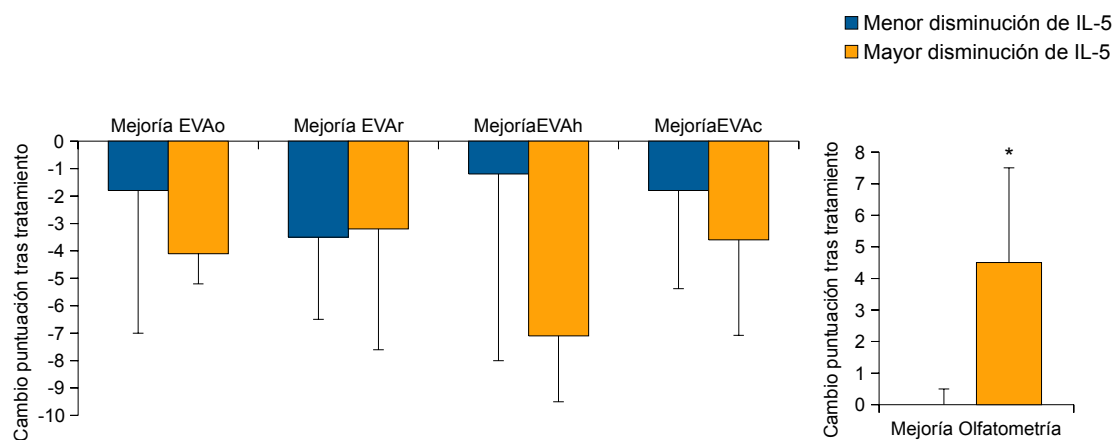
En la muestra estudiada, los niveles de *MMP-9* y (mediana -0,30;

máximo/mínimo -1,15/-0,01) y TIMP-1 (mediana 0,18; máximo/mínimo -0,18/0,85) no mostraron relación con cambios en la evaluación clínica tras tratamiento.

Tabla 2. Evolución de la expresión relativa de *IL-5*, *MMP-9*, *TIMP-1* y *MMP-9/TIMP-1* tras tratamiento. Contraste de hipótesis mediante test U de Mann-Whitney.

Variable	ARNm pretratamiento		ARNm posttratamiento		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
IL-5	0,97	0,19-4,18	0,35	0,09-0,91	0,208
MMP-9	0,0563	0,013-0,083	0,315	0,038-0,843	0,161
TIMP-1	1,004	0,98-1,34	1,15	1,02-1,193	0,401
MMP-9/TIMP-1	0,0493	0,013-0,085	0,2654	0,037-0,747	0,161

Figura 23. Cambio en la valoración de EVA combinado y olfatometría pretratamiento vs EVA combinado y olfatometría postratamiento según modificación de *IL-5*. Estudio estadístico (valoración pretratamiento versus post-tratamiento) mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney. *: $p < 0,05$.



Variable	Menor disminución <i>IL-5</i>		Mayor disminución <i>IL-5</i>		p
	Mediana	Max-Mín	Mediana	Max-Mín	
Mejoría EVAo	1,8	1,0-7,0	4,1	1,6-5,2	0,827
Mejoría EVAr	3,5	0,6-6,5	3,2	2,6-7,6	0,827
Mejoría EVAh	1,2	0,7-8	7,1	5,5-9,5	0,275
Mejoría EVAc	1,8	0,93-5,38	3,6	2,75-7,08	0,275
Mejoría olfatometría	0	0-0,5	4,5	4,5-7,5	0,029*

Resultados

Figura 24. Comparación del grupo de pacientes con mayor disminución en la expresión del gen IL-5, con los de menor disminución tras tratamiento, con la mejora de la EVA y olfatorimetría. Estudio estadístico mediante U Mann-Whitney. * $p < 0,05$.

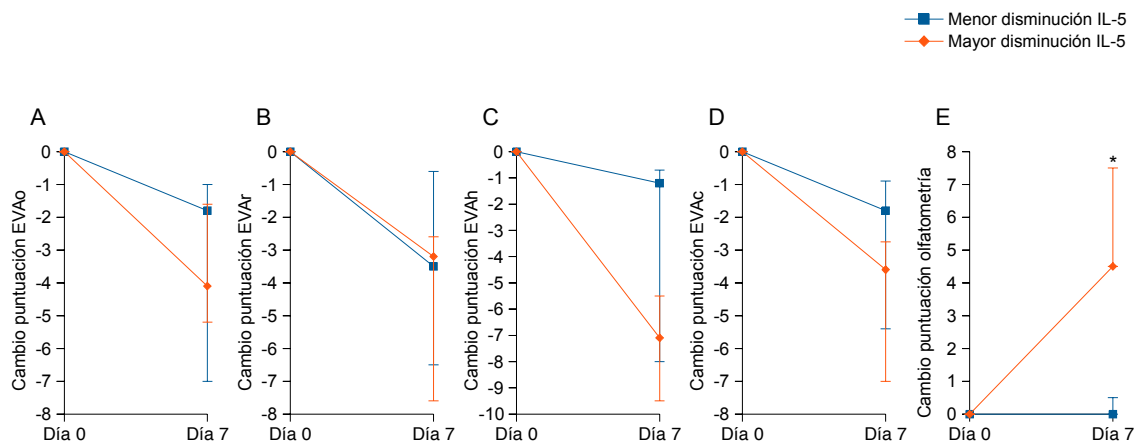
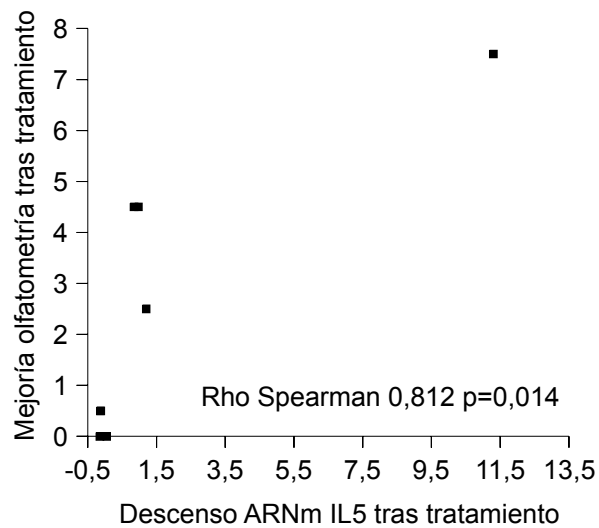


Figura 25. Correlación entre descenso de IL-5 pretratamiento y mejoría olfatorimetría tras tratamiento con corticoides. Test correlación no paramétrica Rho de Spearman.

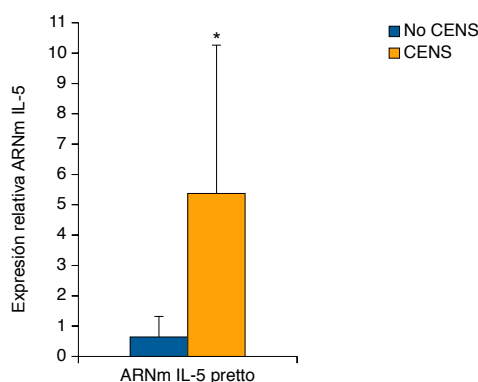


2.4.5.- Relación entre niveles pretratamiento de *IL-5*, *MMP-9* y *TIMP-1* y la evolución de la enfermedad.

Los pacientes fueron seguidos al menos durante 12 meses, tiempo en el que se registró si alguno de los pacientes de la muestra fue intervenido. Del total de pacientes de la muestra, 8 (40%) fueron intervenidos mediante CENS. El grupo de pacientes intervenidos durante el año de seguimiento mostraba una mayor expresión de *IL-5* (valor mediana de *IL-5* grupo no intervenido 0,64 vs 5,37 del grupo intervenido $p=0,029$) (figura 26). No se demostró relación en los niveles de *MMP-9* o *TIMP-1* y la necesidad de CENS durante el año de seguimiento.

Mediante el método de Kaplan-Meyer y Log Rank (Mantel-Cox) se compararon aquellos pacientes con mayor concentración de *IL-5* con los de menor concentración, demostrando que los primeros tienen peor control de su patología a lo largo del tiempo, requiriendo tratamiento quirúrgico con más frecuencia, que aquellos pacientes con baja expresión (figura 27).

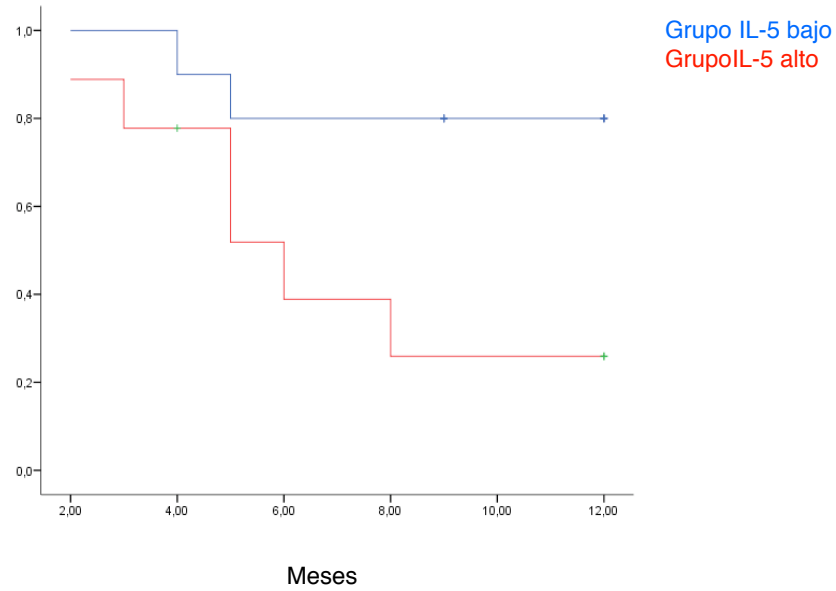
Figura 26. Comparación de los niveles de *IL-5* de los pacientes sometidos o no a CENS durante 12 meses de seguimiento. Estudio estadístico mediante U Mann-Whitney. * $p < 0,05$.



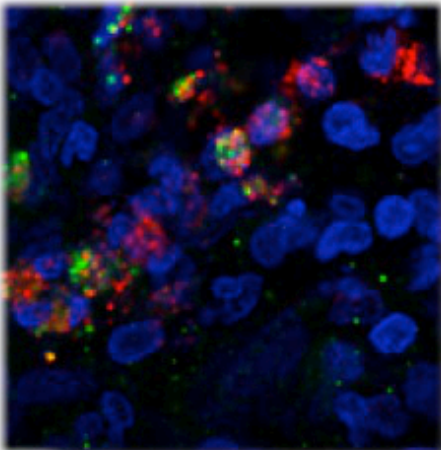
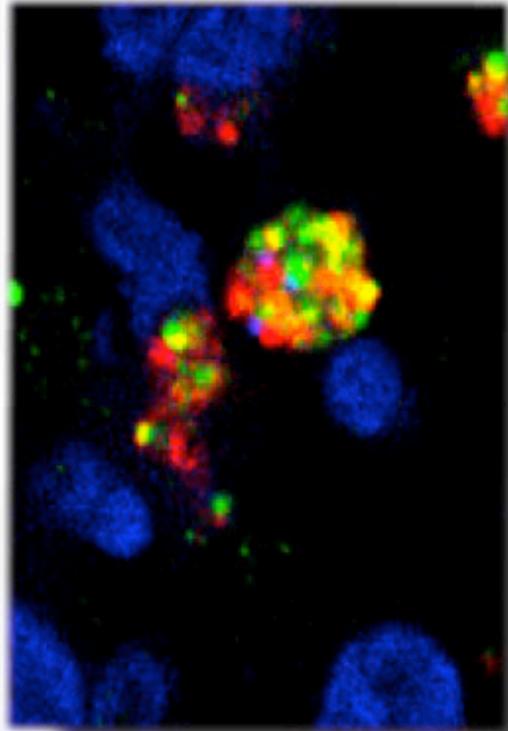
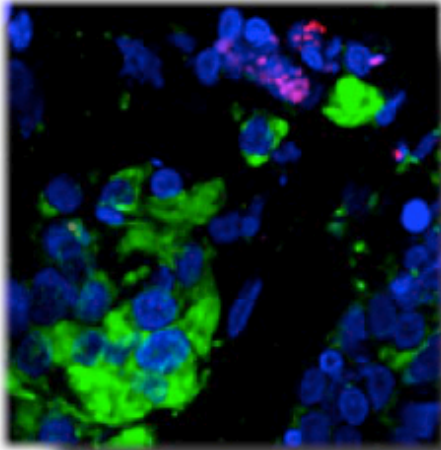
Variable	No CENS		CENS		p
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
ARNm IL-5 pretto	0,64	0,17-1,32	5,37	0,78-10,26	0,029*

Resultados

Figura 27. Comparación de la evolución clínica, respecto a la necesidad de cirugía, del grupo de pacientes con alta versus baja expresión de *IL-5*. Estudio estadístico mediante test de Breslow-Wilcoxon ($p=0,049$).



DISCUSIÓN



DISCUSIÓN

1.- RSCcPN y la terapia corticoidea oral

La RSCcPN es una enfermedad inflamatoria de gran prevalencia cuya etiología y mecanismos fisiopatológicos aún hoy no están aclarados. Actualmente el tratamiento de esta enfermedad se basa en el uso tópico u oral, en ciclos cortos, de corticoesteroides para así disminuir los síntomas atribuidos a la inflamación propia de esta patología. Dado su carácter crónico y recidivante, es muy habitual que los pacientes mantengan dosis diarias, de la forma tópica, durante largos periodos de tiempo. Si bien se han incorporado recientemente otras opciones terapéuticas, como la doxiciclina, actualmente ninguna alternativa médica ha desplazado a los corticoides. La cirugía queda reservada para aquellos casos en los que, a pesar del tratamiento, no se consiguen controlar los síntomas molestos de esta enfermedad.

Los corticoides son una terapia útil, contrastada en ensayos clínicos frente a placebo (Benitez et al., 2006)). Sin embargo, muchos pacientes experimentan escasa mejoría tras su administración, requiriendo otras opciones terapéuticas. Aún así, es frecuente que los pacientes sean sometidos a periódicos ciclos de corticoides orales y tópicos. Recientemente se ha incrementado el interés por la identificación de fenotipos en la RSCcPN, en la que diferentes modalidades de pólipos nasales, bajo un mismo cuadro clínico, responden de manera diferente a la terapia médica (Van Zele et al., 2010; Wen et al., 2012; Han, 2013; Ikeda et al., 2013). Todavía hoy sigue sin existir ningún indicador claro que identifique a los individuos poco sensibles a esta terapia, por lo que de manera general se sigue recomendando su utilización a todos los pacientes, a

pesar de ser un tratamiento no exento de posibles efectos secundarios (Fokkens et al., 2012).

Con este trabajo pretendimos localizar un parámetro, clínico o bioquímico, útil para la identificación de fenotipos sensibles a la terapia con corticoides. Demostrado ampliamente el hecho de que esta enfermedad tiene una base inflamatoria y un importante componente de remodelación tisular, hemos centrado nuestra atención en dos clases de proteínas claves en cada uno de esos procesos. Respecto a la inflamación, hemos seleccionado la IL-5 como citoquina secretada por diferentes tipos celulares presentes en la RSCcPN y fundamental en la migración, activación y mantenimiento los eosinófilos, célula clave en esta enfermedad. Respecto a la remodelación tisular, típica de esta patología, seleccionamos la MMP-9 y MMP-2. Estas forman parte de una familia de endopeptidasas muy relacionadas con cambios en la matriz extracelular de múltiples enfermedades y procesos fisiológicos, aunque al contrario de la IL-5, todavía está por confirmar su papel en el desarrollo de los pólipos nasales.

1.1.- La mejoría sintomática de los corticoides orales no siempre es relevante

En nuestra muestra, el tratamiento con metilprednisolona, a 1 mg/kg/día en pauta descendente cada 3 días, disminuyó la intensidad de los síntomas medida mediante EVA y mejoraron en la medida objetiva del olfato. Es importante recordar que los pacientes incluidos en el estudio no presentaron control eficaz de los síntomas con corticoides tópicos, por lo que la muestra representa a aquellos pacientes con escasa respuesta a tratamiento local y no

a la generalidad de los pacientes con RSCcPN.

La eficacia de los corticoides orales frente a placebo en la RSCcPN hoy por hoy no se pone en duda (Alobid et al., 2011; Fokkens et al., 2012). Sin embargo pocos estudios hay que midan o critiquen realmente la relevancia clínica de dicha mejoría.

Con este estudio no buscamos restar valor al efecto que los corticoides tienen en esta enfermedad. De hecho nuestros resultados confirman trabajos previos en los que se objetiva una mejoría significativa de los síntomas de la RSCcPN tras tratamiento corticoideo oral. Sin embargo, esa diferencia estadísticamente significativa no siempre es clínicamente relevante, al menos si nos fijamos en el amplio grupo de pacientes que no controla sus síntomas con tratamiento tópico. En nuestra muestra un 25% mejora menos de 1 punto en la EVA referente a obstrucción, 30% en la EVA rinorrea y 50% en la EVA hiposmia. En la EVA combinada, hasta un 40% sólo mejoró menos de un punto. Del mismo modo, un 50% mejoró menos de 1 punto la puntuación obtenida pretratamiento en el test de olfatometría. Estas mejorías son de escasa relevancia a pesar de ser “estadísticamente significativas”, sin olvidar que se trata de un tratamiento de 2-3 semanas de duración, con posibles efectos secundarios y cuya mejora se experimentará por un tiempo limitado.

1.2.- La gravedad de la enfermedad o la extensión de la misma no predicen respuesta a la terapia corticoidea

Si bien una de las características más importantes de esta enfermedad es la ocupación de las fosas nasales y senos paranasales por formaciones polipoideas, la experiencia en la evaluación de estos pacientes demuestra que

no existe una clara correlación entre los síntomas y el volumen que los pólipos ocupan en la fosa nasal (Fokkens et al., 2012).

Otra característica es que no todos los pacientes responden igual al tratamiento, y que muchos de ellos, aunque mejoran en la valoración clínica, esta es poco o muy poco relevante. En la misma línea que las inquietudes actuales, confirmar e identificar fenotipos de esta enfermedad sensibles a las terapias médicas actuales es una prioridad.

Actualmente no se dispone del conocimiento ni de las técnicas que fielmente identifiquen dichos fenotipos. Un reciente estudio ha relacionado poliposis extensas, grado III, con peor respuesta a corticoides orales, medida mediante escalas subjetivas de síntomas, hallazgos endoscópicos y medición del flujo nasal (Kirtsreesakul et al., 2011). Sin embargo, nosotros no hallamos tal relación. En nuestra muestra, aquellos pacientes con valoraciones endoscópicas más severas, si bien mejoraron menos en la valoración general obtenida en la EVA frente a los pacientes con valoraciones endoscópicas más leves, no encontramos diferencias cuando se compararon la sensación subjetiva de obstrucción nasal ni la mejoría objetiva del olfato.

Por otro lado, enfermedades más extensas, con valoraciones radiológicas peores, no se relacionaron con una peor o mejor respuesta clínica.

2.- RSCcPN y las metaloproteinasas de la matriz MMP-9 y MMP-2

Existe un grupo de endopeptidasas, llamadas metaloproteinasas de la matriz, que constituyen el sistema proteolítico más importante en relación con la remodelación de la matriz extracelular (Parks and Shapiro, 2001; Gueders et al., 2006).

La implicación de estas moléculas en la RSCcPN es todavía confusa. Si bien son varios los trabajos que observan un aumento de expresión de la MMP-9 en esta enfermedad (Lechapt-Zalcman et al., 2001; Watelet et al., 2004), otros estudios lo descartan en favor de otras isoformas de la familia, como MMP-2 (Bhandari et al., 2004) y MMP-7 (Lu et al., 2005). En todo caso, el papel que juegan estas MMPs es incierto.

2.1.- La MMP-9, no la MMP-2, presenta un aumento de expresión y de actividad en la RSCcPN frente a controles

En nuestro estudio confirmamos, no sólo el aumento de expresión de MMP-9 a nivel del pólipo nasal cuando se comparó con muestras procedentes de pacientes control, sino también su aumento de actividad como gelatinasa. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la MMP-2, quedando patente su ausencia de relevancia en la RSCcPN.

2.2.- La MMP-9 no se relaciona con la gravedad o extensión de la RSCcPN

Está todavía pendiente conocer el verdadero papel que juega la MMP-9 en la fisiopatología de la enfermedad. Toda enfermedad inflamatoria genera una serie de efectos dañinos responsables de los síntomas. Pero por otro lado también se generan mecanismos de reparación tisular beneficiosos. Así surge la duda acerca del papel, dañino o beneficioso, que la sobreexpresión de MMP-9 juega en la fisiopatología de los pólipos nasales (Kostamo et al., 2008). La MMP-9 colabora en la migración de los eosinófilos (Corry et al., 2004), célula inflamatoria más relevante en la RSCcPN, se inhibe su expresión en secreción

nasal con la doxiciclina la cual es una alternativa terapéutica eficaz para el control del tamaño de los pólipos, aunque no tanto de los síntomas (Van Zele et al., 2010). Por otro lado existen trabajos que relacionan niveles elevados de MMP-9 en muestras de mucosa nasal con una peor cicatrización tras cirugía por rinosinusitis crónica (Watelet et al., 2005). Sin embargo otros autores defienden una función antiinflamatoria de la MMP-9, asociando valores elevados del cociente MMP-9/TIMP-1 con una menor infiltración eosinofílica en la mucosa nasosinusal y un menor riesgo de reintervención quirúrgica en pacientes con RSCcPN (Kostamo et al., 2007). La confusión existente respecto a la sobreexpresión de MMP-9 en la RSCcPN podría explicarse por el doble papel que la MMP-9 tiene tanto en la degradación tisular como en mecanismos reparativos propios de la homeostasis celular, por lo que su expresión podría variar según la fase de la enfermedad en donde niveles bajos de MMP serían imprescindibles para el normal equilibrio celular/tisular y su aumento se relacionaría con procesos destructivos/dañinos (Kostamo et al., 2008).

Conocer el significado de ese aumento de expresión y actividad de MMP-9 en la RSCcPN fue uno de los objetivos. Si bien confirmamos que los niveles de ARNm de MMP-9 estaban aumentados frente a pacientes control, no encontramos relación entre la intensidad de sus síntomas (puntuación EVA y olfatometría) y extensión de la enfermedad (valoración endoscópica y puntuación Lund-Mackay) con los niveles de MMP-9. Tampoco lo hallamos en relación con su inhibidor, TIMP-1, o con el cociente MMP-9/TIMP-1. Mayor nivel de ARNm de MMP-9 no estaba ligado a una enfermedad más grave o extensa. En este sentido reproducimos los resultados de un trabajo reciente, donde no se halló relación entre la expresión de MMP-9, en muestra de pólipo nasal, y la extensión de la RSCcPN evaluada mediante TC (Malinsky et al., 2013).

2.3.- Los niveles de MMP-9 pretratamiento en pólipo no predicen respuesta al tratamiento con corticoides orales. Los niveles de MMP-9 en pólipo nasal no se modifican tras este tratamiento

Mayores niveles de *MMP-9* locales no se asociaron con mayor o menor mejoría clínica de los pacientes tras el tratamiento. Aunque nuestros resultados confirman por un lado que la *MMP-9* está sobreexpresada en la RSCcPN, no observamos que este aumento de concentración se relacione con una mayor intensidad de los síntomas o una enfermedad más extensa. Por otro lado, su expresión génica no es inhibida, al menos a nivel local, por la administración de corticoides orales. Probablemente sea debido a que esta endopeptidasa no es la única que forma parte de la remodelación tisular de esta enfermedad y que su presencia también forme parte de mecanismos reparativos, puestos en marcha a nivel tisular, para contrarrestar el daño producido por la enfermedad.

3.- RSCcPN e IL-5

El patrón inflamatorio Th2 típico de la RSCcPN se caracteriza por su predominancia eosinofílica y altos niveles de IL5 e IgE (Bachert et al., 2001; Hamilos et al., 1995). La IL-5, constituye una citoquina fundamental en la RSCcPN, colaborando en la migración transendotelial de los eosinófilos, el aumento de su supervivencia y la inhibición de su apoptosis (Ferguson, 2000; Van Zele et al., 2006). Su sobreexpresión está bien documentada (Simon et al., 1997; Hamilos et al., 1998). La importancia en el desarrollo y mantenimiento de la enfermedad también se objetiva en otros estudios, donde el tratamiento con anticuerpo anti-IL5 en pacientes con pólipos infiltrados por abundantes

eosinófilos da como resultado la apoptosis de los eosinófilos y la disminución de estos en los tejidos in vitro (Simon et al., 1997). Por otro lado, en los pacientes con mayor concentración de IL5 local, obtenido mediante lavado nasal, la administración del anticuerpo anti-IL-5, reslizumab, logró la reducción significativa en el tamaño de los pólipos en 12 de 20 pacientes y disminución de la extensión de la enfermedad valorado mediante TC (Gevaert et al., 2006).

3.1.- La *IL-5* no se relaciona con la severidad ni la extensión de la RSCcPN

En nuestro estudio los pacientes con mayor concentración del gen de IL-5, previo a ningún tratamiento, no presentaban una valoración endoscópica o radiológica peor, ni presentaron mayor gravedad en la valoración subjetiva de la enfermedad o peor puntuación en la olfatometría que aquellos pacientes con menor concentración. Tan sólo se detectó diferencia estadísticamente significativa en la EVA específica de obstrucción. Es reseñable que en general se observó una ligera tendencia a mayor gravedad en aquellos pacientes con *IL-5* elevada, sin alcanzar significación estadística.

3.2.- Niveles de *IL-5* pretratamiento como marcador pronóstico de respuesta al tratamiento con corticoides orales.

Nuestro estudio demuestra que existe una correlación entre la mejoría clínica del paciente tras tratamiento con corticoides orales y las concentraciones de ARNm *IL-5* pretratamiento. Los pacientes que presentaron mayor expresión del gen de esta citoquina experimentaron una mejoría clínica, tanto en la valoración EVA como en la valoración objetiva del olfato, mayor que la de

aquellos pacientes con niveles bajos.

Un estudio comprobó el papel pronóstico de IL-5 (medido en secreciones nasales pretratamiento) para determinar la eficacia en la respuesta a éste. En este estudio, sólo aquellos pacientes con elevada concentración de IL-5 manifestaron sensibilidad al tratamiento con anticuerpo anti-IL-5 (Gevaert et al., 2006). Sin embargo, el tratamiento de la RSCcPN con anticuerpo monoclonal, todavía no es una alternativa válida fuera de los ensayos clínicos (Fokkens et al., 2012).

Existen antecedentes en la literatura estudiando el papel pronóstico, en lo que respecta a la respuesta a cirugía, de la expresión de IL-5. En un estudio con 15 pacientes, se evaluó la expresión de esta citoquina en mucosa nasal de pacientes con RSCsPN y la coexistencia de rinitis alérgica como factor pronóstico de respuesta a tratamiento quirúrgico mediante CENS (Lavigne et al., 2000). La respuesta se midió mediante EVA, cuestionarios de calidad de vida y hallazgos endoscópicos. Aún con la limitación de mezclar RSC sin poliposis y rinitis alérgica, concluyó que sólo la mitad de los pacientes, aquellos con baja concentración de IL-5 en las muestras de mucosa nasal etmoidal, mejoraron tras la cirugía. El grupo de pacientes con mayor concentración no mejoraron tras CENS.

Sin embargo, en nuestro trabajo, hemos relacionado los niveles de IL-5 con uno de los tratamientos más extendidos y recomendados en las guías de consenso. La terapia con corticoides orales, aunque de extendida y reconocida eficacia, es un tratamiento médico agresivo, al que no todos los pacientes responden. La escasa respuesta a este tratamiento constituye una de las indicaciones para tratamiento con cirugía (Alobid et al., 2011; Fokkens et al., 2012).

A nuestro entender, la presente tesis doctoral, es el primer estudio que selecciona aquellos pacientes afectados de RSCcPN en los que el tratamiento con corticoides orales va a ser eficiente para el control de los síntomas. En nuestra muestra, aquellos pacientes con bajos niveles de *IL-5* pretratamiento mejoró menos de un punto en una escala de 0-10 la valoración sintomática general y menos de medio punto, de una escala de 0-7, la valoración objetiva del olfato. En este subgrupo de pacientes el tratamiento fue, por tanto, claramente ineficaz. Si a esto añadimos que los corticoides orales se asocian con importantes efectos secundarios, y que en individuos con patología de base puede ser una medicación agresiva, consideramos fundamental el papel que puede jugar la *IL-5* para seleccionar aquellos pacientes a los que no se les debería mantener con esta modalidad de tratamiento. Ya que esta vía de administración es más potente que la tópica nasal, pensamos que tampoco serían subsidiarios de mantenerse con corticoides locales, ofreciendo de forma precoz otras alternativas terapéuticas.

3.3.- La *IL-5* se inhibe localmente tras tratamiento con corticoides orales. El descenso de los niveles de *IL-5* tras tratamiento se correlaciona con la mejoría en la valoración objetiva del olfato

Son varios los trabajos existentes que investigan acerca del efecto que los corticoides orales, como tratamiento de la RSCcPN, provocan en los niveles locales de *IL-5*. Por un lado un estudio reciente ha demostrado un efecto inhibitor en la expresión de *IL-5* en secreciones nasales tras tratamiento con corticoides orales unido a mejoría clínica del paciente (Van Zele et al., 2010) En otro trabajo, aunque se apreció disminución de la expresión de *IL-5* tras

tratamiento corticoideo, no se encontró relación entre ésta y la mejoría clínica, que no se objetivó. (Woodworth et al., 2004). Estos resultados contradictorios se pueden deber a que no todos los pacientes mejoran igual. Buscando la relación que el ARNm de IL-5 tiene con la respuesta sintomática, objetivamos que los pacientes que más redujeron, de forma general, su sintomatología fueron aquellos en el que más se redujo la expresión del gen IL-5 tras tratamiento, aunque sólo se pudo demostrar significativamente en lo que respecta a la medición objetiva del olfato. Por otro lado también se demostró correlación, estadísticamente significativa, entre el descenso de la expresión del ARNm de IL-5 y la mejoría en la olfatometría tras tratamiento.

A tenor de estos resultados, deducimos un importante vínculo entre la expresión del gen IL-5 en la RSCcPN y la sensibilidad al tratamiento con corticoides orales. La IL-5 se muestra, por tanto, como un eficaz marcador para seleccionar e individualizar el tratamiento. Y no sólo valoramos la sensibilidad de esta citoquina para detectar fenotipos de RSCcPN sensibles, sino para identificar aquellos a los que el tratamiento corticoideo no les va a ofrecer ningún beneficio, evitando efectos secundarios y costes económicos y ofreciendo alternativas terapéuticas, como puede ser la terapia antibiótica como la doxiciclina o la cirugía, de forma más precoz.

3.4.- Los niveles de *IL-5* predicen la respuesta a los corticoides orales en la RSCcPN independientemente de la infiltración eosinofílica

Se ha sugerido que el estudio histológico de muestras de pólipos nasales podría indicar la sensibilidad a corticoides orales. Este análisis de los pólipos nasales suele determinar fenotipos en los que sobre todo predominan

eosinófilos, que es la forma más frecuente en caucásicos, y no eosinofílicos o inflamatorios inespecíficos, más frecuentes en asiáticos y orientales (Pearlman et al., 2010). Un estudio reciente dividió a los pacientes con esta enfermedad en tres subgrupos según la infiltración predominante, eosinófilos, o neutrófilos. Según sus resultados, aquellos pacientes en cuyos pólipos nasales predominaban los neutrófilos eran más resistentes a tratamiento corticoideo oral (Wen et al., 2012).

En nuestro estudio, centramos la atención en el papel que la IL-5 puede tener en la RSCcPN como marcador de sensibilidad al tratamiento con corticoides orales. Esta citoquina puede ser segregada, no sólo por eosinófilos, sino también por otros tipos celulares como linfocitos T o mastocitos (Garlisi et al., 1996; Bachert et al., 2010). Existen trabajos que demuestran la sobreexpresión de IL-5 en ausencia de eosinofilia tisular en el asma, enfermedad con abundantes similitudes histológicas y fisiopatológicas con la RSCcPN (Baraldo et al., 2011). En nuestro estudio inmunohistoquímico, confirmamos que la mejoría clínica, medida mediante EVA y olfatometría, mantenían relación lineal con el número de células que expresaron IL-5 previo a tratamiento. Sin embargo, no se halló esta relación con el conteo de eosinófilos pretratamiento. La *IL-5* se muestra por tanto como un buen marcador pronóstico de respuesta al tratamiento corticoideo oral independiente de la histología de los pólipos nasales.

3.5.- Los niveles elevados de *IL-5* en pólipo nasal aumentan el riesgo de tratamiento quirúrgico

El tratamiento quirúrgico es un tratamiento no curativo, con posibles

complicaciones, que no demuestra ser más efectivo que el tratamiento farmacológico y que se reserva para aquellos casos donde este falla (Fokkens et al., 2012). Por todo esto, podemos considerar que la necesidad de cirugía implica una mala evolución del paciente con RSCcPN.

Existen antecedentes en la literatura respecto a la búsqueda de marcadores pronósticos que indiquen mayor riesgo de recurrir a tratamiento quirúrgico en la RSCcPN. Así, se ha descrito la relación entre valores elevados de eosinofilia en sangre y mala respuesta a tratamiento quirúrgico. En un estudio con 620 pacientes afectados por RSC, entre los cuales había pacientes con poliposis nasal, otros con rinosinusitis alérgica fúngica y pacientes con asma, se describió que aquellos pacientes con eosinofilia en sangre se sometieron con mayor frecuencia a ciclos de antibióticos, antifúngicos y cirugía de revisión que aquellos con valores normales de eosinófilos (Zadeh et al., 2002). En este sentido, un reciente trabajo con 78 pacientes, de los cuales un 40% tenían alergia, un 35% eran asmáticos y un 26% presentaban intolerancia al AAS, seguidos al menos durante 18 meses, valoró la relación entre los niveles de ECP y la severidad y curso de la RSCcPN (Sun et al., 2009). En este estudio, aparte de la historia clínica previa, se realizó TC y se recogieron muestras de secreción nasal para la medición de ECP e IL-5 antes de someterse a tratamiento quirúrgico. Durante el seguimiento se tomaron nuevas muestras de secreción nasal cada 3 meses. La expresión de la ECP en secreción nasal se correlacionó con los niveles de IL-5, el grado de infiltración eosinofilia tisular y la puntuación Lund-Mackay obtenida del TC preoperatorio. Aquellos pacientes que recidivaron presentaron niveles de ECP e IL-5, previos al tratamiento quirúrgico, más altos que el grupo de pacientes que no recidivó. Además, en aquellos pacientes que reapareció la enfermedad, estos niveles se mantuvieron

elevados persistentemente frente a aquellos pacientes que no presentaron recidiva. No obstante, no se encontró correlación entre la concentración de ECP en la muestra de mucosa nasal y el conteo de eosinófilos en sangre. Así, este trabajo, concluyó que la IL-5 y la ECP medida en secreción nasal puede valer como marcador pronóstico de recidiva de poliposis tras tratamiento quirúrgico.

En nuestro estudio, respecto al papel pronóstico del ARNm de IL-5, comparamos sus niveles con la necesidad de intervención quirúrgica mediante CENS. Así, el grupo de pacientes que fue intervenido, un 42%, presentaba mayor expresión de ARNm de la citoquina que el grupo que no requirió cirugía, relacionando la *IL-5* con una peor evolución de la enfermedad. A pesar de beneficiarse más de la terapia corticoidea, los síntomas de la enfermedad se intensifican precozmente al dejar de administrarlos recurriendo a tratamiento quirúrgico con mayor frecuencia que aquellos pacientes con bajos niveles de IL-5. Mediante el análisis de supervivencia, se estudió si los pacientes con altos niveles de ARNm de IL-5 se comportaban de manera diferente de aquellos con niveles bajos, considerando como evento la necesidad de cirugía. El resultado confirmó que el comportamiento de ambos grupos respecto a la cirugía a lo largo del tiempo de seguimiento es diferente, presentando un mayor riesgo de intervención aquellos pacientes con niveles elevados de *IL-5*.

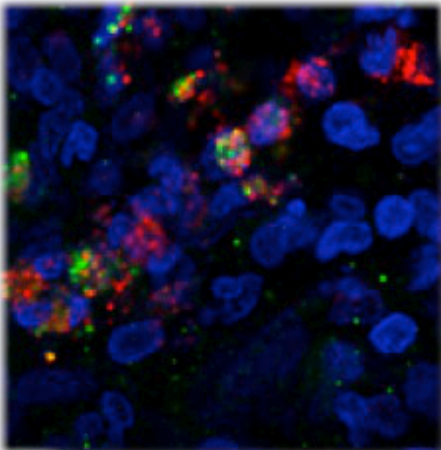
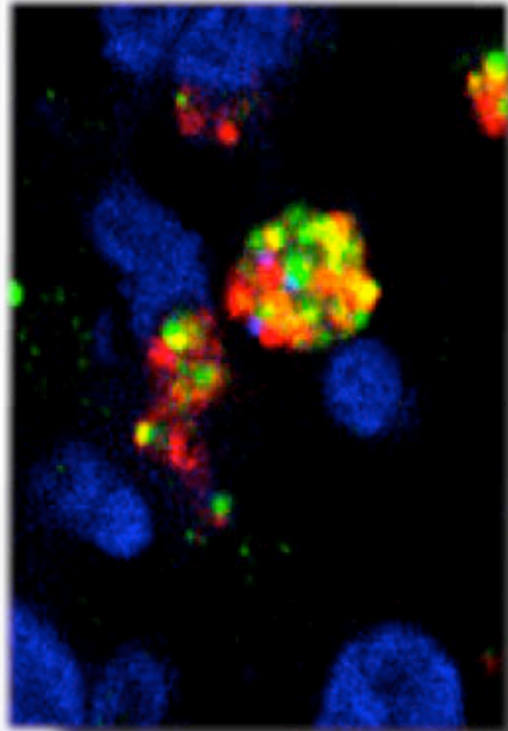
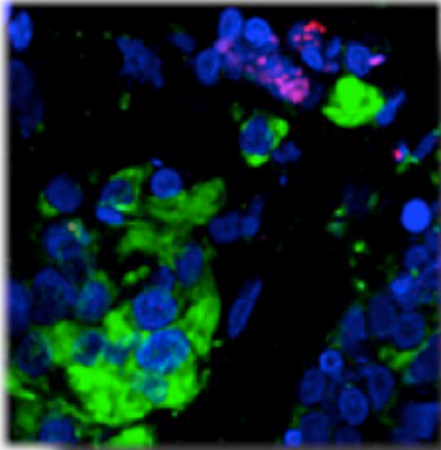
No se encontró ninguna relación entre los niveles de *MMP-9* ni *TIMP-1* con la necesidad de cirugía. El comportamiento de los pacientes según los niveles de estos genes no fue tampoco diferente a lo largo del tiempo de seguimiento.

Aunque los resultados de nuestro estudio reflejan que los pacientes con altos niveles de ARNm de IL-5 responden a la terapia con corticoides orales de forma más intensa que los pacientes con bajos niveles, dado que el efecto es

temporal, este tratamiento no representa una verdadera solución, al menos a medio plazo, recurriendo al tratamiento quirúrgico con mayor frecuencia. En esta enfermedad el tratamiento con corticoides se administra para el control de los síntomas inflamatorios molestos, sin tratar su etiología, por lo que la causa que genera dicha inflamación persiste a pesar del tratamiento. En cuanto el efecto de éste desaparece, los síntomas vuelven a agravarse requiriendo de nuevo una acción terapéutica. Además si bien no hemos confirmado que los pacientes con altos niveles de ARNm de IL-5 tengan enfermedad más grave o extendida pretratamiento, si se observa una tendencia a una mayor severidad de los síntomas en estos pacientes. Así, a pesar de que aquellos pacientes con altos niveles de esta citoquina van a responder muy favorablemente a la terapia con corticoides orales, dado que el número de ciclos aceptados por año es limitado, el riesgo de necesitar tratamiento quirúrgico es alto.

Por otro lado concluimos que el subgrupo de pacientes con escasos niveles de IL-5, independientemente de la severidad de sus síntomas, no deberían ser candidatos a ninguna terapia corticoidea, ya que el efecto de estos sobre los síntomas será escaso. Nuestro estudio indica que aquellos pacientes con baja expresión de IL-5 deberían disponer de un algoritmo terapéutico propio, en los que los corticoides no figuraran. Explorar otras opciones terapéuticas con estos pacientes como la doxiciclina, macrólidos u ofrecer de forma precoz el tratamiento quirúrgico parecen, a tenor de nuestros resultados, medidas más eficientes.

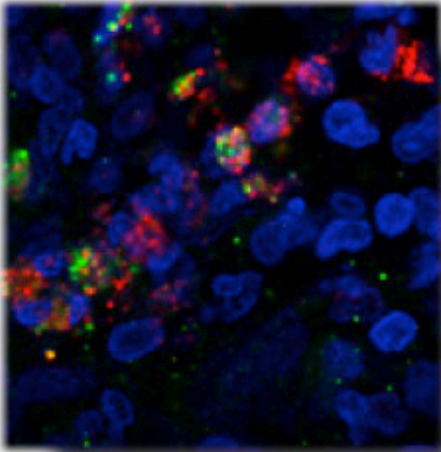
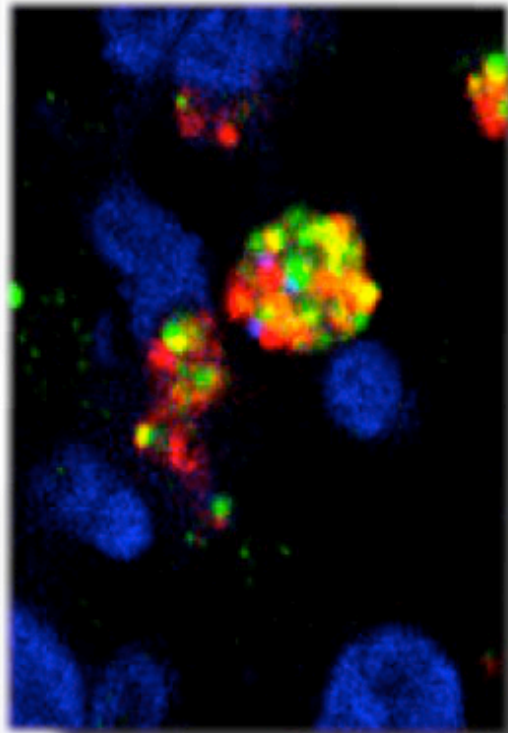
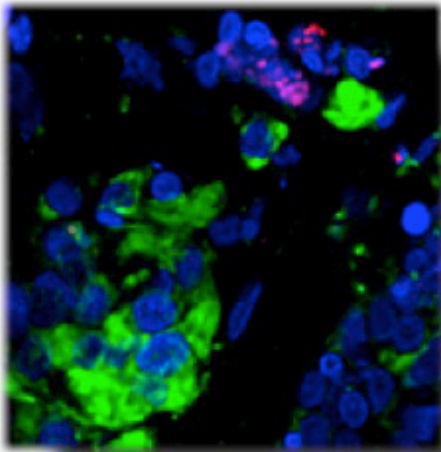
CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

- 1.- Tanto la expresión como la actividad de MMP-9, pero no las de MMP-2, están aumentadas en la RSCcPN.
- 2.- Existe una diferencia importante en la intensidad de la respuesta a corticoides orales en la RSCcPN. Estos pueden ser ineficaces para mejorar los síntomas subjetivos y la medición objetiva del olfato en un importante porcentaje de pacientes.
- 3.- Niveles elevados de ARNm de IL-5 en pólipo nasal se relacionan con mayor sensación subjetiva de obstrucción nasal en pacientes con RSCcPN.
- 4.- Niveles elevados de IL-5 pretratamiento predicen una respuesta eficaz a la terapia con corticoides orales. Dada esta correlación, esta terapia es ineficaz en aquellos pacientes con niveles bajos locales de IL-5.
- 5.- La mejoría objetiva del olfato tras tratamiento va ligada a la disminución local de IL-5, tras tratamiento existiendo relación lineal entre ambas variables.
- 6.- La asociación de los niveles de ARNm de IL-5 pretratamiento con la mejoría sintomática de la enfermedad es independiente de la presencia de infiltración eosinofílica de los pólipos nasales.
- 7.- Niveles elevados del gen de IL-5 se relacionan, en un plazo de 12 meses, con mayor riesgo de necesidad de intervención quirúrgica para control de los síntomas.

BIBLIOGRAFÍA



BIBLIOGRAFÍA

- Abu-Ghazaleh, R.I., Fujisawa, T., Mestecky, J., Kyle, R.A., Gleich, G.J., 1989. IgA-induced eosinophil degranulation. *The Journal of Immunology* 142, 2393–2400.
- Adcock, I.M., Caramori, G., 2001. Cross-talk between pro-inflammatory transcription factors and glucocorticoids. *Immunology and Cell Biology* 79, 376–384.
- Akdis, C. a, Bachert, C., Cingi, C., Dykewicz, M.S., Hellings, P.W., Naclerio, R.M., Schleimer, R.P., Ledford, D., 2013. Endotypes and phenotypes of chronic rhinosinusitis: a PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *The Journal of allergy and clinical immunology* 131, 1479–90.
- Al-Muhsen, S., Johnson, J., Hamid, Q., 2011. Remodelling in asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology* 128, 451–462.
- Allen, D., 2006. Effects of inhaled steroids on growth, bone metabolism, and adrenal function. *Advances in Pediatrics* 53, 101–110.
- Alobid, I., Antón, E., Armengot, M., Chao, J., Colás, C., del Cuvillo, A., Dávila, I., Dordal, M.T., Escobar, C., Fernández-Parra, B., Gras-Cabrerizo, J.R., Ibáñez, M.D., Lluch, M., Matéu, V., Montoro, J., Gili, J.R.M., Mullol, J., Navarro, A.M., Pumarola, F., Rondón, C., Sánchez-Hernández, M.C., Sarandeses, A., Soler, R., Valero, A.L., 2011. SEAIC-SEORL. Consensus Document on Nasal Polyposis. POLINA Project. *Journal of investigational allergology & clinical immunology : official organ of the International Association of Asthmology (INTERASMA) and Sociedad Latinoamericana de Alergia e Inmunología* 21 Suppl 1, 1–58.
- Alobid, I., Benítez, P., Bernal-Sprekelsen, M., Roca, J., Alonso, J., Picado, C., Mullol, J., 2005. Nasal polyposis and its impact on quality of life: comparison between the effects of medical and surgical treatments., *Allergy* 60, 452-458
- Alobid, I., Cardelus, S., Benítez, P., Guilemany, J., Roca-Ferrer, J., Picado, C., Al, E., 2011. Persistent asthma has an accumulative impact on the loss of smell in patients with nasal polyposis. *Rhinology* 49, 519–524.
- Alobid, I., Benítez, P., Cardelús, S., Callejas, FD., Lehrer-Coriat, E., Pujols, L., Picado, C., Mullol, J., 2013. Oral plus nasal corticosteroids improve smell, nasal congestion, and inflammation in sino-nasal polyposis. *Laryngoscope*. doi: 10.1002/lary.24330
- Bachert, C., Gevaert, P., Holtappels, G., Cuvelier, C., Van Cauwenberge, P., 2000. Nasal polyposis: from cytokines to growth. *American Journal of Rhinology* 14, 279–290.
- Bachert, C., Gevaert, P., Holtappels, G., Johansson, S., Van Cauwenberge, P., 2001. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic

- inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 107, 607–614.
- Bachert, C., Zhang, N., Holtappels, G., Lobel, L. De, Cauwenberge, P. van, Liu, S., Lin, P., Bousquet, J., Steen, K. Van, 2010. Presence of IL-5 protein and IgE antibodies to staphylococcal enterotoxins in nasal polyps is associated with comorbid asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 126, 962–968.
- Bachert, C., Zhang, N., Patou, J., Van Zele, T., Gevaert, P., 2008. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 8, 34–38.
- Baraldo, S., Turato, G., Bazzan, E., Ballarin, A., Damin, M., Balestro, E., Lokar, K., Calabrese, F., Maestrelli, P., Snijders, D., Barbato, A., Saetta, M., 2011. Noneosinophilic asthma in children: relation with airway remodelling 38, 575–583.
- Barnes, P., 2004. Corticoesteroid resistance in airway disease. *Proceedings of the American Thoracic Society* 1, 264–268.
- Baroody, F.M., Mucha, S.M., Detineo, M., Naclerio, R.M., 2008. Nasal challenge with allergen leads to maxillary sinus inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology* 121, 1126–1132.e7.
- Bartemes, K.R., Cooper, K.M., Drain, K.L., Kita, H., 2005. Secretory IgA induces antigen-independent eosinophil survival and cytokine production without inducing effector functions. *The Journal of allergy and clinical immunology* 116, 827–835.
- Basinski, T., Holzmann, D., Eiwegger, T., Zimmermann, M., Klunker, S., Meyer, N., 2009. Dual nature of T cell-epithelium interaction in chronic rhinosinusitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 124, 74–80.
- Bendouah, Z., Barbeau, J., Hamad, W.A., Desrosiers, M., 2006. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is associated with an unfavorable evolution after surgery for chronic sinusitis and nasal polyposis. *Otolaryngologyhead and neck surgery official journal of American Academy of OtolaryngologyHead and Neck Surgery* 134, 991–996.
- Benitez, P., Alobid, I., De Haro, J., Berenguer, J., Bernal-Sprekelsen, M., Pujols, L., Picado, C., Mullol, J., 2006. A short course of oral prednisone followed by intranasal budesonide is an effective treatment of severe nasal polyps. *The Laryngoscope* 116, 770–775.
- Bernstein, J., Anon, J., Rontal, M., Conroy, J., Wang, C., Sucheston, L., 2009. Genetic polymorphisms in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis. *The Laryngoscope* 119, 1258–1264.
- Bernstein, J.M., Gorfien, J., Noble, B., Yankaskas, J.R., 1997. Nasal polyposis: immunohistochemistry and bioelectrical findings (a hypothesis for the development of nasal polyps). *The Journal of allergy and clinical immunology* 99, 165–175.
- Bhandari, A., Takeuchi, K., Suzuki, S., Harada, T., Hayashi, S., Imanaka-Yoshida, K., Yoshida, T., Majima, Y., 2004. Increased expression of matrix metalloproteinase-2 in nasal polyps. *Acta oto-laryngologica* 124, 1165–

- 1170.
- Bhattacharyya, N., 2004. Clinical outcomes after revision endoscopic sinus surgery. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 130, 975–978.
- Bhattacharyya, N., Vyas, D.K., Fechner, F.P., Gliklich, R.E., Metson, R., 2001. Tissue eosinophilia in chronic sinusitis: quantification techniques. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 127, 1102–5.
- Borja, F., Picado, C., Martínez-Antón, A., Alobid, I., Pujols, L., Valero, A., Roca-Ferrer, J., Mullol, J., 2013. Differential expression of remodeling markers by tissue structure in nasal polyposis. *American journal of rhinology & allergy* 27, 69–74.
- Bourgeois, H., 1925. A propós d'un cas de coryza spasmodique. *Prog Med* 95–96.
- Buisson, A., Zahm, J., Polette, M., Al, E., 1996. Gelatinase B is involved in the in vitro wound repair of human respiratory epithelium. *Journal of Cellular Physiology* 166, 413–426.
- Cain, W.S., Gent, J.F., Goodspeed, R.B., Leonard, G., 1988. Evaluation of olfactory dysfunction in the Connecticut Chemosensory Clinical Research Center (CCCRC). *Laryngoscope* 98, 83–88.
- Cao, P., Li, H., Wang, B., Wang, S., You, X., Cui, Y., Al, E., 2009. Distinct immunopathologic characteristics of various types of chronic rhinosinusitis in adult Chinese. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 124, 478–484.
- Caplin, I., Haynes, T., Spahn, J., 1971. Are nasal polyps an allergic phenomenon? *Annals of Allergy* 29, 631–634.
- Cardesín, A., Alobid, I., Benítez, P., Sierra, E., De Haro, J., Bernal-Sprekelsen, M., Picado, C., Mullol, J., 2006. Barcelona Smell Test - 24 (BAST-24): validation and smell characteristics in the healthy Spanish population. *Rhinology* 44, 83–89.
- Caso, J., Pradillo, J., Hurtado, O., Lorenzo, P., Moro, M., Lizasoain, I., 2007. Toll-like receptor 4 is involved in brain damage and inflammation after experimental stroke. *Circulation* 115, 1599–1608.
- Cave, A., Arlett, P., Lee, E., 1999. Inhaled and nasal corticosteroids: factors affecting the risks of systemic adverse effects. *Pharmacology and Therapeutics* 83, 153–179.
- Cervin, A., Andersson, M., 1998. Intranasal steroids and septum perforation an overlooked complication? A description of the course of events and a discussion of the causes. *Rhinology* 36, 128–132.
- Cervin, A., Wallwork, B., 2007. Macrolide therapy of chronic rhinosinusitis. *Rhinology* 45, 259–267.
- Chen, Y.S., Langhammer, T., Westhofen, M., Lorenzen, J., 2007. Relationship between matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 and IL-5, IL-8 in nasal polyps. *Allergy* 62, 66–72.
- Choi, B.-R., Kwon, J.-H., Gong, S.-J., Kwon, M.-S., Cho, J.-H., Kim, J.H., Oh, S., Roh, H.-J., Kim, D.-E., 2006. Expression of glucocorticoid receptor

- mRNAs in glucocorticoid-resistant nasal polyps. *Experimental molecular medicine* 38, 466–473.
- Chu, C., Lebowitz, R., Jacobs, J., 1997. An analysis of sites of disease in revision endoscopic sinus surgery. *American Journal of Rhinology* 11, 287–291.
- Cohen, N.A., Zhang, S., Sharp, D.B., Tamashiro, E., Chen, B., Sorscher, E.J., Woodworth, B.A., 2009. Cigarette smoke condensate inhibits transepithelial chloride transport and ciliary beat frequency. *The Laryngoscope* 119, 2269–2274.
- Collier, I., Wilhelm, S., Eisen, A., Al, E., 1988. H-ras oncogene transformed human bronchial epithelial cells (TBE-1) secrete a single metalloproteinase capable of degrading membrane collagen. *The Journal of Biological Chemistry* 263, 6579–6587.
- Collins, M.M., Loughran, S., Davidson, P., Wilson, J.A., 2006. Nasal polyposis: prevalence of positive food and inhalant skin tests. *OtolaryngologyHead and Neck Surgery official journal of American Academy of OtolaryngologyHead and Neck Surgery*.
- Comhair, S.A., Bhathena, P.R., Farver, C., Thunnissen, F.B., Erzurum, S.C., 2001. Extracellular glutathione peroxidase induction in asthmatic lungs: evidence for redox regulation of expression in human airway epithelial cells. *The FASEB journal official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 15, 70–78.
- Corriveau, M.-N., Zhang, N., Holtappels, G., Van Roy, N., Bachert, C., 2009. Detection of *Staphylococcus aureus* in nasal tissue with peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization. *American journal of rhinology allergy* 23, 461–465.
- Corry, D., Kiss, A., Song, L., Al, E., 2004. Overlapping and independent contributions of MMP2 and MMP9 to lung allergic inflammatory cell egression through decreased CC chemokines. *The FASEB Journal* 18, 995–997.
- Coussens, L., Fingleton, B., Matrisian, L., 2002. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science* 295, 2387–2392.
- Cox, L., Lieberman, P., Wallace, D., Simons, F., Finegold, I., Platts-Mills, T., Al, E., 2011. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology/American College of Allergy, Asthma & Immunology Omalizumab- Associated Anaphylaxis Joint Task Force follow-up report. *The Journal of allergy and clinical immunology* 128, 210–212.
- Dalziel, K., Stein, K., Round, A., Garside, R., Royle, P., 2003. Systematic review of endoscopic sinus surgery for nasal polyps. *Health technology assessment Winchester England* 7, iii, 1–159.
- Dalziel, K., Stein, K., Round, A., Garside, R., Royle, P., 2006. Endoscopic sinus surgery for the excision of nasal polyps: A systematic review of safety and effectiveness. *American Journal of Rhinology* 20, 506–519.
- De, S., Fenton, J., Jones, A., 2005. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in non-neoplastic otorhinolaryngological disease. *Journal of*

- Laryngology and Otology 119, 436–442.
- Dejima, K., Randell, S.H., Stutts, M.J., Senior, B.A., Boucher, R.C., 2006. Potential role of abnormal ion transport in the pathogenesis of chronic sinusitis. *Archives of otolaryngologyhead neck surgery* 132, 1352–1362.
- DeMarcantonio, M.A., Han, J.K., 2011. Nasal polyps: pathogenesis and treatment implications. *Otolaryngologic Clinics Of North America* 44, 685–695, ix.
- Drake-Lee, A., 1992. Nasal polyps in identical twins. *Journal of Laryngology and Otology* 106, 1084–1085.
- Drake-Lee, A., Lowe, D., Swanston, A., Grace, A., 1984. Clinical profile and recurrence of nasal polyps. *Journal of Laryngology and Otology* 98, 783–793.
- Ebbens, F., Georgalas, C., Luiten, S., van Drunen, C., Badia, L., Scadding, G., Al, E., 2009. The effect of amphotericin B on inflammatory markers in patients with chronic rhinosinusitis: a multicenter randomized controlled study. *The Laryngoscope* 119, 401–408.
- Ebbens, F., Scadding, G., Badia, L., Hellings, P., Jorissen, M., Mullol, J., Al, E., 2006. Amphotericin B nasal lavages: not a solution for patients with chronic rhinosinusitis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 118, 1149–1156.
- Ebbens, F., Toppila-Salmi, S., de Groot, E.J., Renkonen, J., Renkonen, R., van Drunen, C., Al, E., 2011. Predictors of postoperative response to treatment: a double blind placebo controlled study in chronic rhinosinusitis patients. *Rhinology* 49, 413–419.
- Eggston, A., Wolff, D., 1947. *Histopathology of the ear, nose and throat*. Baltimore.
- Eisenberg, G., Pradillo, J., Plaza, G., Lizasoain, I., Moro, M.A., 2008. [Increased expression and activity of MMP-9 in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis]. *Acta otorrinolaringológica española* 59, 444–447.
- Emani, J., Baroody, F., 2010. History of nasal polyposis., in: Metin Önerci, T., Ferguson, B. (Eds.), *Nasal Polyposis*. Springer, pp. 1–7.
- English, G., 1985. *Nasal polyposis*. Harper and Row, Philadelphia.
- Eweiss, A., Dogheim, Y., Hassab, M., Tayel, H., Hammad, Z., 2009. VCAM-1 and eosinophilia in diffuse sino-nasal polyps. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery* 266, 377–383.
- Fairley, J.W., Durham, L.H., Ell, S.R., 1993. Correlation of subjective sensation of nasal patency with nasal inspiratory peak flow rate. *Clinical Otolaryngology and Allied Sciences* 18, 19–22.
- Fajardo-Dolci, G., Solorio-Abreu, J., Romero-Alvarez, J.C., Zavaleta-Villa, B., Cerezo-Camacho, O., Jiménez-Lucio, R., Olivo-Díaz, A., 2006. DQA1 and DQB1 association and nasal polyposis. *Otolaryngologyhead and neck surgery official journal of American Academy of OtolaryngologyHead and*

- Neck Surgery 135, 243–247.
- Ferguson, B., 2000. Eosinophilic mucin rhinosinusitis: a distinct clinopathological entity. *The Laryngoscope* 110, 799–813.
- Flood-Page, P., Menzies-Gow, A., Phipps, S., Ying, S., Wangoo, A., Ludwig, M.S., Barnes, N., Robinson, D., Kay, A.B., 2003. Anti-IL-5 treatment reduces deposition of ECM proteins in the bronchial subepithelial basement membrane of mild atopic asthmatics. *Journal of Clinical Investigation* 112, 1029–1036.
- Fokkens, W., Georgalas, C., Lund, V., 2010. Evaluation of surgical treatments, in: Metin Önerci, T., Ferguson, B. (Eds.), *Nasal Polyposis*. Springer, pp. 297–304.
- Fokkens, W., Lund, V., Mullol, J., Al., E., 2012. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinology Supplement* 50.
- Fokkens, W., Lund, V., Mullol, J., group, E.P.P. on R. and N.P., 2007. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. *Rhinology Supplement* 1–136.
- Fokkens, W.J., van Drunen, C., Georgalas, C., Ebbens, F., 2012. Role of fungi in pathogenesis of chronic rhinosinusitis: the hypothesis rejected. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery* 20, 19–23.
- Foreman, A., Holtappels, G., Psaltis, A.J., Jervis-Bardy, J., Field, J., Wormald, P.-J., Bachert, C., 2011. Adaptive immune responses in *Staphylococcus aureus* biofilm-associated chronic rhinosinusitis. *Allergy* 66, 1449–1456.
- Forer, B., Kivity, S., Sade, J., Landsberg, R., 2011. Aspirin desensitization for ASA triad patients--prospective study of the rhinologist's perspective. *Rhinology* 49, 95–99.
- Garlisi, C.G., Falcone, A., Billah, M.M., Egan, R.W., Umland, S.P., 1996. T cells are the predominant source of interleukin-5 but not interleukin-4 mRNA expression in the lungs of antigen-challenged allergic mice. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 15, 420–8.
- Gevaert, P., Lang-Loidolt, D., Lackner, A., Stammberger, H., Staudinger, H., Van Zele, T., Al., E., 2006. Nasal IL-5 levels determine the response to anti-IL-5 treatment in patients with nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 118, 1133–1141.
- Gevaert, P., Van Bruaene, N., Cattaert, T., Van Steen, K., Van Zele, T., Acke, F., De Ruyck, N., Blomme, K., Sousa, A.R., Marshall, R.P., Bachert, C., 2011. Mepolizumab, a humanized anti-IL-5 mAb, as a treatment option for severe nasal polyposis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 128, 989–995.e8.
- Goldstein-Daruech, N., Cope, E.K., Zhao, K.-Q., Vukovic, K., Kofonow, J.M., Doghramji, L., González, B., Chiu, A.G., Kennedy, D.W., Palmer, J.N., Leid, J.G., Kreindler, J.L., Cohen, N.A., 2011. Tobacco smoke mediated induction of sinonasal microbial biofilms. *PLoS ONE* 6, e15700.
- Greenlee, K., Werb, Z., Kheradmand, F., 2007. Matrix metalloproteinases in lung: multiple, multifarious, and multifaceted. *Physiological Reviews* 87, 69–98.

- Greisner, W., Setippane, G., 1995. Hereditary factor for nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 95, 205.
- Gray, H., Vandyke, H., 1858. *Anatomy Descriptive and Surgical*. John W. Parker and Son (Eds). London.
- Groot Kormelink, T., Calus, L., De Ruyck, N., Holtappels, G., Bachert, C., Redegeld, F.A., Gevaert, P., 2012. Local free light chain expression is increased in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergy* 67, 1165–72.
- Gueders, M., Foidart, J., Noel, A., Cataldo, D., 2006. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in the respiratory tract: potential implications in asthma and other lung diseases. *European Journal of Pharmacology* 533, 133–144.
- Hadfield, P.J., Rowe-Jones, J.M., Mackay, I.S., 2000. The prevalence of nasal polyps in adults with cystic fibrosis. *Clinical Otolaryngology and Allied Sciences* 25, 19–22.
- Halwani, R., Al-Muhsen, S., Al-Jahdali, H., Hamid, Q., 2011. Role of transforming growth factor- β in airway remodeling in asthma. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 44, 127–133.
- Hamilos, D., Leung, D., Huston, D., Kamil, A., Wood, R., Hamid, Q., 1998. GM-CSF, IL-5 and RANTES immunoreactivity and mRNA expression in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis. *Clinical and Experimental Allergy* 28, 1145–1152.
- Hamilos, D., Leung, D., Wood, R., Cunningham, L., Bean, D., Yasruel, Z., et al., 1995. Evidence for distinct cytokine expression in allergic versus nonallergic chronic sinusitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 96, 537–544.
- Hamilos, D.L., Leung, D.Y., Muro, S., Kahn, A.M., Hamilos, S.S., Thawley, S.E., Hamid, Q.A., 2001. GR β expression in nasal polyp inflammatory cells and its relationship to the anti-inflammatory effects of intranasal fluticasone. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 108, 59–68.
- Han, J., 2013. Subclassification of chronic rhinosinusitis. *The Laryngoscope* 123, 15–27.
- Handelsman, D., Conway, A., Boylan, L., 1984. Young's syndrome. Obstructive azoospermia and chronic sinopulmonary infections. *New England Journal of Medicine* 310, 3–9.
- Harlin, S.L., Ansel, D.G., Lane, S.R., Myers, J., Kephart, G.M., Gleich, G.J., 1988. A clinical and pathologic study of chronic sinusitis: the role of the eosinophil. *The Journal of allergy and clinical immunology* 81, 867–875.
- Hastan, D., Fokkens, W.J., Bachert, C., Newson, R.B., Bislimovska, J., Bockelbrink, A., Bousquet, P.J., Brozek, G., Bruno, A., Dahlén, S.E., Forsberg, B., Gunnbjörnsdóttir, M., Kasper, L., Krämer, U., Kowalski, M.L., Lange, B., Lundbäck, B., Salagean, E., Todo-Bom, A., Tomassen, P., Toskala, E., van Drunen, C.M., Bousquet, J., Zuberbier, T., Jarvis, D., Burney, P., 2011. Chronic rhinosinusitis in Europe, an underestimated disease. A GA(2)LEN study. *Allergy* 66, 1216–1223
- Hayashi, R., Wada, H., Ito, K., Adcock, I., 2004. Effects of glucocorticoids on

- gene transcription. *European Journal of Pharmacology* 500, 51–62.
- Hedman, J., Kaprio, J., Poussa, T., Nieminen, M., 1999. Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *International Journal of Epidemiology* 28, 717–722.
- Hibbs, M., Hasty, K., Seyer, J., Kang, A., Mainardi, C., 1985. Biochemical and immunological characterization of the secreted forms of human neutrophil gelatinase. *The Journal of Biological Chemistry* 260, 2493–2500.
- Hissaria, P., Smith, W., Wormald, P., Taylor, J., Vadas, M., Gillis, D., Kette, F., 2006. Short course of systemic corticosteroids in sinonasal polyposis: a double-blind, randomized, placebo controlled, trial with evaluation of outcome measures. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 118, 128–133.
- Holgate, S.T., 2010. Has the time come to rethink the pathogenesis of asthma? *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 10, 48–53.
- Hosemann, W., Gode, U., Wagner, W., 1994. Epidemiology, pathophysiology of nasal polyposis, and spectrum of endonasal sinus surgery. *American journal of otolaryngology* 15, 85–98.
- Hoshino, M., Nakamura, Y., Sim, J., Shimojo, J., Isogai, S., 1998. Bronchial subepithelial fibrosis and expression of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 102, 783–788.
- Huvenne, W., Callebaut, I., Reekmans, K., Hens, G., Bobic, S., Jorissen, M., Bullens, D.M.A., Ceuppens, J.L., Bachert, C., Hellings, P.W., 2010. *Staphylococcus aureus* enterotoxin B augments granulocyte migration and survival via airway epithelial cell activation. *Allergy* 65, 1013–1020.
- Ikeda, K., Shiozawa, A., Ono, N., Kusunoki, T., Hirotsu, M., Homma, H., Saitoh, T., Murata, J., 2013. Subclassification of chronic rhinosinusitis with nasal polyp based on eosinophil and neutrophil. *Laryngoscope* 13. doi: 10.1002/lary.24154
- Jankowski, R., Bouchoua, F., Coffinet, L. et al, 2002. Clinical factors influencing the eosinophil infiltration of nasal polyps. *Rhinology* 40, 173–178.
- Jankowski, R., Pigret, D., Decroocq, F., Blum, A., Gillet, P., 2006. Comparison of radical (nasalisation) and functional ethmoidectomy in patients with severe sinonasal polyposis. A retrospective study. *Revue de laryngologie otologie rhinologie* 127, 131–140.
- Joe, S., Thambi, R., Huang, J., 2008. A systematic review of the use of intranasal steroids in the treatment of chronic rhinosinusitis. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 139, 340–347.
- Johansson, L., Akerlund, A., Holmberg, K., Melen, I., Bende, M., 2003. Prevalence of nasal polyps in adults: the Skovde population-based study. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology* 112, 625–629.
- Jones, N.S., Cooney, T.R., 2003. Facial pain and sinonasal surgery. *Rhinology* 41, 193–200.

- Kahari, V., Saarialho-Kere, U., 1999. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. *Annals of Medicine* 31, 34–45.
- Kakoi, H., Hiraide, F., 1987. A histological study of formation and growth of nasal polyps. *Acta oto-laryngologica* 103, 137–144.
- Kaliner, M.A., Osguthorpe, J.D., Fireman, P., Anon, J., Georgitis, J., Davis, M.L., Naclerio, R., Kennedy, D., 1997. Sinusitis: bench to bedside. Current findings, future directions. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 99, 829–847.
- Kamani, T., Sama, A., 2011. Management of nasal polyps in “aspirin sensitive asthma” triad. *Current opinion in otolaryngology head and neck surgery* 19, 6–10.
- Karjalainen, J., Joki-Erkkilä, V.-P., Hulkkonen, J., Pessi, T., Nieminen, M.M., Aromaa, A., Klaukka, T., Hurme, M., 2003. The IL1A genotype is associated with nasal polyposis in asthmatic adults. *Allergy* 58, 393–396.
- Kast, J., Wanke, K., Soyka, M., Wawrzyniak, P., Akdis, D., Kingo, K., 2012. The broad spectrum of interepithelial junctions in skin and lung. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 130, 544–547.
- Kennedy, D.W., 1985. Functional endoscopic sinus surgery. Technique. *Archives of otolaryngology* 111, 643–649.
- Kennedy, D.W., 1992. Prognostic factors, outcomes and staging in ethmoid sinus surgery. *The Laryngoscope* 102, 1–18.
- Kern, R., 1993. Allergy: a constant factor in the etiology of so-called mucousnasal polyps. *Journal of Allergy* 4, 483.
- Kern, R.C., Conley, D.B., Walsh, W., Chandra, R., Kato, A., Tripathi-Peters, A., Grammer, L.C., Schleimer, R.P., 2010. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *American Journal of Rhinology* 22, 549–559.
- Kim, J., Kountakis, S., 2007. The prevalence of Samter’s triad in patients undergoing functional endoscopic sinus surgery. *Ear, Nose & Throat Journal* 86, 396–399.
- King, J.M., Caldarelli, D.D., Pigato, J.B., 1994. A review of revision functional endoscopic sinus surgery. *The Laryngoscope* 104, 404–408.
- Kirtsreesakul, V., Wongsritrang, K., Ruttanaphol, S., 2011. Clinical efficacy of a short course of systemic steroids in nasal polyposis. *Rhinology* 49, 525–532.
- Kita, H., Abu-Ghazaleh, R.I., Sur, S., Gleich, G.J., 1995. Eosinophil major basic protein induces degranulation and IL-8 production by human eosinophils. *The Journal of Immunology* 154, 4749–4758.
- Klossek, J.M., Neukirch, F., Pribil, C., Jankowski, R., Serrano, E., Chanal, I., El Hasnaoui, A., 2005. Prevalence of nasal polyposis in France: a cross-sectional, case-control study. *Allergy* 60, 233–237.
- Koitschev, A., Simon, C., Löwenheim, H., Naegele, T., Ernemann, U., 2006. Management and outcome after internal carotid artery laceration during surgery of the paranasal sinuses. *Acta otolaryngologica* 126, 730-738.

- Kostamo, K., Tervahartiala, T., Sorsa, T., Richardson, M., Toskala, E., 2007. Metalloproteinase function in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *The Laryngoscope* 117, 638–643.
- Kostamo, K., Toskala, E., Tervahartiala, T., Sorsa, T., 2008. Role of matrix metalloproteinases in chronic rhinosinusitis. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 8, 21–27.
- Laitinen, A., Karjalainen, E.M., Altraja, A., Laitinen, L.A., 2000. Histopathologic features of early and progressive asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology* 105, S509–S513.
- Larsen, K., Settipane, G., Bernstein, J., Tos, M., 1997. The clinical relationship of nasal polyps to asthma, Rhode Isla. ed.
- Larsen, K., Tos, M., 1994. Clinical course of patients with primary nasal polyps. *Acta otolaryngologica* 114, 556–559.
- Larsen, K., Tos, M., 2002. The estimated incidence of symptomatic nasal polyps. *Acta oto-laryngologica* 122, 179–182.
- Larson, D.A., Han, J.K., 2011. Microbiology of sinusitis: does allergy or endoscopic sinus surgery affect the microbiologic flora? *Current opinion in otolaryngology head and neck surgery* 19, 199–203.
- Lavigne, F., Nguyen, C.T., Cameron, L., Hamid, Q., Renzi, P.M., 2000. Prognosis and prediction of response to surgery in allergic patients with chronic sinusitis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 105, 746–751.
- Lechapt-Zalcman, E., Coste, A., d'Ortho, M.P., Frisdal, E., Harf, A., Lafuma, C., Escudier, E., 2001. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in nasal polyps. *The Journal of pathology* 193, 233–241.
- Lechapt-Zalcman, E., Escudier, E., 2000. [Implication of extracellular matrix metalloproteinases in the course of chronic inflammatory airway diseases]. *Morphologie : bulletin de l'Association des anatomistes* 84, 45–49.
- Lemjabbar, H., Gosset, P., Lamblin, C., Al, E., 1999. Contribution of 92 kDa gelatinase/type IV collagenase in bronchial inflammation during status asthmaticus. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 159, 1298–1307.
- Lewis, K., 2007. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nature Reviews Microbiology* 5, 48–56.
- Li, P., Li, Y., Zhang, X., Zhang, G., Ye, J., Sun, Y., Hu, B., 2005. Detection of glucocorticoid receptor-alpha mRNA expression using FQ-RT-PCR in nasal polyp. *Lin chuang er bi yan hou ke za zhi Journal of clinical otorhinolaryngology* 19, 769–771.
- Li, X., Meng, J., Qiao, X., Liu, Y., Liu, F., Zhang, N., Zhang, J., Holtappels, G., Luo, B., Zhou, P., Zheng, Y., Lin, P., Liu, S., Bachert, C., 2010. Expression of TGF, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitors in Chinese chronic rhinosinusitis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 125, 1061–1068.
- Licata, A., 2005. Systemic effects of fluticasone nasal spray: report of 2 cases.

- Endocrine Practice 11, 194–196.
- Lildholdt, T., Fogstrup, J., Gammelgaard, N., Kortholm, B., Ulsoe, C., 1989. Surgical versus medical treatment of nasal polyps., *Rhinology Supplement*.
- Lildholdt, T., Rundcrantz, H., Bende, M., Larsen, K., 1997. Glucocorticoid treatment for nasal polyps. The use of topical budesonide powder, intramuscular betamethasone, and surgical treatment. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 123, 595–600.
- Lim, M., Lew-Gor, S., Darby, Y., Brookes, N., Scadding, G., Lund, V., 2007. The relationship between subjective assessment instruments in chronic rhinosinusitis. *Rhinology* 45, 144–147.
- Littman, D.R., Pamer, E.G., 2011. Role of the Commensal Microbiota in Normal and Pathogenic Host Immune Responses. *Cell Host Microbe* 10, 311–323.
- Liu, F., Zhang, J., Liu, Y., Zhang, N., Holtappels, G., Lin, P., Liu, S., Bachert, C., 2010. Inflammatory profiles in nasal mucosa of patients with persistent vs intermittent allergic rhinitis. *Allergy* 65, 1149–1157.
- Lockey, R., Rucknagel, D., Vanselow, N., 1973. Familial occurrence of asthma, nasal polyps, and aspirin intolerance. *Annals of Internal Medicine* 78, 17–24.
- Lu, X., Liu, Z., Cui, Y., 2005. The protein expression difference of transforming growth factor beta1, matrix metalloproteinases 1,7,9 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases-1 between chronic rhinosinusitis, nasal polyps and normal mucosa tissues. *Lin chuang er bi yan hou ke za zhi Journal of clinical otorhinolaryngology* 19, 633–635.
- Lund, V., Mackay, I., 1993. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology* 31, 183–184.
- Luxenberger, W., Posch, U., Berghold, A., Hofmann, T., Lang-Loidolt, D., 2000. HLA patterns in patients with nasal polyposis. *European archives of otorhinolaryngology official journal of the European Federation of OtoRhinoLaryngological Societies EUFOS affiliated with the German Society for OtoRhinoLaryngology Head and Neck Surgery* 257, 137–139.
- Mabry, R., 1981. Visual loss after intranasal corticoesteroid injection. Incidence, causes and prevention. *Archives of Otolaryngology* 107, 484–486.
- Malinsky, R., Valera, F., Cavallari, F., Salgado, D., Milaneze, C., Silva, J., Tamashiro, E., Anselmo-Lima, W., 2013. Matrix metalloproteinases and their impact on sinusal extension in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *European Archives of Otorhinolaryngology* 270, 1345-1348.
- Marks, S.C., Shamsa, F., 1997. Evaluation of prognostic factors in endoscopic sinus surgery. *American Journal of Rhinology* 11, 187–191.
- Massegur, H., Marañillo, E., Montserrat, J., Sañudo, J., 2005. Anatomía de las fosas nasales y de los senos paranasales., in: Mullol i Miret, J., Montserrat i Gili, J. (Eds.), *Rinitis, Rinosinusitis, Poliposis Nasal*. Ponencia oficial de la SEORL y PCF 2005, pp. 33–47.
- Masterson, L., Tanweer, F., Bueser, T., Leong, P., 2010. Extensive endoscopic sinus surgery: does this reduce the revision rate for nasal polyposis?. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European*

- Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery 267, 1557–1561.
- Matsuwaki, Y., Ookushi, T., Asaka, D., Mori, E., Nakajima, T., Yoshida, T., Kojima, J., Chiba, S., Ootori, N., Moriyama, H., 2008. Chronic rhinosinusitis: risk factors for the recurrence of chronic rhinosinusitis based on 5-year follow-up after endoscopic sinus surgery. *International Archives of Allergy and Immunology* 146 Suppl , 77–81.
- May, A., Wagner, D., Langenbeck, U., Weber, A., 2000. [Family study of patients with aspirin intolerance and rhinosinusitis]. *HNO* 48, 650–4.
- Mfuna Endam, L., Cormier, C., Bossé, Y., Filali-Mouhim, A., Desrosiers, M., 2010. Association of IL1A, IL1B, and TNF gene polymorphisms with chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis: A replication study. *Archives of otolaryngologyhead neck surgery* 136, 187–192.
- Mfuna-Endam, L., Zhang, Y., Desrosiers, M., 2011. Genetics of rhinosinusitis. *Current Opinion in Allergy and Asthma Reports* 11, 236–246.
- Min, Y., Jung, H., Kim, H., Park, S., Yoo, K., 1996. Prevalence and risk factors of chronic sinusitis in Korea: results of a nationwide survey. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery* 253, 435–439.
- Molnar-Gabor, E., Endreffy, E., Rozsasi, A., 2000. HLA-DRB1, -DQA1, and -DQB1 genotypes in patients with nasal polyposis. *The Laryngoscope* 110, 422–425.
- Moloney, J.R., Oliver, R.T., 1980. HLA antigens, nasal polyps and asthma. *Clinical Otolaryngology and Allied Sciences* 5, 183–189.
- Mostafa, B., Abdel Hay, H., Mohammed, H., Yamani, M., 2005. Role of leukotriene inhibitors in the postoperative management of nasal polyps. *Journal for Oto-Rhino-Laryngology and its Related Specialties* 67, 148–153.
- Mullol, J., Obando, A., Pujols, L., Alobid, I., 2009. Corticoesteroid treatment in chronic rhinosinusitis: the possibilities and the limits. *Immunology and Allergy Clinics of North America* 29, 657–668.
- Musy, P., Kountakis, S., 2004. Anatomic findings in patients undergoing revision endoscopic sinus surgery. *American Journal of Otolaryngology* 25, 418–422.
- Naclerio, R.M., deTineo, M.L., Baroody, F.M., 1997. Ragweed allergic rhinitis and the paranasal sinuses. A computed tomographic study. *Archives of otolaryngologyhead neck surgery* 123, 193–196.
- Namba, M., Asano, K., Kanai, K.-I., Kyo, Y., Watanabe, S., Hisamitsu, T., Suzuki, H., 2004. Suppression of matrix metalloproteinase production from nasal fibroblasts by fluticasone propionate in vitro. *Acta oto-laryngologica* 124, 964–9.
- Narayanankutty, A., Reséndiz-Hernández, J.M., Falfán-Valencia, R., Teran,

- L.M., 2013. Biochemical pathogenesis of aspirin exacerbated respiratory disease (AERD). *Clinical biochemistry* 46, 566–78.
- Necela, B., Cidlowski, J., 2004. Mechanisms of glucocorticoid receptor action in noninflammatory and inflammatory cells. *Proceedings of the American Thoracic Society* 1, 239–246.
- O'Driscoll, B., Kalra, S., Wilson, M., Pickering, C., Carroll, K., Woodcock, A., 1993. Double-blind trial of steroid tapering in acute asthma. *The Lancet* 341, 324–327.
- Ohno, I., Ohtani, H., Nitta, Y., Al, E., 1997. Eosinophils as a source of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 16, 212–219.
- Okada, Y., Gonoji, Y., Naka, K., Al, E., 1992. Matrix metalloproteinase 9 (92 kDa gelatinase/type IV gelatinase) from HT 1080 human fibrosarcoma cells. *The Journal of Biological Chemistry* 267, 21712–21719.
- Okano, M., Fujiwara, T., Haruna, T., Kariya, S., Makihara, S., Higaki, T., Nishizaki, K., 2009. Prostaglandin E(2) suppresses staphylococcal enterotoxin-induced eosinophilia-associated cellular responses dominantly through an E-prostanoid 2-mediated pathway in nasal polyps. *The Journal of allergy and clinical immunology* 123, 868–74.e13.
- Olsen, K., Neel, H., Deremee, R., Al, E., 1980. Nasal manifestations of allergic granulomatosis and angiitis (Churg-Strauss syndrome). *Otolaryngology--head and neck surgery: official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 88, 85–89.
- Omalizumab: a second look in severe persistent asthma: new adverse effects., 2011. . *Prescrire International* 20, 90–92.
- Palmer, J.N., 2005. Bacterial biofilms: do they play a role in chronic sinusitis? *Otolaryngologic Clinics Of North America* 38, 1193–1201, viii.
- Pang, Y.T., Eskici, O., Wilson, J.A., 2000. Nasal polyposis: role of subclinical delayed food hypersensitivity. *Otolaryngologyhead and neck surgery official journal of American Academy of OtolaryngologyHead and Neck Surgery* 122, 298–301.
- Pant, H., Ferguson, B.J., Macardle, P.J., 2004. Role of allergy in rhinosinusitis. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 4, 17–23.
- Parikh, A.A., Scadding, G.K., 2005. Intranasal lysine-aspirin in aspirin-sensitive nasal polyposis: a controlled trial., *The Laryngoscope* 115, 1385-1390
- Parks, W., Shapiro, S., 2001. Matrix metalloproteinases in lung biology. *Respiratory Research* 2, 10–19.
- Patiar, S., Reece, P., 2007. Oral steroids for nasal polyps. *Cochrane Database Systematic Review* CD005232.
- Patou, J., Gevaert, P., Van Zele, T., Holtappels, G., Van Cauwenberge, P., Bachert, C., 2008. Staphylococcus aureus enterotoxin B, protein A, and lipoteichoic acid stimulations in nasal polyps. *The Journal of allergy and clinical immunology* 121, 110–115.
- Pearlman, A., Chandra, R., Chang, D., Conley, D., Triparthi-Peters, A.,

- Grammer, L., Al., E., 2009. Relationships between severity of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis, asthma and atopy. *American Journal of Rhinology and Allergy* 23, 145–148.
- Pearlman, A.N., Chandra, R.K., Conley, D.B., Robert, K.C., 2010. Epidemiology of nasal polyps, in: Önerci, T.M., Ferguson, B.J. (Eds.), *Nasal Polyposis*. Springer, pp. 9–15.
- Pedersen, M., Sakakura, Y., Winther, B., Brofeldt, S., Mygind, N., 1983. Nasal mucociliary transport, number of ciliated cells, and beating pattern in naturally acquired common colds. *European Journal Of Respiratory Diseases Supplement* 128 (Pt 1), 355–365.
- Pepys, J., Duveen, G., 1951. Negative skin tests in allergic rhinitis and nasal polyposis. *International Archives of Allergy and Immunology* 2, 147–160.
- Pérez Novo, C.A., Jedrzejczak-Czechowicz, M., Lewandowska-Polak, A., Claeys, C., Holtappels, G., Van Cauwenberge, P., Kowalski, M.L., Bachert, C., 2010. T cell inflammatory response, Foxp3 and TNFRS18-L regulation of peripheral blood mononuclear cells from patients with nasal polyps-asthma after staphylococcal superantigen stimulation. *Clinical and experimental allergy journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 40, 1323–1332.
- Pérez-Novo, C., Kowalski, M., Kuna, P., Ptasinska, A., Et, A., 2004. Aspirin sensitivity and IgE antibodies to *Staphylococcus aureus* enterotoxins in nasal polyposis: studies on the relationship. *International Archives of Allergy and Immunology* 133, 255–260.
- Pinto, J.M., Mehta, N., DiTineo, M., Wang, J., Baroody, F.M., Naclerio, R.M., 2010. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of anti-IgE for chronic rhinosinusitis. *Rhinology* 48, 318–324.
- Pleass, R.J., Lang, M.L., Kerr, M.A., Woof, J.M., 2007. IgA is a more potent inducer of NADPH oxidase activation and degranulation in blood eosinophils than IgE. *Molecular Immunology* 44, 1401–1408.
- Ponikau, J.U., Sherris, D.A., Kephart, G.M., Adolphson, C., Kita, H., 2005. The role of ubiquitous airborne fungi in chronic rhinosinusitis. *Current allergy and asthma reports* 5, 472–6.
- Poposki, J.A., Uzzaman, A., Nagarkar, D.R., Chustz, R.T., Peters, A.T., Suh, L.A., Carter, R., Norton, J., Harris, K.E., Grammer, L.C., Tan, B.K., Chandra, R.K., Conley, D.B., Kern, R.C., Schleimer, R.P., Kato, A., 2011. Increased expression of the chemokine CCL23 in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *The Journal of allergy and clinical immunology* 128, 73–81.e4.
- Probst, L., Stoney, P., Jeney, E., Et, A., 1992. Nasal polyps, bronchial asthma and aspirin sensitivity. *Journal of Otolaryngology* 21, 60–65.
- Psaltis, A.J., Weitzel, E.K., Ha, K.R., Wormald, P.-J., 2008. The effect of bacterial biofilms on post-sinus surgical outcomes. *American Journal of Rhinology* 22, 1–6.
- Pujols, L., Alobid, I., Benítez, P., Martínez-Antón, A., Roca-Ferrer, J., Fokkens, W.J., Mullol, J., Picado, C., 2007. Regulation of glucocorticoid receptor in

- nasal polyps by systemic and intranasal glucocorticoids. *Allergy* 62, 1007–1013.
- Pujols, L., Mullol, J., Benítez, P., Al, E., 2003. Expression of the glucocorticoid receptor alpha and beta isoforms in human nasal mucosa and polyp epithelial cells. *Respiratory Medicine* 97, 90–96.
- Ragab, S., Lund, V., Scadding, G., 2004. Evaluation of the medical and surgical treatment of chronic rhinosinusitis: a prospective, randomised, controlled trial. *The Laryngoscope* 114, 923–930.
- Ramadan, H., 1999. Surgical causes of failure in endoscopic sinus surgery. *The Laryngoscope* 109, 27.
- Rehl, R., Balla, A., Cabay, R., Hearp, M., Pytynia, K., Joe, S., 2007. Mucosal remodeling in chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology* 21, 651–657.
- Rehl, R.M., Balla, A.A., Cabay, R.J., Hearp, M.L., Pytynia, K.B., Joe, S.A., 2011. Tissue remodeling in chronic rhinosinusitis. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 21, 8–11.
- Richer, S.L., Truong-Tran, A.Q., Conley, D.B., Carter, R., Vermylen, D., Grammer, L.C., Peters, A.T., Chandra, R.K., Harris, K.E., Kern, R.C., Schleimer, R.P., 2008. Epithelial genes in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *American Journal of Rhinology* 22, 228–234.
- Robinson, S., Douglas, R., Wormald, P.-J., 2006. The relationship between atopy and chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology* 20, 625–628.
- Rodríguez-Serna, M., Cuadra, J., Conde, L., 2004. La técnica del prick test en la consulta de dermatología. *Piel* 19, 276–280.
- Romagnani, S., 1991. Human Th1 and Th2 subsets: doubt no more. *Immunology Today* 12, 256–257.
- Rowe-Jones, J., Medcalf, M., Durham, S., Richards, D., Mackay, I., 2005. Functional endoscopic sinus surgery: 5 year follow up and results of a prospective, randomised, stratified, double-blind, placebo controlled study of postoperative fluticasone propionate aqueous nasal spray. *Rhinology* 43, 2–10.
- Rudmik, L., Mace, J., Smith, T., 2011. Smoking and endoscopic sinus surgery: does smoking volume contribute to clinical outcome? *International Forum of Allergy & Rhinology* 1, 145–152.
- Rugina, M., Serrano, E., Klossek, J., Crampette, L., Stoll, D., Bebear, J., Al, E., 2002. Epidemiological and clinical aspects of nasal polyposis in France; the ORL group experience. *Rhinology* 40, 75–79.
- Sachse, F., Becker, K., Von Eiff, C., Metzke, D., Rudack, C., 2010. *Staphylococcus aureus* invades the epithelium in nasal polyposis and induces IL-6 in nasal epithelial cells in vitro. *Allergy* 65, 1430–1437.
- Samter, M., Beers, M., 1968. Intolerance to aspirin: clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Annals of Internal Medicine* 68, 975–983.
- Samter, M., Beers, R., 1967. Concerning the nature of intolerance to aspirin.

- Journal of Allergy 40, 281–293.
- Sánchez-Segura, A., Brieva, J., Rodriguez, C., 1998. T lymphocytes that infiltrate nasal polyps have a specialized phenotype and produce a mixed TH1/TH2 pattern of cytokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 102, 953–960.
- Sasama, J., Sherris, D., Shin, S., Kephart, G., Kern, E., Ponikau, J., 2005. New paradigm for the roles of fungi and eosinophils in chronic rhinosinusitis. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery* 13, 2–8.
- Schleimer, R.P., Bochner, B., 1994. The effects of glucocorticoids on human eosinophils. *The Journal of allergy and clinical immunology* 94, 1202–1213.
- Schwartz, H., Thompson, J., Sher, T., Ross, R., 1987. Occult sinus abnormalities in the asthmatic patient. *Archives of Internal Medicine* 147, 2194–2196.
- Setippane, G., 1996. Epidemiology of nasal polyps. *Allergy and Asthma Procedures* 17, 231–236.
- Setippane, G., Chafee, F., 1977. Nasal polyps in asthma and rhinitis: a review of 6037 patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 59, 17–21.
- Simon, H., Yousefi, S., Schranz, C., Schapowal, A., Bachert, C., Blaser, K., 1997. Direct demonstration of delayed eosinophil apoptosis as a mechanism causing tissue eosinophilia. *Journal of Immunology* 158, 3902–3908.
- Singhal, D., Foreman, A., Bardy, J.-J., Wormald, P.-J., 2006. Staphylococcus aureus biofilms: Nemesis of endoscopic sinus surgery. *The Laryngoscope* 121, 1578–1583.
- Soler, Z.M., Sauer, D.A., Mace, J., Smith, T.L., 2010. Relationship between clinical measures and histopathologic findings in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngologyhead and neck surgery official journal of American Academy of OtolaryngologyHead and Neck Surgery* 142, 454–461.
- Sorsa, T., Golub, L., 2005. Is the excessive inhibition of matrix metalloproteinases (MMPs) by potent syntheticMMPinhibitors (MMPIs) desirable in periodontitis and other inflammatory diseases? That is: “leaky” MMPIs vs excessively efficient drugs. *Oral Diseases* 11, 408–409.
- Sorsa, T., Tjaderhane, L., Konttinen, Y., Al., E., 2006. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Annals of Medicine* 38, 306–321.
- Soyka, M., Wawrzyniak, P., Eiwegger, T., Holzmann, D., Treis, A., Wanke, K., 2012. Defective epithelial barrier in chronic rhinosinusitis: The regulation of tight junctions by IFN-gamma and IL-4. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 130, 1087–1096.
- Stammberger, H., Zinreich, S.J., Kopp, W., Kennedy, D.W., Johns, M.E., Rosenbaum, A.E., 1987. [Surgical treatment of chronic recurrent sinusitis--the Caldwell-Luc versus a functional endoscopic technic]. *HNO* 35, 93–105.
- Stankiewicz, J.A., Musgrave, B.K., Scianna, J.M., 2011. Role of aspirin desensitization in the management of chronic rhinosinusitis. *Current*

- opinion in otolaryngology head and neck surgery 19, 44–46.
- Stevenson, D.D., Pleskow, W.W., Simon, R.A., Mathison, D.A., Lumry, W.R., Schatz, M., Zeiger, R.S., 1984. Aspirin-sensitive rhinosinusitis asthma: a double-blind crossover study of treatment with aspirin., *The Journal of allergy and clinical immunology* 73, 500-507
- Stevenson, R., Guthrie, D., 1949. *A history of otolaryngology.*, Living Sto. ed. Edinburgh.
- Stoop, A., Van Der Heijden, H., Bi, J., Va Der Baan, S., 1993. Eosinophils in nasal polyps and nasal mucosa: an immunohistochemical study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 91, 616–622.
- Suh, J.D., Cohen, N.A., Palmer, J.N., 2010. Biofilms in chronic rhinosinusitis. *Current opinion in otolaryngology head and neck surgery* 18, 27–31.
- Sun, D.-I., Joo, Y.-H., Auo, H.-J., Kang, J.-M., 2009. Clinical significance of eosinophilic cationic protein levels in nasal secretions of patients with nasal polyposis. *European archives of oto-rhino-laryngology* 266, 981–986.
- Sutherland, E., Martin, R., 2003. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: comparisons with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 112, 819–827.
- Szabo, S., Kim, S., Costa, G., Zhang, X., Fathman, C., Glimcher, L., 2000. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 100, 655–669.
- Szucs, E., Ravandi, S., Goossens, A., Beel, M., Clement, P.A.R., 2002. Eosinophilia in the ethmoid mucosa and its relationship to the severity of inflammation in chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology* 16, 131–134.
- Taylor, M., 1963. Histochemical studies on nasal polyp. *Journal of Laryngology and Otology* 77, 326–341.
- Testut L. Letarjet A. *Compendio de anatomia descriptiva.* Salvat, Barcelona. 1973.
- Tieu, D.D., Kern, R.C., Schleimer, R.P., 2009. Alterations in epithelial barrier function and host defense responses in chronic rhinosinusitis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 124, 37–42.
- Tiñana, A., Borish, L., W. Steinke, J., 2010. Eosinophil, in: Metin Önerci, T., J. Ferguson, B. (Eds.), *Nasal Polyposis.* pp. 35–43.
- Toledano, A., González, E., Rodríguez, G., Galindo, N., 2007. The validity of CCCRC test in patients with nasal polyposis. *Rhinology* 45, 54–58.
- Valera, F., Scrideli, C., Queinoz, R., Gonzaga Tone, L., Anselmo-Lima, W., 2010. NF-Kb expression predicts clinical outcome for nasal polyposis. *Rhinology* 48, 408–414.
- Valera, F.C.P., Queiroz, R., Scrideli, C., Tone, L.G., Anselmo-Lima, W.T., 2009. Evaluating budesonide efficacy in nasal polyposis and predicting the resistance to treatment. *Clinical and experimental allergy : journal of the*

- British Society for Allergy and Clinical Immunology 39, 81–8.
- Van Bruaene, N., Derycke, L., Perez-Novo, C.A., Gevaert, P., Holtappels, G., De Ruyck, N., Cuvelier, C., Van Cauwenberge, P., Bachert, C., 2009. TGF-beta signaling and collagen deposition in chronic rhinosinusitis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 124, 253–259, 259.e1–e2.
- Van Bruaene, N., Pérez-Novo, C.A., Basinski, T.M., Van Zele, T., Holtappels, G., De Ruyck, N., Schmidt-Weber, C., Akdis, C., Van Cauwenberge, P., Bachert, C., Gevaert, P., 2008. T-cell regulation in chronic paranasal sinus disease. *The Journal of allergy and clinical immunology* 121, 1435–1441, 1441.e1–e3.
- Van Camp, C., Clement, P.A., 1994. Results of oral steroid treatment in nasal polyposis. *Rhinology* 32, 5–9.
- Van Crombruggen, K., Zhang, N., Gevaert, P., Tomassen, P., Bachert, C., 2011. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology* 128, 728–32.
- Van Zele, T., Claeys, S., Gevaert, P., Van Maele, G., Holtappels, G., Van Cauwenberge, P., Al, E., 2006. Differentiation of chronic sinus disease by measurement of inflammatory mediators. *Allergy* 61, 1280–1289.
- Van Zele, T., Gevaert, P., Holtappels, G., Beule, A., Wormald, P., Mayr, S., Hens, G., Hellings, P., Ebbens, F., Fokkens, W., Van Cauwenberge, P., Bachert, C., 2010. Oral steroids and doxycycline: two different approaches to treat nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125, 1069–1076.
- Van Zele, T., Gevaert, P., Watelet, J.-B., Claeys, G., Holtappels, G., Claeys, C., Van Cauwenberge, P., Bachert, C., 2004. Staphylococcus aureus colonization and IgE antibody formation to enterotoxins is increased in nasal polyposis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 114, 981–983.
- Vento, S., Simola, M., Ertama, L., Malmberg, C., 2001. Sense of smell in long-standing nasal polyposis. *American Journal of Rhinology* 15, 159–163.
- Visse, R., Nagase, H., 2003. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Research* 92, 827–839.
- Wallwork, B., Coman, W., Mackay-Sim, A., Greiff, L., Cervin, A., 2006. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of macrolide in the treatment of chronic rhinosinusitis. *The Laryngoscope* 116, 189–193.
- Walsh, L., Lewis, S., Wong, C., Cooper, S., Osborne, J., Cawte, S., Et, A., 2002. The impact of oral corticosteroid use on bone mineral density and vertebral fracture. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 166, 691–695.
- Wang, J.H., Kwon, H.J., Jang, Y.J., 2010. Staphylococcus aureus increases cytokine and matrix metalloproteinase expression in nasal mucosae of patients with chronic rhinosinusitis and nasal polyps. *American journal of rhinology allergy* 24, 422–427.
- Watelet, J.B., Bachert, C., Claeys, C., Van Cauwenberge, P., 2004. Matrix

- metalloproteinases MMP-7, MMP-9 and their tissue inhibitor TIMP-1: expression in chronic sinusitis vs nasal polyposis. *Allergy* 59, 54–60.
- Watelet, J.B., Demetter, P., Claeys, C., Van Cauwenberge, P., Cuvelier, C., Bachert, C., 2005. Neutrophil-derived metalloproteinase-9 predicts healing quality after sinus surgery. *The Laryngoscope* 115, 56–61.
- Webb, J., Clark, T., 1981. Recovery of plasma corticotrophin and cortisol levels after three -week course of prednisolone. *Thorax* 36, 22–24.
- Welch, K., Kennedy, D., 2010. Surgical Treatment of Nasal Polyposis., in: Önerci Metin, T., Ferguson, B. (Eds.), *Nasal Polyposis*. Springer, pp. 253–264.
- Welgus, H., Campbell, E., Cury, J., Al, E., 1990. Neutral metalloproteinases produced by human mononuclear phagocytes: enzyme profile, regulation and expression during cellular development. *The Journal of Clinical Investigation* 86, 1496–1502.
- Wen, W., Liu, W., Zhang, L., Bai, J., Fan, Y., Xia, W., Luo, Q., Zheng, J., Wang, H., Li, Z., Xia, J., Jiang, H., Liu, Z., Shi, J., Li, H., Xu, G., 2012. Increased neutrophilia in nasal polyps reduces the response to oral corticosteroid therapy. *The Journal of allergy and clinical immunology* 129, 1522–8.e5.
- Widal, M., Abrami, P., Lermoyez, J., 1922. Anaphyaxie et idiosyncrasie. *Press Med* 30, 189.
- Wilhelm, S., Collier, I., Marmer, B., Eisen, A., Grant, G., Goldberg, G., 1989. SV40 transformed human lung fibroblasts secrete a 92 kDa type IV collagenase which is identical to that secreted by normal human macrophages. *The Journal of Biological Chemistry* 264, 1713–1721.
- Woakes, E., 1885. The relationship of necrosing ethmoiditis to nasal polyps. *The British Medical Journal* 50, 701.
- Wood, A., Fraser, J., Swift, S., Amirapu, S., Douglas, R., 2011. Are biofilms associated with an inflammatory response in chronic rhinosinusitis? *International Forum of Allergy & Rhinology* 1–5.
- Wood, A.J., Antoszewska, H., Fraser, J., Douglas, R.G., 2011. Is chronic rhinosinusitis caused by persistent respiratory virus infection? *Int Forum Allergy Rhinol* 1, 95–100.
- Woodworth, B. a, Joseph, K., Kaplan, A.P., Schlosser, R.J., 2004. Alterations in eotaxin, monocyte chemoattractant protein-4, interleukin-5, and interleukin-13 after systemic steroid treatment for nasal polyps. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 131, 585–9.
- Wright, E., Agrawal, S., 2007. Impact of perioperative systemic steroids on surgical outcomes in patients with chronic rhinosinusitis with polyposis: evaluation with the novel Perioperative Sinus Endoscopy (POSE) scoring system. *The Laryngoscope* 117, 1–28.
- Wright, J., 1914. *A history of laryngology and rhinology.*, Second. ed. New York.
- Wynn, R., Har-El, G., 2004. Recurrence rates after endoscopic sinus surgery for massive sinus polyposis. *The Laryngoscope* 114, 811–813.

- Xiao, C., Puddicombe, S.M., Field, S., Haywood, J., Broughton-Head, V., Puxeddu, I., Haitchi, H.M., Vernon-Wilson, E., Sammut, D., Bedke, N., Cremin, C., Sones, J., Djukanović, R., Howarth, P.H., Collins, J.E., Holgate, S.T., Monk, P., Davies, D.E., 2011. Defective epithelial barrier function in asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology* 128, 549–556.e12.
- Zadeh, M.H., Banthia, V., Anand, V.K., Huang, C., 2002. Significance of eosinophilia in chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology* 16, 313–317.
- Zele, T. Van, Gevaert, P., Holtappels, G., Cauwenberge, P. Van, Bachert, C., 2007. Local immunoglobulin production in nasal polyposis is modulated by superantigens *Clinical and Experimental Allergy. Clinical and Experimental Allergy Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 37, 1840–1847.
- Zernotti, M.E., Angel Villegas, N., Roques Revol, M., Baena-Cagnani, C.E., Arce Miranda, J.E., Paredes, M.E., Albesa, I., Paraje, M.G., 2010. Evidence of bacterial biofilms in nasal polyposis. *Journal of investigational allergology clinical immunology official organ of the International Association of Asthmology INTERASMA and Sociedad Latinoamericana de Alergia e Inmunologia* 20, 380–385.
- Zhang, N., Holtappels, G., Claeys, C., Huang, G., Van Cauwenberge, P., Bachert, C., 2006. Pattern of inflammation and impact of *Staphylococcus aureus* enterotoxins in nasal polyps from southern China. *American Journal of Rhinology* 20, 445–450.
- Zuckerkindl, E., 1892. A discussion on the aetiology of mucous polyp. *The British Medical Journal* 2, 476.