

**Estudio experimental de la infiltración leucocitaria de amígdalas palatinas durante la crisis aguda de la amigdalitis pultácea en niños: Implicaciones terapéuticas sobre la modulación de la inflamación**

**Experimental study on leukocyte infiltration of tonsils during the acute crisis of the pultácea tonsillitis in children: Therapeutic implications about the modulation of the inflammation**

M.A. LÓPEZ GONZÁLEZ\*, D. ALONSO ROSA\*\*, F. MATA MADERUELO\*\*\*, F. DELGADO MORENO\*\*\*

\*CENTRO DE ESPECIALIDADES DR. FLEMING. HOSPITALES UNIVERSITARIOS VIRGEN DEL ROCÍO, SEVILLA.

\*\*SERVICIO DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA, CENTRO DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO, HOSPITALES UNIVERSITARIOS VIRGEN DEL ROCÍO, SEVILLA.

\*\*\*UNIDAD DE ORL PEDIÁTRICA, HOSPITAL INFANTIL, HOSPITALES UNIVERSITARIOS VIRGEN DEL ROCÍO, SEVILLA.

*Resumen*

La infección de garganta es uno de los problemas más comunes durante la infancia. El *Streptococcus pyogenes* está presente en la mayoría de los casos de amigdalitis pultácea. El propósito de este estudio ha sido profundizar en el conocimiento de la respuesta inmune durante la crisis aguda y el período intercrisis de la amigdalitis pultácea. Veinte niños se diagnosticaron de amigdalitis aguda recurrente (mas de 4 brotes por año durante mas de 1 año) con indicación de amigdalectomía con o sin adenoidectomía. Durante la crisis aguda de la amigdalitis pultácea apareció leucocitosis con neutrofilia y cultivos positivos para *Streptococcus pyogenes* en el 55% de los casos. También se constató un aumento importante de la tasa de anticuerpos antiestreptolisina O y antidesoxirribonucleasa B, durante la evolución del proceso. La infiltración leucocitaria amigdalar durante la crisis

aguda fue a expensas de neutrófilos (incrementaron 23 veces), eosinófilos (incrementaron 18 veces) basófilos (incrementaron 10 veces) y monocitos (incrementaron 5 veces), cuando se compararon con los leucocitos amigdalares del período intercrisis, existiendo un incremento mucho más importante de la infiltración de basófilos (incrementaron 40 veces) en amígdalas durante la crisis aguda, cuando se comparó con los leucocitos de sangre periférica de la misma crisis aguda. En la respuesta inmune amigdalaguda juegan un papel primordial las células inflamatorias: neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos. A la vista de los hallazgos presentados, proponemos tratamientos racionales de la amigdalitis pultácea a través de la modulación de la inflamación, aparte de su tratamiento antibiótico, lo que requiere hasta su completa validación más trabajo experimental y clínico.

Palabras claves: Amigdalitis. Infección infantil. Recuento leucocitario. Neutrófilos. Linfocitos. Monocitos. Eosinófilos. Basófilos. Fase aguda. Modulación de la inflamación.

## Summary

Throat infection is a common problem during infancy. *Streptococcus pyogenes* is present in the most of the pultacea tonsillitis cases. The propose of this study has been to know the specific immune response during the acute crisis and inter-crisis period of the pultacea tonsillitis. Twenty children were diagnosed of recurrent acute tonsillitis (more than four outbreaks a year during more than one year) with indication of tonsillectomy with or without adenoidectomy. Leukocytosis with neutrophilia and positivity to *Streptococcus pyogenes* in 55% of the cases appeared during the acute crisis of the pultacea tonsillitis. Also, an important increase of antistreptolysin O and antideoxyribonuclease B antibodies occurred during the evolution of the process. Tonsillar lymphocyte infiltration during the acute crisis was due to neutrophils (increased 23 times), eosinophils (increased 18 times), basophils (increased 10 times), and monocytes (increased 5 times) when was compared to tonsillar leukocytes during the intercrisis period. Also, there was an increase, much more important, of the basophil infiltration (increased 40 times) in tonsils during the acute crisis, when was compared to peripheral blood leukocytes of the same acute crisis. Inflammatory cells play a important role in the acute tonsillar immune response: neutrophils, eosinophils, basophils, and monocytes. We propose rational treatments of the pultacea tonsillitis, considering these findings, through the modulation of the inflammation, together to antibiotic treatment. Much more experimental and clinical works are necessary until its complete validation.

Key words: Tonsillitis. Infantile infection. Leukocyte count. Neutrophils. Lymphocytes. Monocytes. Eosinophils. Basophils. Acute phase. Inflammation modulation.

## Introducción

La amigdalitis aguda recurrente se presenta como uno de los problemas infecciosos más comunes de la población pediátrica, siendo el *Streptococcus pyogenes* el germen que juega un papel más importante (1). Podemos diferenciar la crisis aguda y el periodo intercrisis de la amigdalitis pultácea. La crisis aguda suele comenzar con cefalea, dolor abdominal y vómitos. Estos síntomas suelen acompañarse de fiebre hasta de 40°C. Horas después de los síntomas iniciales puede aparecer dolorimiento de garganta, exudación amigdalares y eritema faríngeo. El grado de dolor faríngeo es inconstante y puede variar desde leve a intenso, dificultando la deglución. Suele aparecer precozmente una linfadenopatía cervical anterior, con ganglios a menudo hiperestésicos. La fiebre puede persistir durante 1-4 días. Como hallazgos físicos están el enrojecimiento difuso de las amígdalas, de los pilares amigdalares, un moteado petequial del paladar blando, linfadenitis y exudado folicular (2). El periodo intercrisis es el que transcurre entre las crisis agudas, en él se normalizan la clínica y la hematología, es el periodo en el que se realiza la amigdalectomía en caso de estar indicada.

El sistema inmune está plenamente inmerso tanto en el periodo intercrisis como sobretodo durante la crisis aguda. Así, los neutrófilos y monocitos activados o macrófagos fagocitan antígenos para la destrucción intracelular en sus fagolisosomas. La destrucción de patógenos tras su endocitosis se lleva a cabo mediante metabolitos del oxígeno y sus derivados, que son secretados dentro de los fagolisosomas junto con otros inhibidores del metabolismo bacteriano. Las enzimas promueven la degradación de inmunocomplejos, microorganismos y otros antígenos previamente fagocitados. Los eosinófilos, en contraste con los neutrófilos y macrófagos, son sólo débilmente fagocíticos, pero son importantes en el daño a patógenos grandes (tales como algunos nematodos intestinales) mediante la liberación de sus contenidos granulares al exterior, teniendo una importante participación en la enfermedad parasitaria y alérgica, sobre todo en la fase tardía (3). Los macrófagos y otros fagocitos mononucleares son células de larga vida y pueden actuar también como células presentadoras de antígenos, recogiendo el antígeno de la periferia, recirculando a los tejidos linfoides secundarios y presentando fragmentos antigénicos, asociados con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II, a las células T CD4+. Los macrófagos liberan también varias citoquinas, algunas de las cuales están implicadas en la activación celular mientras que otras median el daño citotóxico a células diana. Los linfocitos B producen anticuerpos que reconocen antígenos extracelulares, generalmente antígenos intactos disueltos y libres, asociados a microorganismos o que pueden ser moléculas que se expresan intactas en la superficie de células infectadas. Los anticuerpos también pueden sensibilizar células o grandes parásitos para que sean atacados por células citotóxicas. Los eosinófilos y los linfocitos granulares grandes pueden atacar a sus dianas mediante este mecanismo, jugando un papel muy importante en el control del desarrollo de la reacción inflamatoria. Los linfocitos T reconocen antígenos intracelulares en la superficie de las células del cuerpo como fragmentos antigé-

nicos que le sean presentados en asociación con moléculas codificadas por el complejo mayor de histocompatibilidad. Los basófilos, en relación con la IgE, cuando encuentran un antígeno específico se disparan para liberar sus mediadores inflamatorios, contienen histamina y son importantes en los mecanismos alérgicos durante su fase temprana y tardía (4, 5).

Con el fin de conocer mas íntimamente estos mecanismos inmunológicos y sacar alguna enseñanza práctica en relación con el enfoque terapéutico, procedimos a estudiar la infiltración de células blancas de las amígdalas palatinas en niños con amigdalitis pultácea durante la crisis aguda y el período intercrisis.

## *Material y métodos*

### *Pacientes*

Un total de 20 niños de edades comprendidas entre los 4,2 y los 14,5 años con una media de 8,7 años, presentaron amigdalitis pultácea (mas de 4 brotes por año durante mas de 1 año) y tuvieron la indicación de amigdalectomía con o sin adenoidectomía. Pertenecían al grupo de amigdalitis aguda recurrente con amígdalas de tamaño 0 y 1, de acuerdo con la clasificación basada en la estimación clínica del tamaño de las amígdalas palatinas y la historia infecciosa amigdalar (6). Los niños sometidos a este estudio no estaban tomando antibióticos ni lo habían tomado al menos durante el mes previo.

### *Hemograma*

Se realizó un hemograma durante la crisis aguda y durante el período intercrisis en la semana previa a la amigdalectomía.

### *Bacteriología*

Durante la crisis aguda de la amigdalitis pultácea, se recogió en consulta una toma para cultivo directamente de la placa de pus sobre las amígdalas o exudado amigdalar mediante un hisopo. Durante el último período intercrisis de la amigdalitis pultácea se efectuó la amigdalectomía, procediéndose a la toma de cultivo superficial e intraparenquimatosa según ya se describió con detalle (6). Los hisopos fueron introducidos en sus medios de transporte y enviados inmediatamente al laboratorio de microbiología.

### *Determinaciones de anticuerpos antiestreptolisina O (ASLO) y anticuerpos antidesoxirribonucleasa B (ADB)*

ASLO y ADB se midieron en suero de los 20 pacientes en la semana previa a la amigdalectomía. ASLO se cuantificó mediante nefelometría laser (Behring, Alemania) y ADB por enzimoimmunoensayo (Wampole, EEUU). ASLO mide en general los anticuerpos antiestreptococos betahemolíticos y ADB los anticuerpos antiestreptococos cardionefrotóxicos (7, 8). El límite superior de la normalidad en nuestro medio está situado en 333 UI/ml para el ASLO y en 660 UI/ml para ADB.

### *Suspensión celular amigdalár*

Durante la crisis aguda, se tomó mediante una espátula el contenido de pus de las placas amigdalares, suspendiéndolo en suero fisiológico tamponado con fosfato (PBS), dejándolo decantar durante 1 min para que sedimentara el tejido no celular, y recuperando en el sobrenadante la suspensión celular de la placa amigdalár. Durante el último período intercrisis se realizó la amigdalectomía. Inmediatamente después de efectuada la intervención, una amígdala se lavó en PBS para eliminar la posible contaminación sanguínea y se cortó en dos mitades con bisturí. Una de estas partes se introdujo en un tubo de ensayo de 50 ml con 20 ml de PBS, se troceó hasta desmenuzarla, se agitó para desprender las células blancas, se dejó decantar durante 1 min para que sedimentara el tejido de sostén y se recuperó en el sobrenadante la suspensión celular amigdalár.

### *Recuento de células blancas amigdalares*

De cada suspensión celular de amígdalas se realizó inmediatamente un frotis sobre un portaobjetos de cristal, se fijó con metanol y se tiñó con Giemsa para recuento diferencial de leucocitos con microscopio óptico, o bien, se diluyó cada suspensión celular amigdalár con PBS hasta obtener una concentración entre 4.000 y 12.000 células por microlitro, que son las cifras normales de células blancas en sangre periférica y se procedió a su recuento automatizado en dos diferentes contadores celulares, un Sysmex NE-8000 y un Technicon H3.

## *Resultados*

La bacteriología presentó cultivo positivo para estreptococos betahemolíticos en un 30% de los casos durante el período intercrisis con 5 casos positivos para *Streptococcus pyogenes* del grupo A y un caso para el grupo C. Mientras que en la crisis aguda de la amigdalitis pultácea se halló un 55% de cultivos positivos para estreptococos betahemolíticos, con 9 casos positivos de *Streptococcus pyogenes* del grupo A, 1 caso positivo del grupo C y otro caso positivo del grupo G.

La serología presentó valores elevados tanto para ASLO como para ADB, siendo la media  $\pm$  error estándar de los valores de ASLO de  $924 \pm 152$  UI/ml y  $1.653 \pm 257$  UI/ml los valores de ADB.

Los hemogramas del período intercrisis de la amigdalitis pultácea se encontraban dentro de la normalidad, con una media  $\pm$  desviación estándar de leucocitos totales de  $7.262 \pm 1.349/\mu\text{l}$ , presentando un recuento diferencial del  $47,2 \pm 13,4\%$  de neutrófilos;  $41,9 \pm 11,6\%$  de linfocitos;  $6,8 \pm 1,5\%$  de monocitos;  $3,5 \pm 2,4\%$  de eosinófilos y  $0,48 \pm 0,24\%$  de basófilos. Mientras que los hemogramas de la fase crisis de la amigdalitis pultácea presentaron leucocitosis con neutrofilia, con una media  $\pm$  desviación estándar de leucocitos totales de  $14.289 \pm 3.682/\mu\text{l}$ , presentando un recuento diferencial del  $62,4 \pm 13,0\%$  de neutrófilos;  $28,5 \pm 12,1\%$  de linfocitos;  $6,1 \pm 1,5\%$  de monocitos;  $2,7 \pm 2,1\%$  de eosinófilos y  $0,24 \pm 0,19\%$  de basófilos.

La tabla I expone la composición leucocitaria amigdalar durante la crisis aguda y el período intercrisis.

Los estudios comparativos entre células blancas de amígdalas palatinas durante la crisis aguda y el período intercrisis de la amigdalitis pultácea, se representan en las figuras 1 y 2, donde se cuantifican los incrementos de las mismas.

**tabla I**

Composición celular leucocitaria de las amígdalas palatinas durante la crisis aguda y el período intercrisis de la amigdalitis pultácea en niños.

	Crisis aguda	Período intercrisis
Neutrófilos	$32,0 \pm 5,8$	$1,4 \pm 0,9$
Linfocitos	$33,4 \pm 6,1$	$94,0 \pm 3,6$
Monocitos	$15,9 \pm 4,4$	$3,2 \pm 1,5$
Eosinófilos	$8,8 \pm 2,3$	$0,5 \pm 0,2$
Basófilos	$9,7 \pm 2,7$	$1,0 \pm 0,4$

Los valores representan la media  $\pm$  desviación estándar de los porcentajes de células blancas.

## *Discusión*

La amigdalitis pultácea continúa siendo un problema frecuente en la niñez. Hay una íntima relación entre los sistemas inmunológicos y neuroendocrino a través de la hormona pineal melatonina (9, 10). Se han descrito niveles de melatonina en amígdalas palatinas de niños con amigdalitis aguda recurrente y con hipertrofia amigdalar (11). También se han detectado receptores de melatonina en lin-

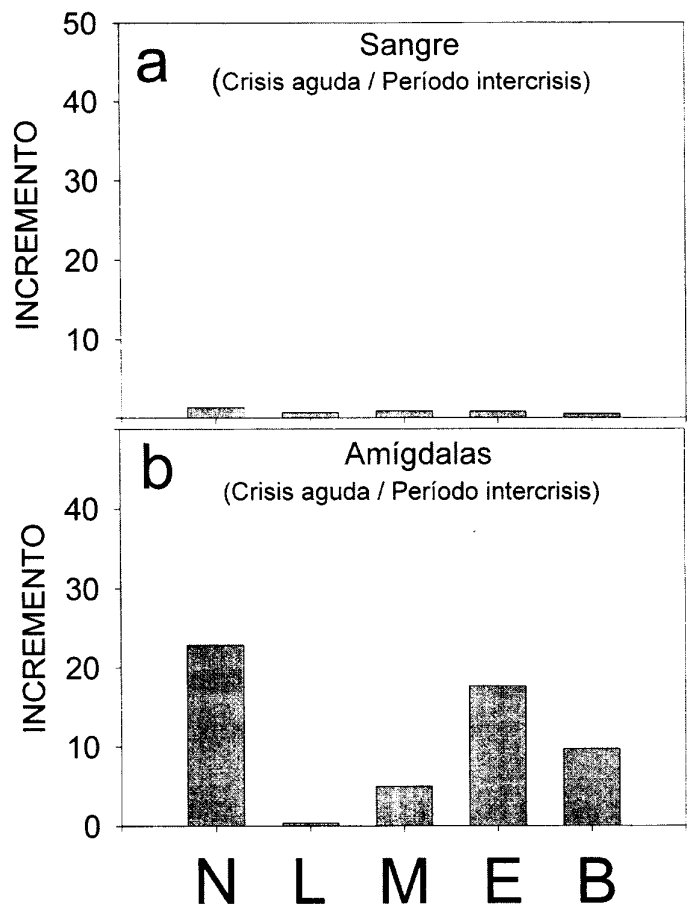
focitos (12-14) y en neutrófilos (15), por lo que debe haber un equilibrio entre los diferentes sistemas orgánicos como base de los procesos defensivos.

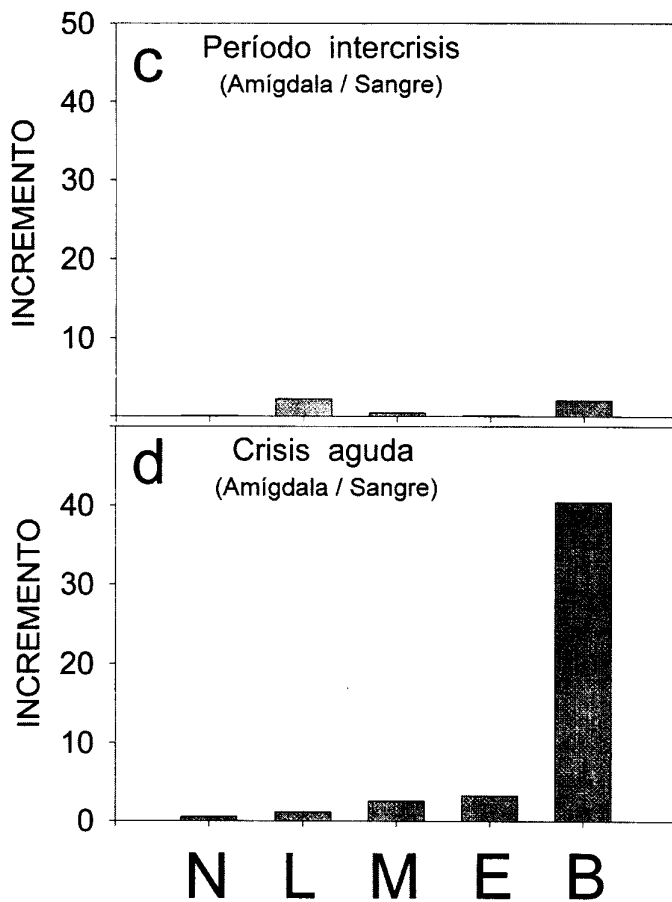
En nuestro estudio, los datos sanguíneos indican una leucocitosis con neutrofilia propios de un proceso infeccioso agudo, conjuntamente con los valores elevados de anticuerpos antiestreptococos. La bacteriología confirmó al estreptococo beta hemolítico en algo mas de la mitad de los casos durante la crisis aguda.

En el período intercrisis de la amigdalitis pultácea predominan los linfocitos en amígdalas, siendo la infiltración inflamatoria poco importante. En cambio, durante la crisis aguda se produce la placa de pus o exudado amigdalár que está compuesta por una infiltración masiva de estas células inflamatorias, incrementándose los neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos.

En sangre periférica se produjo un incremento muy leve durante la crisis aguda de 1,3 veces en los neutrófilos, al comparar con el período intercrisis (Fig. 1a). En amígdalas palatinas se incrementaron durante la crisis aguda 23 veces los neutrófilos, 18 veces los eosinófilos, 10 veces los basófilos y 5 veces los monocitos, cuando se comparó con el período intercrisis (Fig. 1b). En el período intercrisis estaban incrementadas en amígdalas palatinas 2,2 veces los linfocitos y 2,1 veces los basófilos, al comparar con los leucocitos de sangre periférica del mismo período intercrisis (Fig. 2c). Y por último, durante la crisis aguda se incrementaron 40 veces los basófilos en amígdalas palatinas, al comparar con los leucocitos de sangre periférica (Fig. 2d).

**Figura 1.** Incremento de la infiltración leucocitaria amigdalár durante la crisis aguda de la amigdalitis pultácea en niños. Los valores significan el número de veces que los leucocitos se incrementan durante la crisis aguda en relación con el período intercrisis en sangre periférica (a) y en amígdalas palatinas (b). En (a) se representa la razón entre la media del porcentaje de leucocitos de sangre periférica durante la crisis aguda dividido por la media del porcentaje de leucocitos de sangre periférica durante el período intercrisis. En (b) se representa la razón entre la media del porcentaje de leucocitos de amígdalas palatinas durante la crisis aguda dividido por la media del porcentaje de leucocitos de amígdalas palatinas durante el período intercrisis. N, neutrófilos; L, linfocitos; M, monocitos; E, eosinófilos; B, basófilos.





**Figura 2.** Incremento de la infiltración leucocitaria de amígdalas palatinas en relación con los linfocitos de sangre periférica durante la amigdalitis pultácea en niños. Los valores significan el número de veces que los leucocitos se incrementan en amígdalas palatinas en relación con los de sangre periférica en el período intercrisis (c) y durante la crisis aguda (d). En (c) se representa la razón entre la media del porcentaje de leucocitos de amígdalas palatinas en el período intercrisis dividido por la media del porcentaje de leucocitos en sangre periférica durante el mismo período intercrisis. En (d) se representa la razón entre la media del porcentaje de leucocitos de amígdalas palatinas durante la crisis aguda dividido por la media del porcentaje de leucocitos en sangre periférica durante la misma crisis aguda. N, neutrófilos; L, linfocitos; M, monocitos; E, eosinófilos; B, basófilos.

A la vista de estos resultados podemos entender que el aumento de neutrófilos está dirigido a la destrucción y/o fagocitosis bacteriana. Los monocitos, una vez activados, les ayudan en esta tarea y sirven como células presentadoras de antígenos. Los eosinófilos y basófilos son células típicas de la reacción inflamatoria en su fase temprana y fase tardía.

El tratamiento antibiótico debilita y/o destruye a las bacterias para que sean más fácilmente eliminadas por los neutrófilos y monocitos. Las células del componente inflamatorio, fundamentalmente eosinófilos y basófilos, pueden ser, de alguna manera, moduladas en su migración y en su liberación de mediadores inflamatorios. Para ello contamos con medicamentos, ya disponibles algunos de ellos comercialmente y otros en fase de investigación. Estos grupos de medicamentos son: 1) antagonistas de los receptores  $H_1$  periféricos (astemizol, azatadina, cetirizina, ebastina, fexofenadina, loratadina, mizolastina, oxatomida, terfenadina, triprolidina); 2) tres tipos de modificadores de los leucotrienos como los 2a) antagonistas de los receptores  $D_4$  de los leucotrienos (montelukast, pobilukast, pranlukast, tomelukast, verlukast, zaforlukast, MK-571), los 2b) antagonistas de la acti-



vación de la 5-lipoxigenasa (BAY X1005, MK-0591, MK-886) y los 2c) inhibidores del sitio de acción de la 5-lipoxigenasa (zileuton, A-79175, ZD 2138); 3) inhibidores de la tirosina quinasa y 4) dos clases de hormonas como la 4a) melatonina y los 4b) corticosteroides. Todos estos moduladores de la inflamación tienen en común su acción sobre la migración celular inflamatoria, modulando la presencia de estas células en el foco inflamatorio-infeccioso, así como también modulan la liberación de sus mediadores inflamatorios (9, 11, 15-24).

Comprobamos que existía una correlación de los diferentes parámetros entre los contadores automáticos celulares Sysmex NE-8000 y Technicon H3 y el recuento manual con microscopio óptico, como se describió con anterioridad (25).

Podemos considerar en el tratamiento de la amigdalitis pultácea, conjuntamente con la terapia antibiótica, la modulación del sistema inmune amigdalario a través de la actuación sobre las células inflamatorias (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), mediante los antedichos moduladores de los leucotrienos, los inhibidores de los receptores H<sub>1</sub> periféricos, los inhibidores de la tirosina quinasa, las hormonas corticosuprarrenales y la hormona pineal melatonina. Estos medicamentos actuarían modulando la migración celular inflamatoria y sus mediadores inflamatorios. Este nuevo enfoque, basado en hechos, debe ser validado plenamente mediante trabajo experimental y clínico. Mas estudios están en curso para poder ir definiendo un tratamiento más racional de los procesos infecciosos amigdalares, a la luz de los nuevos hallazgos sobre la actuación del sistema inmune.

## *Agradecimientos*

Este trabajo ha sido realizado, en parte, con la ayuda número 94/528-112 de la Dirección General de Coordinación, Docencia e Investigación de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía. Nuestro reconocimiento a Salud Ponce Jiménez y Manoli López García por su labor técnica y de secretaría, respectivamente.

## *Bibliografía*

1. DeDio RM, Tom LWC, McGowan KL, Wetmore RF, Handler SD, Potsic PP. Microbiology of the tonsils and adenoids in a pediatric population. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1988;114:763-5.
2. Stern RC. Infecciones de las vías respiratorias altas. En RE Behrman, RM Kliegman, WE Nelson, VC Vaughan, editores. Tratado de pediatría 14<sup>o</sup> edición. Interamericana-McGraw-Hill, Madrid. 1993. Volumen IV, capítulo 14, páginas 1261-368.
3. Lichtenstein LM. The role of basophil in allergic reactions. En Conversations In Allergy. UCB Eds. XX Symposium of the Collegium Internationale Allergologicum. Nantucket, Massachusetts, 1994.

4. Brostoff J, Scadding GK, Male DK, Roitt IM. Introducción a las respuestas inmunitarias. En J. Brostoff, GK Scadding, DK Male, IM Roitt, editores. *Inmunología clínica*. Gower Medical Publishing, Londres. 1991. Volumen I, capítulo 1, páginas 1.1-1.7.
5. Schroeder JT, Kagey-Sobotka A, MacGlashan DW, Lichtenstein LM. The interaction of cytokines with human basophils and mast cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:79-81.
6. López González MA, Torronteras Santiago R, Mata Maderuelo F, Delgado Moreno F. Bacteriología en patología adenoamigdalar infecciosa y obstructiva. *Acta Otorrinolaring Esp* 1998;49:41-4.
7. Delgado Moreno F, Torronteras Santiago R, Gandul Mechán A, Abrante Jiménez A, Mata Maderuelo F. Desoxirribonucleasa B y ASLO. El valor de su determinación para el diagnóstico y tratamiento de la faringoamigdalitis estreptocócica. *Vox Paediatrica* 1994;2:178-80.
8. Kaplan EL, Rothermel CD, Johnson DR. Títulos de antiestreptolisina O y antidesoxirribonucleasa B: valores normales en niños de 2 a 12 años de edad de los EE.UU. *Pediatrics* (ed. esp.) 1998;45:5-8.
9. Guerrero JM, López González MA, Osuna C, Calvo JR. Specific binding of melatonin by immuno-competent cells in humans and rodents. Modifications during postnatal development. *Ann N Y Acad Sci* 1994;719:369-77.
10. Weihe E, Krekel J. The neuroimmune connection in human tonsils. *Brain Behav Immunity* 1991;5:41-54.
11. López González MA, Guerrero MA, Ceballo Pedraja JM, Delgado Moreno F. Melatonina en amígdalas palatinas de amigdalitis aguda recurrente e hipertrofia amigdalar. *Acta Otorrinolaring Esp* 1998; 49:625-8.
12. López González MA, Calvo JR, Osuna C, Guerrero JM. Interaction of melatonin with human lymphocytes: evidence for binding sites coupled to potentiation of cyclic AMP stimulated by vasoactive intestinal peptide and activation of cyclic GMP. *J Pineal Res* 1992;12:97-104.
13. Martín-Cacao A, López González MA, Calvo JR, Segura JJ, Guerrero JM. Melatonin binding sites in rat thymus during development. En Y Touitou, J Arent, P Pévet, editores. *Melatonin and the pineal gland: From basic science to clinical applications*. Excerta Médica, Amsterdam. 1993, páginas 79-82.
14. Guerrero JM, Calvo JR, Osuna C, López González MA. Binding of melatonin by lymphoid cells in humans and rodents. En GJM Maestroni, A Conti, RJ Reiter, editores. *Advances in Pineal Research*. John Libbey and Co, 1994. Londres. Volumen 7, capítulo 11, páginas 109-117.
15. López González MA, Calvo JR, Segura JJ, Guerrero JM. Characterization of melatonin binding sites in human peripheral blood neutrophils. *Biotechnol Therapeut* 1993;4:253-62.
16. Migliorati G, Pagliacci C, Moraca R, Crocicchio F, Nicoletti I, Riccardi C. Interleukins modulate glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis. *Int J Clin Lab Res* 1991;21:300-3.
17. López González MA, Calvo JR, Osuna C, Rubio A, Guerrero JM. Synergistic action of melatonin and vasoactive intestinal peptide in stimulating cyclic AMP production in human lymphocytes. *J Pineal Res* 1992;12:174-80.

18. López González MA, Calvo JR, Osuna C, Rubio A, Guerrero JM. Melatonin potentiates cyclic AMP production stimulated by vasoactive intestinal peptide in human lymphocytes. En Y Touitou, J Arent, P Pévet, editores. Melatonin and the pineal gland: From basic science to clinical applications. Excerta Médica, Amsterdam. 1993, páginas 273-6.
19. Migliorati G, Nicoletti I, D'Adamio F, Spreca A, Pagliacci C, Riccardi C. Dexamethasone induces apoptosis in mouse natural killer cells and cytotoxic T lymphocytes. Immunol 1994;81:21-6.
20. López González MA, Lucas M, Guerrero JM. Synergistic action of melatonin and vasoactive intestinal peptide in stimulating chemiluminescence response induced by phorbol myristate acetate in human lymphocytes. En GJM Maestroni, A Conti, RJ Reiter, editores. Advances in Pineal Research. John Libbey and Co, 1994. Londres. Volumen 7, capítulo 17, páginas 149-54.
21. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Gilad E, Hake P, Salzman AL, Szabó C. Protective effect of melatonin in carrageenan-induced models of local inflammation: relationship to its inhibitory effect on nitric oxide production and its peroxynitrite scavenging activity. J Pineal Res 1997;23:106-16.
22. Calhoun WJ, Lavins BJ, Minkwitz MC, Evans R, Gleich GJ, Cohn J. Effect of zafirlukast (Accolate) on cellular mediators on inflammation. Am J Respir Crit Care Med 1998;157:1381-9.
23. Gómez FP, Iglesia R, Roca J, Barberá JA, Chung F, Rodríguez-Roisin R. The effects of 5-lipoxygenase inhibition by zileuton on platelet-activating-factor-induced pulmonary abnormalities in mild asthma. Am J Respir Crit Care Med 1998;157:1559-64.
24. Horwitz RJ, McGill KA, Busse WW. The role of leukotriene modifiers in the treatment of asthma. Am J Respir Crit Care Med 1998;157:1363-71.
25. López González MA, Alonso Rosa D, Mata Maderuelo F, Delgado Moreno F. Basófilos en amígdalas palatinas de amigdalitis aguda recurrente e hipertrofia amigdalares en niños. Acta Otorrinolaring Esp 2000 (en prensa).

**Dirección para correspondencia:**

Miguel A. López González  
Centro de Especialidades Dr. Fleming  
Consulta 305-ORL  
C/ Juan de Padilla, 8  
41005 Sevilla

Fax: 955016973 Correo electrónico: malopez@cica.es