

12625/1



UNIVERSIDAD NACIONAL

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SERVICIO DE ALERGIAS E INMUNOLOGIA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
"DR. BERNARDO SEPULVEDA"
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

ACTIVIDAD FAGOCITICA DE POLIMORFONUCLEARES
EN PACIENTES CON SINDROME DE SAMTER Y SANOS

M. T. V. I. A. en Ciencias Médicas

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN MEDICINA
PRESENTA
DANTE DANIEL HERNANDEZ COLIN

ASESOR DE TESIS
DR. SALVADOR MARTINEZ-CAIRO CUETO

MEXICO D.F.

ENERO 1997



I.M.S.S.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

<i>RESUMEN</i> _____	5
<i>ANTECEDENTES</i> _____	6
<i>MATERIAL Y METODOS:</i> _____	9
<i>SELECCION DE LA MUESTRA</i> _____	10
<i>CRITERIOS DE SELECCION</i> _____	11
<i>PROCEDIMIENTO</i> _____	12
<i>ANALISIS ESTADISTICO</i> _____	14
<i>CONSIDERACIONES ETICAS</i> _____	14
<i>RESULTADOS:</i> _____	15
<i>DISCUSION</i> _____	17
<i>BIBLIOGRAFIA</i> _____	21
<i>CONSENTIMIENTO INFORMADO</i> _____	24
<i>TABLA DE RESULTADOS</i> _____	25
<i>ANEXOS</i> _____	26

RESUMEN

ANTECEDENTES: La triada de síntomas asma intrínseca, intolerancia a la aspirina y pólipos nasales se le denominó "síndrome de Samter" su prevalencia e incidencia es relativamente baja, los pacientes cursan con infecciones repetitivas la fisiopatología de los procesos infecciosos no se ha esclarecido del todo, algunos autores lo han denominado como disfunción del epitelio respiratorio no obstante no existen estudios que confirmen estas hipótesis y continúa siendo catalogada como un enigma por los investigadores de esta enfermedad.

OBJETIVO: Evaluar la actividad fagocítica *In Vitro* de PMN por medio de quimioluminiscencia de pacientes con síndrome de Samter comparándola con pacientes asmáticos y sanos tomando a éstos como sus controles.

METODO: Se realizó fase de selección de pacientes y después se efectuaron los ensayos de quimioluminiscencia (CL), se tomó muestra de sangre venosa, se separaron los PMN mediante gradiente de densidad y centrifugación con Ficoll-Hypaque, se estimó concordancia interobservador para el conteo de PMN, pruebas de viabilidad y pureza, se evaluó la emisión de luz estableciendo por triplicado cada prueba, formándose 4 grupos por ensayo, colocándose 12 viales por experimento, la partícula a fagocitar utilizada fue zimosan y luminol para amplificar la emisión de luz, determinándose por milivoltios, se registraron 25 ciclos por ensayo determinándose curvas de quimioluminiscencia y promedios de cada experimento.

RESULTADOS: Se efectuó análisis estadístico de varianza con el método de Student-Newman-Keuls, no se encontraron diferencias estadísticas entre los tres grupos basal y postestímulo fagocítico con ($P = N.S.$) basal y postestímulo de cada grupo ($P < 0.05$)

CONCLUSIONES: Se confirmó el aumento de la emisión de luz al agregar el estímulo fagocítico el cual incrementó en los tres grupos, no existiendo diferencias entre las curvas finales de quimioluminiscencia de los dos grupos, de acuerdo a nuestros resultados el origen de la falla inmunológica probablemente sea debida a quimiotaxis u otros factores que intervienen en la respuesta inmune.

ANTECEDENTES

Fagocitosis es el proceso por el cual las bacterias se ingieren y eliminan por leucocitos; las bacterias deben unirse a proteínas séricas como inmunoglobulinas (Ig) o complemento (C3), proceso que se conoce como opsonización que facilita el reconocimiento y la fagocitosis. La bacteria opsonizada se adhiere a los receptores de superficie específicos en el leucocito y es envuelta por la membrana celular de éste formándose una vesícula intracelular llamada fagosoma. Los lisosomas migran al fagosoma y se fusionan formando el fagolisosoma en el que se libera el contenido del lisosoma que incluye enzimas capaces de degradar la bacteria.¹

La capacidad bactericida de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) depende de ciertas reacciones oxidativas conocidas como "estallido respiratorio" que tienen lugar con la fagocitosis del microorganismo: la primera de estas reacciones involucra la reducción de un electrón del oxígeno por un nucleótido de piridina para formar el compuesto altamente reactivo anión superóxido. La mayoría del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) tiene como precursor el anión superóxido y es formado por disminución espontánea de éste, además se producen otros metabolitos del oxígeno que incluyen radicales hidroxilo y oxígeno único.²

Estas especies oxidantes son producto del oxígeno y su formación se caracteriza por aumento de la actividad de hexosaminofosfato. Se ha observado liberación de luz asociada con la liberación de las especies oxidantes, llamada quimioluminiscencia "nativa", muy débil por lo que no puede usarse en sistemas analíticos con el fin de medir el proceso fagocítico. La luz emitida es el resultado de reacciones entre ciertos constituyentes no específicos de las partículas digeridas y algunos o todos los agentes oxidantes.^{1-3,7}

La respuesta de quimioluminiscencia fagocítica en PMN requiere de interacción de partículas y membrana de fagocito.

La producción de luz de PMN dependiente de luminol está ligada al sistema mieloperoxidasa, anión superóxido. (MPO)- H_2O_2 (⁴)

La quimioluminiscencia puede ser vista como una manifestación de la actividad microbicida de neutrófilos. Es posible seguir el progreso de la fagocitosis monitorizando la emisión de luz usando un luminómetro. La quimioluminiscencia puede ser utilizada para medir la actividad opsonizante y

función celular por su dependencia del contacto partícula-célula y del metabolismo celular.³⁻⁵

Se han observado "activación" de los leucocitos de sangre periférica después de la broncoconstricción inducida por ejercicio y reto antigénico.^{7,8}

La activación de los neutrófilos se comprobó por el incremento de la expresión de receptores en la membrana celular y generación de actividad quimiotáctica; también se ha observado que la quimiotaxis de los PMN de niños asmáticos es menor en comparación con la de niños sanos y no se observaron diferencias significativas en la prueba de fagocitosis de partículas de látex entre los dos grupos.⁶⁻⁸

La triada de síntomas: pólipos nasales, asma bronquial e intolerancia a la aspirina (ASA) se le denominó síndrome de Samter,¹⁰ esta triada ha interesado a múltiples investigadores para dilucidar la etiología y hasta el momento aún permanece desconocida.⁶⁻¹⁰ En 1902 que inició la utilización de ASA se identificaron reacciones secundarias al medicamento, además de intolerancia al mismo y entre los efectos indeseables más observados son: broncoespasmo, síndrome de Samter,^{10,11} síntomas nasooculares, urticaria, angioedema y alteraciones gastrointestinales. El síndrome de Samter se observa poco en niños y generalmente se presenta en la edad adulta, caracterizándose por inflamación del tracto respiratorio además de "disfunción" en el epitelio respiratorio; bronquial y nasal,⁸⁻¹³ ya que cursan con infecciones respiratorias repetitiva y probablemente la actividad fagocítica de los PMN se encuentre alterada.^{8,10,15}

El síndrome de Samter, (SS) puede establecerse como una evolución crónica en un largo tiempo y en algunas ocasiones provocar una obstrucción de la vías aéreas grave. La prevalencia del SS se estima se encuentra en 2.5 y 1.5% en pacientes asmáticos adultos.^{16,18} Sin embargo muchas hipótesis han sido propuestas para explicar la fisiopatología de la aspirina en estos pacientes con o sin pólipos nasales.^{9,10,14,17,19}

Actualmente no existen conocimientos sobre la patógenesis de esta enfermedad que explique los fenómenos que ocurren, no obstante se han realizado diversas investigaciones en las que se han propuesto múltiples mecanismos, en otros estudios la explicación posible a este defecto puede encontrarse en una deficiencia de las células PMN que interfieren con la fagocitosis, así mismo puede estar relacionado con la fisiopatología de la

infección en los pacientes asmáticos con infecciones recurrentes, como rinosinusitis en el SS.¹⁵

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cual será la actividad fagocítica *In vitro* de PMN (polimorfonucleares) en los pacientes con síndrome de Samter?

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar la actividad fagocítica *In vitro* de polimorfonucleares en pacientes con síndrome de Samter

ESPECÍFICOS:

1. Comparar la actividad fagocítica de polimorfonucleares de pacientes con síndrome de Samter por medio de quimioluminiscencia.
 - Grupo I: pacientes con síndrome de Samter
 - Grupo II: pacientes sanos.
 - Grupo III: pacientes con asma bronquial
2. Determinar la actividad fagocítica en los tres grupos.

HIPOTESIS

GENERAL

La actividad fagocítica *In vitro* de PMN en pacientes con síndrome de Samter se encontrará alterada, cuantificada por quimioluminiscencia.

OPERACIONALES:

- 1.- La actividad fagocítica *In vitro* de PMN en pacientes con síndrome de Samter se encuentra disminuída. Por medio de mecanismos dependientes del oxígeno

El "estallido respiratorio" se altera, esto a su vez provoca una actividad bactericida defecuada.

2.- La actividad fagocítica *In vitro* de los PMN en pacientes con síndrome de Samter se encontrará disminuida en comparación con los pacientes sanos como controles

MATERIAL Y METODOS:

Este estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI y los ensayos de (CL) se realizaron en el departamento de inmunoquímica del Hospital Infantil de México "Federico Gómez". En el que se incluyeron a los pacientes con síndrome de Samter y pacientes asmáticos y voluntarios sanos como controles.

DISEÑO DEL ESTUDIO:

Transversal analítico.

UNIVERSO DE TRABAJO:

Se incluyeron 10 pacientes asmáticos, 34 pacientes sanos y 34 pacientes con diagnóstico de síndrome de Samter referidos al Servicio de Alergia e Inmunología del Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sépulveda G" del CMN Siglo XXI IMSS.

DESCRIPCION DE LAS VARIABLES:

DEPENDIENTE

a) Actividad fagocítica *In vitro* de PMN cuantificada por quimioluminiscencia.

INDEPENDIENTE

- a) síndrome de Samter
- b) Grupo de sanos
- c) Pacientes con asma bronquial

DEPENDIENTE:

La actividad fagocítica: Actividad fagocítica de los polimorfonucleares depende de la prueba de fagocitosis por quimioluminiscencia, evaluando la emisión de luz el cuál constituye sensible indicador de la capacidad fagocítica y bactericida de los polimorfonucleares.

Los polimorfonucleares: Los granulocitos o polimorfonucleares se originan en la médula ósea donde pasan por varias etapas antes de alcanzar su estado maduro, una vez maduro es liberado hacia la sangre, la vida promedio del polimorfonuclear en sangre periférica es de 8 a 12 horas, mide de 10 a 12 μ de diámetro, tiene un núcleo multilobulado que puede estar unido por filamentos, el citoplasma contiene abundantes gránulos, existen 2 tipos de gránulos: los gránulos azurófilos que son los que inicialmente aparecen contienen por lo menos 6 enzimas hidrolíticas, además de peroxidasa.

DEFINICION DE LAS VARIABLES

INDEPENDIENTE

1.- Síndrome de Samter se ha descrito desde 1967, este síndrome la presencia de pólipos nasales, rinosinusitis, intolerancia a la aspirina y asma bronquial intrínseca.

SELECCION DE LA MUESTRA

1.- TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se utilizó fórmula para comparar medias de muestras independientes²⁰

$$n = 2 \cdot \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta})}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$$

$$n = 2 \cdot \left[\frac{(1.96 + 0.84)(70)}{50} \right]^2 = \frac{(196)}{50} = 3.9 = 15.366$$

$$n = 15.366 \times 2 = 30.7 = 31$$

31 pacientes con síndrome de Samter y 31 pacientes sanos

2.- CRITERIOS DE SELECCION

A) *CRITERIOS DE INCLUSION:*

GRUPO DE SINDROME DE SAMTER

- a) Pacientes de 16 a 50 años de edad
- b) Sexo masculino y femenino
- c) Con diagnóstico de síndrome de Samter
- d) Pruebas cutáneas negativas.
- e) Pruebas de fisiología respiratoria con más del 60% del predicho del VEF₁
- f) Asintómicos al momento de la toma de muestra de sangre.
- g) Por lo menos con un mes sin tratamiento con esteroides.
- h) Sin proceso infeccioso
- i) Sin diabetes mellitus
- j) Sin inmunodeficiencias

GRUPO DE SANOS:

- a) Pacientes de 16 a 50 años de edad.
- b) Sexo masculino y femenino

GRUPO DE ASMATICOS

- a) Pacientes de 16 a 50 años de edad.
- b) Sexo masculino y femenino
- c) Con diagnóstico de asma bronquial
- d) Pruebas de fisiología respiratoria con más del 60% del predicho del VEF₁
- e) Asintómicos al momento de la toma de muestra de sangre.
- f) Por lo menos con un mes sin tratamiento con esteroides.
- g) Sin proceso infeccioso

CRITERIOS DE NO INCLUSION

- a) Pacientes embarazadas.

PROCEDIMIENTO

DESCRIPCIÓN OPERACIONAL

A cada paciente se le solicitó prueba de fisiología respiratoria (PFR), glucemia, biometría hemática. Inmunoglobulinas séricas, VIH por ELISA y se extrajo toma de muestra de sangre, mediante punción percutánea para las pruebas de fagocitosis por quimioluminiscencia, que se llevó a cabo en el laboratorio de Inmunoquímica del Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

Metodología: Los polimorfonucleares (PMN) se obtuvieron de sangre venosa de voluntarios sanos y pacientes asmáticos o con síndrome de Samter. Se utilizaron jeringas desechables estériles, como anticoagulante se utilizó 1U de heparina por cada ml de sangre. La sangre obtenida y colocada en tubos de 15 cc de polipropileno se diluyó y mezcló en solución salina isotónica a volúmenes iguales, adicionándose Ficoll-Hypaque de una densidad de 1.077 colocándolo en la base del tubo en volumen de 1:6 el cual permitirá la separación por gradiente de densidad y centrifugación, de los mononucleares (MN) los cuales forman una capa en el sobrenadante, entre el Ficoll-Hypaque y el plasma: por diferencia de densidad de la columna sanguínea con eritrocitos y PMN queda abajo de la capa de Ficoll-Hypaque. luego se centrifuga a 1500 revoluciones (R/m) a temperatura ambiente durante 25 minutos (min), se desecha el sobrenadante, se incluye la capa de MN y resuspende el botón que contiene los PMN y eritrocitos, en solución lítica con cloruro de amonio en proporción de 1 a 5, se mezcla hasta que cambie de color a rojo intenso casi negro, se centrifuga 10 min a 1400 R/m, se retira el sobrenadante, se agrega 1 ml de solución lítica, se mezcla con pipeta Pasteur y se agrega solución salina al 0.85% hasta el tope y se centrifuga a 1400 R/m durante 5 min, luego se decanta el sobrenadante, se resuspende en 1 ml de solución salina balanceada de Hank (SSBH) finalmente se realiza el recuento del número de PMN obtenidos, con control de vialidad y pureza.

***Recuento de PMN:** El recuento del número de células se realizó en microscopio óptico, utilizando la cámara de Neubauer en la que se colocó una alícuota de una dilución 1:4 de la suspensión final. Se obtiene el número de células por cuadrante y se calculó el número de células utilizando la siguiente fórmula: $No. de células/ml = No. de células por cuadrante \times 5 \times 10^4$

***Viabilidad y pureza.** Se corroboró la viabilidad de los PMN por técnica de exclusión del colorante supravital azul tripano contando el porcentaje de células teñidas con azul tripano en muestra tomada de una mezcla de la suspensión celular y el colorante en proporción de 1:4 preparada inmediatamente antes de la lectura. La viabilidad fue del 95%. El principio radica en que las células vivas excluyen el colorante, el cuál tiñe las células muertas. La pureza se controla por examen de frotis preparados de la suspensión celular final y se tiñe con coloración de Turk.

***Quimioluminiscencia:** Se evaluó la emisión de luz por PMN en respuesta al estímulo fagocítico o quimioluminiscencia el cuál constituye un sensible indicador de la capacidad fagocítica y bactericida de los PMN. Se incrementó la sensibilidad del ensayo con la adición de luminol. Como partícula a fagocitar se utilizó zimosano opsonizado (ZIM). Para la opsonización se utilizaron viales con 10 mg/ml de zimosano, se incuban con suero AB al 20% en SSBH por 30 min a 37° en 1 atmósfera con CO₂ al 5%. El botón contenido de las partículas de zimosano se lavó dos veces, se reconstituye en su volumen original con SSBH para su uso como partícula a fagocitar.

En viales de vidrio de centelleo de 20 ml de volumen se procedió a colocar 100 ul de PMN incubados a una concentración de 2×10^6 /ml, con solución de ZIM, 100 ul de luminol, adicionándole finalmente SSBH hasta un volumen final de 1000 ul. se utilizan como control los siguientes sistemas:

1)PMN+luminol+SSBH

2)PMN+ZIM+luminol+SSBH

Las lecturas se realizaron con un luminómetro modelo 1251 LKB Wallac* midiendo la luz emitida durante el enfriamiento fagocítico durante 25 ciclos, en intervalos de 120 segundos, los resultados se expresan en milivoltios(mV)

ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados de los ensayos de quimioluminiscencia que se efectuaron por triplicado y en 25 ciclos se expresan en milivoltios y se organizaron en medias, se efectuó revalorización de la información, se utilizaron métodos de estadística descriptiva para conocer las características de cada grupo. Todos los resultados se expresan como media \pm desviación estándar

Se utilizó la prueba de *U de Mann-Whitney* para el análisis de grupos independientes para pacientes ASA y sujetos sanos postestímulo fagocítico de polimorfonucleares (PMN), por quimioluminiscencia (CL) también se comparó asmáticos con sujetos sanos. La prueba de suma de rangos de *Wilcoxon*

Para analizar los tres grupos preestímulo y postestímulo fagocítico, se realizaron frecuencias simples de los datos se calculó, media y desviación estándar (S). La significancia de la diferencia entre las variables continuas se utilizó análisis de varianza de acuerdo método de Student-Newman-Keuls

CONSIDERACIONES ETICAS

Es un estudio ético pues no se somete directamente a experimentación, ya que se trabaja con sus sueros y la parte *In vivo* generalmente se realiza como pruebas diagnósticas en los pacientes de los cuales se sospecha un proceso atópico, además se le brinda al sujeto de estudio la posibilidad de establecerse un mejor diagnóstico clínico y tratamiento.

A pesar de no ser un estudio intervencionista, de acuerdo a los principios bioéticos de confidencialidad y autonomía se le realizó carta de consentimiento informado y se pidió que se firmará. Se informó a cada participante al estudio sobre el propósito del trabajo, riesgos, molestias y beneficios.

El estudio fué aprobado por el comité de ética del Hospital de Especialidades registrado con el número 95/39.

RESULTADOS:

Se incluyeron 78 pacientes, en el grupo de síndrome de Samter (ASA) participaron 34 sujetos, 17 hombres (50%) y 17 mujeres (50%). En el grupo control se incluyeron 34 sujetos sanos, 19 hombres (56%) y 15 mujeres (44%). En el grupo de asmáticos participaron 10 pacientes, 7 mujeres (70%) y 3 hombres (30%).

En relación con la edad, 26% del grupo ASA, 18% del grupo control y 60% del grupo de asmáticos pertenecían al grupo de edad de 10 a 29 años, 59% del grupo ASA, 70% del grupo control y 40% del grupo de asmáticos se encontraron en el grupo de edad de 30 a 49 años, el 15% del grupo ASA y 12% del grupo control en el grupo de edad mayores de 50 años.

En cuanto a la cronicidad de la enfermedad en pacientes ASA el 11% y en pacientes asmáticos el 80% tenía de 1 a 4 años de evolución 59% en pacientes ASA y en pacientes asmáticos el 20% de 5 a 9 años. En pacientes ASA el 30% más de 9 años de evolución.

En relación con los procesos infecciosos los pacientes ASA el 48% presentaban 5-9 cuadros infecciosos por año. En cuanto al número de polipectomías por año el 67% de 1, 5 y el 33% 6 y más. Las hospitalizaciones se reportaron en un promedio de 5 a 6 por año y las pruebas de fisiología respiratoria el 10% presentaba patrón obstructivo y restrictivo, el 10% tenía patrón obstructivo. Los pacientes asmáticos no presentaban infecciones repetitivas.

Tanto en el grupo de pacientes ASA, controles sanos y pacientes asmáticos se generaron 6 grupos en los ensayos de quimioluminiscencia.

- 1.- PMN de pacientes con síndrome de Samter incubados con SBHSS sin zimosan
- 2.- PMN de pacientes con síndrome de Samter incubados con SBHSS + zimosan
- 3.- PMN de sujetos sanos incubados con SBHSS sin zimosan.
- 4.- PMN de sujetos sanos incubados con SBHSS + zimosan
- 5.- PMN de pacientes asmáticos incubados con SBHSS sin zimosan
- 6.- PMN de pacientes asmáticos incubados con SBHSS + zimosan

Para el análisis de resultados se obtuvieron los promedios de los valores máximos obtenidos en las curvas de quimioluminiscencia de los ensayos por triplicado de cada muestra, posteriormente se obtuvo la media y la desviación estándar (S) de cada subgrupo.

Los promedios de los valores máximos de cada curva de los ensayos por triplicado, así como la media y la S de cada grupo en mV. El subgrupo dos presentó una media de 35.85 con una S de 14.15 antes del estímulo fagocítico posterior a éste presentó 348.64 mV una S de 143.91. En el grupo de pacientes sanos en estado basal presentaron una media de 38.05 mV y una S 12.63 después del estímulo fagocítico se registró una media de 378.29 y una S de 128.40.

Para el análisis de resultados se obtuvieron los promedios de los valores máximos obtenidos en las curvas de quimioluminiscencia de los ensayos por triplicado de cada muestra, posteriormente se obtuvo la media y la desviación estándar (S) de cada subgrupo.

Los promedios de los valores máximos de cada curva de los ensayos por triplicado así como la media y la S de cada grupo en mV. El subgrupo dos presentó una media de 35.85 con una S de 14.15 antes del estímulo fagocítico posterior a éste presentó 348.64 mV una S de 143.91. En el grupo de pacientes sanos en estado basal presentaron una media de 38.05 mV y una S 12.63 después del estímulo fagocítico se registró una media de 378.29 y una S de 128.40.

DISCUSION

En el presente estudio se confirma que al agregar la partícula fagocitar (zimosan) en los viales con polimorfonucleares incubados tanto en el grupo de pacientes con síndrome de Samter como de pacientes sanos se incrementa la emisión de luz por los PMN al activarse el estallido respiratorio y la producción de metabolitos del oxígeno. Al comparar la emisión de luz entre PMN incubados con SSBH de los dos grupos durante el enfrentamiento fagocítico con el zimosan no se encontró diferencia estadística significativa, tanto en el grupo de pacientes con síndrome de Samter como en el grupo de sanos por lo que no se comprueba que esta vía se encuentre afectada en los pacientes con síndrome de Samter y por lo tanto su capacidad fagocítica no se encuentra alterada.

A pesar de haberse descrito esta enfermedad desde 1968 por Samter y cols, actualmente continúa siendo un enigma sobre su fisiopatología, estos mismos autores durante sus estudios reportan una prevalencia de hipersensibilidad a la aspirina de la población en general de 0.2%, en la tríada característica de esta enfermedad que se compone de hipersensibilidad a la aspirina, pólipos nasales y asma bronquial encontraron 2.5 a 5.6% a la población de referencia^{10,21}.

El diagnóstico de esta enfermedad en muchas ocasiones pasa desapercibido por el médico de primer contacto. Esto es debido a los pocos casos que se observan en la práctica médica. El 80% de pacientes que estudiamos en este trabajo fueron referidos para su control de asma bronquial e hipersensibilidad a la aspirina, sin tomar en cuenta la existencia de pólipos nasales y recurrencia de infecciones de las vías respiratorias. También existen controversias en el diagnóstico de pacientes con rinitis no alérgicas y eosinofilia. Mullarkey, incluye a pacientes con diagnóstico de síndrome de Nares, en un subtipo de la tríada clínica ya mencionada, sin embargo los pacientes con síndrome de Nares el cual fué descrito por Jacobs, Freedman y Boswell en 1979, se ha considerado actualmente una nueva enfermedad que se caracteriza por presentar rinitis no alérgica y eosinofilia¹⁶. La principal relación e interés del síndrome de Nares se centra en el papel que asumen los eosinófilos en la respuesta inflamatoria local y que posiblemente pudiera ser precursor de el síndrome descrito por Samter compuesta por hipersensibilidad a la aspirina, pólipos nasales y asma

bronquial^{11,21} De acuerdo a las modificaciones por Stevenson se considera parte del síndrome las infecciones crónicas de los senos paranasales como componentes de esta enfermedad. En este estudio se incluyeron pacientes con el característico síndrome de Samter (intolerancia a la aspirina, pólipos nasales, asma intrínseca y rinosinusitis) captados en un período de tres años, utilizando pruebas de reto nasal, pruebas intradérmicas y de fisiología respiratoria con historia clínica de esta enfermedad. Nosotros nos abocamos a investigar el porqué de las infecciones respiratorias crónicas, además de las características clínicas ya descritas.²²

En la literatura mundial sobre esta enfermedad no existen trabajos de investigación que se haya explorado con un diseño metodológico adecuado la fagocitosis dependiente del estallido respiratorio, utilizando al quimioluminiscencias como instrumento de medición del índice fagocítico en estos pacientes.^{7,23,24} Para llevar a cabo nuestro estudio comparamos los promedios de las curvas de quimioluminiscencia, utilizando como controles grupos de sanos, pacientes asmáticos y con síndrome de Samter. Este trabajo permite la reproductibilidad de la prueba, desde la preparación de las soluciones que se han de utilizar en la separación de los polimorfonucleares, viabilidad y pureza, la concordancia interobservador e intraobservador lo cual le da mayor consistencia a esta investigación.¹⁰ La mayoría de los estudios no determinan estas variaciones, ya que los grupos que se han estudiado son pequeños y se han reportado como serie de casos sin tomar en cuenta las limitantes metodológicas que hacen consistentes la prueba utilizada al estudiar la fagocitosis cuantificada por quimioluminiscencia.¹⁵⁻¹⁷ Nosotros determinamos el acuerdo intraobservador e interobservador por medio de la prueba de *Kappa* y encontramos que la viabilidad y pureza de los polimorfonucleares tienen excelente reproductibilidad.²⁰ Algunos autores coinciden en que a pesar de los avances en las ciencias básicas aún no se ha determinado cómo es que esta enfermedad se desarrolla y provoca infecciones recurrentes en estos pacientes.²⁰ Schapowai y Cols han descrito una frecuencia de intolerancia a la aspirina relacionada con asma intrínseca y pólipos nasales de 6.18%, analizan las alteraciones en la vía de metabolismo del ácido araquidónico que libera LTC₄, LTD₄ y LTE₄ que al contacto con inhibidos de la ciclooxigenasa como el caso de el ácido acetil salicílico provoca inhibición de esta vía por lo cual da origen a una broncoconstricción que puede dar origen a una crisis de asma, originada por ASA. Por último, estos autores proponen que las exacerbaciones

de asma son consecuencia de infecciones virales.²² En relación a los pólipos nasales lo estudios publicados por Becker y cols no encontraron asociación a papiloma virus DNA utilizando reacción de cadena polimerasa (PCR)²³ La patogénesis de los pólipos nasales es desconocida, se han enumerado múltiples mecanismos que podrían intervenir en esta enfermedad, histológicamente no se ha determinado la causa por la cual se forman los pólipos, hasta el momento las dos principales teorías es la infección y el componente asociado al asma e intolerancia a los derivados del ácido acetil salicílico, Eichel ha sugerido que el edema que se presenta en la mucosa nasal es secundario a la inflamación y la reacción irritante continua que se verifica en esta mucosa nasal, esta inflamación se asocia secundariamente a un drenaje defectuoso de los senos y la actividad ciliar, que da como resultado que las bacterias, virus y hongos se encuentren en un ambiente estático lo que facilita la invasión bacteriana dando como resultado los procesos infecciosos repetitivos, sin embargo los pacientes a los cuales se les mejora la ventilación y drenaje por medio de cirugía continúan presentando procesos infecciosos por lo que esta teoría no esta aceptada totalmente, Drake-Lee propone la participación de la histamina como un mediador inflamatorio que aunado a un estado constante de desgranulación de la células cebadas provoca susceptibilidad para formar una masa en el tejido intersticial de la mucosa nasal y finalmente da como resultado la formación de estos pólipos. En relación a la respuesta bronquial hiperreactora también se han propuesto diversas teorías que han interesado a investigadores en recientes fechas, entre estas se menciona que existen receptores en nariz y nasofaringe que al ser estimulados provocan broncoconstricción también que el reflejo de broncoconstricción puede ser debido a un cambio en la impedancia del aire que penetra por la vía aérea superior y también la participación de los eventos infecciosos puede desencadenar una hiperreactividad bronquial. Esta enfermedad se presenta en la edad adulta y rara vez en los niños sin embargo Estrada Rodríguez y Cols investigaron en 16 niños con este síndrome, concluyendo que parte de las crisis pueden ser precipitadas por sinusitis crónica²⁴ Guez y cols se interesaron por estudiar las plaquetas y polimorfonucleares pero sus trabajos y varios que se han publicado sobre fagocitosis de polimorfonucleares, tienen limitaciones metodológicas porque no utilizan tamaños de muestra inadecuado, ya que sus trabajos se pueden catalogar como serie de casos, evaluando la quimioluminiscencia en pocos pacientes, lo cual ocasiona sesgos y no permite

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

alcanzar una objetividad para evaluar la interpretación de la fagocitosis por medio de la quimioluminiscencia²⁵

En pacientes asmáticos con infección crónica recurrente, resistentes a tratamiento convencional Wald y cols informaron que este grupo de pacientes pueden tener defectos en los mecanismos de resistencia de las infecciones como disminución de la quimiotaxis, fagocitosis, opsonización y alteraciones de la respuesta inmune humoral y celular.²⁶⁻²⁸

De acuerdo al análisis enunciado llegamos a las siguientes conclusiones:

- 1.- La vía de la fagocitosis evaluada por quimioluminiscencia se incrementa al estimular los polimorfonucleares con zimosan como partícula a fagocitar en los tres grupos
- 2.- Los polimorfonucleares al ser aislados tienen una excelente reproductibilidad para determinar la viabilidad y pureza.
- 3.- Según los índices fagocíticos comparados postestímulo fagocítico no existen diferencias significativas entre los tres grupos
- 4.- En nuestros resultados no encontramos diferencias estadísticamente significativa en la actividad fagocítica entre los PMN de pacientes con el síndrome de Samter y pacientes sanos
- 5.- No se observó diferencia en la capacidad fagocítica *In Vitro* de PMN entre asmáticos y sanos.

BIBLIOGRAFIA

1. Cheson BD, Christensen RL, Sperling R, Kohler BE and Babior BM. The origin of the chemiluminescence of phagocytosing. *J Clin Invest* 1976; 58:789-96.
2. McPhail LC, DeCatelet LR and Johnston RB. Generation of chemiluminescence by a particulate fraction isolated from human neutrophils. *J Clin Invest* 1979; 63:648-55.
3. Selveraj RJ, Sbarra AJ, Thomas GB, Certrulo CL and Mitchell GW. A microtechnique for studying chemiluminescence response of phagocytes in pregnancy. *Journal of the reticuloendothelial Society* 1982; 31:3-16.
4. Briheim G, Stendahl O and Dahgren C. Intra and extracellular events in Luminol-depedent chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 1984 ; 45:1-5.
5. Hsieh K, Decreased Fc and complement receptors on phagocytes of asthmatic children. *Ann Allergy* 1980 ; 44:313-6.
6. A.Szeceklik, R.J.Gryglewski, C.Czerniawska-Mysik. Relationship of inhibition of prostaglandin biosynthesis by analgesics to asthma attacks in aspirin-sensitive patients. *British Medical Journal*; 1:67-69.
7. Gómez CCA, Cisneros GN, Martínez Cairo CS. Efecto in vitro del cromoglicato disódico sobre la actividad fagocítica de los polimorfonucleares de pacientes asmáticos sanos. *Rev Alerg* 1995;52:89-95.
8. Martínez-Caíro S, Espinosa J, López M and Lugo J. Defective chemotaxis of pmn cells of patients with bronchial asthma. *Arch Invest Med* 1981 ;12:505-15.
9. Atsuko Sakata, Eiichi, Mari Tominaga, Kaoru Onoue Arachidonic acid acts as an intracellular activator of NADP-H oxidase in Fc γ receptor -mediated superoxide generation in macrophages. *The Journal Immunology*1987 ;12:4535-4359.
10. 10.Samter M, Beers RF. Intolerance to aspirin .Clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Annals of Internal Medicine* 1968; 68:975-983.
11. Lumry W.R, Curd JG, Zeiger RS, Pleskow WW, Stevenson DD. Aspirin-sensitive rhinosinusitis: the clinical syndrome and effects of aspirin administration *J Allergy Clin Immunol* 1983; 71:580-587.

12. Raphael GD, Jeney EV, Baraniuk JN, Druce HM, Banks SM, Kaliner MA. The pathophysiology of rhinitis. Assessment of the sources of protein in histamine-induced nasal secretions. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139:791-800.
13. Kowalski ML, Sliwinska-Kowalska M, Yasushi Igarashi, White MV. Nasal secretions in response to acetylsalicylic acid. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91:580-98.
14. Stoop AE, Heijden VD, Biewenga and Baan VD. Eosinophils in nasal polyps and nasal mucosa: An immunohistochemical study. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91:616-22.
15. Stevenson DD, Pleskow WW, Simon RA, Mathison DA, Lumry WR, Schatz M and Zeiger RS. Aspirin-sensitive rhinosinusitis asthma. A double-blind crossover study of treatment with aspirin. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73:500-507.
16. Moneret-Vautrin DA, Hsieh V, Wayff M, Guyot JL, Mouton C. Non allergic rhinitis with eosinophilia syndrome a precursor of the triad: nasal polyposis, intrinsic asthma and intolerance to aspirin. *Annals of Allergy* 1990; 64:513-518.
17. Williams WR, Pawlowicz A, and Davies BH. In vitro tests for the diagnosis of aspirin-sensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86:445-51.
18. Stoop AE, Heijden VD, Biewenga J and Baan VD. Lymphocytes and nonlymphoid cells in human nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87:470-5.
19. Sweet JM, Stevenson DD, Simon RA and Mathison DA. Long-term effects of aspirin desensitization-treatment for aspirin-sensitive rhinosinusitis-asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85:59-65.
20. Dawson-Saunders B and Trapp RG. En: (Ed). *Bioestadística Médica México: El Manual Moderno*. 1994:pp
21. Klima A, Burkle H, May A, Braun W. The viral and allergic origin of nasal polyposis. *Laryngorhinootologic* 1993; 72:131-5.
22. Schapowal AG, Simon HU, Schmitz Schuman M. Phenomenology, pathogenesis diagnosis and treatment of aspirin sensitive rhinosinusitis. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 1995; 49:235-50.

23. Becker M, Forslund O, Hansson BG, Malm L. Search for the human papilloma virus in nasal polyps, using a polymerase chain reaction method. *J Otolaryngol* 1994; 23:344-6.
24. Estrada Rodríguez JL, Florido López JF; Belchi Hernandez J, Martín Muñoz F, Díaz Pena JM, García Ara MC, Sastre Domínguez J, Ojeda Casa A. Asthma in children a ASA intolerance. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1993; 3:315-20.
25. Guez, Walde, Bezián, Cabanieu In vitro study of platelets and circulating mononuclear cells of subjects presenting intolerance to aspirin. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 97:233-36.
26. Wald ER, Guerra N, Byers C. Upper respiratory tract infection in young children: duration of and frequency of complications. *Pediatrics* 1991; 87:129-133.
27. Cisneros GN, Barragán M M, Martínez Cairo CS, Santos PJI. Efecto in vitro del extracto completo de *Staphylococcus aureus* sobre la quimiotaxis de las células polimorfonucleares de niños con asma bronquial infecciosa. *Gac. Med. Mex.* 130, supl 1:59, 1994
28. Cisneros GN, Martínez Cairo CS, Santos PJI. Efecto in vitro del extracto bacteriano de *S aureus* en la quimioquinesis y quimiotaxis de células polimorfonucleares. *Rev Alerg.* 1995, 52:9-13.

<p>CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACION EN PROYECTOS DE INVESTIGACION:</p>

México, D.F. Mayo de 1995.

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación intitulado: "Actividad fagocítica de polimorfonucleares de pacientes con síndrome de Samter" registrado en el comité local de investigación con el número:95/39.

El objetivo de este estudio es determinar el efecto de los glóbulos blancos para destruir bacterias (polimorfonucleares).

La participación sólo consistirá en someterse a algunos exámenes de laboratorio, gabinete y proporcionar una muestra de sangre para la prueba de fagocitosis por quimioluminiscencia. Este estudio es relevante ya que permitirá determinar alteraciones en la capacidad de los glóbulos blancos para efectuar la destrucción de las bacterias en pacientes con síndrome de Samter.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre las características del estudio, riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio.

El investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le planteé acerca de lo relacionado con la investigación.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo del instituto

Nombre y firma del paciente

Nombre, matrícula y firma del
investigador

Testigo

Testigo

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
1.-28.4	144.23	40.6	313.4	38.4	457.1
2.-30.456	102.69	69.5	250.0	27.33	591.2
3.-60.78	398.766	65.0	410.0	30.58	344.4
4.-55.036	381.933	29.3	526.0	39.20	427.8
5.-20.466	122.563	30.05	294.2	22.50	302.2
6.-29.9	144.733	27.8	440.8	30.10	294.2
7.-22.853	224.766	37.8	181.3	65.20	830.6
8.-17.083	126.193	22.2	188.2	34.60	456.3
9.-32.086	248.133	47.1	259.5	27.70	439.9
10.-25.573	393.133	41.006	398.657	20.20	187.8
11.-33.427	355.007	39.541	390.83		
12.-30.877	406.947	35.487	313.264		
13.-27.331	286.564	33.773	380.874		
14.-34.859	359.481	37.145	377.630		
15.-31.077	325.238	30.158	326.370		
16.-44.429	493.653	40.284	426.487		
17.-26.744	296.553	62.123	406.148		
18.-33.913	335.467	33.811	335.188		
19.-25.602	327.935	63.917	828.223		
20.-28.644	372.350	48.540	327.627		
21.-27.331	286.564	43.62	591.27		
22.-34.859	329.481	42.427	451.759		
23.-31.077	325.238	27.067	261.0		
24.-44.429	493.653	20.137	128.573		
25.-26.744	296.553	48.23	468.05		
26.-33.913	335.467	31.326	345.85		
27.-25.602	327.935	34.67	456.324		
28.-28.644	372.350	14.463	270.735		
29.-30.584	577.982	27.557	344.13		
30.-46.095	565.000	37.624	374.86		
31.-37.158	325.845	26.2	391.53		

Grupo 1: Pacientes con síndrome de Samter

Grupo 2: Pacientes con síndrome de Samter después del estímulo fagocítico

Grupo 3: Controles sanos

Grupo 3: Controles sanos después del estímulo fagocítico

Grupo 5: Pacientes con asma bronquial

ANEXOS

GRAFICA No 4

- Grupo 1: Pacientes con síndrome de Samter
 - Grupo 2: Pacientes con síndrome de Samter después del estímulo fagocítico
 - Grupo 3: Controles sanos
 - Grupo 3: Controles sanos después del estímulo fagocítico.
 - Grupo 5: Pacientes con asma bronquial
 - Grupo 6: Pacientes con asma bronquial después del estímulo fagocítico.
- Análisis de varianza Kruskal-Wallis ($P = < 0.0001$)

