

RICHARD LOUIS VOEGELS

POLIPOSE NASAL

Estudo da correlação entre as interleucinas 1 β , 3, 4 e 5 e a molécula de adesão VCAM-1 com a presença ou não de alergia

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina.

SÃO PAULO

1998

RICHARD LOUIS VOEGELS

POLIPOSE NASAL

Estudo da correlação entre as interleucinas 1 β , 3, 4 e 5 e a molécula de adesão VCAM-1 com a presença ou não de alergia

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Medicina.

Área de concentração: Otorrinolaringologia
Orientador: Prof. Dr. Lázaro Gilberto Formigoni

**SÃO PAULO
1998**

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Voegels, Richard Louis

Polipose nasal : estudo da correlação entre as interleucinas 1 β , 3, 4 e 5 e a molécula de adesão VCAM-1 com a presença ou não de alergia / Richard Louis Voegels. – São Paulo, 1998.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia.

Área de concentração: Otorrinolaringologia.

Orientador: Lázaro Gilberto Formigoni.

Descritores: 1.MUCOSA NASAL/imunologia 2.MUCOSA NASAL/
fisiopatologia 3.ALERGIA E IMUNOLOGIA 4.INTERLEUCINAS
5.MOLÉCULA 1 DE ADESÃO DE CÉLULA VASCULAR 6.CITOCINAS
7.IMUNOGLOBULINAS

USP/FM/SBD-307/98

À minha querida esposa, Daniela, que sempre dedicou tanto amor, carinho e afeto a mim e a nossa família.

À minha filha Julia, que tornou a vida mais alegre e bela.

Ao meu pai, Dietrich, que durante toda sua vida nunca mediu esforços para proporcionar as melhores condições de vida e de estudo.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Aroldo Miniti, Professor Titular da Disciplina de Otorrinolaringologia da FMUSP, por ter nos dado a oportunidade de ingressar na nossa maravilhosa especialidade, sempre oferecendo estímulos e apoio irrestritos.

Ao Prof. Dr. Lázaro Gilberto Formigoni, nosso orientador, sempre dedicado e preocupado em nos orientar, não só na profissão como também na vida.

Ao Prof. Dr. Ossamu Butugan, que nunca poupou esforços para nos ensinar. Somos eternamente gratos pelo apoio e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Ricardo F. Bento, que além de professor, sempre se mostrou um amigo, apoiando, incentivando e mostrando os caminhos a serem perseguidos, com objetividade e eficiência, sem nunca medir esforços para tal.

Ao Prof. Dr. Alberto Duarte, pelo apoio irrestrito na realização deste trabalho, cedendo toda estrutura do laboratório de Imunologia da FMUSP.

Ao Prof. Heinz Stammberger por todos ensinamentos passados com tanta paciência e didática, e por ter nos introduzido à fascinante área da imunologia nasal.

Aos grandes amigos, Dr. Domingos Tsuji e Dr. Luiz U. Sennes, pelo apoio irrestrito e sincero nas diversas situações do dia a dia e pela minuciosa revisão deste trabalho.

Ao Prof. Edgar R. de Almeida, pela amizade e pela atenção com que leu nosso trabalho e nos auxiliou.

À Prof. Dra. Euthymia B. A. Prado, Dr. Frederico C. B. Cavalcanti, Maria José B. A. Prado, Mariko Yokoo e Wagner V. Domingues pelo carinho e inestimável auxílio na realização das reações imunoistoquímicas.

Aos colegas Dr. Gilberto Formigoni, Dr. João F. Mello Jr., Dra. Tanit Sanchez, Dr. Rui Imamura, Dr. Olavo Mion, Dra. Renata Di Francesco, Dr. Luiz Figueiredo, Dr. Rubens Brito Neto e Dr. Henry Ugadin pelo apoio e amizade durante todos esses anos.

À Dra. Marisa Dolhnikoff pela paciência e auxílio na leitura e interpretação das reações imunoistoquímicas.

Ao Milton Maciel Junior e à Maria Naromi Sato pela realização das reações de ELISA.

Ao Dr. Perboyre Sampaio e Dr. Carlos Caropreso, membros da nossa banca examinadora no exame de qualificação, pelas observações e orientações feitas sobre o nosso trabalho.

À Dra. Aracy Balbani, Dr. Ronaldo Santos, Dra. Patricia Santoro, Dr. Ítalo Medeiros e a todos residentes do Departamento de Otorrinolaringologia do HCFMUSP que tanto nos auxiliaram na realização deste trabalho.

À Terezinha, Márcia, Bárbara, Beth, Martha e Patrícia, que há anos nos auxiliam nos imprevistos do dia a dia.

Ao Dr. Sergio Garbi, Ana Paula, Claudecy, Paulo, Cida, Cidinha e a todos funcionários do ambulatório da otorrinolaringologia pela preciosa ajuda prestada durante todos esses anos.

À Sofia Y. Miyakoshi pelo auxílio preciso na realização da análise estatística.

A todos os colegas e funcionários da Clínica Otorrinolaringológica, que direta ou indiretamente colaboraram na realização desse trabalho.

Ao Marcelo Guimarães, Marcos Weigt, Robert Weigt e respectivas esposas pela amizade e carinho durante tantos anos.

Ao CNPQ - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo auxílio financeiro durante a elaboração deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LIERATURA	4
2.1. TEORIAS DE FORMAÇÃO DOS PÓLIPOS NASAIS.....	4
2.2. ALERGIA E ASMA.....	6
2.3. CITOCINAS.....	9
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	15
3.1. HISTÓRIA E QUADRO CLÍNICO.....	17
3.2. EXAME FÍSICO.....	18
3.3. EXAMES SÉRICOS.....	18
3.4. TESTE CUTÂNEO DE HIPERSENSIBILIDADE.....	19
3.5. COLETA DE MATERIAL NASAL.....	21
3.6. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA) PARA DOSAGEM DAS CITOCINAS INTERLEUCINA-1 (IL-1 β), INTERLEUCINA-3 (IL-3), INTERLEUCINA-4 (IL-4) E INTERLEUCINA-5 (IL-5).....	26
3.7. MÉTODO IMUNOISTOQUÍMICO.....	28
3.8. MÉTODO DE COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA E EOSINA PARA HISTOLOGIA.....	33
3.9. ANÁLISE DE RESULTADOS.....	33
3.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4. RESULTADOS	36
4.1. IDADE E SEXO DOS PACIENTES.....	36
4.2. ASMA E INTOLERÂNCIA AO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO.....	38
4.2.1. Incidência de asma nos grupos de estudo.....	38
4.2.2. Comparação entre a proporção de asma por sexo e por grupo.....	40
4.2.3. Incidência de intolerância ao aas nos grupos estudados.....	41
4.3. QUADRO CLÍNICO.....	42
4.4. EOSINÓFILOS E IMUNOGLOBULINAS (IgE, IgA, IgG, IgM).....	44
4.5. ELISA (INTERLEUCINAS 1 β , 3, 4 E 5).....	45
4.6. HISTOLOGIA E IMUNOISTOQUÍMICA (VCAM-1).....	46
5. DISCUSSÃO	51
5.1. IDADE.....	51
5.2. SEXO.....	52
5.3. QUADRO CLÍNICO.....	53
5.4. ATOPIA	53
5.5. ASMA E INTOLERÂNCIA AO AAS.....	54
5.6. IMUNOGLOBULINAS IgA, IgG e IgM.....	57
5.7. INTERLEUCINA 1 (IL-1)	57
5.8. INTERLEUCINA 3 (IL-3)	59
5.9. INTERLEUCINA 4 (IL-4) E IMUNOGLOBULINA E.....	61
5.10. INTERLEUCINA 5 (IL-5) E EOSINÓFILOS.....	63
5.11. HISTOLOGIA E VCAM-1.....	65
6. CONCLUSÕES	68
7. ANEXOS	69
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	ácido acetilsalicílico
APAAP	<i>alkaline phosphatase anti alkaline phosphatase</i>
cm	centímetro
C	centígrado
dl	decilitro
ECAM-1	<i>extracellular adhesion molecule</i>
ELISA	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
et al.	e outros
GM-CSF	<i>granulocyte-macrophage colony stimulating factor</i>
ICAM-1	<i>intracellular adhesion molecule</i>
IgA	imunoglobulina A
IgE	imunoglobulina E
IgG	imunoglobulina G
IgM	imunoglobulina M
IL-1	interleucina 1
IL-3	interleucina 3
IL-4	interleucina 4
IL-5	interleucina 5
IL-6	interleucina 6
IL-8	interleucina 8
IL-10	interleucina 10
M	molar
mg	miligrama
ml	mililitro
mm	milímetro
NaCl	cloreto de sódio
RAM	<i>rabbit anti-mouse</i>
RAST	<i>radioallergosorbent test</i>
SFB	soro fetal bovino
TBS	tris buffered saline
TGF- β	<i>transforming growth factor-β</i>
Th-2	linfócito T <i>helper</i> 2
TNF- α	<i>tumor necrosis factor-α</i>
PN	polipose nasal
UI	unidade internacional
VCAM-1	<i>vascular cell adhesion molecule</i>
VLA-4 α	<i>very late antigen 4α</i>
Om	micrômetro

RESUMO

VOEGELS, R. L. Polipose Nasal - Estudo da correlação entre as interleucinas 1 β , 3, 4 e 5 e a molécula de adesão VCAM-1 com a presença ou não de alergia. São Paulo, 1998. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

A polipose nasal é uma doença inflamatória crônica da mucosa nasal cuja fisiopatologia é motivo de controvérsia, existindo inúmeras teorias descritas na literatura sobre o assunto. O objetivo deste trabalho foi o de estudar pacientes portadores de polipose nasal dividindo-os em dois grupos: o de alérgicos e o de não-alérgicos. Foram estudados os seguintes aspectos: idade, sexo e quadro clínico dos pacientes; correlação entre asma, intolerância ao ácido acetilsalicílico e polipose nasal; níveis séricos de imunoglobulinas (A, E, G e M) e eosinófilos; concentração das interleucinas 1 β , 3, 4 e 5 no pólo nasal e expressão de VCAM-1 no endotélio vascular do pólo.

Foram selecionados prospectivamente 39 pacientes com polipose nasal, sendo 13 considerados alérgicos e 26 não-alérgicos, além de um grupo controle com 11 indivíduos. As dosagens das concentrações das interleucinas 1 β , 3, 4 e 5 ocorreram através de ELISA, tendo sido que a interleucina 1 β quantificada em secreção nasal, enquanto as outras em macerado de pólo nasal. A expressão de VCAM-1 foi estudada por imunistoquímica em tecido de pólo nasal congelado.

Houve uma maior incidência de polipose nasal após a quarta década de vida e no sexo masculino. O quadro clínico foi semelhante nos dois grupos e se caracterizou principalmente por obstrução nasal e hiposmia. Não houve correlação entre asma ou intolerância ao ácido acetilsalicílico com a presença ou não de alergia. Os níveis séricos de IgE e eosinófilos foram significativamente maiores nos pacientes alérgicos portadores de polipose nasal e apresentaram uma relação direta com as concentrações de interleucinas 3, 4 e 5 no pólo nasal. Não houve diferença entre o grupo de pacientes não-alérgicos com polipose nasal e o grupo controle quanto aos níveis de interleucinas 3, 4 e 5, sugerindo que estas não tenham um papel importante na fisiopatologia da polipose nasal. A expressão de VCAM-1 foi expressiva nos dois grupos de pacientes portadores de polipose nasal, revelando que essa molécula de adesão provavelmente está envolvida na intensa migração de eosinófilos que ocorre nessa doença.

SUMMARY

VOEGELS, R. L. Polipose Nasal - Estudo da correlação entre as interleucinas 1 β , 3, 4 e 5 e a molécula de adesão VCAM-1 com a presença ou não de alergia. São Paulo, 1998. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Nasal polyposis is a chronic inflammatory disease of the nasal mucosa. The etiology and formation of nasal polyps are still not elucidated and have been debated for many years. The objective of the present study was to investigate the role of nasal allergy in the development of nasal polyps. The following aspects were analyzed: age, sex and patient's symptoms; correlation of asthma, aspirin intolerance and nasal polyposis; sera immunoglobulin levels (IgE, IgA, IgG, IgM) and eosinophilia; concentration of interleukins 1 β , 3, 4 and 5 in the nasal polyp and VCAM-1 expression in the vascular endothelium of the polyp tissue.

Thirty nine patients with nasal polyposis were selected, 13 were classified as allergic and 26 as non allergic. A control group with 11 individuals was also studied. The concentrations of interleukins 1 β , 3, 4 and 5 were measured with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of VCAM-1 was detected with immunohistochemistry of frozen nasal polyp tissue.

There was a higher incidence of nasal polyposis after the fourth decade of life and among men. The clinical symptoms were similar in both groups of patients with nasal polyposis and characterized by nasal obstruction and anosmia. We found no correlation of asthma or aspirin intolerance with the presence or not of allergy. The sera levels of IgE and eosinophils were significantly higher in patients with allergy and nasal polyposis and there was a straight relation to the concentrations of interleukins 3, 4 and 5 in the nasal polyp. There was no difference regarding the concentration of interleukins 3, 4 and 5 between the non allergic group with nasal polyposis and the control group, suggesting that these interleukins do not have an important role in the etiology and formation of nasal polyps. The expression of VCAM-1 was significant in both groups of patients with nasal polyposis, suggesting that this adhesion molecule is probably involved in the intense migration of eosinophils that occurs during nasal polyp formation.

1. INTRODUÇÃO

A polipose nasal (PN) é uma doença inflamatória crônica da mucosa nasal que acomete em torno de 0,5% da população (CAPLIN et al., 1971; SETTIPANE et al., 1997). A fisiopatologia da PN é motivo de controvérsia, existindo inúmeras teorias descritas na literatura sobre a doença.

O primeiro relato de PN ocorreu há quase 5.000 anos e retrocede ao antigo Egito. Os egípcios se referiam à PN como “uvas descendo pelo nariz” e tratavam os pacientes com medicamentos contendo álcool (SETTIPANE et al., 1997). Posteriormente, na Grécia, Hipócrates revolucionou o tratamento cirúrgico da PN, introduzindo diversas técnicas para a exérese dos pólipos. Ele definiu a PN como um distúrbio dos “quatro humores”, teoria que permaneceu durante o Império Romano e toda a Idade Média.

Foi apenas no século XVI, com o Renascimento, que a PN começou a ser interpretada como uma neoplasia. Essa teoria dominou o meio médico até 1882, quando ZUCKERKANDL publicou em Viena um importante estudo patológico no qual mencionou a presença de PN em mais de 12% das

autópsias de rotina realizadas. Relatou ainda a localização precisa dos pólipos, sempre provenientes do meato médio, definiu-os como um processo inflamatório crônico catarral com intenso edema (ZUCKERKANDL, 1892).

No começo deste século, BOURGEOIS (1925) publicou a teoria alérgica, segundo a qual a PN seria um processo inflamatório decorrente de algum tipo de alergia. Tal teoria foi logo aceita por outros autores (HIRSCH, 1931; WIETHE, 1932; KERN, SCHNECK, 1933; HANSEL, 1936). Desde então, inúmeras outras teorias têm surgido na tentativa de elucidar os mecanismos envolvidos na gênese da PN (DAVISON, 1963; TOS, 1990; NORLANDER et al., 1995; BERNSTEIN et al., 1997). Entretanto muitos autores continuam definindo a PN como decorrente de um processo alérgico, principalmente devido à intensa eosinofilia presente no tecido dos pólipos (CALENOFF et al., 1983; JACOBS et al., 1983; GRANSTRÖM et al., 1992).

Nos últimos anos, com os grandes avanços atingidos pela imunologia, diversos autores vêm tentando identificar os mediadores imunológicos envolvidos na gênese da PN, para tentar elucidar sua possível origem.

Para melhor compreenderem-se o desenvolvimento da polipose nasal e os mecanismos imunológicos envolvidos na sua gênese, houve a opção pelo estudo de dois grupos de pacientes portadores de polipose nasal: o de alérgicos e o de não-alérgicos e compara-los a um grupo-controle. O objetivo desta pesquisa foi a de estudar:

- correlação entre asma, intolerância ao ácido acetilsalicílico e polipose nasal;

- níveis séricos de imunoglobulinas (IgA, IgE, IgG e IgM) e eosinófilos;
- concentração das interleucinas 1 β , 3, 4 e 5 no pólipó nasal;
- expressão de VCAM-1 no endotélio vascular do pólipó.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. TEORIAS DE FORMAÇÃO DOS PÓLIPOS NASAIS

FRERICHS (1843) apud BILLROTH (1885) descreve que a obstrução de ductos glandulares, junto com edema de mucosa, levaria à formação de cistos, que se expandiriam, levando à formação de pólipos nasais.

BILLROTH (1885) explica a PN como sendo uma formação adenomatosa.

JENKINS (1932) cita a PN como um bloqueio dos espaços intercelulares devido à infiltração de linfócitos. Com isso haveria infiltração de fluido no espaço intercelular e conseqüente formação de pólipos.

KERN; SCHNECK (1933), SAMTER; BECKER (1947), BERDAL (1954) e BLUMSTEIN (1966) relatam a PN como resultado de um mecanismo alérgico desencadeado por bactérias.

DAVISON (1963) e DOLOWITZ; DOUGHERTY (1966) sugerem que a PN estaria associada a um distúrbio endócrino e seria, portanto, uma patologia de tecido conectivo.

WEILLE (1966) propõe a PN como decorrente de uma infecção viral.

CAUNA et al. (1972), através de pesquisas com microscopia eletrônica, deduzem que a falta de inervação aliada a reações alérgicas seria responsável pelo desenvolvimento da PN.

SETTIPANE, CHAFEE et al. (1977), estudando 4.986 pacientes adultos portadores de asma ou rinite, encontram uma incidência de PN de 6,7% na população asmática e de 2,2% naquela com rinite alérgica, inferem que essas duas doenças teriam alguma correlação com a fisiopatologia da PN.

OPPENHEIMER; ROSENSTEIN (1979), analisando a histologia de pólipos de nove pacientes com fibrose cística e quatro com atopia, concluem que no primeiro grupo haveria uma grande proliferação de glândulas mucinosas e um baixo infiltrado eosinofílico, enquanto no segundo grupo predominaria um extenso infiltrado eosinofílico. Concluem que a PN em pacientes com fibrose cística difere da PN naqueles com atopia.

TOS (1990) relata, baseado em observações histopatológicas, que o desenvolvimento de pólipos inicia-se com a ruptura do epitélio, sendo esta decorrente de um aumento da pressão no tecido devido a edema e infiltrado celular. Por conseguinte ocorrem um prolapso de tecido de granulação e neoformação vascular, gerando reepitelização e formação de pólipos.

DRAKE-LEE (1992) descreve a presença de pólipos nasais em gêmeos idênticos, sugerindo existir uma predisposição genética para a manifestação da doença.

NORLANDER et al. (1995) induzem sinusite maxilar em coelhos brancos New Zealand com quatro bactérias diferentes. Em todas as cobaias houve formação de pólipos. Os autores concluem que esta seria consequência de uma reação inflamatória contínua, não tendo relação com o tipo de microrganismo envolvido.

BERNSTEIN et al. (1997), estudando 16 pacientes com PN, encontram no epitélio dos pólipos um aumento na absorção de sódio resultante de alterações na integridade bioelétrica dos canais de cloro e sódio. Concluem que esse mecanismo possa estar envolvido na patogênese da PN.

2.2. ALERGIA E ASMA

A primeira descrição de que um quadro agudo de asma poderia ser desencadeado por uma idiosincrasia ao AAS é revelada em 1911 por GILBERT apud PROBST et al. (1992). WIDAL et al. (1922) desenvolvem estudo inédito sobre a tríade AAS, asma e PN.

PEARSON (1963), observando 1.205 pacientes asmáticos, encontra 2,3% deles com intolerância a AAS.

SAMTER; BEERS (1967) correlacionam sensibilidade anormal ao AAS com asma e PN, sugerindo que se trataria de uma doença inflamatória intrínseca ao trato respiratório.

CAPLIN et al. (1971), analisando 3.000 indivíduos alérgicos e 23 com intolerância ao AAS, encontram 0,5% de PN nos primeiros e 95,65% nos restantes.

MILLER (1971) descreve a indução de asma por AAS em duas irmãs insinuando haver fator genético na gênese dessa patologia.

BAUMGARTEN et al. (1980) e JACOBS et al. (1983) ressaltam o intenso infiltrado eosinofílico presente nos pólipos nasais. Julgam, assim, que a atopia estaria relacionada com a patogênese da PN.

CALENOFF et al. (1983), estudando 61 pacientes com PN, dosam através de radioimunoensaio a presença de IgE sérica contra onze bactérias diferentes. Em 59 deles (96,7%) encontram IgE ao menos contra uma das onze bactérias, inferindo que tal hipersensibilidade poderia estar relacionada com a fisiopatologia da PN.

JAMAL; MARANT (1987), analisando 130 pacientes, concluem que a incidência de atopia em pacientes com polipose nasal seria semelhante à da população geral e que, portanto, não existe ligação entre PN e atopia.

YAMASHITA et al. (1989) apresentam sete casos de PN com intolerância ao AAS. Notam baixos níveis de prostaglandinas e alta concentração de leucotrienos nos pólipos, deduzindo que esse desequilíbrio estaria vinculado com a formação da PN.

SETTIPANE et al. (1991) observam que a PN não seria mais freqüente em pacientes atópicos, mas que, quando ambos fatores coexistem, ocorreria uma exacerbação da PN.

GRANSTRÖM et al. (1992), estudando 224 casos de PN, deduzem que a alergia teria um papel importante na migração de eosinófilos e, por conseguinte, na formação de pólipos.

CASTRO (1997) relata uma incidência de 30% de rinite alérgica em populações de grandes centros urbanos.

Na literatura encontram-se publicações de vários autores referindo a incidência de asma e intolerância ao AAS em pacientes portadores de PN. Algumas delas estão sintetizadas no Quadro I.

QUADRO 1 - INCIDÊNCIA DE ASMA E INTOLERÂNCIA AO AAS EM PACIENTES PORTADORES DE PN RELATADOS NA LITERATURA

AUTOR(ES)	N ⁽¹⁾	ASMA		Intolerância ao AAS	
		Total	%	Total	%
SCHENCK, 1974.....	174	31	18%	24	14%
DELANEY, 1973.....	100	25	25%	3	3%
MOLONEY, 1977.....	445	95	21%	25	6%
BROWN et al., 1979.....	1660	513	31%	182	11%
HOLOPAINEN et al., 1979.....	109	23	21%	25	23%
DRAKE-LEE et al., 1984.....	200	58	29%	11	6%
STEVENS; BLAIR, 1988.....	87	35	40%	17	20%
JANTTI-ALANKO et al., 1989.....	85	34	40%	22	26%
VLEMING et al. 1991.....	105	44	42%
GRANSTROM et al., 1992.....	224	59	26%	10	4%
WONG et al., 1992.....	337	121	36%
DAVIDSSON; HELLQUIST, 1993.....	95	36	38%	22	23%
LARSON; TOS, 1994.....	180	38	21%	7	4%

(1) Número de casos.

2.3. CITOCINAS

ROTHENBERG et al. (1988) demonstram *in vitro* que eosinófilos humanos expostos a IL-3 aumentariam a sobrevivência significativamente, além de elevar as propriedades funcionais. Concluem que esse mecanismo poderia estar envolvido em situações nas quais exista eosinofilia importante, como nas doenças alérgicas.

TEPPER et al. (1990), através de uma fusão genética em ratos transgênicos, estudam o efeito da hiperexpressão de IL-4. Notam, entre outros efeitos, um aumento importante no nível sérico de IgE, sugerindo que a IL-4 possuiria um papel relevante nas doenças alérgicas.

BOCHNER et al. (1991) observam que a expressão no endotélio dos vasos de VCAM-1 promoveriam a adesão e a migração tecidual de eosinófilos e basófilos, mas não de neutrófilos. Através de imunofluorescência indireta, mostram a expressão de VLA-4 α , o contra-receptor de VCAM-1, em eosinófilos e basófilos, estando ausente em neutrófilos. Concluem que, ao contrário de ICAM-1 e ECAM-1, o VCAM-1 teria a propriedade de promover a adesão vascular específica de eosinófilos e basófilos.

OHNO et al. (1991), com o uso de hibridização *in situ*, encontram mRNA específico para GM-CSF em eosinófilos de mucosa nasal de pacientes alérgicos e naqueles com PN, inferindo que esses eosinófilos

seriam significantes para a patogênese de doenças inflamatórias crônicas, tais como rinite alérgica e PN.

YAMAGUCHI et al. (1991) revelam *in vitro* que a presença de IL-5 inibiria a apoptose de eosinófilos, aumentando a sobrevivência média dessas células em 150%.

SCHLEIMER et al. (1992), com o objetivo de estudar o efeito de IL-4 sobre a expressão das moléculas de adesão endoteliais, ICAM-1, VCAM-1 e ECAM-1, submetem células endoteliais ao estímulo de IL-4 por 24 horas. A imunofluorescência indireta revelou um aumento na expressão de VCAM-1 e na adesão de eosinófilos e basófilos. A expressão de ICAM-1 e ECAM-1 e a adesão de neutrófilos mantiveram-se inalteradas. Concluem que a presença local de IL-4 deveria fazer parte da patogênese das doenças alérgicas.

WALKER et al. (1992), comparando pacientes asmáticos alérgicos e não-alérgicos, encontram IL-5 aumentada nos dois grupos, sugerindo que a eosinofilia presente nos mesmos seria decorrente da presença dessa citocina. Contudo a IL-4 esteve aumentada apenas no grupo de pacientes alérgicos, justificando os altos níveis de IgE nestes. Inferem que os dois grupos possuiriam diferentes espectros de citocinas envolvidos na patogênese da asma.

HAMILOS et al. (1993), através do uso da imunistoquímica, observam que a IL-5 desempenharia um papel importante em pacientes alérgicos, não estando aumentada naqueles com PN não-alérgicos. Existe, ainda, um aumento de IL-3 e GM-CSF nos dois grupos, revelando que essas citocinas seria relevante na eosinofilia encontrada nesses pacientes.

PETZELBAUER et al. (1993) demonstram em endotélio microvascular de derme que a exposição deste tecido a IL-4 não aumenta a expressão de VCAM-1.

MILLER et al. (1994), analisando células T de tecido polipóide humano, observaram que estas produziram baixa quantidade de IL-4, ao contrário das células T em processos alérgicos, concluindo que a reação inflamatória na PN se diferenciaria da resposta de hipersensibilidade tipo I.

MULLOL et al. (1994), comparando mucosa nasal normal e de pólipos nasal, encontram a expressão de mRNA para IL-1 β , IL-6 e TNF- α apenas no tecido de pólipos nasal, sugerindo que esse tecido liberaria maior quantidade de citocinas e que estas poderiam estar envolvidas no aumento da sobrevivência dos eosinófilos nesse tecido.

SYMON et al. (1994), estudando oito pacientes com PN através da imunistoquímica, observam a expressão de ICAM-1, E-selectina e P-selectina no endotélio dos pólipos, não encontrando a expressão de VCAM-1. Utilizando diversos anticorpos contra tais receptores e seus respectivos contra-receptores, apenas o anticorpo contra o contra-receptor da P-selectina inibiu parcialmente a adesão eosinofílica. Sugerem que antagonistas da P-selectina podem ter um papel importante no tratamento da PN.

HAMILLOS et al. (1995) comparam tecido de pólipos nasal de pacientes alérgicos e não-alérgicos com mucosa normal de um grupo-controle. Após estudo com hibridização *in situ* para mRNA, os autores concluem que existem mecanismos distintos que levariam a presença de eosinofilia nos

pólipos nasais nos dois grupos. Enquanto entre os pacientes alérgicos o mecanismo envolveria a produção de citocinas do tipo TH2, tais como GM-CSF, IL-3, IL-4 e IL-5, no grupo daqueles não-alérgicos o mecanismo permaneceu desconhecido e envolveria a produção de GM-CSF e IL-3, sendo, contudo, independente de IL-4 e IL-5.

JAHNSEN et al. (1995), estudando pólipos de 15 pacientes com PN e comparando-os com a mucosa normal da concha inferior dos mesmos, observam, através de imunofluorescência, que a expressão de VCAM-1 estava aumentada no tecido polipóide, enquanto a de E-selectina e ICAM-1 manteve-se inalterada entre os dois grupos. Constatam o papel crucial de VCAM-1 no recrutamento de eosinófilos na PN.

NONAKA et al. (1995), analisando tecido de pólipo nasal e mucosa brônquica de pacientes asmáticos e de pacientes-controle não-asmáticos, com o objetivo de determinar o papel de eosinófilos e de IL-4, observaram:

- nenhum eosinófilo na mucosa brônquica dos pacientes-controle ;
- eosinofilia 15 vezes maior nos pólipos quando comparados com a mucosa dos pacientes asmáticos;
- ausência da expressão de IL-4 nos pacientes-controle;
- um número três vezes maior de células com expressão de IL-4 nos pólipos do que na mucosa dos pacientes asmáticos.

Concluem afirmando que os eosinófilos seriam a principal fonte de IL-4 em tecidos com inflamação crônica severa.

TERADA et al. (1995), examinando dois grupos de indivíduos com rinite, alérgicos e não-alérgicos, sugerem que a IL-5 induziria a expressão de

ICAM-1 em mucosa nasal dos alérgicos, o mesmo não ocorrendo no grupo daqueles com rinite não-alérgica.

BECK et al. (1996), confrontando tecido de pólipos nasal com mucosa nasal normal, demonstram um aumento na expressão de VCAM-1 e RANTES no tecido de pólipos nasal, notando que essas moléculas poderiam estar envolvidas na migração seletiva de eosinófilos e monócitos para o tecido acometido.

HAMILOS et al. (1996), analisando tecido de PN de pacientes não-alérgicos, encontram um aumento significativo na expressão de VCAM-1 quando comparado com controles normais, demonstrando que a expressão de VCAM-1 seria fundamental na migração eosinofílica encontrada nas doenças eosinofílicas não-alérgicas.

HARALDSEN et al. (1996), estudando endotélio microvascular de intestino humano, demonstram que a estimulação desse tecido com IL-4 não aumentaria a expressão de VCAM-1.

ALLEN et al. (1997), observando indivíduos com PN, encontram através de ELISA e da imunistoquímica, um aumento na expressão de IL-3, IL-5 e GM-CSF nestes pacientes quando comparados com um grupo normal.

BACHERT et al. (1997), quantificando diversas citocinas (IL-1 β , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e RANTES) através de ELISA, notam um aumento de IL-5 significativo em tecido de pólipos nasal, enquanto IL-4 e RANTES foram indetectáveis. Os dados sugerem que a IL-5 possuiria um papel-chave na fisiopatologia dos pólipos nasais eosinofílicos e talvez seria produzida pelos próprios eosinófilos.

JAHNSEN et al. (1997), analisando endotélio microvascular de PN, inferem que a indução desse tecido com IL-4 ou IL-1 β aumentaria significativa e seletivamente a expressão de VCAM-1 no mesmo.

MIN et al. (1997) observam em pacientes com polipose nasal, alérgicos ou não-alérgicos, um aumento na expressão de mRNA para IL-4 e IL-5. Ressaltam, contudo, que o mecanismo que leva a esse aumento nos pacientes com PN seria diferente daquele nos indivíduos com rinite alérgica.

SIMON et al. (1997) encontram altos níveis de IL-5 em tecido de PN, enquanto IL-4 não foi detectada. Esses dados sugerem que a presença de IL-5, responsável pelo aumento da sobrevivência dos eosinófilos, seria um dos responsáveis pela eosinofilia encontrada nas PN.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram estudados prospectivamente 39 pacientes portadores de polipose nasal atendidos e operados no segundo semestre de 1997 na Divisão de Clínica Otorrinolaringológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. No grupo, 22 pacientes (56,4%) eram do sexo masculino e 17 (43,6%) do sexo feminino. A idade média foi de 42,6 anos \pm 16,9 anos (16 anos-88 anos) (média \pm desvio-padrão).

Foram utilizados, neste estudo, os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

- **Critérios de inclusão:** Foram incluídos unicamente os pacientes que apresentavam diagnóstico de polipose nasal bilateral e que seriam submetidos a tratamento cirúrgico.

- **Crêterios de exclusão:** Foram excluídos pacientes portadores de pólipo único (antrocoanal, esfenocoanal) ou de outras doenças correlacionadas com a polipose nasal, como fibrose cística, discinesia ciliar primária e sinusite fúngica. Por último, foram descartados aqueles os quais não foi possível classificar como alérgicos ou não-alérgicos.

Os 39 pacientes assim selecionados foram divididos em dois grupos:

- grupo alérgicos (13 pacientes)

- história t pica de rinite alérgica (prurido nasal, espirros, rinorréia, obstrução nasal)
- IgE específica positiva para  caro, fungo e/ou barata
- teste cutâneo de hipersensibilidade positivo

- grupo não-alérgicos (26 pacientes)

- ausência de história de rinite alérgica
- IgE específica negativa (classe 0)
- teste cutâneo de hipersensibilidade negativo

Grupo-controle: Foi constituído por 11 adultos voluntários, sem nenhum antecedente de sintomatologia nasal e/ou sintomas alérgicos de qualquer natureza. O exame das fossas nasais, com endoscópio rígido, mostrava-se normal. Neste grupo, 7 indivíduos (63,6%) eram do sexo masculino e 4 (36,4%) eram do sexo feminino. A idade média foi de 29,8 \pm 5,3 anos (25-42 anos) (média \pm desvio padrão).

3.1. HISTÓRIA E QUADRO CLÍNICO

Durante a consulta pré-operatória todos pacientes foram apreciados e indagados quanto aos seguintes aspectos:

- tempo de evolução da polipose nasal;
- presença de outra doença crônica, tal como diabetes, hipertensão arterial sistêmica, fibrose cística, discinesia ciliar, etc;
- tabagismo;
- história familiar de pólipos nasal;
- história de rinite alérgica e/ou alergia;
- sinais e/ou sintomas de intolerância ao ácido acetilsalicílico;
- sinais e/ou sintomas de asma brônquica;

Quanto ao quadro clínico, foi solicitado aos pacientes que atribuíssem uma nota 1 a 10 aos seguintes sintomas: cefaléia, obstrução nasal, hiposmia, secreção purulenta, coriza e tosse. Considerou-se como sendo nota 1 o estado sem o sintoma e nota 10 com o sintoma intenso.

Todos os dados da anamnese e exames foram anotados em uma ficha (Anexo A).

Foi obtido o consentimento do paciente por escrito. (Anexo B). O estudo foi aprovado pela comissão de ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3.2. EXAME FÍSICO

Todos pacientes foram submetidos ao exame endoscópico da fossa nasal, com endoscópio rígido de 4,0mm e 30 graus, para confirmar o diagnóstico de polipose nasal.

3.3. EXAMES SÉRICOS

Foi realizada coleta sangue dos pacientes portadores de polipose nasal, em jejum, uma semana antes do ato cirúrgico, e do grupo-controle, para realização dos seguintes exames:

dosagem sérica de IgE total: Para a pesquisa de IgE total, foi usado o método de fluorimunoensaio UniCAP Specific IgE - Pharmacia, baseado em complexos alergênicos em fase sólida e anticorpos monoclonais (Anexo C).

dosagem sérica de Imunoglobulinas (IgA,IgG,IgM) foi feita através da nefelometria cinética (Anexo D).

dosagem sérica de IgE específica (RAST): Para a pesquisa de IgE específica foi usado o método de fluorimunoensaio UniCAP Specific IgE -

Pharmacia, baseado em complexos alergênicos em fase sólida e anticorpos monoclonais (Anexo E).

leucograma: A contagem total de leucócitos bem como o diferencial, para a contagem de eosinófilos, foi realizada pela Classificação Leucocitária em Analisador Hematológico CELL DYN 3.000/3.500 ABBOTT, através de múltiplos ângulos pós-dispersão do *laser* polarizado. A análise foi feita à temperatura ambiente em até seis horas após a coleta do sangue.

3.4. TESTE CUTÂNEO DE HIPERSENSIBILIDADE

Foram efetuados testes cutâneos, em todos os grupos, para os seguintes alérgenos:

Aspergillus fumigatus, *Penicillium notatum*, *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, Gato, Cão, *Lolium perene*, *C. herbarum*, *E. mainei*, *T. putrescentiae*, *B. tropicalis* e *B. kulagini*.

Nos grupos de pacientes portadores de polipose nasal o exame foi realizado uma semana antes da cirurgia.

Os exames ocorreram segundo a técnica de DREBORG (1981) da seguinte forma:

- a região do teste (antebraço) foi limpa suavemente com algodão embebido em álcool, sem nenhum traumatismo, a fim de evitar-se irritação da pele;

- foram feitas 14 marcas na região do teste, utilizando uma caneta dermatográfica, a uma distância de aproximadamente 3 cm uma da outra, dispostas em três linhas paralelas;

- colocou-se uma gota de cada alérgeno perto da marca que lhe correspondia, de acordo com a distribuição dos alérgenos no *kit*;

- a pele foi perfurada pressionando-se a lanceta (lanceta de Østerballe, uma para cada antígeno) sobre a superfície da pele, e num ângulo de 90°, na região central da gota de alérgeno, durante cinco segundos, evitando-se sangramento;

- a pele foi, então, sendo secada com papel absorvente macio, sem pressioná-la nem esfregá-la;

- Efetuou-se a leitura quinze minutos após a realização do exame, desenhando-se as pápulas resultantes com uma caneta dermatográfica de ponta fina, inclusive os controles;

- Os resultados foram copiados com uma fita adesiva transparente e transportados para um papel milimetrado na mesma ordem que se indicou no formulário, para cálculo dos mesmos.

3.5. COLETA DE MATERIAL NASAL

Secreção nasal

A secreção nasal foi coletada de todos os grupos, sendo que nos portadores de polipose nasal a coleta ocorreu uma semana antes da cirurgia, através das seguintes condutas:

- instilação de 3ml de solução de NaCl a 0.9% em uma das narinas com o paciente em posição sentada;
- movimento rápido de hiperextensão da cabeça do paciente com retorno imediato à posição original;
- coleta da secreção proveniente da narina em uma cuba estéril;
- mesmo procedimento na outra narina;
- aspiração da secreção, proveniente das duas narinas, da cuba com seringa de 10ml e colocando-a, posteriormente, em dois pequenos frascos (um frasco reserva);
- armazenamento em *freezer* a -70°C até realização do teste por ensaio imunoenzimático (ELISA).

Pólipo nasal

A coleta de fragmentos dos pólipos nasais foi efetuada durante o ato cirúrgico com anestesia geral e transcorreu seguindo-se as etapas abaixo descritas:

- preparação da fossa nasal com lidocaína a 2% e adrenalina 1:2.000;
- exérese cirúrgica cuidadosa do pólipo sob visão endoscópica (Figura 1);

- separação de quatro fragmentos do pólipó com aproximadamente cinco mm de diâmetro cada;
- um dos fragmentos foi colocado em recipiente com formol para coloração com hematoxilina e eosina;
- corte do segundo fragmento cortado em pequenos pedaços e sua transferência para cinco ml de solução de NaCl a 0.9% por cinco minutos. A suspensão foi centrifugada por dez minutos a 3.000 rotações por minuto. O sobrenadante foi separado e guardado em *freezer* a -70°C até a realização do teste por ensaio imunoenzimático (ELISA) (SIMON et al., 1997; BACHERT et al., 1997);
- cada um dos outros dois fragmentos foi colocado sobre um pedaço de cortiça medindo 1,0cm x 1,0cm e com 1,0mm de espessura;
- estes dois fragmentos foram totalmente recobertos com CRYO-GEL® (Instrumedics Inc, NJ, EUA) (Figura 2) tomando-se o cuidado de não formar bolhas de ar.
- imersão dos dois fragmentos recobertos com CRYO-GEL® em névoa de nitrogênio líquido até atingir o estado sólido de toda a massa (aproximadamente dez minutos) (Figuras 3 e 4);
- Os fragmentos foram embrulhados em papel alumínio e devidamente identificado. Todos os procedimentos acima descritos foram realizados dentro da sala cirúrgica;
- transporte imediato em garrafa térmica com nitrogênio líquido até congelador a -70°C , onde o material foi armazenado até a realização da reação imunistoquímica (BACHERT et al., 1997).

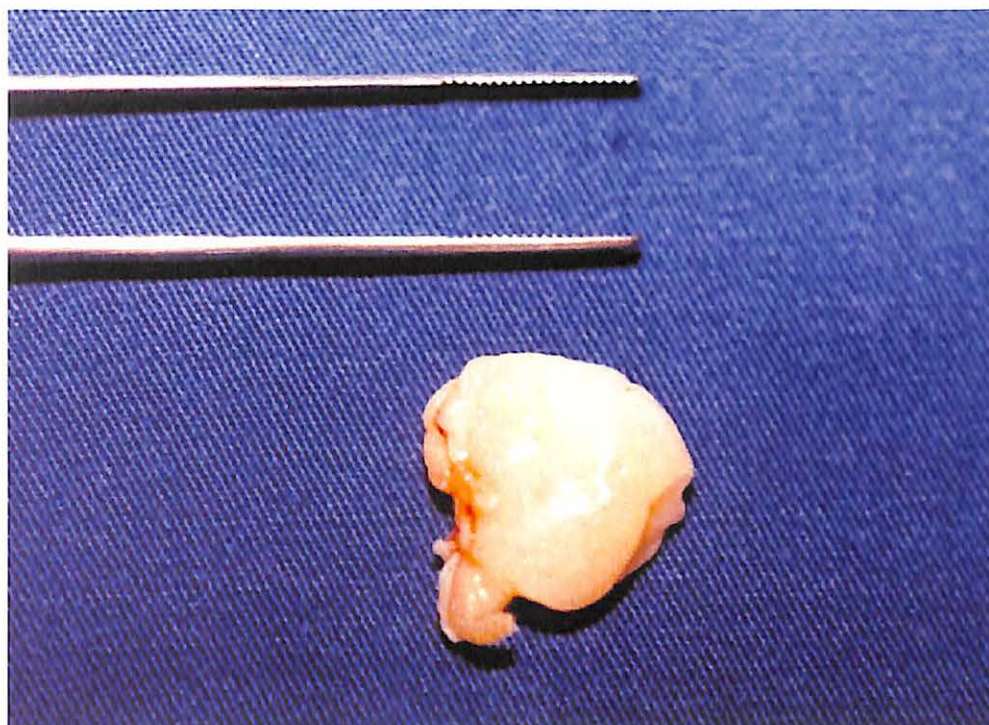


FIGURA 1 – Pólipo nasal logo após a exérese cirúrgica



FIGURA 2 – Material CRYO-GEL® utilizado para recobrir os pólipos

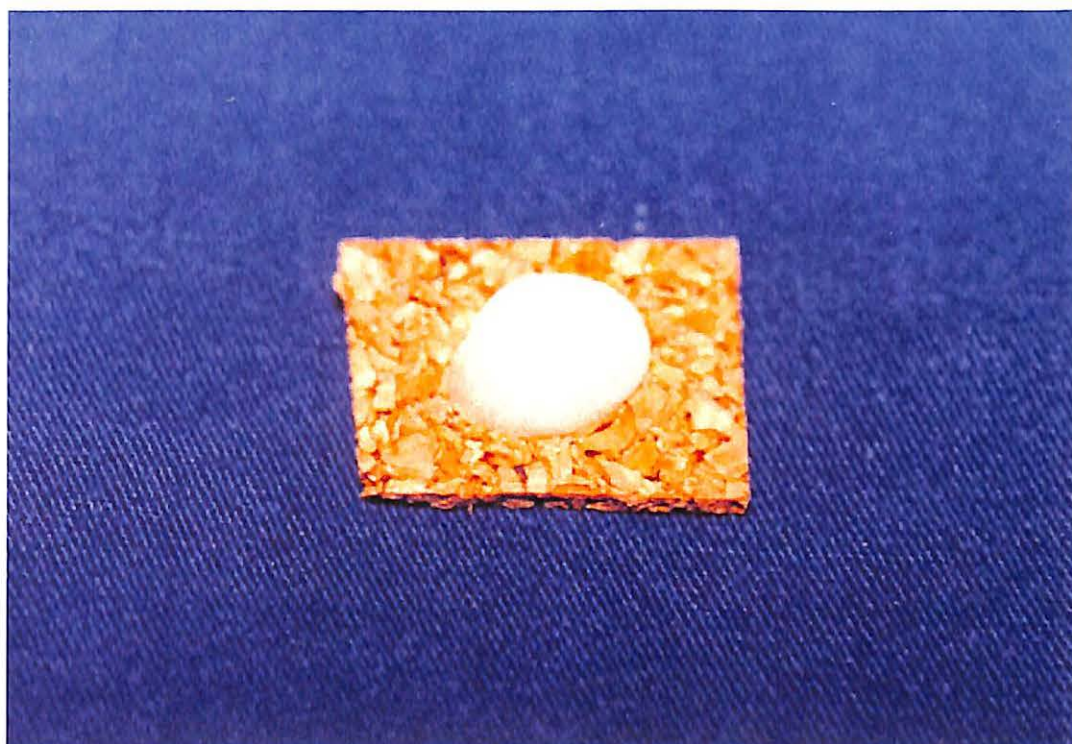


FIGURA 3 – Vista superior de pólipo recoberto com CRYO-GEL® e congelado em névoa de nitrogênio líquido

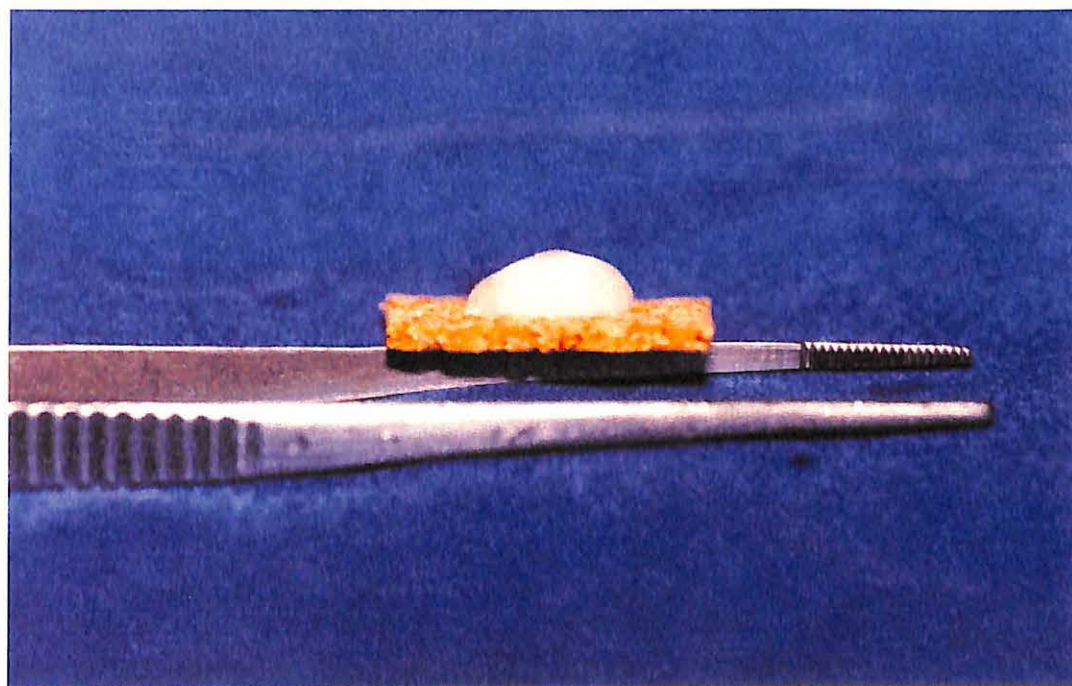


FIGURA 4 – Vista lateral de pólipo recoberto com CRYO-GEL® e congelado em névoa de nitrogênio líquido

Mucosa nasal do grupo-controle

A coleta de fragmentos de mucosa normal do grupo-controle foi feita da seguinte forma:

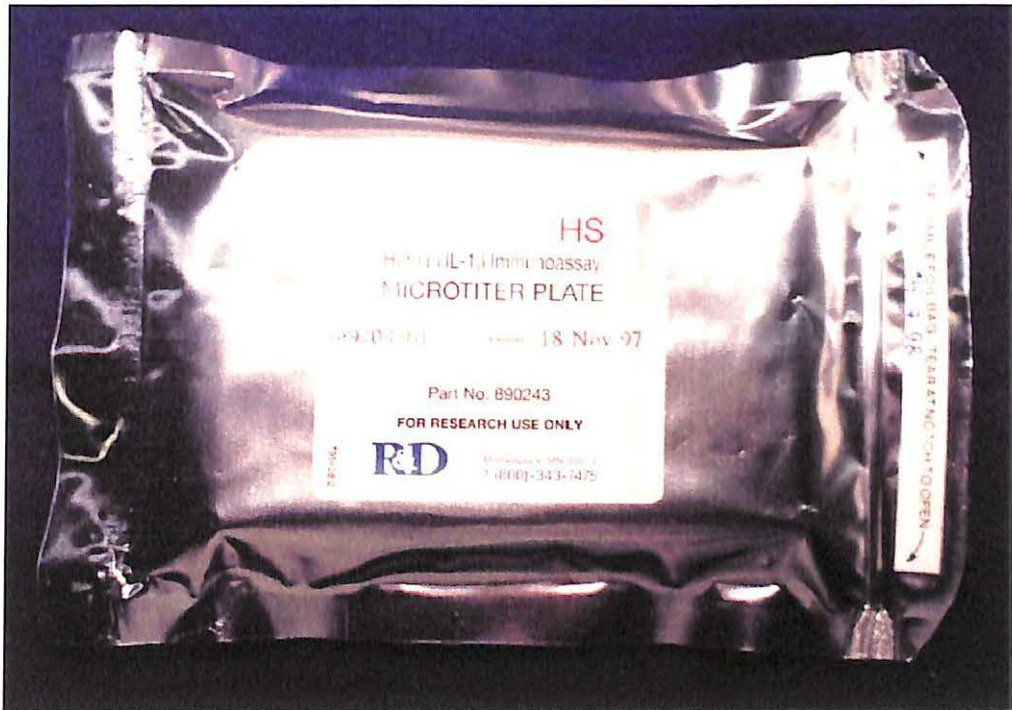
- instilação de anestésico local (lidocaína a 2%) na fossa nasal;
- retirado, com pinça Grünwald, de dois fragmentos de mucosa de corneto médio. Este procedimento foi realizado sob visão de endoscópio rígido de 4,0mm e 30°;
- um dos fragmentos foi cortado em pequenos pedaços e transferido para cinco ml de solução de NaCl a 0.9% por cinco minutos. A suspensão foi centrifugada por dez minutos a 3.000 rotações por minuto. O sobrenadante foi separado e guardado em *freezer* a -70° C até a realização do teste por ensaio imunoenzimático (ELISA) (SIMON et al., 1997; BACHERT et al., 1997);
- o outro fragmento foi colocado sobre um pedaço de cortiça medindo 1,0 x 1,0 cm e com 1,0 mm de espessura;
- este fragmento foi totalmente recoberto com CRYO-GEL® (Instrumedics Inc, NJ, EUA) tomando-se o cuidado de não formar bolhas de ar;
- imersão dos fragmentos recobertos com CRYO - GEL® em névoa de nitrogênio líquido até atingir o estado sólido de toda a massa. (aproximadamente dez minutos);

- O fragmento foi embrulhado em papel alumínio e devidamente identificado;

- transporte imediato em garrafa térmica com nitrogênio líquido até congelador a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde o material foi armazenado até a realização da reação imunistoquímica (BACHERT et al., 1997).

3.6. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA) PARA DOSAGEM DAS CITOCINAS INTERLEUCINA-1 (IL-1 β), INTERLEUCINA-3 (IL-3), INTERLEUCINA-4 (IL-4) E INTERLEUCINA-5 (IL-5)

A determinação da concentração de interleucina-1 (IL-1 β) em secreção nasal e da concentração de interleucinas-3, 4 e 5 em macerado de pólipos nasal foi efetuada por método imunoenzimático, através do uso de *kit* comercial disponível (R&D - Mineápolis, EUA - Lote 9716605) (Figuras 5 e 6). No grupo-controle as interleucinas 3, 4 e 5 foram dosadas em macerado de mucosa nasal normal. A metodologia empregada está descrita no Anexo F.



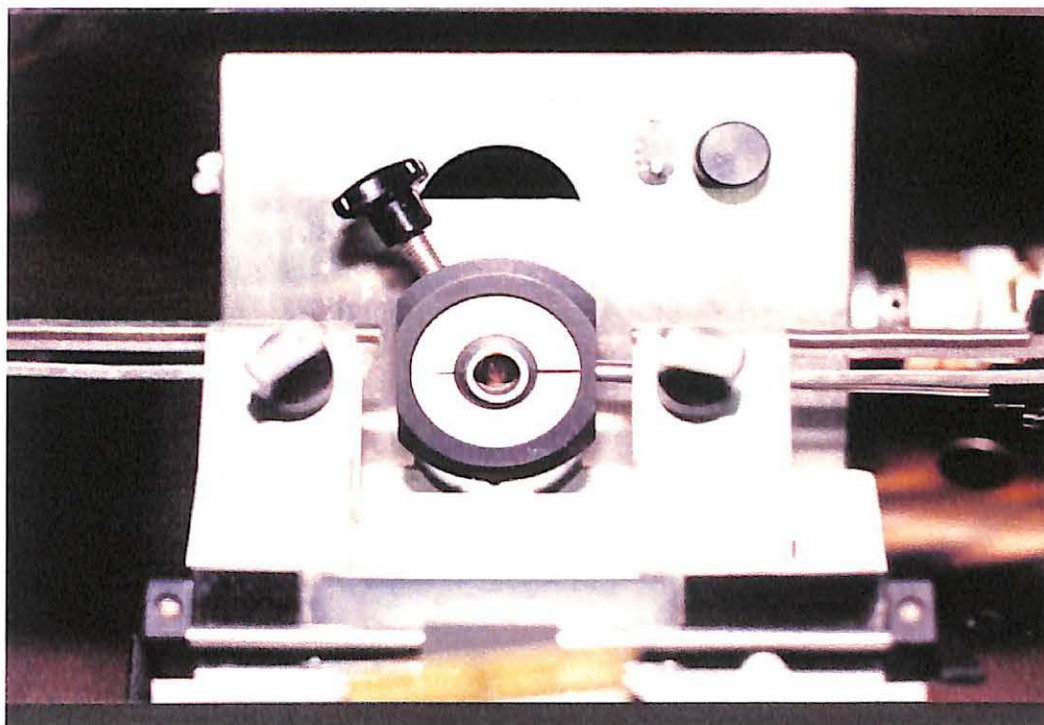
FIGURAS 5 e 6 – kit comercial utilizado (R&D - Mineápolis, EUA) para a realização do ELISA

3.7. MÉTODO IMUNOISTOQUÍMICO

Foram pesquisados antígenos nos pólipos nasais com anticorpo primário monoclonal de camundongo contra VCAM-1 (CD106) humano, clone 1.4C3, IgG, *kappa* (DAKO M 7106, Denmark), em diluição 1:50, através do complexo fosfatase alcalina / antifosfatase alcalina (complexo APAAP). Todas as reações imunoistoquímicas foram realizadas no setor de Imunopatologia Renal do Laboratório de Fisiopatologia Renal da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Processamento do tecido, preparo das lâminas e fixação

Os dois fragmentos sofreram congelamento de choque com nitrogênio líquido e armazenados a -70°C foram utilizados para as reações imunoistoquímicas pela melhor preservação antigênica em relação ao tecido levado a fixação em formol e inclusão em parafina. Os fragmentos congelados foram submetidos a cortes de 3 μm (micrômetros) de espessura em criostato (Figuras 7 e 8) e foram aderidos a lâminas tratadas com adesivo SILANE A174 (Pharmacia, USA). Cada lâmina recebeu quatro cortes, sendo um para a reação de controle negativo e três para a diluição do anticorpo monoclonal primário. Os cortes assim preparados foram mantidos a 4°C por uma noite (catorze horas) (CORDELL et al., 1984) e em seguida colocados em fixação em acetona (21605-MERCK) a 4°C por 10 minutos. Após, foram secados em temperatura ambiente por dez minutos, envolvidos em papel alumínio e filme de PVC e armazenados a -70°C até a realização das reações.



FIGURAS 7 e 8 – criostato Leica utilizado para cortar os pólipos congelados (3 micrômetros de espessura).

Metodologia imunoenzimática com o complexo APAAP

O método imunoenzimático utilizado foi o do complexo APAAP, descrito por CORDELL et al. (1984). O antígeno tecidual é exposto inicialmente ao anticorpo monoclonal específico, posteriormente a um anticorpo secundário não marcado dirigido contra a imunoglobulina murina primária e, por fim, a um complexo APAAP murino que também se liga ao anticorpo secundário e reage com um substrato enzimático específico. As etapas do procedimento foram as seguintes:

- retirada das lâminas do *freezer* a -70°C e secagem à temperatura ambiente, por cinco minutos;
- hidratação com tampão *Tris buffered saline* TBS (0.05 M; pH 7.6), por cinco minutos;
- bloqueio de cargas elétricas com incubação com soro fetal bovino não-imune (SFB) em diluição 1:10, em câmara úmida, a 37°C , por sessenta minutos;
- retirada do excesso de SFB, utilizando papel filtro delicadamente;
- incubação primária: o primeiro corte com TBS (controle negativo) e os dois subseqüentes com o anticorpo monoclonal primário em duas diluições sucessivas em TBS, em câmara úmida, a 37°C , por sessenta minutos;
- duas lavagens sucessivas com TBS, por cinco minutos;
- incubação secundária de todos os cortes com anticorpo de coelho anti-camundongo (*Rabbit-anti-mouse*; RAM) (*Rabbit-Anti-Mouse*

Immunoglobulins code n° Z 259, lot n° 071, DAKO, Denmark), em diluição 1:100 em TBS, em câmara úmida, a 37°C, por trinta minutos;

- lavagens sucessivas (duas) com TBS, por cinco minutos;

- incubação terciária de todos os cortes com o complexo APAAP (*APAAP Mouse Monoclonal code n° D 651, lot no 023, DAKO, Denmark*) (Figura 9), em diluição 1:100 em TBS, em câmara úmida, a 37°C, por trinta minutos;

- incubação final com o substrato associado ao levamisole (para bloqueio da fosfatase alcalina endógena), de acordo com formulação descrita por CORDELL et al. (1984): *naphtol AS-MX phosphate, free acid (SIGMA Chemical, USA) 2mg, dimethylformamide 0,2ml, Tris buffer 0,1 M pH 8,2 9,8 ml, Fast Red TR (SIGMA Chemical, USA) 1mg/ml, levamisole (SIGMA Chemical, USA) 1M 100l (microlitro)*. A adição do *Fast Red TR* foi realizada imediatamente antes do uso da solução, purificada em papel-filtro. A incubação realizou-se em temperatura ambiente sob controle visual da reação com microscópio, a qual era bloqueada antes do início da reação de fundo (Figura 10);

- bloqueio da reação com substrato com lavagens sucessivas (duas) com TBS 0.05M pH 7.6 por cinco minutos;

- lavagem em água destilada por cinco minutos;

- contracoloração com hematoxilina de Mayer por quinze minutos;

- lavagem em água corrente e água destilada por cinco minutos;

- lavagem em água amoniacal por cinco segundos;

- montagem com lamínula em meio glicergel.

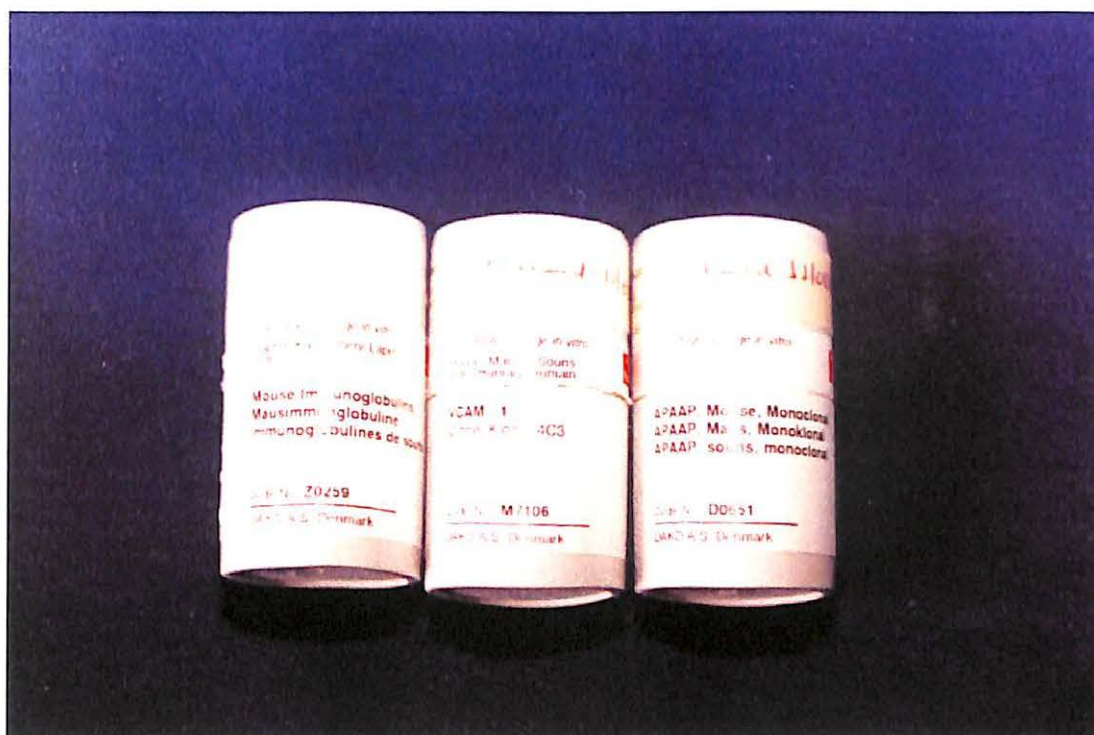


FIGURA 9 – anticorpos utilizados na reação de imunoistoquímica (VCAM-1, RAM e APAAP)

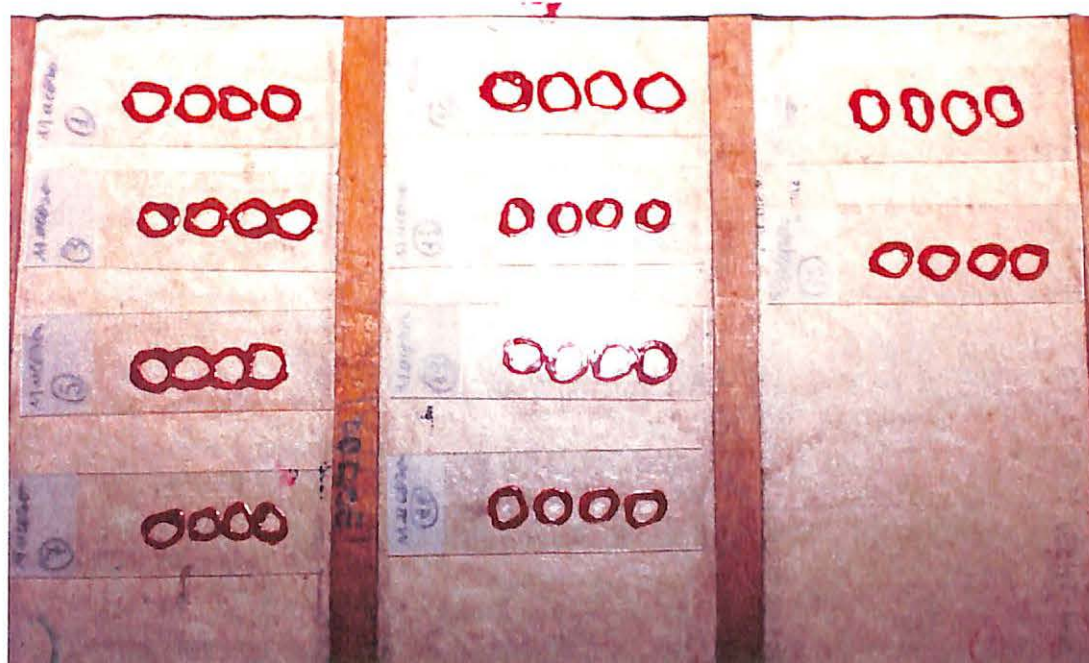


FIGURA 10 – lâminas preparadas para a incubação com os anticorpos (VCAM-1, RAM e APAAP)

3.8. MÉTODO DE COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA E EOSINA PARA HISTOLOGIA

A coloração com hematoxilina e eosina ocorreu como é descrito abaixo:

- hematoxilina férrica de Harris - 10 minutos;
- lavagem com água destilada - 5 minutos;
- eosina - 5 minutos;
- lavagem com água destilada - 5 minutos;
- montagem com lamínula em meio glicergel;

3.9. ANÁLISE DOS RESULTADOS

Na análise dos resultados foram estudados e relacionados os seguintes dados:

- idade e sexo dos pacientes;
- asma e intolerância ao ácido acetilsalicílico;
- quadro clínico;
- eosinófilos e imunoglobulinas séricas (IgE total, IgA, IgG e IgM);
- ELISA (interleucinas 1 β , 3, 4 e 5);
- histologia e imunoistoquímica (VCAM-1).

3.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação entre grupos foi realizada utilizando-se testes estatísticos paramétricos e não-paramétricos levando-se em consideração a natureza dos dados e a variabilidade das medidas efetuadas. Foram utilizados os seguintes testes estatísticos, sempre com o nível de significância fixado em 5%:

- teste t de student para amostras independentes para a comparação entre grupos da variável quantitativa de idade. Tal teste paramétrico é utilizado para se compararem as médias de duas amostras independentes;

- análise de variância para comparação entre grupos dos dados de exames laboratoriais que apresentaram homogeneidade em suas variâncias (dados homocedásticos). Os parâmetros testados foram: IgA, IgG e IgM, e também para IL-1. Esse teste paramétrico foi empregado para se confrontarem as médias dos três grupos em relação a cada um dos parâmetros avaliados;

- teste de kruskal-wallis para comparação entre grupos dos dados de exames laboratoriais que não apresentaram homogeneidade em suas variâncias (dados heterocedásticos). Esse teste não-paramétrico foi utilizado para: eosinófilos, IgE, IL-3 e IL5, comparando-se os três grupos em relação às variáveis citadas;

- teste de mann-whitney, não-paramétrico, usado para a confrontação dos grupos alérgicos e não-alérgicos, relativamente aos sintomas apresentados (cefaléia, obstrução nasal, hiposmia, coriza e tosse);

- teste qui-quadrado para se observar a homogeneidade dos três grupos em relação ao sexo dos pacientes, ao VCAM-1 e à proporção de asmáticos. Para a comparação de frequências / proporções entre as três amostras, segundo sexo e presença de asma, utilizou-se o também não paramétrico teste exato de fisher, devido ao pequeno número de casos observados em cada casela (SOKAL, ROHLF, 1969; SIEGEL , 1975; SNEDECOR, COCHRAN, 1982).

4. RESULTADOS

4.1. IDADE E SEXO DOS PACIENTES

A faixa etária dos pacientes variou de 16 anos a 88 anos (Gráfico 1), sendo que a média e o desvio-padrão da idade de cada grupo estão detalhados na Tabela 1 e Gráfico 1.

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DA MÉDIA, DESVIO-PADRÃO E AMPLITUDE DA IDADE DOS PACIENTES NOS GRUPOS ESTUDADOS

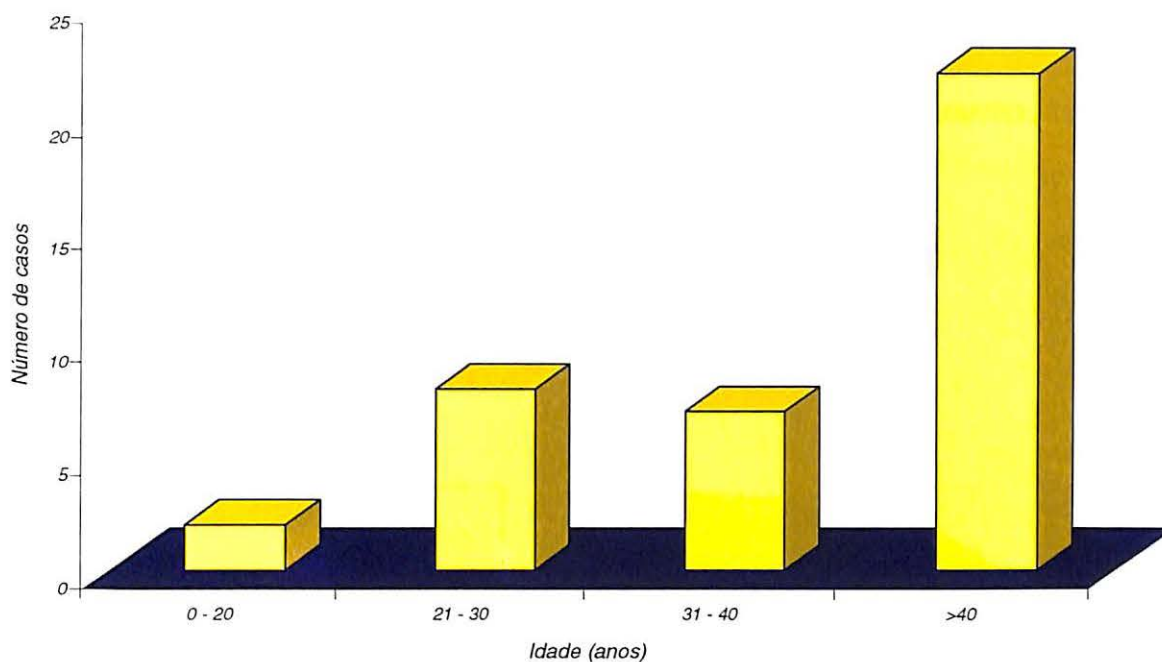
Grupos		Não-alérgicos (n=26)	Alérgicos (n=13)	Controle (n=11)
Idade (anos)	média ± dp	45,3 ± 18,6	37,3 ± 12,0	29,8 ± 5,3
	amplitude	16 -88	18 - 58	25 - 42

Nota: dp - desvio-padrão

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre os grupos alérgicos e não alérgicos

Teste estatístico utilizado: teste t de student

GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES QUANTO À IDADE



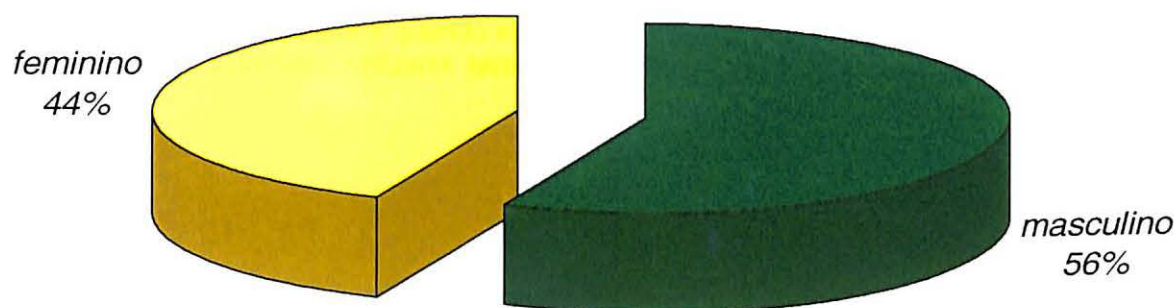
Quanto ao sexo, considerando-se todos os pacientes estudados, ocorreu um discreto predomínio da incidência de PN no sexo masculino. (Tabela 2 e Gráfico 2). Os dados referentes a idade e sexo estão nos Anexos G,H e I.

TABELA 2 - DISTRIBUIÇÃO DO SEXO DOS PACIENTES NOS GRUPOS ESTUDADOS

Grupos	Não-alérgicos (n=26)	Alérgicos (n=13)	Controle (n=11)
Sexo feminino	10 (38,5%)	7 (53,8%)	4 (36,4%)
masculino	16 (61,5%)	6 (46,2%)	7 (63,6%)

Nota: Não houve diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre os três grupos
Teste estatístico utilizado: teste qui-quadrado

GRAFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES PORTADORES DE PN QUANTO AO SEXO



4.2. ASMA E INTOLERÂNCIA AO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

4.2.1. Incidência de Asma nos Grupos de Estudo

Quando os pacientes dos grupos de alérgicos e não-alérgicos foram comparados, observou-se uma incidência significativamente maior ($p < 0,001$) de asma entre os primeiros. (Tabela 3 e Gráfico 3). Dos 15 pacientes portadores de asma, 11 (73,3%) possuíam mais de 30 anos de idade, sendo que a idade média do aparecimento de asma foi de 34,6 anos.

Os dados referentes a asma e intolerância ao AAS estão nos Anexos G,H e I.

TABELA 3 - DISTRIBUIÇÃO DA INCIDÊNCIA DE ASMA NOS GRUPOS ESTUDADOS

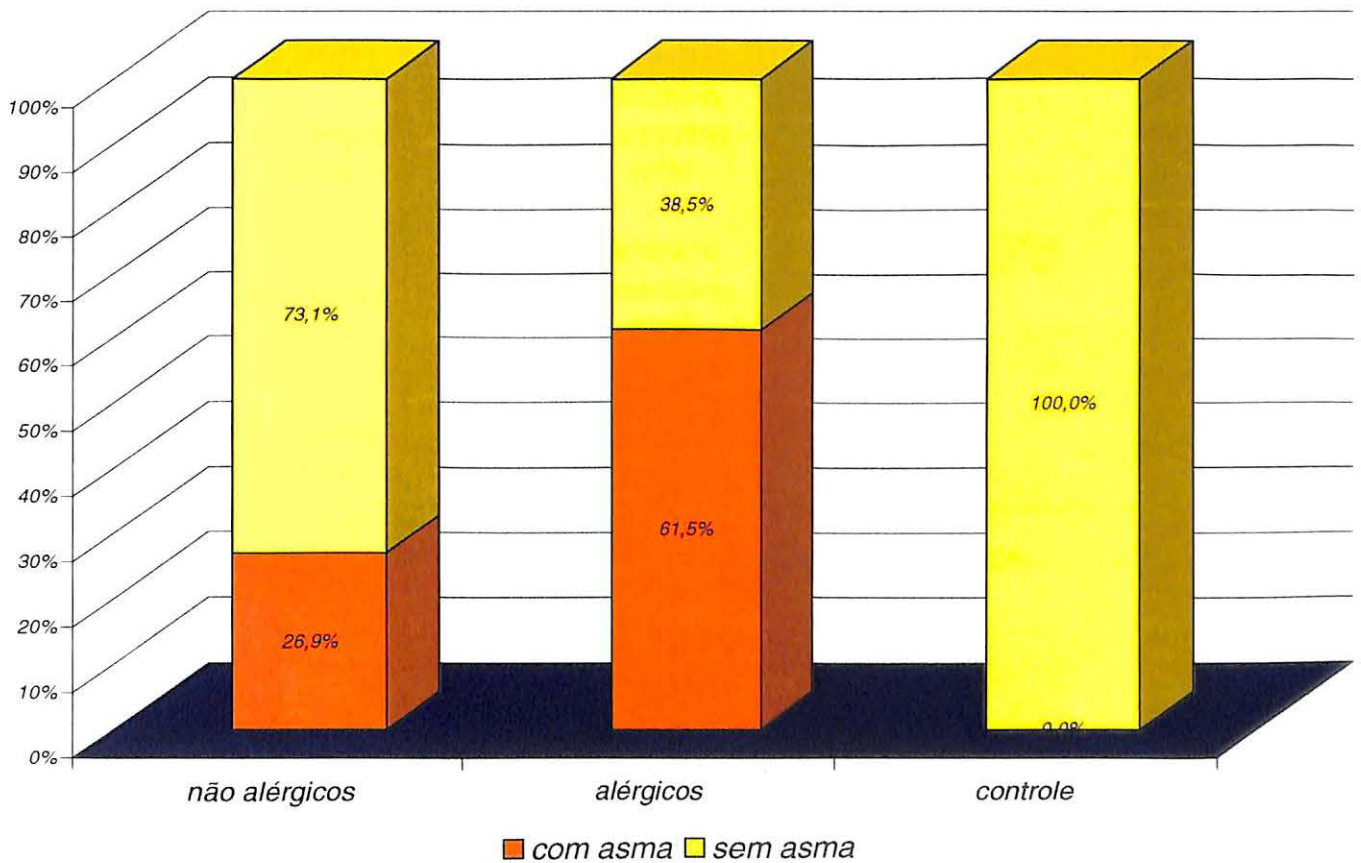
Grupos		Não alérgicos (n=26)	Alérgicos (n=13)	Controle (n=11)
Asma	sim	7 (26,9%)	8 (61,5%)	-
	não	19 (73,1%)	5 (38,5%)	11 (100%)

Nota: dp - desvio padrão

Valores assinalados quando estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$)

Teste estatístico utilizado: teste qui-quadrado

GRÁFICO 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES QUANTO À PRESENÇA DE ASMA



4.2.2. Comparação entre a Proporção de Asma por Sexo e por Grupo

Quando se relacionou a incidência de asma por sexo e por grupo, notou-se que (Tabela 4 e Gráfico 4):

- no grupo de não-alérgicos, não houve associação entre sexo e asma, a proporção de asmáticos é igual para ambos os sexos;

- no grupo de alérgicos, houve associação entre sexo e asma, sendo a proporção de asmáticos maior no sexo feminino ($p < 0,01$).

TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DA INCIDÊNCIA DE ASMA POR SEXO E POR GRUPO ESTUDADO

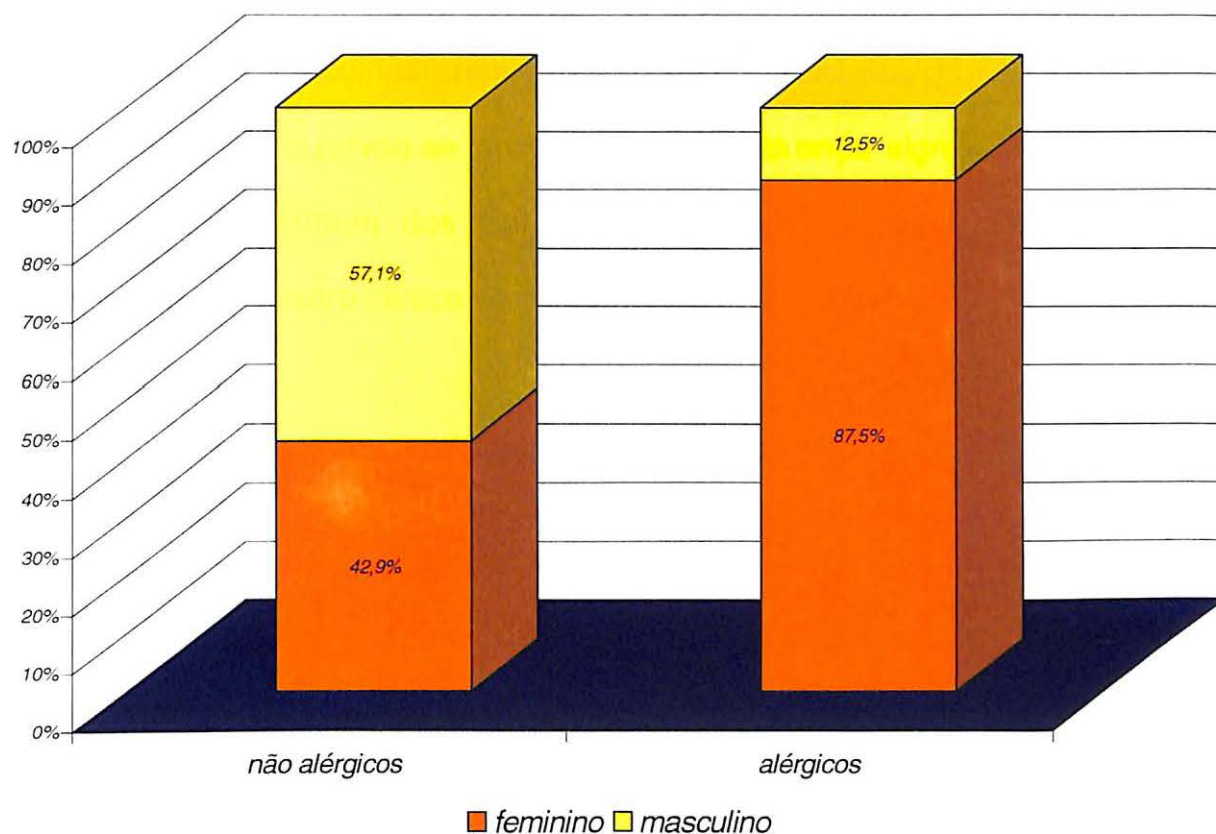
Grupo	Sexo	Asma	
		Sim	Não
Não-Alérgicos (n=26)	feminino	3	7
	masculino	4	12
	total	7	19
Alérgicos (n=13)	feminino	7	-
	masculino	1	5
	total	8	5
Controle (n=11)	feminino	-	4
	masculino	-	7
	total	-	11

Nota: dp - desvio padrão

Valores assinalados quando estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$)

Teste estatístico utilizado: teste exato de fisher

GRÁFICO 4 - DISTRIBUIÇÃO DO SEXO DOS PACIENTES ASMÁTICOS E PORTADORES DE PN POR GRUPO ESTUDADO



4.2.3. Incidência de Intolerância ao AAS nos Grupos Estudados

Com base na história clínica, diagnosticou-se intolerância ao AAS em quatro pacientes, sendo dois de cada grupo (alérgico e não-alérgico) (Anexos G, H e I). Não houve, portanto, diferença significativa na incidência de intolerância ao AAS entre os dois grupos.

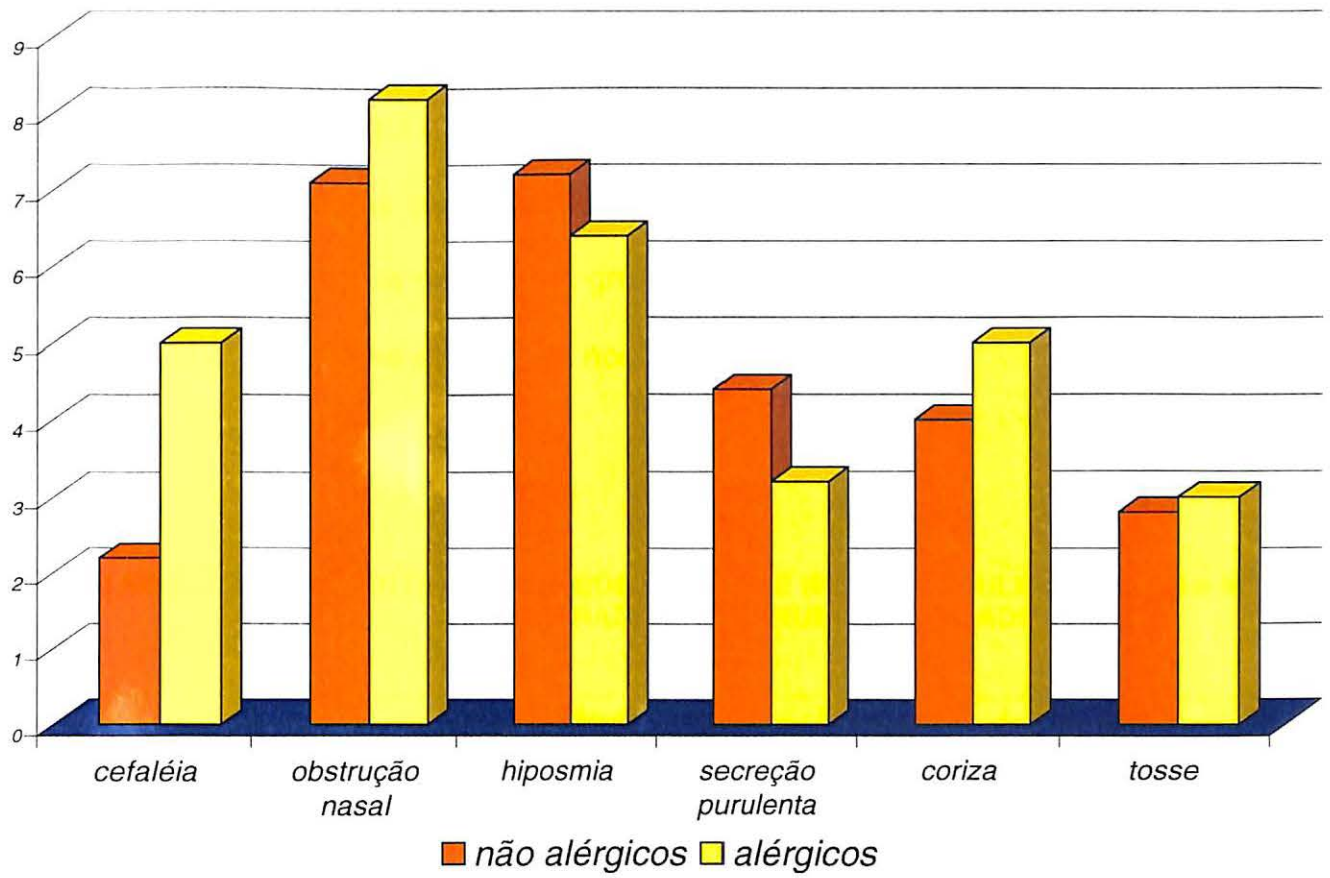
4.3. QUADRO CLÍNICO

Quando se compararam as médias aritméticas dos grupos alérgicos e não-alérgicos, observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos para nenhum dos sintomas (Tabela 5 e Gráfico 5). Os dados referentes ao quadro clínico se encontram nos Anexos J e L.

TABELA 5 - AVALIAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO PELOS PACIENTES

	Grupos	Não-alérgicos (n=26)	Alérgicos (n=13)
<i>Cefaléia</i>	Médias (escores)	2,2	5,0
<i>Obstrução nasal</i>	Médias (escores)	7,1	8,2
<i>Hiposmia</i>	Médias (escores)	7,2	6,4
<i>Secreção purulenta</i>	Médias (escores)	4,4	3,2
<i>Coriza</i>	Médias (escores)	4,0	5,0
<i>Tosse</i>	Médias (escores)	2,8	3,0

Nota: Não houve diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre os grupos alérgicos e não alérgicos
 Teste estatístico utilizado: teste de mann whitney

GRÁFICO 5 - AVALIAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO PELOS PACIENTES

4.4. EOSINÓFILOS E IMUNOGLOBULINAS (IgE, IgA, IgG e IgM)

Os níveis séricos de eosinófilos e imunoglobulinas estão representados na Tabela 6. Não houve diferença significativa entre os três grupos para IgA, IgG e IgM. Contudo, para os parâmetros eosinófilos e IgE o grupo de pacientes alérgicos apresentou níveis significativamente maiores ($p < 0,001$) do que os dos outros grupos. Os dados referentes a eosinófilos e imunoblobulinas se encontram nos Anexos M, N e O.

TABELA 6 - CONCENTRAÇÃO DE EOSINÓFILOS E IMUNOGLUBULINAS E, A, G e M ENCONTRADOS NOS GRUPOS ESTUDADOS

Grupos		Não-alérgicos (n=26)	Alérgicos (n=13)	Controle (n=11)
<i>Eosinófilos*</i>	Média ± dp amplitude	4,85 ± 4,9 1,2 - 25,1	8,6 ± 5,0 1,2 - 18	1,7 ± 0,6 0,9 - 2,8
<i>IgE**</i>	Média ± dp amplitude	151,8 ± 146,2 12 - 526	676,5 ± 614,9 118 - 2407	86,7 ± 65,6 12 - 212
<i>IgA***</i>	Média ± dp amplitude	258,9 ± 127,6 3,5 - 590	261,7 ± 85,5 103 - 384	214,5 ± 116,2 83 - 470
<i>IgG***</i>	Média ± dp amplitude	1235,6 ± 273,2 734 - 1790	1257,4 ± 223,1 866 - 1840	1113,2 ± 178,2 887 - 1350
<i>IgM***</i>	Média ± dp amplitude	139,8 ± 117,8 41 - 661	140,2 ± 53,7 55 - 230	91,6 ± 45,06 43 - 206

NOTA: dp - desvio padrão

* valores em porcentagem (%) do total de leucócitos

** valores expressos em unidades internacionais/ mililitro (UI/mL)

*** valores expressos em miligrama/ decilitro (mg/dL)

Valores assinalados quando estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$)

Testes estatísticos utilizados: teste de kruskal - wallis (eosinófilos e IGE)

Análise de variância (IgA, IgG e IgM)

4.5. ELISA (INTERLEUCINAS 1 β , 3, 4 E 5)

Os resultados das dosagens, através de ELISA, das interleucinas estão representados na Tabela 7.

As concentrações de IL-1 β encontrados em secreção nasal foram bem maiores nos pacientes portadores de PN (alérgicos e não alérgicos), quando comparados com o grupo-controle. No entanto essa diferença não atingiu significância estatística.

Com relação às interleucinas 3,4 e 5 os resultados revelaram-se similares entre si. Foi possível observar que o grupo de pacientes alérgicos apresentou níveis significativamente maiores dessas três interleucinas, enquanto entre os outros dois grupos (controle e o de não alérgicos) não houve diferença relevante. Os dados referentes às interleucinas se encontram nos Anexos P, Q e R.

TABELA 7 - CONCENTRAÇÃO DAS CITOCINAS IL-1 β , 3, 4 e 5 ENCONTRADAS NOS GRUPOS ESTUDADOS (valores em picograma/mililitro)

	Grupos	Não-alérgicos (n=26)	Alérgicos (n=13)	Controle (n=11)
<i>IL - 1β</i>	Média \pm dp amplitude	182,8 \pm 272,8 12 - 948	181,8 \pm 319,8 12 - 968	34,2 \pm 16,8 16 - 57
<i>IL - 3</i>	Média \pm dp amplitude	30,6 \pm 21,9 10 - 96	203,1 \pm 333,3 32 - 1169	13,9 \pm 2,5 12,1 - 15,7
<i>IL - 4</i>	Média \pm dp amplitude	- -	39,7 \pm 21,0 11,5 - 80,8	- -
<i>IL - 5</i>	Média \pm dp amplitude	21,5 \pm 16,2 4,2 - 53,4	93,2 \pm 82,3 16,2 - 332	10,6 \pm 7,6 4,2 - 22,7

NOTA: dp - desvio-padrão

Valores assinalados quando estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$)

Testes estatísticos utilizados: teste de kruskal - wallis (IL-1 β)

Análise de variância (IL-3 e IL-5)

4.6. HISTOLOGIA E IMUNOISTOQUÍMICA (VCAM - 1)

O exame histológico através da coloração com hematoxilina e eosina evidenciou intenso infiltrado eosinofílico em 37 (94,8%) dos 39 pacientes portadores de PN estudados (Figuras 11, 12 e 13). Em dois destes não foi visualizada eosinofilia tecidual importante, sendo que ambos pertenciam ao grupo de não-alérgicos.

Os resultados do exame imunoistoquímico estão expostos na Tabela 8 e Gráfico 6 e foram expressos em positivo (sim) ou negativo (não) (Figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19). Não houve diferença significativa entre os dois grupos de portadores de PN, entretanto todos os pacientes do grupo-controle foram classificados como negativos e, portanto, diferiram significativamente ($p < 0,001$) dos outros. Os dados referentes a imunoistoquímica se encontram nos Anexos P, Q e R.

TABELA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE DO EXAME IMUNOISTOQUÍMICO PARA VCAM-1

Grupo	VCAM-1		
	Sim	Não	Total
<i>Não-Alérgicos</i>	13	13	26
<i>Alérgicos</i>	7	6	13
<i>Controle</i>	-	11	11

Nota: Não houve diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre os grupos alérgicos e não alérgicos
 Teste estatístico utilizado: teste qui-quadrado

GRÁFICO 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES QUANTO A POSITIVIDADE DO EXAME IMUNOISTOQUÍMICO PARA VCAM-1

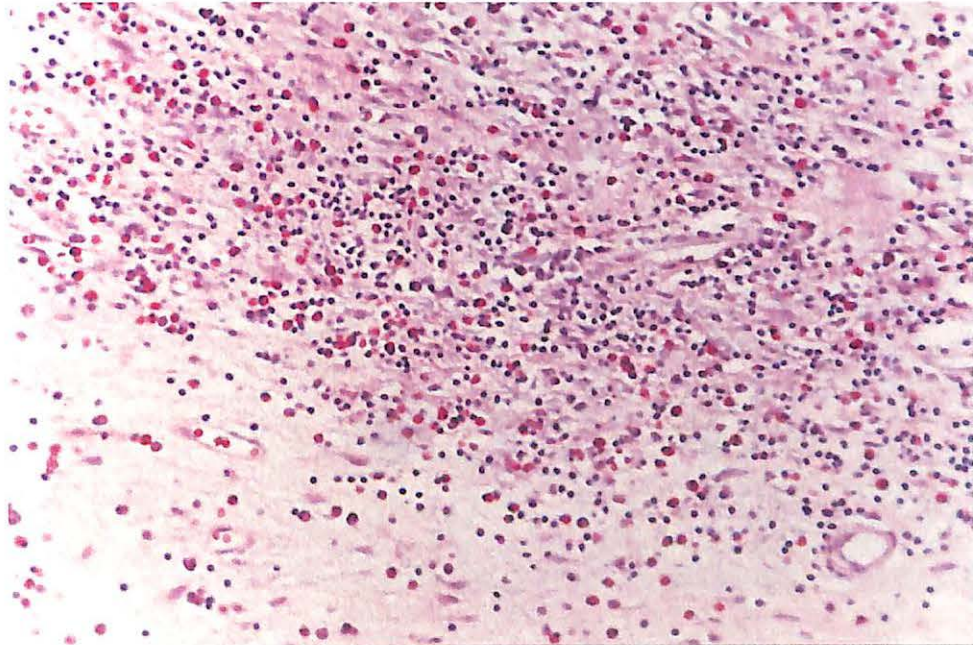
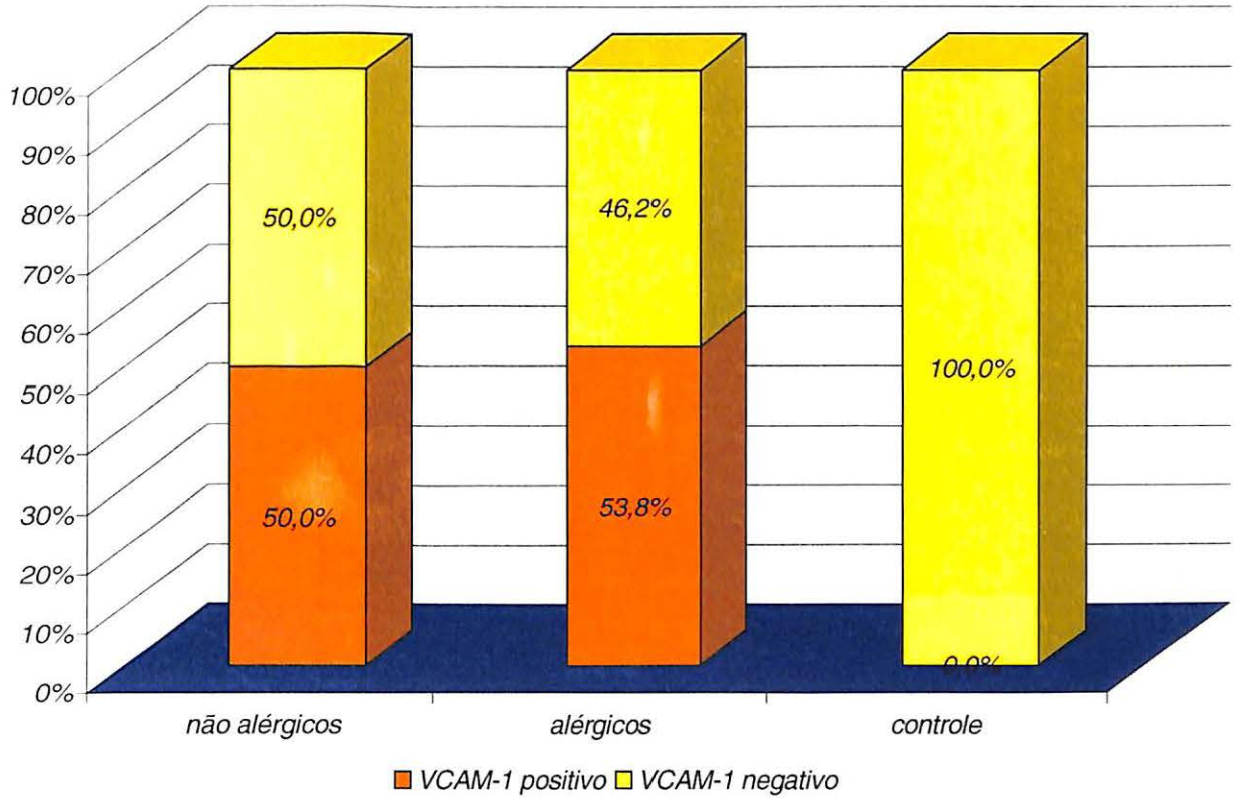
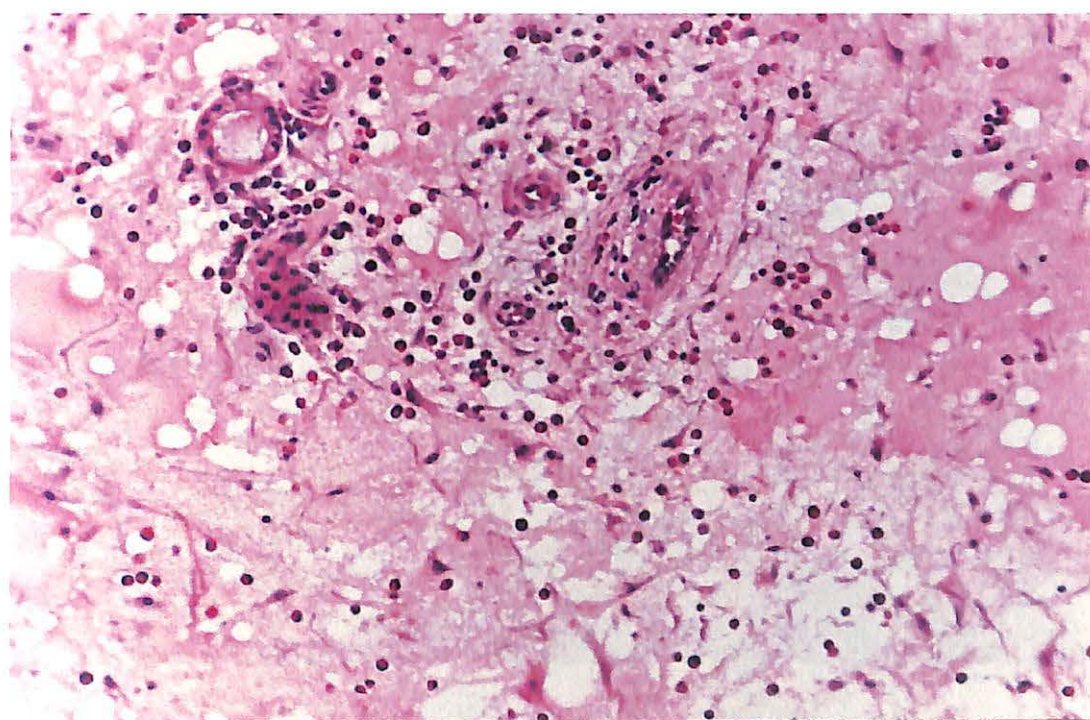
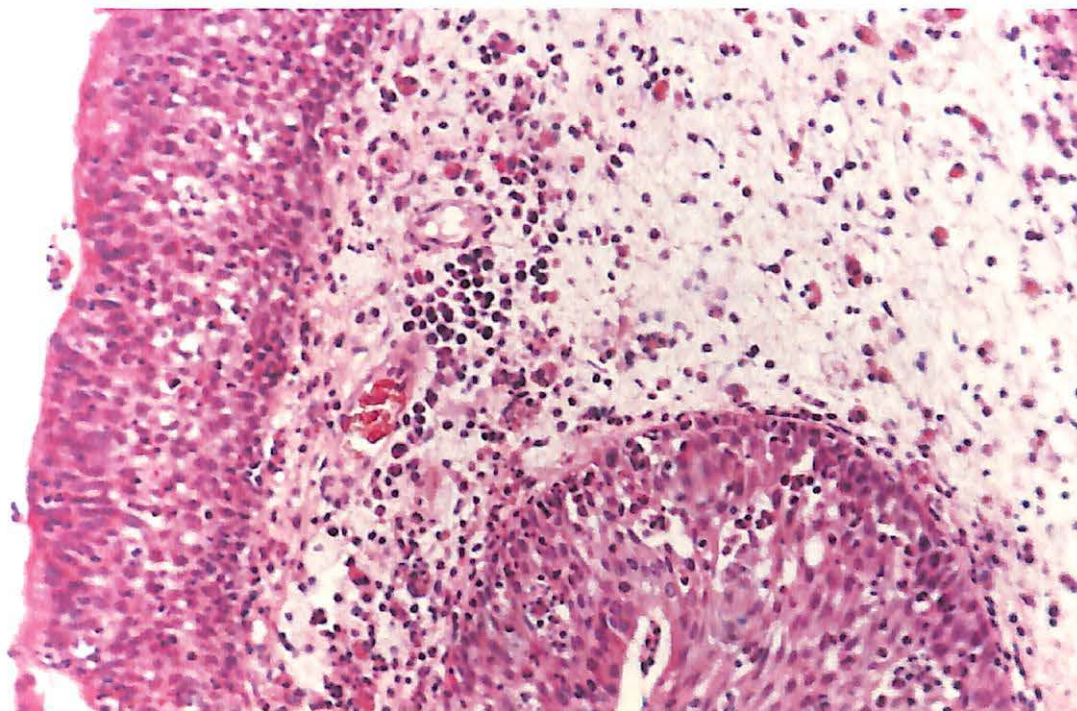
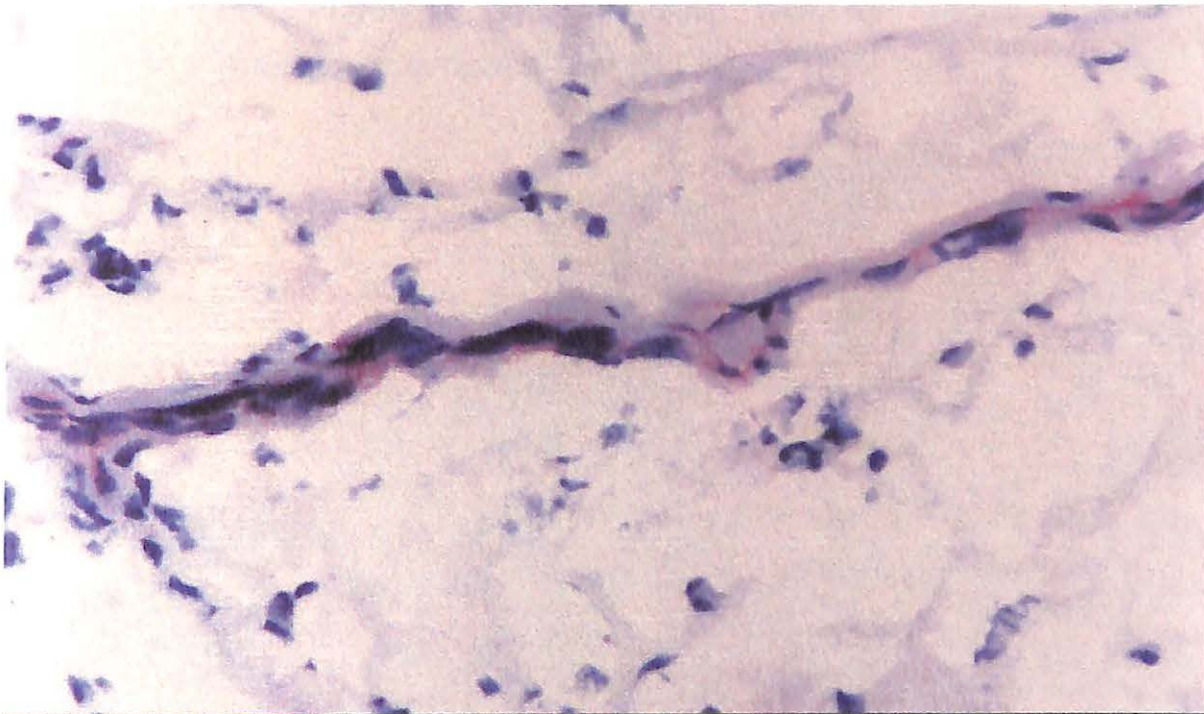
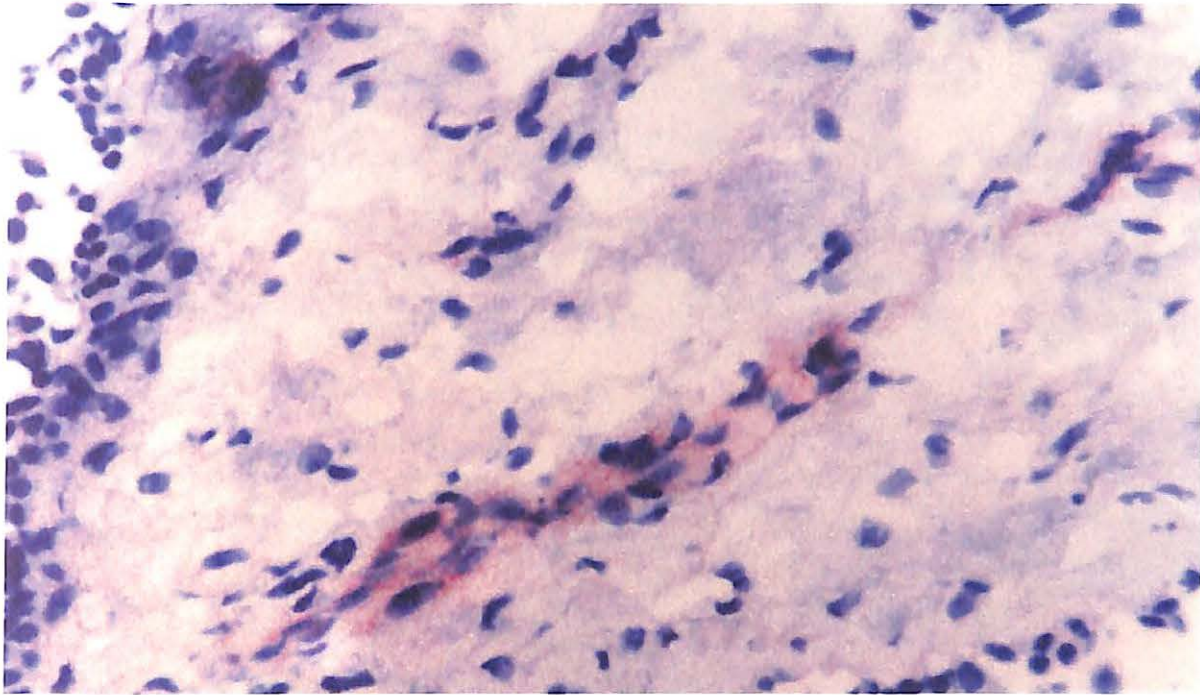


FIGURA 11 – Pólipo nasal como intenso infiltrado eosinofílico.
(microscopia óptica - H&E x 200)



FIGURAS 12 e 13 – Intenso infiltrado eosinofílico em toda extensão do tecido (pólipo nasal) (microscopia óptica - H&E x100 e x200)



FIGURAS 14 e 15 - Reação de imunohistoquímica demonstrando a expressão de VCAM-1 no endotélio vascular de pólipos nasais (microscopia óptica – x200)

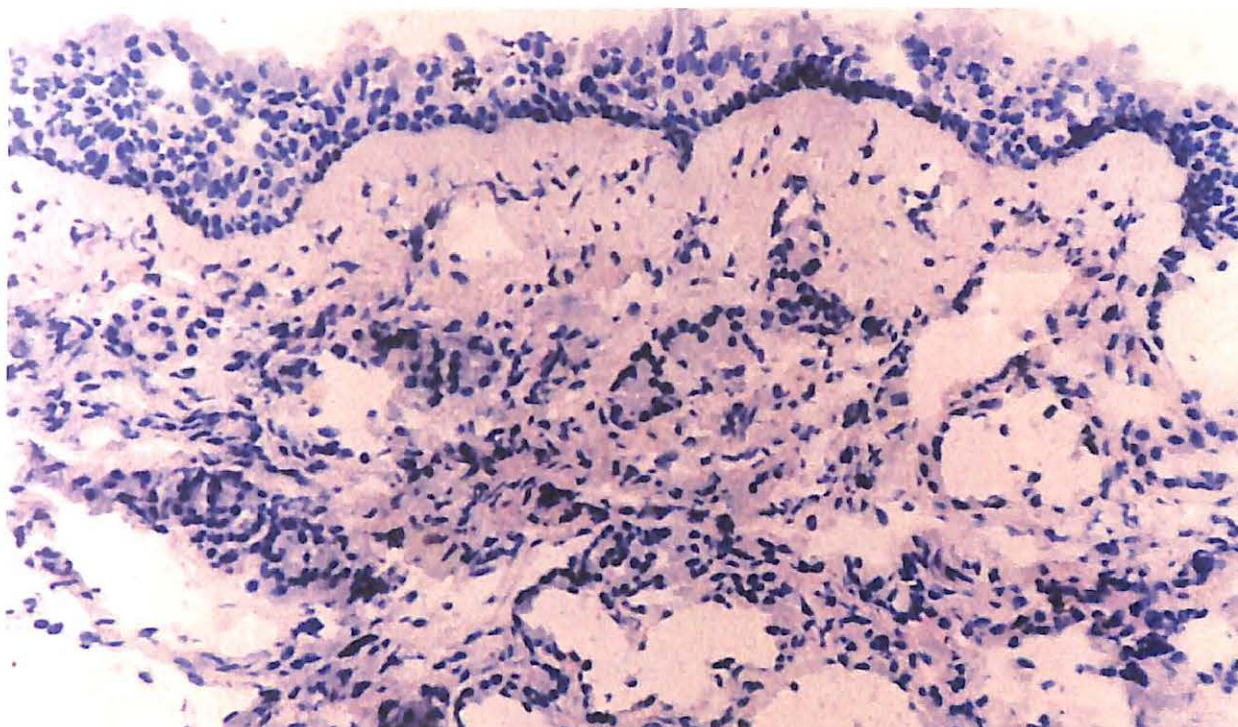


FIGURA 16 – Reação de imunohistoquímica negativa, ausência de expressão de VCAM-1 no endotélio vascular deste pólipó nasal (microscopia óptica – x100)

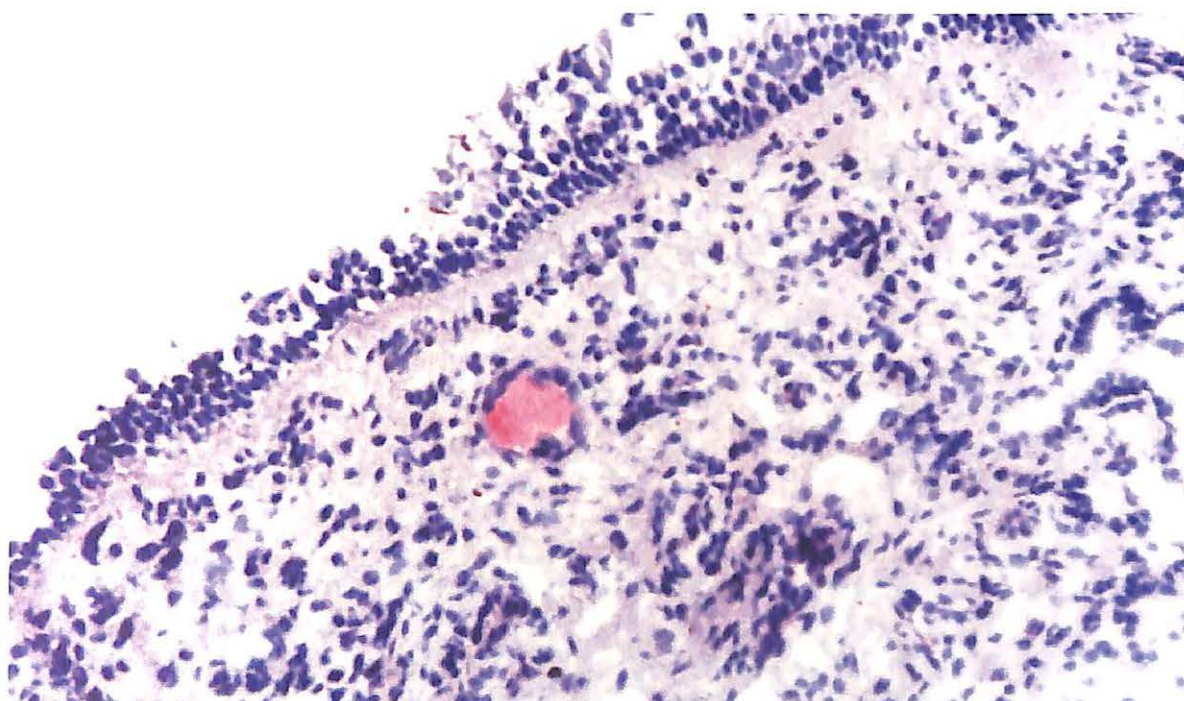


FIGURA 17 – Reação de imunohistoquímica negativa em mucosa normal de concha média (grupo-controle) (microscopia óptica – x100)

5. DISCUSSÃO

A exata fisiopatologia da PN ainda é desconhecida (BILLROTH, 1885; JENKINS, 1932; DAVISON, 1963; DOLOWITZ, DOUGHERTY 1966; WEILLE, 1966; CAUNA et al., 1972; TOS, 1990; OHNO et al., 1991; DRAKE-LEE, 1992; BERNSTEIN et al., 1997). Existe nesses pacientes um complexo e intenso infiltrado inflamatório com a presença de inúmeros mediadores químicos (OPPENHEIMER, ROSENSTEIN, 1979; JACOBS et al., 1983).

Discutiremos esses diversos aspectos separadamente, além dos aspectos clínicos, baseados nos resultados obtidos.

5.1 IDADE

Entre os pacientes portadores de PN estudados, a idade variou de 16 anos a 88 anos, sendo que a média do grupo foi de 42,6 anos \pm 16,9 anos (16 anos-88 anos) (média \pm desvio-padrão).

Entre os pacientes portadores de PN houve um predomínio de indivíduos com mais de 30 anos, representando quase 75% (29/39) do total.

Tais dados corroboram com aqueles referidos na literatura. SETTIPANE; CHAFEE (1977) em uma revisão de 149 casos, encontraram 122 (82%) com mais de 30 anos. Informações semelhantes são relatados por JAMAL; MARANT (1987) e GRANSTRÖM et al. (1992), sugerindo a alta prevalência dessa patologia a partir da terceira década de vida.

Não encontramos diferença significativa entre a idade dos pacientes nos dois grupos estudados, alérgicos e não-alérgicos. Enquanto que a idade média no primeiro grupo de alérgicos foi de 37,3 anos, no segundo foi de 45,3 anos.

É interessante notar que, assim como na literatura, encontramos pouquíssimos casos nas duas primeiras décadas de vida, sugerindo que, com exceção dos portadores de fibrose cística, a PN raramente acomete pessoas nessa faixa etária.

5.2 SEXO

Do total de 39 pacientes portadores de PN, 22 (56,4%) eram do sexo masculino. Esses dados confirmam aqueles que observados na literatura, com predomínio do sexo masculino (MOLONEY, 1977; JAMAL, MARANT, 1987; GRANSTRÖM et al., 1992).

O interessante foi o discreto predomínio do sexo feminino, 53,8% (7/13), encontrado no grupo de pacientes alérgicos. Contudo esse fator não foi estatisticamente significativo quando comparado com o outro grupo.

5.3 QUADRO CLÍNICO

Os pacientes portadores de PN freqüentemente cursam com sinusite crônica associada, sendo seu quadro clínico normalmente caracterizado por cefaléia, obstrução nasal, hiposmia, secreção purulenta, coriza e tosse.

Embora alguns autores, como SETTIPANE et al. (1991), sugerem que a presença de alergia associada à PN poderia exacerbar a sintomatologia desses pacientes.

Em nossa casuística não observamos diferença significativa entre os dois grupos (alérgicos e não-alérgicos) em relação ao quadro clínico. Em ambos, os principais sintomas foram obstrução nasal e hiposmia. O grupo de pacientes alérgicos apresentou escores piores para cefaléia, obstrução nasal, coriza e tosse. Entretanto não houve variação estatisticamente significativa para nenhum dos sintomas.

5.4. ATOPIA

O papel da atopia na fisiopatologia da PN é motivo de controvérsia há muitos anos. Vários autores acreditam que a alergia tem um papel importante na formação dos pólipos (KERN, SCHNECK, 1933; SAMTER, BECKER, 1947; BERDAL, 1954; BLUMSTEIN, 1966; BAUMGARTEN et al., 1980; CALENOFF et al., 1983; JACOBS et al., 1983; GRANSTRÖM et al.,

1992). Contudo estudos recentes com citocinas têm sugerido o contrário (MILLER et al., 1994; TERADA et al., 1995; SIMON et al., 1997).

Considerando tal polêmica, dividimos os nossos pacientes em dois grupos, o de alérgicos e o de não-alérgicos. Os alérgicos perfizeram 33,3% do total de pacientes com PN, o que corresponderia à incidência de atopia na população geral de um grande centro urbano como São Paulo (CASTRO, 1997).

GRANSTRÖM et al. (1992) e HAMILOS et al. (1993) também relatam uma incidência de alergia entre os portadores de PN em torno de 30%. SETTIPANE et al. (1991) ressalta que, apesar de a polipose nasal não ser mais freqüente em pacientes atópicos, quando essas patologias coexistem ocorre uma exacerbação da PN.

5.5. ASMA E INTOLERÂNCIA AO AAS

A associação de asma e PN já é reconhecida há muitos anos (SAMTER, BEERS, 1967; MOLONEY et al., 1977; SETTIPANE et al., 1977).

A incidência de PN na população em geral parece ser de 0,2% a 1,0% (SETTIPANE et al., 1997). Estudos em cadáveres demonstram uma incidência de PN de até 42% (LARSEN, TOS, 1996). Por outro lado, a incidência de asma na população como um todo em geral gira em torno de 0,5% (SETTIPANE et al., 1997).

A ocorrência de asma em pacientes portadores de PN varia de 18% a 42%, conforme o estudo, como já demonstrado no Quadro 1. Em nossa casuística, encontramos 38,4% (15/39) de asmáticos, o que estaria de acordo com a literatura. Quando comparados os dois grupos de pacientes, a incidência de asma foi bem maior no grupo de pacientes alérgicos, 61,5% (8/13) contra 24,1% (7/29) no grupo dos não-alérgicos. Essa discrepância foi significativa ($p < 0,001$) entre os dois grupos, sendo, portanto, a asma muito mais comum entre os pacientes alérgicos. Tal dado sugere que a presença de alergia nos pacientes portadores de PN pode facilitar o aparecimento de asma. No grupo-controle não houve nenhum portador de asma.

Apesar de a PN acometer com mais frequência indivíduos do sexo masculino, diversos trabalhos demonstram uma incidência duas vezes maior de asma em pacientes femininos com PN (DELANEY, 1973; MOLONEY et al., 1977; DRAKE-LEE et al., 1984). Esse fato também foi observado em nossa casuística: dos 15 pacientes asmáticos 10 eram do sexo feminino e cinco do masculino. No grupo dos alérgicos todos os pacientes mulheres apresentavam asma, havendo, assim, uma associação estatisticamente significativa ($p < 0,01$) entre asma e o sexo feminino. Isso evidencia que a possibilidade de um paciente alérgico desenvolver asma e ser portador de pólipos nasais é maior no sexo feminino, quando comparado com o masculino.

Em vários estudos ressalta-se que o surgimento de asma se dá principalmente a partir da terceira década de vida (PEARSON, 1963; MOLONEY, 1977; DRAKE-LEE et al., 1984; LARSEN, TOS, 1994), com

média de manifestação aos 35 anos. No nosso estudo também houve uma incidência maior da doença a partir da terceira década de vida. Dos 15 pacientes portadores de asma, 11 (73,3%) possuíam mais de 30 anos, sendo que a idade média do aparecimento da moléstia foi de 34,6 anos.

A associação de intolerância ao AAS, asma e PN foi descrita pela primeira vez em 1922 por Widal. Desde então, diversos estudos têm mostrado incidência de polipose nasal de 36% a 96% (CAPLIN et al., 1971; CHAFFE, SETTIPANE, 1974; SZCEKLIK et al., 1977; SPECTOR et al., 1979; WEBER et al., 1979; OGINO et al., 1979) em pacientes portadores de intolerância ao AAS. A alta incidência de PN entre esses últimos mostra que deve existir uma estreita relação entre a idiossincrasia ao AAS e a fisiopatologia dos pólipos nasais.

A ocorrência de intolerância ao AAS em indivíduos com PN varia de 3% a 26% dependendo do estudo (Quadro 1). Entre os nossos pacientes, 11,1% (4/36) manifestaram intolerância ao AAS, o que é compatível com os índices encontrados na literatura. Curiosamente, todos eles também apresentavam quadro asmático importante concomitante, formando a tríade clássica descrita por WIDAL et al. (1922).

5.6 IMUNOGLOBULINAS IgA, IgG e IgM

Na literatura não encontramos nenhum estudo correlacionando as concentrações de imunoglobulinas A, G, M (sérica e/ou tecidual) e a presença ou não de PN.

Nos nossos pacientes, a concentração sérica dessas imunoglobulinas foi dosada uma semana antes do ato cirúrgico. Os resultados obtidos foram parecidos nos três grupos, não havendo diferença significativa entre os mesmos. Tais dados sugerem que essas imunoglobulinas não devem possuir um papel expressivo na fisiopatologia da PN.

5.7. INTERLEUCINA 1 (IL -1)

A interleucina 1 já foi denominada de pirógeno endógeno, fator ativador de linfócitos e catabolina. Ela é produzida por diversas células, tais como: as endoteliais, os linfócitos B, os fibroblastos, e os macrófagos. Uma de suas principais funções é a de estimular linfócitos B e T a induzir a reação inflamatória. Outras funções da IL-1 incluem indução à febre por estímulo no SNC e estimulação para liberação de corticóide nas glândulas supra-renais. Praticamente todas as células do organismo respondem ao estímulo da IL-1 através de receptores específicos na membrana celular. Portanto a IL-1 é uma citocina inespecífica, presente em grande quantidade sempre que existe um processo inflamatório importante (ROITT et al., 1996).

Em nosso estudo, decidimos dosar a fração- β da IL-1, que corresponde à fração ativa dessa citocina. Devido a sua relativa estabilidade, optamos por dosá-la, através de ELISA, diretamente na secreção nasal. As outras citocinas (IL-3, 4 e 5), por serem mais lábeis, foram dosadas em macerado de tecido de pólipos nasal.

A presença de IL-1 β em tecido de pólipos nasal foi demonstrada por HAMAGUCHI et al. (1994) e MULLOL et al. (1994). Contudo esses autores não apresentam um grupo-controle para que possamos comparar os resultados, o que impede que afirmemos se os níveis de IL-1 β por eles encontrados eram ou não significativos.

Durante nossa pesquisa, observamos níveis de IL-1 β bem mais elevados nos pacientes com PN (alérgicos e não-alérgicos) quando comparados com o grupo-controle, sugerindo que a presença de IL-1 estaria relacionada com o processo inflamatório crônico presente no tecido com PN, não havendo relação com a ocorrência ou não de alergia. Contudo essa diferença entre o grupo-controle e os outros dois, não atingiu níveis estatisticamente significativos, impedindo que pudéssemos tirar conclusões respeitantes a essa diversidade.

5.8 INTERLEUCINA 3 (IL-3)

A interleucina 3 era conhecida como hemopoietina multiespecífica. Ela estimula o crescimento dos precursores de todas linhagens hemopoiéticas e é produzida principalmente pelos linfócitos T (ROITT et al, 1996).

A IL-3 desempenha importante papel na migração e na ativação de eosinófilos nos processos alérgicos (LIU et al., 1998). Sua ação específica na PN e em especial sobre os eosinófilos presentes nessa patologia ainda é motivo de controvérsia.

ROTHENBERG et al. (1988), estudando *in vitro* eosinófilos humanos de sangue periférico de nove doadores, sendo sete alérgicos, submetem esses eosinófilos a exposição por três dias à IL-2, IL-3, IL-4 e TNF- α . Após o período citado, é observado que apenas os eosinófilos expostos à IL-3 têm um aumento (70%) na viabilidade e de 54% na citotoxicidade contra larvas de *Schistosoma mansoni*.

HAMILOS et al. (1993) demonstram, através de hibridização *in situ* com mRNA, que em tecido de pólipos nasal existiria uma intensa eosinofilia e que esses eosinófilos seriam intensamente positivos para IL-3 mRNA. ALLEN et al. (1997), usando imunistoquímica, chegam a resultados semelhantes. Esses autores sugerem ainda que neste tecido a IL-3 seria produzida pelos próprios eosinófilos.

Em contrapartida, BACHERT et al. (1997), analisando pólipos de 23 pacientes através de ELISA, não observa níveis significativamente elevados de IL-3 nesses tecidos.

Em nossa casuística encontramos níveis de IL-3 significativamente elevados apenas no grupo de pacientes alérgicos ($p < 0,001$). O grupo de pacientes não alérgicos apresentou valores de IL-3 mais elevados, quando comparado com o grupo controle, contudo esta diferença não foi significativa, o que estaria de acordo com os resultados obtidos por BACHERT et al. (1997).

Tais resultados sugerem que a IL-3 possuiria um papel importante na fisiopatologia da alergia, não estando, contudo, envolvida na fisiopatologia da PN.

Os autores que encontraram um aumento da expressão de IL-3 nos pacientes com PN (HAMILOS et al., 1993; ALLEN et al., 1997) não diferenciam se os mesmos são ou não portadores de alergia. Assim, é possível que os valores elevados de IL-3 verificados por esses autores sejam decorrentes do fator alergia entre os indivíduos estudados.

5.9 INTERLEUCINA 4 (IL-4) e IMUNOGLOBULINA E

A interleucina 4 era conhecida como fator ativador de linfócitos B. Sua principal característica é a indução e a ativação de linfócitos B para a produção de IgE (ROITT et al. 1996). Outra ação importante da IL-4 é levar à transformação de linfócitos T HELPER (Th) em linfócitos T HELPER 2 (Th2).

O aumento da produção de IL-4 é característico das reações alérgicas (SCHLEIMER et al., 1992; ZANGRILLI et al., 1995; NACLERIO, 1997), causando elevada concentração de IgE (TEPPER et al., 1990).

Não existe um consenso quanto à presença e ao papel da IL-4 na PN. Enquanto estudos de NONAKA et al. (1995) e MIN et al. (1997) sugerem que a IL-4 estaria aumentada no tecido de pólipos nasais, outros autores (MILLER et al., 1994 e HAMILOS et al., 1995) não encontram aumento de IL-4 em tecido de pólipo nasal em pacientes não-alérgicos.

É importante ressaltar que no estudo de NONAKA et al. (1995) não há diferenciação entre pacientes alérgicos e não-alérgicos, podendo estar a IL-4 aumentada devido à presença de pacientes alérgicos no grupo. Na pesquisa de MIN et al. (1997), apesar de ter sido encontrada IL-4 aumentada no tecido de PN de pacientes não-alérgicos, os autores sugerem que o mecanismo que levaria a esse crescimento seria diferente daquele típico da hipersensibilidade tipo I.

Em nossa casuística, não houve variação estatisticamente significativa nos valores de IL-4 encontrados no tecido normal de mucosa nasal do grupo-controle e no tecido de pólipos nasais dos pacientes não-alérgicos, uma vez que todas as dosagens realizadas em ambos os grupos foram negativas. Por outro lado, quando comparados os valores de IL-4 encontrados no tecido de pólipos nasais de pacientes alérgicos com os dos não-alérgicos, observamos uma diferença significativa ($p < 0,001$), sendo que apenas uma dosagem de IL-4 no grupo de pacientes alérgicos foi negativa.

Existe ainda uma forte correlação entre esses dados e o nível sérico de IgE. Enquanto não houve desigualdade relevante no nível sérico de IgE entre o grupo-controle e o de pacientes não-alérgicos, o nível sérico de IgE encontrado nos pacientes alérgicos foi significativamente maior quando comparado com o do grupo-controle ($p < 0,001$) e com o dos pacientes não-alérgicos ($p < 0,001$). É interessante observarmos que o único paciente alérgico que obteve níveis normais de IgE foi exatamente o mesmo em que a dosagem de IL-4 foi negativa.

Esses nossos resultados sugerem uma forte associação da IL-4 com a presença de alergia e altos níveis séricos de IgE e, provavelmente, que o papel da IL-4 na eosinofilia encontrado na PN não deve ser importante.

5.10 INTERLEUCINA 5 (IL- 5) E EOSINÓFILOS

A interleucina 5 é um fator de crescimento e ativação de eosinófilos, sendo responsável pela eosinofilia sérica encontrada nas doenças alérgicas e parasitárias (ROITT et al., 1996).

YAMAGUCHI et al. (1991) demonstram *in vitro* que eosinófilos, na presença de IL-5, aumentariam significativamente a sobrevivência. Nessas células ocorre um crescimento da produção de RNA e da síntese protéica, o que acaba levando a uma inibição da apoptose. SIMON et al. (1997) confirmam esses dados demonstrando a inibição da apoptose de eosinófilos no tecido de pólipos nasais.

Tais informações sugerem que um dos mecanismos que poderia estar envolvido na intensa eosinofilia presente na PN seria o aumento da IL-5 com conseqüente inibição da apoptose dos eosinófilos atuantes nesse tecido.

Na literatura existem alguns trabalhos que sustentam essa teoria (WALKER et al., 1992; MIN et al., 1997). Em tais estudos é observado um aumento de IL-5 em tecido de polipose nasal. Os autores sugerem, assim, que a IL-5 teria um importante papel na fisiopatologia da PN, e que, talvez, um dos seus mecanismos de ação seria justamente a inibição da apoptose dos eosinófilos presentes nesse tecido. É importante salientarmos, contudo, que no trabalho de WALKER et al. (1992) os pacientes não são diferenciados em alérgicos e não-alérgicos, podendo a IL-5 estar aumentada pela inclusão de alérgicos no estudo.

Por outro lado, existem autores que detectam um crescimento de IL-5 apenas no grupo de pacientes alérgicos, o que coloca em dúvida a importância dessa citocina na fisiopatologia da PN (HAMILOS et al., 1995; TERADA et al., 1995). Na opinião deles, a IL-5 teria sua importância restrita ao processo alérgico, não participando diretamente do complexo mecanismo imunológico presente na PN.

TERADA et al. (1995) demonstram ainda que a presença de IL-5 na mucosa nasal de pacientes alérgicos aumentaria a expressão da molécula de adesão ICAM-1, o que levaria a uma maior migração de células inflamatórias para esse tecido, especialmente eosinófilos. A ausência de IL-5 no tecido de pólipos nasal nos indivíduos não-alérgicos, contudo, mostra que nessa patologia o mecanismo envolvido na migração eosinofílica deve ser outro.

Em nossa casuística, constatamos no grupo de pacientes alérgicos os maiores níveis de IL-5. Tal fato foi significativo tanto para o grupo de não-alérgicos ($p < 0,001$) como para o controle ($p < 0,001$). Observamos, ainda, que os níveis de IL-5 naqueles não-alérgicos foi maior do que os valores encontrados nos do grupo-controle. Contudo essa variação não foi estatisticamente significativa.

Esses dados estão de acordo com os de HAMILOS et al. (1995) e TERADA et al. (1995), assim como os resultados obtidos para IL-3 e 4 demonstram perfis imunológicos distintos entre os grupos de pacientes alérgicos e não-alérgicos.

Analisando a eosinofilia sérica nos três grupos, notamos que apenas o de pacientes alérgicos obteve valores significativamente maiores, sugerindo que o aumento de eosinófilos na corrente sanguínea estaria correlacionado com a presença de alergia, não havendo, portanto, relação com a PN.

5.11 HISTOLOGIA E VCAM-1

As moléculas de adesão são proteínas de membrana que permitem que duas células interajam. Tal fato pode ser modulado tanto pelo aumento do número de moléculas de adesão expostas na superfície celular, como pela alteração da afinidade dessas mesmas moléculas (ROITT et al., 1996).

O principal sítio de expressão das moléculas de adesão encontra-se no endotélio vascular, sendo o ICAM-1 e o VCAM-1 os principais representantes desse grupo (HARALDSEN et al., 1996). A interação dessas moléculas, presentes na superfície celular endotelial, com os respectivos contra-receptores ativos na membrana das células inflamatórias facilita, a migração transendotelial dessas últimas para os sítios inflamatórios (FIGURA 18) (PETZELBAUER et al., 1993).

No caso dos portadores de PN, a principal célula inflamatória do tecido da PN é o eosinófilo (GRANSTRÖM et al., 1992). Mais de 90% dos pólipos nasais apresentam intensa eosinofilia (SETTIPANE et al., 1997). Em nossa casuística apenas dois pacientes (5,1%) não possuíam tal

característica, sendo que ambos pertenciam ao grupo dos pacientes não-alérgicos e apresentaram reação imunoistoquímica para VCAM-1 negativa.

O exato mecanismo envolvido na migração transepitelial dessas células em tais pacientes não foi ainda bem definido.

Com o objetivo de averiguar a expressão de VCAM-1 em tecido de pólipos nasal, decidimos utilizar o método da imunoistoquímica em tecido congelado. A vantagem desse método é que permite visualizar o local exato onde existe a expressão de VCAM-1. Entretanto a dificuldade em quantificar o resultado, especialmente em tecido de pólipos nasal, no qual existe grande variação na densidade tecidual dos pólipos nos diversos pacientes, constitui sua desvantagem. Por essa razão, optamos por classificar os pacientes, no que diz respeito a essa abordagem, em apenas dois grupos:

- positivo, quando ao menos um vaso sanguíneo apresentou-se positivo para VCAM-1;

- negativo, quando não foi visualizado, em toda a extensão do corte estudado, algum vaso positivo para VCAM-1.

Esse tipo de classificação, em positivo e negativo, também é utilizado por outros autores (JAHNSEN et al., 1995).

SYMON et al. (1994) não referem um aumento da expressão de VCAM-1 no tecido de PN em nenhum dos oito pacientes estudados. Já outros autores, como BOCHNER et al. (1991), JAHNSEN et al. (1995), BECK et al. (1996) e HAMILOS et al. (1996) demonstram um aumento da expressão de VCAM-1 em endotélio vascular de pacientes alérgicos e não-

alérgicos portadores de PN. Estes, portanto, sugerem que o VCAM-1 estaria envolvido na migração transepitelial de eosinófilos para o tecido da PN.

Em nossa casuística, não observamos a expressão de VCAM-1 no endotélio vascular de mucosa normal de nenhum dos pacientes do grupo-controle. Por outro lado, nos portadores de PN constatamos a expressão de VCAM-1 em mais da metade deles, tanto no grupo de alérgicos como no de não-alérgicos. Não houve diferença significativa entre os dois grupos.

Desta forma, analisando os fatores estudados, podemos observar que não houve correlação entre asma ou intolerância ao ácido acetilsalicílico com a presença ou não de alergia. Os níveis séricos de IgE e eosinófilos foram significativamente maiores nos alérgicos portadores de polipose nasal e apresentaram uma relação direta com as concentrações de interleucinas 3, 4 e 5 no pólipó nasal. Não houve diferença entre o grupo de não-alérgicos com polipose nasal e o grupo-controle quanto aos níveis de interleucinas 3, 4 e 5, sugerindo que essas interleucinas não tenham um papel importante na fisiopatologia da polipose nasal. A expressão VCAM-1 foi significativa nos dois grupos de portadores de polipose nasal, sugerindo que esta molécula de adesão possivelmente está envolvida na intensa migração de eosinófilos que ocorre nesta doença.

6. CONCLUSÕES

1. A presença ou não de alergia nos pacientes portadores de polipose nasal não se correlacionou com a presença de asma ou intolerância ao ácido acetil salicílico.
2. Os níveis séricos de IgA, IgG e IgM mostraram-se iguais em todos os grupos, independentemente da presença ou não de polipose nasal.
2. Os níveis séricos de IgE e eosinófilos correlacionaram-se com a presença de polipose nasal e alergia
3. As concentrações das interleucinas 3, 4 e 5 apresentaram relação direta com a presença de polipose nasal e alergia.
4. A expressão de VCAM-1 correlacionou-se com a presença de polipose nasal, independentemente de haver ou não alergia.

7. ANEXOS

ANEXO B - FICHA DE CONSENTIMENTO DOS PACIENTES DOS GRUPOS DE ESTUDO (MODELO)



HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Anexo I

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS -INFORMAÇÃO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M F
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO: Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA"Estudo Imunológico das Poliposés Nasais".....
-
- PESQUISADOR: ..Dr. Richard Louis Voegels.....
- CARGO/FUNÇÃO: ..Doutorando FMUSP..... INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 69967.....
- UNIDADE DO HCFMUSP: ..IHC/ORL.....
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- SEM RISCO RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
- RISCO BAIXO RISCO MAIOR
- (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : ..Um Ano.....

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa ; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

Objetivo: Estudar a origem dos pólipos nasais

Procedimento: retirar pólipo durante cirurgia

Riscos: baixos e inerentes ao ato cirúrgico

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Telefone: (011) 30696288

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 19

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Dr. Richard Louis Voegels

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

ANEXO C - DOSAGEM SÉRICA DE IgE TOTAL

Para a pesquisa de IgE total, foi usado o método de fluorimunoensaio UniCAP Specific IgE - Pharmacia, baseado em complexos alergênicos em fase sólida e anticorpos monoclonais. Anti-IgE ligadas a uma matriz sólida (ImmunoCAP) reagem com a IgE total presente na amostra do paciente.

Seguindo-se a uma fase de lavagem que retira IgE não-específicas, os anticorpos contra IgE ligados à β -galactosidase são adicionados para formar um complexo. Após incubação a 37° C, há uma nova fase de lavagem para a retirada desses anticorpos ligados à enzima que não se juntaram à IgE, e o complexo formado é incubado com uma solução que contém uma enzima (metil-lumberiferil- β -D-galactosidase) e KathonCG. Depois, interrompe-se a reação com uma *stop solution* e mede-se a fluorescência do eluato.

Para a realização do procedimento, foi utilizado 0,4ml de soro dos indivíduos estudados para cada tubo especificado adiante. O sangue foi coletado por punção venosa em tubos secos e o soro separado por centrifugação. Armazenaram-se essas amostras em temperatura entre 2°C a 8°C por até sete dias. Após esse período, foram trazidas à temperatura ambiente (15°C a 28°C) antes da realização dos testes.

ANEXO D - DOSAGEM SÉRICA DE IMUNOGLOBULINAS (A,G e M)

A dosagem foi feita através da nefelometria cinética. Com essa metodologia mede-se a intensidade de luz que se dispersa pelas partículas em suspensão quando um raio de luz atravessa a cubeta de fluxo. As partículas se formam em consequência da reação de imunoprecipitação, quando o anticorpo entra em contato com o antígeno específico. A formação dos complexos resultantes e a intensidade de luz dispersada se verificam a uma velocidade que a princípio aumenta de forma gradual, logo após mais rapidamente e por fim alcança o seu valor máximo (de pico cinético), correspondente ao componente analisado. Os componentes eletrônicos calculam a derivada do "pico", o máximo valor cinético de dispersão, convertendo-o em unidade de concentração.

ANEXO E - DOSAGEM SÉRICA DE IGE ESPECÍFICA (RAST)

Para a pesquisa de IgE específica foi usado o método de fluorimunoensaio UniCAP Specific IgE - Pharmacia, baseado em complexos alergênicos em fase sólida e anticorpos monoclonais.

Os alérgenos de interesse covalentemente ligados a uma matriz sólida (ImmunoCAP) reagem com a IgE específica presente na amostra do paciente. Em seguida a uma fase de lavagem que retira IgE não-específicas, anticorpos contra as IgE ligados à β -galactosidase são adicionados para formar um complexo. Após incubação, há uma nova fase de lavagem que retira esses anticorpos ligados à enzima que não se juntaram à IgE, e o complexo formado é incubado com uma solução que contém uma enzima (metil-lumiferil- β -D-galactosidase) e KathonCG. Depois, interrompe-se a reação com uma *stop solution* e mede-se a fluorescência do eluato.

Para a realização do procedimento, foi utilizado 0,4ml de soro dos indivíduos estudados para cada tubo especificado adiante. O sangue foi coletado por punção venosa em tubos secos e o soro foi separado por centrifugação. Essas amostras foram armazenadas em temperatura entre 2°C e 8°C por até sete dias e trazidas à temperatura ambiente (15°C a 28°C) antes da realização dos testes.

Foram estudados os anticorpos específicos contra ácaro, fungo (*candida* e *aspergillus*) e barata.

ANEXO F - MÉTODO DE ELISA PARA AS INTERLEUCINAS 1 β , 3, 4 e 5

Esse método, baseado no princípio do "sanduíche", foi realizado conforme instruções do fabricante. Resumidamente, os controles-padrão, que acompanham o *kit*, assim como as amostras a ser testadas foram distribuídos em placas de 96 alvéolos sensibilizadas com anticorpos monoclonais de camundongo anti-IL humana. As placas foram incubadas juntamente com anticorpo anti-IL biotilado, por um período de 14 horas em temperatura ambiente. Ao término deste período, foram lavadas e incubadas com solução de estreptavidina marcada com peroxidase, durante três horas em temperatura ambiente. Para a visualização do complexo formado, as placas foram novamente lavadas e, em seguida, adicionou-se a elas substrato para a enzima peroxidase (TMB) por 45 minutos e imediatamente foram colocadas em amplificador por outros 45 minutos. Essa reação foi interrompida pela adição de ácido sulfúrico. A seguir, a leitura foi realizada em espectrofotômetro, utilizando-se comprimento de onda de 450nm.

Obteve-se uma curva de referência a partir dos padrões que acompanhavam o *kit*. As absorbâncias das amostras foram registradas em gráfico de curva-padrão, sendo assim possível determinarem-se as concentrações de IL nas amostras, tendo em vista que os padrões possuem concentrações conhecidas. Os resultados são expressos em pg/ml.

**ANEXO G - IDADE, SEXO, HISTÓRIA DE ASMA E INTOLERÂNCIA AO
ÁCIDO ACETILSALICÍLICO**

GRUPO PACIENTES ALÉRGICOS

CASO	DADOS DO PACIENTE			
	Idade (anos)	Sexo	Asma	Intol. AAS
7	33	M	não	não
8	41	M	não	não
15	46	F	sim	não
19	34	F	sim	não
21	35	F	sim	não
22	58	M	não	não
25	52	F	sim	não
26	51	M	sim	sim
29	27	M	não	não
30	37	F	sim	sim
36	32	M	não	não
40	21	F	sim	não
42	18	F	sim	não

Nota: Intol.: intolerância
M: masculino
F: feminino

**ANEXO H - IDADE, SEXO, HISTÓRIA DE ASMA E INTOLERÂNCIA AO
ÁCIDO ACETILSALICÍLICO**

GRUPO PACIENTES NÃO-ALÉRGICOS

CASO	DADOS DO PACIENTE			
	Idade (anos)	Sexo	Asma	Intol. AAS
4	60	F	não	não
5	31	F	não	não
6	23	M	não	não
9	52	F	sim	não
11	25	M	sim	não
14	21	F	não	não
16	70	F	não	não
17	55	M	não	não
18	88	F	não	não
20	61	M	não	não
23	22	M	sim	não
24	66	M	não	não
27	49	M	não	não
28	41	M	sim	não
31	62	M	sim	não
32	16	M	não	não
33	42	M	não	não
34	53	F	sim	sim
35	22	F	não	não
37	48	M	não	não
38	66	M	não	não
39	33	M	não	não
41	45	F	sim	sim
43	24	F	não	não
44	54	M	não	não
45	49	M	não	não

Nota: Intol.: intolerância
M: masculino
F: feminino

**ANEXO I - IDADE, SEXO, HISTÓRIA DE ASMA E INTOLERÂNCIA AO
ÁCIDO ACETILSALICÍLICO**

GRUPO-CONTROLE

CASO	DADOS DO PACIENTE			
	Idade (anos)	Sexo	Asma	Intol. AAS
1	33	M	não	não
2	31	M	não	não
3	27	F	não	não
4	25	M	não	não
5	25	F	não	não
6	26	F	não	não
7	31	M	não	não
8	28	M	não	não
9	25	F	não	não
10	42	M	não	não
11	35	M	não	não

Nota: Intol.: intolerância
M: masculino
F: feminino

ANEXO J - QUADRO CLÍNICO

GRUPO PACIENTES ALÉRGICOS

CASO	SINTOMAS					
	Cefaléia	Obstrução nasal	Hiposmia	Secreção purulenta	Coriza	Tosse
7	5	6	10	2	4	1
8	1	10	5	5	9	3
15	10	3	5	7	1	1
19	8	6	8	3	5	1
21	1	8	5	1	5	1
22	1	9	10	1	5	1
25	10	10	1	1	10	10
26	2	9	10	8	3	4
29	1	9	9	1	1	2
30	10	10	5	2	5	5
36	1	10	5	1	2	1
40	9	7	1	2	7	1
42	6	10	9	7	8	8

Nota: Os valores atribuídos aos sintomas vão de 1 a 10 , sendo 1 a ausência do sintoma e 10 o sintoma em sua intensidade máxima

ANEXO L - QUADRO CLÍNICO

GRUPO PACIENTES NÃO-ALÉRGICOS

CASO	SINTOMAS					
	Cefaléia	Obstrução nasal	Hiposmia	Secreção purulenta	Coriza	Tosse
4	10	7	8	2	2	3
5	2	10	9	2	9	4
6	1	6	1	9	5	1
9	1	8	5	8	1	3
11	7	7	9	8	1	5
14	3	4	2	1	2	3
16	2	9	8	2	1	1
17	1	10	9	8	1	5
18	1	8	8	1	7	1
20	1	2	7	1	3	1
23	1	10	10	7	10	7
24	1	7	1	1	5	1
27	3	9	10	5	8	2
28	5	10	10	1	1	5
31	1	5	5	1	1	2
32	1	5	10	5	1	1
33	2	4	9	6	3	7
34	3	6	8	8	6	7
35	1	8	8	10	10	1
37	1	8	10	1	4	1
38	1	4	6	6	5	5
39	1	10	10	7	9	1
41	1	3	10	1	2	2
43	5	7	1	5	6	1
44	1	8	6	5	1	1
45	1	10	8	3	1	1

Nota: Os valores atribuídos aos sintomas vão de 1 a 10 , sendo 1 a ausência do sintoma e 10 o sintoma em sua intensidade máxima

ANEXO M - EXAMES SÉRICOS

GRUPO PACIENTES ALÉRGICOS

CASO	EXAMES SÉRICOS					
	Eosinófilo*	IgE**	IgA***	IgG***	IgM***	RAST**
7	9,9	2407	319	1140	97	7,9
8	8,2	270	320	1360	160	8,4
15	1,2	302	284	1270	137	39,8
19	5,6	256	180	1840	210	40,6
21	1,3	561	268	1350	198	100
22	5,4	720	339	1220	91	7,7
25	6,3	441	211	1310	96	100
26	6,9	315	261	1120	124	8,38
29	11,1	512	158	1290	55	57,2
30	15,4	683	368	1040	105	54,1
36	13,7	118	384	1270	230	6,3
40	18	1382	207	1270	193	89,8
42	9,2	827	103	866	126	49,7

* valores em percentagem (%) do total de leucócitos.

** valores expressos em unidades internacionais/mililitro (UI/ml)

*** valores expressos em miligrama/decilitro (mg/dl)

RAST: *radioallergoimunoassay test*

ANEXO N - EXAMES SÉRICOS

GRUPO PACIENTES NÃO-ALÉRGICOS

CASO	EXAMES SÉRICOS					
	Eosinófilo*	IgE**	IgA***	IgG***	IgM***	RAST**
4	9,1	32	201	1170	88	>0,35
5	3,6	256	257	1350	182	>0,35
6	6,4	101	213	1110	86	>0,35
9	2	370	481	1790	161	>0,35
11	1,8	223	410	1640	157	>0,35
14	1,3	77	3,5	1080	88	>0,35
16	4,9	52	338	1460	74	>0,35
17	1,8	56	590	1150	89	>0,35
18	3,9	526	317	902	206	>0,35
20	4,2	13	189	907	661	>0,35
23	1,8	109	291	1550	83	>0,35
24	2,7	84	215	845	74	>0,35
27	8,5	191	441	1030	71	>0,35
28	25,1	67	159	734	88	>0,35
31	3,5	84	247	1070	207	>0,35
32	2,1	60	319	1510	49	>0,35
33	8,2	18	212	1270	41	>0,35
34	1,3	115	209	998	170	>0,35
35	1,2	441	390	1340	123	>0,35
37	8,1	31	260	1190	74	>0,35
38	1,4	12	224	1350	84	>0,35
39	8,5	258	234	1730	199	>0,35
41	6,2	32	121	1310	184	>0,35
43	2,2	201	91	1120	127	>0,35
44	2	111	158	1080	107	>0,35
45	4,3	426	162	1440	163	>0,35

* valores em percentagem (%) do total de leucócitos.

** valores expressos em unidades internacionais/mililitro (UI/ml)

*** valores expressos em miligrama/decilitro (mg/dl)

RAST: *radioallergoimunoassay test*

ANEXO O - EXAMES SÉRICOS

GRUPO-CONTROLE

CASO	EXAMES SÉRICOS					
	Eosinófilo*	IgE**	IgA***	IgG***	IgM***	RAST**
1	1,3	23	247	1020	49	>0,35
2	1,2	67	268	1147	101	>0,35
3	2,1	187	470	1320	206	>0,35
4	1,8	12	102	1080	43	>0,35
5	2,8	212	185	1310	87	>0,35
6	1,4	84	264	1290	95	>0,35
7	1,8	47	97	994	71	>0,35
8	2,8	101	313	1350	99	>0,35
9	1,9	39	119	887	54	>0,35
10	1,2	131	212	907	121	>0,35
11	0,9	51	83	940	82	>0,35

* valores em percentagem (%) do total de leucócitos.

** valores expressos em unidades internacionais/mililitro (UI/ml)

*** valores expressos em miligrama/decilitro (mg/dl)

RAST: *radioallergoimunoassay test*

ANEXO P - DOSAGEM DE INTERLEUCINAS 1, 3, 4, 5 E VCAM-1

GRUPO PACIENTES ALÉRGICOS

CASO	CITOCINA				
	IL-1*	IL-3*	IL-4*	IL-5*	VCAM-1
7	968	33,3	39,4	66,6	sim
8	12	não	30	58,2	não
15	45	50	11,5	53,4	não
19	15	87,1	41,8	65,6	sim
21	39	130	80,8	109	sim
22	23	88,2	15,1	58,2	não
25	18	76	70,2	71,4	sim
26	14	100	18,7	66,6	não
29	53	101	40,3	80,9	sim
30	237	367	51,2	332	sim
36	não	32	não	16,2	não
40	747	1169	47,5	188	sim
42	31	não	30,5	46	não

* valores expressos em picograma/ mililitro (pg/ml)

IL: interleucina

VCAM: *vascular cell adhesion molecule*

ANEXO Q - DOSAGEM DE INTERLEUCINAS 1, 3, 4, 5 E VCAM-1

GRUPO PACIENTES NÃO-ALÉRGICOS

CASO	CITOCINA				
	IL-1*	IL-3*	IL-4*	IL-5*	VCAM-1
4	24	20	não	15,6	sim
5	39	não	não	6	não
6	42	62	não	4,2	não
9	948	22	não	5,6	não
11	582	10	não	38	sim
14	12	96	não	48	sim
16	18	15	não	40	sim
17	25	20	não	22	sim
18	633	33	não	6,6	sim
20	não	não	não	não	não
23	45	35	não	4,6	não
24	60	15	não	23,4	sim
27	99	não	não	14,2	sim
28	12	32	não	40	não
31	51	não	não	6	não
32	30	15	não	8,2	não
33	18	19	não	20,4	sim
34	57	não	não	46	sim
35	219	24	não	13,7	sim
37	15	50	não	53,4	sim
38	não	não	não	não	não
39	357	15	não	21,5	sim
41	21	51	não	38	não
43	255	18	não	15,2	sim
44	45	não	não	não	não
45	777	não	não	4,6	não

* valores expressos em picograma/ mililitro (pg/ml).

IL: interleucina.

VCAM: "vascular cell adhesion molecule".

ANEXO R - DOSAGEM DE INTERLEUCINAS 1, 3, 4, 5 E VCAM-1

GRUPO-CONTROLE

CASO	CITOCINA				
	IL-1*	IL-3*	IL-4*	IL-5*	VCAM-1
1	45	não	não	4,2	não
2	não	não	não	não	não
3	22	15,7	não	6,6	não
4	não	não	não	não	não
5	16	12,1	não	22,7	não
6	não	não	não	não	não
7	não	não	não	não	não
8	31	não	não	6,2	não
9	não	não	não	não	não
10	57	não	não	13,1	não
11	não	não	não	não	não

* valores expressos em picograma/ mililitro (pg/ml)

IL: interleucina

VCAM: *vascular cell adhesion molecule*

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ALLEN, J.S.; EISMA, R.; LEONARD, G.; KREUTZER, D. Interleukin-3, Interleukin-5, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expression in nasal polyps. **Am. J. Otolaryngol.**, v.18, p.239-46, 1997.

BACHERT, K.; WAGENMANN, M.; HAUSER, U.; RUDACK, C. IL-5 synthesis is upregulated in human nasal polyp tissue. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v.99, p.837-42, 1997.

BAUMGARTEN, C.; KUNKEL, G.; RUDOLPH, R.; STAND, R. D.; SPERNER, I.; GELDERBLOM, H. Histopathological examinations of nasal polyps of different etiology. **Arch. Otorhinolaryngol.**, v. 226, p. 187-97, 1980.

* De acordo com:

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. **Estrutura e apresentação de dissertações e teses.** Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha. São Paulo, Serviço de Biblioteca e Documentação, 1996

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS.

BECK, L.A.; STELLATO, C.; BEALL, L.D.; SCHALL, T.J.; LEOPOLD, D.; BICKEL, C.A.; BAROODY, F.; BOCHNER, B.S.; SCHLEIMER, R.P. Detection of the chemokine RANTES and endothelial adhesion molecules in nasal polyps. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 98, p. 766-80, 1996.

BERDAL, P. Serological examination of nasal polyp fluid. **Acta Otolaryngol. (Supplement.)**, v.115, p.1, 1954.

BERNSTEIN, J. M.; GORFIEN, J.; NOBLE, B.; YANKASKAS, J. R. Nasal polyposis: Immunohistochemistry and bioelectrical findings (a hypothesis for the development of nasal polyps). **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 99, p. 165-75, 1997.

BILLROTH, R. **Über den Bau der Schleimpolypen.** Vienna, Georg Reimer, 1885, p.1-32.

BLUMSTEIN, G. I. Nasal polyps. **Arch. Otolaryngol.**, v.83, p.266-69, 1966.

BOCHNER, B.S.; LUSCINSKAS, F.W.JR.; GIMBRONE, M.A.; NEWMAN, W. STERBINSKY, S.A.; DERSE-ANTHONY, C.P.; KLUNK, D.; SCHLEIMER, R.P. Adhesion of human basophils, eosinophils, and neutrophils to interleukin 1-activated human vascular endothelial cells: contributions of endothelial cell adhesion molecules. **J. Exp. Med.**, v. 173, p. 1553-6, 1991.

BOURGEOIS, H. A propos d'un cas de coryza spasmodique. **Progr. Med.**, p.95-6, 1925.

BROWN, B.L.; HARNER, S.G.; VAN DELLEN, R.G. Nasal polypectomy in patients with asthma sensitivity to aspirin. **Arch. Otolaryngol.**, v.105, p.413-6, 1979.

CALENOFF, E.; GUILFORD, T.; GREEN, J.; ENGELHARD, C. S. Bacteria-specific IgE in patients with nasal polyposis. **Arch. Otolaryngol.**, v. 109, p. 372-5, 1983.

CAPLIN, I.; HAYNES, J. T.; SPAHN, J. Are nasal polyps an allergic phenomenon? **Ann. Allergy**, v. 29, p. 631-4, 1971.

CASTRO, F.F.M. **Rinite alérgica: modernas abordagens para uma clássica questão.** São Paulo, Lemo Editorial, 1997, p.178.

CAUNA, N.; MANZETTI, G. W.; HINDERER, K. H.; SWANSON, E. W. Fine structure of nasal polyps. **Ann. Otol.**, v. 81, p. 41-58, 1972.

CHAFEE, F.H.; SETTIPANE, G.A. Aspirin intolerance. I. Frequency in an allergic population. **J. Allergy. Clin. Immunol.**, v. 53, p. 193-9, 1974.

CORDELL, J.L.; FALINI, B.; ERBER, W.N.; GHOSH, A.K.; ABDULAZIZ, Z.; MACDONALD, S.; PULFORD, K.A.F.; STEIN, H.; MASON, D.Y. Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes). **J. Histochem. Cytochem.**, v.32, p.219-29, 1984.

DAVIDSSON, A.; HELLQUIST, H.B. The so called "allergic" nasal polyp. **ORLJ. Otorhinolaryngol.**, v.55, p.30-5, 1993.

DAVISON, F. W. Hiperplastic sinusitis, a five year study. **Ann. Otol.**, v. 72, p. 462-74, 1963.

DELANEY, J.C. Aspirin idiosyncrasy in patients admitted for nasal polypectomy. **Clin. Otolaryngol.**, v.1, p.27-30, 1973.

- DOLOWITZ, D. A.; DOUGHERTY, T. F. A study of cilia and connective tissue in normal and hyperplastic nasal mucous membrane. **Laryngoscope**, v. 76, p. 555-59, 1966.
- DRAKE-LEE, A. Nasal polyps in identical twins. **J. Laryngol. Otol.**, v. 106, p. 1084-5, 1992.
- DRAKE-LEE, A.; LOWE, D.; SWANTSON, A.; GRACE, A. Clinical profile and recurrence of nasal polyps. **J. Laryngol. Otol.**, v.98, p. 783-93, 1984.
- DREBORG, S. **The skin prick test, methodological studies and clinical applications**. Linköping University Medical Dissertations, 1981, p.239.
- FRERICHS, F. **Über den Bau der Schleimpolypen**. Georg Reimer, apud BILLROTH, R., 1885, p. 1-32
- GILBERT, G.B. **Unusual idiosyncrasy to aspirin**. JAMA, v.56, p 1262 apud PROBST, L. et al., 1992
- GRANSTRÖM, G.; JACOBSSON, E. JEPSSON, P. H. Influence of allergy, asthma and hypertension on nasal polyposis. **Acta Otolaryngol.**, v. 492, p. 22-7, 1992.
- HAMAGUCHI, Y.; SUZUMURA, H.; ARIMA, S.; SAKAKURA, Y. Quantitation and immunocytological identification of interleukin-1 in nasal polyps from patients with chronic sinusitis. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, v.104, p.155-9, 1994.
- HAMILOS, D.L.; LEUNG, D.Y.M.; WOOD, R.; MEYERS, A.; STEPHENS, J.K.; BARKANS, J.; MENG, Q.; CUNNINGHAM, L.; BEAN, D.K.; KAY, A.B.; HAMID, Q. Chronic hyperplastic sinusitis: association of tissue

eosinophilia with mRNA expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-3. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 92, p. 39-48, 1993.

HAMILOS, D.L.; LEUNG, D.Y.M.; WOOD, R.; CUNNINGHAM, L.; BEAN, D.K.; YASRUEL, Z.; SCHOTMAN, E.; HAMID, Q. Evidence for distinct cytokine expression in allergic versus nonallergic chronic sinusitis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 96, p. 537-44, 1995.

HAMILOS, D.L.; LEUNG, D.Y.M.; WOOD, R.; BEAN, D.K.; SONG, Y.L.; SCHOTMAN, E.; HAMID, Q. Eosinophil infiltration in nonallergic chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis (CHS/NP) is associated with endothelial VCAM-I upregulation and expression of TNF- α . **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.**, v. 15, p. 443-50, 1996.

HANSEL, F.K. **Allergy of the nose and paranasal sinuses. A monograph on the subject of allergy as related to otolaryngology.** St. Louis C.V. Mosby Co., 1936, p.820.

HARALDSEN, G.; KUALE, D.; LIEN, B.; FARSTAD, I.N.; BRANDTZAEG, P. Cytokine-regulated expression of E-selectin, Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1), and Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in human intestinal microvascular endothelial cells. **J. Immunol.**, v. 156, p. 2558-65, 1996.

HIRSCH, O. Polypen und Allergie. **Wein. Med. Wehnschr.**, v. 8, p.1461-2, 1931.

HOLOPAINEN, E.; MAKINEN, J.; PAAVOLAINEN, M.; PALVA, T.; SALO, O.P. Nasal polyposis. **Acta Otolaryngol.**, v.87, p.330-4, 1979.

- JACOBS, R. L.; FREDA, E. J.; CULVER, W. G. Primary nasal polyposis. **Ann. Allergy**, v. 51, p. 500-5, 1983.
- JAHNSEN, F.L.; BRANDTZAEG, P.; HAYE, R.; HARALDSEN, G. Expression of functional VCAM-I by cultured nasal polyp-derived microvascular endothelium. **Am. J. Pathol.**, v.150, p. 2113-23, 1997.
- JAHNSEN, F.L.; HARALDSEN, G.; AANESEN, J.P.; HAYE, R.; BRANDTZAEG, P. Eosinophil infiltration is related to increased expression of vascular cell adhesion molecule-I in nasal polyps. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.**, v.12, p. 624-32, 1995.
- JAMAL, A.; MARANT, A. G. D. Atopy and nasal polyposis. **J. Laryngol. Otol.**, v.101, p. 355-8, 1987.
- JANTTI-ALANKO, S.; HOLOPAINEN, E.; MALMBERG, H. Recurrence of nasal polyps after surgical treatment. **Rhinology (Supplement.)**, v.8, p.59-64, 1989.
- JENKINS, J. L. Blockade theory of polyp formation. **Laryngoscope**, v. 42, p. 703-4, 1932.
- KERN, R. A.; SCHNECK, H. P. Allergy a constant factor in the etiology of so-called mucous nasal polyps. **J. Allergy**, v.4, p. 485-97, 1933.
- LARSEN, K.; TOS, M. Clinical course of patients with primary nasal polyps. **Acta Otolaryngol (Stockh) Supplement.**, v.114, p.556-9, 1994.
- LARSEN, P.L.; TOS, M. Anatomic side of origin of nasal polyps: endoscopic nasal sinus surgery as a screening method for nasal polyps in an autopsy material. **Am. J. Rhinol.**, v. 10, p. 211-6, 1996.

- LIU, C.M.; SHUN, C.T.; CHENG, Y.K. Soluble adhesion molecules and cytokines in perennial allergic rhinitis. **Ann. Allergy Asthma Immunol.**, v.81, p. 176-80, 1998.
- MILLER, C.H.; PUDIACK, D.R.; HATEM, F.; LOONEY, R.J. Accumulation of interferon gamma-producing TH1 helper T cells in nasal polyps. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 111, p. 51-8, 1994.
- MILLER, F. F. Aspirin - induced bronchial asthma in sisters. **Ann. Allergy**, v. 29, p. 263-5, 1971.
- MIN, Y; LEE, C.H.; RHEE, C.; KIM, K.H.; KIM, C.S.; KOH, Y.; MIN, K.; ANDERSON, P.L. Inflammatory cytokine expression on nasal polyps in allergic and infectious rhinitis. **Acta Otolaryngol.**, v. 117, p. 302-6, 1997.
- MOLONEY, J. R. Nasal polyps, nasal polypectomy, asthma, and aspirin sensitivity. **J. Laryngol. Otol.**, v. 81, p. 837-46, 1977.
- MULLOL, J.; XAUBET, A.; GAYA, A.; ROCA-FERRER, J.; LÓPEZ, E.; FERNANDEZ, J.C.; FERNANDEZ, M.D.; PICADO, C. Cytokine gene expression and release from epithelial cells. A comparison study between healthy nasal mucosa and nasal polyps. **Clinical Exp. Allergy**, v. 5, p. 607-15, 1994.
- NACLERIO, R.M. Pathophysiology of perennial allergic rhinitis. **Allergy (Supplement.)**, v.52, p. 7-13, 1997.
- NONAKA, M.; NONAKA, R.; WOOLLEY, K.; ADELROTH, E.; MIURA, K.; OKHAWARA, Y.; GLIBETIC, M.; NAKANO, K.; O'BYRNE, P.; DOLOVICH, J.; JORDANA, M. Distinct immunohistochemical localization of IL-4 in human inflamed airway tissues. **J. Immunol.**, v.155, p. 3234-44, 1995.

- NORLANDER, T.; FUKAMI, M.; WESTRIN, K. M.; STIERNA, P.; CARLSÖÖ, B. Formation of mucosal polyps in the nasal and maxillary sinus cavities by infection. **Head Neck Surg.**, v.109, p. 522-9, 1995.
- OGINO, S.; HARADA, T.; OKAWACHI, I.; IRIFUNE, M.; MATSUNAGA, T.; NAGANO, T. Aspirin-induced asthma and nasal polyps. **Acta Otolaryngol. (Stockh.) Supplement.**, v. 430, p. 500-6, 1979.
- OHNO, I.; LEA, R.; FINOTTO, S.; MARSHALL, J.; DENBURG, J.; DOLOVICH, J.; GAULDIE, J.; JORDANA, M. Granulocyte/Macrophage Colony-stimulating Factor (GM-CSF) Gene Expression by Eosinophils in Nasal Polyposis. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.**, v.5, p. 505-10, 1991.
- OPPENHEIMER, E. H.; ROSENSTEIN, B. J. Differential pathology of nasal polyps in cystic fibrosis and atopy. **Lab. Invest.**, v. 40, p. 445-9, 1979.
- PEARSON, B. R. S. Hipersensitivity to aspirin. In: DIXON, A.; MARTIN, K. B., ed. **Salicylates**. London, J&A. Churchill, 1963, p.170.
- PETZELBAUER, P.; BENDER, J. R.; WILSON, J.; POBER, J.S. Heterogeneity of dermal microvascular endothelial cell antigen expression and cytokine responsiveness in situ and in cell culture. **J. Immunol.**, v.151, p. 5062-72, 1993.
- PROBST, L.; STONEY, P.; JENEY, E.; HAWKE, M. Nasal polyps, bronchial asthma and aspirin sensitivity. **J. Otolaryngol.**, v. 21, p. 60-5, 1992.
- ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. Immunology. 4.ed. Mosby, (St. Louis), 1996, p.89.

- ROTHEMBERG, M.E.; OWEN, W.F.JR; SIBERSTEIN, D.S.; WOODS, J.; SOBERMAN, R.J.; AUSTEN, K.F.; STEVENS, R.L. Human Eosinophils Have Prolonged Survival, Enhanced Functional Properties, and Become Hypodense when Exposed to Human Interleukin 3. **J. Clin. Invest.**, v. 81, p. 1986-92, 1988.
- SAMTER, M.;BECKER, E.L. Ragweed reagins in nasal secretions. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.65, p.140, 1947.
- SAMTER, M.; BEERS, R. F. Concerning the nature of intolerance to aspirin. **J. Allergy**, v. 40, p. 281-93, 1967.
- SCHENCK, N.L. Nasal polypectomy in the aspirin-sensitive asthmatic. **Trans. Am. Acad. Ophthalmol-Otolaringol.**, v.78, p.108-19, 1974.
- SCHLEIMER, R.P.; STERBINSKY, S.A.; KAISER, J.; BICKEL, C.; KLUNK, D.; TOMIOKA, K.; NEWMAN, W.; LUSCINSKAS, F.W.; GIMBRONE, M.A.JR.; McINTYRE, B.W.; BOCHNER, B.S. IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. **J. Immunol.**, v.148, p. 1086-92, 1992.
- SETTIPANE, G. A.; CHAFEE, F. H. Nasal polyps in asthma and rhinitis. . **J. Allergy Clin. Immunol.** , v. 59, p. 17-21, 1977.
- SETTIPANE, G. A.; KLEIN, D. E.; SETTIPANE, R. J. Nasal polyps. State of the art. **Rhinology**, v. 11, p. 33-6, 1991.
- SETTIPANE, G.A.; LUND, V.J.; BERSTEIN, J.M.; TOS, M. Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment. Rhode Island, Oceanside Publications, 1997. 97p

- SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica (para as ciências do comportamento): amostras independentes.** São Paulo, Editora McGraw-Hill do Brasil, 1975, p. 107-116.
- SIMON, H-U.; YOUSEFI, S.; SCHRANZ, C.; SCHAPOWAL, A.; BACHERT, C.; BLASER, K. Direct demonstration of delayed eosinophil apoptosis as a mechanism causing tissue eosinophilia. **J. Immunol.**, v. 158, p. 3902-8, 1997.
- SOKAL, R.; ROHLF, F. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research: Estimation and hypothesis testing.** San Francisco, W.H.Freeman and Co., p. 127-174, 1969
- SPECTOR, S.L.; WANGAARD, C.H.; FARR, R. Aspirin and concomitant idiosyncrasies in adult asthmatics patients. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 64, p. 500-6, 1979.
- SNEDECOR, W.; COCHRAN, G. **Statistical methods: the comparison of two samples; analysis of frequencies in one-way and two-way classifications.** Ames, The Iowa State University Press, 1982, p. 83-106.
- STEVENS, H.E.; BLAIR, N.J. Intranasal sphenoidectomy: 10-year experience and literature review. **J. Otolaryngol.**, v.17, p.254-8, 1988.
- SYMON, F.; WALSH, G.M.; WATSON, S.R.; WARDLAW, A.J. Eosinophil adhesion to nasal polyp endothelium is P-selectin-dependent. **J. Exp. Med.**, v. 180, p. 371-6, 1994.
- SZCEKLIK, A.; GRYGLEWSKI, R.J.; CZERNIAWSKA-MYSIK, G. Clinical patterns of hypersensitivity to nonsteroidal anti inflammatory drugs and their pathogenesis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 60, p. 276-84, 1977.

- TEPPER, R.I.; LEVINSON, D.A.; STANGER, B.Z.; CAMPOS-TORRES, J.; ABBAS, A.K.; LEDER, P. IL-4 Induces Allergic-like Inflammatory Disease and Alters T Cell Development in Transgenic Mice. **Cell**, v. 62, p. 457-67, 1990.
- TERADA, N.; KONNO, A.; FUKUDA, S.; YAMASHITA, T.; ABE, T.; SHIMADA, H.; YOSHIMURA, K.; SHIROTORI, K.; ISHIKAWA, K.; TOGAWA, K. Interleukin-5 Upregulates Intercellular Adhesion Molecule-1 Gene Expression in the Nasal Mucosa in Nasal Allergy but not in Nonallergic Rhinitis. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, v. 106, p. 139-45, 1995.
- TOS, M. The pathogenetic theories in formation of nasal polyps. **Am. J. Rhinol.**, v. 4, p. 51-56, 1990.
- VLEMING, M.; STOOP, A.E.; MIDDELWEERD, R.J.; DE VRIES, N. Results of endoscopic sinus surgery for nasal polyps. **Am. J. Rhinol.**, v.5, p.173-6, 1991.
- WALKER, C.; BODE, E.; BOER, L.; HANSEL, T.T.; BLASER, K.; VIRCHOW, J-C.Jr. Allergic and nonallergic asthmatics have distinct patterns of T-cells activation and cytokine production in peripheral blood and bronchoalveolar lavage. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 146, p. 109-15, 1992.
- WEBER, R.; HOFFMAN, M.; NELSON, H.S. Incidence of bronchoconstriction due to aspirin, azo dyes, non azo dyes and preservatives in a population of perennial asthmatics. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v.64, p. 32-7, 1979.
- WEILLE, F. L. Further experiments in the viral theory of nasal polyp etiology. **Ann. Allergy**, v. 24, p. 549-51, 1966.

WIDAL, M.F.; ABRAMI, P.; LERMOYEZ, J. Anaphylaxie et idiosyndraise. **Press Med.**, v.30, p.189, 1922.

WIETHE, C. Polyposis Nasi auf allergischer Grundlage. **Monatschr. Ohrenh.**, v.66, p. 1378-82, 1932.

WONG, D.T.W.; ELOVIC, A.; MATOSSIAN, K.; NAGURA, N.; McBRIDE, J.; CHOU, M.Y.; GORDON, J.R.; RAND, T.H.; GALLI, S.J.; WELLER, P.F. Eosinophils from patients with blood eosinophilia express transforming growth factor β . **Blood**, v.78, p. 2702-7, 1991.

YAMASHITA, T.; TSUJI, H.; MAEDA, N.; TOMODA, K.; KUMAZAWA, T. Etiology of nasal polyps associated with aspirin-sensitive asthma. **Rhinology**, v. 8, p. 15-24, 1989.

YAMAGUSHI, Y.; SUDA, T.; OHTA, S.; TOMINAGA, K.; MIURA, Y.; KASAHARA, T. Analysis of the survival of mature human eosinophils: interleukin-5 prevents apoptosis in mature human eosinophils. **Blood**, v.78, p. 2542-7, 1991.

ZANGRILLI, J.G.; SHAVER, J.R.; CIRELLE, R.A.; CHO, S.K.; GARLISI, C.G.; FALCONE, A.; CUSS, F.M.; FISH, J.E.; PETERS, S.P. sVCAM-1 levels after segmental antigen challenge correlate with eosinophil influx, IL-4 and IL-5 production, and the late phase response. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v.151, p. 1346-53, 1995.

ZUCKERKANDL, E. Normale und pathologische Anatomie der Nasenhohle und ihrer pneumatischen Anhang. **Wilhelm Braumuller**, v.2, p.222, 1882.

ZUCKERKANDL, E. A discussion on the aetiology of mucous polyp. **Br. Med. J.**, v.2, p. 476, 1892.