



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"

CORRELACIÓN CLÍNICA Y DE NIVELES DE LTE4 URINARIO CON UNA DIETA ALTA Y BAJA EN
SALICILATOS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RESPIRATORIA EXACERBADA POR
ASPIRINA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

PRESENTA:
DRA. EYMI LILIAN PALACIOS SOLÍS

ASESOR:
DR. MARCOS ALEJANDRO JIMÉNEZ CHOBILLON

CO-TUTORES
DRA. MARÍA DE LA LUZ GARCÍA CRUZ
DR ARMANDO R. CASTORENA MALDONADO

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA
Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO
DR. ARMANDO R. CASTORENA MALDONADO

CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO 2017



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.

Dr. Juan Carlos Vázquez García
Director de Enseñanza INER

Dra. Margarita Fernández Vega
Subdirectora de Enseñanza

Dra. María del Carmen Cano Salas
Jefa del Departamento de Formación de Posgrado

Dr. Armando R. Castorena Maldonado
Profesor Titular del Curso de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello
INER y Jefe del Departamento del Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y
Cuello INER
Co-Tutor de Tesis

Dr. Marcos Alejandro Jiménez Chobillon
Adscrito del Departamento de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello
INER
Tutor de tesis

Dra. María de la Luz García Cruz
Adscrito del Departamento de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello
INER
Co-Tutor de tesis

Dra. Alejandra Gamiño Pérez
Adscrito del Departamento de Nutrición INER
Co-Tutor de tesis

AGRADECIMIENTOS

El agradecimiento principal es para mis padres, Elena Solís y Gabino Palacios; gracias a su apoyo he podido lograr mis sueños, siempre han estado junto a mí cuando los necesito, y me han dado ánimos para seguir adelante. A mis hermanos Karla y César, de los cuales espero siempre tengan éxito en su formación académica y en sus vida personal.

A cada uno de los adscritos del servicio de Otorrinolaringología, en especial al Dr. Jiménez por ser tutor de mi tesis; a la Dra. Marilú García por ayudarme con todo lo que fuera necesario para la tesis, pues siempre estuvo pendiente en el más mínimo detalle; al Dr. Armando Castorena por formar parte de este equipo de trabajo, sin su ayuda no habiéramos podido conseguir el kit para medir leucotrienos, además de todo el trabajo estadístico; al Dr. Arturo Ramírez el cual me eligió para formar parte del grupo de residentes del INER y del cual aprendí mucho quirúrgicamente; al Dr. Iván González por su excelente calidad como persona, siempre con disposición para enseñar, resolver dudas, y sobretodo alimentar la confianza en uno mismo. Al Dr. Luis Jiménez por su gran ayuda y tiempo en la realización del ELISA.

A mis compañeros de residencia, mis R4 en especial a Liz Corona y Lupita; Mónica, Angélica, Zaide, Oscar, David, Gary y Mariel. A mis residentes pequeños Liz Parra, Eliud, Gaby, Fer, Marian, Memo y Mario, los cuales aprecio mucho. Pero sobre todo a mis dos personas favoritas Marisabel y Héctor, no solo son mis compañeros de residencia si no serán mis amigos para toda la vida.

A cada uno del personal del INER de enfermería y administrativos con los cuales conviví a diario. A mis pacientes del protocolo que sin su tiempo y su cooperación esto no sería posible.

Y es así como este camino que veía tan largo e interminable, llega a su fin; el tiempo pasa tan rápido, la residencia fue y será una gran etapa para recordar. Finalmente especialista en Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	5
RESUMEN.....	6
ANTECEDENTES.....	7
JUSTIFICACIÓN.....	20
OBJETIVOS.....	21
MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
RESULTADOS	32
DISCUSIÓN.....	38
CONCLUSIÓN.....	41
ANEXOS.....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	47

RESUMEN

Título. CORRELACIÓN CLÍNICA Y DE NIVELES DE LTE₄ URINARIO CON UNA DIETA ALTA Y BAJA EN SALICILATOS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RESPIRATORIA EXACERBADA POR ASPIRINA

Introducción. La Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina (EREA) es una patología que se caracteriza por asma, rinosinusitis crónica, poliposis nasal e intolerancia a los analgésicos no esteroideos como la aspirina.

En 2015 Sommer realizó un estudio piloto para investigar la relación entre la dieta y síntomas respiratorios en pacientes con EREA, donde comparó dieta con y sin salicilatos; se evaluaron escalas clínicas encontrando significancia en todas las variables medidas en los pacientes con dieta baja en salicilatos. En 2016 realizó un estudio multicéntrico, encontrando mismos resultados.

Objetivo. Comparar los niveles de LTE₄ urinario en pacientes con EREA tras realizar dieta baja en salicilatos y dieta sin restricción en salicilatos

Material y métodos. El estudio se realizó en el servicio de Otorrinolaringología INER. Se incluyeron 9 pacientes con diagnóstico de EREA y 7 controles sanos. Durante el primer internamiento recibieron dieta sin salicilatos, se realizó una medición basal de espirometría, rinomanometría y recolección de muestra de orina para medición de LTE_{4u} y dos horas después del desayuno, comida y cena. En el segundo internamiento recibieron dieta con contenido alto en salicilatos, realizando exactamente las mismas mediciones en los horarios ya establecido

Resultados. Al comparar las diferencias de las mediciones entre dietas sí se encuentra significancia con las diferencias de la segunda y tercera medición con el valor basal entre las dietas, con p de 0.023 y 0.003 respectivamente, no así para la diferencia entre la primera medición y el valor basal (p=0.16). Se realizó una regresión lineal de efectos mixtos como exploración de los datos, tomándose como variable dependiente las mediciones de LTE₄ en orina, como independientes el tiempo, las diferentes dietas y los tipos de sujetos y considerando un efecto aleatorio en cada sujeto. Se obtuvo coeficiente para tipo de dieta de 5.39 (0.561-10.22), con una significancia de 0.029. Fue el único con significancia de los factores evaluados.

Conclusiones. Al encontrar una elevación de leucotrieno E₄ urinario en pacientes y controles al realizar dieta alta en salicilatos, se puede implementar como auxiliar en el tratamiento de la enfermedad.

Palabras clave: EREA, salicilatos, dieta, rinosinusitis, asma.

ANTECEDENTES

- Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina

En la enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina (EREA) se afecta la vía aérea inferior y superior, y está caracterizada por la presencia de asma, rinosinusitis eosinofílica, poliposis nasal e intolerancia a la aspirina o cualquier otro inhibidor de la ciclooxigenasa-1; la exposición a estos medicamentos no inicia el proceso inflamatorio únicamente lo exacerba (1, 2).

La asociación entra el asma, poliposis nasal y sensibilidad a la aspirina fue descrita inicialmente por Widal en 1922; posteriormente en 1960 Samter y Beers describen la historia natural de tal síndrome y fue nombrado como la triada de Samter (3, 4).

La prevalencia de la enfermedad difiere de la población estudiada y de los métodos diagnósticos utilizados. Afecta un 0.6% a 1.9% de la población general. Tiene predilección por el sexo femenino (2.3:1) y típicamente tienen una enfermedad más severa y a temprana edad. (5, 6)

En pacientes con asma la prevalencia es de 10-20% (5) y en los pacientes con asma, rinosinusitis crónica y pólipos nasales la prevalencia de la hipersensibilidad a la aspirina confirmada por reto oral va del 30 al 40%. Es una entidad rara en niños y aún menos frecuente en la pubertad. Se presenta historia familiar en 1 a 6% de los casos. No se ha identificado ninguna predilección racial o étnica (2).

Típicamente el síndrome comienza entre la tercera y cuarta década de la vida, con congestión nasal severa, la cual progresa a rinosinusitis eosinofílica y poliposis

nasal recurrente, mientras tanto los síntomas del tracto respiratorio bajo comienzan y se realiza diagnóstico de asma a los 2 o 3 años después, la cual tiende a ser severa, con función pulmonar más baja que en los pacientes tolerantes a la aspirina, lo cual sugiere los efectos en la remodelación de la vía aérea (2, 7).

La reacción típica posterior a la ingesta de antiinflamatorios no esteroideos aparece dentro de 30 a 120 minutos posterior a la toma; broncoespasmo, rinorrea, congestión nasal, irritación conjuntival y raramente edema periorbitario; algunos pacientes experimentan rash, eritema de cabeza y cuello, náusea, dolor estomacal o retroesternal. Las reacciones varían en severidad, desde una rinitis aislada hasta una reacción anafilactoide con hipotensión y pérdida de consciencia (2, 8).

Los analgésicos más comunes en inducir una reacción respiratoria en Estados Unidos y Europa son la aspirina en 80%, ibuprofeno 41%, naproxeno 4% y ketorolaco 1% (2).

Las pruebas cutáneas pueden ser positivas hasta en un 30 a 60%, pero no se ha identificado ninguna asociación entre la intolerancia a la aspirina y mecanismos mediados por IgE (9).

La fisiopatología va de la mano con el metabolismo aberrante del ácido araquidónico, precursor de leucotrienos y prostaglandinas (7).

Histológicamente se encuentra una intensa inflamación en el tracto respiratorio alto y bajo con incremento en el número de eosinófilos en la mucosa y submucosa, con mastocitos degranulados y gran cantidad de proteína catiónica, lo

que nos demuestra que la respuesta inflamatoria está dominada por eosinófilos y mastocitos (10). Algunos estudios han identificado niveles altos de IgE específica contra la enterotoxina B de *Staphylococcus aureus* en suero y pólipos nasales, aunque no está claro si representa una causa directa o solamente una respuesta aberrante del sistema inmune a otros microorganismos (2, 7).

- Cisteinil-leucotrienos y Fisiopatología

La característica fundamental en EREA es la sobreproducción de cisteinil-leucotrienos. Los leucotrienos son una familia de mediadores lipídicos, derivados del ácido araquidónico a través de la vía de la 5-lipoxigenasa. Se producen por varios leucocitos, de aquí su nombre (*leuko-*). La parte del nombre *tri-ene* se refiere al número de enlaces dobles conjugados (11).

El primer leucotrieno en ser sintetizado, el Leucotrieno A₄, se forma a través de la conversión de ácido araquidónico localizado en la membrana de fosfolípidos por medio de la enzima 5-lipoxigenasa. En mastocitos humanos, basófilos, eosinófilos y macrófagos, LTA₄ se convierte rápidamente a LTB₄ (por medio de la LTA hidrolasa) o LTC₄ por la enzima LTC₄ sintasa con la incorporación de glutatión (γ -glutamil-cisteinil-glicina). LTC₄ es subsecuentemente convertido a LTD₄ y después a un producto más estable LTE₄. Debido a la incorporación de cisteína, LTC₄, LTD₄ y LTE₄ son llamados *cisteinil leucotrienos* (CysLTs) (1, 7, 12).

Estos metabolitos son capaces de producir edema broncoconstricción e hipersecreción mucosa. Por otra parte la producción de prostaglandinas es derivado de la conversión por parte de COX-1 y 2 en el metabolito precursor

PGH2 del cual se derivan 5 productos terminales PGE2, PGF2, PGI, PGD2 y tromboxano A2 los cuales muestran expresión selectiva en ciertas células y mayormente estimuladas por la vía de COX-1 la cual es más sensible a la inhibición por aspirina que COX-2. De todos los metabolitos en la vía de las prostaglandinas PGE2 es la única que se encarga de mantener la homeostasis de las respuestas inflamatorias en la vía aérea, bloquea la migración de eosinófilos, disminuye la proliferación de fibroblastos y leucotrienos, además de reducir la actividad de 5-Lipooxigenasa (2, 7, 13).

La significancia de CysLTs como mediadores y moduladores clave en la patogénesis de la enfermedad de la vía aérea es más precisamente definida que para otras enfermedades (14).

El LTD₄ inhalado es un broncoconstrictor 10,000 veces más potente que la histamina o metacolina. CysLTs inducen otras reacciones características de la respuesta inflamatoria en asma; en la respuesta alérgica, las células dendríticas presentadoras de antígenos viajan desde los tejidos periféricos a los ganglios linfáticos, este movimiento se incrementa en la presencia de CysLTs. LTD₄ actúa sinérgicamente con otras citocinas para incrementar la proliferación de eosinófilos en la médula ósea y en sangre periférica y para facilitar el reclutamiento en la vía aérea, actuando como un quimioatrayente e incrementando los niveles de moléculas de adhesión como la P-selectina. Los CysLTs reducen la apoptosis de eosinófilos, e incrementan la producción de interleucina 5 que incrementa la supervivencia de los eosinófilos (1, 12, 15).

La vasodilatación y permeabilidad vascular incrementada llevan al edema y una reacción de la vía aérea incrementada a la histamina, que también se relaciona con aumento en CysLTs. Participan también en los cambios estructurales en la vía aérea que acompañan al asma crónica, como proliferación y remodelamiento del músculo liso (1, 12).

Existen dos tipos de receptores de CysLTs, el CysLT1R tiene una alta afinidad por LTD₄ y se expresa primariamente en leucocitos sanguíneos como monocitos/macrófagos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, neutrófilos y linfocitos T/B, células del intersticio de la mucosa nasal y músculo liso de la vía aérea. CysLTs2R se une a LTC₄ y LTD₄ con similar afinidad y es altamente expresado en corazón, vasos coronarios, y diferentes regiones del cerebro, con baja expresión en células de la sangre periférica (1, 7, 12).

El leucotrieno E₄ urinario es un biomarcador de la producción y excreción total de los cisteinil leucotrienos corporales. (1, 12).

- Salicilatos y fuente de ácido salicílico en la dieta

El ácido salicílico, su fenil-glicósido y sus ésteres carboxilados son constituyentes de muchas plantas. El ácido salicílico es un metabolito secundario de las plantas con una estructura fenólica simple. Está implicado principalmente con la iniciación de la resistencia local y sistémica adquirida a los patógenos y estrés del ambiente (16).

Un efecto más reconocido del ácido salicílico es como un agente antiinflamatorio. La inflamación crónica parece estar relacionada con una amplia gama de

condiciones progresivas, como el cáncer, la enfermedad vascular y el síndrome metabólico. La inflamación implica la expresión mejorada de genes inducibles, un proceso que se inicia por la unión de factores de transcripción a regiones promotoras. A concentraciones detectadas en el plasma, el ácido salicílico parece modificar la unión de los factores clave de transcripción a la región promotora de los genes que activan procesos proinflamatorios (16).

Las concentraciones micromolares de salicilato también suprimen la activación transcripcional de otros genes implicados en reacciones inflamatorias (16).

Numerosos estudios sugieren que el ácido salicílico regula muchos otros objetivos celulares diversos, incluyendo los genes apoptóticos Par-4 y Bcl-X, la p38 MAP quinasa, la liberación del citocromo c mitocondrial, la actividad fenol sulfotransferasa, la reparación del ADN y la captación de iones de calcio mitocondrial (16).

El ácido salicílico y su forma acetilada, Aspirina ^{MR}, tienen una larga historia de uso terapéutico y preventivo de enfermedades, particularmente donde la inflamación crónica y el estrés oxidativo con los componentes mayores (17).

El componente activo, ácido salicílico, fue aislado y purificado del sauce y reina de los prados en la primera mitad del siglo XIX, y en 1860 fue sintetizado químicamente por la carboxilación de fenóxido de sodio. Quizás el primer estudio clínico controlado, por Thomas Jonh MacLagan, un médico escocés, estableció en 1876 que los salicilatos tienen propiedades antipiréticas, analgésicas y anti-inflamatorias. Subsecuentemente grandes dosis de ácido salicílico fueron

utilizadas rutinariamente para tratar fiebre, dolor e inflamación. En un intento de disminuir los efectos adversos como el vómito y ulceración gástrica, el ácido salicílico fue acetilado. Desde entonces su introducción clínica en 1899, bajo la marca Aspirina, el ácido salicílico sigue siendo el fármaco más usado en el mundo (16).

La aspirina y sus derivados son un pro-metabolito que después de su absorción en estómago e intestino delgado se hidroliza a ácido salicílico por medio de carboxilasas en el hígado y sangre, donde se une a proteínas plasmáticas y se distribuye en todos los tejidos ampliamente. La vida media en suero es de únicamente 20 minutos aunque puede durar hasta 2 horas (6, 17).

La detección del ácido salicílico en el suero y orina en personas que no consumen fármacos a base de salicilatos sugiere un origen exógeno. Como el ácido salicílico está ampliamente distribuido a través del reino de las plantas, su presencia en humanos se puede originar del consumo de alimentos a base de plantas (17).

Los efectos de consumir frutas y vegetales en la reducción del riesgo de enfermedad puede ser, en parte a los salicilatos en la dieta basada en plantas. Es debatible si una deficiencia de ácido salicílico es perjudicial para la salud.

La primera publicación que estimaba el contenido de ácido salicílico en la comida apareció como una carta en Lancet en 1903. Posteriormente, ha habido varias publicaciones que dan valores muy dispares para el contenido de salicilato en alimentos similares (18, 19). Esto se puede deber a las diferencias en la

metodología analítica; por ejemplo los ensayos colorimétricos redox se basan en iones férricos que se unen con los grupos fenol y carboxilo del ácido salicílico.

Las reacciones con ácidos fenólicos estructuralmente relacionados en los alimentos pueden aumentar artificialmente la absorbancia, llevando a una sobreestimación del contenido de salicilato. En contraste una pobre eficiencia de extracción mediante el uso de disolventes no apropiados y de compuestos que atenúan la intensidad de detección pueden conducir a una subestimación.

La estimación más definitiva hasta la fecha del contenido de salicilatos de los alimentos es una revisión sistemática de la literatura, en la que los datos se aceptaron sólo si los estudios utilizaban artículos alimenticios seleccionados al azar y adquiridos de diversos puntos de venta durante diferentes temporadas del año (16, 20)

Los salicilatos están presentes en gran cantidad en futas y vegetales, vinos, té, jugos de fruta, hierbas y especias. El contenido primario de salicilatos en los alimentos está determinado por numerosos factores como variedad de plantas, estacionalidad, condiciones de crecimiento, almacenamiento y preparación (16).

La falta de información sobre cómo las condiciones de crecimiento y los efectos del procesamiento y almacenamiento afectan al contenido de salicilatos de los alimentos, impone un grado de incertidumbre en la estimación de la ingesta dietética. Una estimación temprana de las ingestas de salicilato en una población occidental de hasta 200 mg de día se considera generalmente como una sobreestimación. Recientemente la aplicación de cuestionarios cuantitativos de

frecuencia alimentaria a una base de datos de composición de alimentos, estimó la ingestión diaria de salicilatos diarios en la población del Reino Unido en 4,4 y 3,2 mg / día para hombres y mujeres respectivamente; comparable con el consumo estimado en la población de Escocia (16, 17).

Las principales fuentes dietéticas de salicilatos en el Reino Unido son las bebidas alcohólicas (22%), hierbas y especias (17%), fruta (16%) y bebidas no alcohólicas incluyendo jugo de fruta (13%), salsas de tomate (12%) y vegetales (9%). La típica dieta vegetariana del sur de India puede proporcionar 12-13mg de ácido salicílico al día. Fuentes orales adicionales de salicilatos incluyen pasta de dientes, enjuague bucal y conservadores de alimentos (18).

Se han observado concentraciones aumentadas de ácido salicílico y metabolitos en suero y orina tras el consumo agudo y sostenido de alimentos ricos en salicilatos, incluyendo frutas, verduras, jugo de arándano y curry. Las concentraciones séricas están linealmente relacionadas con el número de porciones consumidas por día (17).

El papel de los salicilatos de la dieta en la etiología de las reacciones adversas a los alimentos llegó a ocupar un lugar destacado en 1960 con una plétora de estudios publicados que proponían principalmente un vínculo entre el salicilato y la urticaria (6).

Se ha encontrado relación entre el consumo de salicilatos y síntomas respiratorios en pacientes con asma y también asociación con síntomas nasales.

En un estudio realizado por Paterson et al., se encontró que 1 hora después de consumir alimentos con salicilatos, la concentración sérica de ácido salicílico aumentó rápidamente y alcanzó un valor máximo después de 1,5 h. Durante las siguientes 1.5 horas la concentración sérica disminuyó abruptamente y volvió a niveles basales 5 horas después del consumo de los alimentos. A las 1.5 horas del consumo de los alimentos, cuando la concentración sérica de ácido salicílico estaba cerca de su máximo, el ácido salicilúrico, comenzó a aparecer en la orina. Durante el transcurso de 4 horas, la cantidad de metabolito conjugado se excreta de forma constante y la velocidad de su excreción no vuelve al valor observado antes del consumo del alimento incluso después de 6.5 horas. El ácido salicílico derivado de los alimentos ingeridos apareció en la orina cuando la tasa de excreción de ácido salicilúrico estaba en su punto más alto, y se elevó por encima de la tasa de excreción antes de la exposición incluso después de 6.5 horas. De las cantidades acumuladas de los ácidos salicílico y salicilúricos excretados, se calculó que al menos el 3% de los salicilatos en los alimentos eran biodisponibles y absorbidos (18, 21)

Sala, en 1990 apoyó la observación de otros autores, acerca de que el LTE₄ desaparece rápidamente del suero y se elimina vía orina como una molécula intacta dentro de las primeras 2 horas (22).

Lawrence y colaboradores, reportaron cifras más altas de ácido salicílico en orina de personas vegetarianas, probablemente debido al consumo mayor de frutas y vegetales; sin embargo los niveles no son más altos comparados con pacientes que tomaron 75 a 150mg de aspirina (23).

Debido a las dificultades de implementación de la dieta de evitación de alimentos ricos en ácido salicílico y las discrepancias en el contenido de salicilato entre los estudios es imposible dar ninguna recomendación sobre las medidas dietéticas para los pacientes. Una restricción dietética de salicilato sólo debe aplicarse cuando estas condiciones vayan acompañadas de un historial muy claro de reacciones a alimentos ricos en salicilato natural (6).

- Medición de Leucotrieno E₄

En pacientes con EREA se ha visto que LTE₄ urinario es 3-5 veces más alto comparado con pacientes tolerantes a aspirina y aumentan mucho más tras la ingesta de medicamentos inhibidores de COX-1 y con el consumo de alimentos con alto contenido en salicilatos; además de ser un método no invasivo para evaluar cambios en la tasa total de cisteinil-leucotrienos corporales (24, 25).

La medición de LTE₄ puede ser un método útil no invasivo para medir los cambios en el porcentaje de niveles de CysLT totales en el cuerpo.

Los niveles de LTE₄ son demasiado bajos para medirse en suero, pero pueden ser medidos después de su excreción en la orina (26). La medición en orina tiene varias ventajas, como ser un método no invasivo de muestreo que permite la recolección frecuente de muestras; los metabolitos en orina corresponden con la excreción corporal total y no existe el riesgo de formación de metabolitos ex vivo durante la obtención de la muestra (26, 27).

Varios métodos para la detección urinaria de LTE₄ han sido descritos, incluyendo espectrofotometría de masas y radioinmunoensayos. El ensayo inmunoenzimático

ha mostrado ser un método sensible y rápido para la medición de LTE_4 (26); a pesar de que la correlación es buena, los niveles absolutos pueden estar sesgados por una especificidad de anticuerpos baja; por lo tanto existen procedimientos para purificar orina los cuales son costosos. Los valores basales de LTE_4 reportados en personas normales varían dependiendo de la técnica de medición y si se utilizaron técnicas de purificación en los inmunoensayos. Las mediciones se reportan en picogramos por miligramo de creatinina para controlar la dilución de orina (26).

Ciertos factores pueden modificar la excreción basal tales como la edad, polimorfismos en la vía de síntesis de leucotrienos; la producción y secreción de leucotrienos no se afecta significativamente con el uso de corticoesteroides inhalados. Puede ocurrir una variación circadiana (26).

La insensibilidad relativa a esteroides puede ser una característica atractiva del LTE_4 comparado con otros biomarcadores como el óxido nítrico, que es extremadamente sensible a los cambios en el uso de corticoesteroides inhalados u orales. El inhibidor de la proteína activadora de 5-lipoxigenasa Zileuton incrementa el control de asma mientras disminuye los niveles de LTE_4 en aproximadamente 40%, sugiriendo que una disminución en la producción de leucotrienos puede resultar en mejoría clínica significativa en la severidad del asma. En contraste el uso de antagonistas del receptor de leucotrieno (LTRAs) en pacientes con asma no afecta significativamente los niveles de LTE_4 .

Los niveles elevados de LTE_4 se han reportado después de episodios de angina inestable o infarto agudo al miocardio, en enfermedad arterial coronaria, después

de cirugía de derivación coronaria y en pacientes con dermatitis atópica, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn y astrocitoma maligno. No está claro si los CysLTs son mediadores en la patogénesis de enfermedades fuera de la vía aérea, tales como la enfermedad vascular.

En pacientes con asma el LTE_4 urinario se incrementa durante las primeras 4 horas después de hacer ejercicio y regresa a su línea basal dentro de 24 horas, también se incrementa con la contaminación ambiental, exposición a alérgenos y con infecciones de la vía aérea superior (26).

- Salicilatos en la dieta y Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina

Hace falta la evidencia firme entre el consumo de salicilatos en la dieta y los síntomas respiratorios (24).

A principios del año 2015, Sommer publicó un estudio piloto en pacientes con EREA donde comparaba una dieta baja en salicilatos vs una dieta regular, evaluando escalas clínicas como SNOT-22, cuestionario de control de asma ACQ7, escala de síntomas nasosinuales NSSS, escala de Lund-Kennedy y endoscopia nasal. Encontrando mejoría en todas las escalas excepto en ACQ7 al someterse a dieta baja en salicilatos; sin embargo con algunas limitaciones como el número de muestra y la inconsistencia en los niveles de salicilatos reportados en los alimentos (24).

Posteriormente se realiza un estudio multicéntrico donde se miden las mismas variables, encontrando una diferencia clínica y estadísticamente significativa en

todas las escalas, presentando la dieta baja en salicilatos como un novedoso auxiliar en el tratamiento de la enfermedad (28).

Desde las publicaciones antes mencionadas, otros autores hacen mención sobre la dieta con salicilatos y su papel en el tratamiento de EREA (29, 30).

Sin embargo no existen estudios actuales que midan LTE₄ urinario en asociación con una dieta libre de salicilatos en pacientes con EREA, únicamente con diagnóstico de asma.

JUSTIFICACIÓN

La Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina representa una causa importante de morbilidad, donde los pacientes continuamente presentan síntomas tanto de vía aérea inferior y superior, con múltiples visitas a los servicios de urgencias, hospitalizaciones y procedimientos quirúrgicos nasales, lo que ocasiona una disminución en la calidad de vida e implica altos costos para el sector salud.

En nuestro Instituto existe una gran población de pacientes con diagnóstico de Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina, y hasta el momento no se ha demostrado una relación exacta entre la importancia de mantener una dieta libre de salicilatos y la evolución clínica con control de síntomas en pacientes con Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina.

OBJETIVOS

- Objetivo General

Evaluar el efecto de una dieta libre de salicilatos sobre los niveles urinarios de LTE₄

- Objetivo Específico

Comparar los niveles urinarios de LTE₄ en pacientes con EREA tras realizar dieta baja en salicilatos y dieta sin restricción en salicilatos

- Objetivos Secundarios

Evaluar el impacto de una dieta baja en salicilatos en la función pulmonar a través de la medición de espirometría simple

Evaluar el impacto de una dieta baja en salicilatos en la función nasal a través de rinomanometría anterior activa .

MATERIAL Y MÉTODOS

A) Lugar del estudio

El estudio se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en el pabellón 7B de Otorrinolaringología.

B) Descripción de la población de estudio

Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina, que son atendidos en dicha clínica del Departamento de Otorrinolaringología.

C) Procedimientos del estudio

Se realizaron dos internamientos con duración de 24 horas cada uno, en semanas consecutivas donde se llevó a cabo la supervisión estricta de la ingesta de la dieta asignada, así como la recolección de muestras de orina con horarios establecidos, realización de espirometría y rinomanometria. Con vigilancia médica en caso de que pudiera existir algún efecto adverso o crisis asmática.

Se formaron 2 grupos; uno de 9 pacientes con Enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina y el segundo grupo con 8 pacientes controles sanos.

SEMANA 1

Los pacientes se ingresaron al Instituto a partir de las 8:00 de la mañana, firmaron el consentimiento informado, los dos grupos recibieron dieta baja en salicilatos durante este internamiento.

De acuerdo a la bibliografía existente se considerará una dieta baja en salicilatos con un contenido menor de ácido salicílico a 0.5mg al día y una dieta alta en salicilatos con un contenido mayor a 10mg al día, la cual será realizada por el servicio de Nutrición (Anexo 1,2) de acuerdo a tablas nutricionales donde se indica el contenido de salicilatos por cada alimento (16, 17, 20, 31, 32).

Se realizó una medición basal de espirometría, rinomanometría y recolección de muestra de orina para medición de LTE_4u , y se llevaron a cabo las mismas mediciones 2 horas posterior al desayuno, comida y cena.

Para realizar la espirometría, se interrogaron contraindicaciones para realizar la pruebas, se explicó al paciente la maniobra de inspiración y espiración previo a la realización de la prueba, se colocó en posición adecuada, se tomaron en cuenta aquellas pruebas que cumplieran con aceptabilidad y repetibilidad, siendo todas las pruebas de categoría A.

La rinomanometría anterior se realizó, previa explicación del procedimiento al paciente, se procedió a limpiar la piel de la nariz y se colocó un fragmento de epifoam 3M de 1.5x1.5cm para ocluir la fosa nasal donde se colocó la sonda, posteriormente se colocó la mascarilla y se pidió al paciente que realizara las maniobras de inspiración y espiración nasal, con lo que se obtuvieron curvas de flujos y resistencias; se cambió la sonda de fosa nasal y se realizaron las mismas mediciones.

Para la recolección de la orina se otorgaron frascos estériles, se explicó la técnica de chorro medio; posteriormente con la higiene de manos adecuada, colocación de guantes estériles y cubrebocas, se tomaron alícuotas de 1ml de orina con micropipeta, en contenedores perfectamente etiquetados y se almacenaron en una hielera a -4°C , donde inmediatamente fueron trasladadas a un congelador para almacenarse a -80°C hasta su proceso en el laboratorio.

Al concluir esta fase del estudio se pidió contestaran el cuestionario sobre Problemas Sino-Nasales SNOT-22 y Test de control del Asma ACT (Anexo 3, 4).

Todas las mediciones y datos tomados del expediente e interrogatorio se colocaron en la hoja de recolección de datos (Anexo 5).

SEMANA 2

Se reingresaron los pacientes de ambos grupos, en esta ocasión recibieron dieta con alto contenido en salicilatos, realizando exactamente las mismas mediciones en los horarios ya establecidos.

CRONOGRAMA

HORA	INTERVENCION	MEDICIONES
8:00 Hrs	Ingreso	-Espirometría (0) -Rinomanometria (0) -Muestra de orina LTE ₄ u(0)
9:00 Hrs	Desayuno	
11:00 a 13:00 Hrs		- Espirometría (1) -Rinomanometria (1) -Muestra de orina LTE ₄ u (1)
14:00hrs	Comida	
16:00 a 19:00 Hrs		- Espirometría (2) -Rinomanometria (2) -Muestra de orina LTE ₄ u (2)
19:00 hrs	Cena	
21:00 a 23:00hrs		- Espirometría (3) -Rinomanometria (3) -Muestra de orina LTE ₄ u (3)
	EGRESO	

- Medición de Leucotrieno E₄ Urinario

Se realizó la determinación de LTE₄ mediante inmunoensayo enzimático (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI) el cual ha sido ampliamente validado para su uso en muestras de orina (33).

Una alícuota de 1ml de la muestra de orina se analizó para el contenido de creatinina para permitir la corrección en la variación de la diuresis.

Creatinina de Cayman (urinaria): El análisis colorimétrico se puede usar para medir los niveles de creatinina en la orina. El ensayo se basa en la reacción de Jaffe, en la que se forma un color de pozo naranja cuando el metabolito se trata con picrato alcalino. El color derivado de la creatinina se destruye a pH ácido. La diferencia en la intensidad del color medida a 500 nm antes y después de la acidificación es proporcional a la concentración de creatinina. La concentración de creatinina muestral es determinada usando una curva patrón de creatinina.

Realización del ensayo

1. Añada 15µl de creatinina estándar (tubos A-H) por pocillo en los pozos diseñados en la placa
2. Añadir 15 µl de muestra a dos pozos. Para obtener resultados reproducibles, los niveles de creatinina de cada muestra deben caer dentro de los valores de absorbancia de la curva estándar. Cuando sea necesario, las muestras pueden diluirse con agua de grado HPLC para llevar la concentración de creatinina a este nivel.

3. Iniciar las reacciones añadiendo 150 μ l de solución de picrato alcalino a todos los pocillos que se están utilizando
4. Cubrir la placa con la cubierta de plástico e incubar en un agitador durante 10 minutos a temperatura ambiente
5. Retire la cubierta de la placa y lea la absorbancia a 490-500 nm usando un lector de placas. Esta absorbancia es la lectura de absorbancia inicial. Añadir 5 μ l de solución ácida a todos los pocillos que se están utilizando
7. Cubrir la placa con la cubierta de la placa e incubar en un agitador durante 20 minutos a temperatura ambiente
8. Retire la cubierta y lea la absorbancia a 490-500 nm usando un lector de placas. Esta absorbancia es la lectura de absorbancia final.

El kit ELISA LTE₄ de Cayman: es un ensayo competitivo que ha sido desarrollado para la medición de LTE₄ a partir de la orina sin un paso de purificación. El ensayo tiene un intervalo de 7,8-1,000 pg/ml y una sensibilidad (80% B/B₀) de aproximadamente 25 pg/ml. La eliminación de la etapa de purificación simplifica la medición de LTE₄ manteniendo la relevancia biológica. Este formato de "diluir e ir" ha sido utilizado con éxito para demostrar cambios significativos y reproducibles en los niveles de LTE₄ en la orina de pacientes asmáticos después del desafío con antígeno.

Este ensayo se basa en la competencia entre LTE₄ y LTE₄-acetilcolinesterasa (AChE) conjugado (LTE₄ Trazador) para una cantidad limitada de Antisuero LTE₄. Debido a que la concentración del Trazador LTE₄ se mantiene constante mientras

la concentración de LTE_4 varía, la cantidad del Trazador LTE_4 que es capaz de unirse al Antisuero LTE_4 será inversamente proporcional a la concentración de LTE_4 en el pocillo. Este complejo anticuerpo- LTE_4 se une a un IgG monoclonal anti-conejo de ratón que ha sido previamente unido al pocillo. La placa se lava para eliminar cualquier reactivo no unido y el reactivo de Ellman (que contiene el sustrato a AChE) se añade al pocillo. El producto de esta reacción enzimática tiene un color amarillo distinto y absorbe fuertemente a 412 nm. La intensidad de este color, determinada espectrofotométricamente, es proporcional a la cantidad de trazador LTE_4 unido al pocillo, que es inversamente proporcional a la cantidad de LTE_4 libre presente en el pocillo durante la incubación

Realización el ensayo

1. Tampón ELISA. Añadir 100 μl de tampón ELISA a pocillos NSB. Agregar 50 μl de tampón ELISA a pocillos B0.
2. Leucotrieno E4 ELISA Estándar. Añadir 50 μl del tubo # 8 a los dos pocillos estándar más bajos (S8). Añadir 50 μl del tubo # 7 a cada uno de los siguientes dos pocillos estándar (S7). Continúe con este procedimiento hasta que todos los estándares sean alícuotas. Se debe usar la misma punta de la pipeta para alícuota de todos los estándares. Antes de pipetear cada estándar, asegúrese de equilibrar la punta de pipeta en ese estándar.
3. Muestras. Añadir 50 μl de muestra por pocillo. Cada muestra debe ensayarse en un mínimo de dos diluciones. Cada dilución debe ensayarse por duplicado (se recomienda triplicar).

4. Leucotrieno E4 AChE Trazador. Añadir 50 ml a cada pocillo excepto los pocillos TA y BLK

5. Antisuero de Leucotrieno E4 ELISA. Añadir 50 μ l a cada pocillo, excepto los pocillos TA, NSB y BLK.

6. Incubación de la Placa. Cubrir cada placa con plásticoe incubar 18 horas a 4° C.

7. Desarrollo de la placa. Reconstituir el reactivo de Ellman inmediatamente antes de su uso. Recipiente de 100 dtn Reactivo de Ellman: Reconstituir con 20 μ l de agua UltraPure. Vacíe los pocillos y enjuague cinco veces con tampón de lavado. Añadir 20 μ l de Reactivo de Ellman a cada pozo y añadir 200 μ l de Reactivo de Ellman a cada pocillo. Añadir 5 μ l de trazador a los pocillos TA. Cubrir la placa con película de plástico. El desarrollo óptimo se obtiene utilizando un agitador orbital equipado con una cubierta grande y plana para permitir que la placa (s) se desarrollen en la oscuridad. Este ensayo se desarrolla típicamente en 90-120 minutos.

Leyendo la placa:

1. Se limpió la parte inferior de la placa con un paño limpio para quitar las huellas dactilares, la suciedad, etc.

2. Se retiró la tapa de la placa con cuidado para evitar que el Reactivo de Ellman salpique en la cubierta.

3. Se leyó la placa a una longitud de onda entre 405 y 420 nm.. La placa debe leerse cuando la absorción de los pocillos B0 esté en el intervalo de 0,3-1,5 a.u. (En blanco suprimido).

D) Número necesario de sujetos de investigación

Considerando el estudio realizado por Claudio Micheletto et al., donde se realiza medición de LTE4u posterior a realizar una prueba de provocación nasal con lisil aspirina en pacientes asmáticos intolerantes a aspirina; donde los niveles basales de LTE4u son de $433\text{pg/mg} \pm 361.7\text{pg/mg}$ y a las 2 horas posterior a la intervención con cifras de $858\text{pg/ng} \pm 471.6\text{pg/ng}$.

Se realizó el cálculo de la muestra utilizando una prueba Z con medias pareadas, con un poder del 90% y significancia del 5% donde se necesitan 8 pacientes, por lo cual se incluyeron 9 pacientes considerando las pérdidas durante el estudio y 8 controles.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:

- 1) Pacientes mayores de 18 años, ambos géneros.
- 2) Pacientes que cuenten con registro en el INER.
- 3) Pacientes quien cuenten con diagnóstico de EREA confirmado por reto L-aspirina o clínica
- 5) Pacientes que acepten el ingreso hospitalario y firmen consentimiento informado

Criterios de exclusión.

- 1) Cirugía endoscópica en los últimos 6 meses

- 2) Uso de esteroide oral, Intramuscular o Intravenoso en los últimos 3 meses
- 3) Tratamiento con antileucotrieno o antihistamínico en las últimas 2 semanas
- 4) Pacientes que no acepten participar en la investigación.

Criterios de eliminación.

- 1) Pacientes que pidan su alta voluntaria.
- 2) Pacientes que no acudan a sus citas de control.
- 3) Pacientes con cuestionarios incompletos.
- 4) Pacientes que no sigan la dieta durante el tiempo establecido
- 5) Crisis asmática que requiera manejo con esteroide sistémico
- 6) Pacientes con expedientes incompletos.

E) Captura, procesamiento, análisis e interpretación de la información.

La recolección de los datos se realizó desde el cuestionario general, espirometría, rinomanometría anterior activa y la medición de leucotrienos en orina hacia una hoja de cálculo Excel. Las variables colectadas se exportarán a un programa estadístico Stata 14.1

Se realizó un análisis descriptivo de todos los datos demográficos y analíticos de los participantes. Los resultados se expresaron de acuerdo con la distribución de las variables. En caso de que existan diferencias clínicamente relevantes en alguno de los datos entre los resultados finales del estudio y los basales se

aplicará la prueba de Chi cuadrado, la “t” de Student o análisis de la varianza (ANOVA), según correspondiese y se hará un análisis de regresión múltiple para conocer la contribución de la variable al desenlace principal, teniendo conocimiento de las posibles variables confusoras. En cuanto al estudio de la variable principal (Leucotrieno E4 en orina) así como las variables secundarias (espirométricas, resistencia nasal inspiratoria, etc), se analizaron las diferencias encontradas después de la intervención. Para estas comparaciones se aplicó una prueba estadística acorde con la distribución y varianza de la variable Leucotrieno E4, la cual tiene la característica de ser dimensional (test T o Wilcoxon para muestras pareadas). Posteriormente se realizó un modelo de análisis de muestras repetidas para comparar las cuatro mediciones (basal, dos horas después del desayuno, comida y cena) en los dos esquemas de dietas, el modelo se basa en las variables siguientes: secuencia, tratamiento, periodo. La parametrización permitió obtener la contribución de ambos tratamiento, secuencia y las diferencias (delta del cambio).

RESULTADOS

La diferencia entre la basal y primera, basal y segunda y basal y tercera medición con la dieta baja en salicilatos no es significativa al comparar entre controles y sanos ($p=0.25$, 0.44 y 0.5); igualmente no son significativas para la dieta con salicilato ($p=0.34$, 0.15 y 0.49). Al comparar las diferencias de las mediciones entre dietas sí se encuentra significancia con las diferencias de la segunda y tercera medición con el valor basal entre las dietas, con p de 0.023 y 0.003 respectivamente, no así para la diferencia entre la primera medición el valor basal ($p=0.16$).

No existe una diferencia significativa en la escala ACT, encontrándose una p por la prueba de rangos de Wilcoxon de 0.94 . No existe una diferencia significativa en el cuestionario SNOT-22 entre la primera prueba y la segunda, con una p de 0.6044 .

Se realizó una regresión lineal de efectos mixtos como exploración de los datos, tomándose como variable dependiente las mediciones de LTE4 en orina, como independientes el tiempo, las diferentes dietas y los tipos de sujetos y considerando un efecto aleatorio en cada sujeto. SE obtuvo coeficiente para tipo de dieta de 5.39 ($0.561-10.22$), con una significancia de 0.029 . Fue el único con significancia de los factores evaluados.

Tabla 1. Resultado de las mediciones para la dieta sin salicilatos

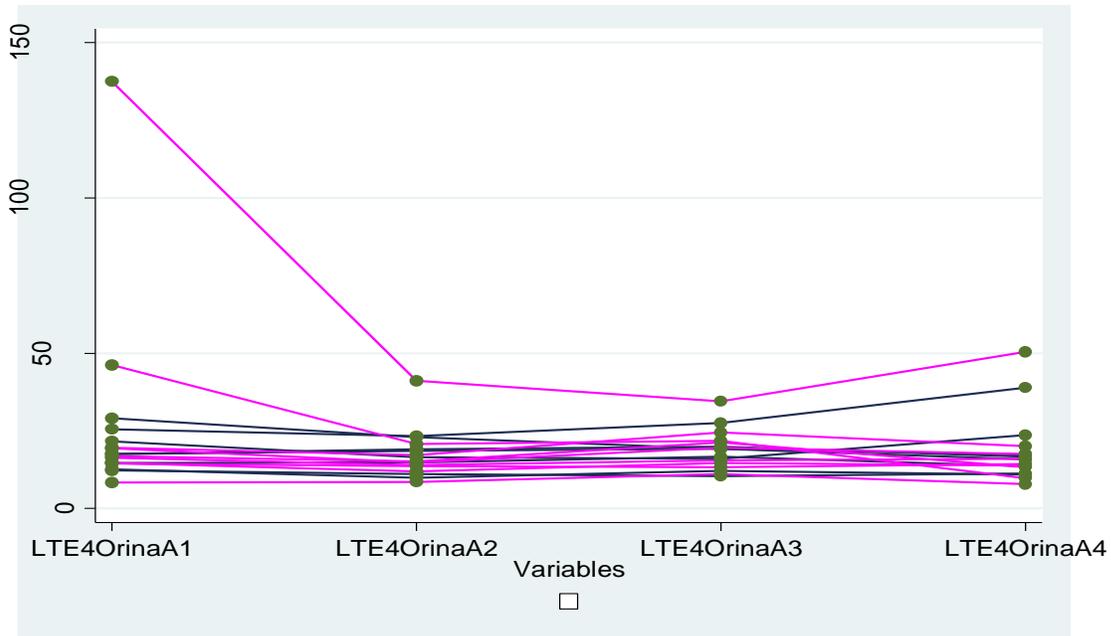
		Basal	Primera medición	Segunda medición	Tercera medición	p
% predicho FEV1	Casos	98.37 (13.29)	98.64 (15.26)	97.33 (13.69)	94.74 (13.29)	0.352
	Controles	102.68 (12.98)	108.81 (12.66)	102.9 (11.09)	102.38 (11.27)	0.777
	Total	100.4 (12.92)	101.55 (14.02)	99.95 (12.48)	98.34 (12.62)	0.632
% del predicho FVC	Casos	112.33 (18.64)	112.7 (16.43)	112 (17.33)	109.56 (17.18)	0.054
	Controles	107.43 (17.31)	110.175 (15.56)	109.14 (16.32)	106.45 (15.18)	0.228
	Total	110.02 (17.64)	111.51 (15.58)	110.65 (16.39)	108.09 (15.84)	0.048
FEV1/FVC	Casos	74.35(4.71)	73.6 (5.32)	73.18 (5.76)	72.85 (5.91)	0.586
	Controles	82.75 (5.65)	82.16 (4.46)	80.63 (7.47)	83.05 (5.47)	0.256
	Total	78.31 (6.61)	77.63 (6.49)	76.68 (7.46)	77.65 (7.62)	0.312
Flujo nasal total*	Casos	548.4 (354.65)	651.29 (300.84)	590.89 (464.44)	838.23 (316.49)	0.185
	Controles	596.46 (404.83)	573.02 (213.23)	471.61 (297.09)	522.42 (141.86)	0.165
	Total	576.87 (553.79)	600.46 (269.45)	509.43 (404.54)	612.01 (393.81)	0.375
Resistencia nasal total*	Casos	0.27 (0.42)	0.22 (0.12)	0.16 (0.1)	0.31 (0.19)	0.023
	Controles	0.245 (0.17)	0.26 (0.07)	0.31 (0.26)	0.46 (0.28)	0.369
	Total	0.25 (0.39)	0.25 (0.11)	0.25 (0.17)	0.23 (0.12)	0.198
LTE plasma*	Casos	3411.11 (1438.32)	3453.59 (1417.571)	2716 (515.971)	2734.89 (1028.87)	0.091
	Controles	2161.269 (738.75)	1833.81 (1211.66)	1265.72 (1417.57)	1716.5 (827.17)	0.044
	Total	2648.02 (1430.97)	2933.75 (1768.97)	2590.38 (130.50)	2171.24 (1306.767)	0.025
LTE4 orina*	Casos	19.56 (8.03)	17.27 (8.15)	17.28 (8.16)	17.52 (6.93)	0.172
	Controles	14.67 (3.72)	14.27 (5.97)	19.51 (8.43)	13.48 (3.84)	0.018
	Total	17.53 (7.03)	15.12 (5.43)	19.18 (6.68)	15.82 (4.25)	0.022
SNOT22*	Casos	35 (31)				
	Controles	12(6)				
	Total	16 (22)				
ACT	21.67 (4.89)					

Tabla 2. Resultado de las mediciones para la dieta con salicilatos

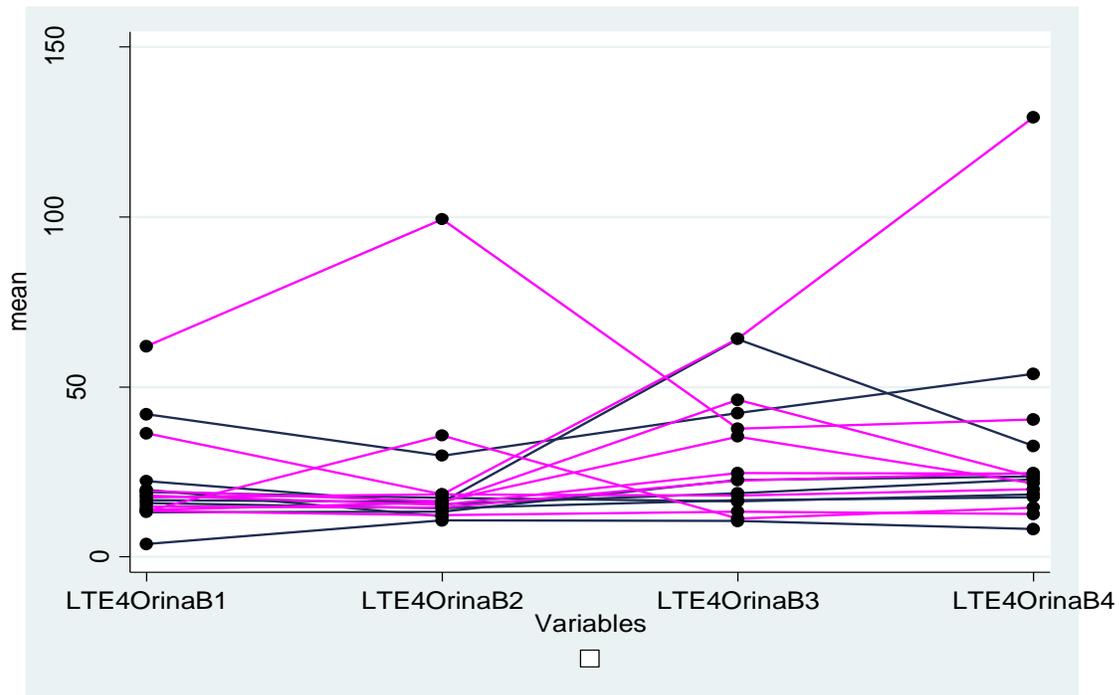
		Basal	Primera medición	Segunda medición	Tercera medición	p
% predicho FEV1	Casos	102.38 (11.21)	100.32 (13.13)	99.32 (11.59)	97.41 (11.60)	0.435
	Controles	103.5 (9.9)	103.49 (9.85)	102.88 (9.889)	101.89 (9.73)	0.266
	Total	102.91 (10.30)	101.82 (11.46)	100.99 (10.65)	99.37 (10.72)	0.133
% del predicho FVC	Casos	112.83 (16.68)	111.36 (17.12)	112 (17.33)	109.49 (15.17)	0.072
	Controles	108.66 (15.20)	108.36 (14.39)	109.08 (14.50)	105.94 (15.19)	0.478
	Total	110.87 (15.65)	109.94 (15.48)	110.36 (14.57)	107.94 (14.77)	0.030
FEV1/FVC	Casos	76.55 (5.58)	76.13 (6.05)	78.24 (7.81)	75.38 (6.19)	0.506
	Controles	82.58 (7.02)	82.80 (7.04)	75.11 (7.08)	83.42 (5.68)	0.224
	Total	82.58 (7.02)	79.27 (7.19)	78.23 (7.81)	78.90 (7.10)	0.136
Flujo nasal total*	Casos	706.49 (341.29)	918.54 (404.22)	741.16 (178.51)	593.47 (450.55)	0.057
	Controles	884.5 (541.07)	604.20 (445.3)	539.57 (342.71)	411.4 (709.85)	0.856
	Total	751.05 (413.92)	763.55 (339.3)	691.42 (248.34)	559.67 (566.59)	0.403
Resistencia nasal total*	Casos	0.19 (0.11)	0.16 (0.08)	0.2 (0.05)	0.25 (0.17)	0.135
	Controles	0.205 (0.17)	0.24 (0.205)	0.275 (0.175)	0.36 (0.3)	0.856
	Total	0.19 (0.11)	0.19 (0.09)	0.28 (0.09)	0.27 (0.25)	0.107
LTE plasma*	Casos	3084.48 (1993.28)	3619.50 (1530.43)	2989.97 (1968.79)	2237.77 (981.76)	0.054
	Controles	3626.09 (3711.15)	3516.47 (1788.83)	3047.48 (1332.16)	2581.66 (442.98)	0.044
	Total	3560.91 (2743.88)	3554.48 (1530.43)	3005.57 (1467.78)	2581.64 (746.88)	0.004
LTE4 orina*	Casos	16.66 (5.75)	16.23 (3.01)	35.40 (29.79)	21.57 (15.14)	0.026
	Controles	17.81 (6.79)	15.45 (13.15)	22.41 (6.55)	23.67 (4.86)	0.168
	Total	17.58 (5.95)	16.00 (3.00)	22.51 (23.44)	23.11 (10.76)	0.011
SNOT22*	Casos	27 (22)				
	Controles	14 (8)				
	Total	18.5 (16)				
ACT	22.33 (2.5)					

*Valores expresados como mediana (rango intercuartil). El resto están expresados como media (desviación estándar). Análisis estadístico realizado con la prueba de Friedman.

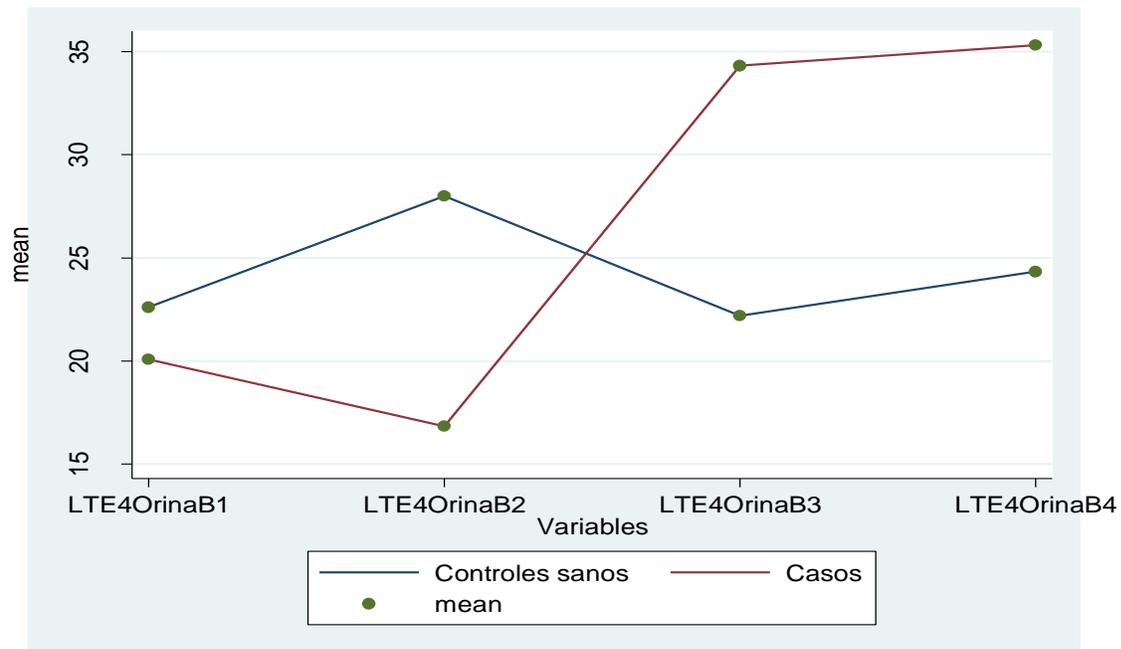
Cambio en LTE4 en orina en las diferentes mediciones con el tratamiento A. Cada línea representa un sujeto.



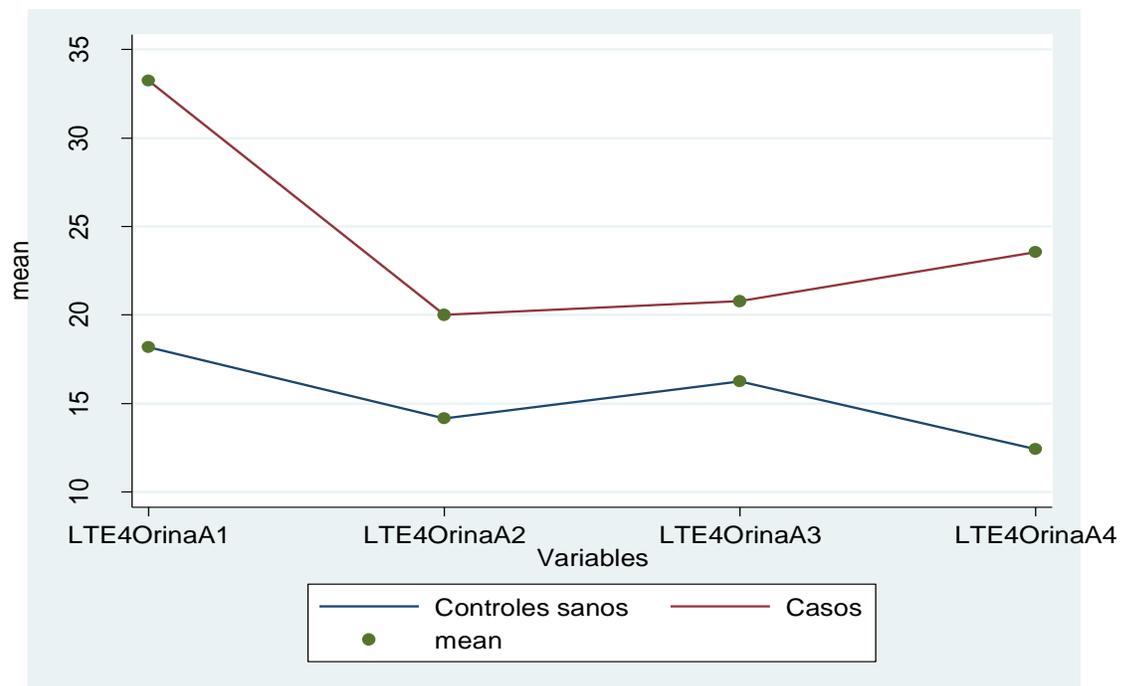
Cambio en LTE4 en orina en las diferentes mediciones con el tratamiento B. Cada línea representa un sujeto.



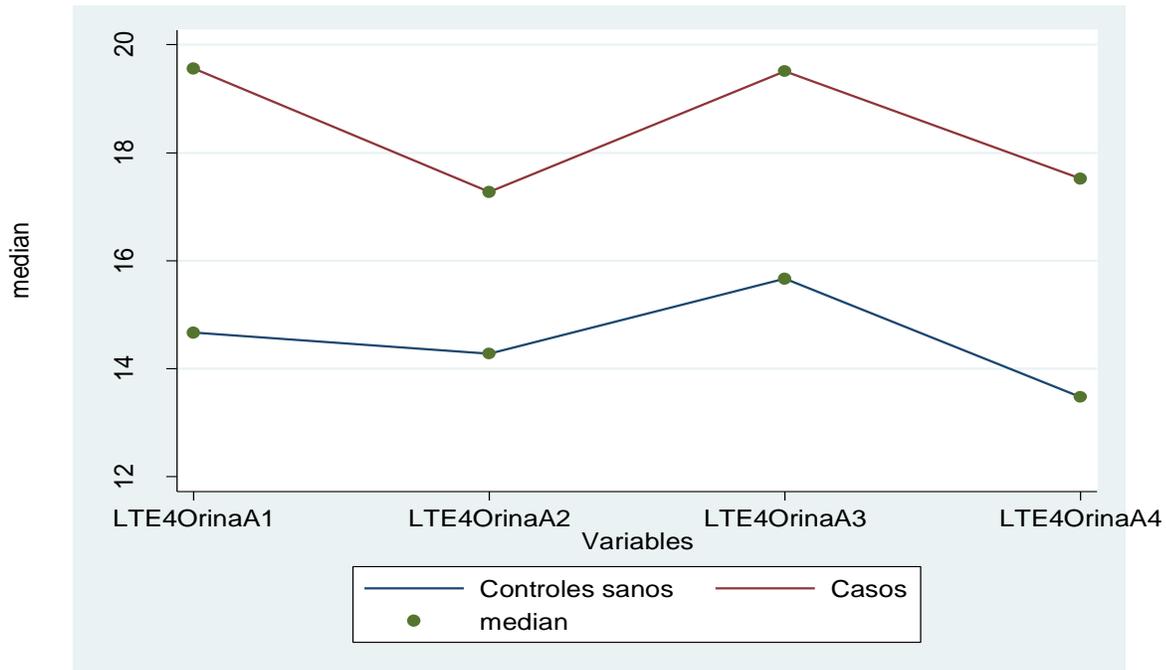
Cambio en LTE4 en orina en las diferentes mediciones con el tratamiento B, por promedio en casos y controles sanos.



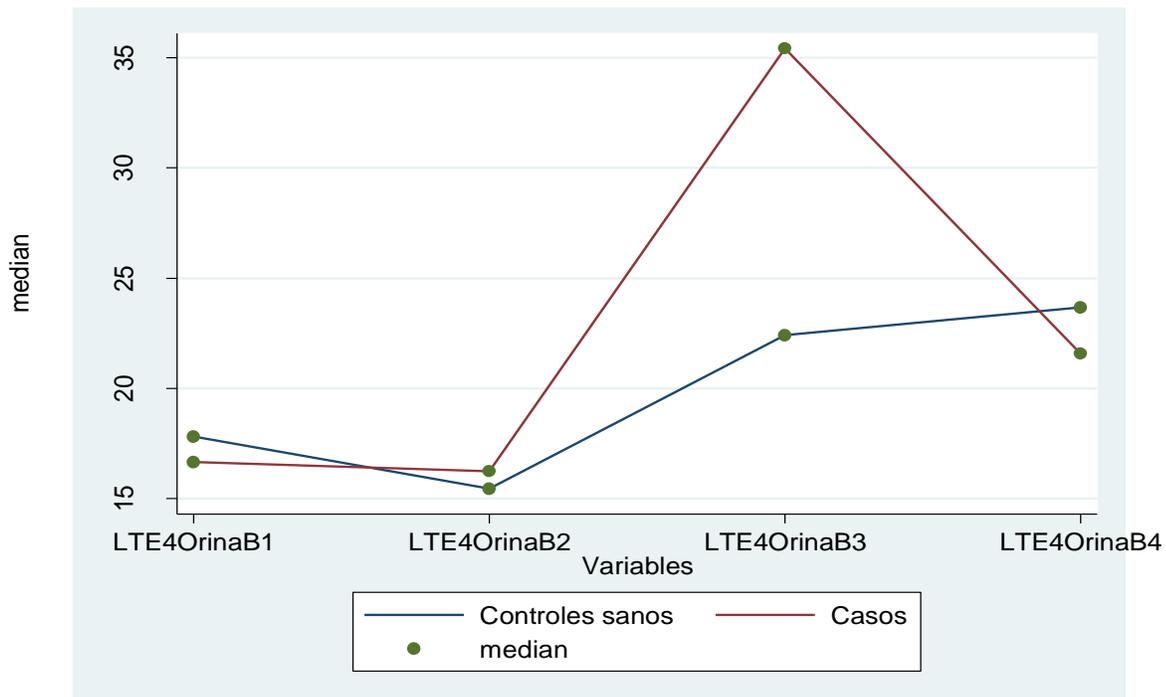
Cambio en LTE4 en orina en las diferentes mediciones con el tratamiento A, por promedio en casos y controles sanos.



Cambio en LTE4 en orina en las diferentes mediciones con el tratamiento A, por mediana en casos y controles sanos.



Cambio en LTE4 en orina en las diferentes mediciones con el tratamiento B, por mediana en casos y controles sanos.



DISCUSIÓN

Este estudio es el primer estudio en investigar la correlación clínica, funcional y metabólica, en la aplicación de una dieta baja en salicilatos en el tratamiento de pacientes con Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina. A través de la medición de escalas clínicas, espirometría, rinomanometría y medición de leucotrieno E₄ en orina.

Asano y colegas midieron muestras consecutivas cada 4 horas de orina de pacientes normales y con asma, encontrando una excreción de 84pg/mg en pacientes normales y de 110pg/mg en pacientes con asma ($p < 0.05$) (34). Smith y colaboradores no encontraron diferencias entre pacientes con asma sin intolerancia a la aspirina y controles normales (35).

Green estudió pacientes con asma, donde los niveles de LTE₄ urinario se incrementaron durante la exacerbación comparado con niveles medidos dos semanas después (111.7 vs 75.6 pg/mg de creatinina $p < 0.001$) y la correlación entre la mejora en VEF1 y la disminución de LTE₄ en el intervalo de dos semanas fue significativo ($p < 0.001$) (36).

Las elevaciones en el LTE₄ han sido más consistentes en pacientes con asma e intolerancia a la aspirina. Smith reportó un nivel de LTE₄ de 101 pg/mg (rango 55-186pg/mg) en pacientes asmáticos con intolerancia a la aspirina comparado con 34 pg/mg (rango 25-48 pg/mg) en asmáticos sin intolerancia a la aspirina (35). Micheletto y colaboradores encontraron que los pacientes con asma y poliposis nasal tienen los niveles más altos de LTE₄ urinario (432 pg/mg) comparado con los

pacientes que padecen asma y rinitis (330 pg/mg, $p < 0.01$), asma moderada persistente (129 pg/mg, $p < 0.001$) y controles normales (66 pg/mg, $p < 0.001$) (37).

Los niveles basales de LTE_4 se han asociado no solo con la incidencia de asma, sino con el control de la enfermedad; Vachier, encontró niveles urinarios de LTE_4 significativamente más altos en pacientes con asma severa (69 pg/mg) comparado con aquellos con asma moderada (45 pg/mg, $p < 0.0004$) y controles (42 pg/mg, $p < 0.0001$) (38).

Varios estudios han reportado asociaciones entre LTE_4 e índices de severidad del asma, como parámetros de función pulmonar, biomarcadores de inflamación y síntomas. Severien midió niveles de LTE_4 urinario en niños y realizó pruebas de función pulmonar, con niveles más altos en niños con asma comparado con controles (media de 238 pg/mg vs 189 pg/mg, $p = 0.02$); además de encontrar asociaciones significativas entre el volumen de gas intratorácico, volumen residual, volumen espiratorio forzado en 1 segundo (VEF_1), capacidad espiratoria forzada y flujo espiratorio máximo (39).

Strunk, investigó la asociación entre biomarcadores y LTE_4 , relacionados con la incidencia del asma y severidad, donde los niveles de LTE_4 se asociaron significativamente con eosinófilos e IgE pero no con óxido nítrico exhalado; tal hallazgo probablemente refleje una gran variabilidad para cada sujeto en los valores de LTE_4 (40).

Kurokawa, encontró que las concentraciones de LTE_4 de 3 a 6 pm fueron significativamente más altas que de 3 a 6 pm en pacientes con asma y síntomas

nocturnos, lo cual sugiere que los síntomas pueden estar relacionados con picos en la producción de CysLTs (41). Hallazgos similares fueron reportados por Bellia y cols (42). En un estudio realizado por Rabinovitch hubo un incremento de niveles de LTE₄ urinario asociado con un decremento en el porcentaje del predico de VEF₁ (15).

Incluso en condiciones clínicas estables, los pacientes intolerantes a la aspirina y asma, tienen niveles incrementados en la excreción basal de LTE₄.

Varias observaciones sostienen la hipótesis de que los leucotrienos pueden mediar la intolerancia a la aspirina, en particular se ha detectado un incremento casi cuatro veces en el LTE urinario a las 3-6 horas posterior a la ingesta de aspirina y después de la inhalación de L-ASA (25).

Celejewska-Wójcik realizó un estudio en donde midió LTE₄ urinario en pacientes que requirieron cirugía endoscópica funcional, con la finalidad de validar una medición única para el diagnóstico de EREA. En 24 pacientes candidatos a cirugía realizó una medición basal, y a las 2 y 4 horas después de un reto de aspirina, encontrando cifras 7.5 veces más altas en pacientes con EREA (2371 vs 316 pg/mg); con una sensibilidad preprueba de 87.5% y especificidad de 93.75% para detectar hipersensibilidad a la aspirina en pacientes con rinosinusitis crónica; posterior al reto con sensibilidad de 100% y especificidad de 93% (p<0.01) (43).

Divekar, muestra que un valor de corte de LTE₄ en 166pg/mg sugiere la presencia de una hipersensibilidad a la aspirina en un 89% de especificidad, y un

valor de corte de 214 pg/mg Cr confirma una hipersensibilidad con un 92% de especificidad (44).

CONCLUSIÓN

Este estudio piloto a pesar de contar con poco pacientes en cuanto al tamaño de la muestra, y al encontrar dentro de los resultados una elevación de leucotrieno E₄ urinario en pacientes y controles al realizar dieta alta en salicilatos, nos ofrece un auxiliar en el tratamiento de la enfermedad, de esta manera se podrá reducir la producción endógena de cisteinil-leucotrienos.

Sin embargo se debe de realizar más investigación al respecto, aumentando el número de pacientes en el estudio o realizando un estudio multicéntrico.

ANEXOS

ANEXO 1. TABLA DE CONTENIDO DE SALICILATOS

Comida segura=0	Muy bajo=1	Bajo=2	Moderado=3	Alto=4	Muy alto=5	Extremadamente alto=6	Mega alto=7
Fruta	Fruta	Fruta	Fruta	Fruta	Fruta	Fruta	Fruta
Pera fresca y pelada	Plátano	Higos frescos	Manzana mayoría de variedades	Manzana gra	Cerezas frescas		Piña
Vegetales	Manzana verde gol	Maracuyá	Kiwi	Limon	Higo seco	Uvas	Pasas
Repollo verde	Papaya	Caqui	Níspero	Lychee	Toronja	Fresas	Cerezas enlatadas
Repollo blanco	Melón	Mango	Pera con cáscara	Cerezas morello	Mandarina	Moras	Albaricoques
Lechuga iceberg	Granada	Durazno sin piel	Vegetales	Nectarina	Durazno	Vegetales	Zarzamora
Nabo	Tamarillo	Manzada red delicious	Espárragos enlatados	Sandía	Tangelo	Achicoria	Grosella negra
Papa "old white" pelada	Vegetales	Ruibarbo	Berenjena sin piel	Vegetales	Vegetales	Berenjena con piel	Mora azul
Leguminosas	Col de bruselas	Vegetales	Remolacha enlatada	Chirivia	Alfalfa	Endibia	Arándano blanco
Lenteja café	Cebollin	Espárragos frescos	Aceitunas negras	Papa blanca dulce	Aguacate	Pepino sin pelar	Mmelón cantalupo
Frijol negro	Chayote	CalabacínRemolacha	Zanahoria	Papa amarilla dulce	Calabaza bel	Pimiento verde	Grosella
Judías pardas	Ajo	Judías verdes	Lechugas	Granos	Habas	Calabacín	Guayaba
Garbanzo	Chicharro verde fre	Cebolla	Hongos	Harina de maíz	Brócoli	Rábano	Naranja
Lenteja roja	Puerro	Pimiento	Granos de maíz	Nueces y semillas	Chile verde	Berro	Ciruela pasa
Chicharos	Repollo rojo	Papa con piel	Jugo de tomate	Nuez de macadami	Quimbombó	Condimentos	Frambuesa
Habas	Escaloña	Calabaza	Nueces y semillas	Nuez brasileña	Espinaca fres	Chile en polvo	Vegetales
Frijol mungo	Leguminosas	Tomate	Coco seco	Pistache	Tomate enla	Vinagre blanco	Champiñones
Soya	Frijoles borlotti	Nabo Espinaca congelada	Crema de maní	Piñón	Chile amarillo		Chile rojo
Frijoles enlatados	Germinado de soya	Maíz dulce	Semilla de sésamo	Hierbas, especias y	Aceites y grasas		Pepinillos
Granos	Arvejas amarillas	Nueces y semillas	Nuez inglesa	Rábano picante	Aceite de coco		Aceitunas verdes
Semilla de amapola	Granos	Avellanas	Edulcorantes	Salsa tabasco	Aceite de oliva		Castaña de agua
Edulcorantes	Trigo	Nuez	Melaza	Aceites y grasas	Aceite de sésamo		Nueces y semillas
Jarabe de maple	Nueces y semillas	Semilla de girasol	Bebidas	Aceite de almendra	Aceite de nuez		Almendras
Azúcar blanca	Nuez de la india	Hierbas, especias y con	Coca cola	Aceite de maíz	Bebidas		Cacahuates con piel
Carne, pescado, aves	Hierbas, especias y	Cilantro fresco	Limonadas	Aceite de cacahuat	Café		Edulcorantes
Pollo	Hinojo seco	Bebidas		Aceite de sésamo			Miel
Huevo	Perejil fresco	Jugo de pera		Aceite de nuez			Hierbas, especias y c
Carne de res	Edulcorantes			Bebidas			Vinagre blanco
Borrego	Miel de caña			Té de mosqueta			Esencia de vainilla
Carne de cerdo	Carne y pescado						Orégano
Ostras	Higado						Paprika
Salmón enlatado	Langostinos						Curry
Atún enlatado	Almejas						Albahaca
Hierbas, especias y cond	Lácteos						Hoja de laurel
Vinagre de malta	Queso mozzarella						Comino
Azafran	Queso azul						Clavo
Salmón enlatado	Queso camembert						Gengibre fresco
Salsa de soya	Bebidas						Menta fresca
Aceites y grasas	Té de manzanilla						Pimienta
Mantequilla	Té negro sin cafeína						Nuez moscada
Aceite de cártamo							Anís
Aceite de Soya							Canela
Aceite de girasol							Mostaza
Lácteos							Eneldo
Mantequilla							Romero
Quesos suaves libres de conservadores							Tomillo
Leche							Cúrcuma
Yogurt							
Bebidas							
Café descafeinado							
Agua							
Leche							
Leche de arroz							
Leche de soya							
Otros							
Cocoa							
Alagarrobo							

ANEXO 2. CUESTIONARIO SNOT 22

Cuestionario sobre Problemas Sino-Nasales SNOT-22

ID: _____

Nombre: _____ Fecha: _____

Abajo encontrarás una lista de síntomas y consecuencias sociales/emocionales de tu trastorno nasal. Queremos saber más sobre tu problema, así que agradeceríamos que respondieras las siguientes preguntas con sinceridad, tomando en cuenta que no hay respuestas correctas o incorrectas. Favor de indicar la gravedad de tu problema durante las últimas dos semanas. Solo tú puedes proporcionar la información. Muchas gracias por participar.

A: Considerando la gravedad del problema cuando se presenta, y la frecuencia con que ocurre, indica qué tanto te afectan estos síntomas. Encierra el número que corresponde a cómo te sientes usando esta escala →

	No es problema	Sólo una molestia menor	Problema entre menor y ligero	Problema moderado	Problema severo o grave	El problema ha llegado al máximo de gravedad	
1. Necesidad de sonar con frecuencia la nariz	0	1	2	3	4	5	
2. Estornudos	0	1	2	3	4	5	
3. Moco/escurrimiento nasal	0	1	2	3	4	5	
4. Tos	0	1	2	3	4	5	
5. Escorrimento pos-nasal (moco que cae a la garganta)	0	1	2	3	4	5	
6. Escorrimento nasal espeso	0	1	2	3	4	5	
7. Sensación de oídos tapados	0	1	2	3	4	5	
8. Mareo	0	1	2	3	4	5	
9. Dolor de oído	0	1	2	3	4	5	
10. Dolor/presión facial	0	1	2	3	4	5	
11. Dificultad para conciliar el sueño	0	1	2	3	4	5	
12. Me despierto en la noche	0	1	2	3	4	5	
13. Dormir mal por la noche	0	1	2	3	4	5	
14. Me despierto cansado	0	1	2	3	4	5	
15. Siento fatiga	0	1	2	3	4	5	
16. Productividad reducida	0	1	2	3	4	5	
17. Concentración reducida	0	1	2	3	4	5	
18. Me siento frustrado, inquieto o irritado	0	1	2	3	4	5	
19. Tristeza	0	1	2	3	4	5	
20. Pena o vergüenza	0	1	2	3	4	5	
21. Pérdida del sentido de sabor y olfato	0	1	2	3	4	5	
22. Congestionamiento nasal	0	1	2	3	4	5	

TOTAL: _____

ANEXO 3. CUESTIONARIO ACT

TEST ACT: Test de control del asma (para mayores de 12 años)

Este test sirve para valorar el control del asma. Marque con un círculo el valor de cada respuesta. Sume los cinco valores.

A. Durante las últimas **4 semanas**, ¿con qué frecuencia le impidió el **asma** llevar a cabo sus actividades en el trabajo, la escuela o el hogar?

1. Siempre
2. Casi siempre
3. Algunas veces
4. Pocas veces
5. Nunca

B. Durante las últimas **4 semanas**, ¿con qué frecuencia ha sentido que le faltaba el aire?

1. Más de una al día
2. Una vez al día
3. De tres a seis veces por semana
4. Una o dos veces por semana
5. Nunca

C. Durante las últimas **4 semanas**, ¿con qué frecuencia le despertaron por la noche o más temprano de lo habitual por la mañana los síntomas de **asma** (sibilancias/pitos, tos, falta de aire, opresión o dolor en el pecho)?

1. cuatro noches o más por semana
2. De dos a tres noches por semana
3. Una vez por semana
4. Una o dos veces
5. Nunca

D. Durante las últimas **4 semanas**, ¿con qué frecuencia ha utilizado su inhalador de rescate (por ejemplo, salbutamol, Ventolín, Terbasmán,...)?

1. Tres veces o más al día
2. Una o dos veces al día
3. dos o tres veces por semana
4. Una vez por semana o menos
5. Nunca

E. ¿Cómo calificaría el control de su **asma** durante las últimas **4 semanas**?

1. Nada controlada
2. Mal controlada
3. Algo controlada
4. Bien controlada
5. Totalmente controlada

Resultado: Total de 25: Control total del asma
De 20 a 24 : Buen control del asma
23 o menos: Asma no controlada

ANEXO 4. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FORMATO DE CAPTACIÓN DE DATOS:				
Nombre: _____				
No. Expediente		Teléfono:		
Edad: _____ Fecha de Nacimiento: _____ Sexo: Masculino <input type="checkbox"/>				
dd / mm / aa Femenino <input type="checkbox"/>				
Diagnóstico Actual: Sano <input type="checkbox"/> SAMTER _____ <input type="checkbox"/>				
Edad Inicio Rinosinusitis: _____ Edad Diagnóstico Poliposis: _____				
Edad Inicio Asma: _____ Edad Inicio Intolerancia ASA: _____				
Ingestión Previa de ASA: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>				
Primer AINE con el que se presentó intolerancia: ASA <input type="checkbox"/> Naproxeno <input type="checkbox"/> Diclofenaco <input type="checkbox"/>				
Ketorolaco <input type="checkbox"/> Indometacina <input type="checkbox"/> Metamizol <input type="checkbox"/> Ibuprofeno <input type="checkbox"/> Piroxicam <input type="checkbox"/>				
Ketoprofeno <input type="checkbox"/> Celecoxib <input type="checkbox"/> Rofecoxib <input type="checkbox"/> Otros: _____				
Otros AINE que han ocasionado intolerancia: ASA <input type="checkbox"/> Naproxeno <input type="checkbox"/> Diclofenaco <input type="checkbox"/>				
Reacción inicial tras ingerir AINES: Broncoespasmo <input type="checkbox"/> Rinitis <input type="checkbox"/>				
Hiperemia conjuntival <input type="checkbox"/> Urticaria <input type="checkbox"/>				
Alergia a alimentos con salicilatos: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>				
¿Cuáles?:				
Alfalfa	Aguacate	Pasas	Vino	Vinagre blanco
Frijoles	Zarzamora	Frambueas	Cerveza	Salsa inglesa
Brócoli	Arandano	Fresa	Ron	Cicle
Coliflor	Cereza	Embutido	Jerez	Chocolate
Berenjena	Grosella	Almendras	Anis	
Habas	Datiles	Cacahuete	Curry	
Champiñon	Toronja	Piñon	Eneldo	
Pimientos	Uva	Pistache	Tomillo	
Rabanos	Naranja	Sidra	Miel	
Espinaca	Ciruela	Cocacola	Mermelada	
Manzana	Ciruela pasa	Te	Catsup Heinz	

CONTINUACIÓN

Eosinofilos: _____ (%) _____ (No absoluto) IgE: _____ mg/dl

Asma: Controlada _____ No controlada _____ Parcialmente controlada _____

Paso de Gina: Paso 1 _____ Paso 2 _____ Paso 3 _____ Paso 4 _____ Paso 5 _____

Asma: Leve intermitente _____ Leve persistente _____ Moderada persistente _____

Relización previa de pruebas cutáneas (PC): Si No

Resultado de PC: Positivas Negativas

Dieta baja Salic	Basal	Post desayuno	Post comida	Post cena
FEV 1 (%)				
FEV 1 (LTS)				
FVC (%)				
FVC(LTS)				
RELACION				
FN TOTAL				
RESISTENCIA				
LT ORINA				

Dieta Alta Salic	Basal	Post desayuno	Post comida	Post cena
FEV 1 (%)				
FEV 1 (LTS)				
FVC (%)				
FVC(LTS)				
RELACION				
FN TOTAL				
RESISTENCIA				
LT ORINA				

SNOT 22 (Dieta baja en salicilatos)

10-19: _____ 20-29: _____ 30-39: _____ 40-49: _____ 50-59: _____ 60-69: _____

70-79: _____ 80-89: _____ 90-99: _____ 100-110: _____

SNOT 22 (Dieta alta en salicilatos)

10-19: _____ 20-29: _____ 30-39: _____ 40-49: _____ 50-59: _____ 60-69: _____

70-79: _____ 80-89: _____ 90-99: _____ 100-110: _____

BIBLIOGRAFIA

1. Rabinovitch N. Urinary leukotriene E₄ as a Biomarker of Exposure, Susceptibility and Risk in Asthma. *Immunol Allergy Clin N Am* 32 (2012) 433–445.
2. Bochenek G, E Nizankowska-Mogilnicka, Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease: Clinical Disease and Diagnosis. *Am Immunol Allergy Clin N* 33 (2013) 147–161.
3. Samter M, Beers RF. Intolerance to aspirin. Clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Ann Intern Med.* 1968;68:975-983.
4. Samter M, Beers RF. Concerning the nature of intolerance to aspirin. *J allergy.* 1967;40:281-293.
5. Lee R, Stevenson D. Aspirin-exacerbated respiratory disease: evaluation and management. *Allergy Asthma Immunol Res* 2011;3:3-10.
6. Mitchell J, et al. Aspirin and salicylate in respiratory disease. *Rhinology.* 2013;51:195-205.
7. Laidlaw T, Boyce J. Pathogenesis of Aspirin- Exacerbated Respiratory Disease and Reactions. *Am Immunol Allergy Clin N* 33 (2013) 195–210.
8. Higashi N., et al. Aspirin-Intolerant Asthma (AIA) Assessment Using the Urinary Biomarkers, Leukotriene E₄ (LTE₄) and Prostaglandin D₂ (PGD₂) Metabolites. *Allergology International.* 2012; 61:393-403.
9. García Cruz, M. et al. Rhinosinusitis and Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease. *Journal of Allergy*, Volume 2012, ID 273752. 1-8.
10. Royer M, et al. Urinary leukotrienes in patients with nasal polyposis. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* (2008) 138, 633-636.
11. Murphy RC, et al. Biosynthesis and metabolism of leukotrienes. *Biochem J.* (2207) 405, 379-395.
12. Rabinovitch N. Urinary Leukotriene. E₄. *Immunol Allergy Clin N Am* 27 (2007) 651–664.
13. Wewnetrznej, et al. Incidence of aspirin hypersensitivity in patients with chronic rhinosinusitis and diagnostic value of urinary leukotriene E₄. *Polskie Archiwum Medycyny*

14. Laidlaw T., et al. Cysteinyl leukotriene overproduction in aspirin-exacerbated respiratory disease is driven by platelet-adherent leukocytes. *Blood*, 19 april 2012, Volume 119, number 16. 3790-3798.
 15. Rabinovitch N., et al. Urine leukotriene E₄ levels are associated with decreased pulmonary function in children with persistent airway obstruction. *J Allergy Clin Immunol*, Volume 118, number 3. 635-640.
 16. Duthie G, Wood D. Natural salicylates: foods, functions and disease prevention. *Food Funct.*, 2011, 2, 515–520.
 17. Wood A, et al. A systematic review of salicylates in food: estimated daily intake of a Scottish population. *Mol Nutr Food Res*. 2011;(suppl 1):S7-S14.
 18. Paterson JR, et al. Salicylic acid content of spices and its implications. *J Agric Food Che*. 2006;54:2891-2896.
 19. Janssen K., et al. Acetylsalicylate and salicylates in foods. *Cancer Letters* 114 (1997) 163-164.
 20. Skypala I, et al. Sensitivity to food additives, vaso-active amines and salicylates: a review of the evidence. *Clin Transl Allergy* (2015) 5:34. 1-11.
 21. Paterson J., et al. Is there a role for dietary salicylates in health?. *Proceedings of the Nutrition Society* (2006), 65, 93-96.
 22. Sala A, et al. Leukotriene E₄ Elimination and metabolism in normal human subjects. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 2265, No. 35, Issue December 15, 1990. 21771-21778.
 23. Lawrence JR, et al. Urinary excretion of salicyluric and salicylic acids by non-vegetarians, vegetarians, and patients taking low dose aspirin. *J Clin Pathol* 2003; 56:651-653.
 24. Sommer D, et al. Treatment of Aspirin Exacerbated Respiratory Disease with a Low Salicylate Diet: A Pilot Crossover Study *Otolaryngology– Head and Neck Surgery* 2015, Vol. 152(1) 42–47.
 25. Szeffler S, et al. Asthma outcomes: Biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* Volume 129, number 3. 26. Kumlin M. Measurement of leukotrienes in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(2):S102–6.
- 9-23.

27. Austen F, et al. The leukotriene E₄ puzzle: finding the missing pieces and revealing the pathobiologic implications. *J Allergy Immunol*. Volume 124, Number 3. 406-414.
28. Sommer D., et al. A novel treatment adjunct for aspirin exacerbated respiratory disease: the low-salicylate diet: a multicenter randomized control crossover trial. *International Forum of Allergy & Rhinology*, Vol. 6, No. 4, April 2016. 385-391.
29. Sakalar EG, et al. Aspirin-exacerbated respiratory disease and current treatment modalities. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 1-10.
30. Nayan S., et al. Dietary modifications for refractory chronic rhinosinusitis? Manipulating diet for the modulation of inflammation. *American Journal of Rhinology & Allergy*. November-December 2015, Vol. 29, No. 6. 170-174.
31. Swain a, et al. Salicylates in foods. *Journal of the American Dietetic Association*. Vol. 85 No. 8; 1985. 950-960.
32. Race Sharla. *The salicylate Handbook: your guide to understanding salicylate sensitivity*. Tigmor Books. First edition 2012.
33. Westcott J, et al. Immunoaffinity Resin for Purification of Urinary Leukotriene E₄. *Prostaglandins & other lipids mediators* 1998;55 April. 301-321.
34. Asano K, et al. Diurnal variation of urinary leukotriene E₄ and histamine excretion rates in normal subjects and patients with mild-to-moderate asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96(5 Pt 1): 643-51.
35. Smith CM, et al. Urinary leukotriene E₄ in bronchial asthma. *Eur Respir J* 1992;5(6):693-9.
36. Green, SA et al. Increase in urinary leukotriene LTE₄ levels in acute asthma: correlation with airflow limitation. *Thorax* 2004; 59:100-104.
37. Micheletto, C et al. Changes in urinary LTE₄ and nasal functions following nasal provocation test with ASA in ASA-tolerant and intolerant asthmatics. *Respiratory Medicine* (2006) 100. 2144-2150.
38. Vachier, et al. High levels of urinary leukotriene E₄ excretion in steroid treated patients with severe asthma. *Respir Med* 2003; 97(11):1225-9.
39. Severien C, et al. Urinary excretion of leukotriene E₄ and eosinophil protein X in children with atopic asthma. *Eur Respir J* 2000;16(4):588-92.

40. Strunk RC, et al. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112(5):883-92.
41. Kurokawa K, et al. Circadian characteristics of urinary leukotriene E₄ in healthy subjects and nocturnal asthmatics patients. *Chest* 2001;120(6):1822-8.
42. Bellia V, et al. Urinary leukotriene E₄ in the assessment of nocturnal asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97(3):735-41.
33. Celejewska-Wójcik N, et al. Incidence of aspirin hypersensitivity in patients with chronic rhinosinusitis and diagnostic value of urinary leukotriene E₄. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 2012; 122 (9)
34. Divekar R., et al. Diagnostic utility of urinary LTE₄ in asthma, allergic rhinitis, chronic rhinosinusitis, nasal polyps, and aspirin sensitivity. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2016. 1-6.