INVESTIGACIÓN CLÍNICA APLICADA

PERFIL OXIDATIVO DE LA INFECCIÓN AMIGDALAR. ESTUDIO DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN AMÍGDALA Y SANGRE

F. J. García Callejo, M. H. Orts Alborch, M. M. Velert Vila*, E. N. Fernández Julián, L. Blay Galaud, J. Marco Algarra

Servicio de ORL. Hospital Clínico Universitario. Valencia. *Centro de Investigación. Hospital La Fe. Valencia.

RESUMEN

Para valorar la influencia que el daño oxidativo por radicales libres determina en la patología infecciosa ORL, se estudió mediante espectrofotometría los niveles de superóxido dismutasa (SOD), glutation peroxidasa (GPx) y reductasa (GRt) y estado de antioxidación total (EAT) en el tejido amigdalar obtenido por amigdalectomía en 538 pacientes, divididos en tres grupos según su indicación quirúrgica: hipertrofia amigdalar (n=235), amigdalitis de repetición (n=280) o absceso periamigdalino (n=23). También se midió la concentración de SOD en el tejido adenoideo y exudado ótico de 75 pacientes pertenecientes en los dos primeros grupos. Los niveles de SOD eritrocitaria y amigdalar fueron significativamente mayores en el grupo con absceso, y bajos en el de hipertrofia. Para la GPx y EAT estas diferencias resultaron semejantes. Para la GRt, los niveles entre los abscesos resultaron inferiores a los de los otros dos grupos de forma estadísticamente significativa. Se observaron fuertes correlaciones entre la SOD eritrocitaria y amigdalar, SOD y GPx amigdalar, SOD y EAT amigdalar y GPx y EAT amigdalar. Las concentraciones de la SOD en el tejido adenoideo y el exudado ótico no influyeron en los niveles en sangre. Podemos concluir que el daño oxidativo en las amígdalas viene determinado por la frecuencia o gravedad de las infecciones locales, y es valorable mediante la concentración de SOD en el tejido amigdalar o en la sangre periférica, pudiendo considerarse un buen marcador de sufrimiento amigdalar.

PALABRAS CLAVE: Superóxido dismutasa. Amígdalas palatinas. Estrés oxidativo. Radicales libres. Antioxidantes.

ABSTRACT

OXIDATIVE PROFILE IN TONSILLAR INFECTION. A STUDY OF THE ANTIOXIDATIVE ENZYMES IN TONSIL AND IN BLOOD

In order to investigate the effect of oxidative damage due to free radicals on ENT infectious diseases, levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione-peroxidase (GPx) and reductase (GRt) and the total antioxidant status (TAS) were measured by spectrophotometry on tonsillar tissue obtained from tonsillectomy in 538 patients, who were divided in three groups according to their surgical indication: tonsillar hypertrophy (n=235), recurrent tonsillitis (n=280) or peritonsillar abscess (n=23). SOD concentration were also measured on adenoid tissue and middle ear exudate in 75 patients from the first two groups. Erythrocite and tonsillar SOD levels were significantly greater in the abscess group, and lower in the hypertrophic one. These differences were similar for GPx and TAS. For GRt, its level in abscess were lower than in the other two groups in a statistically significant way. There were strong correlations between erythrocyte and tonsillar SOD, tonsillar SOD and GPx, tonsillar SOD and TAS, and tonsillar GPx and TAS. SOD concentrations from adenoid tissue an middle ear exudate did not affect its blood level. So, we can conclude that tonsillar oxidative damage is determined by the frequency or the severity of local infections, and it can be evaluated by measuring the SOD concentration in the tonsillar tissue or in the peripheral blood. So, it can be considered a good marker of tonsillar damage.

KEY WORDS: Superoxide dimutase. Palatine tonsils. Oxidative stress. Free radicals. Antioxidants

Correspondencia: F. J. García Callejo. Av. Archiduque Carlos, 111-14. 46014 Valencia

Fecha de recepción: 23-7-2001
Fecha de aceptación: 4-3-2002

INTRODUCCIÓN

Las amígdalas palatinas y las vegetaciones adenoideas son órganos linfocitarios con un cociente de células B/T aproximado de 1,6 y una relación T4/T8 entre 4 y 5, frente a unos valores de 0,3 y 1,3, respectivamente, en sangre periférica[1]. Aunque la proporción de células T citotóxicas y natural killer desciende mucho en amígdalas, en éstas coexisten, junto a la celularidad B, leucocitos y células del sistema retículo-endotelial con capacidad generadora de anión superóxido (SO) ($O_2^{\cdot}$). Esta biomolécula, en calidad de aceptadora de electrones, actúa como radical libre u oxidante.

Los oxidantes son susceptibles de producirse desde los procesos biológicos intracitoplásmicos normales por un lado, desde un entorno celular inflamatorio por otro, o ser secundarios a xenobióticos, bien porque estos los incluyen, bien porque inducen su génesis dentro de las células. Sea como fuere, en el transcurso de un proceso inflamatorio de vías altas está documentado el incremento de la celularidad T intraamigdalar, con sobreexpresión de las interleucinas inmunorreguladoras 2, 6, 10 e interferón-γ, mediando en la activación y diferenciación de las células B, y en la activación de los polimorfonucleares[2]. El proceso lo desencadena la identificación del agente inflamatorio por la célula presentadora de antígenos, y se materializa en una actitud hostil del tejido amigdalar en forma de generación de SO.

Esta producción inapropiadamente exagerada del anión en la infección de vías altas intenta ser compensada mediante complejos enzimáticos antioxidante de acción inmediata y específica sobre el estrés oxidativo, que en esencia intentan mantener en estado reducido la concentración del glutation (GSH) almacenado, auténtica sustancia tamponadora del efecto lesivo de la sobreproducción de radicales libres. Así, está descrita la presencia de superóxido dismutasa (SOD) en localizaciones específicas del tejido amigdalar[3] y la modulación de sus niveles para la detoxificación del anillo de Waldeyer[4,5].

Su actividad parece explicarse como una respuesta del tejido amigdalar a largo plazo ante el acceso de polimorfonucleares en la infección recidivante. Sin embargo, la SOD sólo descompone el anión SO en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual ejerce también de radical libre. Es por ello que la monitorización aislada de la SOD ofrece sólo una visión parcial del comportamiento oxidativo en las amígdalas. La comercialización de técnicas de cuantificación del metabolismo del GSH -peroxidación y reducción- podría acercar más a la comprensión del daño último en estos tejidos. Proponemos aquí una valoración comparativa de estos parámetros en distintas muestras de tejido adenoideo, amigdalar y en moco extraído de caja timpánica, en un intento de ajustar y racionalizar las habituales hipótesis terapéuticas antioxidantes en trastornos tan habituales como las infecciones del entorno ORL.

PACIENTES Y MÉTODOS

Volumen muestral

El tejido amigdalar obtenido perteneció a 538 pacientes intervenidos quirúrgicamente con indicaciones diferentes. Así, se consideraron tres grupos diagnósticos en ellos: aquellos con hipertrofia amigdalar sin infecciones de repetición (grupo HA, n=235, edad=6,6±4,3 años), aquellos con seis o más episodios de amigdalitis aguda al año durante al menos dos años consecutivos (grupo AR, n=280, edad=5,2±3,9 años), y aquellos con antecedentes de haber presentado algún absceso periamigdalino (grupo APA, n=23, edad=26,8±10,1 años). En 75 pacientes pertenecientes a los grupos con HA o AR se obtuvo también tejido adenoideo y exudado ótico mediante aspirado tras miringocentesis en el mismo acto quirúrgico.

Obtención de los especímenes

El aspirado del oído se recogió en contenedores estériles (Ecopack, USO Diagnostika, Estocolmo) para su posterior homogeneización y sonicación con 300 µl de solución tamponada de PBS a 4ºC y centrifugación a 2500 g durante 5 minutos, recuperando el sobrenadante, que resultó estable hasta 30 días a -70ºC.

Las amígdalas palatinas y las adenoides fueron colocadas en buffer fosfato salino PBS estéril con penicilina a 100 U/ml y estreptomicina a 100 µg/ml un mínimo de 12 horas, evitándose técnicas de conservación mediante formalinización y congelación tisular. Se obtuvo de ellas un extracto tisular mediante homogeneización en vórtex durante 15 minutos y posterior cizallamiento sobre vidrio. El macerado histiocelular se filtró cuatro veces con gasa de algodón de 2 mm de espesor dejando sedimentar el filtrado durante 5 minutos, según técnica de Neugebaur[6].

Los linfocitos amigdalares y adenoideos se obtuvieron a partir de una centrifugación por el método de Ficoll-Conray de gradiente de densidad con

d=1078 a 400 g durante 20 minutos, efectuando después un lavado repetido cinco veces con PBS hasta confirmar a microscopía óptica una proporción de linfocitos superior al 95% -lo que aproximadamente permite conseguir una cantidad de 107 de linfocitos viables para el estudio-. El producto celular se suspendió a una concentración de 106/ml en 2 ml de medio RPMI 1640 enriquecido con suero de ternera fetal al 10% y 2-mercaptoetanol 5µM con penicilina 100 U/ml y estreptomicina a 100 µg/ml a 37ºC durante 6 días. Con NH4-EDTA se obvió la contaminación hemática por hemólisis, previa a la centrifugación.

Las células fueron a continuación cultivadas con mitógenos, como el PWM-pokeweed mitogenal 1%, medio de Cowan I de *Staphyloccus aureus* diluido al 1/1000 y con 100 µg/ml de extractos de *Streptococcus pyogenes* durante 5 días a 37ºC en una atmósfera con 5% de CO_2, según método de Ferro[7]. Tras ello se recogió el sobrenadante de los cultivos, el cual resultó estable hasta 7 días a -70ºC.

A cada paciente se le extrajo una muestra preoperatoria de sangre periférica anticoagulada con K_3-EDTA, procesada para la separación de plasma y celularidad hemática, una vez eliminado el "buffy coat" mediante centrifugación selectiva. El plasma resultaba estable así durante un mes a -70ºC, pero la celularidad hemática debió ser estudiada en menos de 24 horas, para lo cual se procedió a su lavado por triplicado con suero salino y solución cianurada de Drabkin, inhibidora de peroxidasas inespecíficas[8].

Perfil de antioxidación

En los sobrenadantes de los cultivos celulares amigdalares y adenoideos, así como en el del extracto del trasudado de oído medio se midieron las concentraciones de superóxido dismutasa (SOD), glutation peroxidasa (GPx), glutation reductasa (GRt), y el estado de antioxidantes totales (EAT). Asimismo, se determinó la concentración de SOD intraeritrocitario.

Las SOD, GPx y GRt fueron evaluados mediante espectrofotometría para la lectura cromogénica a 505, 340 y 340 nm de longitud de onda, respectivamente, mediante los kits Ransod (Cat Nº SD126), Ransel (Cat. Nº SC692) y Randox (Cat. Nº GR2368) de Randox (Randox Laboratories Ltd., Crumlin Co. Antrim, Reino Unido). Los valores se referenciaron en U/l para los sobrenadantes y en U/g Hb para el intraeritrocitario.

El EAT detecta de forma inespecífica la presencia de cualquier agente con capacidad antioxidante al inhibir de forma proporcional a su concentración la generación de $ABTS^{R+}$, que resulta de la combinación de la forma reducida de $ABTS^{R}$ (Boehringer Manheim, Alemania) con peroxidasa. $ABTS^{R+}$ se lee por espectrofotometría a 600 nm de longitud de onda mediante el kit EAT (Cat. Nº NX 2332) de Randox. Los valores se referenciaron en mmol/l en los sobrenadantes amigdalares.

Procesamiento estadístico

Los datos proporcionados hicieron referencia a las concentraciones de sustratos en tejido amigdalar y en sangre periférica, calculándose con ellos las concentraciones medias por grupos de estudio y correlacionando sus niveles en un mismo paciente. Se pudo comparar asimismo estos niveles con la incidencia de infecciones en cada individuo.

El tratamiento estadístico de los datos se efectuó mediante la prueba de t-Student y el análisis de la variancia para la comparación de dos o más medias aritméticas. Cuando se correlacionaron dos variables de un mismo volumen muestral se empleó el cálculo e interpretación de las rectas de regresión lineal y los coeficientes de determinación de ajuste R^2. Los datos fueron planificados para gráficos en *Statgraphics* y *Excel* para *Windows 2000,* y formateados en los procedimientos estadísticos *t-test, ANOVA-test* y *Regression* del sistema SPSS. Cualquier asociación se consideró estadísticamente significativa si $p<0,05$.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los valores medios de los parámetros medidos para los tres grupos de estudio considerados. La estimación general de los valores identifica una tendencia a la elevación de la SOD, GPx y EAT en relación directa a la existencia de infección en el territorio amigdalar. Para las cifras de la GRt en las amígdalas estos niveles decrecen en circunstancias de padecimiento infeccioso especialmente agresivo, como supuso el hecho de haber padecido un APA. Así, se verificaron diferencias estadísticamente significativas en los valores crecientes de SOD, GPx y EAT al comparar grupos con AR y APA frente a HA. La GRt amigdalar fue el único parámetro que no varió significativamente entre los grupos con HA y AR, aunque sí lo hizo descendiendo entre los casos con APA.

Existió un grupo de pacientes (n=75) recogidos

Tabla 1: Parámetros referentes al estrés oxidativo en eritrocitos y en sobrenadante de cultivo de amígdala palatina obtenida por amigdalectomía

	$[SOD]_{erit}$ (U/g Hb)	$[SOD]_{amg}$ (U6L)	$[GPx]_{amg}$ (U/l)	$[GRt]_{amg}$ (U/l)	$[EAT]_{amg}$ (mmol/l)
HA (n=235)	1006,17 ± 176,30	178,86 ± 31,11	18,75 ± 5,77	29,65 ± 5,17	0,47 ± 0,15
AR (n=280)	1135,47 ± 246,69**	227,51 ± 49,26**	27,13 ± 6,80**	29,78 ± 6,64	0,94 ± 0,22**
APA (n=23)	1150,43 ± 223,01**	271,91 ± 35,62**	28,09 ± 5,38**	26,46 ± 7,12*	1,04 ± 0,25**

HA: hipertrofia amigdalar. AR: amigdalitis de repetición. APA: absceso periamigdalino.

* p<0,05. **p<0,001.

entre casos con HA y AR en los que se obtuvo muestra de exudado ótico y de tejido adenoideo. Los niveles de SOD focal fueron, respectivamente, de 343,48±71,31 y 113,10±15,39 U/l (datos no incluidos en tablas).

La correlación de concentraciones amigdalar e intraeritrocitaria de SOD fue buena (p<0,001), pero la misma comparación mediante ecuaciones de regresión lineal entre SOD de exudado ótico o tejido adenoideo con los niveles intraeritrocitarios de la enzima resultó baja y estadísticamente no significativa (figura 1). Existieron asimismo correlaciones estadísticamente significativas entre el dintel de EAT amigdalar y las concentraciones de SOD y GPx en tejido amigdalar (p<0,05 en las dos ocasiones) (figuras 2 y 3), así como en la comparación establecida entre las concentraciones amigdalares de SOD y GPx entre sí. Los niveles de GRt de tejido amigdalar nunca ofrecieron correlaciones estadísticamente aceptables con los otros parámetros medidos en el estudio. Todas las rectas obtenidas por regresión lineal para la comparación de los valores medidos en el grupo de estudio se ofrecen en la tabla 2.

DISCUSIÓN

La implicación del estrés oxidativo en la patología infecciosa de la esfera ORL es un hecho previamente documentado y reconocido. Aún hoy no queda sin embargo bien aclarado si esta actividad es por exceso o por defecto. Así por ejemplo, en los exudados leucocitarios del oído medio de 18 pacientes, Zalewski y cols.[9] detectan niveles de SOD significativamente elevados respecto a las muestras óticas exentas de celularidad. Esta sobreproducción enzimática la detecta también Lee y cols.[10] en la caja y las trompas de ratas inoculadas localmente con *Streptoccus pneumoniae.* A estas afirmaciones se contraponen los hallazgos de Parks y cols.[11] en cobayas, en los que el contenido del enzima en la mucosa del oído medio, submucosa e incluso hueso, medidos mediante inmunohistoquimia, se reduce a la mitad en animales inoculados tres días con *Streptococcus sp.,* frente a controles no infectados. Ovesen[12], además, advierte que la SOD focal se eleva en el oído medio afecto de un trastorno seroso sólo cuando éste es sometido a una circunstancia de hiperoxia súbita, como lo supone un drenaje transtimpánico, y hasta entonces, el exudado es virgen en la enzima.

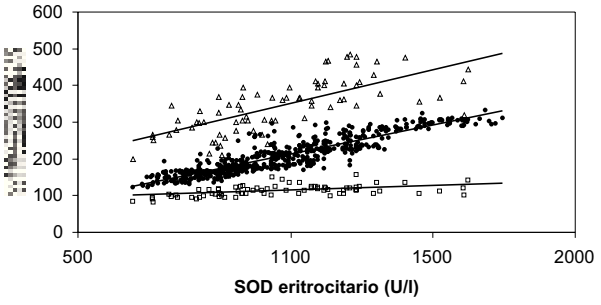

Figura 1. Curvas de regresión lineal para correlacionar cifras de concentración de SOD en sobrenadantes adenoideo (□), amigdalar (•) y de exudado ótico (△), frente a los niveles de SOD intraeritrocitario. Sólo la relativa a amígdala resultó estadísticamente significativa.

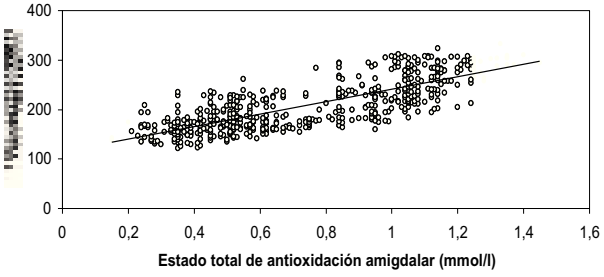

Figura 2. Curva de regresión lineal para correlacionar cifras de concentración de SOD amigdalar frente al estado de antioxidantes totales también en amígdala. Esta correlación lineal resultó estadísticamente significativa.

Tabla 2: Análisis de las ecuaciones de las rectas de regresión lineal en el estudio comparativo de los parámetros de antioxidación

n	Parámetro en ordenadas	Parámetro en abscisas	Ecuación de la recta	R^2	Significación estadística
75	SOD adenoideo	SOD eritrocitario	y=0,0319x+78,928	0,2131	N.S.
75	SOD exudado ótico	SOD eritrocitario	y=0,2267x+100,8	0,5008	N.S.
538	SOD amigdalar	SOD eritrocitario	y=0,1988x-6,5132	0,8197	<0,01
538	SOD amigdalar	EAT amigdalar	y=126,45x+114,15	0,627	<0,05
538	SOD eritrocitario	EAT amigdalar	y=466,55x+732,77	0,4118	N.S.
538	GPx amigdalar	EAT amigdalar	y=19,033x+9,3643	0,6134	<0,05
538	GRt amigdalar	EAT amigdalar	y=-47922x+33,149	0,0727	N.S.
538	GPx amigdalar	SOD amigdalar	y=0,136x-4,7975	0,7987	<0,01
538	GRt amigdalar	SOD amigdalar	y=-0,0127x+43,295	0,2697	N.S.

N.S.: No significativo. SOD: superóxido dismutasa. EAT: estado de antioxidantes totales. GPx: glutation peroxidasa. GRt: glutation reductasa.

En senos maxilares de conejos, Doner y cols.[13] demuestran sobreexpresión enzimática en la mucosa y en sangre periférica, cuando los mismos son infectados con *Staphylococcus aureus,* detectando además estigmas de daño en la membrana por peroxidación lipídica mediante la determinación de malondialdehido. La colonización nasofaríngea por *Haemophilus influenzae* tipo b también en modelos murinos determina en estos elevaciones de SOD en sangre y adenoides, incrementos que no son detectadas en casos de infección estreptocóccica[14].

Finalmente, en amígadalas palatinas se evidencia también disparidad de opiniones y resultados. Nuestro propio grupo ha reportado datos de incrementos significativos de SOD en el tejido amigdalar humano en relación directamente proporcional al padecimieno infeccioso focal[5,15]. Hallazgos similares documentan Shukla y cols.[16] sobre adolescentes, y Lee y cols.[10] en modelos murinos tras inoculación neumocócica. Yokoyama y cols.[17], por el contrario, no detecta especial correlación entre la amigdalitis recurrente o crónica y las titulaciones de SOD en sangre periférica cuando el agente causal de la infección se limita al *Streptococcus pyogenes,* llegando incluso a atribuir un papel depresor de la expresión de la enzima por parte de los ácidos lipoteicoicos de la pared bacteriana, propiedad acaso específica de *Streptococcus* del grupo A de Lancefield[18]. Ello evidentemente redundaría en la generación de un ambiente detoxificador poco competente y supondría una explicación a la frecuencia con que *Streptococcus pyogenes* se aisla en la amígdala, pero no permite razonar las elevaciones posteriores a la amigdalectomía que experimenta la concentración de la enzima en sangre, detectadas por diversos autores, y que acontecen en circunstancias de infecciones de cualquier etiología, también estreptocócicas[4,19,20].

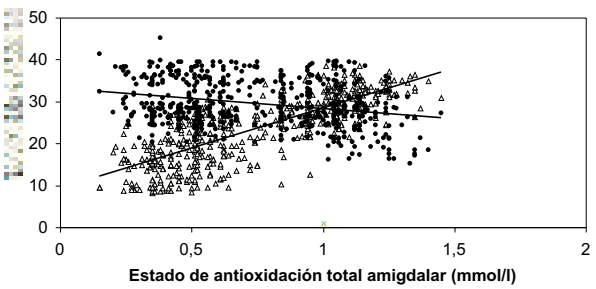

Figura 3. Curvas de regresión lineal para correlacionar cifras de GPx (Δ) y GRt (•) amigdalar frente al estado de antioxidantes totales también en amígdala. Sólo la correlación lineal con GPx resultó estadísticamente significativa.

La SOD no es realmente una enzima aislada, sino un conjunto de metaloproteínas catalíticas dismutadoras del anión SO hacia el peróxido de hidrógeno, agente que también actúa como radical libre y desarrolla capacidad oxidativa en función de su avidez por los electrones de otras biomoléculas. Es por ello que el organismo no sólo genera un sistema depurador del anión SO, sino que también desarrolla un mecanismo de transformación del peróxido generado por acoplamiento al ciclo de óxido-reducción que experimenta el GSH.

El GSH está ampliamente difundido a nivel celular, en casi todos los animales, y el tejido linfático y mucoso del entorno ORL no es una excepción, encontrándose a concentraciones relativamente altas, aproximadamente 5 mM. Se trata de un reductor intracelular cuya oxidación por cesión de electrones a las especies reactivas derivadas del oxígeno las neutraliza para generar daño celular.

Ello lo hace en función de su grupo tiol y su enlace gamma-glutamilo resistente a la degradación por las peptidasas normales (figura 4).

La peroxidación del GSH permite la descomposición del peróxido de hidrógeno mediante la actuación de su peroxidasa específica, la GPx. La molécula resultado ha cedido dos átomos de H+ destinados a la obtención de agua orgánica, quedando aquella conformada en dímeros unidos por puentes disulfuro (GSSG). Ésta recupera su conformación reducida por acción de su reductasa específica, la GRt, que le proporciona átomos de hidrógeno provinientes del niacin-adenin-dinucleotido-fosfato, coenzima a su vez generada del metabolismo glucídico.

Disponemos así de tres herramientas catalíticas en mucosa y tejido linfático: SOD, GPx y GRt. Las dos primeras ejercen de auténticos detoxificadores de radicales libres o *scavengers,* mientras que la tercera repone las reservas de sustrato antioxidante en forma de GSH que se consume durante la descomposición del SO y el peróxido de hidrógeno.

Nuestra investigación evidencia elevaciones en los niveles de SOD y GPx de las amígdalas de forma correlativa al estado de sufrimiento oxidativo de las mismas, es decir, a la incidencia de episodios infecciosos. Así, pruebas previas han verificado la elevación de SOD en las amígdalas afectas de infecciones de repetición, y más aún en abscesos perimaigdalinos[5,15]. El estudio aquí presentado detecta además niveles de GRt que tienden a aminorar de forma inversa, es decir, conforme la agresión infecciosa es mayor. Se objetiva pues una tendencia en amígdalas a la incompetencia detoxificadora del sistema GSH-GSSG, que promovería el acúmulo de la forma oxidada (GSSG) y el déficit de la reducida (GSH).

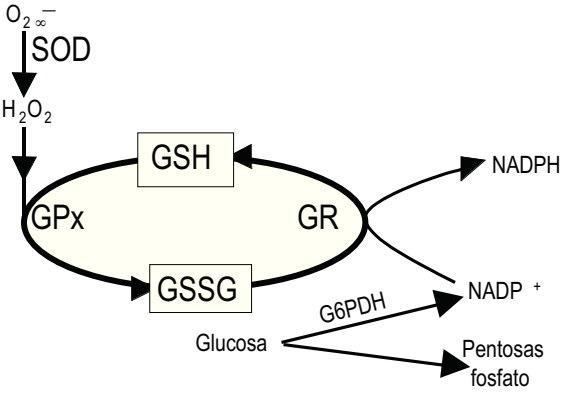

Figura 4. Mecanismo de detoxificación del anión SO y del H_2O_2 por acoplamiento al ciclo de óxido-reducción del glutation mediante la acción de la glutation peroxidasa (GPx) y la glutation reductasa (GRt).

Los niveles de SOD en el tejido amigdalar se muestran correlativos a los detectados a nivel intraeritrocitario, pero no ocurre lo mismo con las concentraciones en el tejido adenoideo o el exudado ótico. Esta influencia limitada de las afecciones óticas o adenoideas sobre el enzima en sangre periférica parece dar validez a su determinación en sangre como marcador potencial de sufrimiento amigdalar, ya que no quedaría interferido por otros desórdenes de la esfera ORL.

Las otras correlaciones planteadas en el estudio con validez estadísticamente significativa son sólo las relacionadas a SOD y GPx con el EAT. El EAT no es más que una determinación genérica en el tejido que mide su capacidad detoxificante mediante la identificación espectrofotométrica de un colorante ABTS, registrado por Boehringer Manheim. Su distribución por grupos de patologías siguió el mismo perfil que la SOD y GPx, pero no se modificó al correlacionarse con las concentraciones GRt. Por todo ello puede deducirse que es el tejido amigdalar, y no el adenoideo o el exudado ótico, el que refleja el dintel de sufrimiento infeccioso, y que éste se correlaciona especialmente con las concentraciones de los agentes *scavengers* SOD y GPx.

El conocimiento de este daño amigdalar no es nuevo. Lai y cols.[3] habían identificado en 1996 la especial distribución en la expresión amigdalar de la SOD, cuya forma predominante, la asociada a manganeso, se localiza en las mitocondrias de la celularidad linfoide extrafolicular y de las criptas, a modo de protección de los centros germinales. Shukla y cols.[21] equiparan en eficacia terapéutica la amigdalectomía y la administración durante meses de N-acetil-cisteína (NAC) y tocoferol en niños con amigdalitis de repetición. Además, Jeannin y cols.[22] observan mecanismos de acción de GSH y NAC semejantes promoviendo la expresión de interleucina-2 con elevación de la resistencia a la apoptosis celular amigdalar, a la vez que deprimiendo la síntesis de interleucina-4 por las células T-colaboradores, y postula que la similitud estructural de ambas moléculas le confiere a la NAC su capacidad reguladora de la oxidación en las amígdalas palatinas. Finalmente, Onerci y cols.[23] identifican un déficit en la concentración de zinc plasmático de niños con amigdalitis de repetición con respecto a controles sanos, que se subsana con la administración de suplementos del oligoelemento, y se previene asociando tocoferol y ácido ascórbico, ya que parecerían activar la variante de la SOD asociada al zinc -que era la forma de la enzima menos abundante en amígdalas-.

El sufrimiento amigdalar parece así comprobado mediante valoraciones de la SOD focal o incluso de sangre periférica. No puede decirse lo mismo de la

afectación en nasofaringe u oído medio. Este padecimiento vendría potenciado por la sobreexpresión de la GPx y la ausencia de compensación por la GRt. Debe recordarse que existe un moderado acuerdo sobre el mantenimiento de tasas elevadas de la SOD tras la amigdalectomía[3,16,20], y sobre la tendencia a la disminución de sus niveles y de los del GSH en sangre con el transcurso de los años, a modo de auténticos marcadores biológicos de envejecimiento celular[24-26]. Ello obliga a equiparar los grupos de estudio por indicaciones quirúrgicas y sobre todo por la edad poblacional, pero no parece que ello reste interés a las conclusiones que de los resultados aquí obtenidos se deducen: 1) la indicación de terapia antioxidante como alternativa a la cirugía, al menos en circunstancias donde una analítica de sangre objetive elevaciones en los niveles de SOD, 2) la monitorización de la enfermedad amigdalar mediante un marcador biológico de buena sensibilidad y aceptable especificidad y, 3) la identificación de circunstancias con efecto terapéutico y pronóstico que puedan modificar el status oxidativo del entorno amigdalar (abscesos locales, consumo de tabaco, cirugía ORL...).

REFERENCIAS

1.- López González MA, Sánchez B, Mata F, Delgado F. Tonsillar lymphocyte subsets in recurrent acute tonsillitis and tonsillar hypertophy. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1998; 43: 33-9.

2.- Agren K, Andersson U, Litton M, Funa K, Nordlander B, Andersson J. The production of immunoregulatory cytokines is localized to the extrafollicular area of human tonsils. Acta Otolaryngol 1996; 116: 477-85.

3.- Lai MT, Ohmichi T, Miyahara S, Mori A, Masuda Y. Superoxide dismutases in human palatine tonsils. Acta Otolaryngol Stockh 1996; Suppl. 523: 120-3

4.- Morikawa K, Morikawa S. Immunomodulatory effect of recombinant human superoxide dismutase (SOD) on human B lymphocyte function in vitro. Cell Immunol 1996; 172: 70-6.

5.- García Callejo FJ, Velert Vila MM, Martínez Beneyto MP, Marco Algarra J. Medida de los niveles de superóxido dismutasa en la amigdalitis de repetición. Utilidad práctica. Acta Otorrinolaringol Esp 1999; 50: 502-4.

6.- Neugebaur P, Bonnekoh B, Wevens A, Michel O, Mabrie G, Krieg T, et al. Human keratinocyte culture fron the peritonsillar mucosa. Eur Arch Otorhinolaryngol 1996; 253: 245-51.

7.- Ferro LM, Weedon HM, Flego LR, Beroukas D, Zola H. An organ fragment culture model to study lymphocyte activation in human lymphoid tissue. Immunobiology 1993; 188: 51-61.

8.- Kraus RJ, Ganiher HE. Reaction of cyanide with glutathione peroxidase. Biochem Biophys Res Common 1980; 96: 1116-22.

9.- Zalewski P, Sibinska E, Blaszczyk J, Olszewski J, Olszewski Ziaber A, Kedziora J, et al. [Oxygen-derived free radicals of granulocytes in the blood of patients with crhonic inflammation of the middle ear and palatine tonsils]. Otolaryngol Pol 1995; 49 (Suppl. 23): 157-9.

10.- Lee ES, Woo JS, Hwang SJ, Lim HH, Suh HK. Protective role of superoxide dismutase in rat eustachian tubal mucosa against acute otitis media induced by upper respiratory tract infection. J Laryngol Otol 2000; 114: 832-6.

11.- Parks RR, Huang CC, Haddad J. Superoxide dismuatase in an animal model of otitis media. Eur Arch Otorhinolaryngol 1995; 252: 153-8.

12.- Ovesen T. Implications of middle ear hyperoxia induced by ventilation tubes in otitis media with effusion. APMIS (Suppl.) 1995; 531-6.

13.- Doner F, Delibas N, Dogru H, Sari I, Yorgancigil B. Malondialdehyde levels and superoxide dismutase activity in experimental maxillary sinusitis. Auris Nasus Larynx 1999; 26: 287-91.

14.- D´Mello RA, Langford PR, Kroll JS. Role of bacterial Mn-cofactored superoxide dismutase in oxidative stress responses, nasopharyngeal colonization, and sustained bacteriemia caused by Haemophilus influenzae type b. Infect Immun 1997; 65: 2700-6.

15.- García Callejo FJ, Blay Galaud L, Platero Zamarreño A, Velert Vila MM, Mallea Cañizares I, Marco Algarra J. Detección de patología amigdalar mediante los niveles de superóxido dismutasa. Estudio comparativo por indicaciones quirúrgicas de amigdalectomía. Acta Otorrinolaringol Esp 2000; 51: 713-8.

16.- Shukla GK, Garg A, Bhatia N, Pandey S, Kaur G, Shukla RN, et al. Significance of free radicals in chronic tonsillitis. Boll Chim Farm 2000; 139: 103-5.

17.- Yokoyama Y, Harabuchi Y, Kukuminato Y, Kataura A. [Superoxide production by neutrophils in patients with recurrent tonsillitis]. Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho 1994; 97: 2259-65.

18.- Yokoyama Y, Harabuchi T, Kodama H, Murakata H, Kataura A. Systemic immune response to streptococcal and staphylococcal lipoteichoic acids in children with recurrent tonsillitis. Acta Otolaryngol (Suppl.) 1996; 523108-11.

19.- Hirose Y, Mokuno K, Wakai M, Takahashi A, Hashizume Y, Yanagi T, et al. Elevated cerebrospinal fluid levels of manganese superoxide dismutase in bacterial meningitis. J Neurol Sci 1995; 131: 51-7.

20.- Hone SW, Moodley S, Donnelly MJ, Fenton JE, Gormley PK, Walsh M. The effect of tonsillectomy on eustachian tube function. Clin Otolaryngol 1997; 22: 511-4.

21.- Shukla GK, Sharma S, Shukla A, Pandey S, Mishra SC, Chandra M, et al. Comparative stautus of oxidative damage and antioxidant enzymes in chronic tonsillitis patients. Boll Chim Farm 1998; 137: 206-9.

22.- Jeannin P, Delneste Y, Lecoanet Henchoz S, Gauchat JF, Life P, Holmes D, et al. Thiols decrease human interleukin (IL) 4 production and IL-4-induced immunoglobulin synthesis. J Exp Med 1995; 182: 1785-92.

23.- Onerci M, Kus S, Ogretmenoglu O. Trace elements in children with crhonic and recurrent tonsillitis. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1997; 41: 47-51.

24.- Hazelton GA, Lang CA. Glutathione contents of tissues in the aging mouse. Biochem J 1980; 188: 25-30.

25.- Sies H. Biochemistry of oxidative stress. Angew Chemie 1986; 25: 1058-71.

26.- Al-Turk W, Stohs SJ, El-Rashidy FH, Othman S. Changes in glutathione and its metabolizing enzymes in human erythrocytes and lymphocytes with age. J Pharm Pharmacol 1987; 39: 13-6.