

**ALGORITMUL DE CERCETARE A POLIPIILOR NAZALI  
CU FOLOSIREA TEHNICILOR DE BIOLOGIE MOLECULARĂ**  
**Alexandru Sandul, Maria Tanurcova, Cezara Andreev , Victoria Liuțcanov**  
Catedra de Otorinolaringologie USMF "Nicolae Testemițanu"

**Summary**

*The method of molecular biology in diagnostic  
algorithm for nasal polyps (literature review)*

The literature review highlights the methods of molecular biology in investigation of the nasal polyps pathogenesis and morphogenesis and justify the choice of corresponding molecular markers.

**Rezumat**

Vizualizarea literaturii care subliniază importanța utilizării tehnicilor de biologie moleculară în studiul patogenezei și morfogenezei rinosinuzitei cronice polipoase. Se indică markeri corespunzători celulare și moleculare care demonstrează procese patologice care apar la nivelul mucoasei nasului și a sinusurilor paranazale.

**Actualitate**

Potrivit concepțiilor moderne, polipii nazali sunt hiperplazii inflamatorii ale mucoasei nasului și a sinusurilor paranazale, și nu sunt tumori adevărate.

Patogeneza și morfogeneza de polipoză nazală, precum și cauzele apariției de polipi și reparației lor după tratamentele chirurgicale sunt puțin cercetate.

În ultimii ani pentru evaluarea laborator-experimentală a proceselor patologice care apar în cazul rinosinuzitei polipoase sunt folosite mai des metode imunomorfologice, imunochimice, citologice și a biologiei moleculare.

Aceste metode permit determinarea caracterului populațiilor de celule care alcătuiesc infiltrat inflamator, clarificarea profilului de citochine de celule care interacționează în diferite etape ale reacției inflamatorii, să stabilească mecanisme de activare a reacției inflamatorii, secvența de dezvoltare a acestor mecanisme și multe alte întrebări ale patogenezei și morfogenezei de inflamație cronică și polipozei asociate cu aceste inflamații.

**Metode și materiale**

Printre metodele utilizate în laborator și studiile experimentale de polipi nazali, va trebui mai întâi să nominalizăm metode bazate pe utilizarea de anticorpi monoclonali. Anticorpi monoclonali se utilizează de obicei în două direcții:

- în cercetări imunologice folosind ELISA (analiza imunofermenală). Se cercetează suspendările izolate de celule obținute prin digestia enzimatică de țesut a polipului nazal, diviziunea celulelor prin citometrie în flux, pregătirea de cultură de celule, impactul asupra ei a preparatelor de încercare și determinarea citochinelor corespunzătoare, selectate de către celulele activate în mediul de cultură.

- în studiile imuno-morfologice sunt utilizate anticorpi etichetate.

Cercetările se efectuează pe secțiuni de țesut sau pe frotiu. Metode imunomorfologice presupun evaluare preventivă obligatorie ale obiectelor cercetate prin metode de rutină patomorfologice pentru determinarea apartenenței clasificate a polipozei nazale , de asemenea, determinarea reacției inflamatorii și statutului morfologic al polipilor nazali: edematoasa, fibroedematoasa, glandular, cu stroma atipică.

**Rezultate și discuții**

La examinarea histologică a țesutului polipos se observă:

- ✓ starea epitelului de suprafață (histotipul lui, nivelul secreției de celule ovale, caracterul și amploarea modificărilor, semne de descumare, metaplaziei).
- ✓ starea glandelor mucoase și seroase.
- ✓ starea țesutului subepitelial, prezența edemului inflamator, hiperemie, lymphostasis, natura infiltratului inflamator.
- ✓ determinarea etapei de reacție inflamatorie (alternativă, exudativă, productivă).
- ✓ determinarea gradului de eozinofilie a țesutului, expresivitatea a reacției macrofage
- ✓ prezența limfocitară-plasmocitară (gradul, relația cantitativă a limfocitelor și celulelor plasmatic).
- ✓ gradul de edemul țesutului, lymphostasis .
- ✓ gradul de modificări fibrotice .

La cercetări imunohistochimice în calitate de marcheri pentru inducția unei reacții inflamatorii pot fi folosite RANTES și IL-8, care acționează ca hemoatracante și stimulente a migrării leucocitelor, precum și activatori de macrofage.

Pentru a evalua componentul alergic și faza târzie a reacției alergice, precum și formarea de o inflamație cronică permanentă este important determinarea profilului Th-2 și Th-1, T-limfocitelor prin expresia IL-4, IL-5, IL-2, IFN- $\gamma$ .

Având în vedere că migrarea leucocitelor din sânge în țesuturi este asociată cu starea endoteliului și expresia moleculelor de adeziune ICAM-1 și VCAM-1, aceste molecule pot servi ca marcheri de inflamație a celulelor de activare în țesutul și indicatori de impilare a recruitmentului influențat de glykokortikoiduri.

Deoarece au glykokortikoidurile au un efect deprimant asupra factorilor de creștere, interesul prezintă expresia factorului de transformare de creștere -  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) după tratament.

Astfel, pentru analiza imunogistohimică nazală a polipi lor se recomandă următoarele marcheri:

- NF-kB – factor nuclear
- RANTES, IL-8 – chemokines, inductori de migrare a celulelor de inflamație
- IL-2, INF-  $\gamma$  – citokine T-limfocitelor cu profilul Th-1
- IL-4, IL-5 – citokine T-limfocitelor cu profilul Th-2
- ICAM-1, VCAM-1 – molecule de adeziune, autoritățile de reglementare a permeabilității vasculare la celule inflamatorii
- TGF- $\beta$  – ce transformă factor de creștere –  $\beta$ .

Evaluarea de exprimare a acestor molecule și înțelegerea rolului acestora în dinamica de inflamație sunt posibile numai prin compararea cu imaginea patomorfologică ale procesului, acest lucru înainte de cercetare imunohistochimică se efectuează în mod obligatoriu analiza histologică a polipilor țesutului în curs de revizuire colorare cu hematoxilina-eozina.

Interpretareamorfologică a rezultatelor se efectuează pe baza de comparare clinico morfologică, prin urmare, de la clinicianul se cere informații maxime ce se referă la diagnosticul clinic, evoluției clinice și durata bolii, și datele obiective despre starea mucoasei nazale și sinusurilor paranazale (CT, rinomanometrie, date endoscopie).

### **Concluzii**

Astfel, studiul a patogenezei și a morfogenezei nazale a polipilor cu ajutorul metodelor a biologiei moleculare și alegerea a marcherilor moleculari corespunzători se efectuează în dependență de scopul de bază și obiectivelor stabilite.

Acestea pot fi:

1. Studiul dinamicii de reacție inflamatorie (citochini pro-inflamatorii, molecule care reglementează permeabilitatea vasculară, interacțiunea lor, secvența de includere în diferite etape ale inflamației).
2. Studiul de activitate al populațiilor de celule și interacțiunea lor. Celule mastocite - ca autoritățile de reglementare a țesuturilor și permeabilitatea vasculară și purtători de

substanțe biologice active - mediatori de inflamație. Celulele epiteliale - ca transportatorii a receptorilor de protecție nespecifică înăscută. Fibroblaste - ca constructori și organizatorii a elementelor stromale ale mucoasei și polipilor nazali. Din celulele modificate sunt cercetate macrofage mononucleare, limfocitele, leucocitele segmentonucleare și eozinofile.

3. Studiul privind rolul sistemului imun local în regulamentul de inflamație și a proceselor reparatorii, factori celulare și umorale ale imunității mucoasei.
4. Studiul privind rolul unor mecanisme alergice, importanța interacțiunii Th-1 și Th-2 limfocite, recrutamentul eozinofile, funcția de IL-4, IL-5.
5. Studiul de proliferarea celulelor în polipii nazali, detectarea de molecule implicate în procesul de remodelare a matricei extracelulare.

Algoritmul propus pentru studiul de polipi nazali și mucoasei nazale și a sinusurilor paranazale prin utilizarea metodei imunohistochimice folosind anticorpi etichetate este departe de a epuiza posibilitățile de care dispune biologia moleculară contemporană. Acest algoritm corespunde cerințelor clinice și posibilităților departamentelor paraclinice în spitale moderne.

### **Bibliografie**

1. Bachert C, Watelet JB, Gevaert P, Cauwenberge PV. Pharmacological Management of Nasal Polyposis. *Drugs* 2005;65(11):1537-52
2. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Cuvelier C, Cauwenberge PV. Nasal Polyposis: From Cytocines to Growth. *Am J Rhinol* 2000; 14(5):279-90.
3. Benson M. Pathophysiological effects of glucocorticoids on nasal polyps: an update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5(1):31-5.
4. Bernstein J, Kansal R. Superantigen hypothesis for the early development of chronic hyperplastic sinusitis with massive nasal polyposis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 13: 39-44.
5. Ediger D, Sin BA, Heper A, Anadolu Y, Mésérlégil Z. Airway inflammation in nasal polyposis: immunopathological aspects of relation to asthma. *Clinical & Experimental Allergy* 2005; 35: 319.
6. Hissaria P, Smith W, Wormald P, et al. Short course of systemic corticosteroids in sinonasal polyposis: a double blind randomized placebo-controlled trial with evaluate of outcome measures. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118:128-33.
7. Larsen K, Tos M. The estimated incidence of symptomatic nasal polyps. *Acta Otolaryngol* 2002; 122:179-82.
8. Larsen PL, Tos M. Origin of Nasal Polyps. *Laryngoscope* 1991; 101:305-12
9. Nucera E, Schiavino D, Milani S, et al. Effects of lysine-acetylsalicylate (LAS) treatment in nasal polyposis: two controlled long term prospective follow up studies. *Thorax* 2000; 55(Suppl 2):S75-8.
10. Nores J, Avan P, Bonfils P. Medical management of nasal polyposis: a study in a series of 152 consecutive patients. *Rhinology* 2003; 41(2):97-102.
11. Pawankar R. Nasal polyposis: an update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2003;3(1):16.
12. Patiar S, Reece P. Cochrane database review of oral steroids for nasal polyps. *The Cochrane Collection* 2007;3: 1-17.
13. Souza BB, Serra MF, Dorgam JV, Sarreta SMC, Melo VR, Anselmo-Lima WT. Polipose Nasossinusal: Doença inflamatória Crônica Evolutiva. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2003;69(3):318-25.
14. Stoop AE, Heuden VD, Biewenga HA. Eosinophils in nasal polyps nasal mucosa: an immunohistochemical study. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:616-22.
15. Tao Z, Kong Y, Xiao B, et al. Effects of corticosteroid on eosinophils and expression of transforming growth factor beta 1 in nasal polyps. *Clin Otorhinolaryngol* 2003;17(8):474-5.

16. Zadeh MH, Banthia V, Anand VK, Huang C. Significance of eosinophilia in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol* 2002; 16:313-7. R. B. Pradhananga, A. Shrestha, B. Pradhan, et. al. 8
17. Zhang L, Han D, Zhang Y, Zhou B. The infiltration and activation stage of eosinophils in nasal polyps. *LinChuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi* 2001;15:486-8.18.
18. Zhang N, Holtappels G, Claeys C, Huang G, van Cauwenberge P, Bachert C. Pattern of Inflammation and Impact of Staphylococcus Aureus Enterotoxins in Nasal Polyps of Southern China. *Am J Rhinol* 2006; 20:445-50.
19. Valera FCP, Anselmo-Lima WT. Evaluation of Efficacy of Topical Corticosteroid for the Clinical Treatment of Nasal Polyposis: Searching for Clinical Events that may Predict Response to Treatment. *Rhinology* 2007; 45(1):59-62.

## **VIDEOLARINGOSTROSCOPIA ÎN DIAGNOSTICUL AFECȚIUNILOR LARINGELUI**

**Alexandru Sandul, Vasile Cabac, Ala Istratenco, Eudochia Reșetnicov,  
Lilia Scutelnic, Petru Castraveț**

Catedra Otorinolaringologie USMF „Nicolae Testemițanu”

### **Summary**

#### ***Videolaryngostroboscopy in Diagnosis of Laryngeal Diseases***

In 1855, Manuel Garcia first reported the use of a dental mirror in examining the laryngeal inlet. Since then, there have been numerous technological advances that have enabled detailed study of both the anatomical and biomechanical characteristics of the larynx previously not accomplished via indirect mirror laryngoscopy alone. Videolaryngostroboscopy allows the examination of the free margins of the vocal cords and allows to perform differential diagnosis of various organic diseases of throat. This method of examination including the „quasi-slow-motion technology” promotes diagnostic and treatment benefits in the vocal cord diseases.

### **Rezumat**

În 1855 Manuel Garcia primul a raportat despre utilizarea oglinzii dentare pentru examinarea laringelui. Numeroasele progrese tehnologice, survenite pe parcursul timpului, au permis examinarea minuțioasă atât a structurilor anatomice, cât și a caracteristicilor biomecanice ale laringelui, anterior inaccesibile prin laringoscopia indirectă. Videolaringostroboscopia permite examinarea marginii libere a coardelor vocale și permite de a efectua diagnosticul diferențial al diferitelor afecțiuni ale laringelui. Această metodă, incluzând „quasi-slow-motion technology”, promovează beneficiile diagnosticului și tratamentului în afecțiunile laringelui.

### **Actualitatea temei**

Patologia laringelui ocupă un loc însemnat în practica ORL. Dificultatea examinării laringelui, severitatea stării generale, determinate de afectarea funcției vitale de respirație, funcției fonatorii, dificultatea efectuării intervențiilor chirurgicale asupra laringelui, necesită o continuă performare a metodelor de diagnostic și tratament al patologiilor cu localizare laringiană.

Metodele actuale existente de examinare a laringelui utilizează optica de înaltă rezoluție (microlaringoscopia, fibrilaringoscopia ș.a.), cea ce favorizează vizualizarea cavității laringelui printr-o majorare a formațiunilor anatomice. În pofida acestui fapt, în ultimul timp s-a îmbunătățit calitatea diagnosticului patologiilor laringiene. [8,12]

Videolaringostroboscopia este metoda utilizată tot mai frecvent în diagnosticul patologiilor laringelui. Tehnicile endoscopice, de regulă, limitează examinarea corzilor vocale printr-o vizualizare superficială a lor. După datele obținute în urma examenului videolaringostroboscopic putem judeca despre prezența sau absența procesului patologic la nivelul laringelui atât la adulți, cât și la copii, putem efectua un diagnostic diferențial al patologiilor organice și funcționale,