



## **EL CONSUMO DE TABACO EMPEORA LA INFLAMACIÓN NASAL Y LA CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA (RA)**

Se ha descrito que la exposición al humo de tabaco genera un aumento de parámetros de atopía y de síntomas de rinitis. Pero también se reportó que los síntomas nasales y la calidad de vida en pacientes fumadores con RA no eran significativamente distintos. Ante esta dualidad, se propuso evaluar calidad de vida y parámetros inflamatorios de atopía, entre pacientes con RA fumadores activos y no fumadores.

### **Material y Métodos:**

Estudio de corte transversal en pacientes adultos voluntarios de ambos sexos, fumadores y no fumadores con RA, confirmada por Prick test, y con valoración funcional respiratoria por espirometría. Se confirmó la condición de fumador activo y no fumador con mediciones de cotinina en saliva. Se compararon los niveles de afectación de calidad de vida entre grupos con cuestionario Mini RQLQ. Se evaluaron marcadores inmunológicos en suero y en lavados nasales (IgE, IL 4, IL 5, IL 13, IL 17, IL 33). Se incorporó un tercer grupo para análisis séricos, con una muestra de fumadores pasivos. La evaluación estadística incluyó Test T de Student y Mann Whitney U (más Anova 2 vías). Para evaluación de 3 grupos, se utilizó Kruskal Wallis (Dunn's post test). Se consideró significativo a  $P < 0.05$ .

### **Resultados:**

Se estudiaron 22 pacientes por grupo, edad media 37.3 años (fumadores) y 30.4 (no fumadores) sin diferencia significativa, como tampoco en sexo y sensibilidad a alérgenos. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de cotinina salival ( $P < 0.0001$ ) y función pulmonar en VEF1 % ( $P = 0.0447$ ) y VEF1/FVC % ( $P = 0.0172$ ). En las evaluaciones de interleucinas se obtuvieron resultados francamente representativos con IgE e IL 33 en suero y lavado nasal, y con IL 13 en suero e IL 17 en lavado nasal. El único parámetro estadísticamente significativo correspondió a IL 33 en suero ( $P < 0.001$ ), mostrando una notable tendencia en lavado nasal. No hubo diferencias significativas en los parámetros de calidad de vida.

### **Conclusiones:**

Los pacientes con RA que fuman activamente no demuestran un empeoramiento, tanto en su calidad de vida como en los parámetros inflamatorios atópicos en general, respecto de los no fumadores. Esta similitud podría explicarse por la evidencia de una señal de alarma reducida (IL 33), lo cual se traduce en consecuencias nocivas, tal como la función pulmonar disminuida demostrada en este trabajo, y su inexorable progresión en caso de mantener el consumo de tabaco.

**Palabras clave:** Rinitis alérgica – Tabaco – Inflamación – Calidad de vida.

## **Tobacco smoking impairs nasal inflammation and quality of life in Allergic Rhinitis' patients (AR)**

It has been described that exposure to tobacco smoke causes increased parameters of atopy and rhinitis symptoms. But it was also reported that nasal symptoms and quality of life in smokers with Allergic Rhinitis (AR) were not significantly different. Given this duality, it was proposed to evaluate quality of life and inflammatory parameters of atopy among active smokers and nonsmokers having AR.

### **Material and methods:**

Cross-sectional study in adult volunteers of both sexes, smokers and nonsmokers with AR confirmed by Prick test, and functional respiratory evaluation by spirometry. Status of active smoking and non-smoking was confirmed by salivary cotinine measurements. Levels of quality of life between groups were compared using Mini-RQLQ questionnaire. Immunological markers in serum and nasal washes (IgE, IL-4, IL 5, IL 13, IL 17, IL 33) were evaluated, and a third group was incorporated, with a sample of passive smoking for serum analysis. The statistical analysis included Student T test and Mann Whitney U (Anova 2-way). For evaluation of 3 groups, Kruskal Wallis (Dunn's post test) was used. Values of  $P < 0.05$  were considered significant.

### **Results:**

Twenty two patients per group, mean age 37.3 years (smokers) and 30.4 (non-smoking) were studied, with no significant difference, neither in age or sex, nor in sensitivity to allergens. Statistically significant differences in salivary cotinine levels ( $P < 0.0001$ ) and lung function FEV1% ( $P = 0.0447$ ) and FEV1 / FVC% ( $P = 0.0172$ ) were found.

Regarding evaluations of interleukins, frankly representative results were obtained with IgE and IL 33 in serum and nasal lavage, serum IL 13 and IL 17 in nasal lavage. The only statistically significant parameter corresponded to IL 33 in serum ( $P < 0.001$ ), showing a notable trend in nasal lavage. There were no significant differences in the quality of life parameters.

### **Conclusions:**

Active smokers AR patients do not show a worsening in both their quality of life and atopic inflammatory parameters, compared to non-smokers. This similarity could be explained by the evidence of a reduced signal alarm (IL 33), which results in harmful consequences, such as decreased lung function demonstrated in this work, and its inexorable progression if they maintain the consumption of tobacco.

**Keywords:** Allergic Rhinitis – Tobacco – Inflammation – Quality of Life.



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA.  
FACULTAD DE MEDICINA

**EL CONSUMO DE TABACO EMPEORA LA  
INFLAMACIÓN NASAL Y LA CALIDAD DE VIDA EN  
PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA**

Sr. Méd. René Maximiliano Gómez

Tesis Doctoral

- 2016 -



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA.  
FACULTAD DE MEDICINA

# **EL CONSUMO DE TABACO EMPEORA LA INFLAMACIÓN NASAL Y LA CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA**

Autor

Sr. Méd. René Maximiliano Gómez



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA.  
FACULTAD DE MEDICINA

# **EL CONSUMO DE TABACO EMPEORA LA INFLAMACIÓN NASAL Y LA CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA**

**Director de Tesis**

Prof. Dr. Víctor Hugo Croce

Dr. Carlos E. Baena-Cagnani<sup>‡</sup>



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA.  
FACULTAD DE MEDICINA

# **EL CONSUMO DE TABACO EMPEORA LA INFLAMACIÓN NASAL Y LA CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA**

## **Comisión Asesora de Tesis Doctoral:**

Prof. Dr. Juan C. Muiño

Prof. Dr. Mario E. Zernotti

Prof. Dr. Rubén Sambuelli





## **Dedicatoria**

A mis hijos y esposa, a quienes amo más que a nadie en mi vida.

A mis padres y hermana, los responsables de este logro. Todo mi amor y gratitud eternos hacia ellos.

A la memoria de mi tío, mi incentivo para ser médico.

A la memoria del Prof. Dr. Carlos E. Baena-Cagnani. Su luz sigue iluminando...

## **Agradecimientos**

Al Prof. Dr. Víctor Hugo Croce, quien me inspiró el interés a seguir la Especialidad de Alergia e Inmunología, el Director de esta Tesis.

Al Prof. Dr. Juan Carlos Muiño, mi Maestro.

A la Dra. Bioq. Olga Sánchez Negrette, titular de Inmunología en Universidad Católica de Salta, quien realizó la evaluación de todas las muestras de pacientes desinteresadamente.

Al Prof. Dr. Mario E. Zernotti, por sus críticas y estímulo constante.

A la Universidad Católica de Salta, donde se realizaron dichos análisis.

A la Universidad Católica de Córdoba, de la cual siento el orgullo de pertenecer.

A cada uno de los pacientes que participaron en este trabajo.

## **ACRÓNIMOS y ABREVIATURAS**

ARIA: Allergic Rhinitis and its Impact in Asthma, por sus siglas en inglés

AINEs: Anti Inflamatorios No Esteroideos

DAP: Desvío Absoluto Promedio, de Mediana

Dr: Doctor

DS: Desvío Estándar de la Media

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

FeNO: Fracción exhalada de Óxido Nítrico

FEV1=VEF1: Volumen Espiratorio Forzado en 1er segundo

FVC=CVF: Capacidad Vital Forzada

FEV1/FVC %: Relación FEV1/FVC en porcentaje

IC 95%: Intervalo de Confianza 95%

IgE: Inmunoglobulina E

IL: Interleucinas

ILC2: Células Linfoides Innatas de tipo 2, por sus siglas en inglés

kU: kilo Unidades

Li Th2: Linfocitos T Helper tipo 2

LT: Leucotrienos

MCP 1: Proteína Quimiotáctica de Monocitos 1, por sus siglas en inglés

ml: ml = mililitros

Ng: ng = nanogramos

Pg: pg = picogramos

Prof: Profesor.

RA: Rinitis Alérgica

RCA: Rino-Conjuntivitis Alérgica

RQLQ: Sigla en inglés referida a Cuestionario de Calidad de Vida en Rinitis (Rhinitis Quality of Life Questionnaire). Mini-RQLQ corresponde a su versión simplificada.

TGFb: Factor de Crecimiento Transformante Beta, por sus siglas en inglés

TSLP: Linfopoyetina Estromal Tímica, por sus siglas en inglés

UI: unidades internacionales

## PRÓLOGO

La Rinitis Alérgica (RA) es la enfermedad alérgica más frecuente en cualquier edad y región que se considere, llegando a afectar a uno de cada 3 personas en países vecinos o uno de cada 5 personas en el nuestro (1). Quienes lo padecen manifiestan sus molestias por los accesos de estornudos, la picazón en la nariz y la mucosidad consecuente, que alterna con la reiterada obstrucción nasal; todos son síntomas característicos de la RA (2).

Si bien presentan diversos grados de afectación en cuanto a la severidad, su importancia radica en el alto impacto que tiene en la calidad de vida, ya que interfiere en las actividades diarias, altera el rendimiento escolar o laboral y afecta la calidad del sueño y descanso (3). No obstante suele ser considerada una enfermedad trivial, y los pacientes a menudo generan una mayor demanda en la atención médica y de tratamientos más efectivos para su control (4).

Los factores que influyen en la expresión de la enfermedad de los pacientes son múltiples (5) y se analizan en la introducción del presente trabajo, siendo relevantes los aspectos ambientales en los que podemos intervenir activamente para prevención del desarrollo y la gravedad de la afectación. Sobre los factores genéticos no es posible en la actualidad. Los elementos a los cuales se sensibiliza el paciente pueden identificarse con exactitud mediante pruebas cutáneas o en muestras séricas, y evitar la exposición en ocasiones, o inmunomodular con vacunas terapéuticas.

Respecto de los elementos ambientales que tienen un rol significativo, nos hemos focalizado en los elementos del interior de la vivienda sobre los que podemos evaluar e intervenir para prevención, tal como lo expresáramos.

Al respecto, se enumeran diversos estudios que evidencian una controversia sobre el impacto del humo de tabaco sobre las enfermedades alérgicas y de la RA en particular. Al no existir consenso, y con datos propios que contribuyen a dicho disenso, se generó la necesidad de corroborar con parámetros objetivables, el compromiso real del tabaquismo en la inflamación y la calidad de vida de los pacientes con RA.

Por ello hemos proyectado una evaluación de sensibilidad a alérgenos inhalantes para corroborar diagnóstico en pacientes con clínica compatible, de calidad de vida, de muestras de sangre como parámetro sistémico, de lavado nasal como parámetro local, de función pulmonar y detección de metabolitos de nicotina en saliva.

Hemos tropezado con la realidad de nuestro país y de mi provincia en particular, respecto del acceso a materiales y elementos de tecnología, que demoraron largamente el análisis de las muestras obtenidas en las evaluaciones de los pacientes. Y se describe luego que hubo algunos elementos que no brindaron el rendimiento que esperábamos, pero otros que nos brindaron información sumamente relevante, lo que nos lleva a concluir con elementos objetivables sobre nuestra hipótesis inicial.

No olvidemos que tenemos la posibilidad de prevenir el impacto del consumo de tabaco, que afecta cualquiera de los aspectos sanitarios que consideremos (ver por ejemplo [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)). Las enfermedades prevenibles, como las enfermedades crónicas, se relacionan en muchos casos con el comportamiento humano, y debemos ayudar como profesionales médicos en la tarea de evitar sufrimientos.

Seguramente no podremos tener la posibilidad de curar con simplemente imponer las manos, como lo hacía Jesús (Mateo 8:14-15); pero sí podemos seguir investigando para mejorar la salud nuestros pacientes, brindando todo de nuestra parte.

Es el espíritu del presente trabajo.

## Índice General

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....	1
Hipótesis.....	8
Objetivos primarios.....	8
Objetivos secundarios .....	8
JUSTIFICACIÓN, METODOLOGÍA Y MATERIAL DE ESTUDIO.....	9
a) JUSTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES EVALUADAS .....	9
b) METODOLOGÍA Y MATERIAL DE ESTUDIO.....	13
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES .....	31
a) DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS .....	31
b) CONCLUSIONES.....	37
BIBLIOGRAFÍA .....	38
ANEXOS .....	48

## Índice de tablas

Tabla 1: Datos demográficos comparativos. .... 20

Tabla 2: Sensibilización a aero-alergenos por Prick, en pacientes con RA  
fumadores y no fumadores..... 20



## Índice de gráficos

Gráfico 1. Niveles de IgE sérica (kU/L) por Elisa, en pacientes con RA fumadores, no fumadores, y controles de fumadores pasivos sin Rinitis Alérgica (No RA). .....	21
Gráfico 2. Niveles de IgE en Lavado Nasal (kU/L) en pacientes con RA fumadores y no fumadores.....	22
Gráfico 3. Niveles séricos de IL 13 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.....	22
Gráfico 4. Niveles séricos de IL 33 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.....	23
Gráfico 5. Niveles de IL 33 (pg/mL) en Lavado Nasal de pacientes con RA fumadores y no fumadores.....	23
Gráfico 6. Niveles séricos de IL 4 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.....	24
Gráfico 7. Niveles séricos de IL 5 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.....	24
Gráfico 8. Niveles séricos de IL 17 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.....	25
Gráfico 9. Niveles de IL 17 (pg/mL) en Lavado Nasal de pacientes con RA fumadores y no fumadores (RA fumadores n= 13, RA No fumadores n= 20). .	25
Gráfico 10. Niveles de Cotinina (ng/mL) en pacientes con RA fumadores y no fumadores .....	26
Gráfico 11. Valores absolutos (en litros) de VEF1 en pacientes con RA fumadores y no fumadores.....	27
Gráfico 12. Valores en % de VEF1 en pacientes con RA fumadores y no fumadores. ....	27
Gráfico 13. Valores absolutos (en litros) de CVF en pacientes con RA fumadores y no fumadores.....	28
Gráfico 14. Valores en % de CVF en pacientes con RA fumadores y no fumadores. ....	28
Gráfico 15. Estudio de la relación VEF1/CVF en %, en pacientes con RA fumadores y no fumadores.....	29
Gráfico 16. Estudio de la relación VEF1/CVF en valores absolutos, de pacientes con RA fumadores y no fumadores.....	29

Gráfico 17. Valoración de afectación en la Calidad de Vida (Mini RQLQ) en  
pacientes con RA fumadores y no fumadores..... 30

---

## **INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

La Rinitis Alérgica es una enfermedad crónica de las vías aéreas superiores, siendo la más prevalente de las enfermedades alérgicas a nivel global. La población afectada varía por regiones desde un 12% hasta 40%, con índices cercanos al 20% en nuestro país según la provincia considerada (6,7).

A pesar de las diferencias en su grado de severidad, en todos los casos tiene un impacto negativo no sólo en la calidad de vida sino también en la disminución del rendimiento laboral/escolar y calidad de sueño (8,9). La importancia de este punto ha llevado a la guía internacional más relevante para la enfermedad y la primera guía basada en la evidencia, la guía ARIA (*Allergic Rhinitis and its Impact in Asthma*, por sus siglas en inglés), a categorizar la severidad de esta enfermedad de acuerdo al impacto en la Calidad de Vida (10).

En consecuencia, es necesario conocer los elementos que contribuyen tanto a la expresión de la patología como al grado de severidad de la misma. Los factores involucrados son múltiples, pudiendo diferenciarse en personales\* y del medio ambiente\*\*.

\*El componente genético y familiar en la patología alérgica tiene un rol preponderante (11,12), pero es un factor no modificable desde el punto de vista preventivo o terapéutico en la actualidad.

Se debe discriminar el rol de una condición personal determinada (edad, hormonal, otras patologías) que pudiera influir sobre signos y síntomas de RA (13).

---

\*\*Los factores ambientales asociados a la expresión y severidad de la RA se pueden dividir arbitrariamente en:

- 1) Alérgenos sensibilizantes inhalantes, del exterior y del interior de viviendas;
- 2) Misceláneos (polución, ocupacional, alimentos, medicamentos).

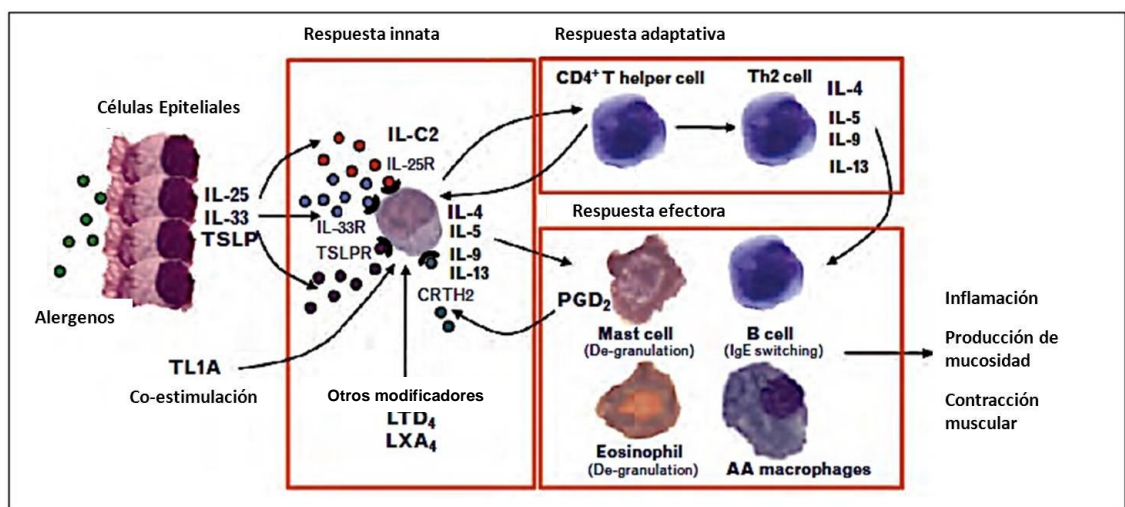
Los sensibilizantes ocupacionales involucran a un grupo reducido y seleccionado de pacientes expuestos, al igual que ciertos alimentos (14-15). Algunos pacientes presentan síntomas de rinitis por el consumo de determinados medicamentos (ejemplo: anti-hipertensivos), debiendo diferenciarse de las Rinitis No Alérgicas, como la Rino-Sinusitis Crónica con o sin Poliposis asociada a la intolerancia a Anti Inflamatorio No Esteroideos (AINEs), y que dio origen a una entidad específica conocida como Enfermedad Respiratoria asociada a AINEs (16).

En contraposición a los casos particulares, la generalidad de los pacientes con RA están expuestos a los alérgenos inhalantes y a los polutantes.

La sensibilidad a alérgenos ambientales es condición necesaria, y forma parte de la definición de la enfermedad. La RA se manifiesta con estornudos en salva, congestión o bloqueo alternante, prurito y secreción nasal sero-mucosa, a partir de un mecanismo mediado por Inmunoglobulina E (IgE), ante la exposición a dichos alérgenos (17). Los ácaros de polvo doméstico son los sensibilizantes más comunes en nuestro medio (del interior de las viviendas), seguido de los pólenes de gramíneas (del exterior) y de epitelios de animales que conviven con las personas en sus domicilios (18).

En la figura a continuación se representa el inicio de la reacción epitelial ante la exposición antigénica, generando la activación de las células linfoides innatas de tipo 2 (ILC2) en mucosa y la secreción de citocinas de perfil atópico Th2, con la consecuente progresión de la cascada inflamatoria alérgica por sus efectos sobre mastocitos, macrófagos, eosinófilos y Linfocitos T CD4+. El descubrimiento a nivel tisular de un nuevo tipo de células productoras de citocinas Th2, las ILC2, explican gran parte del hallazgo de estos mediadores en los tejidos afectados en la inflamación alérgica (19).

Se destaca el rol de la IL 33 en el inicio de la cascada inflamatoria, describiendo también el resto de mediadores y células involucradas en la inflamación alérgica Th2. Se ha reportado también que la IL 33 tiene una mayor actividad quimiotáctica para las células ILC2 en piel que la TSLP, y además estas ILC2 secretan citocinas de tipo Th2 tales como IL 4, IL 5 e IL 13 ante el estímulo de IL 33 pero no en respuesta a TSLP o IL 25 exclusivas, a pesar que estas últimas actúan de manera sinérgica al inicio de la cascada inflamatoria alérgica (19).



---

Además de los alérgenos, los contaminantes ambientales también pueden dividirse en externos y del interior. Los externos dependen de la exposición al material particulado originado por la polución industrial y automovilística de cada región o ciudad, y no pueden generalizarse a todo tipo de población. Su importancia radica en que este material particulado, y el ozono a nivel del suelo, impacta negativamente sobre el proceso inflamatorio respiratorio pero inclusive pueden aumentar la sensibilización a alérgenos (20).

Los elementos contaminantes del interior de las viviendas comprenden a la biomasa, las endotoxinas y el humo por el consumo activo de tabaco o por exposición pasiva (21). Aunque muy esporádicamente, en poblaciones rurales de nuestro medio aún existe exposición a biomasa que resulta de la combustión de carbón o leña, y resulta fácilmente identificable cuando se lo utiliza en el interior de las viviendas (22). Las endotoxinas pudieran tener un rol protector sobre el desarrollo de atopía como también pro-inflamatorio, dependiendo del momento de exposición y la característica genética de cada paciente sobre sus receptores para las mismas; por estos motivos no existe consenso sobre la magnitud de sus efectos (23).

Es bien conocido que el tabaco es perjudicial para diferentes sistemas del organismo, afectando por ejemplo a nivel cardiovascular con infarto de miocardio (24), a nivel cerebral con accidentes cerebro-vasculares (25), y a nivel respiratorio provocando no sólo cáncer de pulmón (26) sino alterando la morfología y el patrón inflamatorio en el asma bronquial (27), o induciendo el desarrollo de asma en pacientes con Rinitis Alérgica que fumaban activamente, de manera dosis dependiente (28).

---

Focalizamos entonces en el efecto del humo de tabaco sobre la presencia y severidad de la Rinitis Alérgica.

Se ha reportado el efecto de la exposición al tabaco en biopsias nasales de fumadores y no fumadores, donde se describe que los primeros presentan una diferencia significativa de hiperplasia de células caliciformes y engrosamiento del epitelio de la mucosa nasal, con aumento significativo en la presencia de neutrófilos y macrófagos, y alteración en la permeabilidad epitelial y el *clearance* muco-ciliar. Estas modificaciones inflamatorias modifican además el microbioma nasal (29-30).

Se ha descrito en pacientes con RA estacional, sensibles a pólenes y en época de polinización, un aumento de Leucotrienos B4 (LT B4) en muestras de lavado nasal y en aire exhalado condensado, con disminución de la fracción exhalada de óxido nítrico (FeNO) si son fumadores activos (31). Estos hallazgos son indicativos de una tendencia inflamatoria de tipo neutrofílico.

Orientado a las enfermedades atópicas respiratorias, en un modelo experimental de asma alérgica en ratones se encontró que la exposición al humo de tabaco provocó una disminución de citocinas implicadas en los mecanismos atópicos IgE mediados, tales como Interleucina 4 (IL 4), IL 5, IL 13, IL 25 y eotaxina, reduciendo significativamente la infiltración eosinofílica y la expresión de citocinas de origen linfocitario T helper 2 (Li Th2), características del asma alérgico (32). Si estos hallazgos fueran aplicables a seres humanos, los fumadores podrían tener menos expresión de alergias que los no fumadores.

---

En un estudio de corte transversal sobre más de mil pacientes adultos con RA, que comparaba fumadores versus no fumadores, no se pudo encontrar diferencias significativas en la severidad de síntomas nasales y en la afectación de la calidad de vida (33). Otra evaluación que analizaba el efecto conjunto de exposición al humo de tabaco y a alérgenos del interior de las viviendas en niños, tampoco pudo encontrar una influencia relevante del tabaco en la sensibilización a alérgenos, luego de ajustar el análisis por la concentración domiciliar de estos últimos y de la historia familiar de RA (34).

Sin embargo, una revisión sistemática y meta análisis sobre el efecto de la exposición al humo de tabaco en niños, encuentra un aumento significativo en parámetros de atopía tales como niveles de IgE total, IgE específica a alérgenos y test cutáneos positivos por Prick (35). La exposición al humo de tabaco puede influenciar la inmunidad innata hacia un patrón de enfermedades respiratorias de tipo Th2 característico de atopía, e incrementar el riesgo de sensibilización a alérgenos mediada por IgE; además puede condicionar un empeoramiento en síntomas y severidad de asma y rinitis (36).

Un estudio sobre casi 15 mil adolescentes europeos, describe una asociación estadística muy significativa entre fumar activamente y la presencia de Rino-Conjuntivitis Alérgica (RCA), inclusive de síntomas severos de RCA (37). La identificación de RCA es el parámetro de detección más fidedigno para RA en estudios epidemiológicos.

En un estudio de corte transversal en población de adolescentes de nuestro medio, se ha encontrado al tabaquismo activo y pasivo como un factor de



---

riesgo significativo para la presencia de síntomas actuales de Rinitis y Asma (38).

Ante la falta de consenso frente a las evidencias actuales, se considera necesario definir con evaluaciones objetivas de parámetros inmuno-inflamatorios, funcionales respiratorios y de calidad de vida, el efecto del consumo de tabaco en la vida real de pacientes que padecen RA versus pacientes no fumadores.

---

## **Hipótesis**

El consumo activo de tabaco empeora la inflamación nasal y la calidad de vida en los pacientes con RA.

## **Objetivos primarios**

1. *Comparar entre pacientes con RA Fumadores y No Fumadores:*

- a) *Diferencias en parámetros inmuno-inflamatorios séricos (sistémicos).*
- b) *Diferencias en parámetros inmuno-inflamatorios en lavado nasal (locales).*
- c) *Diferencias en valoración objetiva de calidad de vida.*

## **Objetivos secundarios**

1. *Comparar entre pacientes con RA Fumadores y No Fumadores:*

- a) Similitud en sensibilidad a alérgenos inhalantes.
- b) Similitud en función pulmonar.
- c) Similitud en niveles de IgE sérica y en lavado nasal.
- d) Diferencias en niveles de cotinina salival.
- e) Comparar parámetros inmuno-inflamatorios séricos (sistémicos) de los 2 grupos anteriores contra un grupo de Fumadores Pasivos.

---

## ***JUSTIFICACIÓN, METODOLOGÍA Y MATERIAL DE ESTUDIO***

### **a) JUSTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES EVALUADAS**

a.1) Edad y Sexo: los parámetros demográficos son necesarios para comparar grupos similares, a fin de evitar sesgos en la interpretación de los resultados.

a.2) Sensibilidad a Alérgenos: condición necesaria para diagnóstico de RA (2, 17), tal como se describió. Se busca una sensibilidad similar en los grupos analizados, a fin de evitar sesgos también y que pudieran atribuirse a diferentes exposiciones a alérgenos sensibilizantes, con la consiguiente diferencia en la inducción de inflamación y severidad de síntomas.

a.3) Función pulmonar: evaluación objetiva por espirometría, para detección de signos obstructivos bronquiales, con posibilidad de encontrar diferencias al comparar un grupo con consumo de tabaco frente a un no fumador. En el caso de encontrarse, poder intervenir al respecto. Recordar que los pacientes con RA que fuman, tienen un riesgo mayor, dosis-dependiente, de desarrollar asma (28).

Se requiere de los parámetros demográficos de peso y altura exclusivamente para estos fines.

a.4) Cotinina salival: permite detectar de manera no invasiva, la presencia del principal metabolito de la nicotina del tabaco. El auto-reporte de la condición de fumador suele ser preciso en algunas comunidades (39),

---

pero consideramos conveniente corroborar con una medición objetiva. Una revisión sistemática evalúa el rendimiento de mediciones séricas, urinarias y en saliva de los autoreportados fumadores, informando un rendimiento notable en las mediciones en saliva. A su vez facilita el proceso de objetivar la condición de fumador, por la facilidad de obtener saliva en comparación con orina (40).

La correlación del análisis en saliva con otras muestras orgánicas y su rendimiento por técnica de Elisa, han sido evaluadas hace más de 2 décadas (41, 42).

a.5) Calidad de Vida: se detalló previamente la importancia de su consideración, al punto de ser el parámetro de categorización de severidad en la RA. Se utiliza el cuestionario de Juniper abreviado, que ha demostrado mediciones consistentes y la misma estructura que el cuestionario original, pero que resulta más eficiente en trabajos tales como los de corte transversal como el que nos ocupa (43). Es completado por el paciente, y ha sido validado al español; se utiliza sólo con autorización de autor, la cual se obtuvo previamente.

a.6) IgE: desde su descubrimiento, el aumento de sus niveles se asocia a la presencia de enfermedades atópicas (44, 45). Los valores séricos de referencia dependen de la metodología de evaluación de laboratorio, pero hay consenso acerca de valores séricos en adultos superiores a las 100 Unidades Internacionales por mililitro (UI/mL).

Se conoce que pudiera existir producción local de IgE en el órgano afectado (46, 47), por lo cual es uno de los parámetros a evaluar en las muestras obtenidas de lavado nasal, además de las muestras séricas.

La IgE específica frente a un determinado alérgeno es una fracción de esta IgE total, la que nos permite individualizar la sensibilidad del paciente,

---

y permite confirmar el diagnóstico de RA al correlacionar dicha sensibilidad con la clínica del paciente (48, 49).

a.7) IL 4 - IL 5 - IL 13: La inflamación persistente junto a los cambios tisulares observados en la RA tienen su base en el infiltrado inflamatorio característico descrito elegantemente en la tesis del Prof. Dr. Víctor H Croce (50). La inflamación alérgica se ha caracterizado por un patrón linfocitario particular, de acuerdo al perfil de citocinas que liberan los linfocitos involucrados en este mecanismo inflamatorio, y que difiere fundamentalmente del patrón inflamatorio infeccioso y del autoinmune, que se conoce como el paradigma Th1 y Th2 (51). Las citocinas involucradas en el fenómeno inflamatorio atópico responde con un patrón de citocinas que tienen origen en los linfocitos de tipo Th2, siendo las más representativas las IL 4, 5 y 13 (51, 52).

Se describió en la introducción a las ILC2 como un nuevo tipo de células productoras de citocinas Th2, que explican la presencia de sus interleucinas en los tejidos afectados en la inflamación alérgica (19).

Se investigó los niveles séricos (sistémico) y en lavado nasal (local) de estas citocinas. La presencia de dichas proteínas son ínfimas, cuantificándose en picogramos por mililitro. La técnica de detección con los reactivos que fueron factibles de obtener es por método de ELISA, con patrones estandarizados de acuerdo a registro del proveedor (Peprotech USA, [www.peprotech.com](http://www.peprotech.com)), y realizando los procedimientos siguiendo estrictamente las directrices provistas con cada producto.

a.8) IL 17: adicionalmente a los linfocitos con producción de citocinas de perfil Th1 y Th2, se descubrieron los Th17, así llamados por su producción de IL 17. Esta última se ha encontrado involucrada en enfermedades auto-inmunes, pero también se la propuso como marcador de severidad de RA, al haberse reportado valores séricos significativamente incrementados en

---

pacientes con síntomas persistentes moderados-severos. Tiene el potencial de influir tanto en la infiltración monocitaria como polimorfonuclear (53, 54).

Al igual que con las anteriores, se realizaron determinaciones séricas y en lavado nasal siguiendo los mismos conceptos, y de mismo proveedor.

a.9) IL33: pertenece a la familia de IL1 y es conocida como "alarmina", tienen su origen principal en las células epiteliales, aunque también tiene otras fuentes celulares como macrófagos, células dendríticas y keratinocitos. Este término alarmina se debe a que es secretada ante estímulos nocivos exógenos de cualquier índole (alérgenos), o por necrosis celular o injuria tisular, y junto a TSLP e IL25 inicia una activación linfocitaria preferencial de LiTh2 a través de sus receptores ST2, aunque también puede actuar directamente sobre mastocitos, basófilos, células dendríticas y eosinófilos. Su rol fundamental no estaría en la sensibilización inicial a alérgenos, sino como el inicio de la cascada inflamatoria atópica ante cada exposición al agente sensibilizado (55).

En un modelo experimental de RA sensible a ácaros de polvo, se demostró que la IL 33 es fundamental en la inducción del mecanismo inicial Th2, no así la IL 25 (56).

Se han reportado valores séricos elevados en pacientes atópicos (55), aunque no así en un estudio que solamente encuentra niveles elevados en secreción nasal de pacientes con síntomas exacerbados de AR (57).

Tal como las IL anteriores, se hicieron determinaciones séricas y en lavado nasal, con reactivos de mismo proveedor y siguiendo estrictamente sus directrices.

---

## **b) METODOLOGÍA Y MATERIAL DE ESTUDIO**

b.1) TIPO DE ESTUDIO Y POBLACIÓN: Estudio de corte transversal, comparativo, de dos grupos, caso-control 1:1.

Los pacientes mayores de edad y ambos sexos, fueron invitados a participar según presentaran signos y síntomas indicativos de la patología en estudio, al momento de ser asistido por el investigador, en el Instituto Médico Alas (Salta), con autorización de la Dirección Médica de dicha institución.

Ambos grupos incluyen pacientes con diagnóstico clínico de RA por especialista, más confirmación de sensibilidad a uno o más alérgenos inhalantes por Prick test. El tiempo de evolución mínimo de la enfermedad fue de 1 año, sin haber recibido corticoides nasales o sistémicos en los últimos 6 meses, sin inmunoterapia con alérgenos en los últimos 3 años, y sin tratamiento con anti histamínicos mayor a 15 días continuos en los últimos 30 días. Para ser evaluados con los procedimientos necesarios, no debían tener signos o antecedentes de infección respiratoria en las últimas 4 semanas.

Todos los procedimientos con pacientes se efectuaron por un único operador (tesista) en la institución referida, y todas las muestras evaluadas fueron realizadas por una única operadora (Dra. Bioquímica OSN) en los laboratorios de la Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias (Universidad Católica de Salta).

Previo a cualquier procedimiento, se obtuvo consentimiento informado de cada participante. Dicho consentimiento, luego de presentado y aprobado por Director y Tribunal de Tesis, fue sometido al Comité de Bioética del Colegio de Médicos de la Provincia de Salta y aprobado, ámbito donde se llevó adelante la evaluación y domicilio de los pacientes participantes.

---

b.2) ANÁLISIS ESTADÍSTICO: Todas las variables estudiadas son numéricas continuas, en 2 grupos cuya diferencia es la condición de fumador. Para las muestras séricas se tomaron 3 grupos (RA fumador, RA no fumador y No RA fumador pasivo).

El sexo se tomó como 2 categorías, la sensibilidad a alérgenos como número de mono y poli-sensibilizados y en su total, siendo todos positivos al menos a un alérgeno.

Se obtuvo Media e Intervalo de Confianza del 95% más Desvío Estándar en los resultados con muestras homogéneas sin dispersión, y Mediana en las evaluaciones con dispersión evidente o escaso nivel de detección.

El análisis estadístico para las variables continuas se realizó con Test T de Student para datos homogéneos no apareados, y Mann Whitney U para muestras no paramétricas por la heterogeneidad de las varianzas, más Anova 2 vías. Esta metodología resulta útil cuando hay diferencias en el tamaño de muestras, y cuando no hay seguridad de que la muestra tenga una distribución normal (58). Para la evaluación de las muestras séricas de 3 grupos, se utilizó Kruskal Wallis (incluyendo Dunn´s post test).

En todos los casos se utilizó sistema computado de cálculos estadísticos en línea ([www.statpages.org](http://www.statpages.org)).

Se acepta como significativo todos los resultados con  $P < 0.05$ .

El cálculo de muestra necesaria a analizar fue realizado considerando la población total de la ciudad de Salta (535.000 habitantes), con una prevalencia de RA de 17% (16.9% de Rinoconjuntivitis alérgica reportada en Referencia 6), considerando la mitad como población adulta y el 25% de los mismos como fumadores. El número necesario de pacientes a evaluar indica 20 pacientes por cada grupo, en la comparación 1:1.

Los gráficos de resultados se realizaron con Graph Pad Prism 5.0.



---

b.3) EVALUACIONES: Se estudió en cada paciente:

1. Datos demográficos de edad y sexo, peso y altura, valorados por el investigador.

Se controló signos vitales y examen físico general de manera convencional para corroborar la buena condición del paciente para los procedimientos a realizar, aunque no se registraron estos parámetros como variables a estudiar excepto edad y sexo.

En el grupo de fumadores, se determinó el consumo auto-reportado por la normativa internacional en paquetes por año, estimándose en la cantidad de paquetes de 20 cigarrillos consumidos por día, por los años de fumador. La descripción y validación metodológica de esta fórmula no pudo ser obtenida luego de una intensa búsqueda bibliográfica, a pesar de la generalización de su uso.

2. Lavado nasal: para la obtención de las muestras se siguió la técnica reportada por Bouloukaki y colaboradores (59), con mínimas modificaciones. A los sujetos, en una posición sentada, se los instruyó para flexionar el cuello aproximadamente 60° de la vertical, y para no respirar por la nariz sino por la boca durante el procedimiento. Se aplicó 5 mL de solución salina normal a temperatura ambiente, se instila suavemente en cada fosa nasal utilizando una pipeta Pasteur descartable, con un tiempo de permanencia de aproximadamente 5 segundos y un masaje suave para permitir impregnación en la fosa nasal. A continuación, el fluido de lavado se recogió por repetida aspiración y en ambas cavidades nasales, con otra pipeta similar de calibre más fino, y se colocó en tubos Eppendorf. Se mantuvo en refrigeración 0-2° C, en promedio 1 hora, previo almacenamiento a -20° C hasta su análisis.

Los pacientes no debían haber aplicado medicación tópica nasal en el último mes.

---

Se adjuntan imágenes indicativas del procedimiento en Apéndice (Figuras 1-3).

3. Muestra de saliva: tomadas por el investigador, usando pipetas plásticas Pasteur descartables de la zona sublingual 5mL, cumpliendo el paciente con mínimos requisitos de no haber consumido bebidas ni comidas por al menos 1 hora antes, sin enjuague alguno ni restricción de fumar previo a la toma de la muestra. Estas se conservaron en tubos Eppendorf en refrigeración 0-2° C, en promedio 1 hora, previo almacenamiento a -20° C hasta su análisis, mediante técnica de Elisa y siguiendo estrictas indicaciones del proveedor ([www.salimetrics.com](http://www.salimetrics.com) USA).
4. Muestra de sangre venosa: realizada por el investigador, se procedió a evaluar vena superficial del pliegue de codo para facilitar el acceso, y colocar banda elástica por encima del mismo para retardar retorno venoso y permitir la distensión de la vena. Se procedió a limpiar la zona con alcohol y a tomar la muestra por penetración con aguja calibre 21G adosada a jeringa descartables, tomando 5mL, retirando la banda elástica y la aguja, colocando algodón con alcohol sobre la zona de punción con presión por 1 minuto, para evitar sangrado residual. Inmediatamente se enviaba la jeringa con el contenido sanguíneo para su centrifugación y obtención de suero, que se mantenía en refrigeración 0-2° C, en promedio 1 hora, hasta su almacenamiento a -20° C hasta su análisis.
5. Espirometría: se utilizó para la evaluación de todos los pacientes un espirómetro MIR Spirobank II con turbinas descartables calibradas, con control adicional de calibración con jeringa de 3 litros. Se realizaron mediciones siguiendo recomendaciones ATS/ERS (60) con paciente

---

sentado, sin ropa ajustada y confortable, sin haber fumado en la hora previa (fumador) y con más de 2 horas de consumo previo de cafeína o actividad física, sin medicamentos inhalados broncodilatadores de acción corta por 6 horas o por 12 horas en caso de acción prolongada. Se instruyó al paciente y se controló técnica espiratoria.

Se seleccionaron las 3 mejores maniobras reproducibles, y se tomaron para el análisis los mejores valores de FEV1, FVC y FEV1/FVC %. Realizado por el investigador.

6. Sensibilidad a alérgenos inhalantes por Prick test: valorados por el investigador de acuerdo a posicionamiento de referencia (61).

Brevemente, en el paciente sin afectación alguna en la piel de antebrazos y sin ingesta de medicación con efecto anti-histamínico alguno en las últimas 2 semanas, luego de limpieza de la zona con alcohol 96%, se colocaron 1 gota por cada alérgeno investigado. Se realizó puntura con lanceta metálica de única punta 1mm. Se retiraron con papel secante descartable a los 2 minutos de aplicados, y la lectura se realizó a los 15 minutos de la punción. Se midieron los diámetros máximo y perpendicular de las pápulas, se sumaron y dividieron por 2, considerándose positivo toda pápula igual o mayor a 3mm, siendo el control negativo 0 mm.

Los alérgenos inhalantes utilizados fueron: *Dermatofagoides pteronysinuss* – *Dermatofagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, Epitelio perro, Epitelio gato, Cucarachas mix, Pool Gramíneas, Quenopodiáceas, Pool Malezas, Pool árboles, *Alternaria sp*, *Aspergillus sp*; control negativo glicerinado y control positivo histamina 10mg/mL provisto por Alergo Pharma (Buenos Aires), de Laboratorios Greer USA. Las lancetas utilizadas fueron metálicas descartables de punta 1mm tipo ALK, provista por Laboratorio Diater (Buenos Aires).

---

El paciente para ser considerado atópico debía presentar test positivo al menos a uno de los alérgenos listados, más el control positivo de histamina (ver figura 4 en Apéndice).

7. ADICIONAL - Muestras séricas de fumadores pasivos: para fines comparativos exclusivamente, y sin condicionamiento alguno del proyecto original, en todas las determinaciones séricas se incluyó un grupo de 13 muestras bien identificadas como pertenecientes a fumadores pasivos sin RA, que corresponden a un remanente para descarte de sueros ya analizados, de otro proyecto de investigación conjunta entre el Investigador y la Bioquímica.

La búsqueda del antecedente de exposición pasiva y la decisión de su inclusión radica en que los grupos aquí comparados son fumadores activos versus no fumadores, habiéndose reportado la asociación de fumar pasivamente y la presencia de RA (62), y a que dichos sueros formaban parte de un remanente para descarte.

---

## **RESULTADOS**

Del total de los 49 pacientes invitados a participar, 5 pacientes declinaron la invitación (3 fumadores y 2 no fumadores) y aceptaron el 89,8%, que fueron seleccionados acorde a los objetivos del estudio, y cumpliendo con los criterios necesarios. Así, se incluyeron 44 pacientes en total, 22 fumadores (caso) y 22 no fumadores (control). No hubo hallazgos de signos vitales o del examen físico que condicionara la realización de los procedimientos requeridos por el presente estudio.

No hubo eventos serios para reportar respecto de ninguno de los procedimientos realizados. Los pacientes manifestaron síntomas locales, leves y auto-limitados en minutos (sin necesidad de tratamiento alguno): en 6 muestras de lavados nasales (prurito), 4 test cutáneos con alérgenos (prurito) y 3 punciones venosas para extracción de sangre (dolor).

No hubo diferencias en cuanto a sensibilidad a alérgenos, y a modo descriptivo, en el total de los mono sensibilizados (n=28), sólo 5 no correspondían a ácaros (2 epitelio gato, 1 epitelio perro, 1 pool gramíneas y 1 *Alternaria sp*). El resto, como el total de poli-sensibilizados, incluye a los ácaros de polvo doméstico.

En el grupo No Fumador hubo 1 caso con asma como co-morbilidad, en el grupo Fumador hubo 2 casos de asma y 2 casos con diagnóstico de EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica). No se registraron otras co-morbilidades activas y en tratamiento al momento de la realización del estudio, sin ingesta de otros medicamentos que potencialmente pudieran tener influencia en las evaluaciones realizadas.

**Tabla 1:** Datos demográficos comparativos.

<b>Pacientes con RA</b>	<b>Fumadores (n=22)</b>	<b>No Fumadores (n=22)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Edad media en años, con DS (y rango)</b>	37.3 ± 14.3 (19-65)	30.4 ± 10.1 (18-47)	0.097
<b>Sexo: Femenino, en % con DS</b>	63.63 ± 0.36	59.09 ± 0.50	0.789

**Tabla 2:** Sensibilización a aero-alergenos por Prick, en pacientes con RA fumadores y no fumadores.

<b>Antígeno</b>	<b>Fumadores (+)</b>	<b>Fumadores (-)</b>	<b>No fumadores (+)</b>	<b>No fumadores (-)</b>
<b>Der Mix</b>	15	8	21	3
<b>Blomia</b>	11	12	13	10
<b>Gramíneas</b>	5	18	2	21
<b>Gato</b>	6	17	7	16
<b>Perro</b>	1	22	1	22
<b>Alternaria sp</b>	0	23	1	22
<b>Chenopodium</b>	3	20	0	23

Two Way ANOVA Factor column  $p = 0.0094$  – Factor línea = 0.9745 (NS). X 2 no corresponde por presentar resultados con 0

Un paciente del grupo Fumadores desistió de continuar con los procedimientos al momento de tener que tomar la muestra de sangre, por tanto en este grupo hay 21 muestras de suero para todas las evaluaciones.

Se obtuvo muy escaso rendimiento en las determinaciones de IL 4 e IL 5 tanto en suero como lavado nasal, de IL13 en Lavado nasal y de IL17 en suero, siendo ocasional un resultado positivo. Las determinaciones de IL 5 fueron

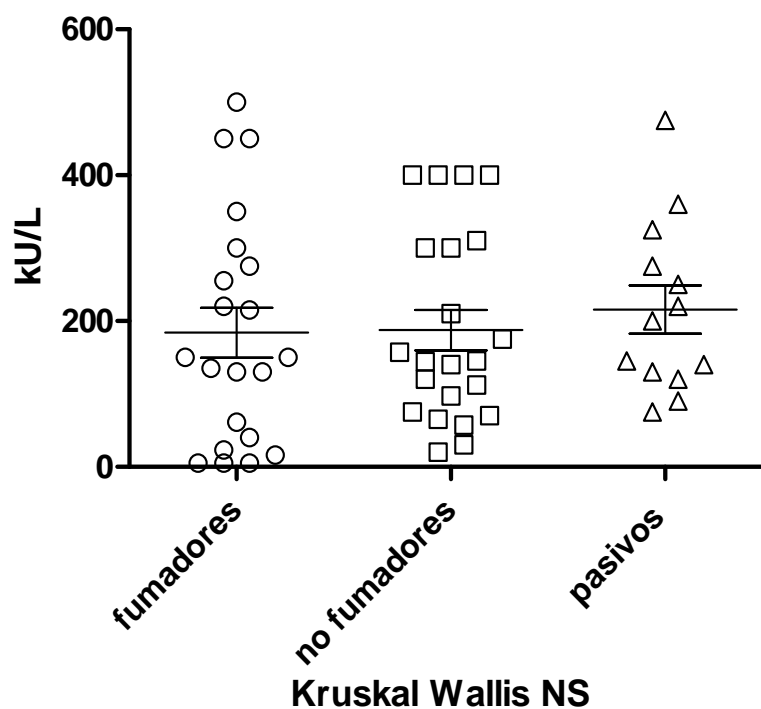
negativas en todos los casos de Lavado Nasal al igual que con IL 13, habiéndose realizado por duplicado por este motivo.

Al momento de realizar la determinación de IL 17 en Lavados Nasaes (última IL de la serie de procedimientos), quedaron disponibles con suficiente cantidad 13 muestras del grupo Fumador y 20 del No Fumador.

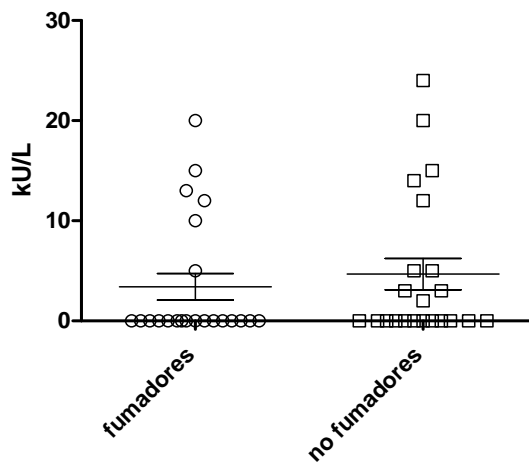
Los mejores rendimientos de determinaciones se obtuvieron con IgE e IL 33 en suero y lavado nasal, y en una proporción minoritaria de IL 13 en suero e IL17 en lavado nasal, a pesar de lo detallado previamente para esta última.

Se describen en tipo de letra *itálica* los títulos de gráficos que muestran diferencias estadísticamente significativa.

**Gráfico 1.** Niveles de IgE sérica (kU/L) por Elisa, en pacientes con RA fumadores, no fumadores, y controles de fumadores pasivos sin Rinitis Alérgica (No RA).

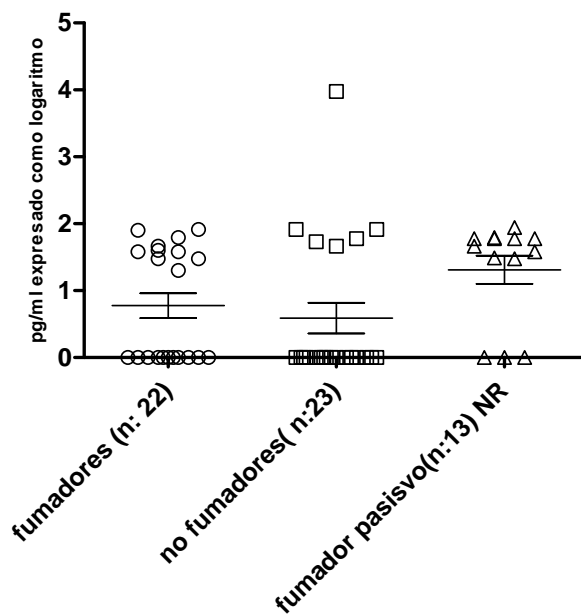


**Gráfico 2.** Niveles de IgE en Lavado Nasal (kU/L) en pacientes con RA fumadores y no fumadores.



Mann Whitney test,  $p = \text{NS}$  (0.313) Two way ANOVA;  $p : \text{NS}$  (0.8581)

**Gráfico 3.** Niveles séricos de IL 13 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.

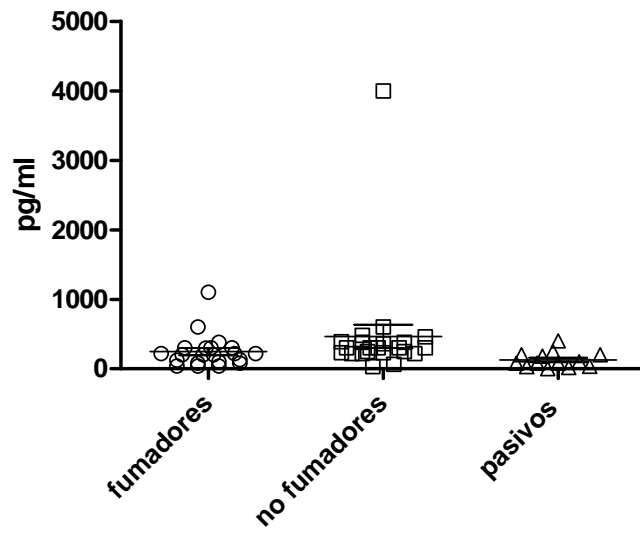


NS ( Kruskal Wallis = 0.0543)/ Dunns post test NS

No se detectó nivel alguno de IL13 en Lavado Nasal, sin valores para análisis.



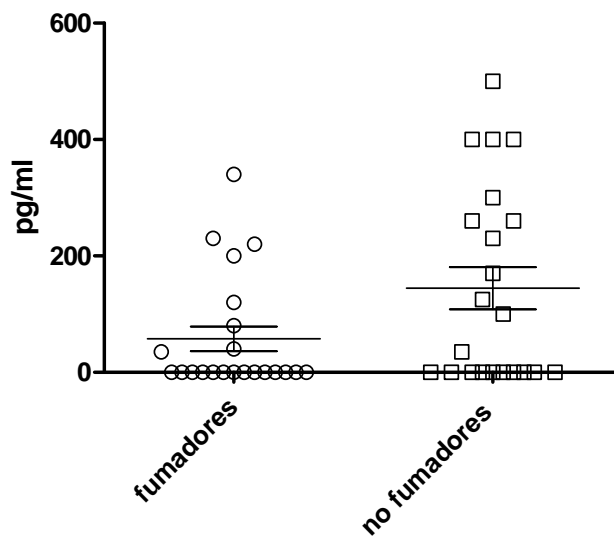
**Gráfico 4.** Niveles séricos de IL 33 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.



p:Kruskal Wallis = 0.0006

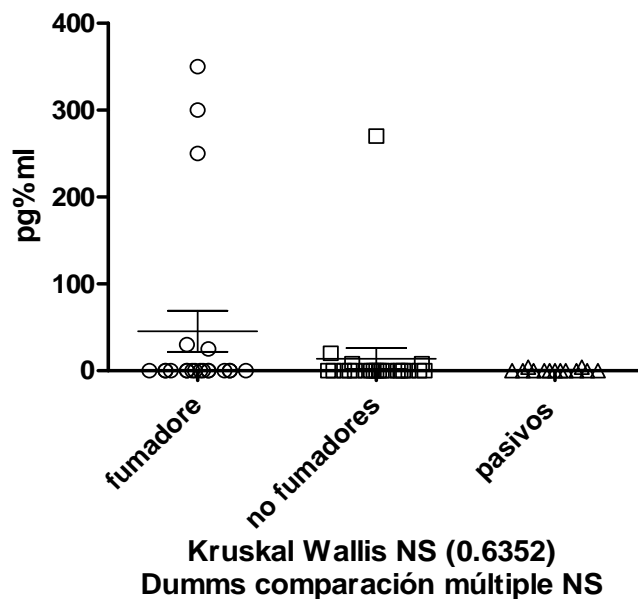
Dumms, multi comparación, Rinitis No fumadores vs Fumadores pasivos =0.01

**Gráfico 5.** Niveles de IL 33 (pg/mL) en Lavado Nasal de pacientes con RA fumadores y no fumadores.



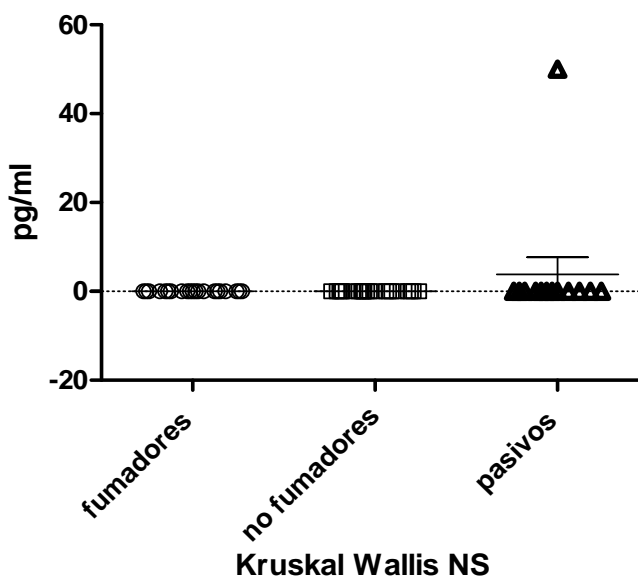
p: NS (0.0881) Mann Whitney test

**Gráfico 6.** Niveles séricos de IL 4 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.



Sólo en 1 paciente se encontró un nivel detectable de la citocina en Lavado Nasal.

**Gráfico 7.** Niveles séricos de IL 5 (pg/mL) en pacientes con RA fumadores, no fumadores y controles de fumadores pasivos No RA.



No se encontraron niveles detectables de IL 5 en lavados nasales.

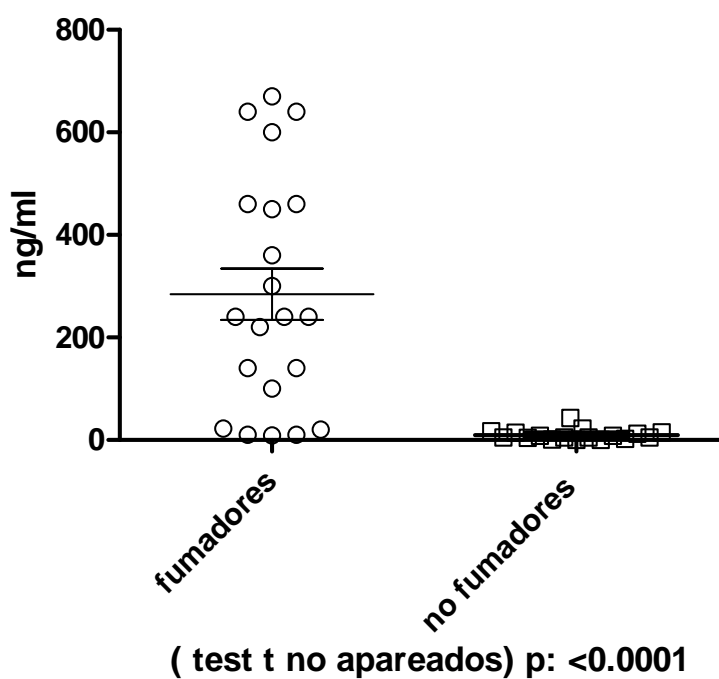


---

Por disponibilidad limitada de reactivo para determinación de cotinina en saliva, se analizaron 21 muestras del grupo Fumador y 17 del No Fumador.

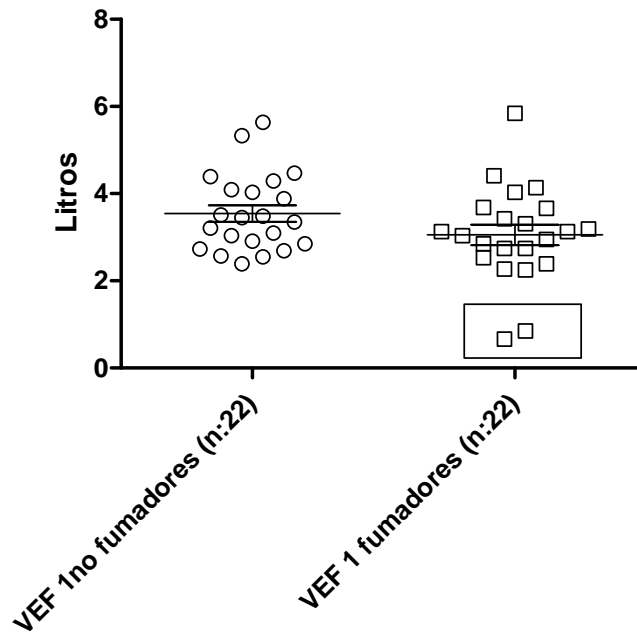
Se decidió privilegiar las muestras de Fumadores para corroborar con medición objetiva la condición auto-reportada. La decisión de excluir una de las muestras del grupo Fumador se debió a la calidad de la muestra. Así, todas las muestras de saliva fueron absolutamente representativas, evidenciadas en los resultados.

**Gráfico 10.** Niveles de Cotinina (ng/mL) en pacientes con RA fumadores y no fumadores.



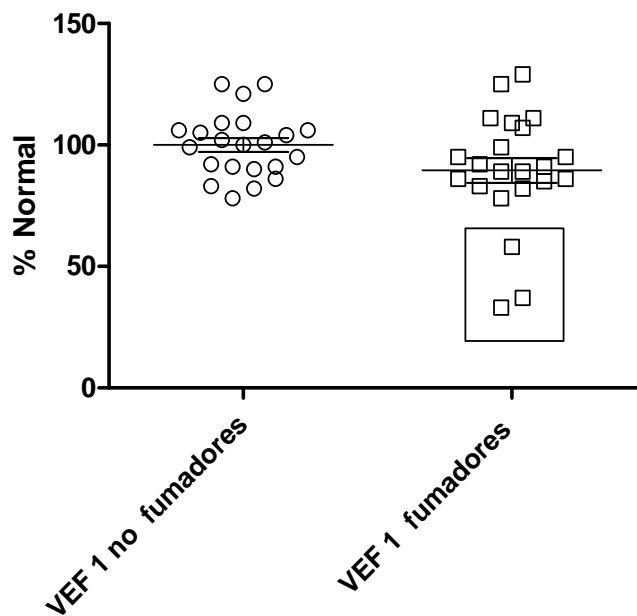
Las evaluaciones de función pulmonar y sus comparaciones se describen a continuación. Se evidencia una diferencia estadísticamente significativa en VEF1 % (por Anova), en CVF en valores absolutos, pero fundamentalmente en el marcador funcional más indicativo de obstrucción bronquial, la correlación VEF1/CVF %.

**Gráfico 11.** Valores absolutos (en litros) de VEF1 en pacientes con RA fumadores y no fumadores.



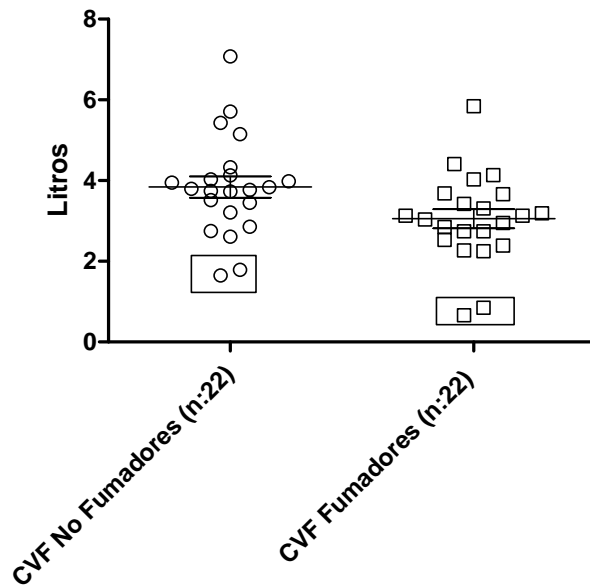
Mann Withney p NS, Two way ANOVA ( = 0.09) NS

**Gráfico 12.** Valores en % de VEF1 en pacientes con RA fumadores y no fumadores.



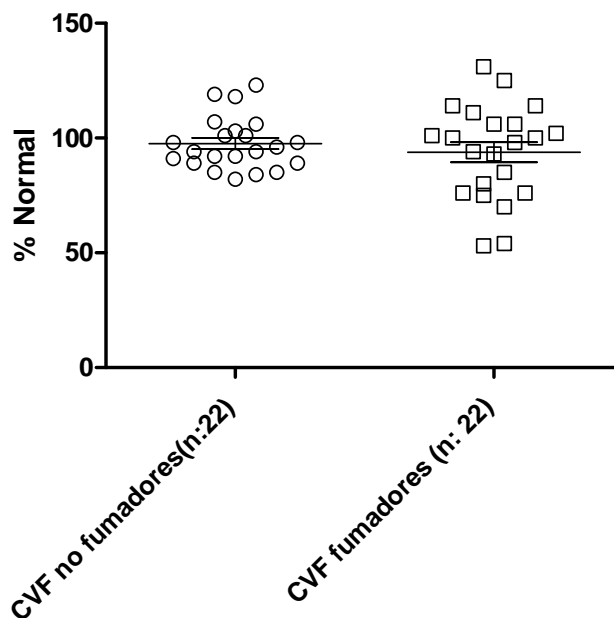
NS ( Mann Whitney test) , Two way ANOVA =0.0447

**Gráfico 13.** Valores absolutos (en litros) de CVF en pacientes con RA fumadores y no fumadores.



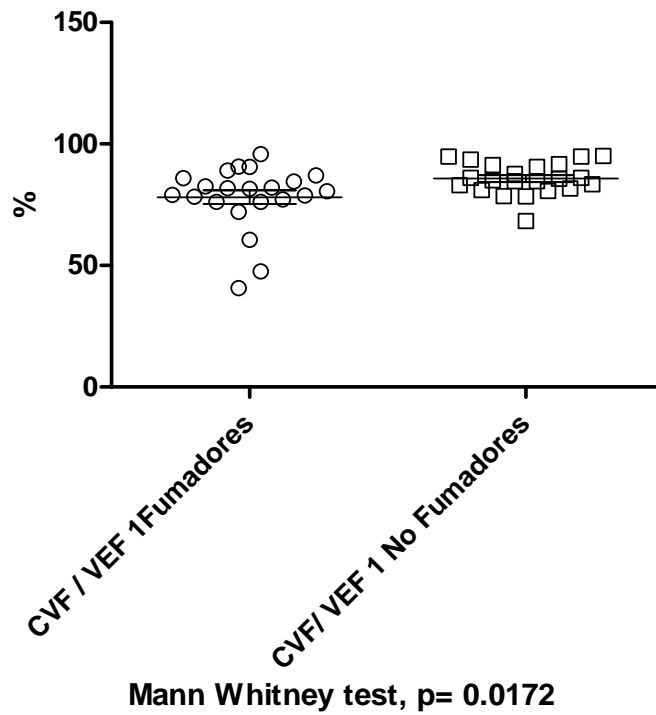
Mann Withney,  $p = 0.0201$  NS, Two way ANOVA  $< 0.0001$

**Gráfico 14.** Valores en % de CVF en pacientes con RA fumadores y no fumadores.

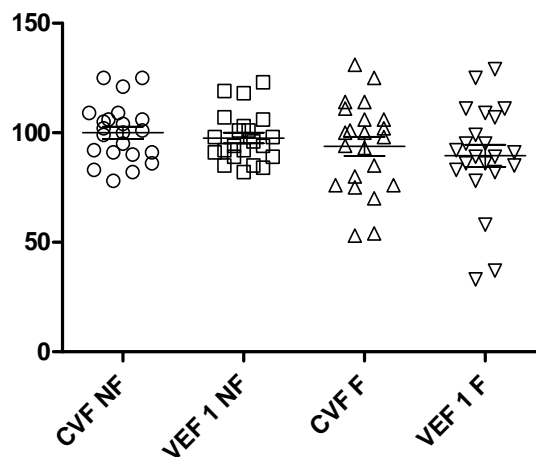


Test T : NS ; Two way ANOVA : NS

**Gráfico 15.** Estudio de la relación VEF1/CVF en %, en pacientes con RA fumadores y no fumadores.



**Gráfico 16.** Estudio de la relación VEF1/CVF en valores absolutos, de pacientes con RA fumadores y no fumadores.

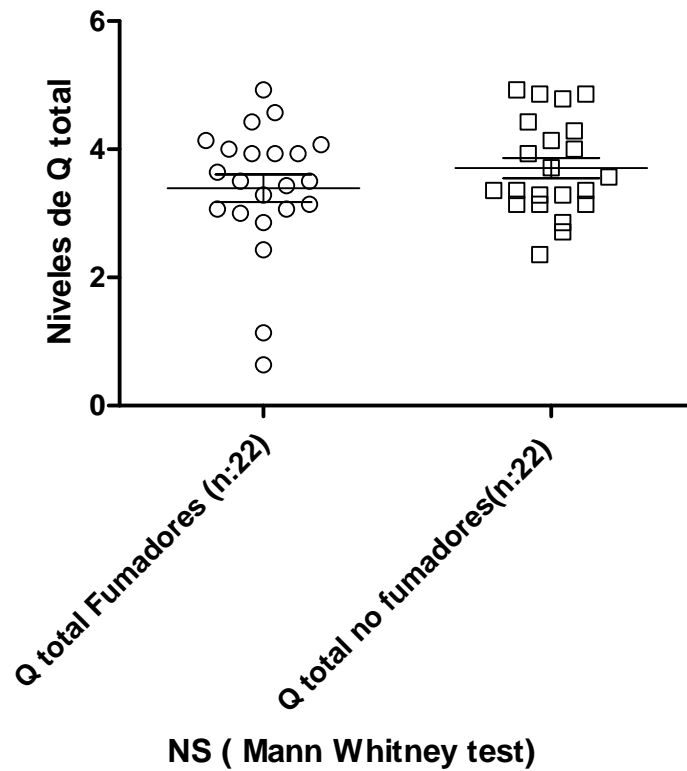


Two way ANOVA: Column Factor,  $p = 0.07$  (NS) Row Factor variación del 54%  $p < 0.0001$

---

El impacto de estos resultados en parámetros de calidad de vida, medida por Mini RQLQ, no mostró diferencias estadísticamente significativas en la comparación entre pacientes con RA fumadores y no fumadores.

**Gráfico 17.** Valoración de afectación en la Calidad de Vida (Mini RQLQ) en pacientes con RA fumadores y no fumadores.





---

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

### **a) DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS**

La RA es una enfermedad alérgica de elevada prevalencia, ya que afecta estimativamente a uno de cada cinco personas en nuestro medio, aunque esta proporción aumenta notablemente en ciudades latinoamericanas como Asunción, e incluye al menos a 20 millones de personas en los Estados Unidos (6, 63). A pesar de ello, es frecuentemente sub diagnosticada y con escaso margen de atención por parte de las autoridades sanitarias y los médicos en general (4, 63).

No es el foco del presente trabajo la evaluación de tratamiento alguno para esta enfermedad crónica, sino el estudio de las condiciones que impactan en su desarrollo y severidad, con potencial preventivo de evitar y que resulte accesible, tal el consumo de tabaco.

En la introducción, hemos detallado las diferencias entre Rinitis Alérgica y No Alérgica, y sobre los factores de impacto en la RA en particular, por lo cual hemos dedicado nuestro estudio al paciente con RA fumador activo y tomando como referencia al paciente con RA no fumador.

Tal lo descrito en resultados, no hubo diferencias entre grupos en cuanto a parámetros demográficos ni sensibilidad a alérgenos, que justifique diferencias en el último en cuanto a exposición y el consecuente estímulo inmune. Tampoco hubo diferencias en suero ni en lavado nasal respecto de un clásico marcador de atopía como la IgE, sobre la cual se discute su verdadero valor como tal, pero que ha sido revalorizada desde hace más de una década a partir de la eficacia del agente biológico monoclonal anti IgE para el tratamiento de las enfermedades alérgicas, el Omalizumab (64, 65).

Respecto de su búsqueda en lavados nasales, aun teniendo presente que se seleccionaron pacientes con sensibilidad demostrable por pruebas cutáneas, existe el concepto de RA local cuando no se logra identificar sensibilidad

---

sistémica. Este concepto surge luego de haberse demostrado que la IgE puede sintetizarse a nivel local, donde además se ha descrito que aún el cambio de clase de Inmunoglobulina hacia IgE puede darse en la misma mucosa (46, 47). Al momento de este reporte se desconocen descripciones sobre niveles de IgE en Lavado Nasal, logrando cuantificar su presencia en las muestras obtenidas aunque sin haber encontrado diferencias significativas entre grupos, y pudiendo establecerse por primera vez valores de referencia de IgE en Lavados Nasaes en una población de pacientes con RA.

Así, se estudiaron pacientes bien diferenciados solamente por la condición de fumador activo actual. Esto fue objetivado de manera contundente por la significativa diferencia encontrada en las mediciones de cotinina en saliva, con mínimos o nulos valores en los no fumadores (Gráfico 10). Este procedimiento es de fácil realización y brinda resultados muy favorables; sin embargo su acceso y disponibilidad fue notablemente afectado por el momento histórico de nuestro medio.

Al respecto, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en parámetros de función pulmonar, pero fundamentalmente en el más indicativo de obstrucción bronquial, la correlación porcentual de VEF1/CVF (Gráfico 15). Si bien no corresponde al presente trabajo la evaluación del impacto bronco-pulmonar del tabaquismo ni disponemos de marcadores inflamatorios de la vía aérea inferior, puede especularse que estas diferencias significativas son indicativas de fenómenos de remodelación (66).

Este dato es de suma relevancia, pues hemos descrito previamente que en un seguimiento de pacientes con diagnóstico de RA, se encontró una incidencia de asma significativamente mayor por la condición de fumador, de manera dosis dependiente (28). En el grupo de fumadores hubo 2 pacientes con diagnóstico previo de asma y 2 con EPOC, contra 1 paciente con asma en el grupo de no fumadores, por lo que se estima a futuro un incremento de la incidencia de asma en pacientes con RA que fuman activamente, coincidente con lo ya reportado.

---

Acerca de las evaluaciones locales (lavado nasal) y sistémicas (suero) de los parámetros inmuno-inflamatorios seleccionados y justificados previamente, simplemente se explica por azar y la vida real que del total de evaluados, un paciente decide no continuar cuando sólo restaba tomar la muestra de sangre (por temor), quedando un tamaño de muestra de 21 sueros de fumadores, sin relevancia a los fines estadísticos. Ocurre así también que resultara insuficiente la cantidad de lavado nasal al momento de realizar la determinación de IL 17; cabe aclarar que IL 13 e IL 5 se evaluaron por duplicado en lavados nasales ante la falta de detección, previo a llegar a IL 17.

Se decidió incluir en las evaluaciones séricas a las muestras de un grupo de pacientes sin RA con exposición pasiva domiciliaria al tabaco, habiéndose justificado previamente esta decisión.

Respecto de la situación de no haberse podido detectar determinadas IL, es conveniente aclarar que nuestras determinaciones fueron realizadas en suero y en lavados nasales tal como se los obtuvo, sin estímulo ni cultivo alguno. Y si bien se siguieron detalladamente todos los procesos indicados por proveedor, pudiera deberse a que los pacientes no hayan estado completamente sintomáticos al momento del examen, o simplemente por la limitada vida media de las citocinas (52). El resto de las determinaciones fueron positivas y los testigos positivos especificados se consiguieron reproducir tal el detalle de los instructivos (Figura 5 y 6 en Apéndice), por lo que otra posible explicación sea el rango de detección de los reactivos disponibles, como el caso de nuestra IL 5 con límite inferior de 46 pg/ml mientras se reportan límites de detección de 2 pg/mL (67). La publicación de referencia encuentra valores por debajo de 10 pg/mL en pacientes asmáticos atópicos, sin diferencias significativas por efecto de los corticoides inhalados utilizados. En nuestros pacientes, sólo hubo 3 pacientes que utilizaban corticoides inhalados en dosis medias (1 con EPOC y 2 con Asma).

Tampoco fue alentador las escasas detecciones (con valores muy disímiles) de IL 4, y levemente mejor de IL 13. Coincidiendo con la explicación sobre tomar muestras en un pico sintomático referido en la discusión de IL5, otro

---

fundamento se puede encontrar en la cinética de la presencia de estas IL, pudiendo detectarse a nivel nasal entre las 6 a 9 horas de una exposición antigénica, retornando a niveles basales dentro de las 24 horas (68). Cabe mencionar que no era un criterio de inclusión que los pacientes debieran presentar exacerbación de síntomas al momento de la evaluación, aunque sí debían estar sin efecto de antiH1 por 2 semanas.

A pesar de esta situación, se ha podido obtener hallazgos relevantes, tal el caso de la IL 17 en lavados nasales, la cual tiene la capacidad de promover la producción de IL 8 y MCP 1 con el consecuente reclutamiento y proliferación de neutrófilos y monocitos a nivel tisular (53, 54). Aún sin haber obtenido diferencias significativas y con número de muestras reducido, la importancia de haber detectado su presencia radica en que es un indicador de un fenómeno inflamatorio activo, ya que si bien no representa al fenómeno atópico de tipo Th2, se ha descrito la presencia de IL 17 en diferentes situaciones de RA a nivel local respecto de síntomas y estacionalidad (68), y en biopsias nasales de pacientes con asma (69).

En el caso de la IL 13, no se pudo detectar en lavados nasales pero sí en muestras de suero. Aunque no se pudo encontrar diferencias significativas, la importancia de su detección radica en que esta citocina interviene en los fenómenos de remodelación tisular. Sintetizada por mastocitos (y otras fuentes celulares), estimula la producción de colágeno tipo I por los fibroblastos de la vía aérea de manera MMP-2 y TGF $\beta$ 1 dependiente en el asma (70). Si bien en la RA (nuestra población de estudio) también se ha identificado en biopsias la presencia de mastocitos y un aumento de colágeno tipo I y III, la remodelación en la mucosa nasal del paciente con RA no es comparable a la remodelación del asma bronquial, ya que el daño tisular en la primera condición es limitado, mientras que en el asma es extenso (71). Una explicación posible a esta diferencia se pueda atribuir al tamaño de partículas del humo de cigarrillo, que siendo de alrededor de 0-1 $\mu$ m tiene un impacto mayor en las vías aéreas bajas de menor tamaño (bronquiolos y alvéolos) más que en las vías aéreas superiores, que habitualmente filtran partículas >10  $\mu$ m (72). No obstante, el efecto deletéreo del humo del cigarrillo a nivel del tejido nasal, provocando

---

alteraciones citológicas y funcionales, serían potencialmente reversibles en el caso de abandonar el consumo de tabaco (73).

Y seguramente el hallazgo más relevante de este trabajo se encuentra en la detección a nivel nasal y sérico de la IL 33, con diferencia estadísticamente significativa entre grupos.

Se han reportado datos disímiles sobre correlación entre niveles séricos y nasales, inclusive hasta sin detección a nivel sérico sino solamente a nivel nasal (57, 68), pero la presencia de IL 33 en secreciones nasales expresa una inflamación dirigida hacia un perfil Th2. En este contexto, no se encuentra sola sino acompañada por la IL 25 y TSLP, siendo liberadas por un daño tisular inducido por un patógeno o irritante, o por exposición a alérgenos. No se han encontrado estudios competitivos entre TSLP e IL33, aunque en un estudio experimental murino se ha reportado una disminución en paralelo de TSLP e IL 33 mediante anticuerpos anti IL 33 (74). Otro estudio experimental murino de similares características, ha demostrado el papel fundamental de la IL 33 en detrimento de la IL 25 para la inducción de RA sensible a ácaros de polvo (56).

Esta alarmina, la IL 33, es clave para iniciar los mecanismos de defensa ante agresores infecciosos y ante alérgenos, en la interacción epitelial – mesenquimatosa, colaborando fundamentalmente con el fenómeno IgE mediado aunque también con el mecanismo inflamatorio Th 17, corroborado también en nuestros resultados con detección de IL 17 a nivel tisular y sistémico (75).

Se ha reportado previamente que la nicotina del tabaco atenúa las respuestas Th1 y Th17, favoreciendo un desvío hacia Th2 en la respuesta neuro-inflamatoria (76). Sin embargo, encontramos en nuestras evaluaciones que el tabaco provoca una disminución de la IL 33, necesaria para iniciar estos mecanismos naturales de defensa, y en particular sobre el mecanismo IgE mediado.

Consecuente con estas descripciones, se ha reportado el efecto inhibitor del tabaco en el mecanismo inflamatorio de la Neumonitis por Hipersensibilidad,

---

con evidencias de inhibición de la activación macrofágica, disminución de la proliferación linfocitaria y empeoramiento de la función de los linfocitos T. Y aunque estos efectos impresionan como protectores en la expresión de la enfermedad en los fumadores, su curso clínico evidencia exacerbaciones más frecuentes y una peor sobrevida comparado con los no fumadores (77).

A los fines de poder llevar a la vida real el impacto de los marcadores de inflamación, se han correlacionado con un score de severidad de síntomas (57, 78, 79). Y entonces se generó la necesidad de cuantificar dicho impacto en la calidad de vida de los pacientes. Así, surgieron las validaciones de los instrumentos ampliamente utilizados en la actualidad, tanto en la investigación clínica como en la práctica diaria (43, 80). Dentro de los mismos, hemos optado por uno de esos instrumentos desarrollados por la Prof. E. Juniper, conocido como Mini RQLQ, cuyas características hemos descripto precedentemente.

La cuantificación del impacto de los síntomas fue reportada por los pacientes estudiados, pero su comparación no arrojó diferencias estadísticamente significativas en nuestra evaluación.

En un estudio experimental en pacientes con RA asintomáticos y no fumadores, se los desafió con cámaras de inhalación al polen sensibilizado (*Ambrosia sp*) y a humo de tabaco consecutivamente, encontrando niveles elevados en secreciones nasales de IL 4, IL 5 e IL 13 en los expuestos a tabaco, lo cual lleva a concluir a los autores que la exposición pasiva al tabaco puede incrementar los parámetros inflamatorios alérgicos (81). Se describió también que el fumar activamente se correlaciona inclusive con síntomas más severos de RA (37). Sin embargo, la contraparte fue reportada también, en un estudio epidemiológico que no encontró diferencias en severidad de síntomas y calidad de vida entre fumadores y no fumadores (33).

De acuerdo a los datos obtenidos en nuestro estudio, el consumo activo de tabaco no ha generado diferencias estadísticamente significativas en la cuantificación del impacto en la calidad de vida comparado con los no fumadores. Se encontraron en ambos grupos similares marcadores de alergia e inflamación local (IgE e IL 17), y en los fumadores encontramos una

---

disminución en un parámetro fundamental de inicio del mecanismo inmuno-inflamatorio alérgico, la IL 33.

## **b) CONCLUSIONES**

Se acepta la hipótesis nula, donde los pacientes con RA que son fumadores no evidencian un empeoramiento en su calidad de vida ni un aumento de los parámetros inflamatorios.

Ambos grupos de pacientes presentaron evidencias de inflamación alérgica a nivel nasal con la presencia de IgE e IL 17. No obstante los fumadores presentan un freno en el inicio del mecanismo inmuno-alérgico, evidenciado en la disminución significativa de IL 33 a nivel sistémico. A pesar de ello, presentan patrones inflamatorios y afectación de la calidad de vida equivalente a quienes no fuman, en lugar de una disminución consecuente y evidente en la vida real.

Se encuentran diferencias funcionales sugestivas de remodelación bronquial en los fumadores, con franca posibilidad de desarrollar asma, sustentado además por estudios de cohorte previos.

En consecuencia, y aun aceptándose la hipótesis nula, de ninguna manera puede concluirse que el consumo de tabaco carece de efecto a nivel de alergia nasal, sumándose al resto de los efectos nocivos a nivel sistémico.

Estas conclusiones refuerzan la necesidad de toda acción preventiva existente, sobre la evitación del consumo de tabaco.

---

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Solé D, Mallol J, Camelo-Nunes IC, Wandalsen GF; Latin American ISAAC Study Group. Prevalence of rhinitis-related symptoms in Latin American children - results of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase three. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010 Feb;21(1 Pt 2):e127-36.
2. Allergic Rhinitis – Diagnosis and Treatment. En: Holgate ST, Church MK editors. *Allergy.* Hong Kong: Mosby –Wolfe; 1995:18.1-18.10.
3. Baiardini I, Braido F, Tarantini F, Porcu A, Bonini S, Bousquet PJ, Zuberbier T, Demoly P, Canonica GW; GA2LEN. ARIA-suggested drugs for allergic rhinitis: what impact on quality of life? A GA2LEN review. *Allergy.* 2008 Jun;63(6):660-9.
4. Baena-Cagnani CE, Canonica GW, Zaky Helal M, Gómez RM, Compalati E, Zernotti ME, Sanchez-Borges M, Morato Castro FF, Murrieta Aguttes M, López-García A, Tadros FA; ISMAR Study Group. The international survey on the management of allergic rhinitis by physicians and patients (ISMAR). *World Allergy Organ J.* 2015 Mar 20;8(1):10.
5. Skoner DP. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 Jul;108(1 Suppl):S2-8.
6. Ait-Khaled N, Pearce N, Anderson HR, Ellwood P, Montefort S, Shah J, and the ISAAC Phase Three Study Group. Global map of the prevalence of symptoms of rhinoconjunctivitis in children: The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three. *Allergy.* 2009 Jan;64(1):123-48.
7. Izquierdo-Domínguez A, Valero AL, Mullol J. Comparative analysis of allergic rhinitis in children and adults. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013 Apr;13(2):142-51.



- 
8. Juniper EF, Howland WC, Roberts NB, Thompson AK, King DR. Measuring quality of life in children with rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1998 Feb;101(2 Pt 1):163-70.
  9. Dietz de Loos DA, Segboer CL, Gevorgyan A, Fokkens WJ. Disease-specific quality-of-life questionnaires in rhinitis and rhinosinusitis: review and evaluation. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013 Apr;13(2):162-70.
  10. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy.* 2008 Apr;63 Suppl 86:8-160.
  11. Ortiz RA, Barnes KC. Genetics of allergic diseases. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2015 Feb;35(1):19-44.
  12. Duse M, Donato F, Porteri V, Pirali F, Spinoni V, Tosoni C, Vettore M, Lombardi C. High prevalence of atopy, but not of asthma, among children in an industrialized area in North Italy: the role of familial and environmental factors--a population-based study. *Pediatr Allergy Immunol.* 2007 May;18(3):201-8.
  13. Dykewicz MS. Allergic Rhinitis Diagnostic Work-Up Overview. En: *Global Atlas of Allergic Rhinitis and Chronic Rhinosinusitis.* [www.eaaci.org](http://www.eaaci.org); 2015:150-51.
  14. Stevens WW, Grammer LC 3rd. Occupational rhinitis: an update. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015 Jan;15(1):487.
  15. Cingi C, Demirbas D, Songu M. Allergic rhinitis caused by food allergies. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2010 Sep;267(9):1327-35.
  16. Blanca-López N, Barrionuevo E, Andreu I, Canto MG. Hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs: from phenotyping to genotyping. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2014 Aug;14(4):271-7.

- 
17. Corren J, Baroody FM, Pawankar R. Allergic and Non-Allergic Rhinitis. En: Adkinson NF, Bochner BS, Burks AW, Busse WW, Holgate AT, Lemanske RF, O'Hehir RE Editors. Middleton's Allergy, Principles and Practice. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2014:664-685.
  18. Gómez M. Epidemiología del asma en Argentina. Arch Aler Inmunol Clin 2006;37(2):63-70.
  19. Barlow JL, McKenzie AN. Type-2 innate lymphoid cells in human allergic disease. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2014 Oct;14(5):397-403.
  20. Higgins TS, Reh DD. Environmental pollutants and allergic rhinitis. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2012 Jun;20(3):209-14.
  21. Hernández ML, Peden DB. Air Pollution: Indoor and Outdoor. En: Adkinson NF, Bochner BS, Burks AW, Busse WW, Holgate AT, Lemanske RF, O'Hehir RE Editors. Middleton's Allergy, Principles and Practice. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2014:482-496.
  22. Nandasena S, Wickremasinghe AR, Sathiakumar N. Indoor air pollution and respiratory health of children in the developing world. World J Clin Pediatr 2013 May 8; 2(2): 6-15.
  23. Williams LK, Ownby DR, Maliarik MJ, Johnson CC. The role of endotoxin and its receptors in allergic disease. Ann Allergy Asthma Immunol. 2005 Mar;94(3):323-32.
  24. Meyers DG, Neuberger JS, He J. Cardiovascular effect of bans on smoking in public places: a systematic review and meta-analysis. J Am Coll Cardiol. 2009 Sep 29;54(14):1249-55.
  25. Wolf P, D'Agostino R, Kannel W, et al: Cigarette smoking as a risk factor for stroke: the Framingham Study. JAMA. 1988 Feb 19;259(7):1025-9.
  26. Parsons A, Daley A, Begh R, Aveyard P. Influence of smoking cessation after diagnosis of early stage lung cancer on prognosis: systematic review of observational studies with meta-analysis. BMJ. 2010 Jan;340:b5569.

- 
27. St-Lauren J, Bergeron C, Pagé N, Couture C, Laviolette M, Boulet LP. Influence of smoking on airway inflammation and remodeling in asthma. *Clin Exp Allergy*. 2008 Oct;38(10):1582-9.
  28. Polosa R, Knoke JD, Russo C, Piccillo G, Caponnetto P, Sarvá M et al. Cigarette smoking is associated with a greater risk of incident asthma in allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jun;121(6):1428-34.
  29. Hadar T1, Yaniv E, Shvili Y, Koren R, Shvero J. Histopathological changes of the nasal mucosa induced by smoking. *Inhal Toxicol*. 2009 Nov;21(13):1119-22.
  30. Jaspers I. Cigarette smoke effects on innate immune mechanisms in the nasal mucosa. Potential effects on the microbiome. *Ann Am Thorac Soc*. 2014 Jan;11 Suppl 1:S38-42.
  31. Tanou K, Koutsokera A, Kiropoulos TS, Maniati M, Papaioannou AI, Georga K, Zarogiannis S, Gourgoulialis KI, Kostikas K. Inflammatory and oxidative stress biomarkers in allergic rhinitis: the effect of smoking. *Clin Exp Allergy*. 2009 Mar;39(3):345-53.
  32. Mishra NC, Rir-sima-ah J, Langley RJ, Singh SP, Peña-Philippides JC, Koga T, Razani-Boroujerdi S, Hutt J, Campen M, Kim KC, Tesfaigzi Y, Sopori ML. Nicotine Primarily Suppresses Lung Th2 but Not Goblet Cell and Muscle Cell Responses to Allergens. *J Immunol*. 2008 June; 180(11): 7655–7663.
  33. Bousquet PJ, Cropet C, Klossek JM, Allaf B, Neukirch F, Bousquet J. Effect of smoking on symptoms of allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009 Sep;103(3):195-200.
  34. Ciaccio CE, DiDonna AC, Kennedy K, Barnes CS, Portnoy JM, Rosenwasser LJ. Association of tobacco smoke exposure and atopic sensitization. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013 Nov;111(5):387-90.
  35. Feleszko W, Ruszczyński M, Jaworska J, Strzelak A, Zalewski BM, Kulus M. Environmental tobacco smoke exposure and risk of allergic sensitisation

- 
- in children: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2014 Nov;99(11):985-92.
36. Baena-Cagnani CE, Gómez RM, Baena-Cagnani R, Canonica GW. Impact of environmental tobacco smoke and active tobacco smoking on the development and outcomes of asthma and rhinitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009 Apr;9(2):136-40.
37. Annesi Maesano I, Oryszczyn MP, Raheison C, Kopferschmitt C, Pauli G, Taytard A, Tunon de Lara M, Vervloet D, Charpin D. Increased prevalence of asthma and allied diseases among active adolescent tobacco smokers after controlling for passive smoking exposure. A cause for concern? *Clin Exp Allergy*. 2004 Jul;34(7):1017-23.
38. Gómez M, Vollmer WM, Caceres ME, Jossen R, Baena-Cagnani CE. Adolescent smokers are at greater risk for current asthma and rhinitis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009 Aug;13(8):1023-8.
39. Vartiainen E, Seppala T, Lillsunde P, Puska P. Validation of self reported smoking by serum cotinine measurement in a community-based study. *J Epidemiol Community Health*. 2002 Mar;56(3): 167-70.
40. Connor Gorber S, Schofield-Hurwitz S, Hardt J, Levasseur G, Tremblay M. The accuracy of self-reported smoking: a systematic review of the relationship between self-reported and cotinine-assessed smoking status. *Nicotine Tob Res*. 2009 Jan;11(1):12-24.
41. Langone JJ, Cook G, Biercke RJ, Lifschitz MH. Monoclonal antibody ELISA for cotinine in saliva and urine of active and passive smokers. *J Immunol Methods*. 1988 Nov 10;114(1-2):73-8.
42. van Vunakis H, Tashkin DP, Rigas B, Simmons M, Gjika HB, Clark VA. Relative sensitivity and specificity of salivary and serum cotinine in identifying tobacco-smoking status of self-reported nonsmokers and smokers of tobacco and/or marijuana. *Arch Environ Health*. 1989 Jan-Feb;44(1):53-8.

- 
43. Juniper EF, Thompson AK, Ferrie PJ, Roberts JN. Development and validation of the mini Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire. *Clin Exp Allergy*. 2000 Jan;30(1):132-40.
  44. Fuiano N, Incorvaia C. Dissecting the causes of atopic dermatitis in children: less foods, more mites. *Allergol Int*. 2012 Jun;61(2):231-43.
  45. Lindberg RE, Arroyave C. Levels of IgE in serum from normal children and allergic children as measured by an enzyme immunoassay. *J Allergy Clin Immunol*. 1986 Oct;78(4 Pt 1):614-8.
  46. De Schryver E, Devuyst L, Derycke L, Dullaers M, Van Zele T, Bachert C, Gevaert P. Local immunoglobulin e in the nasal mucosa: clinical implications. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2015 Jul;7(4):321-31.
  47. Rondón C, Campo P, Togias A, Fokkens WJ, Durham SR, Powe DG, Mullol J, Blanca M. Local allergic rhinitis: concept, pathophysiology, and management. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Jun;129(6):1460-7.
  48. Carr TF, Saltoun CA. Chapter 2: Skin testing in allergy. *Allergy Asthma Proc*. 2012 May-Jun;33 Suppl 1:S6-8.
  49. Oppenheimer J, Nelson HS. Skin testing. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006 Feb;96(2 Suppl 1):S6-12.
  50. Croce V H. Tesis de Doctorado. 1988. Universidad Católica de Córdoba. RA. "Histopatología de la mucosa nasal en la rinitis alérgica".
  51. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2000 Jul;85(1):9-18; quiz 18, 21.
  52. Klemens C, Rasp G, Jund F, Hilgert E, Devens C, Pfrogner E, Kramer MF. Mediators and cytokines in allergic and viral-triggered rhinitis. *Allergy Asthma Proc*. 2007 Jul-Aug;28(4):434-41.
  53. Ciprandi G, De Amici M, Murdaca G, Fenoglio D, Ricciardolo F, Marseglia G, Tosca M. Serum interleukin-17 levels are related to clinical severity in allergic rhinitis. *Allergy*. 2009 Sep;64(9):1375-8.

- 
54. Huang X, Chen Y, Zhang F, Yang Q, Zhang G. Peripheral Th17/Treg cell-mediated immunity imbalance in allergic rhinitis patients. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2014 Apr;80(2):152-5.
  55. Rogala B, Glück J. The role of interleukin-33 in rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013 Apr;13(2):196-202.
  56. Nakanishi W, Yamaguchi S, Matsuda A, Suzukawa M, Shibui A, et al. (2013) IL-33, but Not IL-25, Is Crucial for the Development of House Dust Mite Antigen-Induced Allergic Rhinitis. *PLoS ONE* 8(10): e78099.
  57. Asaka D, Yoshikawa M, Nakayama T, Yoshimura T, Moriyama H, Otori N. Elevated levels of interleukin-33 in the nasal secretions of patients with allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;158 Suppl 1:47-50.
  58. Fay MP, Proschan MA. Wilcoxon-Mann-Whitney or t-test? On assumptions for hypothesis tests and multiple interpretations of decision rules. *Stat Surv.* 2010;4:1-39.
  59. Bouloukaki I, Tsiligianni IG, Tsoumakidou M, Mitrouska I, Prokopakis EP, Mavroudi I, Siafakas NM, Tzanakis N. Sputum and nasal lavage lung-specific biomarkers before and after smoking cessation. *BMC Pulm Med.* 2011 Jun 2;11:35.
  60. Miller MR1, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J; ATS/ERS Task Force. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J.* 2005 Jul;26(1):153-61.
  61. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. Position Paper. *Allergy.* 2012 Jan;67(1):18-24.
  62. Hur K1, Liang J, Lin SY. The role of secondhand smoke in allergic rhinitis: a systematic review. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2014 Feb;4(2):110-6.

- 
63. Skoner DP. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 Jul;108(1 Suppl):S2-8.
  64. Sarinho E, Cruz AA. Anti-IgE monoclonal antibody for the treatment of the asthma and other manifestations related to allergic diseases. *J Pediatr (Rio J).* 2006 Nov;82(5 Suppl):S127-32.
  65. Baena-Cagnani CE, Gómez RM. Current status of therapy with omalizumab in children. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2014 Apr;14(2):149-54.
  66. Bonsignore MR, Profita M, Gagliardo R, Riccobono L, Chiappara G, Pace E, Gjomarkaj M. Advances in asthma pathophysiology: stepping forward from the Maurizio Vignola experience. *Eur Respir Rev.* 2015 Mar;24(135):30-9.
  67. Joseph J, Benedict S, Safa W, Joseph M. Serum interleukin-5 levels are elevated in mild and moderate persistent asthma irrespective of regular inhaled glucocorticoid therapy. *BMC Pulm Med.* 2004 Mar 17;4:2.
  68. Scadding G. Cytokine profiles in allergic rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014 May;14(5):435.
  69. Sorbello V, Ciprandi G, Di Stefano A, Massaglia GM, Favatà G, Conticello S, Malerba M, Folkerts G, Profita M, Rolla G, Ricciardolo FL. Nasal IL-17F is related to bronchial IL-17F/neutrophilia and exacerbations in stable atopic severe asthma. *Allergy.* 2015 Feb;70(2):236-40.
  70. Firszt R, Francisco D, Church TD, Thomas JM, Ingram JL, Kraft M. Interleukin-13 induces collagen type-1 expression through matrix metalloproteinase-2 and transforming growth factor- $\beta$ 1 in airway fibroblasts in asthma. *Eur Respir J.* 2014 Feb;43(2):464-73.
  71. Watelet JB, Van Zele T, Gjomarkaj M, Canonica GW, Dahlen SE, Fokkens W, Lund VJ, Scadding GK, Mullol J, Papadopoulos N, Bonini S, Kowalski ML, Van Cauwenberge P, Bousquet J; GA(2)LEN Workpackage Members

- 
- 2.7. Tissue remodelling in upper airways: where is the link with lower airway remodelling? *Allergy*. 2006 Nov;61(11):1249-58.
72. Raulf M, Buters J, Chapman M, Cecchi L, de Blay T, Doekes G, Eduard W, Heederik D, Jeebhay MB, Kespohl S, Krop E, Moscato G, Pala G, Quirce S, Sander I, Schleunssen E, Sigsgaard T, Walusiak-Skorupa J, Wiszniewska M, Wouters IM, Annesi-Maesano I. Monitoring of occupational and environmental aeroallergens – EAACI Position Paper Concerted action of the EAACI IG Occupational Allergy and Aerobiology & Air Pollution. *Allergy*. 2014 Oct;69(10):1280-99.
73. Pagliuca G, Rosato C, Martellucci S, de Vincentiis M, Greco A, Fusconi M, De Virgilio A, Gallipoli C, Simonelli M, Gallo A. Cytologic and functional alterations of nasal mucosa in smokers: temporary or permanent damage? *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015 Apr;152(4):740-5.
74. Lei Y, Boinapally V, Zoltowska A, Adner M, Hellman L, Nilsson G. Vaccination against IL-33 Inhibits Airway Hyperresponsiveness and Inflammation in a House Dust Mite Model of Asthma. *PLoS One*. 2015 Jul 27;10(7):e0133774.
75. Saluja R, Khan M, Church MK, Maurer M. The role of IL-33 and mast cells in allergy and inflammation. *Clin Transl Allergy*. 2015 Sep 29;5:33.
76. Nizri E, Ironytursinai M, Lory O, Orrurtreger A, Lavi E, Brenner T. Activation of the Cholinergic Anti-Inflammatory System by Nicotine Attenuates Neuroinflammation via Suppression of Th1 and Th17 Responses. *J Immunol*. 2009 Nov 15;183(10):6681-8.
77. Ohshimo S, Bonella F, Guzman J, Costabel U. Hypersensitivity Pneumonitis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2012 Nov;32(4):537-56.
78. Canonica GW, Tarantini F, Compalati E, Penagos M. Efficacy of desloratadine in the treatment of allergic rhinitis: a meta-analysis of randomized, double-blind, controlled trials. *Allergy*. 2007 Apr;62(4):359-66.



- 
79. Ciprandi G, Cirillo I, Vizzaccaro A, Civardi E, Barberi S, Allen M, Marseglia GL. Desloratadine and levocetirizine improve nasal symptoms, airflow, and allergic inflammation in patients with perennial allergic rhinitis: a pilot study. *Int Immunopharmacol*. 2005 Dec;5(13-14):1800-8.
  80. Juniper EF, Thompson AK, Ferrie PJ, Roberts JN. Validation of the standardized version of the Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire. *J Allergy Clin Immunol*. 1999 Aug;104(2 Pt 1):364-9.
  81. Díaz Sánchez D, Rumold R, Gong HJr. Challenge with environmental tobacco smoke exacerbates allergic airway disease in human beings. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Aug;118(2):441-6.

---

## **ANEXOS**

### **a) Formulario de Consentimiento Informado**

#### **El consumo de tabaco empeora la inflamación nasal y la calidad de vida en pacientes con Rinitis Alérgica**

Investigador: René Maximiliano Gómez  
Instituto Médico ALAS. Sarmiento 771 (Salta)  
Tel: (0387) 421 8472 / 421 4280 / 15 684 1795

Ud. ha sido invitado/a a participar de un proyecto de investigación médica (tesis doctoral del Investigador) por padecer de Rinitis Alérgica, que es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías aéreas superiores que provoca estornudos, congestión, picazón y mucosidad nasal, pudiendo acompañarse o no de lagrimeo y picazón de ojos, llamándose entonces Rino-Conjuntivitis Alérgica. Dicha enfermedad crónica es muy frecuente, alcanzando al 16% de nuestra población mientras que el 1% del total presenta una afectación severa. Esta severidad tiene una influencia negativa no sólo en la calidad de vida sino también disminución del rendimiento laboral/escolar y calidad de sueño.

Existen diferentes factores que provocan o empeoran la Rinitis Alérgica, dentro de los cuales existen características propias de cada persona para producir sustancias que favorecen esta enfermedad (inmunoglobulinas, citocinas), y también la participación de elementos ambientales como sustancias que provocan alergia (polvo, pelo de animales, pólenes, hongos) o contaminantes como el humo del cigarrillo.

Es bien conocido que el tabaco es perjudicial para diferentes sistemas del organismo, afectando por ejemplo a nivel cardiovascular con infarto de miocardio, a nivel cerebral con accidentes cerebro-vasculares, y a nivel respiratorio provocando no sólo cáncer de pulmón sino alterando o induciendo el desarrollo de asma en pacientes fumadores con Rinitis Alérgica.

En esta investigación médica se busca determinar con precisión si el consumo de tabaco puede empeorar la inflamación de la nariz y su calidad de vida, porque existen diferentes estudios, con diferentes resultados que no son concluyentes.

Para ello, es importante que Ud. comprenda la importancia de su participación para contribuir a mejorar nuestro conocimiento de su problema, con lo cual esperamos poder modificar algunas conductas médicas en busca de un tratamiento más efectivo. Pero fundamentalmente que conozca que su participación es absolutamente voluntaria, y que puede retirar su autorización en cualquier momento y por cualquier motivo, y sin ninguna consecuencia en su contra.

---

Debe saber que en todo momento sus datos y evaluaciones serán absolutamente confidenciales, a los cuales solamente tendrán acceso las personas involucradas en la investigación y las autoridades que lo requieran. Con su consentimiento Ud. autoriza este acceso, como también la comunicación científica de los resultados siempre respetando su anonimato.

El presente documento contiene toda la información necesaria del estudio que se lleva a cabo como tesis doctoral del Investigador Responsable, quien invita a Ud. a participar del mismo, para lo cual deberá brindar libremente su consentimiento.

Deberá concurrir al centro de investigación en tres oportunidades en total para completar lo que le detallamos a continuación, considerando que el tiempo estimado final puede ser de 3 horas. Se aclara que algunas de estas investigaciones no se realizan de rutina cuando se evalúa pacientes con Rinitis Alérgica, por lo que Ud. puede rechazar los estudios que se le proponen y realizar las evaluaciones diagnósticas de rutina, sin que esto afecte la relación con su médico de forma alguna.

Estos procedimientos no tienen costo económico alguno para Ud, aunque tampoco podrá exigir retribución alguna. En caso de aceptar, se realizará:

Mediciones de peso y altura.

Se medirá su presión arterial y pulso con el tensiómetro.

Examen físico mediante la inspección de su organismo en general, auscultación (escuchar sus latidos cardiacos y respiración con el estetoscopio), la palpación del abdomen y la espalda.

Se evaluará la condición de fumador mediante preguntas específicas, y también la calidad de vida mediante preguntas referidas a cuanto le molesta su Rinitis para sus actividades rutinarias.

Se hará una inspección de su nariz y se aplicará una solución salina que se utiliza para hidratar el organismo, y con una pipeta plástica se aspirará dicho líquido para analizar. Este procedimiento no genera más que una leve molestia, y eventualmente puede llegar a pasar hasta la garganta una pequeña cantidad, sin provocar complicaciones en caso que lo tragara.

Se le tomara una muestra de sangre de una vena cercana al codo, para realizar diferentes análisis que permita saber la cantidad de sustancias que se mencionaba al principio de este documento, inmunoglobulinas y citocinas, que influyen en su Rinitis Alérgica. Para estas mediciones se le solicitara estar en ayunas de 6hs al momento de tomar la muestra de sangre, y puede ocurrir algunas veces que en el lugar de introducción de la aguja le quede un hematoma.

También se le solicitara una muestra de saliva para evaluar cotinina, una sustancia que indica si una persona estuvo expuesta al humo del tabaco.

Se le practicara una prueba llamada Prick test para determinar su tipo de alergia. Consiste en aplicar sobre la piel del antebrazo, unas gotas que contienen los elementos que provocan alergia (pelo de animales, polvo de la casa, pólenes y hongos) y con una lanceta metálica que tiene en un extremo una punta de 1mm, se realiza un pequeño pinchazo sobre cada gota. Este procedimiento le permite al elemento que provoca alergia ponerse en contacto con las células que están inmediatamente debajo de su piel externa, y reaccionar contra lo que a Ud. le provoca alergia. Sentirá una leve molestia al momento de realizarlo, pero no lastima la piel, siendo un proceso superficial,

---

sin riesgo de introducir elementos extraños al organismo. El resultado se manifiesta entre 15 a 20 minutos, generando una roncha que pica en el lugar del elemento que le provoca alergia, sintiendo una molestia pasajera por esta situación (aproximadamente 20 a 30 minutos).

En el caso de que estas reacciones le provoquen una sensación de alergia severa (ronchas extensas en el brazo, picazón generalizada, molestias respiratorias) se le administrara toda la medicación necesaria para su control, pero no de rutina porque estas reacciones son excepcionales.

Se realizara también una evaluación funcional respiratoria (espirometría) soplando al menos 3 veces con su máxima capacidad en una boquilla conectada a un aparato que mide flujos de aire, para comprobar que no tiene alguna limitación al respecto.

Con los datos recogidos se realizara un análisis de las características entre los expuestos a tabaco y los que no, y Ud. podrá requerir los resultados de sus estudios una vez finalizadas todos los análisis. Gracias por su participación y por contribuir al avance del conocimiento médico, que esperamos sea en su beneficio.

Todos estos procedimientos estarán a cargo de profesional calificado y el Investigador Responsable, con experiencia en la realización de los procedimientos.

Bioquímica.....  
MP.....DNI.....

Investigador Principal.....  
Firma.....  
Domicilio.....  
Teléfonos.....MP.....  
DNI.....Fecha.....

Declaro que he recibido todas las explicaciones solicitadas, sobre la naturaleza y propósitos del estudio, procedimientos, beneficios, riesgos y alternativas, habiendo tenido ocasión de aclarar las dudas que han surgido. He recibido una copia de este formulario firmada.

Firma Paciente.....  
Aclaración y DNI.....  
Fecha.....

Firma  
Testigo.....  
Aclaración..... y  
DNI.....  
Fecha.....

Nota aclaratoria: el proyecto de tesis actual ha sido aprobado para su realización por la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Córdoba (0351-4523883), y este Consentimiento Informado ha sido aprobado por el Comité de Bioética del Colegio de Médicos de Salta (0387-4213355).

---

***Autorización para utilización de Cuestionario de Calidad de Vida Mini RQLQ, Prof. Juniper***

Dear Dr. Gomez

Thank you for your enquiry regarding the Spanish adaptation of the RQLQ. All Professor Juniper's questionnaires are sent free of charge to clinicians, academics and non commercial organizations so there will be no fee payable to send it to you. We will post you the complete package which contains all the various questionnaires in Spanish along with all the validation papers and the instruction manual. The only thing we would ask is that you do not attempt to translate the questionnaire specific for your country as all Professor Juniper's questionnaires are covered by strict copyright. I am sure this was not your intention but we do have to state this fact in all our correspondence. We will post your package to you by airmail and I hope that it arrives swiftly for you.

With all best wishes,

Jilly Styles (Mrs.)  
Personal Assistant to Professor Juniper  
20 Marcuse Fields  
Bosham  
West Sussex.  
UK. PO18 8NA  
Tel: + 44 (0) 1243 572124  
Fax: + 44 (0) 1243 573680  
E-Mail: [jill@qoltech.co.uk](mailto:jill@qoltech.co.uk)

-----Original Message-----

From: [maxigom@gmail.com](mailto:maxigom@gmail.com) [mailto:[maxigom@gmail.com](mailto:maxigom@gmail.com)]  
Sent: 24 October 2011 19:54  
To: [jill@qoltech.co.uk](mailto:jill@qoltech.co.uk)  
Subject: RQLQ Package ordering

title: Dr  
Name: Maximiliano Gomez  
Organisation: Instituto Medico ALAS  
Address: Sarmiento 771  
Postcode: A4400ERH  
Country: Argentina  
Email: [maxigom@gmail.com](mailto:maxigom@gmail.com)  
Telephone: +54 9 387 684 1795  
Language: Spanish  
textfield:

Additional Comments: Request: Standardised Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire (Self-administered), Spanish version  
Usage: Dear Dr Juniper: questionnaires will be used to evaluate Quality of

Life (as well as other biological evaluations), to measure the impact of tobacco smoking in patients having Allergic Rhinitis, as part of my PhD (self-funded). Any comment / suggestion will be very welcome.  
Submit: Submit

c) Cuestionario de Calidad de Vida – Mini RQLQ

---

**MINI CUESTIONARIO DE CALIDAD DE VIDA PARA PACIENTES CON RINOCONJUNTIVITIS (MiniRQLQ)**

---

**AUTOADMINISTRADO  
(SELF-ADMINISTERED)  
SPANISH VERSION**

© 2002  
QOL TECHNOLOGIES Ltd.



**Información adicional:**

Elizabeth Juniper, MCSP, MSc  
Professor  
20 Marcuse Fields  
Bosham, West Sussex  
PO18 8NA, England  
Telephone: +44 1243 572124  
Fax: +44 1243 573680  
E-mail: juniper@qoltech.co.uk  
Web: <http://www.qoltech.co.uk>

This translation has been made possible  
through a grant from ALLERGAN  
Translated by MAPI RESEARCH INSTITUTE  
Senior Translator: Marian Carbonell

© El RQLQ(S) es propiedad intelectual registrada. No puede alterarse, venderse (en papel o en forma computerizada), traducirse o adaptarse por otro medio sin la autorización de Elizabeth Juniper.

JUNIO 2002

MINI CUESTIONARIO DE CALIDAD DE VIDA  
PARA PACIENTES CON RINOCONJUNTIVITIS  
(SPANISH VERSION)

IDENTIFICACIÓN  
DEL PACIENTE \_\_\_\_\_

ALTOADMINISTRADO

FECHA \_\_\_\_\_

Página 1 de 2

Por favor, conteste a todas las preguntas marcando con un círculo el número que mejor describa cuánto le han molestado durante la última semana sus síntomas de nariz/ojos.

	No me ha molestado nada	Casi no me ha molestado nada	Me ha molestado poco	Me ha molestado moderadamente	Me ha molestado bastante	Me ha molestado mucho	Me ha molestado muchísimo
<b>ACTIVIDADES</b>							
1. ACTIVIDADES HABITUALES EN EL TRABAJO Y EN CASA (su trabajo o tareas que tiene que realizar regularmente en casa y/o en el jardín)	0	1	2	3	4	5	6
2. ACTIVIDADES DE OCIO (actividades dentro y fuera de casa con amigos y familiares, deportes, actividades sociales, aficiones)	0	1	2	3	4	5	6
3. SUEÑO (dificultades para dormir bien y/o para quedarse dormido/a por la noche)	0	1	2	3	4	5	6
<b>PROBLEMAS PRÁCTICOS</b>							
4. TENER QUE FROTARSE LA NARIZ/LOS OJOS	0	1	2	3	4	5	6
5. TENER QUE SONARSE LA NARIZ MUCHAS VECES	0	1	2	3	4	5	6

¿Cuánto le han molestado durante la última semana cada uno de estos síntomas?

No me ha molestado nada    Casi no me ha molestado nada    Me ha molestado poco    Me ha molestado moderadamente    Me ha molestado bastante    Me ha molestado mucho    Me ha molestado muchísimo

### SÍNTOMAS DE LA NARIZ

6. ESTORNUDOS	0	1	2	3	4	5	6
7. NARIZ TAPADA/ CONGESTIONADA	0	1	2	3	4	5	6
8. MUCOSIDAD	0	1	2	3	4	5	6

### SÍNTOMAS DE LOS OJOS

9. PICOR EN LOS OJOS	0	1	2	3	4	5	6
10. OJOS DOLORIDOS	0	1	2	3	4	5	6
11. LAGRIMEO	0	1	2	3	4	5	6

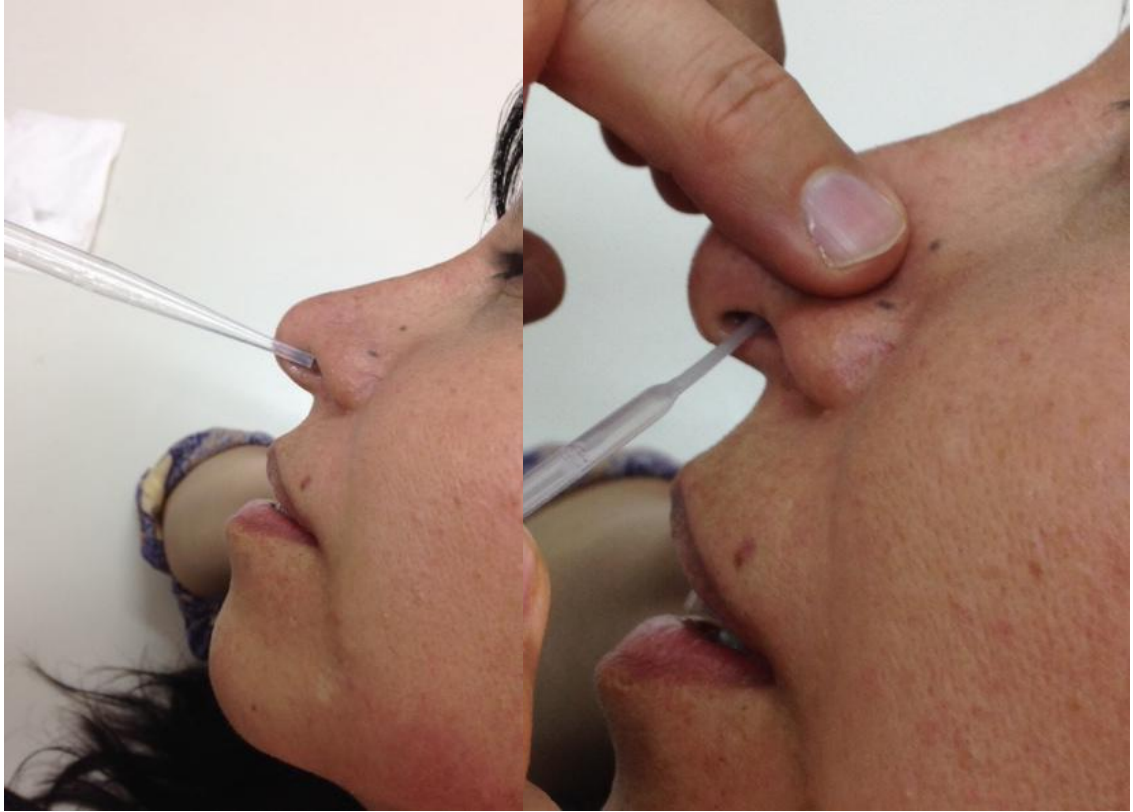
### OTROS SÍNTOMAS

12. CANSANCIO Y/O FATIGA	0	1	2	3	4	5	6
13. SED	0	1	2	3	4	5	6
14. IRRITABILIDAD	0	1	2	3	4	5	6



---

d) Toma de muestras de Lavado Nasal: Figuras 1, 2 y 3 (ver descripción en texto)



---

e) Prick test: reacciones positivas (superiores) y control positivo (inferior).  
Figura 4



f) Detección de IL por Elisa. Figuras 5 y 6.

Figura 5

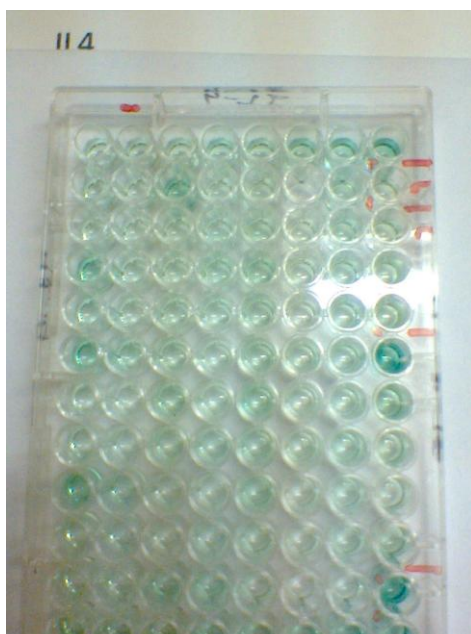
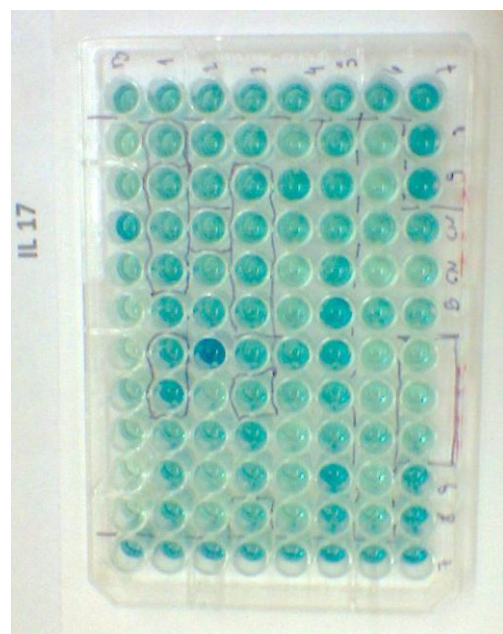



Figura 6



g) Constancias institucionales de evaluaciones de pacientes y análisis de muestras biológicas.


**UCASAL**  
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SALTA  
Asociación de Universidades - Decreto 1191/2003 (10/2)



POR LA PRESENTE CERTIFICO QUE

Los estudios serológicos por el método de ELISA, de dosaje de las siguientes Interleuquinas humanas: IL-4, IL-5, IL-13, IL-17 e IL-33, realizados en muestras de suero y lavado nasal, así como la cuantificación serológica de Inmunoglobulina E y la cuantificación de cotinina en muestras de saliva, que figuran en el trabajo de Tesis Doctoral del Médico René Maximiliano Gómez, han sido efectuados por mí utilizando un Lector de Microplacas Mindray MR-96 A, disponible en la Cátedra de Inmunología de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Católica de Salta.

Se expide el presente certificado a solicitud del interesado y a los fines que hubiera lugar, en la ciudad de Salta a los 30 días del mes de Noviembre de 2015.

  
**Olga Sánchez Negrette**  
Dra. en Bioquímica  
Prof. Adj. Inmunología  
Fac. Cs. Agrarias y Veterinarias  
Universidad Católica de Salta

[www.ucasal.edu.ar](http://www.ucasal.edu.ar) | [informes@ucasal.net](mailto:informes@ucasal.net)

**SEDE CENTRAL:** Campo Castañares | Tel.: +54 387 426 8800 | Fax: +54 387 426 8509 | CPA: A4400EDD | Salta, Argentina  
**ANEXO CENTRO:** Pellegrini 790 | Tel.: +54 387 426 8800 | Fax: +54 387 426 8805 | CPA: A4402FYP | Salta, Argentina  
**SUBSEDE BUENOS AIRES:** Rep. Dominicana 3586 - B° Palermo | Tel.: +54 11 4897 7444 / 45 | CPA: C14258MV | Ciudad Autónoma de Bs. As., Arg.





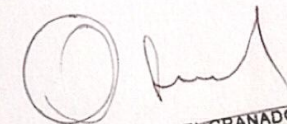
POR LA PRESENTE CERTIFICO QUE:

El Sr. Médico René Maximiliano Gómez, M.P. 3301, DNI 20.439.706, es Especialista certificado en Alergia e Inmunología y se desempeña como tal en esta Institución.

El mencionado profesional ha realizado el trabajo de su Tesis Doctoral para ser presentada en la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Córdoba, con pacientes y archivos del Instituto Médico Alas, siguiendo acabadamente las normas de Buenas Prácticas Clínicas y de Metodología de la Investigación.

Al respecto, no hubo observación alguna por parte de la Dirección Médica a mi cargo.

Se expide el presente certificado en Salta, a los 18 días del mes de Diciembre de 2015, a solicitud del interesado y a los fines que hubiere lugar.

  
Dr. MANUEL GRANADOS  
DIRECTOR  
INSTITUTO MEDICO ALAS

Sarmiento 771 A4400 - Salta Argentina  
Tel.: (0387) 4218472 4214280  
E-mail: InstitutoALAS@hotmail.com