



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Facultad de Medicina y Odontología

Programa de Doctorado en Medicina

**CORRELACIONES CLÍNICAS, MORFOLÓGICAS Y DE CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES AFECTOS DE RINOSINUSITIS CRÓNICA CON POLIPOSIS NASAL**

Tesis doctoral presentada por:

**Aina Brunet-Garcia**

Licenciada en Medicina y Cirugía

Departamento de Cirugía, UV

CODIRECTOR Y TUTOR: Prof. D. Miguel Armengot Carceller

CODIRECTORES: Prof. Julio Cortijo Gimeno y Dr. Javier Milara Payá

**Valencia, septiembre 2020**





VNIVERSITAT E VALÈNCIA

**CORRELACIONES CLÍNICAS, MORFOLÓGICAS Y DE  
CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES AFECTOS  
DE RINOSINUSITIS CRÓNICA CON POLIPOSIS NASAL**

**Aina Brunet-Garcia**

Licenciada en Medicina y Cirugía

Fellow of the European Board in ORL-HNS



D **Miguel Armengot i Carceller**, Profesor Titular del Dpto. de Cirugía de la Universitat de València.

D **Julio Cortijo Gimeno**, Catedrático numerario de Universidad, Dpto. de Farmacología de la Universitat de València.

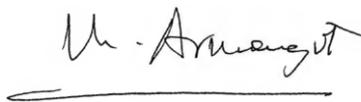
D **Xavier Milara Payá**, Doctor por la Universitat de València, Farmacéutico adjunto especialista, Dpto de Farmacia Hospitalaria CHGUV. Profesor asociado de farmacología, facultad de medicina, universitat Jaume I.

**CERTIFICAN:**

Que la presente memoria, titulada “Correlaciones clínicas, morfológicas y de calidad de vida en pacientes afectos de rinosinusitis crónica con poliposis nasal”, corresponde al trabajo realizado bajo su dirección por Dña. Aina Brunet-Garcia, para su presentación como Tesis Doctoral en el Programa de Doctorado en Medicina de la Universitat de València.

Y para que conste firman el presente certificado en Valencia, a 2 de septiembre de 2020.

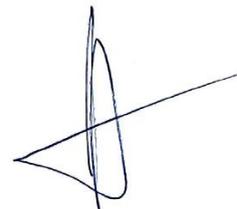
Fdo.



D/ Miguel Armengot



D/ Julio Cortijo



D/ Xavier Milara



HAGO CONSTAR que el trabajo presentado titulado **“Correlaciones clínicas, morfológicas y de calidad de vida en pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasal”** que presenta la doctora Aina Brunet-Garcia para la obtención del título de Doctor ha sido realizado bajo mi dirección y cumple los requisitos para poder optar a la Mención Internacional de Doctorado.

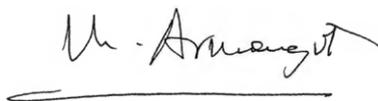
I STATE that the present study entitled **“Clinical, morphologic and quality of life correlations in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps”** presented by Aina Brunet-Garcia, for the award of the degree of Doctor, has been carried out under my supervision and that this thesis is eligible to apply for the International Doctorate Mention.

Valencia, Septiembre 2020

Valencia, September 2020

Los directores de la tesis doctoral

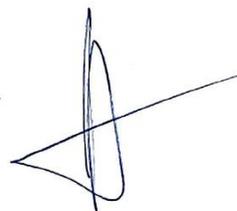
Doctoral Thesis Supervisors



D/ Miguel Armengot



D/ Julio Cortijo



D/ Xavier Milara



## **AGRADECIMIENTOS**

Primer de tot voldria agrair al doctor Miguel Armengot per haver confiat en mi, per guiar-me en el camí de la recerca i per transmetre'm aquesta passió per la medicina i l'otorrinolaringologia. Pels seus ànims des d'un bon començament, tot i advertir-me que aquest no era un camí fàcil.

A los codirectores de esta tesis, doctor Xavier Milara y profesor Julio Cortijo, por haber compartido su conocimiento. A Soledad Frias, por compartir sus trabajos previos.

Al departamento de estadística del Instituto de investigación sanitaria la Fe (Hospital Universitario la Fe), especialmente a Toni, Victoria y David, por su aportación en el análisis de los datos de esta tesis.

Al Ricard, per haver-me donat l'oportunitat de formar-me en cirurgia oncològica de cap i coll, pel seu suport, tant a nivel professional com personal i per les hores de *team breaf*.

To my colleagues from Guy's Hospital, Raf, Misha, George and Tommy. Especially to Raf for dedicating time to this thesis.

A Maria José Ferrer, por su pasión por el trabajo bien hecho, por transmitirme organización y metodología en medicina. A Virginia, por abrirme el camino para la realización de esta tesis.

A les companyes i companys del servei d'Otorrinolaringologia de l'Hospital Parc Taulí, gràcies pels coneixements aportats, pel vostre recolzament i comprensió

A la Maria, per les hores d'estudi juntes, per haver-me motivat a fer

recerca, per haver-me ensenyat la part molecular de la medicina, i per les seves sàbies correccions. A la Russi, per ser-hi en tot moment, per haver trobat sempre el temps d'on fos per veure'ns encara estéssim lluny. A la Laia Fité, ja gairebé fa 20 anys que caminem juntes en totes les etapes de la vida, perquè m'entens sempre i ho hem viscut tot plegades.

A les meves amigues de la universitat, especialment a la Laura, la Carmi-na i l'Alba, per les hores compartides de classes i pràctiques a la universi-tat, i per totes les quedades que seguim fent.

A Lúdia, María y Oliver, por aquellos 4 años de formación, por nuestros veranos en Benicassim y por todos los reencuentros por el mundo.

Al Lluís i al Jaume, per la seva ajuda i consells des del moment d'escollir plaça MIR fins al dia d'avui, motivant-me en aquesta carrera com a met-gessa, ajudant-me en la recerca o simplement escoltant-me quan expli-cava moments, cirurgies realitzades o plans de futur per a la meva for-mació.

A l'àvia Maria, per ser un exemple de fortalesa a la vida. Per les nostres converses i per transmetre'm experiència i molt bon criteri. I al Francesc, perquè el teu record perdura sempre entre nosaltres.

A la Laia, per obrir-me les portes des de ben petita, per guiar-me, per la teva companyia, per les nostres aventures per Londres i per ser-hi a cada instant. A l'Enric, per les trobades culinàries i pel suport tècnic d'aquesta tesi.

Pare i Mare, gràcies pel vostre recolzament, absolutament en tot mo-

ment. Pel vostre sacrifici perquè la vida de la Laia i la meva fos més fàcil. Per seguir-nos a cada pas que prenem en aquest viatge i ser el motor d'aquesta família. Sé del cert que sense el vostre suport incondicional la carrera de medicina i aquesta tesi no haurien estat possibles.



Als meus pares, Roger i Rosa, i a la Laia.



No voldria

Aquesta ignorància

Em demanes la meva atenció,

I sense esforç, escolto això que preguntes

I voldria allargar-me i emplenar-ho tot,

Comprendre-ho tot i explicar-t'ho

**Francesc Brunet-Llobet**

Poemari Eventuals Sinònims



*“Eosinophil, the handsome and mysterious cell”*

Mygind, 1982



# ÍNDICE

<b>LISTA DE TABLAS</b>	<b>23</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>25</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>27</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>33</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>37</b>
1.1. RINOSINUSITIS CRÓNICA CON POLIPOSIS NASOSINUSAL	39
1.1.1. Definición	39
1.1.2. Historia	44
1.1.3. Mecanismos fisiopatológicos y factores asociados a RSC	47
1.1.4. Microbiología en RSC	64
1.1.5. Epidemiología	65
1.1.6. Diagnóstico	68
1.1.7. Tratamiento	69
1.2. CALIDAD DE VIDA	79
1.3. EOSINÓFILOS	82
1.4. MUCINAS	84
1.5. TOLL-LIKE RECEPTORS (TLR)	87
1.6. MKP1	87
1.7. MIF	88
1.8. GR $\alpha$	88
1.9. IL-8	88
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>91</b>
2.1. HIPÓTESIS	93
2.2. OBJETIVOS.	96
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>99</b>
3.1. CONSIDERACIONES GENERALES	101

3.1.1.	Consentimiento informado	102
3.1.2.	Confidencialidad y protección de datos	103
3.1.3.	Enmiendas al protocolo	103
3.1.4.	Financiación	104
3.2.	DISEÑO DEL ESTUDIO	104
3.2.1.	Cálculo del tamaño muestral	107
3.2.2.	Estadaje endoscópico y radiológico	108
3.2.3.	Tratamiento médico	109
3.2.4.	Calidad de vida	110
3.3.	MÉTODOS	110
3.3.1.	Recogida de muestras	110
3.3.2.	Histopatología	111
3.3.3.	Estudio de la expresión génica: técnicas de biología molecular	112
3.3.4.	Análisis estadístico	120
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>123</b>
4.1.	DESCRIPCIÓN DE LOS DATOS	125
4.2.	CUESTIONARIO DE CALIDAD DE VIDA SNOT-22	136
4.2.1.	Asociación entre la CdV según el cuestionario SNOT-22 y los parámetros clínicos	138
4.2.2.	Asociación entre la CdV según el cuestionario SNOT-22 y los parámetros moleculares	139
4.2.3.	Asociación entre la CdV según el cuestionario SNOT-22 y eosinofilia, expresión de MUC1, intolerancia a AINEs y asma	141
4.3.	RESPUESTA A CC	143
4.3.1.	Asociación entre la respuesta al tratamiento con CC y el porcentaje de eosinófilos, la expresión de MUC1, la presencia de asma o de intolerancia a AINEs	144
4.3.2.	Asociación entre la respuesta al tratamiento con CC y las diferentes variables moleculares	147
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>151</b>
5.1.	CALIDAD DE VIDA	153

5.2.	EOSINOFÍLIA	156
5.2.1.	Eosinofilia y RSCcPN	163
5.2.2.	Eosinofilia y CdV	170
5.2.3.	Eosinofilia y tratamiento con CC	171
5.3.	MUC1	176
5.3.1.	MUC1 y CdV	176
5.3.2.	MUC1 y respuesta al tratamiento con CC	176
5.4.	TLR	178
5.5.	MKP1	180
5.6.	MIF	181
5.7.	GR $\alpha$	181
5.8.	INTERLEUKINA 8 (IL-8)	182
5.9.	LIMITACIONES	184
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONS</b>	<b>185</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>191</b>
<b>ANEXO 1.</b>	<b>DICTAMEN CEIC</b>	<b>207</b>
<b>ANEXO 2.</b>	<b>HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE</b>	<b>209</b>
<b>ANEXO 3.</b>	<b>CONSENTIMIENTO INFORMADO</b>	<b>213</b>
<b>ANEXO 4.</b>	<b>CUESTIONARIO SNOT-22</b>	<b>215</b>
<b>ANEXO 5.</b>	<b>MENCIÓN INTERNACIONAL</b>	<b>217</b>



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Evaluación del control clínico de la RSC durante el último mes.	44
Tabla 2. Prevalencia de poliposis nasosinusal según algunos de los estudios publicados en la literatura. ....	67
Tabla 3. Estadía radiológico .....	109
Tabla 4. Proceso de deshidratación de las muestras.....	111
Tabla 5. Ensayos de Expresión Génica TaqMan® utilizados en la RT-PCR a tiempo real (Applied Biosystems).....	117
Tabla 6. Estudio descriptivo de los datos .....	135
Tabla 7. Porcentaje de pacientes que ha marcado cada uno de los ítems del cuestionario como uno de los 5 peores.....	137
Tabla 8. Asociación entre la CdV según el cuestionario SNOT-22 y los parámetros clínicos.....	139
Tabla 9. Asociación entre SNOT-22 y los parámetros moleculares .....	140
Tabla 10. Análisis de la asociación entre SNOT-22 y el porcentaje de eosinófilos en tejido, la expresión de MUC1, la presencia de asma y de intolerancia a AINEs.....	141
Tabla 11. Resultado modelo ordinal, análisis entre el porcentaje de eosinófilos, expresión de MUC1, asma e intolerancia a AINEs y la respuesta a CC sistémicos.....	144

Tabla 12. Resultado modelo ordinal, análisis entre el porcentaje de eosinófilos, expresión de MUC1, asma e intolerancia a AINEs y la respuesta a CC tópicos.....	146
Tabla 13. Análisis modelo ordinal para la respuesta a CC tópicos y las variables moleculares .....	148
Tabla 14. Análisis modelo ordinal para la respuesta a CC sistémicos y las variables moleculares .....	149
Tabla 15. Recuento de eosinófilos. recRSC: RSC recurrente o recalcitrante.....	160
Tabla 16. Eosinofilia periférica y tisular recRSC.....	162
Tabla 17. Eosinofilia y RSC. ....	169
Tabla 18. Eosinofilia y CdV.....	174
Tabla 19. Eosinofilia y respuesta a CC.....	175

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rinosinusitis primaria.....	42
Figura 2. Rinosinusitis secundaria.....	42
Figura 3. Pólipo inflamatorio .....	48
Figura 4. Grado agregado de evidencia. ....	71
Figura 5. Citología de exudado nasal. ....	84
Figura 6. Epitelio nasal con gran componente mucoso.....	86
Figura 7. Extracción de ARN total y cuantificación. ....	113
Figura 8. Retrotranscripción .....	115
Figura 9. Ensayos de expresión génica TaqMan .....	116
Figura 10. RT-PCR a tiempo real .....	118
Figura 11. Asociación entre SNOT-22, eosinofilia y IL-8. ....	140
Figura 12. Asociación entre el porcentaje de Eosinófilos y la expresión de MUC1, y la CdV medida mediante el cuestionario SNOT-22. ....	142
Figura 13. Asociación entre la intolerancia a AINEs y la presencia de asma con la CdV medida mediante el cuestionario SNOT-22. ....	143
Figura 14. Relación entre la respuesta a CC sistémicos y el porcentaje de eosinófilos en tejido de pólipo nasal, considerando los pacientes que presentan asma, intolerancia a AINEs. ....	145

Figura 15. Asociación entre la expresión de MUC1 y la respuesta al tratamiento con CC tópicos, considerando los pacientes que presentan asma, intolerancia a AINES. ....147

## ABREVIATURAS

<b>ADN</b>	Ácido desoxiribonucleico
<b>ADNc</b>	Ácido desoxiribonucleico complementario
<b>AFRS</b>	Rinosinusitis alérgica fúngica ( <i>Allergic fungal rhinosinusitis</i> )
<b>AIC</b>	Criterio de información de Akaike
<b>AINEs</b>	Antiinflamatorios no Esteroides
<b>ALI</b>	Interfase aire-líquido ( <i>Air-liquid interface</i> ).
<b>AP-1</b>	Activator protein 1 (proteína activadora 1)
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ARNm</b>	ARN mensajero
<b>CC</b>	Corticoides
<b>CCAD</b>	Enfermedad alérgica del compartimiento central ( <i>central compartment allergic disease</i> )
<b>CCIN</b>	Corticoides intranasales
<b>CdV</b>	Calidad de vida
<b>CEPN</b>	Células epiteliales de pólipo nasal
<b>CF</b>	Fibrosis cística ( <i>cystic fibrosis</i> )
<b>Cq</b>	Ciclo humbral (quantification cycle)
<b>CRSwNP</b>	Rinosinusitis crónica con pólipos nasales ( <i>Chronic rhinosinusitis with nasal polyps</i> )
<b>CSS</b>	Chronic Rhinosinusitis Survey
<b>DAMPs</b>	Danger or damage associated molecular patterns
<b>d.C.</b>	Después de cristo
<b>ECF</b>	Proteína catiónica del eosinófilo
<b>eCRS</b>	Rinosinusitis crónica eosinofílica
<b>EDN</b>	Neurotoxina derivada del eosinófilo

<b>EGPA</b>	Granulomatosis eosinofílica con poliangéitís (eosinophilic granulomatosis with polyangiitis)
<b>EPA</b>	Granulomatosis eosinofílica con poliangéitís (enfermedad de Churg-Strauss)
<b>EPO</b>	Peroxidasa del eosinófilo
<b>EPOS</b>	European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps
<b>EQ-5D-5L</b>	EuroQol-5Dimension-5Level
<b>eRSC</b>	Rinosinusitis crónica eosinofílica
<b>FND</b>	Fosa nasal derecha
<b>FNI</b>	Fosa nasal izquierda
<b>GADPH</b>	Gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa
<b>GE</b>	Grado endoscópico de poliposis nasosinusal
<b>GRad</b>	Grado radiológico de poliposis nasosinusal
<b>GR<math>\alpha</math></b>	Receptor de glucocorticoides intracelular $\alpha$
<b>GPA</b>	Granulomatosis con poliangéitís
<b>HPF</b>	Campo de alta potencia – High power field
<b>IgE</b>	Inmunoglobulina de tipo E
<b>IL-4</b>	Interleuquina-4
<b>IL-5</b>	Interleuquina-5
<b>IL-8</b>	Interleuquina-8
<b>IL-13</b>	Interleuquina-13
<b>MBP</b>	Proteína básica principal
<b>MM</b>	Mucinas de membrana
<b>MS</b>	Mucinas secretoras
<b>MUC</b>	Mucina

<b>MUC-1</b>	Mucina-1
<b>neRSC</b>	Rinosinusitis crónica no eosinofílica
<b>NF-<math>\kappa</math>b</b>	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas)
<b>PCD</b>	Discinesia ciliar primaria (primary ciliary dyskinesia)
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>PN</b>	Poliposis nasosinusal
<b>PN-AIA</b>	PN con asma e intolerancia a la aspirina
<b>PN-AIA-CR</b>	PN con asma e intolerancia a la aspirina corticorresistentes
<b>PN-ATA</b>	PN con asma y con tolerancia a la aspirina
<b>PN-ATA-CR</b>	PN con asma y con tolerancia a la aspirina corticorresistentes
<b>PNsA</b>	PN sin asma y sin intolerancia a la aspirina
<b>PNsA-CR</b>	PN sin asma y sin intolerancia a la aspirina corticorresistente
<b>PROMIS-29</b>	Patient Reported Outcomes Measurement Information System-29
<b>QoL</b>	Quality of life (calidad de vida)
<b>qPCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa o PCR a tiempo real
<b>RANTES</b>	Regulador de la activación de las células T expresadas y secretadas
<b>respRSC</b>	Rinosinusitis crónica no recurrente
<b>recRSC</b>	Rinosinusitis crónica recurrente o recalcitrante

<b>RSA</b>	Rinosinusitis aguda
<b>RSDI</b>	Rhinosinusitis Disability Index
<b>RS</b>	Rinosinusitis
<b>RSC</b>	Rinosinusitis crónica
<b>RSCcPN</b>	Rinosinusitis crónica con pólipos nasales
<b>RSCsPN</b>	Rinosinusitis crónica sin pólipos nasales
<b>RSOM-31</b>	Rhinosinusitis outcome measure
<b>RT</b>	Retrotranscripción inversa
<b>RT-PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real
<b>SF-12</b>	Short Form-12 Health Survey
<b>SF-36</b>	Short Form-36 Health Survey
<b>SIT</b>	Smell identification test
<b>SN-5</b>	Sinus and Nasal Quality of Life Survey
<b>SNOT-16</b>	Sino-nasal outcome test 16
<b>SNOT-20</b>	Sino-nasal outcome test 20
<b>SNOT-22</b>	Sino-nasal outcome test 22
<b>Str error</b>	Desviación estándar
<b>Th2</b>	Linfocitos T Helper 2
<b>TLR2</b>	Toll-like receptor 2
<b>TLR4</b>	Toll-like receptor 4

<b>TLR5</b>	Toll-like receptor 5
<b>TMA</b>	Tratamiento médico adecuado
<b>Var</b>	Variable
<b>VAS</b>	Escala Visual Analógica ( <i>visual analogic scale</i> )



# **ABSTRACT**

## **INTRODUCTION**

Chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) is a challenging disease that significantly impacts patients' quality of life (QoL). Eosinophils are considered the most important inflammatory cells in the pathogenesis of rhinosinusitis with nasal polyposis. Being able to predict QoL in patients with CRSwNP will optimize management and improve patient outcomes.

## **AIM**

To investigate the association between QoL as per Sinonasal Outcome Test -22 (SNOT-22) and histopathological and molecular parameters (including eosinophil and mucin 1 –MUC1- expression) in patients with CRSwNP. Secondary aims included the association between QoL and clinical variables as well as the role of these parameters in assessing systemic and topic steroid treatment response.

## **METHODS**

Prospective and retrospective review of medical records of 62 patients treated for CRSwNP. Factors as age, sex, allergies, smoking, history of asthma, non-steroidal drugs (NSAID) intolerance, clinical and endoscopic disease severity, medical and surgical treatment, microbiology profile, tissue eosinophilia, MUC1, MKP1, MIF, GR $\alpha$ , IL-8, TLR2, TLR4 and TLR5 expression were recorded. QoL was assessed using the SNOT-22 questionnaire and differences in QoL were compared between all the

gathered parameters. Statistical analysis was performed by R Core Team (2017) and Statistic software R.

## **RESULTS**

62 patients with CRSwNP were identified. Mean SNOT-22 score was 39.8, mean eosinophil expression was 28% and mean MUC1 expression was 1.02. SNOT-22 score correlates statistically with high IL-8 levels and high eosinophil levels ( $p= 0.01$  and  $0.02$  respectively). No association was established between MUC1 expression and SNOT-22 outcome. When considering eosinophilia, MUC1, asthma and NSAID intolerance, the latest shows a significant association with QoL. Patients with high eosinophil levels have better systemic steroid response ( $p=0.03$ ). This association is not statistically significant when comparing MUC1 expression and systemic steroid response ( $p=0.14$ ). Topical corticosteroid response was associated with high MUC1 expression ( $p=0.02$ ).

## **CONCLUSION**

This thesis demonstrated a significant association between the role of inflammatory parameters (eosinophils and IL-8) and clinical patterns (NSAID intolerance) in QoL in patients with CRSwP.

# **RESUMEN**

## **INTRODUCCIÓN**

La rinosinusitis crónica con pólipos nasosinusaes (RSCcPN) es una enfermedad desafiante que tiene un impacto significativo en la calidad de vida (CdV) de los pacientes. Los eosinófilos se consideran las células inflamatorias más importantes en la patogénesis de la rinosinusitis con pólipos nasales. La posibilidad de predecir la CdV en los pacientes con RSCcPN permitiría optimizar su manejo y mejorar los resultados.

## **OBJETIVO**

Conocer la asociación entre la CdV mediante el cuestionario Sinonasal Outcome Test -22 (SNOT-22) y parámetros histopatológicos y moleculares (incluyendo eosinofilia y expresión de Mucina 1 –MUC1) en pacientes con RSCcPN. Los objetivos secundarios incluyen la asociación entre la CdV y las variables clínicas así como el rol de estos factores en la respuesta al tratamiento con corticoides sistémicos y tópicos.

## **MÉTODOS**

Se ha realizó una revisión prospectiva y retrospectiva de las historias clínicas de 62 pacientes tratados con RSCcPN. Los datos recogidos incluyeron edad, sexo, alergias, tabaquismo, historia de asma, intolerancia a antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), grado clínico y endoscópico de poliposis, tratamiento médico y quirúrgico, perfil microbiológico, eosinofilia tisular, expresión de MUC1, MKP1, MIF, GR $\alpha$ , IL-8, TLR2, TLR4 y TLR5. La CdV se midió mediante el cuestionario SNOT-22 y se comparó la

influencia de los parámetros anteriormente mencionados en la CdV de los pacientes. El análisis estadístico se realizó mediante R Core Team (2017) y el software estadístico R.

## **RESULTADOS**

Se identificaron 62 pacientes con RSCcPN. La media de la puntuación del cuestionario SNOT-22 fue de 39.8, la expresión media de eosinófilos fue 28% y la expresión media de MUC1 1.02. La puntuación de SNOT-22 se correlacionó estadísticamente con niveles elevados de IL-8 y de eosinófilos ( $p=0.01$  y  $0.02$  respectivamente). No se estableció una asociación entre la expresión de MUC1 y la puntuación en el SNOT-22. Cuando se consideró eosinofilia, MUC1, asma e intolerancia a AINEs, se encontró una asociación significativa entre esta última y la CdV. Los pacientes con niveles de eosinófilos elevados tenían una respuesta significativamente mayor a corticoides sistémicos ( $p=0.03$ ). Esta asociación no era significativa en el caso de la expresión de MUC1 ( $p=0.014$ ). La respuesta a corticoides tópicos se asoció con expresión elevada de MUC1 ( $p=0.02$ ).

## **CONCLUSIÓN**

Este trabajo de tesis doctoral demuestra una asociación significativa entre el papel de los parámetros inflamatorios (eosinófilos e IL-8) y los patrones clínicos (intolerancia a AINEs) con la CdV de los pacientes con RSCcPN.

# **1. INTRODUCCIÓN**



## **1.1. RINOSINUSITIS CRÓNICA CON POLIPOSIS NASOSINUSAL**

### **1.1.1. Definición**

#### **Definición de rinosinusitis**

La rinitis y la sinusitis suelen coexistir y son concurrentes en la mayoría de individuos; por este motivo se considera que el término correcto es actualmente el de rinosinusitis (RS). La mayoría de guías y documentos de paneles de expertos han adoptado el término de rinosinusitis en lugar de sinusitis<sup>1-4</sup>.

Según el documento EPOS (European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps) 2020<sup>5</sup> la RS en adultos se define clínicamente como una inflamación de la nariz y los senos paranasales caracterizada por dos o más síntomas\*, uno de los cuales tendría que ser o bien bloqueo/obstrucción/congestión o descarga nasal (goteo anterior/posterior). También puede o no asociarse a dolor/presión facial o disminución/pérdida del olfato. Y, además, signos endoscópicos de: pólipos nasales y/o descarga mucopurulenta principalmente de meato medio y/o edema/obstrucción mucosa principalmente en meato medio. También puede asociarse a cambios en la Tomografía Computerizada (TC), concretamente cambios mucosos en el complejo osteomeatal y/o senos (el engrosamiento mínimo que involucra sólo 1 o 2 paredes y no del complejo osteomeatal es improbable que represente rinosinusitis).

\*se ha reconocido que estos síntomas tienen una elevada sensibilidad,

pero baja especificidad, por lo tanto, la necesidad de hallazgos objetivos.

La RSC puede tener distinto significado clínico y fisiopatológico en adultos y en niños, por eso el documento EPOS en sus diferentes versiones cronológicas los define de forma distinta:

### **Definición de rinosinusitis crónica en adultos**

La rinosinusitis (con o sin pólipos nasales) en adultos se define como: la inflamación de la mucosa de la nariz y de los senos paranasales caracterizada por la presencia de dos o más síntomas, uno de los cuales debería ser o bien bloqueo/obstrucción/congestión o bien descarga nasal (goteo anterior/posterior). También puede o no asociarse a dolor/presión facial o disminución/pérdida del olfato. Estos síntomas deberán permanecer por lo menos durante 12 semanas, con validación por teléfono o entrevista.

Preguntas sobre síntomas de alergia (por ej. estornudos, rinorrea acuosa, picor nasal, picor en los ojos) deberían incluirse.

### **Definición de rinosinusitis crónica en niños**

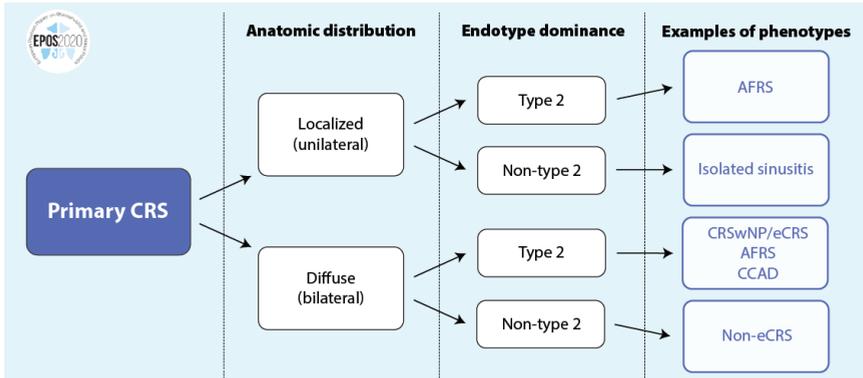
En niños, la definición de rinosinusitis crónica difiere respecto a la de los adultos en tanto que entre los dos o más síntomas que incluye la definición, no se considera la disminución o pérdida del olfato, y se añade la presencia de tos.

### **Clasificación de las rinosinusitis**

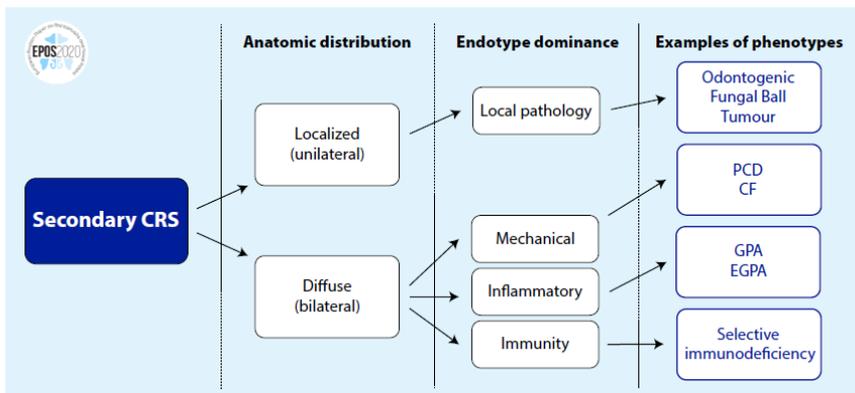
La RS se clasifica según su duración en aguda (duración menor a 12 semanas, con resolución completa de los síntomas) y crónica (clínica de más de 12 semanas de duración, sin resolución completa de los síntomas). La RS crónica puede estar sujeta a exacerbaciones.

La EPOS 2020 clasifica la rinosinusitis crónica (RSC) en primaria y secundaria, y divide cada una en función de si son localizadas o difusas basándose en la distribución anatómica. En la RSC primaria la enfermedad se clasifica según el endotipo dominante, en tipo 2 o no-tipo 2 (Figura 1 y Figura 2).

Un creciente número de biomarcadores están siendo estudiados para ayudar a elucidar completamente los diferentes grupos de endotipos en RSC.



**Figura 1.** Rinosinusitis primaria. AFRS: Allergic fungal rhinosinusitis o rinosinusitis alérgica fúngica; CCAD: central compartment allergic disease o enfermedad alérgica del compartimento central; CRSwNP: chronic rhinosinusitis with nasal polyps o rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal (RSCcPN); eCRS: eosinophilic CRS o rinosinusitis crónica eosinofílica (eRSC)<sup>5</sup>.



**Figura 2.** Rinosinusitis secundaria. CF: cystic fibrosis o fibrosis quística; EGPA: eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss disease) o granulomatosis eosinofílica con poliangeítis; GPA: granulomatosis with polyangiitis (Wegener’s disease) o granulomatosis con poliangeítis; PCD: primary ciliary dyskinesia o discinesia ciliar primaria<sup>5</sup>.

## **Control de la enfermedad**

El objetivo principal de cualquier tratamiento, especialmente en las enfermedades crónicas, es conseguir y mantener el control clínico, definiéndose como el estado de enfermedad en el cual el paciente no tiene síntomas, o estos no están produciendo un impacto en la calidad de vida (CdV)<sup>5</sup>. Aún no se conoce qué porcentaje de pacientes con RSC puede alcanzar el control de la enfermedad, por lo que serán necesarios estudios futuros.

La sinusitis de difícil control se define como la persistencia de síntomas de rinosinusitis a pesar del tratamiento apropiado (tratamiento médico y quirúrgico recomendado). Aunque la mayoría de los pacientes con RSC pueden obtener control, algunos no lo obtendrán a pesar del tratamiento médico máximo y cirugía<sup>5</sup>.

El comité de expertos de la EPOS<sup>5</sup> ha propuesto la combinación de la severidad de los síntomas de los pacientes, el aspecto de la mucosa nasal y la necesidad de tratamiento médico como parámetros de control. El test de control de RSC propuesto, toma en cuenta la presencia y severidad de cuatro síntomas nasosinusales mayores: alteración del sueño o fatiga, evaluación endoscópica nasal y necesidad de medicación oral. Basándose en la presencia de ninguno, uno o más ítems de la lista, los pacientes son divididos entre RSC con buen control, RSC con control parcial o RSC no controlada (Tabla 1).

EPOS 2020: Assessment of current clinical control of CRS (in the last month)			
	Controlled (all of the following)	Partly controlled (at least 1 present)	Uncontrolled (3 or more present)
Nasal blockage <sup>1</sup>	Not present or not bothersome <sup>2</sup>	Present on most days of the week <sup>3</sup>	Present on most days of the week <sup>3</sup>
Rhinorrhoea / Postnasal drip <sup>1</sup>	Little and mucous <sup>2</sup>	Mucopurulent on most days of the week <sup>3</sup>	Mucopurulent on most days of the week <sup>3</sup>
Facial pain / Pressure <sup>1</sup>	Not present or not bothersome <sup>2</sup>	Present on most days of the week <sup>3</sup>	Present on most days of the week <sup>3</sup>
Smell <sup>1</sup>	Normal or only slightly impaired <sup>2</sup>	Impaired <sup>3</sup>	Impaired <sup>3</sup>
Sleep disturbance or fatigue <sup>1</sup>	Not present <sup>2</sup>	Present <sup>3</sup>	Present <sup>3</sup>
Nasal endoscopy (if available)	Healthy or almost healthy mucosa	Diseased mucosa <sup>4</sup>	Diseased mucosa <sup>4</sup>
Rescue treatment (in last 6 months)	Not needed	Need of 1 course of rescue treatment	Symptoms (as above) persist despite rescue treatment(s)

<sup>1</sup>Symptoms of CRS; <sup>2</sup>For research VAS ≤ 5; <sup>3</sup>For research VAS > 5; <sup>4</sup>Showing nasal polyps, mucopurulent secretions or inflamed mucosa

**Tabla 1.** Evaluación del control clínico de la RSC durante el último mes. VAS: escala visual analógica<sup>5</sup>

### 1.1.2. Historia

Las primeras referencias a los pólipos nasales, datan de hace más de 4000 años, en la Vª dinastía del antiguo Egipto. Estos fueron descritos como “granos de uva”. Etimológicamente la palabra pólipo viene del griego polypous que significa muchos pies, y fue ya empleada por Hipócrates, también conocido como “el padre de la medicina” hacia el año 400 a.C. Los pólipos era uno de los conceptos preferidos por Hipócrates, tal y como aparece en algunos libros del “Corpus Hippocraticum”. Asimismo, Hipócrates clasificó los pólipos en 5 categorías: pólipos móviles, pólipos inmóviles, pólipos que sobresalen como carne redonda, pólipos como piedra y pólipos como cáncer. Para el tratamiento de los pólipos, empezó con tratamiento conservador y, en casos de fallo en este tratamiento, procedía con el uso de varios métodos quirúrgicos. Propuso dos

técnicas quirúrgicas de tratamiento: “la esponja” y el “lazo”, esta última estuvo prácticamente en vigor hasta finales del siglo IX<sup>6</sup>.

Durante el Imperio Romano la enfermedad y sus formas de tratamiento fueron descritos por diversos autores como Celsus (siglo I d. C.), Plinio el Viejo, y Galeno. La mayoría de los científicos que describieron técnicas quirúrgicas para los pólipos nasales durante la época bizantina, especialmente en el periodo entre el siglo 4º y 7º, se formaron en la famosa Escuela de Medicina de Alejandría, siguiendo tradiciones médicas Hipocráticas, Helenísticas y Romanas<sup>6</sup>. El primero en utilizar sustancias con el objetivo de tratar conservativamente los pólipos nasales fue Oribasus, en el siglo 4º d. C.

El concepto y tratamiento de la poliposis nasal no cambió sustancialmente hasta finales del siglo XIX, cuando Zuckerlandl, en un estudio sobre 39 autopsias, describió de manera precisa la localización anatómica y los cambios histológicos de la mucosa y propuso el concepto de la poliposis nasal como enfermedad inflamatoria<sup>7</sup>.

La práctica médica del siglo IX y principios del siglo XX se basó fundamentalmente en escuelas de Medicina Francesas y Alemanas<sup>6</sup>. En 1885 Woakes describió los pólipos nasales asociados a etmoiditis necrosante, y propuso las etmoidectomías para el tratamiento de esta enfermedad<sup>8</sup>. Más tarde, en 1925, Bourgeois sugirió una etiología alérgica<sup>9</sup>, idea que fue ampliamente aceptada y difundida durante el resto del siglo XX. En 1922, Abrami, Widal y Lermoyez describieron el síndrome que asociaba la poliposis nasal con la intolerancia al ácido acetilsalicílico y el asma<sup>10</sup>.

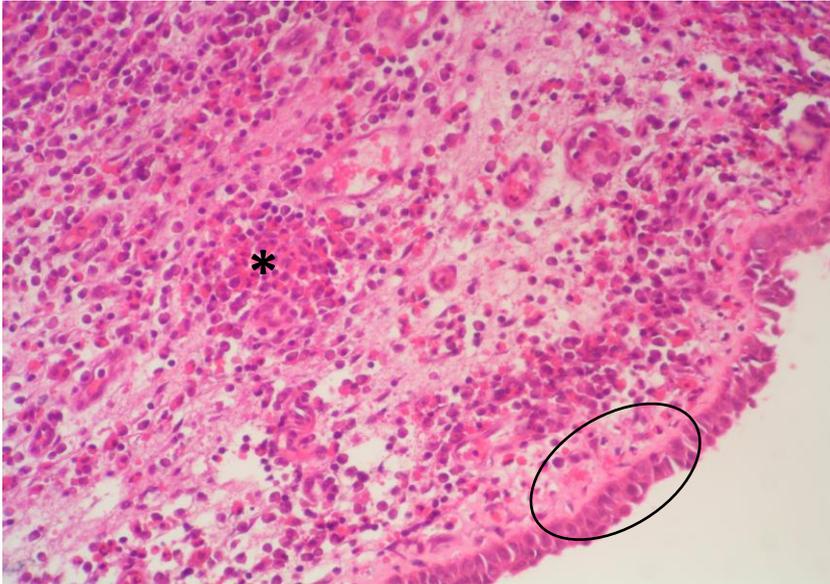
El tratamiento médico de la poliposis nasal se ha basado casi exclusivamente en los corticoides (CC) desde hace más de 50 años. Addison, en el siglo XIX sospechó la presencia de estas sustancias al describir las alteraciones provocadas por la disfunción de las glándulas suprarrenales. Posteriormente, en 1932, Cushing describió el síndrome asociado a la hiperactividad de la corteza adrenal y su relación con la hipófisis<sup>11</sup>. Más tarde, en 1948, se publicaron los primeros estudios que utilizaron la cortisona como tratamiento y, pocos años después se comprobó sus beneficios en el tratamiento del asma y, consecuentemente de la poliposis nasal asociada. Los CC tópicos, resultado de pequeñas modificaciones moleculares del anillo básico esteroideo (ciclopentanoperhidrofenantreno), se empezaron a usar en la década de 1970<sup>12</sup>, inicialmente utilizando beclometasona y ampliándose posteriormente con una gran variedad de moléculas.

Durante los siglos XIX y XX se emplearon técnicas de polipectomía simple sin ayuda endoscópica, así como los abordajes externos como Caldwell-Luc, Ermiro de Lima o etmoidectomías externas. Estas técnicas, han sido desplazadas por la cirugía endoscópica. Esta práctica se describió hace más de 30 años por Stamberger<sup>13</sup> en Graz, Austria, consecuencia de los estudios realizados previamente por Messerklinger. Este utilizó los sistemas de endoscopia Hopkins desarrollados a finales de los 60, aportando nuevos conocimientos sobre fisiología y transporte mucociliar en los senos paranasales, que pusieron las bases conceptuales de este tipo de cirugía.

### **1.1.3. Mecanismos fisiopatológicos y factores asociados a RSC**

La poliposis nasosinusal consiste en un proceso inflamatorio crónico de la mucosa de las fosas nasales y los senos paranasales, de etiología desconocida, no mediada por inmunoglobulina tipo E (IgE) (aunque puede jugar un papel fisiopatológico la IgE local), en el que parecen tener una función importante los eosinófilos, y que conduce a la formación de pólipos edematosos benignos desde los senos hacia la cavidad nasal<sup>14</sup> (Figura 3).

Se trata de una enfermedad inflamatoria de etiología desconocida con una fisiopatología multifactorial en la que probablemente varios factores pueden actuar en un mismo paciente. En los últimos años se han producido un gran avance en el estudio de los diferentes mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo y persistencia del crecimiento polipoideo de la mucosa nasosinusal; mecanismos que serán analizados a continuación, destacando los más importantes para esta tesis. El capítulo de la fisiopatología de la RSC, especialmente la asociada a PN, es amplísimo, por lo que solo vamos a resumir lo que pensamos es de utilidad en relación a los objetivos de este trabajo.



**Figura 3.** Pólipo inflamatorio: membrana basal gruesa, junto a un gran infiltrado eosinofílico. Asterisco: infiltrado eosinofílico. Círculo: membrana basal engrosada y epitelio ciliar respiratorio.

#### a) Desencadenantes inflamatorios

El estudio de los mediadores inflamatorios es fundamental para mejorar el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos implicados en la poliposis y para poder diferenciar entre RSCcPN (rinosinusitis crónica con poliposis nasal), fibrosis quística con poliposis y RSCsPN (rinosinusitis crónica sin poliposis nasal) <sup>15</sup>.

El principal factor responsable de la formación del pólipo es la inflamación eosinofílica persistente de la mucosa nasosinusal.

La RSCcPN presenta un patrón inflamatorio Th2 con concentraciones elevadas de IL-4, IL-5, IL-13, eotaxina, ECP e IgE, mientras que la RSCsPN

presenta un patrón inflamatorio Th1 con niveles elevados de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y de TGF- $\alpha$ <sup>16</sup>.

La IL-5 es un factor clave de activación y supervivencia de los eosinófilos en la poliposis nasal. Por el contrario, la IL-4 y la IL-13 son factores esenciales que controlan la producción de moco en las células epiteliales y la respuesta IgE en las células B y las células plasmáticas. IL-4 y IL-13 también contribuyen significativamente en eventos inflamatorios fundamentales en poliposis nasal, incluyendo la activación de macrófagos y la remodelación<sup>17</sup>. La IL-5 es sustancial, además, en el reclutamiento, activación y maduración del eosinófilo, así como en la inhibición de su apoptosis. La eotaxina y el regulador de la activación de las células T expresadas y secretadas (RANTES) son claves también en el reclutamiento y activación de los eosinófilos. Los eosinófilos activados liberan mediadores proinflamatorios vasoactivos y citotóxicos como la proteína catiónica del eosinófilo (ECP), la proteína básica principal (MBP), la peroxidasa del eosinófilo (EPO) y la neurotoxina derivada del eosinófilo (EDN)<sup>18</sup>.

El grado de inflamación eosinofílica se correlaciona intensamente con los niveles de ECP y de IL-5. La forma clínica de poliposis nasosinusal con niveles más elevados de ECP es la poliposis con asma no alérgica e intolerancia cruzada a los AINEs<sup>15</sup>. Varios investigadores han encontrado una asociación entre eotaxinas y eosinofilia tisular en RSCcPN<sup>17</sup>. Mepolizumab y Reslizumab, anticuerpos monoclonales humanizados anti IL-5 humana han demostrado una reducción significativa del tamaño de los pólipos nasales en el 50-60% de los pacientes. Los niveles de IL-5 en las secreciones nasales pueden ser factores predictivos de respuesta para la terapia anti-IL-5<sup>19,20</sup>.

## **b) Remodelado tisular y disfunción del epitelio nasal**

El remodelado tisular consiste en modificaciones en la composición normal y la organización estructural de los tejidos que aparece típicamente en respuesta a la inflamación crónica. Patrones característicos de remodelación de las vías respiratorias se han asociado con varios trastornos inflamatorios crónicos de las vías respiratorias inferiores que incluyen la fibrosis quística, fibrosis pulmonar y asma<sup>5,15,21</sup>. La remodelación también ocurre en las vías respiratorias superiores cuando están sujetas a inflamación crónica como se ha determinado en rinitis alérgica y RSC con cambios que incluyen fibrosis, alteraciones epiteliales, engrosamiento de la membrana basal, hiperplasia de las células caliciformes, edema subepitelial e infiltrados de células inflamatorias. Se sugiere la hipótesis que una barrera epitelial permisiva y relativamente vulnerable en los pacientes con RSC resulta en cambios secundarios en el espacio tisular subyacente<sup>5</sup>. Las células epiteliales intervienen en la regulación de las células dendríticas, células T y células B, además de realizar funciones barrera frente a agentes externos e intervenir en la inmunidad innata<sup>15</sup>.

La función ciliar es de gran importancia en la limpieza de toda la mucosa de los senos paranasales así como en la prevención de la inflamación crónica. Su función se puede ver alterada debido a infecciones y a alteraciones en la viscosidad del moco, que puede ocurrir en pacientes asmáticos, infecciones víricas, e inflamaciones crónicas de la vía aérea. Cuando la capa mucosa se ve dañada por factores como la RSC, los cilios pueden ser más susceptibles al contacto directo por bacterias. Esta dis-cinesia ciliar secundaria puede ser reversible<sup>22</sup>. En pacientes con fibrosis

quística el transporte mucociliar se ve alterado por la inhabilidad de los cilios de transportar el moco que resulta tener alta viscosidad. Estos pólipos suelen ser mayoritariamente neutrofílicos<sup>5</sup>.

Algunos de los mecanismos propuestos para el inicio del daño celular e infección por bacterias son el contacto directo o unión, la producción de toxinas y la promoción de la destrucción de la respuesta inmune del huésped. Los patógenos bacterianos de los senos paranasales suelen producir una respuesta inflamatoria purulenta una vez se han establecido<sup>23</sup>. El acontecimiento inicial es la obstrucción de una cavidad sinusal por diferentes factores entre los cuales se describen la obstrucción del meato o la inflamación alérgica de la mucosa<sup>23</sup>.

Se ha postulado que las secreciones purulentas afectan la motilidad ciliar<sup>24</sup>. Wilson et al, demostraron que *Pseudomonas aeruginosa* (P. aeruginosa) y *Haemophilus influenzae* (H. influenzae) producen un factor que disminuye la frecuencia de batida ciliar, desorganiza su batido, produciendo en algunas ocasiones ciliostasis<sup>23</sup>. Proteasas liberadas por P. aeruginosa también inhiben la actividad ciliar y producen daño en la ultraestructura ciliar mediante una ciliotoxina termoestable<sup>24</sup>. Ferguson et al<sup>25</sup>, demostraron una inhibición significativa de la frecuencia de batido ciliar con disrupción de la actividad ciliar coordinada causada por H. influenzae y *Streptococcus epidermidis* (S. epidermidis) pero no por *Staphylococcus pneumoniae* (S. pneumoniae) y *Branhamella catarrhalis*. (B. catarrhalis).

Las discinesias ciliares secundarias son principalmente el resultado más que la causa de la RSC. Los pacientes con RSC de origen indeterminado presentan una pérdida importante de células epiteliales diferenciadas,

así como defectos ciliares, la mayoría de los cuales es probable que sean secundarios a un proceso de enfermedad crónica que ralentiza el aclaramiento mucociliar y provoca un círculo vicioso que conlleva a la cronicidad<sup>22</sup>. La discinesia ciliar primaria es, por el contrario, una causa clara de rinosinusitis crónica, ocasionalmente con pólipos nasosinusales, con inflamación neutrofílica e hipoplasia de los senos paranasales, en especial los frontales<sup>26</sup>.

### **c) Alergia**

La incidencia de atopia en pacientes con PN según los diferentes estudios puede abarcar desde un 10% a un 96,5%<sup>15</sup>. Aunque los pacientes presentan con frecuencia pruebas intraepidérmicas (prick-test) positivas frente a aeroalérgenos, el papel potencial de la hipersensibilidad mediada por IgE en la formación de la PN es tema de discusión en la actualidad. Algunos autores han sugerido la existencia de una respuesta alérgica local con presencia de IgE específica solo en la mucosa y no en sangre periférica. Recientemente, Bachert et al<sup>27</sup> encontraron una asociación entre los niveles de IgE total y específica y la infiltración eosinofílica en los pólipos nasales. Estos hallazgos no se relacionaron con los resultados del prick test.

A pesar de no existir pruebas de la existencia de una relación causal clara entre la alergia y PN, la alergia respiratoria (rinitis y/o asma) en estos pacientes es un factor que en numerosas ocasiones se asocia a formas graves de la PN y contribuye al agravamiento de la CdV de los pacientes;

por lo que necesita ser correctamente diagnosticado y tratado para mejorar la probabilidad de éxito del tratamiento de la PN<sup>15</sup>.

Existe evidencia de asociación entre alergia y RSC pero no existe evidencia directa de causalidad entre las dos condiciones<sup>28</sup>.

#### **d) Inmunidad innata**

La familia toll-like receptor (TLR) juega un papel crucial en el reconocimiento de patógenos y en la inducción/regulación de la respuesta inmune innata y adaptativa. La activación de vías de señalización dependientes de TLR resulta en la expresión de citoquinas y quimiocinas, y la generación de una respuesta inmune<sup>29</sup>. Los TLR2, TLR3 y TLR4 se han implicado en el inicio de la respuesta inmune en el epitelio de la mucosa nasal. TLR2 tiene la mayor diversidad de ligando y reconoce una amplia variedad de bacterias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y gram-negativas. TLR4 es crucial para las infecciones por bacterias gram-negativas en unidades de cuidados intensivos. TLR5 señala la presencia de flagelina, componente de las bacterias flagelares como *P. aeruginosa*, siendo ambos comunes en PN<sup>30</sup>. La inmunidad de la mucosa nasal puede jugar un papel importante en la poliposis nasosinusal desarrollando una respuesta inflamatoria inapropiada<sup>31</sup>. De hecho, algunos estudios sugieren que el proceso inflamatorio involucrado en RSCcPN se caracteriza por una vía de señalización TLR-mediada excesivamente activada, que podría contribuir a la formación de PN<sup>32</sup>.

A pesar de la función de barrera física, las células epiteliales secretan péptidos antimicrobiales humanos (AMPs), los cuales ejercen una variedad de efectos antimicrobiales, quimiotácticos y supresivos, y también

afectan los biofilms establecidos. Además, las células epiteliales, células dendríticas, células B y los macrófagos exhiben en su superficie celular y en su endosoma Toll-like receptors (TLRs), que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Los TLRs son activados por una variedad de ligandos microbianos como elementos lípidos (lipopolisacárido y ácido lipoteicoico), ácidos nucleicos y proteínas (lipopéptido) de bacterias gram-positivas y gran-negativas, hongos y virus<sup>33</sup>.

#### **e) IgE y *Staphylococcus aureus***

*S. aureus* coloniza frecuentemente la mucosa nasal del meato medio de los pacientes con PN y puede liberar superantígenos que interfieren con las células T y B locales<sup>34</sup>. Las tasas de colonización más altas se suelen detectar en pacientes con PN y asma o PN e intolerancia a los AINEs<sup>35</sup>. Un hallazgo característico de la PN es la síntesis local de IgE multiclonal e IgE específica frente a enterotoxinas de *S. aureus* (sIgE-SAE), que se relacionan con el grado de inflamación eosinofílica<sup>27</sup>.

Las enterotoxinas de *S. aureus* (SAE) clásicas pueden actuar como alérgenos convencionales y como superantígenos, especialmente la toxina del síndrome del shock tóxico (TSST)-1 y la proteína estafilocócica A (SPA). Los superantígenos son capaces de activar directamente a la célula T uniéndose a la cadena variable beta del receptor de la célula T, provocando una fuerte respuesta primaria con activación policlonal de linfocitos e hipergammaglobulinemia muy superior a la producida por los antígenos convencionales<sup>15</sup>.

Los pacientes con PN con sIgE-SAE presentan formas más graves de la enfermedad, tanto a nivel local como sistémico, con una mayor inflamación eosinofílica y una mayor asociación a asma y/o intolerancia a

AINES<sup>27</sup>. Ello es debido a que las SAE amplifican la inflamación eosinofílica en la RSCcPN y pueden disminuir el efecto terapéutico alterando la sensibilidad y expresión del receptor beta de los glucocorticoides. Todo ello abre el campo para nuevos enfoques terapéuticos, principalmente en las formas graves de PN asociada a asma bronquial y en la PN recurrente. Entre las nuevas opciones terapéuticas cabría destacar el tratamiento con anti-IL-5, anti-IgE y tratamientos antibióticos; estos últimos han demostrado su eficacia en la dermatitis atópica grave con colonización estafilocócica<sup>15</sup>.

#### **f) Biofilms**

La presencia de biofilms en pacientes con RSC se demostró inicialmente en 2004 mediante microscopía electrónica de la mucosa nasal de pacientes con RSC<sup>36</sup>. Un biofilm comprende un consorcio sintrópico de microorganismos en el cual las células se adhieren entre sí y frecuentemente también a una superficie. Estas células adherentes se adhieren a una matriz extracelular compuesta por sustancias poliméricas extracelulares. Los microbios forman un biofilm en respuesta a varios factores, que incluyen el reconocimiento celular de sitios de unión a superficie específicos y no específicos, colas nutricionales y, en algunos casos, por exposición a células planctónicas para sub-inhibir concentraciones de antibióticos<sup>5,37</sup>.

Muchas bacterias patogénicas colonizan la superficie de los PN formando biofilms. Aunque no son un factor etiológico primario en los PN, contribuyen significativamente añadiendo mayor inflamación. Clínicamente, los casos de PN con presencia de biofilms se correlacionan con formas

severas de la enfermedad, así como peores resultados postoperatorios<sup>38,39</sup>. Aunque el *Estafilococo aureus* resistente a Meticilina (MRSA) no parece tener un riesgo significativo en la morbilidad de esta población de pacientes, la preocupación creciente en referencia al incremento de la prevalencia de *S. aureus* y la resistencia antimicrobiana en la enfermedad nasosinusal crónica, realza la importancia del uso de terapia antimicrobiana dirigida según los resultados del cultivo, con el objetivo de minimizar resistencias futuras<sup>40</sup>. En 2010, Bachert et al investigaron 70 pacientes y demostraron que la inflamación mucosa en los PN modulada por citoquinas Th2 y amplificada por enterotoxinas de *S. aureus* se caracteriza por un aumento de la inflamación eosinofílica y la formación de anticuerpos IgE<sup>3,41</sup>.

### **g) Hongos**

El uso de técnicas sensibles de detección ha indicado que los hongos tienen una presencia intranasal ubicua, identificándose en el 100% de los pacientes con RSC y en los controles. Se ha descrito la “hipótesis fúngica de la RSC” que propone que una respuesta excesiva no mediada por IgE a los hongos aerotransportados comunes es el trigger patogénico primario en la mayoría de formas de RSC, tanto polipoides como no polipoides, variando únicamente en intensidad<sup>41</sup>. Esta hipótesis, que excluye el factor alérgico, propone la denominación de sinusitis fúngica eosinofílica y se apoya en el hecho de la negatividad en las pruebas cutáneas en muchos pacientes con RSC con hongos demostrados en moco nasal. De hecho, la cuantificación de la IgE específica fúngica no difiere entre pacientes con RSC y sujetos sanos. Esta contradicción se intenta explicar

mediante la importancia de la IgE local en ausencia de IgE sistémica. Los hongos están claramente presentes en la RSC y pueden tener la capacidad de estimular la respuesta inflamatoria, por lo menos in vitro. Cualquier generalización de su relevancia en RSC es incierta debido a que terapias antifúngicas han resultado inefectivas. Se deberían realizar más estudios, usando mayor número de pacientes y técnicas estandarizadas, antes de sacar conclusiones firmes sobre el papel de la microbioma fúngica en la salud y en RSC. Aunque un papel amplio en la patogénesis es incierto, los hongos desempeñan un papel en dos subtipos de RSC: bolas fúngicas y rinosinusitis alérgica fúngica<sup>5</sup>.

#### **h) Vías inflamatorias del huésped**

##### Eosinófilos

Los eosinófilos son leucocitos polimorfonucleares producidos en la médula ósea que, a diferencia de otros leucocitos, presentan una débil actividad fagocítica. Debido a este concepto fueron históricamente considerados como células con función homeostática que moderaban el daño provocado por los mastocitos. El descubrimiento que sus proteínas granulares tenían capacidad de producir daño tisular cambió este concepto. No obstante, estudios recientes han enfatizado otra vez la relevancia de sus funciones homeostáticas, ya que los eosinófilos tienen la capacidad de sintetizar mediadores inflamatorios<sup>42</sup>.

Se hablará con más detalle en el apartado 1.3.

## Neutrófilos

Los neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares, son los leucocitos más abundantes en la sangre y son importantes en la fagocitosis temprana y muerte de microbios extracelulares. El reclutamiento de neutrófilos es impulsado en gran parte por la estimulación microbiana (a través de receptores de reconocimiento de patrones) o señales de daño tisular, y liberación epitelial de IL-8. En respuesta a la infección bacteriana o fúngica, la producción de neutrófilos en la médula ósea aumenta rápidamente produciendo un incremento de sus niveles en sangre. El papel de los neutrófilos en la fisiopatología de la RSC permanece incierto, pero se encuentran en todos o casi todos los casos, con los mayores niveles tisulares en pacientes con fibrosis quística. Para otras formas de RSC, las diferencias parecen depender de la etnia, así como de la presencia o ausencia de pólipos nasales. En caucásicos, se puede demostrar una infiltración neutrofílica en RSC, con niveles ligeramente menores en RSCsPN que en RSCcPN. Sin embargo, en general, el grado infiltración neutrofílica es comparable entre RSCsPN y RSCcPN, al contrario que para la infiltración eosinofílica. Se ha sugerido que la RSCsPN es un proceso mayoritariamente neutrofílico mientras que la RSCcPN es mayoritariamente eosinofílica, basándose en el grado relativo de infiltración tisular. En estudios de pólipos de pacientes chinos, aunque la infiltración de ambos eosinófilos y neutrófilos se encuentra disminuida comparado con los pólipos de los pacientes caucásicos, el grado de reducción eosinofílica es mucho más pronunciado, hecho que sugiere que estos pólipos son relativamente neutrofílicos<sup>5</sup>.

En China, Wen y cols<sup>43</sup> demostraron que el 46,0% de los pólipos nasales presentaban neutrofilia y el 35,8% tenían un fenotipo mixto con eosinofilia. Ikeda y cols<sup>44</sup> mostró que un 20% de los pólipos nasales tenían neutrofilia en Japón. Por el contrario, en Alemania Polzehl y cols<sup>45</sup> mostró que los neutrófilos eran detectados en estadios precoces de pólipos nasales pero no estaban elevados en comparación con la mucosa nasal de pacientes control. Van Zele y cols<sup>16</sup> describieron un nivel significativamente elevado de neutrófilos en los pólipos nasales en Bélgica, aunque el nivel de neutrofilia era significativamente más débil que el de eosinofilia en los mismos pólipos nasales.

#### IL-5 e IgE

En el 80% de los pacientes blancos, la fisiopatología de la RSCcPN se caracteriza por una inflamación local eosinofílica, con alta producción de proteína catiónica eosinofílica, IL-5 e IgE tisular. La subunidad  $\alpha$  del receptor soluble IL-5, triptasa y la subunidad  $\alpha$  del receptor soluble IL-2 son factores importantes en la inflamación presente en los PN. IL-5 es un mediador clave en la quimiotaxis, diferenciación, activación y supervivencia de los eosinófilos.

El nivel de inflamación tisular y la formación de IgE local en pacientes con RSCcPN son independientes de la presencia de alergia. Aun así, la presencia de asma en pacientes con RSCcPN está asociada con el incremento local del nivel de IgE<sup>46</sup>.

**i) Tríada ASA o enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina (EREA). Intolerancia a AINEs**

En el año 1922, Widal y cols fueron los primeros en describir la asociación entre poliposis nasal, asma e hipersensibilidad a aspirina. Posteriormente esta asociación fue conocida como Tríada ASA, Tríada de Samter<sup>47</sup> o Enfermedad Respiratoria Exacerbada por Aspirina (EREA). La tríada incluye rinosinusitis crónica polipoidea, asma e hipersensibilidad a analgésicos-antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Representa el 33% de los pacientes que se someten a cirugía endoscópica nasosinusal. Algunos pacientes sufren, además angioedema y/o urticaria<sup>48</sup>.

La relación entre la RSCcPN y la intolerancia a los AINEs es bien conocida en la práctica clínica diaria<sup>15</sup>. El 1.8% de la población general europea y el 10-20% de los pacientes asmáticos presenta síntomas respiratorios tras la toma de AINEs. Esta prevalencia es mayor en los pacientes con síntomas de RSC o de asma. En un análisis realizado en el Reino Unido la prevalencia de sensibilidad a la aspirina reportada por el paciente era del 2.3% de los pacientes en el grupo control, 3.3% en el grupo de RSCsPN y 9.6% en los que presentaban RSCcPN<sup>5,49</sup>. Los pacientes con RSCcPN que presentan EREA se someten al doble de cirugías nasosinusales ( $p < 0.001$ ) y son significativamente más jóvenes en el momento de la primera cirugía respecto a los pacientes con RSCcPN sin EREA. La enfermedad respiratoria de vías altas en los pacientes con EREA suele ser RSCcPN. En general, en estos pacientes los síntomas respiratorios son peores, existe un mayor grado de opacificación en la TC y la recurrencia de los pólipos nasales tras la cirugía son más frecuentes respecto a los pacientes con RSCcPN tolerantes a AINEs<sup>5,50</sup>. Bavbek y cols<sup>51</sup>, describe un

23% de prevalencia de enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina (EREA) cuando los pacientes con RSCcPN con o sin asma eran evaluados con el test de provocación de aspirina. El diagnóstico de EREA se puede confirmar cuando un individuo con historia sugestiva de EREA presenta una reacción, clínicamente observada, a aspirina (AAS) u otro AINE administrado vía intranasal, inhalada u oral<sup>52</sup>. El diagnóstico se basa en la historia clínica del paciente y los test de provocación de AAS sólo son necesarios cuando la historia clínica no está clara<sup>5</sup>. El test de provocación con lisina-aspirina intranasal se considera positivo si aparece una disminución del flujo nasal mayor o igual al 25% en la rinometría acústica y mayor al 40% en el caso de la rinomanometría, presentando la primera una mayor sensibilidad<sup>53</sup>. El test intranasal presenta un mejor perfil de seguridad, con menor provocación de una respuesta sistémica o una reacción de vías respiratorias inferiores, en relación al test de provocación oral, aunque este último presenta una mayor sensibilidad y se considera el gold standard para la confirmación del diagnóstico de EREA<sup>52</sup>.

El mecanismo exacto por el que se genera el ASA triada o EREA no se conoce, pero la patogenia de este síndrome se relaciona con una alteración del metabolismo de los eicosanoides, ácidos grasos poliinsaturados de veinte átomos de carbono (de ahí les viene el nombre, ya que Eikosi es un prefijo griego que significa 20) y más específicamente del ácido araquidónico, que es el ácido eicosaenoico más abundante en el organismo humano. Esto conlleva a una inflamación eosinofílica de las membranas nasosinusales y un incremento de la producción de leucotrienos que se acentúa por la inhibición de la ciclooxigenasa (COX)-1 por ácido

acetilsalicílico (AAS) o AINEs<sup>5</sup>.

## **j) Asma**

Según múltiples estudios, la presencia de RSC se asocia con mayor gravedad y peor evolución de lasma<sup>28</sup>. Así, según un estudio realizado por Jarvis et al<sup>54</sup> existe una asociación fuerte entre asma y RSC, que es aún mayor en los pacientes que presentan RSC y rinitis alérgica. La rinosinusitis es una comorbilidad asociada a asma severa, y la RSC es uno de los factores reportados significativamente en pacientes con asma moderada y severa que presentan exacerbaciones frecuentes, comparado con pacientes con asma y pocas exacerbaciones<sup>55</sup>. Los sibilantes pulmonares, el esfuerzo respiratorio y la presencia de asma son significativamente más frecuentes en pacientes con RSCcPN respecto a los pacientes control, así pues esta última suele tener una frecuencia del 25-50% en los pacientes con RSCcPN respecto al 5-10% en los pacientes control<sup>5,49,56</sup>. Bonfils<sup>57</sup> expone que el 48,6% de los pacientes con RSC con pruebas cutáneas positivas presentan asma, y el 22,8% hiperreactividad bronquial. Según Muñoz del Castillo un 48,9% de los pacientes con RSCcPN presenta asma frente a un 2,6% de los controles<sup>15,58</sup>. Un tercio de los pacientes diagnosticados de RSCcPN responden positivamente a la pregunta de si habían presentado ataques de asma o dificultad respiratoria acompañada de sibilancias en el último año<sup>15</sup>. Por otra parte, el 7% de los pacientes asmáticos presentan pólipos nasales, con una prevalencia del 13% en asma no atópica y del 5% en asma atópica y sufren mayores síntomas nasales que los pacientes con RSC sin asma<sup>59</sup>. El grupo de la red europea global de alergia y asma (Global Allergy and Asthma European

Network GA2LEN) realizó un estudio multicéntrico transversal caso-control donde se reclutaron 935 adultos (869 se incluyeron finalmente en el análisis: 237 RSCsPN, 445 RSCcPN y 187 controles). Comorbilidades como asma, alergia, eczema, alergia alimentaria, urticaria y enfermedad pulmonar obstructiva crónica eran significativamente más frecuentes en pacientes con RSC<sup>5,60</sup>.

### **k) Tabaquismo**

El tabaco debería ser considerado un factor de riesgo importante para RSC. El estudio GA(2)LEN demostró que el tabaco estaba asociado con la presencia de RSC en todas las partes de europa<sup>61</sup>. Por el contrario, otros estudios estiman que el tabaquismo se encuentra con menor frecuencia en los pacientes con PN que en la población general. En un estudio realizado por Toledano y cols<sup>62</sup> en población española publicado en 2008, describen un 25,5% de fumadores entre los pacientes con PN, frente al 38,9% de un grupo control de sujetos sanos, aunque no hallaron diferencias estadísticamente significativas<sup>15</sup>. Revisiones sistemáticas recientes han encontrado una fuerte correlación entre el tabaquismo activo y pasivo y la prevalencia de RSC<sup>5</sup>.

#### 1.1.4. Microbiología en RSC

La RSC es una enfermedad multifactorial pero mayoritariamente considerada una patología inflamatoria de las vías respiratorias superiores, análoga al asma en las vías respiratorias bajas. Es una condición multifactorial en la cual la microbiota juega un papel en su patogenia. Como las fosas nasales no son estériles siempre crecerán microbios en cualquier cultivo sinusal obtenido a través de la nariz. En general la RSC no tiene una reacción favorable al tratamiento con antibióticos a corto o a largo plazo. En estudios en población general, la colonización por *S. aureus* tiene una relación significativa con la prevalencia de asma. En estudios con pacientes con RSC, también se encontraron asociaciones positivas, pero tuvieron una amplia heterogeneidad y los resultados fueron comparables entre RSCsPN y RSCcPN. La naturaleza de la interacción entre la microbiota y el sistema inmune local es muy compleja y no ha sido completamente dilucidada. El rol que juegan los microbiomas en la RSC es difícil de definir en la actualidad debido a las dificultades en las técnicas de laboratorio y los estudios realizados con una muestra pequeña<sup>5</sup>. Desde el descubrimiento de la detección de biofilms en RSC, múltiples microorganismos se han implicado, incluyendo *S. aureus*, *Ps. Aeruginosa*, *H. influenza* y *M. catarrhalis*. Entre ellos, los biofilms de *S. aureus* presentan una mayor asociación con casos severos recurrentes y recalcitrantes de RSC, posiblemente debido a su potencial para producir antígenos. Se estima que existe una formación de biofilms de entre el 29 y el 72% en pacientes con RSC. Estos pacientes tienen una enfermedad más severa preoperatoria y una mayor persistencia de síntomas postoperatorios, persistencia de la inflamación mucosa e infecciones<sup>5,63</sup>. Liu<sup>64</sup>

concluye que el perfil bacteriológico en el meato medio es significativamente diferente entre pacientes chinos con RSCcPN y pacientes con RSCsPN o sujetos control; siendo *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Enterobacter* y *Corynebacterium* más frecuentes en pacientes con RSCcPN. Sin embargo, los estafilococos coagulasa negativos se asociaban con los 3 grupos de pacientes. Brook, y cols<sup>65</sup> determinaron que los microorganismos más frecuentes en RSC son *S. aureus*, *S. epidermidis*, bacilos gran negativos anaerobios y gran negativos entéricos (*Ps. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *Enterobacter* sp y *E. coli*).

### 1.1.5. Epidemiología

Existe un déficit de estudios epidemiológicos que investiguen la prevalencia e incidencia de RSCsPN y RSCcPN especialmente en los países europeos. Los estudios epidemiológicos se basan en la exploración endoscópica nasal y/o cuestionarios para valorar la prevalencia de pólipos nasales<sup>15</sup>. Los pólipos nasales de gran tamaño se pueden visualizar en la rinoscopia anterior, mientras la endoscopia nasal es necesaria para el diagnóstico de los pólipos pequeños. Estudios en Estados Unidos en 2009 basados en la *National Health Interview Survey* encontraron que el 13% de los adultos tenían "sinusitis". El primer de estos estudios formó parte de la GA2LEN. Consistía en un cuestionario postal enviado a pacientes entre 15 y 75 años en 19 centros de Europa. Los participantes reportaban síntomas de RSC, RSC diagnosticada por el médico, rinitis alergia, edad, género e historia de tabaquismo. La prevalencia global de RSC fue de 10.9% con una variación amplia entre países con un rango

entre 6.9 en Finlandia hasta 27.1 en Portugal. La RSC fue más común en fumadores que en no fumadores<sup>5</sup>. La prevalencia de RSC autodiagnosticada y de RSC diagnosticada por un médico entre centros se encontraba altamente correlacionada con la prevalencia de RSC diagnosticada según los criterios definidos por la EPOS. Otros estudios han demostrado una prevalencia del 5.5% en Brasil, 8% en China<sup>66</sup>, 11% en Corea del Sur, 11.9% en USA<sup>67</sup>, 16% en Holanda<sup>68</sup> y 28.4% en Iran<sup>5,68</sup>. La EPOS describe una prevalencia del 2 al 4% en los países occidentales<sup>5</sup>.

Larsen realizó varios trabajos en cadáveres que demostraron la diferente prevalencia de poliposis nasosinusal en función del método exploratorio utilizado. Como se puede apreciar en la Tabla 2 la prevalencia era del 2% cuando el método empleado fue la rinoscopia anterior, del 26% (5 de 19 cadáveres) cuando se realizó la resección del bloque naso-etmoidal completo y del 32% al combinar la endoscopia con la cirugía endoscópica sinusal. Es necesario tener en cuenta que en estos estudios la edad media de los pacientes fue de 70-79 años.

<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Prevalencia</b>	<b>Método</b>
<b>Settipane</b> <sup>69</sup>	1977	4,2%	Revisión historias clínicas
<b>Larsen</b> <sup>70</sup>	1991	2%	Rinoscopia anterior en autopsias
<b>Larsen</b> <sup>71</sup>	1995	5 de 19	Resección en bloque del complejo nasoetmoidal en cadáver
<b>Larsen</b> <sup>72</sup>	1996	42%	Autopsias combinando endos-

			copia y cirugía endoscópica
<b>Min</b> <sup>73</sup>	1996	0,5% de la PT (Corea)	Endoscopia nasal
<b>Hedman</b> <sup>74</sup>	1999	4,3% de la PT adulta	Cuestionario
<b>Johansson</b> <sup>75</sup>	2003	2,7% de la PT (Suecia)	Endoscopia nasal
<b>Ahsan</b> <sup>76</sup>	2004	9,3-9,6% de los pacientes visitados a CCEE ORL	Hallazgos clínicos
<b>Klossek</b> <sup>56</sup>	2005	2,1%	Cuestionario específico de enfermedad (Francia)
<b>Hirsch</b> <sup>67</sup>	2017	11.9%	Cuestionario GA <sub>2</sub> LEN
<b>Ostovar</b> <sup>77</sup>	2018	28.4%	Cuestionario GA <sub>2</sub> LEN
<b>Hoffmans</b> <sup>68</sup>	2019	16%	Cuestionario GA <sub>2</sub> LEN

**Tabla 2.** Prevalencia de poliposis nasosinusal según algunos de los estudios publicados en la literatura. PT: población total. CCEE ORL: consultas externas de otorrinolaringología.

Las cifras de prevalencia que aparecen en la literatura médica en individuos vivos oscilan entre el 0,5 y el 9,6%, en función del criterio diagnóstico empleado, como se ha descrito en la Tabla 2.

Según la guía EPOS 2020 la RSC afecta aproximadamente al 5.5-28% de

la población, siendo más común en fumadores que en no fumadores. La prevalencia de RSC diagnosticada por el médico se correlaciona estrechamente con la prevalencia de RSC diagnosticada mediante los criterios establecidos por EPOS. Cuando los síntomas se combinan con los hallazgos en la endoscopia o la TC la prevalencia se reduce al 3-6%<sup>5</sup>.

Se ha demostrado que la prevalencia de RSC es menor en población asiática (7%) e Hispánica (8.6%) que en población negra (13.3%) o caucásica (13%)<sup>5</sup>. No existen diferencias significativas en cuanto al género. Este concepto confirmó en el estudio de Hirsch, et al en 2017, donde se encontró que las mujeres tenían más probabilidad de presentar RSA pero que no existía una ratio de sexo para la RSC<sup>67</sup>.

### **1.1.6. Diagnóstico**

#### **1.1.6.1. Clínica**

La obstrucción nasal es el síntoma cardinal más significativo para la RS. A parte de los síntomas mencionados en el apartado 1.1.1., existen síntomas menores, que incluyen pérdida de olfato o dolor facial, que están presentes en la RSC pero también en otras formas de rinosinusitis. Por esto es importante la combinación de síntomas, endoscopia nasal y TC de senos paranasales<sup>5</sup>.

#### **1.1.6.2. Exploración física**

La rinoscopia anterior aislada tiene valor limitado, sin embargo, sigue

siendo el primer paso en el examen de un paciente con esta enfermedad. La endoscopia nasal es una parte esencial de la exploración rinológica. Una revisión sistemática reciente analizó la precisión de la endoscopia nasal en el diagnóstico de la RSC en comparación con la TC de senos paranasales. Se incluyeron dieciséis estudios observacionales o retrospectivos, obteniéndose una correlación elevada entre la endoscopia y la TC en términos de precisión diagnóstica en RSC ( $r=0.85$ ; 95% intervalo de confianza [IC] [0.78-0.94],  $p<0.0001$ )<sup>78</sup>.

### **1.1.6.3. Exploraciones complementarias**

La EPOS 2020 ha evaluado las diferentes modalidades de imagen en rinosinusitis: radiografía convencional, TC, cone beam CT (TC de haz cónico) y resonancia magnética (RM). En general la TC de senos paranasales sigue siendo el gold standard en la evaluación radiológica de la enfermedad rinológica, especialmente en RSC. La radiografía simple no está indicada en RSC ni en RSA. El sistema de puntuación más utilizado sigue siendo Lund-Mackay score (LMS) el cual da una puntuación máxima de 24 o de 12 en cada lado. Una puntuación LMS igual o menor a 2 tiene un excelente valor predictivo negativo, y una puntuación igual o mayor a 5 presenta un excelente predictor positivo. En RSC la TC no suele estar recomendada normalmente hasta que se produce el fracaso de un curso apropiado de tratamiento médico<sup>5</sup>.

### **1.1.7. Tratamiento**

En la EPOS2020 a diferencia de la publicación previa (EPOS2012), no se

diferencia entre el manejo de RSCsPN y RSCcPN sino que se describe el manejo de la RSC basado en endotipos y fenotipos. De este modo se ha propuesto una nueva clasificación clínica basada en si la enfermedad está localizada (frecuentemente unilateral) o es difusa (siempre bilateral). Estos dos grupos se dividen a la vez en enfermedad tipo 2 o no-tipo 2 (figura 1). El reto está en definir biomarcadores para predecir la respuesta al tratamiento. Hasta el momento, la combinación del fenotipo (RSCcPN, enfermedad respiratoria exacerbada por AINEs), la respuesta al tratamiento y posiblemente también algunos marcadores como eosinófilos, periostina e IgE en sangre o en tejido, han permitido una mejor estimación del endotipo y de la respuesta al tratamiento. Este sigue siendo un campo en evolución en el momento actual<sup>5</sup>.

### **1.1.7.1. Tratamiento médico**

El pilar fundamental en el manejo de tanto la RSCcPN como el asma consiste en tratamiento anti-inflamatorio con CC locales, procurando alcanzar un nivel de control de la enfermedad óptimo. Cuando es insuficiente, se utilizan pautas cortas de tratamiento con CC orales (generalmente 30-60 mg durante 14 días, a veces reduciendo con el tiempo). La cirugía sinusal es la opción de tratamiento en casos de pacientes con RSCcPN con fracaso del tratamiento médico<sup>79</sup>. Los niveles de evidencia mencionados a continuación se basan en los publicados en el consenso internacional de rinología y alergia<sup>80</sup>, que se fundamenta en los niveles agregados de evidencia publicados en las guías de la academia americana de pediatría definidos en la Figura 4<sup>81</sup>.

Evidence quality	Preponderance of Benefit or Harm	Balance of Benefit and Harm
A. Well-designed, randomized controlled trials or diagnostic studies on relevant populations	<p style="text-align: center;"><b>Strong recommendation</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Recommendation</b></p>	<b>Option</b>
B. RCTs or diagnostic studies with minor limitations; overwhelmingly consistent evidence from observational studies		
C. Observational studies (case control and cohort design)		
D. Expert opinion, case reports, reasoning from first principles	<b>Option</b>	<b>No recommendation</b>
X. Exceptional situations where validating studies cannot be performed and there is a clear preponderance of benefit or harm	<p style="text-align: center;"><b>Strong recommendation</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Recommendation</b></p>	

**Figura 4.** Grado agregado de evidencia. A: estudios randomizados controlados bien diseñados o estudios diagnósticos en poblaciones relevantes, B: estudios randomizados controlados o estudios diagnósticos con limitaciones menores, evidencia abrumadoramente consistente de estudios observacionales, C: estudios observacionales – diseño caso control o de cohortes, D: opinión de expertos, casos clínicos, razonamiento desde los primeros principios<sup>81</sup>.

**a) CC intranasales, administración estándar (gotas y espráis)**

Los CC intranasales (CIN) son útiles en todos los tipos de RSC. Su eficacia está respaldada por un alto nivel de evidencia (grado A) y, por lo tanto, son la piedra angular de mantenimiento del tratamiento. Los beneficios descritos son una mejoría en los síntomas, en la exploración endoscópica, el tamaño del pólipo nasal, la CdV, en los test objetivos de olfato e vía aérea, y en la recurrencia.

Los riesgos de utilización de los mismos incluyen epistaxis, irritación nasal y cefalea. El coste es moderado, dependiendo de la preparación. Los beneficios superan los riesgos. Se recomiendan en RSCcPN antes o después de la cirugía sinusal<sup>80</sup>. La EPOS 2020 establece que el tratamiento a largo plazo con CC intranasales es efectiva y segura en pacientes con RSC<sup>5</sup>.

**b) CC intranasales, administración no-estándar (irrigación y nebulizadores)**

Conforman un grado de evidencia B, sin poderse confirmar una mejoría terapéutica. No hay evidencia de supresión adrenal pero no se puede excluir con esta forma de administración. Su coste es moderado y su uso en PN está fuera de indicación. Es una opción en RSCcPN, principalmente después de la cirugía sinusal.

**c) CC sistémicos**

Su uso tiene un nivel de evidencia A. Supone una mejoría significativa a corto plazo en medidas subjetivas y objetivas en pacientes con RSCcPN. Los riesgos incluyen mayores síntomas gastrointestinales, aunque sin

evidencia de reacciones severas, supresión adrenal transitoria, insomnio e incremento del recambio óseo, particularmente en tratamientos prolongados. Su coste es bajo, y la evaluación riesgo-beneficio con preponderancia del beneficio en el seguimiento a corto a plazo y con el uso en menos de una vez cada 2 años. Los riesgos de los CC orales superan beneficios relativos a la cirugía con el uso más de una vez cada dos años. Se recomiendan en el tratamiento a corto plazo en los pacientes con RSCcPN. El tratamiento a largo plazo o el uso frecuente de CC en RSCcPN no está respaldado por la literatura y conlleva un riesgo mayor riesgo de daño para el paciente<sup>80</sup>.

Varios mecanismos moleculares se han relacionado con la resistencia a CC en RSCcPN, con similitudes cercanas a los descritos en asma. Entre ellos, se ha descrito el aumento de la subunidad  $\beta$  del receptor de CC, la disminución de la subunidad  $\alpha$  o bien el desequilibrio en la ratio entre estas dos isoformas, produciéndose un aumento de la expresión proinflamatoria de factores de transcripción como Nuclear Factor kappa beta (NF- $\kappa$ B) o Activator Protein-1 (AP-1)<sup>82</sup>. En pacientes con asma se ha relacionado la resistencia al tratamiento con CC (CC) con la fosforilación del receptor de CC, inhibiendo su translocación nuclear, por diferentes quinasas como map quinasa activada por mitógeno p38 (p38MAPK), aumento de la vía de quinasa regulada por señal extracelular (ERK), aumento de quinasa c-Jun N-terminal (JNK), disminución de MKP-1 o defecto de la acetilación de histona<sup>83</sup>.

Otro autores también han descrito una asociación entre la resistencia al efecto de los CC orales y la disminución de mucina 1 (MUC1) en el epitelio de pólipo nasal, así como la disminución de la expresión de MKP1 y

GR $\alpha$  y el incremento de la fosforilación de ERK1/2, un aumento excesivo de la vía de señalización mediada por TLR y de uno de los productos de su activación (IL-8)<sup>30</sup>.

La EPOS 2020 concluye que un curso corto de CC sistémicos, con o sin tratamiento con corticoide local, conlleva una reducción significativa de la puntuación en los síntomas globales, así como en el grado del pólipo en pacientes con RSCcPN. Asimismo, aboga que 1 o 2 cursos de tratamiento con CC sistémicos en pacientes con enfermedad parcialmente controlada o incontrolada es útil asociado al tratamiento con CC intranasales. Un curso corto de CC sistémicos después de cirugía nasosinusal no parece tener un efecto en la CdV<sup>5</sup>.

#### **d) Antibióticos orales no-macrólidos durante < 3 semanas**

Su uso tiene un nivel de evidencia B. El uso de Doxiciclina permite la reducción del tamaño del pólipo, pero no conlleva cambios en los resultados reportados por el paciente. Los riesgos incluyen malestar gastrointestinal y el potencial de resistencia y de anafilaxia. El coste es variable, en función del antibiótico utilizado. En general, los riesgos superan los beneficios, por lo que la recomendación es en contra del uso de antibióticos. Los antibióticos no macrólidos generalmente no se deberían prescribir para la RSCcPN en situaciones clínicas no agudas<sup>80</sup>.

#### **e) Antibióticos orales macrólidos**

Existe un nivel de evidencia B. Permiten reducir el nivel de pólipos después de cirugía endoscópica nasal y mejorar los síntomas de RSC. Conlleva sin embargo un riesgo significativo para interacciones medicamen-

tosas y raros efectos adversos, particularmente complicaciones vasculares severas. Su coste es bajo. Aunque se dispone de estudios limitados, los beneficios parecen superar los riesgos. Es una opción para el tratamiento de RSCcPN, los macrólidos pueden ser beneficiosos después de cirugía endoscópica nasosinusal para disminuir la recurrencia de los pólipos<sup>80</sup>.

Según la EPOS 2020 es incierto si el uso o no de un tratamiento corto (menor de 4 semanas) con antibióticos tiene un impacto sobre los resultados en adultos con RSC comparado con placebo. Debido a la baja calidad de la evidencia, no se puede afirmar que el uso de un tratamiento largo con antibióticos (más de 4 semanas), tenga un impacto en los resultados de los pacientes con RSC, particularmente teniendo en cuenta en aumento del riesgo de eventos cardiovasculares. Existe la necesidad de ensayos estudios de alta calidad que actualmente se están llevando a cabo en Europa<sup>5</sup>.

#### **f) Antifúngicos orales**

No han demostrado beneficio en el manejo rutinario de la RSCcPN (nivel de evidencia A). Se han descrito efectos secundarios, incluyéndose la alteración de la función hepática. Su coste es moderado. En general, se concluye que los riesgos de efectos adversos superan el beneficio potencial de la terapia con antifúngicos orales. Existe, pues, una evidencia en contra del uso de este tratamiento para la RSCcPN<sup>80</sup>.

#### **g) Antifúngicos tópicos**

Con un nivel de evidencia A, no han mostrado beneficio para el tratamiento de la RSCcPN típica, aunque puede tener algún beneficio sobre la

rinosinusitis fúngica aguda. Su coste es moderado. No se deberían utilizar para el tratamiento de la RSCcPN<sup>80</sup>.

#### **h) Terapia anti-leucotrienos**

Permite una mejoría en los síntomas comparable con los CC intranasales (CCIN) (nivel de evidencia A)<sup>80</sup>. Puede tener un beneficio limitado como terapia adyuvante a los CCIN. Sus riesgos son limitados, Montelukast se ha asociado con efectos neuropsiquiátricos raros en informes posteriores a su comercialización. Su coste es moderado. Existe un balance entre los beneficios y los riesgos. Se incluye como tratamiento beneficioso en pacientes intolerantes o no respondedores a los CCIN. Se considera una opción en pacientes con RSCcPN tanto como sustituto o bien añadido al tratamiento con CIN. La EPOS 2020 por ahora no recomienda su uso añadido al tratamiento con CC intranasales<sup>5</sup>.

#### **i) Desensibilización a Aspirina**

Permite una reducción en la recidiva después de cirugía, mejoría de la CdV y reducción de los síntomas de RSC en EREA. Reduce la necesidad de CC sistémicos y el número de intervenciones quirúrgicas. Como riesgos se incluye el sangrado gastrointestinal, el incremento de la morbilidad por enfermedad renal i la alteración en la coagulación de la sangre en dosis altas de mantenimiento. Los costes incluyen (1) Coste inicial para la desensibilización, (2) Costes mínimos directos por 100 mg de aspirina diaria, (3) Disminución de los costes si se reducen intervenciones quirúrgicas futuras, el uso de medicación y las visitas al médico por asma. Existe un beneficio claro sobre los daños. Se debería considerar en pacientes con EREA después de la cirugía endoscópica nasosinusal para

prevenir las recurrencias<sup>80</sup>.

#### **j) Fármacos biológicos**

Se ha descrito el uso de fármacos anti IL-5 y Anti-IgE para el tratamiento de la RSCcPN. Gevaert concluyó en su estudio que el Omalizumab (anti-IgE) es un tratamiento efectivo para pacientes con RSCcPN y asma<sup>46</sup>.

Estudios recientes a larga escala han demostrado una reducción moderada en la necesidad de cirugía después de tratamiento con anti IL-5 en pacientes con RSCcPN. Datos preliminares sugieren una reducción significativa en el impacto de la CdV, especialmente en el sentido del olfato y la reducción en la necesidad de cirugía y el tratamiento con CC sistémicos<sup>84</sup>.

Recientemente el equipo de expertos EUFOREA (European Forum for Research and Education in Allergy and Airway Diseases) ha establecido 5 criterios que son importantes en la decisión de prescribir fármacos biológicos en RSCcPN previo a la cirugía: (1) evidencia de inflamación tipo 2 (marcadores biológicos), (2) necesidad de CC sistémicos durante los 2 años anteriores, (3) afectación significativa de la CdV, (4) disminución significativa del olfato, (5) diagnóstico de asma comórbido<sup>84</sup>.

Dupilumab, un anticuerpo monoclonal dirigido a IL-4 $\alpha$ , receptor compartido entre IL-4 e IL-13, ha sido recientemente aprobado por la FDA para el tratamiento en pacientes con RSCcPN con mal control en Estados Unidos<sup>85</sup>. Se ha demostrado que los pacientes mejoran la puntuación tanto en los cuestionarios de severidad de la enfermedad, como en los biomarcadores de actividad de la enfermedad.

### **1.1.7.2. Tratamiento quirúrgico**

La cirugía en RSC está generalmente indicada cuando los síntomas persisten a pesar del tratamiento médico máximo. La definición de tratamiento médico máximo no está bien establecida en la literatura. El consenso publicado por Orlandi et al<sup>80</sup>, utiliza el concepto de tratamiento médico adecuado (TMA). Los protocolos de TMA consisten en un nivel de evidencia D. Se recomienda la utilización de CCIN, irrigaciones salinas y un único curso corto de CC orales. Los antibióticos son una opción. Sus beneficios son la mejoría sintomática y la evitación de los riesgos de una intervención quirúrgica, y los riesgos incluyen el riesgo intrínseco de los CC, los efectos gastrointestinales de los antimicrobianos, el riesgo de toxicidad cardiovascular de los macrólidos y el potencial de incremento de las resistencias a antibióticos. El balance riesgo-beneficio difiere en cada terapia y escenarios particulares. Claramente, la preferencia del paciente juega un rol importante en la decisión de continuar con el tratamiento médico o bien proceder con la cirugía<sup>80</sup>.

Las técnicas quirúrgicas han evolucionado durante las últimas 3 décadas, pasando desde abordajes abiertos a la cirugía endoscópica y, más recientemente, técnicas de expansión de tejidos como la dilatación con balón. Hoy en día los abordajes endoscópicos consisten el estándar para el tratamiento quirúrgico para RSCcPN y RSCsPN. El grado en el que los senos deben ser abiertos y la extensión de exéresis de tejido han sido un tema de debate significativo, aunque el tratamiento quirúrgico para RSCcPN pone un mayor énfasis en la extracción de tejido en comparación con la cirugía para RSCsPN<sup>80</sup>.

En RSCcPN, los objetivos quirúrgicos principales son: (1) establecer una vía aérea nasal permeable y mejorar la obstrucción del orificio de drenaje del seno; (2) disminuir la carga inflamatoria global; y (3) abrir los senos para la mejor distribución de la medicación tópica postoperatoria<sup>80</sup>.

## 1.2. CALIDAD DE VIDA

Durante la última década se ha enfatizado la importancia de la evaluación de la CdV en los pacientes con RSCcPN. Así, en la literatura más reciente encontramos trabajos que estudian este aspecto. Existen dos tipos de cuestionarios de CdV relacionada con la salud: los cuestionarios específicos y los genéricos. Si bien no existen cuestionarios específicos para la valoración de la CdV en pacientes con RSCcPN, se suelen utilizar cuestionarios específicos para RSC<sup>15</sup>.

Disponemos de diferentes cuestionarios específicos para la evaluación de la RSC:

- a) Rhinosinusitis Disability Index (RSDI): mide parámetros de CdV específicos y generales. Contiene 30 ítems sobre los síntomas nasales y sinusales y su impacto sobre la limitación en la actividad diaria<sup>15</sup>.
- b) Chronic Sinusitis Survey (CSS): está basado en la duración de los síntomas. Formado por 6 ítems divididos en dos secciones: a) sección de síntomas, que abarca dolor o presión facial, congestión nasal o dificultad respiratoria nasal y rinorrea. b) sección de medicación que comprende tratamiento oral con antibióticos o

tratamiento intranasal<sup>15,86</sup>.

- c) Rhinosinusitis outcome measure (RSOM-31): está formado por 31 ítems específicos agrupados en 7 dominios (síntomas nasales, síntomas oculares, síntomas del sueño, síntomas del oído, síntomas generales, problemas prácticos y consecuencias emocionales) que valoran la gravedad de los síntomas y su importancia sobre el paciente. Contiene dos escalas categóricas para los pacientes para indicar la magnitud e importancia de cada ítem<sup>87</sup>.
- d) Sino-nasal Outcome Test 16 (SNOT-16): tiene 16 ítems que evalúan la severidad de los síntomas y las consecuencias emocionales y sociales de la rinosinusitis crónica<sup>88</sup>.
- e) Sino-nasal Outcome Test 20 (SNOT-20): es una versión modificada del RSOM que contiene 20 ítems sobre síntomas nasosinusales y de salud general. Respecto al cuestionario anterior, se eliminaron 11 ítems debido a dos razones. En primer lugar, se consideraron redundantes. En segundo lugar, basado en un análisis psicométrico, se determinó que estos ítems no contribuían significativamente al instrumento. Además la puntuación total del SNOT-20 pasó de 31 a 20. Contiene dos sumarios: a) escala de sumario total de los 20 ítems y, b) escala de importancia que incluye los ítems identificados como importantes<sup>89</sup>.
- f) Sino-nasal Outcome Test 22 (SNOT-22): es una modificación del cuestionario SNOT-20, añadiendo al anterior dos síntomas rinológicos específicos: a) obstrucción nasal y b) pérdida de sabor y olfato<sup>15,90</sup>.

También disponemos de cuestionarios generales, relativamente cortos y que poseen probadas garantías de fiabilidad y validez. Su ventaja reside en la posibilidad de comparar la poliposis nasosinusal con diferentes enfermedades crónicas. Sus desventajas son que pueden contener componentes que no sean relevantes para la poliposis nasosinusal o que no pudieran ser sensibles a los cambios<sup>15</sup>. El más utilizado es:

- a) Short Form-36 Health Survey (SF-36, Ware, Kosinski, and Kelle, 1996): a partir de 36 componentes pretende medir ocho conceptos genéricos sobre la salud. Está formado por dos medidas sumarias: componente sumario de salud física (función física, rol físico, dolor corporal y salud general) y componente sumario de salud mental (vitalidad, función social, rol emocional y salud mental)<sup>15,91</sup>.
- b) Short Form-12 Health Survey (SF-12): consiste en 12 preguntas, extraídas del cuestionario SF-36. Se trata de una alternativa más corta del cuestionario SF-36, validada y fácilmente interpretable para salud física y mental<sup>92</sup>.
- c) EuroQol-5Dimension-5Level (EQ-5D-5L): cuestionario de 5 preguntas de salud relacionadas con la CdV que proporciona información sobre el estado de salud individual con una carga mínima para el paciente<sup>92</sup>.

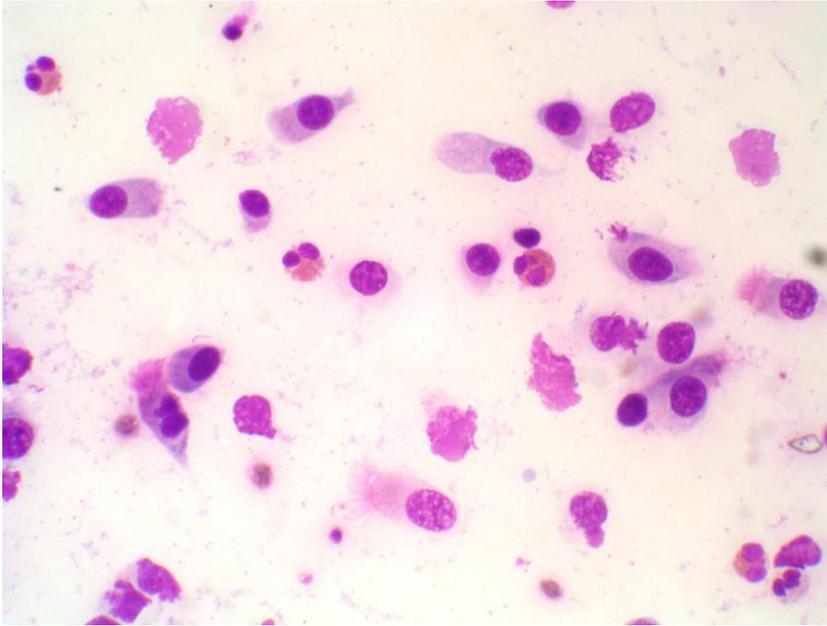
EPOS 2020 es unánime en cuanto a que se necesita un instrumento para medir la CdV para el manejo de los pacientes con RSC. El cuestionario general de CdV utilizado por la mayoría de grupo organizativo de la EPOS 2020 en RSC fue SF-36, aunque SNOT-22 y EQ-5D también fueron fre-

cuentemente utilizados. Cuando se utilizó un cuestionario específico de CdV en RSC, la mayoría de autores que conforman la guía EPOS2020 utilizaron el SNOT-22<sup>5</sup>.

### **1.3. EOSINÓFILOS**

Posiblemente, la característica mejor estudiada en el rol de los eosinófilos es la alergia, el asma y la defensa frente a parásitos. No obstante, muchas otras enfermedades muestran infiltrados eosinofílicos<sup>93</sup>. Aun así, Mygind definió el eosinófilo como la “célula hermosa y misteriosa”<sup>42</sup>. Son leucocitos polimorfonucleares. A nivel ultraestructural poseen un núcleo bilobulado (Figura 5). También son un tipo celular importante en la RSC, siendo considerado para muchos en algún momento como una enfermedad puramente eosinofílica. El daño eosinofílico de la mucosa nasosinusal se consideraba el mecanismo central fisiopatológico de la RSC y la característica distintiva de la enfermedad<sup>5</sup>. La formación de un microambiente en el tejido afecto y la capacidad autocrina de las células involucradas podría explicar la cronicidad. Los eosinófilos están programados para morir por apoptosis a los pocos días en condiciones normales, pero este proceso puede inhibirse mediante citoquinas. Por lo tanto, la poliposis nasal podría ser una reacción inflamatoria auto-perpetuada por citoquinas y factores de crecimiento originados en los mismos pólipos. Esto conduciría a un micro-ambiente que prolongaría la vida del eosinófilo, pudiendo participar en reacciones inmunes con células epiteliales<sup>42</sup>. La diferenciación de la RSC en RSCsPN y RSCcPN demostró que la eosinofilia tisular era mucho mayor en los pólipos nasales (RSCcPN)<sup>5</sup>.

Esta asociación, independiente de la atopia, sugirió que los eosinófilos podían ser críticos para la formación de los pólipos nasales. Pero esta relación entre RSCcPN y eosinofilia nasal no se mantiene en los pacientes asiáticos (incluyendo China, Corea y Japón) con PN y en una minoría de los pólipos de pacientes occidentales o caucásicos en comparación con la mayoría (entre el 70 y el 90%) de los pólipos en población caucásica<sup>5,17</sup>. Valorados en conjunto, estos estudios indican que los eosinófilos no son absolutamente necesarios para la formación de la poliposis nasal o la RSC. Aunque esta afirmación podría parecer que disminuye la importancia de estas células en la RSC, estudios recientes han demostrado que la eosinofilia tisular se correlaciona con un resultado relativamente peor independiente de la presencia o ausencia de pólipos. En consecuencia, aunque los eosinófilos no son esenciales para que exista la RSC, parecen ser un marcador de severidad, enfermedad recalcitrante y también pueden ser las células que median este relativo peor pronóstico<sup>5</sup>.



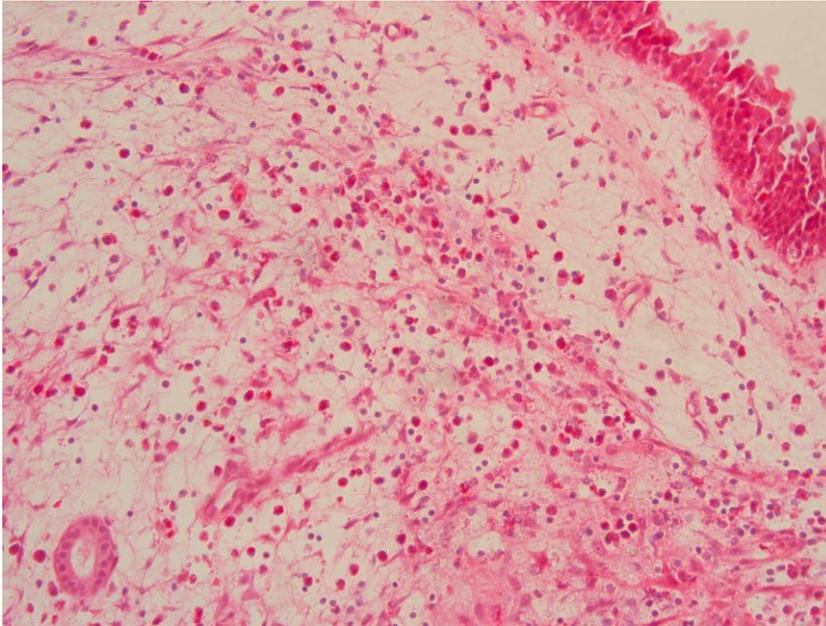
**Figura 5.** Citología de exudado nasal. Se observan eosinófilos con su característica núcleo bilobulado.

## 1.4. MUCINAS

La barrera celular epitelial, sus cilios móviles y la capa mucosa subyacente son los mecanismos de barrera de la mucosa nasosinusal y contribuyen al transporte mucociliar como primera línea de defensa. El moco es una capa viscosa que cubre la superficie luminal del epitelio de las vías respiratorias (Figura 6). Se compone de agua, iones, glicoproteínas mucinas, y una variedad de otras moléculas como moléculas antimicrobiales, antioxidasas y antiproteasas<sup>94,95</sup>. Las mucinas (MUC) comprenden el mayor componente proteico del moco. Hoy en día se han identificado hasta 22 genes humanos para mucinas, 16 de los cuales se expresan en el epitelio respiratorio. Estas mucinas se han clasificado en 2 grupos, con

diferentes propiedades estructurales y funcionales, considerando su naturaleza según sean secretoras (MS) o bien ancladas a la membrana (MM)<sup>96,97</sup>.

Las MM son proteínas transmembrana ancladas a la superficie apical de las células mucosas epiteliales, con un dominio n-terminal altamente glicosilado, en contacto con el ambiente externo actuando como receptor y una cola citoplasmática corta que permite su participación en la señal intracelular. Por lo tanto, estas mucinas no solo moderan las interacciones extracelulares con las superficies epiteliales, sino que también participan en la señalización intracelular. Por el contrario, las MS son las glicoproteínas más abundantes en el moco, están directamente involucradas en la formación del mismo y son responsables de sus propiedades viscoelásticas, indispensable para su función de barrera y para preservar la función mucociliar. Estas mucinas no tienen un dominio transmembrana, ya que se segregan al espacio extracelular. Se ha publicado su rol esencial en la defensa de las vías respiratorias<sup>94,95,98</sup>.



**Figura 6.** Epitelio nasal con gran componente mucoso.

Los defectos de la respuesta inmune y en los mecanismos de defensa de barrera mecánica se consideran relacionados con el establecimiento de patologías como la RSCcPN y con el desarrollo de síntomas clínicos característicos de estas enfermedades<sup>98</sup>.

La asociación entre características anormales en las mucinas y enfermedades de las vías respiratorias inferiores, incluyendo fibrosis quística, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y cáncer, ha sido establecida. Sin embargo, las características de la expresión de mucinas y su relevancia en la fisiopatología de la RSC no se conocen bien<sup>94</sup>. Aun así, existe evidencia de una asociación entre la expresión alterada de mucinas y RSC. Kato *et al*, determina que su relevancia clínica no se ha entendido completamente. En parte, la heterogeneidad de la RSC y la va-

riabilidad de los métodos utilizados en los estudios revisados en un metaanálisis reciente, dificultan los consensos<sup>94</sup>.

Se ha estudiado el efecto de los CC en la expresión de mucinas, y se ha descrito asociación en el caso de MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC8 y MUC16<sup>83</sup>.

### **1.5. TOLL-LIKE RECEPTORS (TLR)**

Los TLR juegan un papel importante en la respuesta inmune. TLR2 se asocia con una respuesta reducida a agentes infecciosos. La inflamación crónica en la mucosa nasal puede causar la formación de pólipos. Se ha encontrado un aumento de la producción de TLR2, TLR4 y TLR7 en poliposis nasal.

### **1.6. MKP1**

MAP kinase phosphatase 1 (MKP1) pertenece a la subfamilia miembro de la nicotinamida adenina dinucleótido, dependiente de nicotinamida adenina dinucleótido desacetilasas. Muchos procesos biológicos celulares se han modulado por MKP1 como la proliferación, diferenciación, apoptosis, estrés oxidativo y autofagia<sup>99</sup>.

Muchas de las propiedades antiinflamatorias de los CC son debidas a mecanismos post-transcripcionales, incluyendo la regulación positiva de la proteína quinasa fosfatasa activada por mitógeno 1 (MKP1), la cual inhibe la activación de muchas proteínas kinasas activadas por mitóge-

no<sup>30</sup> (MAPKs), que son proteínas de señalización de procesos inflamatorios y proliferativos, de manera que la activación de diferentes citocinas pro inflamatoria y la puesta en marcha de la respuesta inflamatoria en la mucosa de la vía aérea se encuentran mediadas por MAPKs<sup>30</sup>.

### **1.7. MIF**

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) es una citocina pro-inflamatoria con la habilidad de inducir varias respuestas inmunomoduladoras y anular la inmunosupresión mediada por CC<sup>100</sup>.

### **1.8. GR $\alpha$**

GR $\alpha$  es una de las dos isoformas humanas del receptor de glucocorticoides intracelular (GR) que se expresa en células y tejidos, concepto que se explica con mayor detalle en el apartado de discusión.

### **1.9. IL-8**

La IL-8 es una quimiocina producida por macrófagos y otros tipos celulares como células epiteliales, células del músculo liso de las vías respiratorias<sup>101</sup> y células endoteliales. En humanos la proteína IL-8 se codifica por el gen CXCL8<sup>102</sup>. Su síntesis se realiza en fibroblastos, célula endotelial (se almacena en los cuerpos de Weibel-Palade)<sup>103</sup>, monocitos, macró-

fagos y células dendríticas.

IL-8 es un potente factor quimiotáctico de neutrófilos, teniendo dos funciones principales. Induce la quimiotaxis en células diana, principalmente neutrófilos pero también otros granulocitos, causando su migración hacia el lugar de la infección. IL-8 también estimula la fagocitosis y es un potente promotor de la angiogénesis<sup>102</sup>. Se sintetiza constantemente en la mucosa nasal para mantener los eosinófilos en la superficie mucosa como parte del mecanismo de defensa nasal<sup>104</sup>.



## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## 2.1. HIPÓTESIS

La hipótesis del presente trabajo de tesis doctoral se basa en los siguientes antecedentes fisiopatológicos y de CdV:

### Fisiopatológicos:

- a) El principal tratamiento de la RSCcPN son los CC tópicos. Sin embargo existe un porcentaje amplio de pacientes (entre el 20 y el 45%) no respondedores<sup>105,106</sup>.
- b) Tras el fallo del tratamiento tópico, los CC sistémicos son la terapia de elección, aunque, como en el primer caso, existe un porcentaje de pacientes no respondedores que serían tributarios a la cirugía nasosinusal<sup>5</sup>.
- c) Actualmente existen nuevas terapias dirigidas a dianas moleculares específicas que podrían ser de elección en aquellos casos en los que exista una resistencia a CC sistémicos, como son omalizumab, mepolizumab o dupilumab. Sin embargo, aunque se han propuesto diversos biomarcadores de respuesta a CC, ninguno de ellos tiene una validez clínica para seleccionar a pacientes corticoresistentes<sup>46,85,107</sup>.
- d) El patrón inflamatorio Th2 (eosinofílico) se ha descrito en la RSCcPN<sup>17,83,108</sup>.
- e) Los eosinófilos son leucocitos polimorfonucleares producidos en

la medula ósea con actividad fagocítica débil pero sí homeostática, contienen proteínas granulares con capacidad inflamatoria y de daño tisular. Se encuentran ausentes o en niveles bajos en la mucosa nasal normal<sup>42</sup>.

- f) Se ha correlacionado la eosinofilia con: RSCcPN, grado endoscópico (GE) y grado radiológico (GRad) de poliposis, y riesgo de recidiva. Asimismo, se ha definido la eosinofilia como predictor de buena respuesta al tratamiento con CC (Tabla 17).
- g) Las mucinas ancladas a membrana, como es MUC1, presentan efectos antiinflamatorios sobre la inflamación inducida por agentes infecciosos tales como bacterias gram+ o gram<sup>-109,110</sup>.
- h) Los CC aumentan la expresión de MUC1 como parte de su respuesta anti-inflamatoria<sup>30</sup>. Algunos de los datos de la publicación de este estudio, fruto del trabajo de tesis doctoral realizado por la Dra Frías, se han utilizado para la realización del presente trabajo de tesis doctoral.
- i) La mucina MUC1 posee un tallo citoplasmático que transduce señales intracelulares antiinflamatorias y que es capaz de interactuar con múltiples señales y receptores intracelulares mediante en su función<sup>83</sup>.

### **CdV en RSCcPN**

- a) El cuestionario de CdV Sino-nasal Outcome Test-22 (SNOT-22) ha sido validado y recientemente traducido al español para evaluar

la CdV específica en pacientes con RSCcPN<sup>90,111</sup>.

- b) Aunque se ha estudiado el efecto de la eosinofilia en la CdV de los pacientes, son muy pocos los estudios que analizan la relación entre ambos factores mediante el cuestionario SNOT-22 (Tabla 18).
- c) No se han publicado estudios para predecir el efecto de la expresión de MUC1 en la CdV de los pacientes utilizando el cuestionario SNOT-22 hasta el momento.
- d) Otros marcadores de inflamación nasal no se han correlacionado con la CdV ni con otras variables de la enfermedad.

### **HIPÓTESIS:**

Atendiendo a los puntos anteriormente expuestos, nuestra hipótesis es que existen correlaciones significativas entre distintos patrones inflamatorios y clínicos con la CdV de los pacientes afectados de RSCcPN. El conocimiento de estas correlaciones permitirá ayudar de forma notable en el manejo clínico del paciente.

## **2.2. OBJETIVOS.**

### **Objetivo principal:**

Evaluar el grado de asociación entre la CdV medida por el cuestionario SNOT-22 en pacientes con RSCcPN con distintos patrones inflamatorios (MUC 1 y eosinofilia).

### **Objetivos secundarios:**

- a) Definir las características clínicas del grupo de pacientes con RSCcPN que cumplieran con los criterios de inclusión establecidos previamente.
- b) Analizar la presencia de los siguientes marcadores inflamatorios en tejido polipoide: la expresión de MUC1, MKP1, MIF, GR $\alpha$ , IL-8, TLR2, TLR4, TLR5, y eosinofilia.
- c) Determinar la relación que pueda existir entre la CdV medida por el cuestionario SNOT-22 en pacientes con RSCcPN con los parámetros clínicos establecidos en el punto a) y los marcadores inflamatorios mencionados en el punto b), que no han sido evaluados en el objetivo principal.
- d) Establecer la asociación entre CdV en pacientes con RSCcPN con MUC1 y eosinofilia, teniendo en cuenta también parámetros clínicos como el asma y la intolerancia a AINEs.
- e) Conocer la expresión de MUC 1 y eosinófilos como biomarcado-

res de respuesta a CC tópicos y sistémicos en los pacientes con RSCcPN, teniendo en cuenta la presencia de asma y de intolerancia a AINEs.

- f) Determinar la relación que pueda existir entre la respuesta a CC tópicos y sistémicos con el resto de parámetros moleculares mencionados en el punto b).



# **3. MATERIALES Y MÉTODOS**



### 3.1. CONSIDERACIONES GENERALES

Este estudio se ha realizado siguiendo los principios éticos de la Declaración de Helsinki y la normativa vigente. Asimismo, ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIm) del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia con número de referencia 2/2016 (anexo 1), el cual cumple con las normas de buena práctica clínica (BPC) (CPM/ICH/135/95) tanto en su composición como en sus procedimientos y con la legislación vigente que regula su funcionamiento.

La serie de pacientes incluida en este estudio procede de los reclutados para el desarrollo de la línea de investigación sobre poliposis nasosinusal llevada a cabo conjuntamente en el Hospital General Universitario de Valencia (HGUV), Fundación para la Investigación de HGUV y Departamento de Patología de la Universitat de València. Las correlaciones clínico-histológicas, específicamente en la ultraestructura de la degranulación del eosinófilo, fueron estudiadas en la tesis del Dr. Luis Garín (El papel del eosinófilo en la patogenia de la poliposis nasal: correlación entre aspectos clínicos e histológicos. Doctorando: Luis Garín Martínez. Codirectores: Profs. Carmen Carda Batalla, Miguel Armengot Carceller. Universidad de Valencia, Facultad de Medicina. Año 2007<sup>112</sup>). Las correlaciones con la expresión de mucinas fueron estudiadas en la tesis de la Dra. Soledad Frías (Expresión de mucinas en poliposis nasal. Correlaciones clínicas e histopatológicas. Codirectores Profs. Julio Cortijo Gimeno, Javier Millara Payá, Miguel Armengot Carceller. Universidad de Valencia, Facultad de Medicina. Año 2018<sup>113</sup>).

En el presente trabajo se ha estudiado la correlación entre algunas de las

variables descritas y la calidad de vida del paciente, con la idea de contribuir al tratamiento individualizado de la enfermedad: un estudio morfológico y/o molecular del tejido inflamatorio podrá determinar cómo condiciona la calidad de vida del paciente. Ello es fundamental actualmente, dado que la decisión terapéutica se determina prioritariamente en el impacto de la enfermedad sobre la calidad de vida del paciente, como se refleja en los documentos de consenso más actualizados (EPOS 2020<sup>5</sup>). Es por ello que una parte de las determinaciones moleculares y morfológicas que figuran en este apartado se refieren a las realizadas en los estudios previos citados. La línea de investigación ha ido avanzando en la misma dirección de las guías clínicas y consensos de la enfermedad

### **3.1.1. Consentimiento informado**

Se ha explicado a los pacientes mediante la hoja de información al paciente (anexo 2) la naturaleza del estudio, sus propósitos, procedimientos, duración esperada y los potenciales riesgos y beneficios relacionados con la participación del estudio. Asimismo, los participantes fueron advertidos que su participación en el estudio era voluntaria y que podían dejar el estudio en cualquier momento o bien negarse a participar en él, sin afectar su posterior tratamiento médico, o su relación con el médico tratante. Esta hoja contenía esta información en un lenguaje fácilmente inteligible por el participante.

El consentimiento informado (anexo 3) se obtuvo por medio de un documento en el cual el paciente debía escribir a mano su nombre y el del

médico informante, la fecha y firma, asimismo, los participantes recibían una copia de este documento firmado. En caso que el sujeto no pudiera leer o firmar los documentos, la firma se podía obtener de un representante autorizado legal del mismo. Ningún paciente se incluyó en el estudio sin la previa firma del consentimiento informado.

### **3.1.2. Confidencialidad y protección de datos**

Los datos de de los pacientes fueron tratados de acuerdo con la legislación vigente de protección de datos (Ley Orgánica 3/2018) para la protección de datos personales y la garantía de derechos digitales, y la Regulación de la UE 2016/679).

Los datos recogidos en el estudio fueron identificados con un código y la información contenida en el cuaderno de recopilación de datos no incluyó datos de identificación de los participantes ni otros que pudieran revelar su identidad.

### **3.1.3. Enmiendas al protocolo**

No ha habido cambios en el protocolo del estudio. En caso de haberlos habido, se habría realizado una edición de una nueva versión del protocolo que se habría enviado al CEIm y numerado de forma correlativa.

### **3.1.4. Financiación**

Este estudio de tesis doctoral ha sido posible gracias a las siguientes ayudas:

- “BECA FIS” (Expediente: PI11/02618). Ministerio de Ciencia e Innovación. Gobierno de España.
- “Ayuda del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias CIBERES” (Grupo CB06/06/0027). Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Ciencia e innovación. Gobierno de España.

## **3.2. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se desarrolló un estudio clínico y traslacional, ambispectivo (retrospectivo y prospectivo), realizado sobre datos de 62 pacientes adultos ( $\geq 18$  años) afectados de RSCcPN atendidos en la sección de rinología del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia durante los años 2009 al 2013, recogidos de forma retrospectiva a partir de las historias clínicas de los pacientes en un trabajo de tesis doctoral previo realizado por la Dra Soledad Frías y dirigido por el Dr Miguel Armengot<sup>113</sup>. Asimismo, se efectuó un estudio de CdV, entregando a estos pacientes el cuestionario SNOT-22. Todos los pacientes (como ya se ha descrito) fueron informados del estudio y firmaron el consentimiento informado previo a la revisión de datos de la historia clínica y a la entrega del cuestionario. El estudio fue aprobado por el comité de ética del hospital (anexo 1). A este

respecto cabe explicar que los pacientes se agruparon según sus características fenotípicas de la siguiente manera:

- 1) PN sin asma y sin intolerancia a la aspirina (PNsA),
- 2) PN con asma y con tolerancia a la aspirina (PN-ATA);
- 3) PN con asma e intolerancia a la aspirina (PN-AIA),
- 4) PN sin asma y sin intolerancia a la aspirina corticoresistente (PNsA-CR),
- 5) PN con asma y con tolerancia a la aspirina corticoresistentes (PN-ATA-CR) y
- 6) PN con asma e intolerancia a la aspirina corticoresistentes (PN-AIA-CR).

Las características clínicas de cada paciente se han definido en el apartado de resultados.

En este estudio así como en el trabajo de tesis doctoral mencionado previamente<sup>113</sup>, el diagnóstico de poliposis nasosinusal fue definido de acuerdo con el Consenso Europeo sobre Rinosinusitis y Pólipos Nasales de 2020 (EPOS 2020) mencionado anteriormente, basándose en los hallazgos endoscópicos de poliposis nasosinusal bilateral originada en el meato medio y/o confirmación de PN en el estudio radiológico.

Se establecieron criterios de exclusión, que incluían enfermedades autoinmunes, niños, poliposis unilateral, discinesia ciliar primaria y fibrosis quística.

Se utilizaron las 28 variables analizadas en el trabajo de tesis doctoral previo<sup>113</sup> para cada grupo de pacientes: edad, sexo, alergia, fumador, asma, intolerancia a la aspirina, grado endoscópico de poliposis en la fosa nasal derecha (GE FND), grado endoscópico de poliposis en la fosa nasal izquierda (GE FNI), estadiaje o grado radiológico, número de cirugías realizadas, tratamiento con CC tópicos, tratamiento con CC sistémicos, respuesta a CC tópicos y a CC sistémicos para cada grupo de pacientes teniendo en cuenta el número y el porcentaje de pacientes que presentaban cada grado de respuesta (definidos en el apartado 3.2.3), grado de respuesta a CC tópicos y a CC sistémicos (media y desviación estándar para la respuesta en cada grupo de pacientes), corticoresistencia, capacidad pulmonar [capacidad vital forzada (CVF) y volumen espiratorio forzado (VEF)], cultivo del exudado nasal, eosinofilia tisular (medido por histología), expresión de MUC1, MKP1, MIF, GR $\alpha$ , IL-8, TLR2, TLR4 y TLR5 (medidos por expresión de RNA).

Se seleccionó MUC1 porque se ha visto que puede modular la respuesta a CC y por tanto podría influir en la CdV. Se consideró MKP1, MIF, GR $\alpha$  porque son moléculas intracelulares que influyen en la respuesta a CC<sup>30</sup>. Se eligió la expresión de TLR2, TLR4 y TLR5 porque participan en la inmunidad innata, mediante la respuesta inflamatoria inducida por bacterias gram positivas, negativas y pseudomonas que están presentes en PN e influyen en la gravedad de la misma. Por último, se seleccionó IL-8 porque media la respuesta inflamatoria granulocítica, en especial la neutrofílica. Esta IL-8 es de gran interés en muchos procesos inflamatorios y ha sido menos estudiada que otras, especialmente la IL-5, en RSCcPN.

La presencia de alergia fue evaluada usando el test cutáneo de provocación (prick-test) o mediante una analítica de sangre, buscando IgEs específicas contra alérgenos inhalados comunes en nuestro medio. El diagnóstico de intolerancia a la aspirina fue realizado cuando el paciente relataba un incremento de la sintomatología naso-bronquial tras la toma de un AINE. El diagnóstico de asma fue definido por parte de un especialista en neumología, siguiendo los criterios de la guía española para el manejo del asma 4.3 (GEMA 4.3)<sup>114</sup>. Ninguno de los sujetos presentó infección de la vía aérea superior en las 4 semanas previas a la terapia corticoide oral.

La TC de senos paranasales era requisito previo a cualquier intervención quirúrgica y también en casos seleccionados que presentaron complicaciones. El tratamiento quirúrgico se llevó a cabo en los pacientes en los que había fracasado el tratamiento médico o bien en casos de complicaciones. En cualquier caso siguiendo las indicaciones de las guías EPOS.

### **3.2.1. Cálculo del tamaño muestral**

Al tratarse de un estudio observacional exploratorio (no existe ningún antecedente que permita calcular el tamaño muestral) y ambispectivo, no se pudo calcular con detalle el tamaño muestral, por lo que, se utilizó el máximo número de pacientes reclutados durante al período de 4 años de duración del estudio.

### 3.2.2. Estadaje endoscópico y radiológico

El GE se valoró según Gevaert y cols<sup>46</sup> (0: sin presencia de pólipos, 1: pólipos pequeños en el meato medio que no alcanzan el borde inferior del cornete medio, 2: pólipos grandes que alcanzan el borde inferior del cornete inferior o pólipos mediales al cornete medio, 4: pólipos grandes que causan obstrucción completa de la cavidad nasal inferior) mediante exploración endoscópica en la consulta.

El GRad se estableció según la escala Lund and Mackay en la TC de senos paranasales<sup>115,116</sup>. Esta escala define la afectación sinusal de la siguiente manera: 0 (ausencia de ocupación), 1 (ocupación parcial), 2 (ocupación total). El complejo osteomeatal se puntúa de 0 (ausencia de ocupación) a 2 (ocupación completa). El resultado máximo es de 12 puntos/lado (Tabla 3).

Sistema sinusal	Izquierda	Derecha
<b>Maxilar</b>		
<b>Etmoides anterior</b>		
<b>Etmoides posterior</b>		
<b>Esfenoides</b>		
<b>Frontal</b>		
<b>Complejo ostiomeatal</b>		

## Puntuación total

**Tabla 3.** Estadiaje radiológico. Puntuación: Para todos los sistemas sinusales, excepto para el complejo osteomeatal: 0 = sin anomalías, 1 = opacificación parcial, 2 = opacificación total. Para el complejo osteomeatal: 0 = no ocluido, 1 = ocluido.

### 3.2.3. Tratamiento médico

En el momento del inicio del estudio prospectivo los pacientes iniciaron tratamiento con CC orales (deflazacort), a dosis de 1 mg/kg/día durante 8 días, seguidos de 0,5 mg/kg/día otros 7 días. La corticoreistencia se evaluó el día 15 tras la toma del CC oral. El grupo de pacientes corticoreistentes (PN-CR) se definió como aquellos que no presentaban una disminución mayor de un grado de su poliposis en la exploración endoscópica tras la toma del CC oral. El grado de respuesta a CC tópicos y sistémicos se definió como

- 0: sin respuesta
- 1: control clínico sin respuesta exploratoria
- 2: respuesta clínica y exploratoria < 3 meses
- 3: respuesta clínica y exploratoria 3-6 meses
- 4: control clínico y exploratorio > 6 meses

#### **3.2.4. Calidad de vida**

En los pacientes que firmaron el consentimiento informado se les entregó el cuestionario de CdV específico SNOT-22 en la versión traducida al castellano<sup>111</sup>.

### **3.3. MÉTODOS**

Los apartados 3.3.1, 3.3.2 y 3.3.3 se basan en datos obtenidos en la tesis doctoral de la Dra Frías<sup>113</sup> y en el artículo publicado previamente<sup>30</sup>.

#### **3.3.1. Recogida de muestras**

La muestra de tejido polipoide fue obtenida y analizada antes de la toma de CC orales. Los corticoides tópicos fueron retirados dos semanas antes de la toma de la muestra. Los pacientes acudieron a las consultas externas de Otorrinolaringología el día acordado. Se les introdujo unas lenti-  
nas intranasales embebidas en anestésico local (lidocaína 2%), y bajo visualización endoscópica con una óptica de 30º y pinza de Blakesley se les tomó una muestra de pólipo nasal. Tras el procedimiento los pacientes volvieron a su domicilio sin complicaciones ni necesidad de taponamiento nasal. Una vez obtenida la muestra se conservó en paraformaldehído (en caso de histología) o en RNAlater para los estudios de expresión génica.

### 3.3.2. Histopatología

Para la determinación de la eosinofilia se fijaron las muestras de PN en paraformaldehído 4% durante al menos 48 horas. Posteriormente se deshidrató mediante el siguiente proceso (Tabla 4):

Paso	Solución	Tiempo (minutos)
1	Etanol 70%	30
2	Etanol 96% I	30
3	Etanol 96% II	30
4	Etanol 100% I	30
5	Etanol 100% II	30
6	Xileno I	30
7	Xileno II	30
8	Parafina	160

**Tabla 4.** Proceso de deshidratación de las muestras.

A continuación, se procedió a la inclusión en bloques de parafina con un inclusor: EC350-1 Myr (Leica Geosystems, Heerbrugg, Suiza). A partir de los bloques obtenidos, se cortaron secciones (4-6  $\mu\text{m}$  de espesor) con un micrótopo HM 340 E (Leica Geosystems, Heerbrugg, Suiza) y se adherieron a portaobjetos. Las muestras se tiñeron con hematoxilina-eosina. El porcentaje de eosinófilos se determinó por recuento celular de cuatro

muestras representativas para cada paciente bajo una magnificación de 100x y 400x utilizando un microscopio de luz (Eclipse E 200; Nikon, Inc) acoplado a una cámara digital (Coolpix 4500; Nikon, Inc., Tokio, Japan) por medio de una microretícula. El porcentaje de eosinófilos se expresó relativo al porcentaje de células inflamatorias totales, excluyendo células epiteliales. Las muestras se clasificaron en cuatro grados 0-4, basados según si el porcentaje de eosinófilos era <5%, entre 5 y 19%, entre 20 y 50%, o >50%, respectivamente.

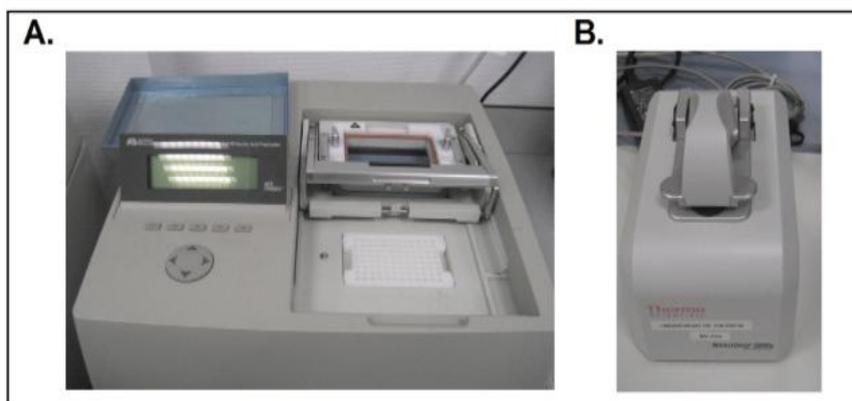
### **3.3.3. Estudio de la expresión génica: técnicas de biología molecular**

Los estudios de biología molecular se realizaron con el fin de determinar la expresión de MUC1, MKP1, MIF, GR $\alpha$ , IL-8, TLR2, TLR4 y TLR5

#### **3.3.3.1. Extracción de ARN total y cuantificación**

Para aislar el ARN (ácido ribonucleico) total de células epiteliales de pólipo nasal (CEPN) de cultivo primario y de CEPN diferenciadas en interfase aire-líquido (*air-liquid interface*) (ALI) se procedió a la lisis celular utilizando el tampón de lisis para la purificación de ácidos nucleicos. El ARN total se aisló mediante el sistema de extracción *ABI Prism™ 6100 Nucleic Acid Prep Station* (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante.

A continuación, se determinó la concentración del ARN extraído mediante el espectrofotómetro NanoDrop 2000C (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, EEUU), siguiendo las instrucciones del fabricante. Este sistema permitió determinar la concentración del ARN total (ng/ $\mu$ L) mediante medidas de absorbancia a 260 nm (A260) y 280 nm (A280), a partir del espectro de absorción de las muestras. También se obtuvo el valor de la pureza de las muestras, determinado por la ratio A260/A280, considerando un valor absoluto de entre 1,7 a 2,1 para ser aceptada como muestra válida para el análisis. Sólo las muestras con los valores de pureza adecuados fueron utilizadas para los análisis de expresión génica. La extracción del ARN y su cuantificación se muestran en la Figura 7.



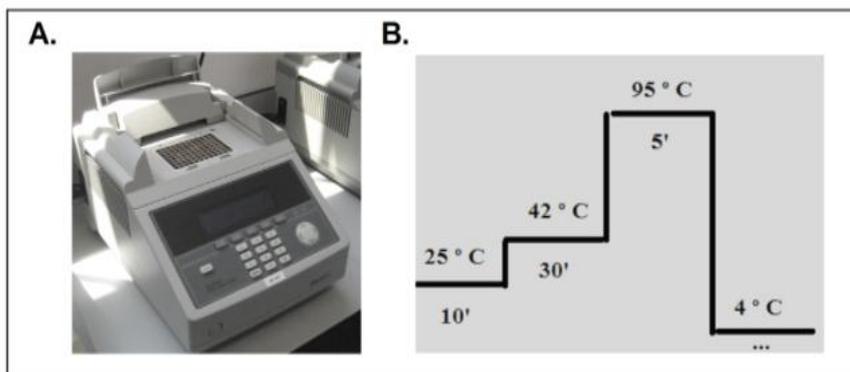
**Figura 7.** Extracción de ARN total y cuantificación. A. Sistema ABI Prism TM 6100 Nucleic Acid Prep Station para la extracción de ácidos nucleicos. B. Espectrofotómetro NanoDrop 2000C para la cuantificación de ácidos nucleicos.

La integridad del ARN extraído fue confirmada con el sistema electroforético capilar *2100 Bioanalyzer* (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EEUU), siguiendo las instrucciones del fabricante. Sólo las muestras que presentaban integridad del RNA ribosomal, indicado por la presencia de las bandas de RNA ribosomal 28S y 18S intactas fueron analizadas. El ARN extraído se almacenó a -80°C hasta su utilización.

#### **3.3.3.2. Retrotranscripción**

En la reacción de retrotranscripción (RT), la enzima retrotranscriptasa sintetiza ácido desoxiribonucleico (ADN) complementario (ADNc) partir de un ARN molde.

Tomando en consideración la cuantificación del ARN extraído, se transformó un total de 300 ng de ARN en ADNc utilizando el kit “Taq Man para la retrotranscripción”. Se realizó este proceso en un termociclador 9800 Fast Thermal Cycler (Applied Biosystems, Perkin-Elmer Corporation, CA, EEUU) con los siguientes pasos: incubación durante 10 minutos a 25°C, ciclo de 30 minutos a 42°C e inactivación de la enzima durante 5 minutos a 95°C. El ADNc sintetizado se almacenó a -20°C hasta su utilización (Figura 8).



**Figura 8.** Retrotranscripción. A. Termociclador 9800 Fast Thermal Cycler para realizar la reacción de retrotranscripción inversa. B. Etapas de la reacción. En la figura se muestran temperaturas (°C) y tiempos (minutos) de los distintos pasos de la reacción.

### 3.3.3.3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) consiste en la amplificación selectiva de una región de ADN de interés utilizando oligonucleótidos como cebadores de la síntesis de ADN. Los cebadores se unen específicamente a secuencias que flanquean la región que se pretende amplificar. La reacción de amplificación consiste en la repetición de un ciclo integrado por tres etapas:

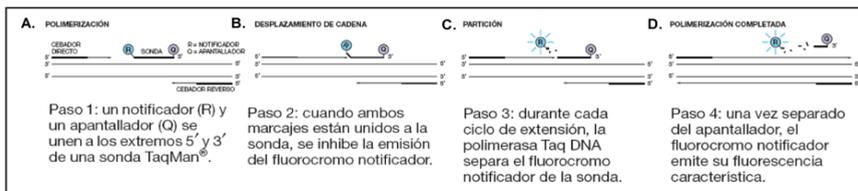
Desnaturalización del ADN molde.

Hibridación de cebadores.

Elongación.

La repetición de este ciclo un determinado número de veces produce un aumento exponencial en la cantidad de ADN de la región de interés. La variante denominada PCR a tiempo real o PCR cuantitativa (qPCR) cons-

tituye una forma precisa de detectar y cuantificar los niveles de ARN mensajero (ARNm) a partir del ADN complementario (ADNc). Los equipos de qPCR permiten la detección directa del producto de amplificación durante la fase exponencial de la reacción empleando lectores de fluorescencia que permiten medir la fluorescencia emitida durante la reacción. Para ello se utilizaron ensayos de expresión Génica TaqMan®, que son mezclas pre-formuladas de sondas específicas para el gen de interés marcadas con fluorocromos. Los reactivos TaqMan utilizan una sonda fluorogénica y la actividad 5' nucleasa de la Taq polimerasa de ADN para detectar un producto de PCR específico a medida que se acumula durante la reacción, tal y como se detalla en la Figura 9.



**Figura 9.** Ensayos de expresión génica TaqMan. Los reactivos TaqMan utilizan una sonda fluorogénica y la actividad 5' nucleasa de la Taq polimerasa de ADN para detectar un producto específico de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a medida que se acumula durante la reacción (figura extraída de “Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System: Guía de reactivos” 2006, 2010)

La existencia de estas sondas fluorogénicas permite la detección en tiempo real únicamente de los productos de amplificación específicos. En la Tabla 5 se enumeran los ensayos de expresión Génica TaqMan® utilizados para el estudio de la expresión de los genes de interés.

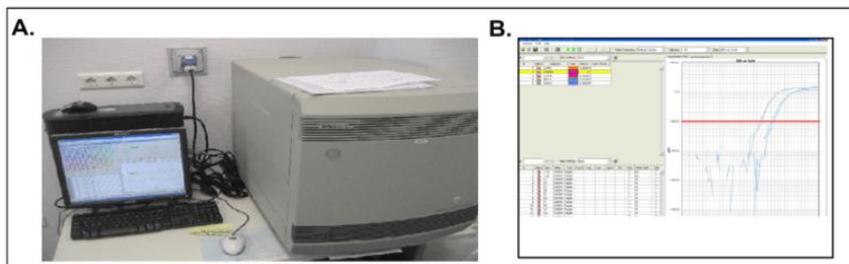
<b>Gen</b>	<b>Referencia</b>	<b>Longitud del amplicón (pb)</b>
<b>TLR2</b>	Hs00610101_m1	80
<b>TLR4</b>	Hs00152939_m1	
<b>TLR5</b>	Hs01019558_m1	
<b>MUC1</b>	Hs00159357_m1	
<b>MKP1</b>	Hs00610256_m1	
<b>MIF</b>	Hs00236988_m1	
<b>IL8</b>	Hs00174103_g1	
<b>GR<math>\alpha</math></b>	Hs00353740_m	
<b>GADPH</b>	4352339E	118

**Tabla 5.** Ensayos de Expresión Génica TaqMan® utilizados en la RT-PCR a tiempo real (Applied Biosystems). Definición de abreviaturas: TLR2: Receptor tipo Toll2; TLR4: receptor tipo Toll 4; TLR5: receptor tipo Toll 5; MUC1: mucina tipo 1; MKP1: Protein Kinasa Fosfatasa activadora de mitógeno 1 (“Mitogen Activated Protein Kinasa Phosphatase 1”); IL8: interleuquina 8; GR $\alpha$ : Receptor glucocorticoideo alfa; GADPH: Gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa (control endógeno).

Cada reacción de PCR contenía los siguientes componentes:

- 1  $\mu\text{L}$  de ADNc sintetizado en la transcripción inversa
- 5  $\mu\text{L}$  de TaqMan® Gene Expression Master Mix
- 0,5  $\mu\text{L}$  de la sonda y cebadores correspondientes
- 3,5  $\mu\text{L}$  de agua dietilpirocarbonato (DEPC).

La PCR se desarrolló en un termociclador 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) con las siguientes condiciones: un paso inicial de 2 minutos a 0°C, un ciclo de 10 minutos a 95°C y 40 ciclos de 15 segundos a 95°C seguidos de 1 minuto a 60°C (Figura 10).



**Figura 10.** RT-PCR a tiempo real. A. Termociclador 7900HT Fast Real-Time PCR System para la realización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real (RT-PCR). B. Software RQ Manager utilizado para el análisis de las curvas de amplificación obtenidas y la cuantificación de la expresión génica.

A partir de los datos de fluorescencia registrados se obtuvieron curvas de amplificación en las que se representaba el logaritmo de la intensidad de fluorescencia frente al número de ciclos transcurridos. Para medir la expresión de un determinado gen se utilizó el ciclo umbral (Cq), ciclo en el que se alcanza el nivel prefijado de fluorescencia. Cuantas más copias haya de ARNm de partida del gen estudiado, más ADNc se obtendrá en

la retrotranscripción inversa y antes comenzará la amplificación a ser exponencial.

La cuantificación relativa de los distintos genes diana se realizó con el método de comparación de Cq, utilizando el gen gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa (GAPDH) como control endógeno (gen de referencia) y normalizando los resultados al grupo control.

En este método se utiliza la siguiente ecuación:

$$\Delta\Delta Cq = \Delta Cq_1 - \Delta Cq_2$$

Siendo:

$$\Delta Cq_1 = (Cq \text{ gen diana} - Cq \text{ gen referencia}) \text{ de la muestra 1}$$

$$\Delta Cq_2 = (Cq \text{ gen diana} - Cq \text{ gen referencia}) \text{ de la muestra 2}$$

Para que la determinación a través de esta fórmula aritmética sea válida, debe cumplirse que la eficiencia de la reacción para el gen diana y para el gen de referencia sea aproximadamente igual. El proveedor de las sondas utilizadas en los experimentos garantiza que la eficiencia en las reacciones es de 1, lo que significa que en cada ciclo se dobla el contenido de producto (ADNc). Se estudió cada muestra por duplicado, se corrigieron los valores frente al gen referencia y se normalizaron frente al grupo control. Se calculó el valor  $2^{\Delta\Delta Cq}$  de los distintos grupos y se representó junto al grupo control, cuyo valor de  $2^{\Delta\Delta Cq}$  es igual a 1. El valor  $2^{\Delta\Delta Cq}$  equivale a la expresión relativa de ARNm de un determinado gen.

#### **3.3.4. Calidad de Vida**

Tras recibir los cuestionarios completados por los pacientes que aceptaron participar en el estudio, se calculó la puntuación total sumando la puntuación marcada por el paciente de cada uno de los 22 ítems. Así mismo, se anotaron cuáles eran los 5 peores síntomas para los pacientes, datos que forman también parte del cuestionario.

#### **3.3.5. Análisis estadístico**

El estudio estadístico se llevó a cabo en el Departamento de Estadística del Instituto de Investigación Sanitaria la Fe, siendo financiado por el Grupo de Investigación en Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, del que forma parte el codirector de esta tesis Prof. Armengot.

Los datos se definieron mediante la media  $\pm$  desviación estándar y la mediana (primer y tercer cuartil) en caso de variables cuantitativas, y mediante frecuencias absolutas y relativas en el caso de las variables categóricas.

Con el objetivo de medir la asociación entre la CdV con las distintas características clínicas y las características morfológicas, se estimaron dos modelos de regresión ordinal.

Con la finalidad de medir la asociación entre la respuesta a CC tópicos y sistémicos con las distintas características clínicas y las características morfológicas, se estimaron dos modelos de regresión ordinal. Se aplicó el logaritmo de IL-8 y de TLR4 para minimizar la influencia de los valores muy dispersos.

De todas las estimaciones realizadas se obtuvieron también los intervalos de confianza al 95% de los parámetros estimados. Para una mejor interpretación de los resultados, se diseñaron figuras de efectos condicionales.



## **4. RESULTADOS**



## 4.1. DESCRIPCIÓN DE LOS DATOS

Se reclutaron los pacientes con RSCcPN de los cuales se disponían datos suficientes de los diferentes parámetros a estudiar mencionados anteriormente (n=62).

Las características clínicas de los pacientes, las características moleculares de los pólipos, el grado de eosinofilia y la puntuación en el cuestionario SNOT-22 se definen, según los 6 grupos mencionados previamente, en la Tabla 6.

La edad media de los pacientes del estudio fue de 55.4 años, con un 54.84% de mujeres. El 38.7% presentaban alergia, el 70.87% asma y el 56.45% intolerancia a AINEs. El porcentaje de fumadores era alrededor del 15%.

El GE de PN se clasificó como ya se ha mencionado de 0 a 4, y la puntuación media para ambas fosas nasales fue cercana al grado 3. El GRad fue próximo a 16 sumando la puntuación de ambas fosas. La media de intervenciones quirúrgicas era cercana a 1.

El corticoide tópico más utilizado fue Mometasona Fuorato (MF) y en cuanto a los CC sistémicos se utilizó mayoritariamente prednisona (P). Utilizando el grado de respuesta a CC descrita en el apartado 3.2.3, la respuesta media fue de 1.3 para el tratamiento con CC tópicos y de 2.38 para el tratamiento con CC sistémicos. Se observó corticoresistencia en el 27% de los pacientes.

El microorganismo más frecuente en los cultivos fue *Staphylococcus epidermidis* (37.04%), seguido de *Staphylococcus aureus* (22.22%) y *Pseudomona aeruginosa* (18.52%).

La media de eosinófilos en tejido de pólipo nasal fue del 46%, con valores más elevados en los grupos PN-AIA, PN-AIA-CR, PN-ATA y PNsA. El valor de MUC1 fue de 1.02, siendo los valores más bajos en los grupos PN-AIA-CR y PNsA-CR. La media del valor de la expresión de MKP1 fue de 0.99 y de 1.01 para MIF. GR $\alpha$  tuvo un valor medio de 0.8, IL-8 de 11.1, TLR2 de 1.57, TLR 4 de 2.59 y TLR5 de 1.37.

La media de la puntuación del cuestionario SNOT-22 fue de 39.79, con una desviación estándar de 28.01, y la mediana fue de 35. Los valores máximos correspondían a los grupos con PN-AIA y PN-AIA-CR. Así pues, los grupos de pacientes que presentan tríada ASA, obtienen puntuaciones mayores en el cuestionario, por lo que tienen una peor CdV.

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
	<b>n=27</b>	<b>n=8</b>	<b>n=7</b>	<b>n=2</b>	<b>n=11</b>	<b>n=7</b>	<b>n = 62</b>
	Media(DS)/n(%)	Media(DS)/n(%)	Media(DS)/n(%)	Media(DS)/n(%)	Media(DS)/n(%)	Media(DS)/n(%)	Media(DS)/ n(%)
	Mediana (Q1,Q3)	Mediana (Q1,Q3)	Mediana (Q1,Q3)	Mediana (Q1,Q3)	Mediana (Q1,Q3)	Mediana (Q1,Q3)	Mediana (Q1,Q3)
<b>Edad</b>							
	56.44 (13.7)	49.88 (15.9)	56.29 (8.6)	70.5 (12.0)	57.36 (11.8)	49.43 (14.7)	55.4 (13.4)
	56 (48, 67.5)	49 (35.5, 58.3)	55 (52, 61.5)	70.5(66.3, 74.8)	58 (49, 66.5)	52 (41.5, 6)	56 (45.8, 66)
<b>Sexo</b>							
M	19 (70.4%)	6 (75%)	4 (57.1%)	1 (50%)	2 (18.2%)	2 (28.6%)	34 (54.8%)
V	8 (29.6%)	2 (25%)	3 (42.9%)	1 (50%)	9 (81.8%)	5 (71.4%)	28 (45.2%)
<b>Alergia</b>							
No	15 (55.6%)	4 (50%)	4 (57.1%)	1 (50%)	8 (72.7%)	6 (85.7%)	38 (61.3%)
Si	12 (44.4%)	4 (50%)	3 (42.9%)	1 (50%)	3 (27.3%)	1 (14.3%)	24 (38.7%)
<b>Fumador</b>							
No	23 (85.2%)	8 (100%)	6 (85.7%)	2 (100%)	9 (81.8%)	5 (71.4%)	53 (85.5%)

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
<b>Si</b>	4 (14.8%)	0 (0%)	1 (14.3%)	0 (0%)	2 (18.2%)	2 (28.6%)	9 (14.5%)
<b>Asma</b>							
No	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	11 (100%)	7 (100%)	18 (29.0%)
<b>Si</b>	27 (100%)	8 (100%)	7 (100%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	44 (71.0%)
<b>Intolerancia a AINEs</b>							
No	0 (0%)	0 (0%)	7 (100%)	2 (100%)	11 (100%)	7 (100%)	27 (43.6%)
<b>Si</b>	27 (100%)	8 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	35 (56.5%)
<b>GE FND</b>							
	2.96 (0.9)	3.17 (0.4)	2.71 (1.0)	3.5 (0.7)	2.91 (0.7)	3 (0.6)	2.97 (0.8)
	3 (2, 4)	3 (3, 3)	2 (2, 3.5)	3.5(3.3,3.8)	3 (2.5, 3)	3 (3, 3)	3 (2, 4)
<b>GE FNI</b>							
	2.85 (1.1)	3.17 (0.41)	3 (0.8)	3.5 (0.7)	2.36 (1.0)	2.71 (1.0)	2.82 (1.0)
	3 (2, 4)	3 (3, 3)	3 (2.5, 3.5)	3.5 (3.3, 3.8)	2 (2, 3)	3 (2.5, 3)	3 (2, 4)

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
<b>GR</b>							
	17.6 (6.9)	18 (7.6)	13.83 (6.5)	16 (11.3)	13.36 (5.4)	13.6 (3.05)	15.96 (6.6)
	20 (12, 24)	21 (13.5, 24)	15 (12.5, 18.3)	16 (12, 20)	12 (10, 18)	13 (12, 15)	16 (10.5, 22)
<b>Número de intervenciones quirúrgicas</b>							
	1.42 (1.2)	2.17 (1.2)	0.86 (0.7)	0.5 (0.7)	0.55 (0.5)	0.86 (0.4)	1.17 (1.0)
	1 (1, 2)	2 (1.3, 2.8)	1 (0.5, 1)	0.5 (0.3, 0.8)	1 (0, 1)	1 (1, 1)	1 (1, 2)
<b>CC tópicos</b>							
Bu	0 (0%)	0 (0%)	1 (14.3%)	1 (50%)	1 (9.1%)	0 (0%)	3 (5%)
FF	4 (14.81%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (18.2%)	1 (14.3%)	7 (11.7%)
FP	7 (25.9%)	2 (33.3%)	1 (14.3%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (42.9%)	13 (21.7%)
MF	16 (59.3%)	4 (66.7%)	5 (71.4%)	1 (50%)	8 (72.7%)	3 (42.9%)	37 (61.7%)
<b>CC sistémicos</b>							
AT	1 (3.7%)	0 (0%)	2 (28.6%)	0 (0%)	2 (33.3%)	1 (14.3%)	6 (10.9%)
Be	2 (7.41%)	2 (33.3%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (16.7%)	0 (0%)	5 (9.1%)

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
ByAT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (14.3%)	1 (1.8%)
D	12 (44.4%)	2 (33.3%)	5 (71.4%)	2 (100%)	3 (50%)	4 (57.1%)	28 (50.9%)
DyAT	8 (29.6%)	2 (33.3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	10 (18.2%)
DyBe	1 (3.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1.8%)
P	3 (11.1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (14.3%)	4 (7.3%)
<b>Respuesta a CC tópicos</b>							
0	8 (29.6%)	4 (66.7%)	4 (57.1%)	1 (50%)	3 (27.3%)	4 (57.1%)	24 (40%)
1	12 (44.4%)	2 (33.3%)	1 (14.3%)	1 (50%)	1 (9.09%)	2 (28.6%)	19 (31.7%)
2	0 (0%)	0 (0%)	1 (14.3%)	0 (0%)	2 (18.2%)	0 (0%)	3 (5%)
3	1 (3.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (9.1%)	1 (14.3%)	3 (5%)
4	6 (22.2%)	0 (0%)	1 (14.3%)	0 (0%)	4 (36.4%)	0 (0%)	11 (18.3%)
<b>Grado de respuesta a CC tópicos</b>							
	1.44 (1.5)	0.33 (0.5)	1 (1.5)	0.5 (0.7)	2.18 (1.7)	0.71 (1.1)	1.3 (1.5)
	1 (0, 2)	0 (0, 0.8)	0 (0, 1.5)	0.5 (0.3, 0.8)	2 (0.5, 4)	0 (0, 1)	1 (0, 2)

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
<b>Respuesta a CC sistémicos</b>							
0	0 (0%)	4 (66.7%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	7 (100%)	13 (22.4%)
1	0 (0%)	2 (33.3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (3.5%)
2	9 (33.3%)	0 (0%)	1 (16.7%)	0 (0%)	1 (10%)	0 (0%)	11 (19.0%)
3	9 (33.3%)	0 (0%)	2 (33.3%)	0 (0%)	3 (30%)	0 (0%)	14 (24.1%)
4	9 (33.3%)	0 (0%)	3 (50%)	0 (0%)	6 (60%)	0 (0%)	18 (31.0%)
<b>Grado de respuesta a CC sistémicos</b>							
	3 (0.8)	0.33 (0.5)	3.33 (0.8)	0 (0)	3.5 (0.71)	0 (0)	2.38 (1.52)
	3 (2, 4)	0 (0, 0.75)	3.5 (3, 4)	0 (0, 0)	4 (3, 4)	0 (0, 0)	3 (1.25, 4)
<b>Corticoresistencia</b>							
NO	27 (100%)	0 (0%)	7 (100%)	0 (0%)	11 (100%)	0 (0%)	45 (72.58%)
SI	0 (0%)	8 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	7 (100%)	17 (27.42%)
<b>CVF</b>							

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
	99.7 (18.17)	103.2 (18.2)	98.2 (12.9)	88.5 (38.9)	93 (19.3)	78.23 (16.0)	97.5 (18.5)
	97.9(88.5, 110.0)	108.3(96.9,115.5)	97.2 (93.2, 1)	88.5(74.8, 102.3)	101 (86, 104)	70 (69, 83.4)	97.2(82.9, 109.8)
<b>VEF</b>							
	88.9 (18.1)	100.4 (23.7)	88.42 (20.3)	83.5 (33.2)	87.33 (21.1)	66.97 (22.3)	88.53 (20.3)
	89.7(72.2, 103.9)	97.8 (89.9, 118.0)	101 (69.2, 103.2)	83.5 (71.8, 95.3)	98 (80.5, 99.5)	60 (54.5, 76.0)	92.4(69.9, 103.4)
<b>Germen</b>							
BC	1 (6.67%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3.7%)
EC	1 (6.7%)	1 (33.3%)	1 (33.3%)	0 (0%)	1 (25%)	0 (0%)	4 (14.8%)
MC	1 (6.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3.7%)
PA	1 (6.7%)	1 (33.3%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (50%)	1 (50%)	5 (18.5%)
SA	4 (26.7%)	1 (33.3%)	1 (33.3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (22.2%)
SE	7 (46.7%)	0 (0%)	1 (33.3%)	0 (0%)	1 (25%)	1 (50%)	10 (37.0%)

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
<b>Eosinófilos (%)</b>							
	51.5 (24.2)	63.3 (20.6)	54.2 (30.7)	25 (7.1)	40.8 (31.7)	18.1 (23.5)	45.9 (28.0)
	50.0 (30.0, 71.3)	65.0 (45.0, 77.5)	65.0 (27.5, 8.0)	25.0 (22.5, 27.5)	40.0 (10.0, 67.5)	10.0 (7.5, 15)	50.0 (20.0, 7.0)
<b>MUC1</b>							
	1.2 (0.85)	0.29 (0.22)	1.08 (1.12)	1.0 (0.1)	1.14 (0.5)	0.8 (0.7)	1.02 (0.8)
	1.01 (0.7, 1.4)	0.25 (0.2, 0.4)	0.67 (0.4, 1.1)	1.0 (0.97, 1.0)	1.2 (0.8, 1.4)	0.56 (0.3, 1.1)	0.86 (0.5, 1.2)
<b>MKP1</b>							
	0.8 (0.5)	0.2 (0.2)	0.7 (0.4)	1.6 (2.1)	1.0 (0.4)	1.0 (1.1)	0.8 (0.7)
	0.6 (0.4, 1.0)	0.1 (0.0, 0.3)	0.7 (0.4, 1)	1.6 (0.9, 2.4)	1.0 (0.8, 1.2)	0.6 (0.2, 1.3)	0.7 (0.3, 1.1)
<b>MIF</b>							
	1.1 (1.0)	0.9 (0.2)	0.9 (0.3)	1.0 (0.1)	1.1 (0.9)	0.9 (0.5)	1.0 (0.8)
	0.9 (0.8, 1.0)	0.9 (0.8, 1.0)	0.9 (0.8,1.0)	1.0 (0.95, 1)	0.9 (0.7, 1.1)	0.9 (0.7, 1.0)	0.9 (0.8, 1.0)
<b>GR<math>\alpha</math></b>							
	0.8 (0.5)	549 (0.4)	0.7 (0.7)	0.8 (0.4)	1.1 (0.67)	0.7 (0.31)	0.8 (0.6)

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
	0.7 (0.5, 1.0)	0.3 (0.3, 0.7)	0.6 (0.2, 0.8)	0.82 (0.7, 1.0)	0.9 (0.7, 1.2)	0.8 (0.5, 0.9)	0.71 (0.4, 1.0)
<b>IL-8</b>							
	6.7 (10.7)	73.1 (95.5)	1.4 (0.76)	4.52 (5.35)	1.46 (1.18)	1.51 (1)	11.1 (35.81)
	3.1 (0.7, 5.9)	17.1(10.1, 111.4)	1.2 (1.0, 1.3)	4.52 (2.6, 6.4)	1.19 (0.6, 2.3)	1.61 (1.11, 2.0)	1.43 (0.8, 4.2)
<b>TLR2</b>							
	1.2 (1.0)	4.59 (2.7)	0.9 (0.5)		1.1 (0.5)	1.1 (0.3)	1.8 (1.7)
	1 (0.6, 1.4)	4.7 (2.8, 6.4)	0.97 (0.6, 1.0)		1.0 (0.9, 1.2)	1.0 (0.9, 1.3)	1.0 (0.8, 1.4)
<b>TLR4</b>							
	1.6 (2.2)	17.2 (27.7)	0.7 (0.3)	3.1 (3.7)	1.32 (1.4)	1.1 (1.3)	2.59 (8.1)
	0.8 (0.34, 1.5)	4.1 (3.4, 17.8)	0.67 (0.5, 1)	3.1 (1.8, 4.4)	1.0 (0.5, 1.2)	0.5 (0.4, 1.1)	0.79 (0.4, 1.5)
<b>TLR5</b>							
	1.3 (1.3)	2.7 (2.4)	1.1 (0.7)	1.35 (0.5)	1.0 (0.4)	1.5 (0.8)	1.4 (1.3)
	0.7 (0.5, 1.8)	1.86 (1.2, 4)	1 (0.7, 1.3)	1.35 (1.2, 1.5)	1.1 (0.6, 1.3)	1.0 (1, 1.7)	1 (0.7, 1.5)

Var	PN-AIA	PN-AIA-CR	PN-ATA	PN-ATA-CR	PNsA	PNsA-CR	Total
<b>SNOT-22</b>							
	49.7 (22.8)	62.7 (51.2)	38.2 (26.1)	9.0	13.9 (14.5)	19.5 (16.3)	39.8 (28.0)
	40.5 (34.3, 65.8)	86.0 (45, 9)	34.5 (14.8, 58.8)	9.0 (9.0, 9.0)	10.0 (5.3, 17.5)	19.5 (13.8, 25.3)	35.0 (17.0, 60.5)

**Tabla 6.** Estudio descriptivo de los datos. Var variable, GE Grado endoscópico, FND fosa nasal derecha, FNI fosa nasal izquierda, N<sup>o</sup> IQ número de intervenciones quirúrgicas, Bu Budesonida; MF Mometasona Furoato, FF Fluticasona Furoato, FP Flutiasona Propionato, D Dexametasona, AT Triamcinolona acetónido, Be Betametasona, P Prednisona, CVF Capacidad Vital Forzada, VEF Volumen Espiratorio Forzado, BC Bordetella catarrhalis, EC Echerichia coli, MC Moraxella catarrhalis, PA Pseudomona aeruginosa, SA Streptococcus aureus, SE Streptococcus epidermidis.

## 4.2. CUESTIONARIO DE CALIDAD DE VIDA SNOT-22

De los 62 pacientes de los cuales teníamos datos, se obtuvo el cuestionario SNOT-22 (anexo 4) y el consentimiento (anexo 3) para realizar el análisis con los datos de este cuestionario en 42 pacientes. De los 20 pacientes que se perdieron, 2 habían sido exitus, 1 no quiso participar en el estudio, a 9 se les entregó el cuestionario, pero no lo entregaron de nuevo completado, y no se consiguió contactar con los 8 pacientes restantes.

Los pacientes describieron como síntomas peores los siguientes: alteraciones en el gusto/olfato (69.05%), congestión/obstrucción nasal (64.29%), secreción nasal continua (42.86%), dolor de oído (28.57%), fatiga o cansancio (26.19%) y necesidad de sonarse la nariz (26.19%) como se muestra en la Tabla 7. La puntuación media del cuestionario fue de 39.76.

Síntoma del cuestionario	%
Necesidad de sonarse la nariz	26.19
Estornudos	19.05
Secreción nasal continua	42.86
Congestión u obstrucción nasal	64.29
Alteraciones del gusto/olfato	69.05
Tos	9.52

Sensación de moco que cae por la parte posterior de la garganta	9.52
Secreción nasal espesa	21.43
Dolor de oído	28.57
Mareo	4.76
Sensación de oído taponado	4.76
Dolor/presión facial	14.29
Dificultad para quedarse dormido	4.76
Se despierta durante la noche	9.52
Dormir mal por la noche	16.67
Se despierta cansado	14.29
Fatiga o cansancio	26.19
Disminución en el rendimiento/productividad	2.38
Disminución en la concentración	4.76
Frustrado/inquieto/irritable	14.29
Triste	9.52
Avergonzado	4.76

**Tabla 7.** Porcentaje de pacientes que ha marcado cada uno de los ítems del cuestionario como uno de los 5 peores.

#### 4.2.1. Asociación entre la CdV según el cuestionario SNOT-22 y los parámetros clínicos

Se ha analizado si existe alguna asociación entre la CdV y los parámetros clínicos edad, sexo, alergia, fumador, asma, intolerancia a AINEs, GE de poliposis, GRad de poliposis, respuesta a CC tópicos y respuesta a CC sistémicos. Se encontró asociación entre peor calidad de vida y mayor grado endoscópico de poliposis (de forma anecdótica esta correlación era mayor en fosa nasal izquierda). No hubo correlación estadística con el GRad (Tabla 8).

	Est	Error estánd	Est exp	Límite inf 95%	Límite sup 95%	P
<b>GRad</b>	0.09	0.07	1.09	0.96	1.25	0.19
<b>GE FNI</b>	-0.91	0.43	0.40	0.17	0.93	0.04
<b>GE FND</b>	0.93	0.55	2.54	0.88	7.70	0.09
<b>CC tópicos</b>	0.378	0.27	1.46	0.867	2.49	0.16
<b>CC sistémicos</b>	-0.445	0.35	0.64	0.32	1.24	0.20
<b>Alergia</b>	-0.07	0.69	0.93	0.24	3.58	0.92
<b>Fumador</b>	0.19	0.82	1.21	0.24	6.22	0.81
<b>Asma</b>	2.27	1.28	9.65	0.86	134.32	0.08
<b>AINES</b>	1.07	1.03	2.90	0.40	24.60	0.30
<b>Edad</b>	-0.02	0.03	0.98	0.93	1.04	0.54

<b>Sexo</b>	-0.10	0.77	0.901	0.20	4.18	0.90
<b>AIC</b>	312.75					

**Tabla 8.** Asociación entre la CdV según el cuestionario SNOT-22 y los parámetros clínicos. GE FNI: grado endoscópico de poliposis nasosinusal en la fosa nasal izquierda. Est: estimación. Error Estánd: error estándar. Est exp: estimación exponencial. Límite sup: límite superior. Límite inf: límite inferior. GE FND: grado endoscópico de poliposis nasosinusal en la fosa nasal derecha. CC tópicos: respuesta al tratamiento con CC tópicos. CC sistémicos: respuesta al tratamiento con CC sistémicos. AINES: intolerancia a AINES. AIC: criterio de información de Akaike, medida de bondad de ajuste de un modelo estadístico

#### 4.2.2. Asociación entre la CdV según el cuestionario SNOT-22 y los parámetros moleculares

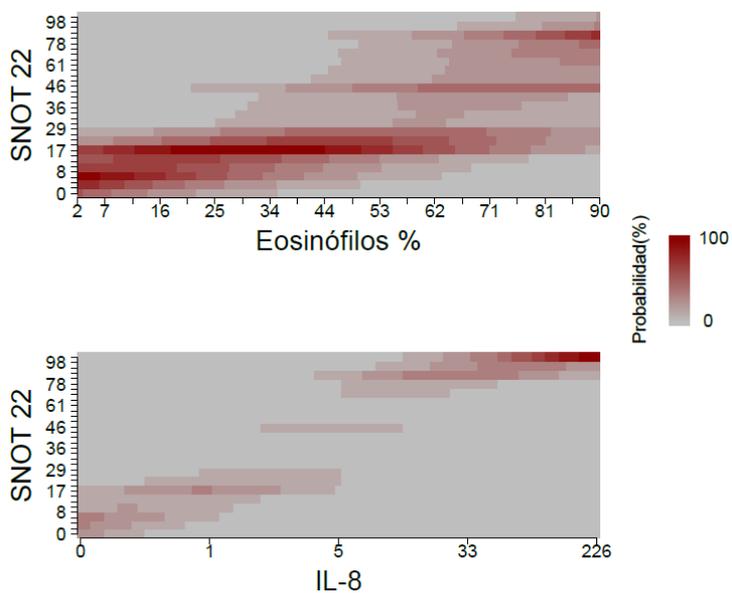
Si tenemos en cuenta todos los parámetros moleculares de que disponemos, se establece una asociación entre el incremento de IL-8 y mayor puntuación en el cuestionario SNOT-22 (Tabla 9).

Como se ejemplifica en la Figura 11, a mayor expresión de IL-8, existe una mayor probabilidad de que existan valores elevados en el cuestionario SNOT-22. Del mismo modo, existe una relación entre el grado de eosinófilos en tejido de pólipo nasal y una peor CdV (puntuación elevada en el cuestionario SNOT-22).

	<b>Est</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Est exp</b>	<b>Límite inf 95%</b>	<b>Límite sup 95%</b>	<b>P</b>
<b>IL-8_log</b>	1.59	0.57	4.90	1.64	16.76	0.01

<b>MUC1</b>	0.58	0.91	1.79	0.20	11.31	0.52
<b>MKP1</b>	1.03	0.91	2.81	0.43	17.62	0.26
<b>MIF</b>	-4.36	2.80	0.01	0	2.58	0.12
<b>GR<math>\alpha</math></b>	-1.78	1.11	0.167	0.02	1.38	0.11
<b>TLR2</b>	-1.845	1.13	0.16	0.02	1.40	0.10
<b>TLR4_log</b>	-0.91	0.63	0.40	0.09	1.22	0.15
<b>TLR5</b>	1.46	1.88	4.29	0.12	215.58	0.44
<b>Eosinófilos (%)</b>	0.06	0.023	1.06	1.01	1.12	0.02
<b>AIC</b>	180.86					

**Tabla 9.** Asociación entre SNOT-22 y los parámetros moleculares



**Figura 11.** Asociación entre SNOT-22, eosinofilia y IL-8.

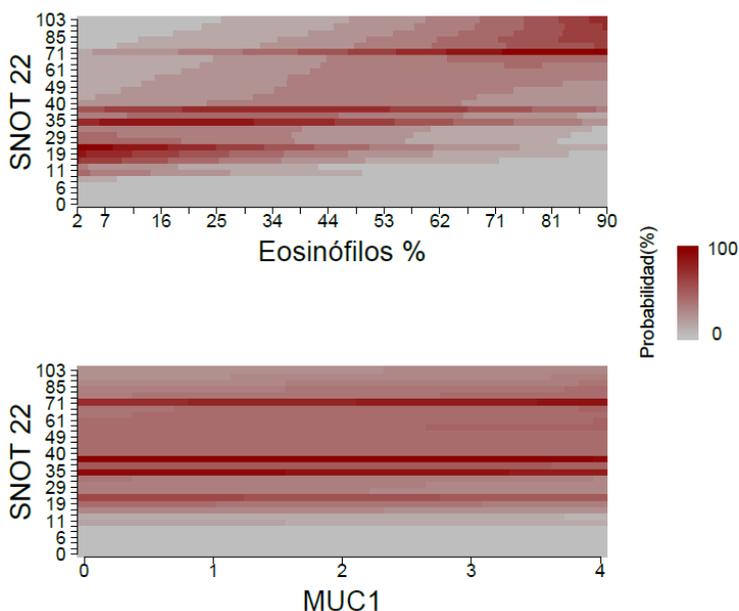
#### 4.2.3. Asociación entre la CdV según el cuestionario SNOT-22 y eosinofilia, expresión de MUC1, intolerancia a AINEs y asma

Teniendo en consideración las variables morfológicas eosinofilia y expresión de MUC1, y las variables clínicas asma e intolerancia a AINEs, sigue existiendo una asociación significativa entre valores elevados de eosinófilos en tejido de pólipo nasal y puntuación elevada en el cuestionario SNOT-22 ( $p=0.008$ ), hecho que añade mayor potencia a esta asociación. En este caso, también se obtiene una asociación entre la intolerancia a AINEs y una peor CdV, asociación que no se había observado al analizar todas las variables clínicas con SNOT-22 (Tabla 10).

	Est	Error estándar	OR	Límite inf 95%	Límite sup 95%	P
<b>Eosinofilos (%)</b>	0.03	0.01	1.03	1.01	1.06	0.01
<b>MUC1</b>	0.07	0.334	1.07	0.54	2.06	0.83
<b>Asma</b>	1.67	0.99	5.31	0.79	41.27	0.09
<b>Intolerancia AINEs</b>	1.96	0.96	7.09	1.18	51.99	0.04
<b>AIC</b>	286.12					

**Tabla 10.** Análisis de la asociación entre SNOT-22 y el porcentaje de eosinófilos en tejido, la expresión de MUC1, la presencia de asma y de intolerancia a AINEs.

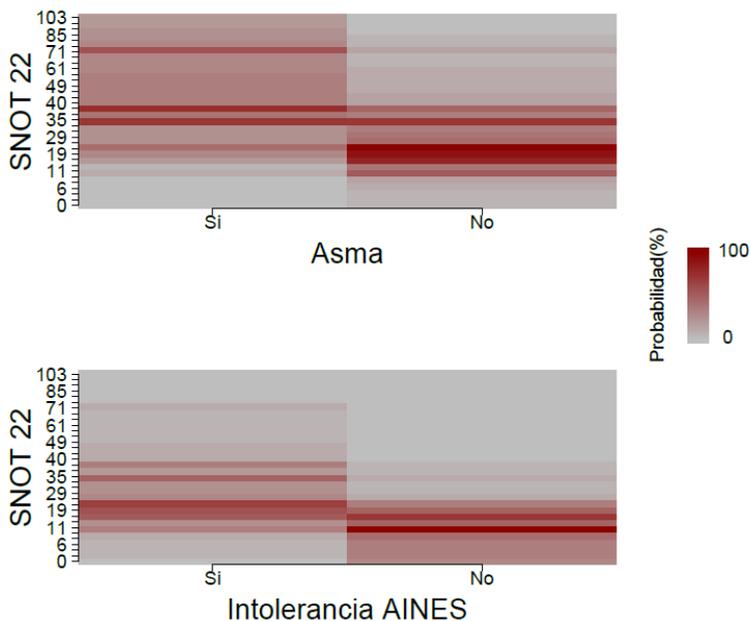
En la Figura 12 se puede apreciar gráficamente como a mayor porcentaje de eosinófilos se obtiene una mayor probabilidad de que existan valores elevados en el cuestionario SNOT-22. Por el contrario, la probabilidad de obtener cada uno de los valores de SNOT-22 se mantiene estable para la diferente expresión de MUC1 ya que no existe una asociación significativa.



**Figura 12.** Asociación entre el porcentaje de Eosinófilos y la expresión de MUC1, y la CdV medida mediante el cuestionario SNOT-22.

En la Figura 13 se puede ver gráficamente que en pacientes que no presentan intolerancia a AINEs existe una probabilidad elevada de obtener valores de SNOT-22 bajos (colores más oscuros en el gráfico). En cambio, para pacientes con intolerancia a AINEs hay mayor probabilidad de ob-

tener valores intermedios y también elevados en el cuestionario SNOT-22 y, por tanto, presentan una peor CdV.



**Figura 13.** Asociación entre la intolerancia a AINES y la presencia de asma con la CdV medida mediante el cuestionario SNOT-22.

### 4.3. RESPUESTA A CC

En la Tabla 6 se ha descrito de forma descriptiva el número absoluto y el porcentaje de pacientes que se ha tratado con los diferentes tipos de CC tópicos y sistémicos. Por otra parte, se ha expuesto la media y la mediana de la puntuación de la respuesta al tratamiento con CC tópicos y sistémicos por grupos y de forma global.

### 4.3.1. Asociación entre la respuesta al tratamiento con CC y el porcentaje de eosinófilos, la expresión de MUC1, la presencia de asma o de intolerancia a AINES

El porcentaje elevado de eosinófilos en tejido de pólipo nasal se asocia con una mayor respuesta al tratamiento con CC sistémicos, teniendo en cuenta la influencia de la expresión de MUC1, la presencia de asma o de intolerancia a AINES (Tabla 11).

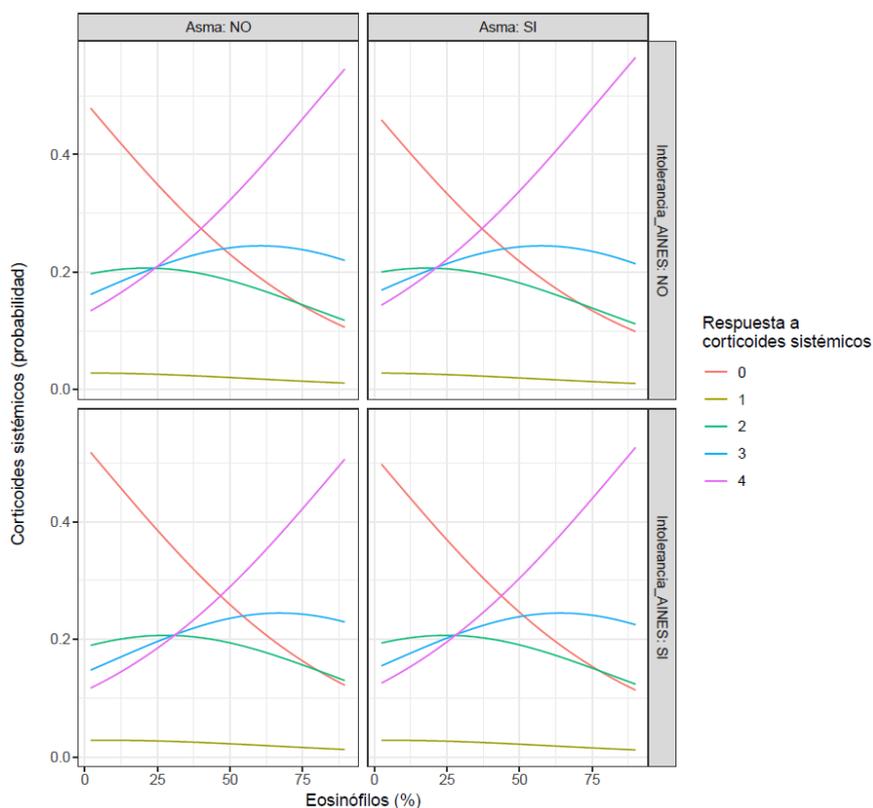
No se ha establecido una relación entre los valores de expresión de MUC1, la presencia de asma o de intolerancia a AINES con la respuesta al tratamiento con CC sistémicos.

	Est	Error están	Est exp	Límite inf 95%	Límte sup 95%	P
<b>Eosinófilos</b>	0.02	0.01	1.02	1.00	1.05	0.03
<b>MUC1</b>	0.44	0.30	1.56	0.87	2.90	0.14
<b>Asma</b>	0.07	0.84	1.07	0.21	5.67	0.93
<b>Intolerancia AINES</b>	-0.16	0.74	0.86	0.19	3.66	0.83
<b>AIC</b>	160.59					

**Tabla 11.** Resultado modelo ordinal, análisis entre el porcentaje de eosinófilos, expresión de MUC1, asma e intolerancia a AINES y la respuesta a CC sistémicos

Como se visualiza en la Figura 14 , donde en el eje X se representa el

porcentaje de eosinófilos y en el eje Y la probabilidad de respuesta al tratamiento con CC sistémicos, a valores bajos de eosinófilos en tejido, existe elevada probabilidad de obtener una respuesta 0 con el tratamiento con CC sistémicos. Por el contrario, a valores elevados de eosinófilos, existe una mayor probabilidad de obtener una respuesta tipo 4. Este fenómeno se mantiene en los 4 tipos de pacientes representados en la Figura 14, según tengan o no asma o intolerancia a AINEs.



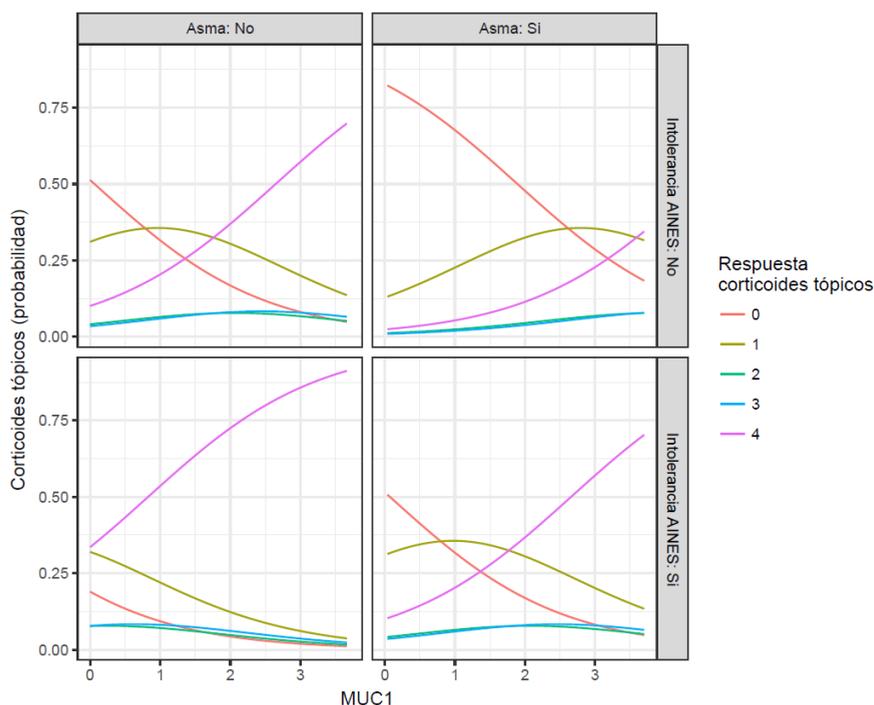
**Figura 14.** Relación entre la respuesta a CC sistémicos y el porcentaje de eosinófilos en tejido de pólipo nasal, considerando los pacientes que presentan asma, intolerancia a AINEs.

La respuesta a CC tópicos se asocia significativamente con la expresión de MUC1, teniendo en cuenta la influencia de eosinofilia, asma e intolerancia a AINEs (Tabla 12). En general en todos los grupos de pacientes representados en la Figura 15 se mantiene que a mayor expresión de MUC1, la probabilidad de obtener un grado de respuesta a CC tópicos de 0 disminuye, mientras aumenta la probabilidad de obtener una respuesta tipo 4. Aunque para el grupo con asma y sin intolerancia a AINEs con valores de MUC1 elevados la probabilidad de respuesta de 1 y 4 es similar.

Por otra parte, no se ha establecido una relación entre la respuesta al tratamiento con CC tópicos y los valores de eosinófilos, la presencia de asma o de intolerancia a AINEs.

	Est	Error estánd	Est exp	Límite inf 95%	Límite sup 95%	P
<b>Eosinófilos</b>	-0.00	0.01	0.99	0.98	1.02	0.79
<b>MUC1</b>	0.76	0.32	2.13	1.16	4.13	0.02
<b>Asma</b>	-1.20	0.89	0.30	0.05	1.62	0.16
<b>Intolerancia AINEs</b>	0.84	0.83	2.31	0.46	13.61	0.31
<b>AIC</b>	146.74					

**Tabla 12.** Resultado modelo ordinal, análisis entre el porcentaje de eosinófilos, expresión de MUC1, asma e intolerancia a AINEs y la respuesta a CC tópicos.



**Figura 15.** Asociación entre la expresión de MUC1 y la respuesta al tratamiento con CC tópicos, considerando los pacientes que presentan asma, intolerancia a AINEs.

### 4.3.2. Asociación entre la respuesta al tratamiento con CC y las diferentes variables moleculares

Si tenemos en cuenta todos los valores de las variables moleculares del estudio y no exclusivamente MUC1 y eosinofilia como en el apartado anterior, no se encuentran asociaciones entre la respuesta a CC tópicos y la expresión de MUC1. Del mismo modo, tampoco se encuentran asociaciones con el resto de variables moleculares del estudio (Tabla 13).

	<b>Est</b>	<b>Error están</b>	<b>Est exp</b>	<b>Límite inf 95%</b>	<b>Límite sup 95%</b>	<b>P</b>
<b>IL-8 (log)</b>	-0.06	0.34	0.94	0.46	1.84	0.86
<b>MUC1</b>	0.61	0.60	1.84	0.58	6.32	0.31
<b>MKP1</b>	0.01	0.75	1.01	0.23	4.75	0.99
<b>MIF</b>	-0.3	1.39	0.74	0.05	13.51	0.83
<b>GR<math>\alpha</math></b>	-0.46	0.73	0.63	0.15	2.70	0.53
<b>TLR2</b>	0.73	0.84	2.08	0.40	11.33	0.38
<b>TLR4 (log)</b>	-0.71	0.44	0.49	0.20	1.14	0.11
<b>TLR5</b>	-0.09	0.69	0.92	0.23	3.61	0.90
<b>AIC</b>	121.02					

**Tabla 13.** Análisis modelo ordinal para la respuesta a CC tópicos y las variables moleculares

Tampoco se encuentran asociaciones entre la respuesta al tratamiento con CC sistémicos y las diferentes variables moleculares del estudio (Tabla 14).

	<b>Est</b>	<b>Error están</b>	<b>Est exp</b>	<b>Límite inf 95%</b>	<b>Límite sup 95%</b>	<b>P value</b>
<b>IL-8 (log)</b>	-0.25	0.32	0.78	0.40	1.47	0.44
<b>MUC1</b>	-0.16	0.60	0.85	0.25	2.78	0.79
<b>MKP1</b>	0.460	0.79	1.58	0.37	8.36	0.56
<b>MIF</b>	1.50	1.73	4.47	0.31	7.81	0.66
<b>GR<math>\alpha</math></b>	0.35	0.80	1.42	0.31	7.81	0.66
<b>TLR2</b>	0.87	0.88	2.39	0.43	14.22	0.32
<b>TLR4 (log)</b>	-0.39	0.40	0.68	0.29	1.48	0.33
<b>TLR5</b>	-0.86	0.80	0.42	0.08	2.15	0.28
<b>AIC</b>	105.41					

**Tabla 14.** Análisis modelo ordinal para la respuesta a CC sistémicos y las variables moleculares



## **5. DISCUSIÓN**



En esta tesis doctoral se proporcionan nuevas evidencias de la influencia de los eosinófilos en la CdV de los pacientes afectados de RSCcPN determinada mediante el cuestionario SNOT-22. También se demuestra el papel de la eosinofilia y MUC1 en la mediación de la respuesta a los CC orales y tópicos en pacientes afectados de RSCcPN. A continuación, para ordenar la discusión, se resumen los principales resultados obtenidos, que hacen referencia a los objetivos planteados:

1. Se ha encontrado una asociación entre puntuaciones elevadas en el cuestionario SNOT-22 y los parámetros eosinofilia y expresión de IL-8. Del mismo modo, se ha definido esta asociación para la intolerancia a AINEs cuando se realiza el análisis conjuntamente con la influencia de asma, eosinofilia y expresión de MUC1. También se ha encontrado una asociación con el GE.
2. No se ha establecido una asociación entre expresión de MUC1 y CdV en los pacientes afectados de RSCcPN.
3. Los pacientes con valores de eosinófilos elevados muestran una mejor respuesta a los CC orales.
4. Los pacientes con buena respuesta al tratamiento con CC tópicos presentan niveles de MUC1 elevados.

## **5.1. CALIDAD DE VIDA**

Hasta la fecha, se ha elaborado una variedad de instrumentos específicos para medir la CdV en pacientes con condiciones rinológicas, inclu-

yendo RSDI, CSS y SNOT-22. El consenso EPOS 2020 recomienda el uso de SNOT-22 en pacientes con RSC. Aunque no está claro el papel de un cuestionario de CdV en RSA, la mayoría de los autores que conforman el comité organizativo de la guía EPOS 2020 apoya la utilización de cuestionarios generales SF-36 o SF-12, o el cuestionario específico SNOT-22. En población pediátrica el único cuestionario validado para RSC es el Sinus and Nasal Quality of Life Survey (SN-5)<sup>5</sup>. A pesar de estar validados para evaluar el impacto de la enfermedad en la CdV, estos cuestionarios nos permiten valorar la evolución de la enfermedad en el tiempo y su variación con el tratamiento médico o quirúrgico<sup>111</sup>.

El cuestionario de CdV SNOT-22 es un instrumento validado, fácilmente aplicable que incluye los síntomas principales para el diagnóstico de RSC descritos en el documento EPOS 2020. Contiene 22 preguntas, los 12 primeros ítems cubren síntomas físicos (1-12) y los últimos diez (13-22) cubren aspectos de CdV relacionada con la salud. La severidad de los síntomas se mide del 0 al 5: ningún problema (0), problema muy leve (1), problema leve (2), problema moderado (3), problema grave/severo (4), el problema ha llegado al máximo de su gravedad (5).

La RSC es una enfermedad prevalente de origen multifactorial y tiene un impacto considerable tanto a nivel personal como económico. En los últimos años se ha destacado la CdV de los pacientes. El cuestionario SNOT-22, validado por Hopkins et al<sup>90</sup> es el instrumento disponible más efectivo para evaluar la severidad y el impacto en los síntomas clínicos de RSC. Un estudio publicado por Abdalla et al, evaluó la prevalencia y severidad de los síntomas individuales de RSC en pacientes que se sometían a cirugía, concluyendo que la prevalencia de los síntomas en

pacientes con RSCsPN eran, en orden de frecuencia bloqueo nasal, seguido de alteraciones del gusto/olfato, y necesidad de sonarse la nariz. En pacientes con RSCcPN también el síntoma más prevalente era bloqueo nasal, seguido de alteraciones del gusto/olfato, y despertarse cansado<sup>117</sup>.

En nuestro estudio, los pacientes presentaban una media de puntuación SNOT-22 de 39.76. En un estudio publicado por Lal et al, en el que se incluyeron pacientes con RSCsPN se obtuvo una mediana de puntuación de SNOT-22 de 43<sup>118</sup>.

En el presente trabajo de tesis doctoral se ha establecido que los pacientes con intolerancia a AINEs presentan una mayor puntuación en el cuestionario SNOT-22, al analizar también su asociación con eosinofilia y expresión de MUC1. Existe un estudio previo en población danesa, que investigó la prevalencia de RSC en pacientes con intolerancia a AINEs, y se determinó también la puntuación en el cuestionario SNOT-22 para estos pacientes, que se vió que fue superior respecto a los pacientes con RSC sin intolerancia a AINEs, aunque no se analizó si esta asociación tenía significación estadística<sup>119</sup>. En nuestro estudio en cambio, se ha encontrado una asociación estadísticamente significativa entre estos dos parámetros. Se conoce que los pacientes con RSC e intolerancia a AINEs tienen una peor evolución de la enfermedad<sup>119</sup>. Así pues, es de esperar que estos pacientes tengan una peor calidad de vida, tal y como se ha demostrado en este trabajo. Por otra parte esta relación no se ha encontrado al realizar el análisis con todas las variables clínicas. En un futuro se podría realizar este análisis con un mayor tamaño muestral.

También se ha demostrado que existe una mayor puntuación en el cuestionario SNOT-22 en pacientes con mayor GE de PN en la fosa nasal izquierda. El hecho que no se haya demostrado su asociación con el GE de PN en la fosa nasal derecha puede deberse a la influencia del resto de parámetros clínicos en el análisis. En cualquier caso no lo podemos considerar significativo ni relevante, dado que siempre hemos hecho referencia a una enfermedad de toda la mucosa nasosinusal, y por tanto, bilateral. Si en un futuro se necesita valorar esta asociación, se podría utilizar un mayor tamaño muestral. Es de esperar que las dos fosas nasales se comporten del mismo modo en relación a la calidad de vida, y que a mayor masa de tejido polipoide, se obtenga una peor CdV. En la literatura se ha descrito que la mejoría en el GE después de cirugía nasosinusal se correlaciona con una mejoría a los 12 meses en la puntuación total en RSDI, las subescalas física y funcional, y en la escala de síntomas de CSS<sup>120</sup>.

### **5.2. EOSINOFÍLIA**

El grado de eosinofilia en una enfermedad se puede medir a través del recuento en sangre periférica, medición en las secreciones, cuantificación tisular, degranulación de los eosinófilos o bien la determinación de productos liberados por los mismos<sup>42</sup>. Los eosinófilos son escasos o ausentes en la mucosa nasal normal. Sin embargo, no existe un criterio estándar claro en relación al número de eosinófilos en el exudado nasal que defina el concepto de eosinofilia, hecho que hace que sea más difícil llegar a un consenso en los diferentes estudios. Mientras que algunos

autores establecen el criterio de eosinofilia en la presencia de más del 10% de eosinófilos por campo de alta potencia (HPF) en un campo de magnificación de 400x<sup>121-129</sup>, otros prefieren utilizar el criterio de más del 5% de eosinófilos por HPF<sup>130-133</sup>, como es también el caso de esta tesis, ya que pensamos que refleja mejor la realidad inflamatoria de la mucosa nasal, dado que es una célula que habitualmente no se encuentra en esta localización. En algunos estudios la eosinofilia tisular se define en cuatro grados: sin eosinofilia ( $\leq 5\%$ ), eosinofilia menor ( $\leq 10\%$ ), eosinofilia moderada ( $\leq 50\%$ ) y eosinofilia marcada ( $\geq 50\%$ )<sup>134,135</sup>. Esta ha sido la clasificación utilizada en esta tesis doctoral (Tabla 15). En general, la definición de valores de  $>5$  o  $>10$  eosinófilos por HPF se establece básicamente en países occidentales (aunque también en Turquía o en India), mientras que en Japón la eosinofilia nasal se define como  $\geq 70$   $>100$  o  $>120$  eosinófilos por HPF<sup>44,136,137</sup>. Según el último consenso EPOS 2020, se establece eosinofilia cuando existen igual o más de 10 eosinófilos por HPF (400x)<sup>5</sup>.

Garín et al<sup>14</sup> establecieron que la medida cuantitativa de eosinofilia tisular era más fácil y rápida pero equivalente al porcentaje de eosinófilos<sup>14</sup>. Armengot et al<sup>132</sup> observaron que existía una asociación fuerte entre el porcentaje de eosinófilos en el exudado y en la biopsia tisular. También se ha descrito que la eosinofilia periférica se correlaciona con el infiltrado eosinofílico en los pólipos nasales<sup>123,126,129,130,137</sup>, aunque Snidvongs sugiere que su utilidad es limitada<sup>123</sup> (Tabla 16). Como se ha mencionado en el apartado de materiales y métodos, las muestras en este trabajo de tesis doctoral se tomaron mediante biopsia de pólipo nasal, reflejando por tanto la realidad morfológica de la enfermedad.

Estudio	Año	n	Marcador de inflamación eosinofílica	Endotipo	Eosinofilia
<b>Kountakis</b> <sup>130</sup>	2004	52	Tejido sinusal	· RSCcPN · RSCsPN	>5/HPF
<b>Matsuwaki</b> <sup>137</sup>	2008	56	Recuento periférico Tejido polipoideo	· recRSC · respRSC	120/HPF
<b>Soler</b> <sup>131</sup>	2009	147	Mucosa tisular	-	>5/HPF
<b>Armengot</b> <sup>134</sup>	2009	36	Tejido polipoideo	· RSCcPN	<5, 5-19, 20-50 and >50 /HPF
<b>Smith</b> <sup>138</sup>	2010	304	Tejido mucosa sinusal	· RSC	>10/HPF
<b>Soler</b> <sup>122</sup>	2010	102	Tejido mucosa sinusal	· RSC	≥10/HPF
<b>Tosun</b> <sup>139</sup>	2010	42	Tejido polipoideo	· RSCcPN	≥4/HPF
<b>Armengot</b> <sup>132</sup>	2010	40	Tejido polipoideo Mucosa tisular Exudado nasal (estudio citológico)	· RSCcPN · Controles	>5% 400x >5/HPF
<b>Nakayama</b> <sup>136</sup>	2011	175	Tejido polipoideo Mucosa tisular	· RSC	≥70/HPF

Estudio	Año	n	Marcador de inflamación eosinofílica	Endotipo	Eosinofilia
<b>Snidvongs</b> <sup>123</sup>	2012	51	Tejido Recuento periférico	RSCcPN RSCsPN	>10/HPF
<b>Ikeda</b> <sup>44</sup>	2013	130	Tejido polipoideo	RSCcPN	>100/HPF
<b>Soy</b> <sup>124</sup>	2013	57	Tejido mucosa sinusal	RSCcPN	>10/HPF
<b>Vlaminck</b> <sup>133</sup>	2014	221	Mucosa tisular	RSCcPN RSCsPN	>5/HPF x400
<b>Tokunaga</b> <sup>140</sup>	2015	1716	Sangre periférica	RSC	>5%
<b>Gitomer</b> <sup>125</sup>	2016	70	Tejido nasosinusal Recuento periférico	RSCcPN	>10/HPF
<b>Bassiouni</b> <sup>141</sup>	2016	40	Tejido	recRSC respRSC	18-48/HPF
<b>Sreeparvath</b> <sup>126</sup>	2017	63	Recuento periférico Tejido	eRSC neRSC	>10/HPF
<b>Kuhar</b> <sup>127</sup>	2017	99	Tejido	RSCcPN	>10/HPF

Estudio	Año	n	Marcador de inflamación eosinofílica	Endotipo	Eosinofilia
Hauser <sup>128</sup>	2017	69	Tejido	RSCsPN	>10/HPF
				RSCcPN RSCsPN non-RSC	
Aslan <sup>129</sup>	2017	53	Mucosa tisular Recuento periférico	eRSCcPN	>10/HPF
				eRSCsPN RSCcPN RSCsPN	
Fokkens <sup>5</sup>	2020				>10/HPF

**Tabla 15.** Recuento de eosinófilos. recRSC: RSC recurrente o recalcitrante. respRSC: RSC no recurrente. eRSC: RSC eosinofílica. neRSC: RSC no eosinofílica

Estudio	Año	n	Eo	Marcador de inflamación eosinofílica	Endotipo	Correl eosinofilia tisular / Periférica
<b>Kountakis</b> <sup>130</sup>	2004	52	>5/HPF	Tejido sinusal	RSCcPN RSCsPN	Sí (r= 0.50, p<0.05)
<b>Matsuwaki</b> <sup>137</sup>	2008	56	120/HPF	Recuento periférico Tejido polipoideo	recRSC respRSC	Sí (p<0.001)
<b>Armengot</b> <sup>132</sup>	2010	40	>5% 400x >5/HPF	Tejido polipoideo Mucosa tisular Exudado nasal (estudio citológico)	RSCcPN Controles	Eosinofilia en citología (exudado nasal) se correlaciona con eosinofilia tisular (p=0.0078).
<b>Snivdongs</b> <sup>123</sup>	2012	51	>10/HPF	Tejido Recuento periférico	RSCcPN RSCsPN	Sí (Tejido - serum) (p=0.03). Aunque su utilidad es limitada.
<b>Gitomer</b> <sup>125</sup>	2016	70	>10/HPF	Tejido nasosinusal Recuento periférico	RSCcPN	No (p=0.97)
<b>Sreeparvath</b> <sup>126</sup>	2017	63	>10/HPF	Recuento periférico Tejido	eRSC neRSC	Sí, existe una asociación lineal fuerte entre el recuento absoluto e histopatológico de eosinófilos.
<b>Aslan</b> <sup>129</sup>	2017	53	>10/HPF	Mucosa tisular Recuento periférico	eRSCcPN eRSCsPN	La eosinofilia periférica se podría utilizar como marcador de eosinofilia

RSCcPN	en mucosa nasal (p=0.001).
RSCsPN	

**Tabla 16.** Eosinofilia periférica y tisular recRSC: RSC recurrente. respRSC: RSC no recurrente. eRSC: RSC eosinofílica. neRSC: RSC no eosinofílica

### 5.2.1. Eosinofilia y RSCcPN

Probablemente los eosinófilos son las células inflamatorias más importantes en la patogénesis de la RSCcPN<sup>5</sup> y la degranulación eosinofílica el mecanismo por el cual estas células llevan a cabo su actividad inflamatoria. Los modos de degranulación principales de los eosinófilos en la poliposis nasal son la citolisis y la PMD (piecemeal degranulation). La poliposis nasal presenta una asociación entre el modo de degranulación eosinofílica, el estadio clínico y radiológico y el grado de eosinofilia tisular del caso de origen<sup>134</sup>.

La activación de los eosinófilos juega un factor clave en la patogenia de la poliposis nasal<sup>134</sup>. La característica histológica más constante de los pólipos nasales es la infiltración eosinofílica en la mucosa nasal juntamente con el edema, y los dos se han descrito como factores importantes en el comportamiento clínico de la PN<sup>14</sup>.

La importancia de los eosinófilos en la RSCcPN es tal que algunos autores han definido una entidad diferencial: rinosinusitis crónica eosinofílica (eRSC). eRSC es considerada un subgrupo de RSCcPN histológicamente caracterizada por una infiltración masiva de eosinófilos en la lámina propia, engrosamiento del espesor de la membrana basal, incremento de las células caliciformes y rebosamiento epitelial de la mucosa nasosinusal, como los pólipos nasales<sup>142</sup>.

El recuento eosinofílico elevado en tejido y en exudado de pólipo nasal se correlaciona estadísticamente con el estadio de enfermedad, así como la dificultad en el tratamiento de la RSC y la recidiva de los pólipos

después de la cirugía en pacientes con RSCcPN<sup>132,133,137,138</sup>. Además, pacientes con bajos niveles de eosinófilos en el momento de la cirugía endoscópica tendrán mejores resultados postoperatorios<sup>138</sup>. Se ha abogado que la presencia de eosinofilia es un factor más importante que el GE de los pólipos en términos de resultados quirúrgicos<sup>136</sup>. En la Tabla 17 se muestran los estudios sobre RSC y eosinofilia.

Estudio	Año	n	Endotipo	Asociación significativa
<b>Kountakis</b> <sup>130</sup>	2004	52	RSCcPN RSCsNP	Los pacientes con RSCcPN presentan valores elevados de eosinófilos ( $p=0.002$ ) El número de eosinófilos elevado se correlaciona con GE y GRad elevado ( $p=0.00002$ y $p=0.07$ respectivamente). El grado de enfermedad presente en la TC o en la endoscopia no se correlaciona con la puntuación preoperatoria o postoperatoria evaluada con el cuestionario SNOT-20.
<b>Matsuwaki</b> <sup>137</sup>	2008	56	recRSC respRSC	La eosinofilia mucosa es el parámetro más fuertemente correlacionado con recidiva de RSC ( $or=3.175$ , $p<0.001$ ). La eosinofilia tisular en RSC con asma es mayor cuando se compara con RSC sin asma ( $p>0.01$ ). El aumento de eosinofilia y asma se correlaciona con la recidiva de RSC después de cirugía ( $p=0.045$ ).
<b>Eweiss</b> <sup>143</sup>	2009	50	RSCcPN	La eosinofilia tisular en pacientes con RSCcPN no difiere entre los que presentaron recidiva tras cirugía y los que no ( $p=1$ ).
<b>Sun</b> <sup>144</sup>	2009	78	RSCcPN	La eosinofilia tisular y los niveles de proteína eosinofílica catiónica en mucosa eran mayores en pacientes con recurrencia después de cirugía endoscópica nasal que en aquellos sin recurrencia ( $p<0.001$ ). La eosinofilia se correlaciona con el GRad de poliposis ( $p=0.01$ ). Los niveles de eosinófilos eran superiores en pacientes con asma ( $p=0.007$ ) e intolerancia a aspirina ( $p=0.02$ ) que en pacientes sin asma o intolerancia a aspirina.

Estudio	Año	n	Endotipo	Asociación significativa
<b>Soler</b> <sup>131</sup>	2009	147		El recuento de eosinófilos elevado se correlacionaba con la presencia de pólipos nasales ( $p < 0.001$ ), asma ( $p < 0.001$ ) e intolerancia a aspirina ( $p < 0.001$ ). Los pacientes con eosinofilia tenían mayor grado de severidad en la TC ( $p < 0.001$ ), endoscopia ( $p < 0.001$ ) y SIT ( $p < 0.002$ ). La eosinofilia no se correlaciona significativamente con la CdV.
<b>Armengot</b> <sup>134</sup>	2009	36	RSCcPN	La eosinofilia tisular en estadio clínico 2 (Esteller) era significativamente menor que en los estadios 3 y 4 ( $p = 0.0342$ ).
<b>Smith</b> <sup>138</sup>	2010	304	RSC	La puntuación en los cuestionarios RSDI y CSS scores were not statistically different before and after surgery.
<b>Soler</b> <sup>122</sup>	2010	102	RSC	La presencia de eosinofilia en mucosa nasal en el momento de la cirugía predice significativamente una menor mejoría en ambos, cuestionarios específicos y de CdV, en comparación con los pacientes que no presentan eosinofilia, especialmente en RSCcPN.
<b>Tosun</b> <sup>139</sup>	2010	42	RSCcPN	La tasa de recurrencia fue más elevada en pacientes con eosinofilia ( $p = 0.0001$ ).
<b>Armengot</b> <sup>132</sup>	2010	40	RSCcPN Controles	Asociación entre el porcentaje de eosinófilos en el exudado y muestras de tejido ( $p = 0.0078$ ). No existe asociación entre el estadio radiológico y eosinofilia tisular o en exudado nasal ( $p > 0.05$ ). No existen diferencias en el porcentaje de eosinófilos en pacientes con o sin

Estudio	Año	n	Endotipo	Asociación significativa
				tratamiento con CC tópicos y con o sin alergia ( $p < 0.05$ ).
<b>Takayama</b> <sup>136</sup>	2011	175	RSC	Eosinofilia, GRad, asma, GE y rinitis alérgica fueron predictores de mal pronóstico ( $p < 0.05$ ). Eosinofilia fue predictor de recurrencia polipoidea ( $p = 0.001$ ). La presencia de eosinofilia mucosa es un factor pronóstico más importante que los pólipos nasales en la recurrencia de la RSC.
<b>Snivdongs</b> <sup>123</sup>	2012	51	RSCcPN RSCsPN	eRSC es una forma más severa en termino de GRad ( $p = 0.001$ ) y GE ( $p = 0.004$ ) que la forma no-eRSC. La puntuación en SNOT-22 y en osteítis en eRSC no eran significativamente diferentes respecto a no-ERSC.
<b>Soy</b> <sup>124</sup>	2013	57	RSCcPN	La eosinofilia se correlacionó con una menor mejoría en SF-36 (subescala de función física) ( $p = 0.04$ ). El recuento eosinofílico elevado no se correlacionó con el cambio absoluto en el RSDI.
<b>Vlaminck</b> <sup>133</sup>	2014	221	RSCcPN RSCsPN	La presencia de eosinofilia tisular en la vía aérea incrementa el riesgo de recurrencia de RSCcPN.
<b>Tokunaga</b> <sup>140</sup>	2015	1716	RSC	La presencia de eosinofilia periférica $>10\%$ se asocia significativamente con mayor recurrencia.
<b>Gitomer</b> <sup>125</sup>	2016	70	RSCcPN	El recuento de eosinofilia tisular no se correlaciona con los síntomas olfatorios,

Estudio	Año	n	Endotipo	Asociación significativa
				GE, asma o sensibilidad a aspirina ( $p=0.09$ ). Existe una asociación positiva entre el GRad y el nivel de eosinofilia periférica ( $p<0.05$ ).
<b>Bassiouni</b> <sup>141</sup>	2016	40	recRSC respRSC	El nivel de eosinofilia era superior en pacientes con enfermedad refractaria ( $p<0.05$ ).
<b>Sreeparvath</b> <sup>126</sup>	2017	63	eRSC neRSC	El recuento de eosinófilos en tejido y en sangre se correlacionan significativamente con síntomas más severos en RSCcPN.
<b>Kuhar</b> <sup>127</sup>	2017	99	RSCcPN RSCsPN	El recuento de eosinófilos y los agregados eosinofílicos se encuentran estadísticamente elevados en RSCcPN ( $p=0.047$ y $p<0.022$ respectivamente). Los agregados eosinofílicos se asocian positivamente con el GRad, asma y pólipos nasales. SNOT-22 no se asocia con eosinofilia ( $p=0.054$ ) ni con otros marcadores histopatológicos.
<b>Hauser</b> <sup>128</sup>	2017	69	RSCcPN RSCsPN no-RSC	La eosinofilia tisular se asocia con pérdida olfativa (menor puntuación en SIT) en RSCcPN, independientemente de la severidad de la enfermedad ( $p=0.011$ ). Los pacientes con eRSC tienen más tendencia a presentar pólipos nasales que los pacientes neRSC.
<b>Aslan</b> <sup>129</sup>	2017	53	eRSCcPN eRSCsPN	El recuento de eosinófilos en mucosa nasal es significativamente superior en pacientes con GRad y GE elevado ( $p=0.001$ por cada uno).

Estudio	Año	n	Endotipo	Asociación significativa
			RSCcPN RSCsPN	El recuento de eosinófilos elevado se asocia con GRad ( $p=0.001$ ) y GE elevado ( $p=0.002$ ).
Tajudeen <sup>145</sup>	2019	101	RSCcPN RSCsPN	La presencia de agregados eosinofílicos se correlaciona con una mayor necesidad del uso de prednisona postoperatoria.

**Tabla 17.** Eosinofilia y RSC. GRad: grado radiológico. GE: grado endoscópico, eRSC: rinosinusitis crónica eosinofílica.

### 5.2.2. Eosinofilia y CdV

Algunos autores han analizado la influencia de la RSC en la CdV (Tabla 18) pero pocos de ellos han evaluado el impacto de la eosinofilia en la CdV en pacientes con RSC<sup>118,122-124,127,128,131,138,146,147</sup>. Mientras que algunos de ellos no han podido confirmar que existan diferencias respecto a la CdV entre pacientes con eRSC y no-eRSC<sup>123,127,131,138</sup>, otros concluyen que la infiltración eosinofílica se correlaciona con mayor secreción nasal<sup>146</sup>, CdV específica y general (RSDI, CSS and SF-36)<sup>122</sup> en pacientes con RSC, y con el cuestionario de olfato Smell Identification Test (SIT)<sup>128</sup>. Hasta el momento, no se han publicado estudios que correlacionen significativamente el impacto de la eosinofilia en la CdV de los pacientes con RSCcPN utilizando el cuestionario SNOT-22. Algunos artículos que sí que han estudiado esta asociación, no han encontrado asociaciones estadísticamente significativas<sup>123,127,145,147</sup>. En esta tesis se ha encontrado una asociación estadísticamente significativa entre CdV medida por el cuestionario SNOT-22 y eosinofilia de modo que permite predecir la influencia de la inflamación eosinofílica en la CdV de los pacientes.

Lal et al, clasificaron los resultados del cuestionario SNOT-22 en cuatro grupos: (A) severamente agobiado, con valores elevados en los 4 dominios; (B) moderadamente agobiado, con valores elevados en el subdominio rinológico; (C) moderadamente agobiado, con valores elevados en los subdominios psicológico y del sueño; y (D) levemente agobiado. El grupo con la menor puntuación preoperatoria en el cuestionario SNOT-22 tuvo menor carga inflamatoria y eosinofilia tisular en comparación

con los otros grupos sintomáticos<sup>118</sup>.

### **5.2.3. Eosinofilia y tratamiento con CC**

Se ha definido en la literatura que el tratamiento con CC tópicos y sistémicos se asocia con la disminución del porcentaje de eosinófilos<sup>148-152</sup> (Tabla 19). En este trabajo de tesis doctoral se ha demostrado que a mayor porcentaje de eosinófilos en el tejido del pólipo nasal, se produce una mayor respuesta al tratamiento con CC orales, siendo esta una asociación estadísticamente significativa. Por el contrario, este fenómeno no se ha podido demostrar para el tratamiento con los CC tópicos. En contraste, Tajudeen et al demostraron recientemente que la presencia de agregados de eosinófilos, definiéndose como la presencia de >20 eosinófilos/HPF en la lámina propia de la mucosa nasosinusal, se correlacionaba con la mayor necesidad de tratamiento con CC intranasales tras cirugía endoscópica nasosinusal<sup>145</sup>.

El efecto del tratamiento con CC orales no se obtiene sólo a nivel del pólipo nasal, sino que también actúa sobre los eosinófilos en sangre periférica. En este trabajo de tesis doctoral se ha demostrado que a mayor valor de eosinófilos, se consigue un mayor efecto del tratamiento con CC orales. Recordemos, como se ha mencionado en líneas precedentes (Tabla 17), que la eosinofilia en tejido polipoideo nasal se asocia con la concentración de eosinófilos en sangre periférica. Con el tratamiento con CC tópicos, sólo se actúa a nivel nasal, y puede que el efecto sea

menor. Probablemente por este motivo, no se ha podido demostrar en este caso una asociación entre la eosinofilia y la respuesta al tratamiento con CC tópicos, a diferencia de lo publicado en la literatura.

Estudio	Año	n	CdV	Resultados
<b>Kountakis</b> <sup>130</sup>	2004	52	SNOT-20	El grado de enfermedad presente en la TC o endoscopia no se correlaciona con la puntuación preoperatoria y postoperatoria, evaluada con el cuestionario SNOT-20.
<b>Baudoin</b> <sup>146</sup>	2006	100	-	La infiltración eosinofílica se correlaciona únicamente con uno de los síntomas evaluados: la secreción nasal ( $p < 0.05$ ).
<b>Soler</b> <sup>131</sup>	2009	147	RSDI CSS SF-36	La eosinofilia no se correlaciona significativamente con la CdV.
<b>Smith</b> <sup>138</sup>	2010	302	RSDI CSS SF-36	No existen diferencias estadísticamente significativas en los cuestionarios RSDI y CSS antes y después de la cirugía.
<b>Soler</b> <sup>122</sup>	2010	102	RSDI CSS SF-36	La presencia de eosinofilia en mucosa nasal en el momento de la cirugía predice significativamente una menor mejoría en ambas la CdV específica y general, en comparación con los pacientes que no presentan eosinofilia ( $p < 0.05$ ), especialmente en pacientes con RSCcPN.
<b>Snidvongs</b> <sup>123</sup>	2012	51	SNOT-22	La puntuación en el SNOT-22 y osteítis en eRSC no son significativamente diferentes respecto a neRSC.

<b>Soy</b> <sup>124</sup>	2013	57	RSDI SF-36	La eosinofilia se correlaciona con menor mejoría en SF-36 en la subescala física funcional (p=0.04). El recuento de eosinofilos elevado no se correlaciona con un cambio absoluto en el cuestionario RSDI.
<b>Thompson</b> <sup>147</sup>	2016	57	SNOT-22 PROMIS-29	La eosinofilia no se asocia con diferentes resultados globales de CdV. En el análisis de síntomas individuales en el cuestionario SNOT-22, los pacientes con eRSC presentan mayor pérdida de olfato o del sabor, dolor de oído, estornudos, dificultad para respirar por la nariz y congestión nasal (p<0.05).
<b>Kuhar</b> <sup>127</sup>	2017	99	SNOT-22	El SNOT-22 no se asocia con eosinofilia (p=0.054).
<b>Hauser</b> <sup>128</sup>	2017	69	SIT	La eosinofilia tisular se asocia con pérdida olfatoria (menor puntuación SIT) en RSCcPN, independientemente de la severidad de la enfermedad (p=0.011).
<b>Lal</b> <sup>118</sup>	2018	146	SNOT-22	El grado de eosinofilia tisular en pacientes con RSCsPN se correlaciona con la puntuación total en el cuestionario SNOT-22.
<b>Tajudeen</b> <sup>145</sup>	2019	101	SNOT-22	La puntuación de SNOT-22 mejora significativamente a los meses 1, 3 y 6 tras el tratamiento quirúrgico y con CC intranasales postoperatorio. La subclasificación basada en histopatología no reveló ninguna diferencia en la mejoría de la CdV en los diferentes momentos tras el tratamiento.

**Tabla 18.** Eosinofilia y CdV. SNOT-20: Sino-Nasal Outcome Test -20. RSDI: Rhinosinusitis Disability Index. CSS: Chronic Sinusitis Survey. SF-36: Short-Form 36 Health Survey. SIT: Smell Identification Test. PROMIS-29: The Patient-Reported Outcomes Measurement Information System-29. neRSC Rinosinusitis crónica no eosinofílica.

Estudio	Año	N	Resultados
Kanai <sup>151</sup>	1994	21	La proporción de eosinófilos activados era significativamente inferior en los pólipos de pacientes tratados con CC tópicos (budesonida).
Mullol <sup>150</sup>	1997	22	Los fármacos tópicos antiinflamatorios pueden disminuir la infiltración eosinofílica en las vías aéreas.
Burgel <sup>149</sup>	2004	9	Fluticasona disminuye el número de eosinófilos ( $p < 0.01$ )
Tosun <sup>139</sup>	2010	42	El tratamiento con CC reduce los niveles de eosinofilia tisular y es predictor de recidiva postoperatoria.
Van Zele <sup>152</sup>	2010	47	La ECP disminuye significativamente después 1 semana ( $p = 0.016$ ) y de 1 mes ( $p = 0.024$ ) del tratamiento con metilprednisolona.
Armengot <sup>132</sup>	2010	40	No existen diferencias en el porcentaje de eosinófilos en pacientes con o sin tratamiento con CC tópicos y con y sin alergia ( $p < 0.05$ ).
Alobid <sup>148</sup>	2014	67	Existe una reducción significativa de la eosinofilia en el pólipos nasal después del tratamiento con CC orales y tópicos ( $p < 0.05$ ).
Armengot <sup>93</sup>	2014		Los CC son probablemente el tratamiento más efectivo para la inflamación de las vías respiratorias con eosinofilia.

**Tabla 19.** Eosinofilia y respuesta a CC

### **5.3. MUC1**

#### **5.3.1. MUC1 y CdV**

No hemos encontrado en la literatura estudios sobre la influencia de mucinas en la CdV de los pacientes con RSCcPN. En nuestro estudio tampoco se ha encontrado una asociación entre estos dos parámetros.

MUC1 es una proteína transmembrana con un papel antiinflamatorio durante una infección de la vía aérea, controlando la inflamación mediante la inhibición de la señalización TLR. Asimismo, es responsable de las propiedades viscoelásticas del moco, así como de la barrera protectora frente a la invasión de patógenos y químicos<sup>95</sup>. De este modo, cabría esperar que la MUC1 de forma aislada o bien asociada a otros factores clínicos o moleculares, contribuya a una mejor CdV de los pacientes. Esta postulación podría llevar a la realización de estudios en un futuro con mayor número de pacientes y considerando otros parámetros inflamatorios clínicos y moleculares que puedan influir en la puntuación en el cuestionario SNOT-22, para determinar la importancia del papel de la MUC1 en la CdV de los pacientes con RSCcPN.

#### **5.3.2. MUC1 y respuesta al tratamiento con CC**

La expresión de mucinas se asocia con la sinusitis bacteriana, marcadores inflamatorios y la respuesta al tratamiento con CC en pacientes con RSCcPN<sup>94</sup>.

Estudios recientes han definido que el tratamiento con dexametasona

aumenta la expresión de MUC1 en líneas celulares de cáncer<sup>153</sup>. Asimismo, también aumenta la expresión de MUC1 en células epiteliales corneales<sup>154</sup>. Estudios in vivo han demostrado que la terapia con CC orales durante 2 semanas aumenta la expresión de MUC1 en los pólipos nasales<sup>155</sup>. Otro estudio demostró que las células tratadas con dexametasona durante 24 horas mostraban un aumento de la expresión proteica de MUC1-CT (cola citoplasmática de MUC1, dentro de la subunidad C-terminal de la misma)<sup>30</sup>. También se ha publicado en la literatura evidencia del papel de MUC1 en la mediación de la respuesta a CC en pacientes con RSCcPN. De este modo, pacientes resistentes al efecto del tratamiento con CC orales presentaban menor expresión de MUC1 en el epitelio del pólipo nasal<sup>30</sup>. Por el contrario, también se ha descrito que el aumento de la expresión de MUC4 en tejido de pólipo nasal se asocia con la resistencia a CC en pacientes con RSCcPN<sup>156</sup>. Otros estudios in vitro revelaron que la MUC4 inhibe la translocalización nuclear del receptor de glucoCC, mientras que MUC1 realiza el efecto opuesto en células epiteliales humanas de las vías respiratorias<sup>30,156</sup>. Martínez-Antón demostraron que el tratamiento con prednisona oral durante 2 semanas y budesonida intranasal durante 12 semanas aumenta la expresión de mucinas de membrana (MUC1, MUC4), mientras que disminuyen la expresión de mucinas secretadas (MUC5AC, MUC5B) en pacientes con RSCcPN tolerantes a aspirina, pero no en pacientes intolerantes a aspirina<sup>155</sup>. Burgel *et al*<sup>149</sup> estudiaron el efecto de fluticasona en la expresión de MUC5AC, sin encontrar evidencia.

En este trabajo de tesis doctoral se ha encontrado que la expresión elevada de MUC1 se asocia significativamente a una mejor respuesta al

tratamiento con CC tópicos. Esta relación no se ha podido demostrar de forma significativa para el tratamiento con CC sistémicos. Tal vez, los CC sistémicos sí que tienen una mejor respuesta en los pacientes con valores elevados de eosinófilos, ya que también se encuentran en sangre periférica y este efecto, a su vez, influye en la respuesta a nivel del póli-po nasal. Por el contrario, en el caso de MUC1, es una molécula que se ubica en el epitelio nasal (y en otros tejidos) y no en sangre periférica, por lo que se podría considerar que este es uno de los motivos por el cual el tratamiento con CC sistémicos no se encuentra influenciado por la expresión de MUC1.

#### **5.4. TLR**

Se puede considerar que una reducción funcional de la vía TLR pueda jugar un papel en la etiología de la PN. De este modo, los polimorfismos existentes de TLR2 y TLR4 pueden jugar un papel en la PN debido a que causan hipofunción en la vía TLR<sup>31</sup>. Kesici et al, demostraron que existe una asociación fuerte entre el polimorfismo TLR4, asma y PN<sup>31</sup>.

Se ha definido un incremento de TLR2 en pacientes con RSCsPN en comparación con el grupo control (pacientes sin RSC). Los TLR responsables del reconocimiento de bacterias (TLR2, TLR5, TLR6) y virus (TLR7, TLR8, TLR9) se encuentran sobreexpresados en RSCcPN en comparación con los controles (sujetos sin RSC). Los TLR no sólo funcionan como receptores de reconocimiento de patógenos sino que también pueden transmitir señales de peligro (DAMPs – danger or damage associated molecular

patterns) a partir de las células vecinas dañadas. La activación de TLRs puede tener un papel importante en el mantenimiento de mecanismos inmunes innatos patológicos en el tejido del PN<sup>33</sup>.

En este estudio de tesis doctoral, los valores más elevados de TLR2, TLR4 y TLR5 se encontraron en el grupo PN-AIA-CR (tabla 1). Del mismo modo, este grupo es el que tiene valores de SNOT-22 más elevados. Cabría esperar que el grupo que presenta RSCcPN, asma e intolerancia a AINEs y que además muestra corticoresistencia, tenga valores más elevados de puntuación en el cuestionario de CdV, aunque no era la finalidad de este estudio determinar si había diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de pacientes en cuanto a la expresión de TLR y a la puntuación en el cuestionario SNOT-22. Si que se ha analizado si la presencia de mayor o menor concentración de TLR2, TLR4 y TLR5 se asocia significativamente con una peor CdV; este trabajo no ha encontrado ninguna asociación significativa. Teniendo en cuenta que, como se ha explicado, los TLR juegan un papel en el mantenimiento de mecanismos inmunes innatos patológicos en RSCcPN, estos pacientes en los que existe una perpetuación de la inflamación podrían presentar una peor CdV, y probablemente una mayor recidiva tras el tratamiento. Posiblemente este hecho se deba a que se han analizado todas las variables moleculares en conjunto, y puede que haya más de una variable molecular que influya en la CdV de los pacientes con RSCcPN, como es el caso de la eosinofilia, pudiéndose tal vez obtener resultados estadísticamente significativos con un mayor tamaño muestral.

La mayor respuesta al tratamiento con CC orales y tópicos se produjo en los grupos PN-AIA y PNsA, aunque el grupo PN-ATA también obtuvo una

respuesta elevada al tratamiento con CC orales. En cambio, el grupo con valores de TLR elevados era el grupo resistente a corticoides PN-AIA-CR.

## 5.5. MKP1

Aunque no se ha demostrado en este trabajo ninguna asociación entre MKP1 y CdV medida mediante el cuestionario SNOT-22, su presencia podría ser un factor que favoreciera junto a la presencia de otras moléculas, a una mejor CdV de los pacientes ya que, como ya se ha descrito en la introducción, esta molécula inhibe proteínas de señalización de procesos inflamatorios y proliferativos (MAPKs)<sup>30</sup>, inhibiendo de este modo la respuesta inflamatoria mucosa, por lo que cabría esperar una mejor CdV de los pacientes.

MKP1 es un inhibidor endógeno de la fosforilación de ERK1/2 inducida por CC como parte de su actividad antiinflamatoria. Se ha escrito una regulación negativa de MKP1 en pacientes con RSCcPN corticoresistente en comparación con pacientes respondedores a CC. Este hecho es mayor cuando se analizan pacientes PN-AIA, hecho que puede reflejar la naturaleza agresiva de este fenotipo<sup>30</sup>.

En este estudio, los valores de MKP1 tanto si consideramos la media como si consideramos la mediana, eran más elevados en el grupo PN-ATA-CR pero no en el grupo PN-AIA-CR o bien PN-AIA como cabría esperar.

## 5.6. MIF

MIF es producido por diferentes tipos de células y tejidos como células T, macrófagos y monocitos. Interviene en el proceso inflamatorio estimulando la expresión y secreción de citocinas pro-inflamatorias como son el TNF- $\alpha$ , Interferón gamma (IFN $\gamma$ ), la IL-1b, la IL-6, la IL-2 y la IL-8, pudiendo, a su vez, contraregular el efecto antiinflamatorio de los CC<sup>157,158</sup>. Cabría esperar otra vez que, como molécula pro-inflamatoria estuviese asociada a una peor CdV en los pacientes. En esta tesis doctoral se apreció como el aumento de la concentración de MIF no influye en la respuesta al tratamiento con CC tópicos ni sistémicos ni en la CdV. Los valores de MIF variaban poco entre los diferentes grupos.

## 5.7. GR $\alpha$

La acción biológica de los CC es mediada mediante la activación de GR expresados en varias células y tejidos. Se han identificado dos isoformas humanas de GR, GR $\alpha$  y GR $\beta$ , las cuales se originan a partir del mismo gen.

Al unirse a una hormona, GR $\alpha$  aumenta la transcripción de genes anti-inflamatorios o disminuye la transcripción de genes pro-inflamatorios, y exige la mayoría de los efectos anti-inflamatorios de los CC a través de interacciones proteína-proteína entre GR y factores de transcripción, como AP-1 (proteína activadora 1) y NF- $\kappa$ b (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas). La isoforma GR $\beta$  no se une a CC pero puede interferir en la función del GR. Puede haber

varios mecanismos responsables de la resistencia al efecto anti-inflamatorio de los CC, incluyendo sobre-expresión de GR $\beta$  o bien una disminución de la expresión de GR $\alpha$ . Se ha postulado que puede haber una regulación negativa de los niveles de GR después del tratamiento con CC, hecho que podría conllevar a la resistencia al tratamiento con CC<sup>159</sup>. En este trabajo de tesis doctoral no se ha podido demostrar el efecto de GR $\alpha$  sobre la respuesta a CC, probablemente debido a que no se ha estudiado su efecto individual sino su efecto teniendo en cuenta todos los marcadores moleculares estudiados.

Aunque en este estudio no se ha podido demostrar, al ser una molécula que tiene una actividad anti-inflamatoria, cabría esperar una mejor CdV en pacientes que presenten un aumento en los niveles de GR $\alpha$ .

## **5.8. INTERLEUKINA 8 (IL-8)**

Se ha descrito que los pacientes chinos con RSCcPN muestran una polarización Th1/Th17, con tendencia a la inflamación neutrofílica, predominando las citoquinas interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukina-8 (IL-8) y interleukina-17 (IL-17)<sup>5</sup>.

Davide et al, estudiaron el riesgo de recurrencia tras cirugía en pacientes con RSCcPN, y no encontraron una asociación con la expresión de IL-8<sup>160</sup>. Huriyati et al, estudiaron muestras de mucosa de pólipo nasal mediante técnica de cepillado y concluyeron que la expresión de IL-5, medida mediante la técnica de ELISA, era superior en pacientes con recRSCcPN respecto a los pacientes con respRSCcPN, siendo esta diferencia estadísti-

camente significativa ( $p < 0.05$ ). Aunque la expresión de IL-8 fue mayor en pacientes con respRSCcPN respecto a recRSCcPN, estos resultados no fueron estadísticamente significativos. En el mismo estudio también se tomaron muestras de tejido polipoideo durante cirugía endoscópica nasosinusal, llevando a cabo un estudio de inmunohistoquímica. Demostrando que los pacientes con recRSCcPN presentaban una menor expresión de IL-8<sup>161</sup>. En otro estudio llevado a cabo por Wei et al, se encontró que la media de IL-8 era también mayor en respRSCcPN que en recRSCcPN, aunque esta diferencia no era estadísticamente significativa<sup>162</sup>. Podemos interpretar, según estos estudios, que el aumento en la expresión de IL-8 disminuye el riesgo de recidiva tras la cirugía en pacientes con RSCcPN. La relación entre IL-8 y neutrófilos puede explicar este hecho.

Deng *et al*, estudiaron el efecto del tratamiento tópico con budesonida y claritromicina en pacientes con RSCcPN, y encontraron una reducción significativa de IL-6 e IL-8 tras este tratamiento. Previo al tratamiento, IL-6 e IL-8 eran elevadas en los pacientes respondedores. Determinaron asimismo que los pacientes mejoraban la puntuación en el cuestionario SNOT-22 tanto tras el tratamiento con budesonida como con el tratamiento combinado, pero no estudiaron el efecto de la expresión de IL-8 en la CdV<sup>163</sup>. No hemos encontrado en la literatura otros estudios que analicen la influencia de la expresión de IL-8 en la CdV de los pacientes medida por el cuestionario SNOT-22.

En el presente trabajo de tesis doctoral no se ha definido una asociación significativa entre la respuesta al tratamiento con CC y los valores de IL-8, a diferencia de los que se ha publicado en la literatura. Paradójica-

mente la concentración elevada de IL-8 se asocia significativamente con una mayor puntuación en el cuestionario SNOT-22, hecho que aporta nueva evidencia sobre marcadores de CdV en pacientes con RSCcPN.

## **5.9. LIMITACIONES**

Este trabajo de tesis doctoral presenta algunas limitaciones. No se disponía del resultado del cuestionario SNOT.22 previo al inicio del tratamiento con CC, dado que se trata de pacientes con enfermedad de evolución crónica. Aun así, los cuestionarios SNOT-22 se obtuvieron de forma prospectiva en los pacientes de esta serie.

Aunque la muestra de la que disponíamos para este estudio era suficientemente grande, había datos que no se pudieron obtener para todos los pacientes para determinadas variables. Una muestra mayor y un estudio multicéntrico podría ser necesario en el futuro para de este modo determinar si existen otros factores clínicos, o moleculares que puedan influir en la CdV de los pacientes con RSCcPN.

## **6. CONCLUSIONS**



New evidence of the role of eosinophils in quality of life using the SNOT-22 questionnaire in patients with CRSwNP has been described in this doctoral thesis. **There is a significant correlation between different inflammatory patterns (eosinophilia, high IL-8 levels) and clinic patterns (non-steroidal drug –NSAID- intolerance) with quality of life (QoL) in patients with CRSwNP.** Moreover, other correlations were found for the secondary objectives of this work. The following conclusions were also demonstrated:

1. High eosinophil levels in nasal polypoid tissue are associated with a patient's worse QoL with respect to the SNOT-22 questionnaire. This correlation continues even if MUC1, asthma and NSAID intolerance are considered.
2. High IL-8 levels are associated with high SNOT-22 scores.
3. NSAID intolerance is associated with a worse QoL (high SNOT-22 scores).
4. No association was found between MUC1 expression and QoL in patients with CRSwNP.
5. Eosinophilia is a marker of response to oral steroids treatment. This phenomenon continues even if we consider the presence of asthma, NSAID intolerance and MUC1 expression. High tissuer polyp eosinophil levels are associated with a better response to oral steroids treatment.
6. MUC1 is a predictor of response to topical steroids in patients with CRSwNP. Hence, high MUC1 expression is associated with a

better response to topic steroids treatment also considering the influence of eosinophilia, asthma and NSAID intolerance.

7. SNOT-22 outcomes and tissular histopathology compose an innovative and easily accessible prognostic method in patients with CRSwNP.
8. These results are crucial to predict the impact on QoL in patients with CRSwNP as well as to anticipate steroid treatment efficacy.

En esta tesis doctoral se proporcionan nuevas evidencias del papel de los eosinófilos en la CdV de los pacientes afectados de RSCcPN utilizando el cuestionario SNOT-22. **Existen correlaciones significativas entre distintos patrones inflamatorios (eosinofilia, valores elevados de IL-8) y clínicos (presencia de intolerancia a AINEs) con la CdV de los pacientes afectados de RSCcPN.** Así mismo, también se han demostrado otras correlaciones para los objetivos secundarios. A continuación, se describen todas las conclusiones del estudio:

1. Los valores elevados de eosinofilia en tejido polipoideo nasal presentan una asociación con peor CdV para el paciente medida según el cuestionario SNOT-22. Este fenómeno se mantiene si tenemos en cuenta la expresión de MUC1, la presencia de asma y de intolerancia a AINEs.
2. Los valores elevados de la expresión de IL-8 se asocian con puntuaciones mayores en el cuestionario SNOT-22.

3. La intolerancia a AINEs se asocia con una peor CdV (puntuaciones elevadas en el cuestionario SNOT-22).
4. No se han identificado asociaciones entre la expresión de MUC1 y la CdV de los pacientes afectados de RSCcPN
5. La eosinofilia es un marcador de respuesta al tratamiento con CC orales. Este fenómeno se mantiene si tenemos en cuenta la presencia de asma, de intolerancia a AINEs y la expresión de MUC1. Valores elevados de eosinofilia se asocian con mejor respuesta al tratamiento con CC orales.
6. La mucina MUC1 es un predictor de la respuesta a los CC tópicos en pacientes afectados de RSCcPN. De este modo, una mayor expresión de MUC1 se asocia con mejor respuesta al tratamiento con CC tópicos, teniendo en cuenta también la influencia de eosinofilia, asma e intolerancia a AINEs.
7. La combinación del SNOT-22 con la histopatología tisular constituye un método innovador y fácilmente accesible de pronóstico para los pacientes con RSCcPN.
8. Estos resultados son de un valor potencial para predecir la afectación de la CdV en pacientes afectados de RSCcPN, así como para prever la eficacia en el tratamiento con CC.



## **7. BIBLIOGRAFÍA**



1. Chan Y, Kuhn FA. An update on the classifications, diagnosis, and treatment of rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009;17(3):204-208.
2. Marple BF, Brunton S, Ferguson BJ. Acute bacterial rhinosinusitis: A review of U.S. treatment guidelines. *Otolaryngol - Head Neck Surg.* 2006;135(3):341-348.
3. Meltzer EO, Hamilos DL. Rhinosinusitis diagnosis and management for the clinician: A synopsis of recent consensus guidelines. *Mayo Clin Proc.* 2011;86(5):427-443.
4. Desrosiers M, Evans GA, Keith PK, et al. Canadian clinical practice guidelines for acute and chronic rhinosinusitis. *Allergy, Asthma Clin Immunol.* 2011;7(1):2.
5. Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps EPOS 2020. *Rhinology.* 2020;58(29):1-464.
6. Prokopakis EP, Hellings PW, Velegarakis GA, Kawauchi H. From ancient Greek medicine to EP3OS. *Rhinology.* 2010;48(3):265-272.
7. Zuckerkandl E. *Normale Und Pathologische Anatomie Der Nasenhöhle Und Ihrer Pneumatischen Anhängen*, 1882, Ihrer PA.
8. Woakes E. The relation of necrosing ethmoiditis to nasal polyps. *Brit Med J.* 1885;50:701.
9. Messerklinger W. Ubre die drainage der menschlichen nasseneubenholen uter normalen und pathologischen bedingungen. *Mtschr Ohreilk.* 1966;100:56-58.
10. Widal F, Abrami P, Lermoyez J. Anaphyaxie et idiosyncrasie. *Press Med.* 1922;30:189-192.
11. Cushing H. Basophil adenomas of the pituitary body. In: *Bull Johns Hopkins Hosp.* ; 1932;50: 137-195.
12. Woakes E. Treatment of nasal polyps with intranasal beclomethasone dipropionate aerosol. *Clin Allergy.* 1975;5(2):159-164.
13. Stammberger H. Endoscopic endonasal surgery—Concepts in treatment of recurring rhinosinusitis. Part I. Anatomic and pathophysiologic considerations. *Otolaryngol Neck Surg.* 1986;94:143-147.
14. Garín L, Armengot M, Ramón Alba J, Carda C. Correlations Between Clinical and Histological Aspects in Nasal Polyposis. *Acta Otorrinolaringol (English Ed.* 2008;59(7):315-320.
15. Alobid I, Antón E, Armengot M, Chao J, Colás C, del Cuvillo A.

- Documento de consenso sobre Poliposis Nasal SEAIC-SEORL. PROYECTO POLINA. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21 suppl 1:1:58.
16. Van Zele T, Claeys S, Gevaert P, et al. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy*. 2006;61(11):1280-1289.
  17. Kato A. Immunopathology of chronic rhinosinusitis. *Allergol Int*. 2015;64:121-130.
  18. Vanderhaegen T, Gengler I, Dendooven A, Chenivesse C, Lefèvre G, Mortuaire G. Eosinophils in the Field of Nasal Polyposis: Towards a Better Understanding of Biologic Therapies. *Clin Rev Allergy Immunol*. [Epub ahead of print]. Disponible en <https://pubme>.
  19. Gevaert P, Lang-Loidolt D, Lackner A, et al. Nasal IL-5 levels determine the response to anti-IL-5 treatment in patients with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;118(5):1133-1141.
  20. Gevaert P, Van Bruaene N, Cattaert T, et al. Mepolizumab, a humanized anti-IL-5 mAb, as a treatment option for severe nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(5):989-995.e8.
  21. Kato A. Immunopathology of chronic rhinosinusitis. *Allergol Int*. 2015;64(2):121-130.
  22. Al-rawi MM, Edelstein DR, Erlandson RA. Changes in Nasal Epithelium in Patients With Severe Chronic Sinusitis: A Clinicopathologic and Electron Microscopic Study. *Laryngoscope*. 1998;108(December):1816-1823.
  23. Sykes DA, Wilson R, M G, DC C, C S, PJ C. Deleterious effects of purulent sputum sol on human ciliary function in vitro: at least two factors identified. *Thorax*. 1987;42:256-261.
  24. Wilson R, Sykes DA, Currie D, Cole PJ. Beat frequency of cilia from sites of purulent infection. *Thorax*. 1986;41:453-458.
  25. Ferguson JL, McCaffrey T V., Kern EB, Martin WJ. The effects of sinus bacteria on human ciliated nasal epithelium in vitro. *Otolaryngol Neck Surg*. 1988;98(4):299-304.
  26. Reula A, Lucas J, Moreno-Galdó A, et al. New insights in primary ciliary dyskinesia. *Expert Opin Orphan Drugs*. 2017;5(7):537-548.
  27. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SGO, Van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(4):607-614.
  28. Rosati MG, Peters AT. Relationships among allergic rhinitis,

- asthma, and chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2016;30(1):44-47.
29. Sabroe I, Read RC, Whyte MKB, Dockrell DH, Vogel SN, Dower SK. Toll-Like Receptors in Health and Disease: Complex Questions Remain. *J Immunol*. 2003;171(4):1630-1635.
  30. Milara J, Peiró T, Armengot M, et al. Mucin 1 downregulation associates with corticosteroid resistance in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(2):470-476.
  31. Kesici GG, Kargin Kaytez S, Özdaş T, Özdaş S. Association of Toll-Like Receptor Polymorphisms With Nasal Polyposis. *Ear, Nose Throat J*. Published online 2019:1-7.
  32. Zhang Q, Wang C-S, Han D-M, et al. Differential expression of Toll-like receptor pathway genes in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps. *Acta Otolaryngol*. 2013;133:165-173.
  33. Hirschberg A, Kiss M, Kadocsa E, et al. Different activations of toll-like receptors and antimicrobial peptides in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyposis. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2016;273(7):1779-1788.
  34. Bachert C, Zhang N, van Zele T, Gevaert P, Patou J, van Cauwenberge P. Staphylococcus aureus enterotoxins as immune stimulants in chronic rhinosinusitis. *Clin Allergy Immunol*. 2007;20:163-175.
  35. Weidinger S, Mempel M, Ollert M, et al. Staphylococcus aureus colonization and IgE antibody formation to enterotoxins is increased in nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(4):979-981.
  36. Cryer J, Schipor I, Perloff JR, Palmer JN. Evidence of bacterial biofilms in human chronic sinusitis. *Orl*. 2004;66(3):155-158.
  37. Ramakrishnan Y, Shields RC, ElBadawey MR, Wilson JA. Biofilms in chronic rhinosinusitis: What is new and where next? *J Laryngol Otol*. 2015;129(8):744-751.
  38. Cohen M, Kofonow J, Nayak J V., et al. Biofilms in chronic rhinosinusitis: A review. *Am J Rhinol Allergy*. 2009;23:255-260.
  39. Jung JH, Cha HE, Kang IG, Kim ST. Clinical Characteristics of Biofilms in Patients with Chronic Rhinosinusitis: A Prospective Case–Control Study. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015;67(1):1-6.
  40. Genoway KA, Philpott CM, Javer AR. Pathogen yield and antimicrobial resistance patterns of chronic rhinosinusitis patients presenting to a tertiary rhinology centre. *J Otolaryngol -*

- head neck Surg.* 2011;40(3):232-237.
41. Bachert C, Zhang N, Holtappels G, et al. Presence of IL-5 protein and IgE antibodies to staphylococcal enterotoxins in nasal polyps is associated with comorbid asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(5):962-968, 968.e1-6.
  42. Armengot M, Garin L, Milara J. *Eosinophils: Structure, Biological Properties and Role in Respiratory Diseases.* Nova Science Publishers, USA; 2012.
  43. Wen W, Liu W, Zhang L, et al. Increased neutrophilia in nasal polyps reduces the response to oral corticosteroid therapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(6):1522-1528.e5.
  44. Ikeda K, Shiozawa A, Ono N, et al. Subclassification of chronic rhinosinusitis with nasal polyp based on eosinophil and neutrophil. *Laryngoscope.* 2013;123(11):1-9.
  45. Polzehl D, Moeller P, Riechelmann H, Perner S. Distinct features of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2006;61:1275-1279.
  46. Gevaert P, Calus L, Van Zele T, et al. Omalizumab is effective in allergic and nonallergic patients with nasal polyps and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(1):1-8.
  47. Samter M, Beers RF. Concerning the nature of intolerance to aspirin. *J Allergy.* 1967;40(5):281-293.
  48. Chaaban MR, Walsh EM, Woodworth BA. Epidemiology and differential diagnosis of nasal polyps. *Am J Rhinol Allergy.* 2013;27(6):473-478.
  49. Philpott CM, Erskine S, Hopkins C, et al. Prevalence of asthma, aspirin sensitivity and allergy in chronic rhinosinusitis: Data from the UK National Chronic Rhinosinusitis Epidemiology Study. *Respir Res.* 2018;19(1):129.
  50. Kowalski ML, Agache I, Bavbek S, et al. Diagnosis and management of NSAID-Exacerbated Respiratory Disease (NERD)—a EAACI position paper. *Allergy.* 2019;74(1):28-39.
  51. Bavbek S, Dursun B, Dursun E, Korkmaz H, Karasoy DS. The prevalence of aspirin hypersensitivity in patients with nasal polyposis and contributing factors. *Am J Rhinol Allergy.* 2011;25(6):411-415.
  52. Williams AN. Diagnostic Evaluation in Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016;36(4):657-668.
  53. Miller B, Mirakian R, Gane S, et al. Nasal lysine aspirin challenge

- in the diagnosis of aspirin - exacerbated respiratory disease. *Clin Exp Allergy*. 2013;43:874-880.
54. Jarvis D, Newson R, Lotvall J, et al. Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: The GA2LEN survey in Europe. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2012;67(1):91-98.
  55. Ivanova JI, Bergman R, Birnbaum HG, Colice GL, Silverman RA, McLaurin K. Effect of asthma exacerbations on health care costs among asthmatic patients with moderate and severe persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(5):1229-1235.
  56. Klossek JM, Neukirch F, Pribil C, et al. Prevalence of nasal polyposis in France: A cross-sectional, case-control study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2005;60(2):233-237.
  57. Bonfils P, Malinvaud D. Influence of allergy in patients with nasal polyposis after endoscopic sinus surgery. *Acta Otolaryngol*. 2008;128(2):186-192.
  58. Muñoz del Castillo F, Jurado-Ramos A, Fernández-conde BL, et al. Allergenic Profile of Nasal Polyposis. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(2):110-116.
  59. Tint D, Kubala S, Toskala E. Risk Factors and Comorbidities in Chronic Rhinosinusitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2016;16(2):16.
  60. Khan A, Vandeplas G, Thao Huynh TM, et al. The global allergy and asthma european network (GALEN) rhinosinusitis cohort: a large European cross-sectional study of chronic rhinosinusitis patients with and without nasal polyps. *Rhinology*. 2019;57(1):32-42.
  61. Hastan D, Fokkens WJ, Bachert C, et al. Chronic rhinosinusitis in Europe - An underestimated disease. A GA2LEN study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2011;66(9):1216-1223.
  62. ANM T-M, García Simal M, Navarro Cunchillos M, Galindo Campillo A. Estudio epidemiológico en pacientes con poliposis nasal. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2008;(59):438-443.
  63. Zhang J, Li Y, Lu X, et al. Distinguishing the dominant species of pathogen in maxillary sinusitis by sequencing DNA dataset analysis. *Gene*. 2015;561(2):256-260.
  64. Liu Q, Lu X, Bo M, Qing HUI, Wang X. The microbiology of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. 2014;(17):1251-1258.
  65. Brook I. The role of anaerobic bacteria in sinusitis. *Anaerobe*. 2006;12:5-12.
  66. Shi JB, Fu QL, Zhang H, et al. Epidemiology of chronic

- rhinosinusitis: Results from a cross-sectional survey in seven Chinese cities. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2015;70(5):533-539.
67. Hirsch AG, Stewart WF, Sundaresan AS, et al. Nasal and sinus symptoms and chronic rhinosinusitis in a population-based sample. *Allergy*. 2017;72(2):274-281.
  68. Hoffmans R, Wagemakers A, Van Drunen C, Hellings P, Fokkens W. Acute and chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis in relation to comorbidity, ethnicity and environment. *PLoS One*. 2018;13(2):1-14.
  69. Settipane GA, Chafee FH. Nasal polyps in asthma and rhinitis. A review of 6,037 patients. *J Allergy Clin Immunol*. 1977;59(1):17-21.
  70. Larsen PL, Tos M. Origin of nasal polyps. *Laryngoscope*. 1991;101(3):305-312.
  71. Larsen PL, Tos M. Site of origin of nasal polyps. Transcranially removed naso-ethmoidal blocks as a screening method for nasal polyps in autopsy material. *Rhinology*. 1995;33(4):185-188.
  72. Larsen PL, Tos M. Anatomic Site of Origin of Nasal Polyps: Endoscopic Nasal and Paranasal Sinus Surgery as a Screening Method for Nasal Polyps in an Autopsy Material. *Am J Rhinol*. 1996;10(c):211-216.
  73. Min Y, Jung H, Kim H, Park S, Yoo K. Prevalence and risk factors of chronic sinusitis in Korea: results of a nationwide survey. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 1996;(253):435-439.
  74. Hedman J, Kaprio J, Poussa T, Nieminen MM. Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *Int J Epidemiol*. 1999;28(4):717-722.
  75. Johansson L, Akerlund A, Holmberg K, Melen I, Bende M. Prevalence of nasal polyps in adults: the Skovde population-based study. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2003;112(7):625-629.
  76. Ahsan SF, Jumans S, Nunez D a. Chronic rhinosinusitis: a comparative study of disease occurrence in North of Scotland and Southern Caribbean otolaryngology outpatient clinics over a two month period. *Scott Med J*. 2004;49(4):130-133.
  77. Ostovar A, Fokkens WJ, Vahdat K, Raeisi A, Mallahzadeh A, Farrokhi S. Epidemiology of chronic rhinosinusitis in Bushehr, southwestern region of Iran: a GA2LEN study. *Rhinology*. 2019;57(1):43-48.

78. Kim DH, Seo Y, Kim KM, Lee S, Hwang SH. Usefulness of Nasal Endoscopy for Diagnosing Patients With Chronic Rhinosinusitis: A Meta-Analysis. *Am J Rhinol Allergy*. 2020;34(2):306-314.
79. Bachert C, Pawankar R, Zhang L, et al. ICON: chronic rhinosinusitis. *World Allergy Organ J*. 2014;7:25.
80. Orlandi RR, Kingdom TT, Hwang PH, et al. International Consensus Statement on Allergy and Rhinology: Rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6:22-209.
81. American Academy of Pediatrics Steering Committee on Quality Improvement and Management. Classifying Recommendations for Clinical Practice Guidelines. *Pediatrics*. 2004;114:874-877.
82. Valera FCP, Queiroz R, Scrideli C, Tone LG, Anselmo-Lima WT. Evaluating budesonide efficacy in nasal polyposis and predicting the resistance to treatment. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(1):81-88.
83. Peiro T, Milara J, Armengot M, Cortijo J. Mucin Expression and Corticosteroid Efficacy in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *J Steroids Horm Sci*. 2014;S12:007.
84. Fokkens WJ, Lund V, Bachert C, et al. EUFOREA consensus on biologics for CRSwNP with or without asthma. *Allergy*. 2019;74(12):2312-2319.
85. Laidlaw TM, Buchheit KM. Review article: biologics in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Ann Allergy, Asthma Immunol*.
86. Gliklich RE, Metson R. Techniques for outcomes research in chronic sinusitis. *Laryngoscope*. 1995;105(4):387-390.
87. Piccirillo JF, Edwards D, Haiduk A, Yonan C, Thawley SE. Psychometric and Clinimetric Validity of the 31-Item Rhinosinusitis Outcome Measure (RSOM-31). *Am J Rhinol*. 1995;9(6):297-306.
88. Briggs RD, Wright ST, Cordes S, Calhoun KH. Smoking in Chronic Rhinosinusitis: A Predictor of Poor Long-Term Outcome after Endoscopic Sinus Surgery. *Laryngoscope*. 2004;114(1):126-128.
89. Piccirillo JF, Merritt MG, Richards ML. Psychometric and clinimetric validity of the 20-Item Sino-Nasal Outcome Test (SNOT-20). *Otolaryngol - Head Neck Surg*. 2002;126(1):41-47.
90. Hopkins C, Gillett S, Slack R, Lund VJ, Browne JP. Psychometric validity of the 22-item Sinonasal Outcome Test. *Clin Otolaryngol*. 2009;34:447-454.
91. Ware JE, Sherbourne CD. The MOS 36-Item Short-Form Health Survey ( SF-36 ) I . Conceptual Framework and Item Selection. *Med Care*. 2015;30(6):473-483.

92. Bachert C, Pawankar R, Zhang L, et al. Chronic rhinosinusitis. *World Allergy Organ J*. Published online 2014:1-28.
93. Armengot M, Garin L, Peiro T, Milara J, Cortijo J. Eosinophils and Airway Inflammation. *Genet Syndr gene Ther*. Published online 2014:5-8.
94. Kato K, Song BH, Howe CL, Chang EH. A Comprehensive Systematic Review of the Association Between Airway Mucins and Chronic Rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2019;33(4):433-448.
95. Peiró T, Milara J, Armengot M, Cortijo J. Mucin Expression and Corticosteroid Efficacy in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *J Steroids Horm Sci*. 2014;s12.
96. Hijikata M, Matsushita I, Tanaka G, et al. Molecular cloning of two novel mucin-like genes in the disease- susceptibility locus for diffuse panbronchiolitis. *Hum Genet*. 2011;129:117-128.
97. Rose MC, Voynow JA. Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev*. 2006;86:245-278.
98. Roy MG, Livraghi-butrico A, Fletcher AA, et al. Muc5b Is Required for Airway Defense Michelle. *Nature*. 2014;505(7483):412-416.
99. Huang D, Jiang Y. MKP1 reduces neuroinflammation via inhibiting endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction. *J Cell Physiol*. 2019;235(5):4316-4325.
100. Stathas T, Athanassiou SD, Drakouli S, et al. MIF attenuates the suppressive effect of dexamethasone on IL-6 production by nasal polyp. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17(11):1455-1466.
101. Kim DW, Eun KM, Roh EY, Shin S, Kim DK. Chronic rhinosinusitis without nasal polyps in Asian patients shows mixed inflammatory patterns and neutrophil-related disease severity. *Mediators Inflamm*. Published online 2019.
102. Modi WS, Dean M, Seuanes HN, Mukaida N, Matsushima K, O'Brien SJ. Monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF/IL-8) resides in a gene cluster along with several other members of the platelet factor 4 gene superfamily. *Hum Genet*. 1990;84(2):185-187.
103. Utgaard JO, Jahnsen FL, Bakka A, Brandtzaeg P, Haraldsen G. Rapid secretion of prestored interleukin 8 from Weibel-Palade bodies of microvascular endothelial cells. *J Exp Med*. 1998;188(9):1751-1756.
104. Rudack C, Maune S, Eble J, Schroeder J-M. The primary role in

- biologic activity of the neutrophil chemokines IL-8 and GRO- $\alpha$  in cultured nasal epithelial cells. *J Interf Cytokine Res.* 2003;23(2):113-123.
105. Li N, Peters AT. Chronic rhinosinusitis management beyond intranasal steroids and saline solution irrigations. *Allergy Asthma Proc.* 2015;36(5):339-343.
  106. Young LC, Stow NW, Zhou L, Douglas RG. Efficacy of medical therapy in treatment of chronic rhinosinusitis. *Allergy Rhinol.* 2012;3(1):8-12.
  107. Bachert C, Mannent L, Naclerio RM, et al. Effect of subcutaneous dupilumab on nasal polyp burden in patients with chronic sinusitis and nasal polyposis: A randomized clinical trial. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016;315(5):469-479.
  108. Van Zele T, Claeys S, Gevaert P, et al. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy.* 2006;61:1280-1289.
  109. Li Y, Dinwiddie DL, Harrod KS, Jiang Y, Kim KC. Anti-inflammatory effect of MUC1 during respiratory syncytial virus infection of lung epithelial cells in vitro. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 2010;298(4).
  110. Kyo Y, Kato K, Park YS, et al. Antiinflammatory role of MUC1 mucin during infection with nontypeable haemophilus influenzae. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2012;46(2):149-156.
  111. de los Santos G, Reyes P, del Castillo R, Fragola C, Royuela A. Cross-cultural adaptation and validation of the sino-nasal outcome test (SNOT-22) for Spanish-speaking patients. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology.* 2015;272(11):3335-3340.
  112. Garín, Luís (2007). El papel del eosinófilo en la patogenia de la poliposis nasal: correlación entre aspectos clínicos e histológicos. [Trabajo de Tesis doctoral, Departamento de cirugía, Universitat de València]. Roderic.
  113. Frías Moya-Angeler, Soledad (2018). Expresión de mucinas en poliposis nasal: correlaciones clínicas e histopatológicas [Trabajo de Tesis doctoral, Departamento de cirugía, Universitat de València]. Roderic.
  114. *GEMA 4.3. Guía Española Para El Manejo Del Asma.* Madrid, Luzan 5; 2018.
  115. Lund VJ, Kennedy DW. Staging for rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997;117:S35-S40.
  116. Lund VJ, Mackay IS. Staging rhinosinusitis. Lund 1993.pdf.

- Rhinology*. 1993;31:183-184.
117. Abdalla S, Alreefy H, Hopkins C. Prevalence of Sinonasal Outcome Test (SNOT-22) symptoms in patients undergoing surgery for Chronic Rhinosinusitis. *Clin Otolaryngol*. 2012;37:276-282.
  118. Lal D, Hopkins C, Divekar RD. SNOT-22-based clusters in chronic rhinosinusitis without nasal polyposis exhibit distinct endotypic and prognostic differences. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2018;0(0):1-9.
  119. Lange B, Mortz CG, Bindsvlev-Jensen C, Kjeldsen AD. Nasal symptoms in patients with NSAID hypersensitivity. *Rhinol Online*. 2019;2(2):91-96.
  120. Mace JC, Michael YL, Carlson NE, Litvack JR, Smith T. Correlations Between Endoscopy Score and Quality-of-Life Changes After Sinus Surgery. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;136(4):340-346.
  121. Smith TL, Litvack JR, Hwang PH, et al. Determinants of Outcomes of Sinus Surgery: A Multi-Institutional Prospective Cohort Study. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;142(1):1-19.
  122. Soler ZM, Sauer DA, Mace J, Smith TL. Impact of Mucosal Eosinophilia and Nasal Polyposis on Quality of Life Outcomes after Sinus Surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;142(1):64-71.
  123. Snidvongs K, Lam M, Sacks R, et al. Structured histopathology profiling of chronic rhinosinusitis in routine practice. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2012;2(5):376-385.
  124. Soy FK, Pinar E, Imre A, Calli C, Calli A, Oncel S. Histopathologic parameters in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis: impact on quality of life outcomes. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2013;3(10):828-833.
  125. Gitomer SA, Fountain CR, Kingdom TT, et al. Clinical Examination of Tissue Eosinophilia in Patients with Chronic Rhinosinusitis and Nasal Polyposis. *Otolaryngol -- Head Neck Surg*. 2016;155(1):173-178.
  126. Sreeparvathi A, Kalyanikuttyamma LK, Kumar M, Sreekumar N, Veerasigamani N. Significance of blood eosinophil count in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *J Clin Diagnostic Res*. 2017;11(2):MC08-MC11.
  127. Kuhar HN, Tajudeen BA, Mahdavinia M, Gattuso P, Ghai R, Batra PS. Inflammatory infiltrate and mucosal remodeling in chronic rhinosinusitis with and without polyps: structured

- histopathologic analysis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2017;7(7):679-689.
128. Hauser LJ, Chandra RK, Li P, Turner JH. Role of tissue eosinophils in chronic rhinosinusitis-associated olfactory loss. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2017;7(10):957-962.
129. Aslan F, Altun E, Paksoy S, Turan G. Could Eosinophilia predict clinical severity in nasal polyps? *Multidiscip Respir Med.* 2017;12(1):1-5.
130. Kountakis SE, Arango P, Bradley D, Wade ZK, Borish L. Molecular and Cellular Staging for the Severity of Chronic Rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2004;114(11):1895-1905.
131. Soler ZM, Sauer DA, Mace J, Smith TL. Relationship between clinical measures and histopathologic findings in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009;141(4):454-461.
132. Armengot M, Garín L, De Lamo M, Krause F, Carda C. Cytological and tissue eosinophilia correlations in nasal polyposis. *Am J Rhinol Allergy.* 2010;24(6):413-415.
133. Vlaminck S, Vauterin T, Hellings PW, et al. The importance of local eosinophilia in the surgical outcome of chronic rhinosinusitis: A 3-year prospective observational study. *Am J Rhinol Allergy.* 2014;28(3):260-264.
134. Armengot M, Garín L, Carda C. Eosinophil degranulation patterns in nasal polyposis: An ultrastructural study. *Am J Rhinol Allergy.* 2009;23(5):466-470.
135. Mygind N. *Alergia Nasal: Leucotios Eosinófilos.* Salvat Editores - Oxford Blackwell Scientific; 1982.
136. Nakayama T, Yoshikawa M, Asaka D, et al. Mucosal eosinophilia and recurrence of nasal polyps – new classification of chronic rhinosinusitis. *Rhinology.* 2011;49:392-396.
137. Matsuwaki Y, Ookushi T, Asaka D, et al. Chronic Rhinosinusitis: Risk Factors for the Recurrence of Chronic Rhinosinusitis Based on 5-Year Follow-Up after Endoscopic Sinus Surgery. *Int achieves allergy Immunol.* 2008;146(suppl 1):77-81.
138. Smith TL, Litvack JR, Hwang PH, et al. Determinants of outcomes of sinus surgery: a multi-institutional prospective cohort study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;142(1):1-19.
139. Tosun F, Arslan HH, Karlioglu Y, Devenci MS, Durmaz A. Relationship between postoperative recurrence rate and eosinophil density of nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2010;119(7):455-459.

140. Tokunaga T, Sakashita M, Haruna T, et al. Novel scoring system and algorithm for classifying chronic rhinosinusitis: The JESREC Study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2015;70(8):995-1003.
141. Bassiouni A, Ou J, Rajiv S, Cantero D, Vreugde S, Wormald PJ. Subepithelial inflammatory load and basement membrane thickening in refractory chronic rhinosinusitis with nasal polyposis: A histopathological study. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6(3):248-255.
142. Ishitoya J, Sakuma Y, Tsukuda M. Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis in Japan. *Allergol Int*. 2010;59(3):239-245.
143. Eweiss A, Dogheim Y, Hassab M, Tayel H, Hammad Z. VCAM-1 and eosinophilia in diffuse sino-nasal polyps. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2009;266(3):377-383.
144. Sun D Il, Joo YH, Auo HJ, Kang JM. Clinical significance of eosinophilic cationic protein levels in nasal secretions of patients with nasal polyposis. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2009;266:981-986.
145. Tajudeen BA, Ganti A, Kuhar HN, et al. The presence of eosinophil aggregates correlates with increased postoperative prednisone requirement. *Laryngoscope*. 2019;129(4):794-799.
146. Baudoin T, Cupic H, Geber G, Vagic D, Grgic M, Kalogjera L. Histopathologic parameters as predictors of response to endoscopic sinus surgery in nonallergic patients with chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol - Head Neck Surg*. 2006;134:761-766.
147. Thompson CF, Price CPE, Huang JH, et al. A pilot study of symptom profiles from a polyp vs an eosinophilic-based classification of chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6(5):500-507.
148. Alobid I, Benítez P, Cardelús S, et al. Oral plus nasal corticosteroids improve smell, nasal congestion, and inflammation in sino-nasal polyposis. *Laryngoscope*. 2014;124(1):50-56.
149. Burgel PR, Cardell LO, Ueki IF, Nadel JA. Intranasal steroids decrease eosinophils but not mucin expression in nasal polyps. *Eur Respir J*. 2004;24:594-600.
150. Mullol J, López E, Roca-Ferrer J, et al. Effects of topical anti-inflammatory drugs on eosinophil survival primed by epithelial cells. Additive effect of glucocorticoids and nedocromil sodium. *Clin Exp Allergy*. 1997;27:1432-1441.
151. Kanai N, Denburg J, Jordana M, Dolovich J. Nasal polyp

- inflammation: Effect of topical nasal steroid. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:1094-1100.
152. Van Zele T, Gevaert P, Holtappels G, et al. Oral steroids and doxycycline: Two different approaches to treat nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(5):1069-1076.
  153. Imai M, Hwang HY, Norris JS, Tomlinson S. The effect of dexamethasone on human mucin 1 expression and antibody-dependent complement sensitivity in a prostate cancer cell line in vitro and in vivo. *Immunology.* 2004;111(3):291-297.
  154. Seo KY, Chung SH, Lee JH, Park MY, Kim EK. Regulation of membrane-associated mucins in the human corneal epithelial cells by dexamethasone. *Cornea.* 2007;26(6):709-714.
  155. Martínez-Antón A, De Bolós C, Alobid I, et al. Corticosteroid therapy increases membrane-tethered while decreases secreted mucin expression in nasal polyps. *Allergy.* 2008;63:1368-1376.
  156. Milara J, Morell A, Ballester B, Armengot M, Morcillo E, Cortijo J. MUC4 impairs the anti-inflammatory effects of corticosteroids in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;139(3):855-862.e13.
  157. Calandra T, Bernhagen J, Metz CN, et al. MIF as glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. *Nature.* 1995;377(6544):68-71.
  158. Flaster H, Bernhagen J, Calandra T, Bucala R. The macrophage migration inhibitory factor-glucocorticoid dyad: Regulation of inflammation and immunity. *Mol Endocrinol.* 2007;21(6):1267-1280.
  159. Fokkens W, Lund V, Mullol J. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps. *Rhinology.* 2012;50(20):1-136.
  160. Davide R, Chiara R, Giulio P, et al. Predictive markers of long-term recurrence in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Am J Otolaryngol - Head Neck Med Surg.* 2020;41(1).
  161. Huriyati E, Darwin E, Yanwirasti Y, Wahid I. Differences in expression of inflammatory mediator in mucosal and polyp tissue between chronic rhinosinusitis and recurrent chronic rhinosinusitis. *Open Access Maced J Med Sci.* 2019;7(11):1733-1738.
  162. Wei B, Liu F, Zhang J, et al. Multivariate analysis of inflammatory endotypes in recurrent nasal polyposis in a chinese population. *Rhinology.* 2018;56(3):216-226.
  163. Deng J, Chen F, Lai YY, et al. Lack of additional effects of long-

term, low-dose clarithromycin combined treatment compared with topical steroids alone for chronic rhinosinusitis in China: a randomized, controlled trial. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2018;8(1):8-14.

# Anexo 1. Dictamen CEIC



Consorcio Hospital General Universitario de Valencia

Comité Ético de Investigación Clínica

## APROBACIÓN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

- ANEXO 11 -

Este CEIm tras evaluar en su reunión de 23 de Febrero de 2016 el Proyecto de Investigación:

Título:	Correlaciones clínicas , morfológicas y de calidad de vida en pacientes afectados de rinosinitis crónica con poliposis nasosinusal		
I.P.:	Aina Brunet Garcia	Servicio/Unidad	ORL

Acuerda respecto a esta documentación:

Que se cumplen los requisitos éticos y metodológicos y la Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado presentado reúnen las condiciones exigidas por este CEIC, por tanto se decide su APROBACIÓN.

### COMPOSICIÓN DEL CEIm

**Presidente:** Dra. Elena Rubio Gomis (Unidad de Farmacología Clínica)

#### Vocales:

- Dra. Pilar Blasco Segura (Servicio de Farmacia)
- Dr. Ernesto Bataller Alonso (Director Economico del CHGUV)
- Dr. Enrique Ortega Gonzalez (Gerente Chguv)
- Dr. Julio Cortijo Gimeno (Unidad de Docencia e Investigación)
- Dña. María Teresa Jareño (Unidad de Reanimación Cardiaca)
- Dr. Gustavo Juan Samper (Servicio de Neumología)
- D. Alejandro Moner González (Gerencia CHGUV – Asesoría Jurídica)
- Dr. Alberto Berenguer Jofresa (Servicio de Cardiología)
- Dra. Ana Blasco Cordellat (Servicio de Oncología)
- Dr. Antonio Martorell Aragonés (Unidad de Alergología)
- Dr. Aurelio Quesada Dorador (Servicio de Cardiología)
- Dña. Encarna Domingo Cebrián (Servicio de Estomatología)
- Dra. Mª José Safont Aguilera (Servicio de Oncología)



Consorcio Hospital General Universitario de Valencia

Comité Ético de Investigación Clínica

- Dr. Javier Milara Payá (Farmacia)
- Dra. Goitzane Marcaida Benito (Servicio de Análisis Clínicos)
- Dr. Pedro Polo Martín (Pediatría- Atención Primaria)
- Dña. Carmen Sarmiento Cabañes (Miembro independiente de la organización asistencial)

**Secretario:** Dr. Elias Ruiz Rojo (Farmacéutico Att Primaria)

El CEIm del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, cumple con las normas de BPC (CPMP/CH/135/95) tanto en su composición como en sus procedimientos y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del CEIm es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que en el caso de que algún miembro participe en el ensayo o declare algún conflicto de interés no habrá participado en la evaluación ni en el dictamen de la solicitud de autorización del ensayo clínico

Lo que comunico a efectos oportunos:

Valencia a 28 de febrero de 2017

Fdo. Dra Elena Rubio Gomis  
(Presidente CEIC CHGV)



CONSORCIO HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO VALENCIA  
COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

## Anexo 2. Hoja de información al paciente

Título: Correlaciones clínicas, morfológicas y de calidad de vida en pacientes afectados de rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal.

Investigador principal: Dra. Aina Brunet Garcia

### EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Usted sufre una Poliposis Nasosinusal (PNS). Como probablemente ya conoce es una enfermedad que consiste en un proceso inflamatorio de la mucosa de las fosas nasales y senos paranasales, que se caracteriza por la formación de pólipos desde los senos hacia la cavidad nasal. Se manifiesta por obstrucción nasal o rinorrea, y suele ir acompañado de cefalea o sensación de presión facial y pérdida de olfato. Esta entidad se puede asociar con la presencia de asma y de intolerancia a antiinflamatorios no esteroideos.

Hay varios tipos de poliposis que se diferencian por el tipo de inflamación que los produce, la coexistencia o no con asma e intolerancia a los antiinflamatorios y por cómo evolucionan en el tiempo. También se diferencian por la respuesta al tratamiento que se le aplica. Existen actualmente estudios para mejorar el diagnóstico y tratamiento, sin embargo desconocemos en muchos pacientes cómo afecta a su calidad de vida y por qué cada paciente la tolera de forma distinta. Sabemos que, en general, la poliposis es una enfermedad que afecta gravemente a la calidad de vida de los pacientes, sin embargo desconocemos cual es la relación entre los distintos tipos de poliposis y la calidad de vida. En este estudio pretendemos analizar los datos clínicos de su enfermedad (edad de aparición, tamaño de los pólipos, respuesta al tratamiento, tipo de inflamación, asociación o no a asma y a intolerancia a antiinflamatorios) con su calidad de vida que registraremos mediante un cuestionario de calidad de vida validado a nivel nacional e internacional.

Haremos una revisión de su historia clínica para recoger todos los datos de su enfermedad y los relacionaremos con los datos recogidos en los cuestionarios de calidad de vida que se le entregan.

Para ello le hacemos llegar este cuestionario de calidad de vida, conocido como SNOT-22 que debe completar siguiendo las indicaciones que figuran en el propio documento.

Todos los pacientes serán identificados con un número, de manera que los datos hagan referencia a unas determinadas características clínicas, pero no a su nombre concreto (este proceso se conoce

como anonimización). Sólo los investigadores podrán conocer la identidad que se corresponde con cada número.

Este estudio ha sido aprobado por un Comité Ético de Investigación Clínica para poder proceder a la realización del mismo.

Si Ud. está de acuerdo, libremente firme el consentimiento de participación en esta exploración que para este fin se ha añadido al final de este impreso.

### **RIESGOS Y BENEFICIOS**

Riesgos: no existen

Beneficios: Conocer la calidad de vida para poder mejorarla en un futuro tras su necesaria identificación o conocimiento de la misma

### **PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO**

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria y no recibirá remuneración alguna.

Como paciente, el rechazo a participar no supondrá ninguna penalización o no afectará en modo alguno a la calidad de la asistencia sanitaria que reciba.

## **CONFIDENCIALIDAD**

Toda la información obtenida será confidencial (es la que figura en la historia clínica y el cuestionario que usted nos mandará), los datos recogidos se introducirán, por el Equipo investigador, en una base de datos para realizar el análisis estadístico pero su nombre no aparecerá en ningún documento del estudio, sólo se le asignará un número. En ningún caso se le identificará en las publicaciones que puedan realizarse con los resultados del estudio. Sin embargo, esta información podrá ser revisada por el Comité Ético de Investigación Clínica de este Hospital así como por organismos gubernamentales competentes.

Sus datos personales serán tratados de manera confidencial, y se procesarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (15/1999, del 13 de Diciembre) el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, que la desarrolla. El tratamiento de toda la información obtenida en el estudio está regulado por las leyes nacionales e internacionales de datos y de confidencialidad.

Puede ejercer su derecho de acceso y rectificación de sus datos. También, si así lo desea, puede ser informado de los resultados del estudio.

El estudio se realizará asegurando el cumplimiento de normas éticas y legales vigentes (Declaración de Helsinki).

Si tiene alguna duda o no entiende este texto consulte antes de firmar el documento con el Dr. D. Javier Milara Payá, con nº de teléfono 620231549, que es el médico responsable de esta investigación y le puede preguntar cualquier duda o problema que tenga relacionado con este estudio. Consulte con sus familiares y, finalmente, si está de acuerdo firme este consentimiento. (Se le entregará una copia)

Sus datos personales serán tratados de manera confidencial, y se procesarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (15/1999, del 13 de Diciembre) el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, que la desarrolla. El tratamiento de toda la información obtenida en el estudio está regulado por las leyes nacionales e internacionales de datos y de confidencialidad.



## Anexo 3. Consentimiento informado

### CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE SUJETO DE ESTUDIO

Título del proyecto de investigación:

Yo, .....

He leído la hoja de información anterior.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con .....

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Doy mi consentimiento para que este material aparezca en informes y artículos de revista de publicaciones médicas.

Entiendo que:

- Mi nombre no será publicado
- El material no será utilizado para publicidad o embalaje
- El material no será utilizado fuera de contexto

Firmado .....

Fecha .....



## Anexo 4. Cuestionario SNOT-22

### Cuestionario de Síntomas Nasosinuales SNOT-22

Nombre:

Fecha:

A continuación encontrará una lista de síntomas y consecuencias sociales y emocionales en relación a su trastorno nasal. Nos gustaría saber más sobre estos problemas y le agradeceríamos respondiera a las siguientes preguntas en la medida de su capacidad. No hay respuestas correctas o incorrectas, y solo usted puede proporcionarnos esta información. Por favor califique sus problemas en base a como han sido *durante las últimas dos semanas*. Gracias por su colaboración.

A: Teniendo en cuenta la gravedad y la frecuencia con que usted experimenta el problema, por favor califique cada uno de los puntos a continuación marcando con un círculo el número que se corresponde con la "gravedad/severidad" de su problema

	Ningún Problema	Problema muy leve	Problema leve	Problema Moderado	Problema Grave/ Severo	El problema ha llegado al máximo de su gravedad
1. Necesidad de sonarse la nariz	0	1	2	3	4	5
2. Estornudos	0	1	2	3	4	5
3. Secreción nasal continua	0	1	2	3	4	5
4. Tos	0	1	2	3	4	5
5. Sensación de moco que cae por la parte posterior de la garganta	0	1	2	3	4	5
6. Secreción nasal espesa	0	1	2	3	4	5
7. Sensación de oído taponado	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 quedarse dormido	0	1	2	3	4	5
12. Se despierta durante la noche	0	1	2	3	4	5
13. Dormir mal por la noche	0	1	2	3	4	5
14. Se despierta cansado	0	1	2	3	4	5
15. Fatiga o cansancio	0	1	2	3	4	5
16. Disminución en el rendimiento/productividad	0	1	2	3	4	5
17. Disminución en la concentración	0	1	2	3	4	5
18. Frustrado/inquieto/irritable	0	1	2	3	4	5
19. Triste	0	1	2	3	4	5
20. Avergonzado	0	1	2	3	4	5
21. Alteraciones del gusto/olfato	0	1	2	3	4	5
22. Congestión Obstrucción nasal	0	1	2	3	4	5

Total:

Suma total:



## Anexo 5. Mención internacional

VNIVERSITAT  
D VALÈNCIA (QÀ) Facultat de Medicina i Odontologia

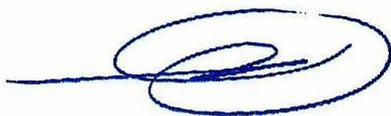
*Programa de Doctorado en Medicina*

### VALORACIÓN DE LA ESTANCIA REALIZADA MENCIÓN INTERNACIONAL

La Comisión Académica del Programa de Doctorado 3139 en Medicina, en su reunión de

21 de julio, ha acordado emitir informe favorable sobre la estancia realizada por la doctorando/a D/D<sup>a</sup> AINA BRUNET GARCIA, en el Servicio de Otorrinolaringología, Guy's and St Thomas Hospitals, en Londres, durante el período del 08/07/19 al 08/12/19, a los efectos de obtener la Mención Internacional al título de doctor.

Valencia, 21 de julio de 2020



Pilar Codoñer Franch

Coordinadora Programa Doctorado en Medicina