
UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" CLUJ-NAPOCA

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Tratamentul postoperator în rinosinuzita cronică

Doctorand **Veronica-Elena Trombițaș**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Silviu Albu**

CUPRINS

INTRODUCERE.....	16
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	17
1.SISTEME DE VENTILAȚIE ȘI DRENAJ NAZOSINUSAL	18
1.1 Complexul ostiomeatal.....	18
1.2 Recesul sfenoetmoidal	18
1.3 Clearance-ul mucociliar	18
2.RINOSINUZITA CRONICĂ	21
2.1 Etiopatogeneză	22
2.2 Diagnostic.....	23
2.2.1 Diagnostic clinic.....	23
2.2.2 Diagnostic complementar	23
2.3 Managementul rinosinuzitei cronice.....	24
2.3.1 Importanța comorbidităților asociate: astmul bronșic, AERD, alergiile, bronșiectazia, COPD, statusul fumător, deficitul de Ig G.....	25
2.3.2 Tratamentul CRSsNP	27
2.3.3 Tratamentul CRSwNP.....	36
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ.....	44
1.IPOTEZA DE LUCRU	46
2.STUDIUL 1. TIPURI DE TRATAMENTE ÎN PERIOADA POSTOPERATORIE ÎN CRS. INFLUENȚA BIOFILMELOR ÎN EVOLUȚIA POSTOPERATORIE A CRS.....	48
2.1 Introducere.....	48
2.2 Obiectivele studiului	49
2.3 Material și metodă	50
2.4 Rezultate.....	50
2.4.1 Metode de tratament post ESS existente în literatură.....	50
2.4.2 Implicarea biofilmelor în evoluția și tratamentul CRS post ESS.....	60
2.5 Discuții.....	62
2.6 Concluzii.....	65
3.STUDIUL 2. MENȚINEREA PATENȚEI ANTROSTOMEI MAXILARE PRIN APLICAREA DE CRIOTERAPIE INTRAOPERATOR (ESS)	66
3.1 Introducere.....	66
3.2 Obiectivele studiului	67
3.3 Material și metodă	67
3.4 Rezultate.....	69
3.5 Discuții.....	74
3.6 Concluzii.....	75
4.STUDIUL 3. INFLUENȚA CRIOTERAPIEI ÎN VINDECAREA DUPĂ ESS.....	76
4.1 Introducere.....	76
4.2 Obiective.....	76

4.3	Material și metodă.....	77
4.4	Rezultate	78
4.5	Discuții	79
4.6	Concluzii	82
5.STUDIUL 4. INFLUENȚA FUMULUI DE ȚIGARĂ ÎN VINDECAREA RĂNILOR SEPTALE LA ȘOBOLAN.....		84
5.1	Introducere	84
5.2	Obiective.....	85
5.3	Material și metodă.....	85
5.4	Rezultate	87
5.5	Discuții	91
5.6	Concluzii	93
6.STUDIUL 5. ROLUL CELULELOR STEM ÎN TRATAMENTUL CRS LA ȘOARECE.....		94
6.1	Introducere	94
6.2	Obiective.....	94
6.3	Material și metodă.....	95
6.4	Rezultate	96
6.5	Discuții	100
6.6	Concluzii	101
7.CONCLUZII GENERALE		102
8.ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI.....		104
REFERINȚE		106
ANEXE.....		120

Cuvinte cheie: tratament postoperator, rinosinuzita cronică, complex ostiomeatal, reces sfenoetmoidal, clearance mucociliar, biofilme bacteriene, crioterapie, celule stem.

INTRODUCERE

Resursele terapeutice în rinosinuzita cronică deși dispun de o mare varietate, se dovedesc a fi limitate în cazul rinosinuzitelor cu un raspuns refractar la tratamentul obișnuit. Pentru o bună funcționare sinusală se urmărește obținerea drenajului și ventilației corecte, tratamentele existente până în prezent având deja aceste scopuri; principalele provocări apar atunci când rezultatele sunt temporare, iar patologia recidivează.

Stadiul actual al cunoașterii

Descrie sistemele de ventilație și drenaj nazosinusal, precum și mecanismul de clearance mucociliar, care stau la baza unei bune funcționări a mucoasei nazale și a sinusurilor paranasale. Trece în revistă metode de diagnostic și strategii terapeutice pentru rinosinuzita cronică existente până în prezent atât în practică, cât și în faza de cercetare.

Contribuția personală

1. Obiective generale

- Scurtă revizie a metodelor de tratament postoperator în CRS, existente până în prezent, eficiență, aplicabilitate, efecte adverse. Influența biofilmelor în tratamentul postoperator al CRS.
- Evaluarea experimentală a eficienței crioterapiei în menținerea patenței orificiului de antrostomă la oameni.
- Evaluarea experimentală a eficienței crioterapiei în vindecarea plagii chirurgicale în urma ESS, cu împiedicarea apariției complicațiilor postoperatorii.
- Evaluarea experimentală a influenței fumatului în perioada de recuperare după ESS.
- Evaluarea experimentală a influenței celulelor stem în vindecarea CRS cu sau fără tratament chirurgical.

2. Studiul 1. Tipuri de tratamente în perioada postoperatorie în CRS. Influența biofilmelor în evoluția postoperatorie a CRS.

Obiectivele studiului

1. Recenzarea tratamentelor utilizate în perioada postoperatorie din managementul CRS, cu detalierea celor mai intens studiate de-a lungul timpului.
2. Precizarea farmacodinamicii preparatelor menționate.
3. Sistematizarea implicațiilor biofilmelor bacteriene în direcționarea tratamentului postoperator în CRS.

Material și metodă

S-au accesat resursele bibliografice PubMed, Medline, Google Scholar și Cochrane, utilizând cuvintele cheie în limba engleză: *chronic rhinosinusitis, postoperative treatment, endoscopic sinus surgery, nasal saline irrigation, topical corticosteroids, systemic corticosteroids, sinus cavity debridement, intranasal antibiotics, topical antifungal, xylitol, Manuka Honey*, s-au analizat datele obținute, pe baza cărora s-a realizat o trecere în revistă a tratamentelor importante, care este redată mai jos.

Rezultate

Fie că este vorba de tratament topic, sistemic sau chirurgical, se urmărește respectarea ghidurilor terapeutice existente, cu trecerea în revistă a unor posibile direcții terapeutice, aflate acum în curs de cercetare. Biofilmele bacteriene au implicații importante în evoluția rinosinuzitelor cronice, în răspunsul acestora la tratamentul standard, fapt pentru care este importantă detectarea lor și adaptarea tratamentului la tipul de biofilm existent la suprafața mucoasei nazosinusale.

Concluzii

Fie că este vorba de CRSsNP sau CRSwNP, atitudinea terapeutică postoperatorie urmează trei direcții importante și anume menținerea drenajului și a ventilației sinusale obținute prin ESS, dar și evitarea apariției complicațiilor post ESS.

3. Studiul 2. Menținerea patenței antrostomei maxilare prin aplicarea de crioterapie intraoperator (ESS)

Obiectivele studiului

1. Evaluarea eficienței aplicării de crioterapie intraoperator, la nivelul antrostomei maxilare nou creată, în vederea menținerii unei bune permeabilități.
2. Îmbunătățirea confortului de viață, în perioada postoperatorie prin optimizarea funcționalității sinusale.

Material și metodă

Se aplică unui lot de 26 de de antrostome, intraoperator, 4 cicluri de crioterapie spray, cu pauză de 35 de secunde între aplicări. Evaluarea post operatorie se face la 1, 4, 12 săptămâni, prin examinare endoscopică și debridare chirurgicală. În același timp s-a urmărit evoluția confortului de viață al pacienților prin completarea chestionarelor SNOT 22 și urmărirea statistică a evoluției simptomelor specifice sinonazale.

Rezultate

La finalul celei de-a doua vizite de monitorizare postoperatorie, în lotul expus la crioterapie, un singur orificiu ostial are dimensiuni reduse, în timp ce în lotul martor, 8 dintre antrostome prezintă stenoză parțială. Din punct de vedere histologic, a doua vizită de monitorizare arată diferențe de importanță statistică între cele două loturi, în ceea ce privește infiltratul mononuclear, edemul, hiperplazia epitelială, respectiv celulele Goblet; în lotul martor acestea sunt asociate cu prezența stenozei ostiale. În lotul crioterat se remarcă o mai bună organizare a fibrelor de colagen, absența hiperplaziei epiteliale, numărul de celule Goblet fiind de asemenea redus. După completarea chestionarelor SNOT 22, analiza simptomelor specifice CRS și anume blocajul nazal, rinoree, hemaj, cefalee/presiune facială, tulburări ale mirosului, au fost analizate statistic. Dacă preoperator simptomul cu importanța cea mai mare pentru pacienți era obstrucția până la blocaj nazal, la finalul celei de a 12-a săptămâni postoperator, simptomatologia nazală este complet controlată.

3.1 Concluzii

Reducerea inflamației de la nivelul mucoasei nazosinusale, asociate cu un orificiu de antrostomă maxilară la dimensiuni optime, determină o recuperare rapidă a funcționalității, un pasaj aerian mai bun, îmbunătățirea clearance-ului ciliar printr-un drenaj sinus al eficient, evidențiate imediat postoperator și după aplicarea de crioterapie spray. Toate acestea se reflectă în confortul de viață al pacientului, care este foarte mult îmbunătățit, simptomatologia nazo-sinusală fiind controlată complet la 3 luni postoperator.

4. Studiul 3. Influența crioterapiei în vindecarea după ESS.

Obiective

Scopul studiului a fost evaluarea eficienței administrării crioterapiei spray de joasă presiune, sub control endoscopic în vindecarea post ESS, precum și influența acestei terapii în profilaxia complicațiilor postoperatorii, cum ar fi sinechii ale meatului mijlociu, stenze ostiale, lateralizarea cornetului mijlociu, cu dezvoltarea de stenoze septo-turbionare.

Material și metodă

Un lot de 18 pacienți cu rinosinuzită cronică bilaterală, cu sau fără polipoză nazală, au fost evaluați perioperator după scorurile Perioperative Sinus Endoscopy (POSE) și Lund-Kennedy, au urmat tratament chirurgical - Endoscopic sinus surgery (ESS) și s-a aplicat crioterapie spray la nivelul antrostomei maxilare unilateral, în patru cicluri de câte 5 secunde, cu pauză de câteva secunde între cicluri, până la completa dezghețare a țesutului, contralateral aplicându-se în același regim soluție salină spray.

Rezultate

Plecând de la evaluarea inițială, care nu arată diferențe semnificative statistic între cele două grupuri de antrostome maxilare (criotratate și tratate cu lavaj salin), diferențele încep să apară încă de la a doua vizită de monitorizare, semnificația statistică fiind prezentă atât în evaluările scorurilor EPOS ($P=.001$, $P=.012$, $P=.02$, $P=.006$, $P=.016$), cât și Lund-Kennedy ($P=.002$, $P=.005$, $P=.01$, $P=.02$, $P=.03$). Evaluările fracționate pe vizite de monitorizare, respectiv pe componentele scorurilor de evaluare endoscopică, arată o îmbunătățire în grupul antrostomelor criotratate atât în ceea ce privește prezența sinechiilor, a edemului, prezența polipilor, reducerea dimensiunilor ostiumului sinusal. Eliminarea de secreții nazosinusale și formarea de cruste muco-hematice sunt egal distribuite între cele două grupuri în perioada postoperatorie. Sinechiile atât septo-turbionare, cât și la nivelul meatului mijlociu sunt mult mai des întâlnite în lotul martor.

Concluzii

Studiul de față prezintă crioterapia ca metodă adjuvantă de prevenire a complicațiilor relativ tardive post ESS. În asociere cu tratamentul medicamentos standard și o debridare sistematică nazo-sinusală, aplicarea de crioterapie spray intraoperator a dus la rezultate favorabile în vindecarea mucoasei nazosinusale, dar și în prevenirea sinechiilor și a stenozelor sinusale.

5. Studiul 4. Influența fumului de țigară în vindecarea rănilor septale la șobolan

Obiective

Obiectivul general al acestui studiu îl reprezintă evaluarea influenței fumului de țigară în vindecarea plăgii de sept nazal la șobolan.

Material și metodă

74 de șobolani adulți, masculi din linia Wistar, cântărind fiecare circa 200-220 g, au fost cazați și îngrijiți conform normelor standard ale Centrului de Medicină Experimentală a UMF Cluj-Napoca. După prealabila anestezie prin injectare intraperitoneală de Zoletil 50 (10 mg/kg), s-a practicat inducerea unei plăgi chirurgicale unice, unilateral, cu ajutorul unui ac de seringă, abordul fiind interdentar până la nivelul fosei nazale drepte, acționând asupra treimii medii a septului. După această manoperă, animalele au fost randomizate în două grupuri, grupul expus la fumul de țigară (cigarette smoke, CS) și grupul martor, fiecare a câte 35 de animale. În fiecare grup s-au format loturi a câte 7 animale, care au fost sacrificate, pe rând, câte un lot din fiecare grup în zilele 2, 5, 14, 28, 42. După sacrificare s-a efectuat analiza histologică a mucoasei nazale, pe secțiuni coronale, cu H-E, Trichrom Masson, Luna, albastru de toluidină, PAS. Expunerea la fumul de țigară s-a realizat câte o oră pe zi, timp de 5 zile pe săptămână, până la 42 de zile și s-a realizat atât la fumul eliberat pasiv din capătul de ardere al țigării, cât și la fumul tras și redirecționat într-o cameră cu ventilator, special creată.

Rezultate

În zilele 2 și 5 post inducere de leziune septală, evoluția histologică în cele două loturi este asemănătoare, diferențele încep să apară din ziua a 14-a, hiperplazia celulelor caliciforme, semnificativă statistic ($p < 0,05$) fiind specifică lotului cu expunere la fumul de țigară. Apar diferențe statistice între cele două loturi în ceea ce privește hipertrofia epitelială și subepitelială ($p < 0,05$, testul MANOVA). În lotul martor se evidențiază metaplazie scuamoasă și keratinizare la nivelul mucoasei septumului. Infiltratul cu eosinofile, mastocite și eozinofile este semnificativ redus față de lotul expus. În ziua 28, în lotul experimental, deja se remarcă un caracter cronic al modificărilor histologice; la suprafața epiteliului se observă multiple zone de hipertofie, proliferare papilară multifocală cu stromă conjunctivă, iar la nivelul laminei propria sunt specifice modificările hipertrofice glandulare. Lotul martor prezintă o reducere semnificativă a infiltratului inflamator (eosinofile, mastocite, celule Goblet). În ziua 42, în lotul expus la CS, modificările cronice sunt tot mai evidente, fiind reprezentate de hiperplazie la nivelul laminei propria, hiperplazie și displazie epitelială, hipertrofia marcată a celulelor caliciforme. Infiltratul leucocitar este discret, în timp ce infiltratul eozinofilic încă persistă. Lotul martor arată îmbunătățiri semnificative ale infiltratului inflamator, precum și o reducere importantă a celulelor caliciforme, pierderi ciliare, minimă alterare epitelială, cu prezența displaziei.

Concluzii

În acest studiu experimental am demonstrat efectele perturbatoare în vindecarea chirurgicală ale expunerii la CS, care sunt reprezentate de întârzierea în

vindecărea plagii chirurgicale nazale la șobolan, precum și persistența cu tendință de cronicizare a inflamației.

6. Studiul 5. Rolul celulelor stem în tratamentul CRS la șoarece

Obiective

Scopul studiului de față este de a obține un efect de imunomodulare în CRS indusă prin expunerea la *Aspergillus fumigatus* (Af) la șoarece și de a deschide noi direcții de cercetare în tratamentul cu celule stem mezenchimale al rinosinuzitei cronice, refractară la tratamentul standard.

Material și Metodă

70 de șoareci CD 1, femele cu greutate între 27-35g, au fost cazați și îngrijiți conform normelor standard ale Centrului de Medicină Experimentală a UMF Cluj-Napoca. Studiul cuprinde 2 stadii: Expunerea la *Aspergillus fumigatus* (Af) : lotul expus (n=32) și lotul martor (n=32), respectiv faza de expunere la celule mezenchimale stem (MSC): lotul expus la Af și MSC (n=12), lotul martor (n=12). Analiza histologică urmărește modificările apărute la nivelul mucoasei nazale după expunerea la Af prin evaluarea markerilor inflamatori specifici, precum și evidențierea MSC, prin scanare cu un microscop confocal Zeiss LSM 710 (Zeiss, Oberkochen, Germany), echipat cu un laser cu Argon și HeNe cu mărire de 400X, în spectru Alexa 546, iar imaginile au fost stocate și prelucrate cu pachetul ZEN atașat microscopului.

Rezultate

Evoluția inflamației pe perioada celor 12 săptămâni este progresivă, cu evidențierea modificărilor inflamatorii microscopice începând cu săptămâna 8 de expunere, în timp ce în săptămâna 12 modificările sunt evidente macroscopic. La finalul primei etape a studiului, modificările histo-patologice indică prezența inflamației cronice, cu un caracter difuz. Examinarea prin scanare a pieselor la microscopul confocal se realizează în următoarele 7 zile după injectarea MSC, astfel că în ziua 4, prezența celulelor la nivelul mucoasei examinate este în număr foarte redus, în ziua 5 numărul celulelor este în creștere, în ziua 6 numărul de MSC se intensifică, urmând ca în ziua 7 să culmineze și să fie reprezentat în număr mare, față de zilele precedente (zilele 5, 6). Lotul martor este reprezentat de șobolani care nu au fost expuși la Af rămași din lotul martor din prima etapă a studiului (n=12) și la care s-a injectat MSC, la care nu se evidențiază prezența de MSC în mucoasa examinată.

Concluzii

Studiul de față aduce inovații în ceea ce privește vindecarea CRS folosind celulele stem, iar dacă într-o primă etapă reușește să arate importanța și agresivitatea CRS determinată de Af, în a doua parte subliniază caracterul noninvaziv și eficient al administrării MSC în CRS la șoarece.

Concluzii generale

Importanța tratamentului postoperator este evidențiată de profilaxia complicațiilor imediate și tardive post ESS. În perioada imediat următoare ESS, tratamentul postoperator al rinosinuzitei cronice include CSin, lavajul salin, debridarea chirurgicală, iar opțional se poate adăuga tratamentul antibiotic în cure scurte și restul tratamentelor cu rol adjuvant. Biofilmele bacteriene prezente în CRS au o influență negativă în evoluția postoperatorie, în special datorită bacteriilor componente cu rezistență la tratamentele uzuale. Prezența biofilmelor impune strategii de tratament agresive, în special mai multe linii de tratament instituite odată; antibioticele, CSin și lavajul salin fiind cele mai importante. Crioterapia aplicată intraoperator menține viabil orificiul ostial, cu importanță în funcționalitatea sinusală. Regimul de viață restrictiv la noxe, toxice, alergeni în perioada de vindecare post ESS poate reduce riscul de complicații și recidive în această perioadă. Fumatul este implicat în prelungirea vindecării plăgii chirurgicale post ESS, în unele situații poate determina leziuni inflamatorii cu un caracter progresiv. Celulele stem post să identifice și să se deplaseze la nivelul mucoasei sinusale cu modificări specifice CRS, iar local pot determina regresia procesului inflamator, cu rezultate bune într-o perioadă foarte scurtă de timp.

SUMMARY OF PhD THESIS

Postoperative treatment in chronic rhinosinusitis

PhD Student **Veronica-Elena Dan (Trombitaș)**

Scientific coordinator Prof. dr. **Silviu Albu**

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION.....	16
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	17
1.SYSTEMS OF VENTILATION AND NASAL-SINUSES DRAINAGE	18
1.1 Ostiomeatal complex	18
1.2 Sphenoethmoidal recess	18
1.3 Mucociliary clearance	18
2.CHRONIC RHINOSINUSITIS.....	21
2.1 Etiopathogenesis.....	22
2.2 Diagnostic.....	23
2.2.1 Clinical diagnostic	23
2.2.2 Complementary diagnostic	23
2.3 Management of chronic rhinosinusitis.....	24
2.3.1 Importance of associated comorbidities: bronchial asthma, AERD, allergies, bronchiectasis, COPD, smoker condiction, Ig G deficiency.....	25
2.3.2 CRSsNP treatment.....	27
2.3.3 CRSwNP treatment.....	36
PERSONAL CONTRIBUTION	44
1.WORKING HYPOTHESIS.....	46
2. FIRST STUDY. TYPES OF TREATMENTS IN CRS POSTOPERATIVE PERIOD. BIOFILMS EFFECT IN POSTOPERATIVE EVOLUTION OF CRS.....	48
2.1 Introduction	48
2.2 Objectives of the study	49
2.3 Material and method	50
2.4 Results.....	50
2.4.1 Methods of post ESS treatment as existing in the literature	50
2.4.2 Effect of biofilms in post ESS evolution and treatment of CRS	60
2.5 Debates	62
2.6 Conclusions.....	65
3.SECOND STUDY. MAINTAINING THE PATENCY OF MAXILLARY ANTROSTOMY BY APPLYING INTRAOPERATIVE CRYOTHERAPY (ESS) ...	66
3.1 Introduction	66
3.2 Objectives of the study	67
3.3 Material and method	67
3.4 Results.....	69
3.5 Debates	74
3.6 Conclusions.....	75
4.THIRD STUDY. EFFECT OF CRYOTHERAPY ON HEALING POST ESS.....	76
4.1 Introduction	76
4.2 Objectives	76

4.3	Material and method.....	77
4.4	Results	78
4.5	Debates.....	79
4.6	Conclusions	82
5.FORTH STUDY. EFFECT OF CIGARETTE SMOKE ON SEPTAL WOUND HEALING IN RATS.....		84
5.1	Introduction.....	84
5.2	Objectives	85
5.3	Material and methods.....	85
5.4	Results	87
5.5	Debates.....	91
5.6	Conclusions	93
6.FIFTH STUDY. THE ROLE OF STEM CELLS IN RAT CRS TREATMENT.....		94
6.1	Introduction	94
6.2	Objectives	94
6.3	Material and method.....	95
6.4	Results	96
6.5	Debates.....	100
6.6	Conclusions	101
7.GENERAL CONCLUSIONS		102
8.ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS		104
REFERENCES		106
ANNEXES		120

Keywords: postoperative treatment, chronic rhinosinusitis, sphenoidal recess, mucociliary clearance, bacterial biofilms, cryotherapy, stem cells.

INTRODUCTION

Even if there are a great variety of chronic rhinosinusitis therapeutic resources, they prove to be limited in case of refractory rhinosinusitis response to usual treatment. Correct drainage and good ventilation are the purposes for a good sinusal functioning as the existing treatments provide; the main challenges occur when the results are temporarily and the pathology relapses.

Current state of knowledge

It describes the ventilation and nasal-sinuses drainage, as well as the mucociliary clearance mechanisms, which are the basis of the good functioning of nasal

mucosa and paranasal sinuses. It reviews methods of diagnostic and therapy strategies for the existing chronic rhinosinusitis until now, both in practice and in research phase.

Personal contribution

7. General objectives

- Brief revision of post-operative treatment methods in CRS as existing until the present moment, the efficiency, applicability and the adverse effects. Biofilms effects upon CRS postoperative treatment.
- Experimental assessment of cryotherapy efficiency in maintaining the patency of antrostomy orifice in humans.
- Experimental assessment of cryotherapy efficiency in surgical wound healing post ESS and preventing occurrence of postoperative complications.
- Experimental assessment of smoking effect within ESS recovery time.
- Experimental assessment of stem cells effect in CRS healing with or without surgical treatment.

8. First study. Types of treatments in CRS postoperative period. Biofilms effect in postoperative evolution of CRS.

Objectives of the study

1. Review of treatments applied in postoperative period in CRS management, detailing the most studied ones.
2. Pharmacodynamics of mentioned preparations.
3. Systematising of bacterial biofilms implications in CRS postoperative treatment.

Material and method

PubMed, Medline, Google Scholar and Cochrane bibliographical resources have been visited, using English keywords: *chronic rhinosinusitis, postoperative treatment,*

endoscopic sinus surgery, nasal saline irrigation, topical corticosteroids, systemic corticosteroids, sinus cavity debridement, intranasal antibiotics, topical antifungal, xylitol, Manuka Honey, the obtained data have been analysed and a review of important treatments was obtained as mentioned below.

Results

Even if we talk about topical, systemic or surgical treatment, the existing therapeutic guides shall be followed, reviewing some possible therapeutic directions which are now under investigation. The bacterial biofilms have important implications in chronic rhinosinusitis evolution, in their response to standard treatment, reason why it is important their detection and adaptation of the treatment to the type of the existing biofilm at the surface of nasal-sinuses mucosa.

Conclusions

Even if we deal with CRSsNP or CRSwNP, the postoperative therapeutic behaviour follows three important directions, namely drainage and sinusal ventilation maintaining, as obtained through ESS but also avoiding post ESS complications emergence.

9. Second study. Maintaining the patency of maxillary antrostomy by applying intraoperative cryotherapy (ESS)

Objectives of the study

3. Assessing the efficiency of intraoperative cryotherapy application, at the level of newly created maxillary antrostomy as to maintain a good permeability.
4. Improvement of life comfort in postoperative period through the optimisation of sinusal functionality.

Material and method

A group of 26 intraoperative antrostomies are applied 4 cycles of cryotherapy spray at 35 seconds between applications. The postoperative assessment is performed at 1st, 4th, 12th weeks through endoscopic investigation and surgical debridement. At the same time, patients' life comfort was followed by SNOT 22 enquiries filling in and statistical following of siuses-nasal specific symptoms.

Results

At the end of the second postoperative monitoring visit, in cryotherapy exposed group, a single ostial opening has low dimensions while in the control group, 8 of the antrostomies present partial stenosis. Histologically, the second monitoring visit presents differences of statistical importance in the two groups, as considering the mononuclear infiltrate, oedema, epithelial hyperplasia and Goblet cells respectively; in the control group these are associated to ostial stenosis presence. In cryogenic treatment group it is noticed a better collagen fibres organisation, epithelial hyperplasia absence, the number of Goblet cells being also low. After filling in SNOT 22 queries, the analysis of CRS specific symptoms, namely nasal blockage, rhinorrhea, hemming, cephalalgias / facial pressure, smell disorders have been statistically analysed. If before surgery the most important symptom for the patients was nasal obstruction up to its blockage, at the end of the 12th postoperative week, the nasal symptomatology is completely under control.

9.1 Conclusions

Inflammation lowering at the level of nasal-sinuses mucosa, associated to an optimum dimensions maxillary antrostomy opening, determines rapid recovery of functionality, a better air passage, ciliary clearance improvement through an efficient sinusal drainage, as proven immediately postoperatively and after the application of spray cryotherapy. All these reflect in patient's much improved life comfort, in nasal-sinuses symptomatology as being completely under control 3 months after surgery.

10. Third study. Effect of cryotherapy on healing post ESS.

Objectives

The aim of the study was the assessment of efficiency of low pressure spray cryotherapy application under endoscopic control in post ESS healing as well as the effect of this therapy in postoperative complications prophylaxis as synechia of middle meatus, ostial stenosis, and middle nasal concha lateralisation with septo-turbionary stenosis development.

Material and method

A group of 18 patients with bilateral chronic rhinosinusitis, with or without nasal polypoidosis were assessed perioperative according to Perioperative Sinus Endoscopy scores (POSE) and Lund-Kennedy, following surgical treatment - Endoscopic sinus surgery (ESS) and cryotherapy spray has been applied at the level of unilateral maxillary antrostomy, in four cycles of 5 seconds pausing a few seconds between cycles, up to complete defrosting of the tissue, being applied in the contralateral side the same saline spray solution.

Results

Starting from the initial assessment which does not present statistically significant differences between the two groups of maxillary antrostomies (cryogenic and saline lavage treated), the differences start occurring from the second monitoring visit, the statistical difference being present both in EPOS scores assessments ($P=.001$, $P=.012$, $P=.02$, $P=.006$, $P=.016$), and in Lund-Kennedy ones ($P=.002$, $P=.005$, $P=.01$, $P=.02$, $P=.03$).

The segmental assessments on monitoring visits, respectively on the components of endoscopic assessment scores, prove an improvement in cryogenic treated antrostomies group, both as concerning sinechia, oedema, the presence of polyps, reductions of sinus ostium dimensions. The elimination of nasal-sinuses secretions and mucous - haematic scabs are equally distributed among the two groups in the postoperative period. The sinechia, both septo - turbionary and at the level of middle meatus are more often met in the control group.

Conclusions

This study presents cryotherapy as adjuvant method to prevent the relatively delayed complications after ESS. As associated with standard medication treatment and a systematic nasal-sinuses debridement, intraoperative cryotherapy spray application led to favourable results in healing the nasal-sinuses mucosa but also in preventing sinechia and sinus stenosis.

11. Forth study. Effect of cigarette smoke on septal wound healing in rats

Objectives

The general objective of this study is represented by the effect of cigarette smoke on septal wound healing in rats.

Material and methods

Seventy four adult male rats of Wistar breed, each of them weighting around 200-220 g, were held and attended according to the standard rules of Experimental Medicine Centre of UMF of Cluj-Napoca. After previous anaesthesia by intraperitoneal injection of Zoletil 50 (10 mg / kg), a unique, unilateral surgical wound was induced with a syringe needle, as approached interdental up to the level of the right nasal cavity, acting upon the medium third of the septum. After this manoeuvre the animals were randomized in two groups, the group exposed to cigarette smoke (cigarette smoke, CS) and the control group, each comprising 35 animals. Each group had group of 7 animals which were sacrificed on turns, one lot of each group in the 2nd, 5th, 14th, 28th, an 42nd day. After sacrifice, the histological analysis of the nasal mucosa has been conducted on coronal sections with H-E, Trichrom Masson, Luna, toluidine blue, PAS. Exposure to cigarette smoke has been performed one hour a day during 5 days a week up to 42 days and both to passive smoke released from the head of lit cigarette and also to the drawn and redirected smoke in an especially created fan room.

Results

In the 2nd and 5th day of post septal lesion induction, the histological evolution in the two groups is similar, the differences start occurring from the 14th day, Goblet cells hyperplasia as statistically significant ($p < 0,05$) as specific to the group exposed to the cigarette smoke. Statistical differences occur between the two groups as concerning epithelial and subepithelial hypertrophy ($p < 0.05$ MANOVA test). In control group occurs squamous metaplasia and keratinisation at the level of septum mucosa. The infiltrate with eosinophils, mast cells and eosinophils is significantly diminished considering the exposed group. In the 28th day, in the experimental group is already remarked chronic particularity of histological modifications; at epithelial surface are noticed areas of hypertrophy, multifocal papillary proliferation with conjunctive stroma and at the level of lamina propria are specific glandular hypertrophy modifications.

The control group presents a significant reduction of inflammatory infiltrate (eosinophils, mast cells, Goblet cells). In the 42nd day, in the group exposed to CS, the chronic changes are more and more obvious, as represented by hyperplasia at lamina propria level, hyperplasia and epithelial dysplasia, Goblet cells marked hypertrophy. Leukocyte infiltration is discrete, while the eosinophilic infiltration still persists. The control group shows significant improvements of the inflammatory infiltrate as well as an important reduction of Goblet cells, ciliary loss, and minimum epithelial alteration in the presence of dysplasia.

Conclusions

In this experimental study we have proven the disturbing effects for surgical wound healing when exposed to CS, meaning delaying rat nasal surgical wound healing as well as persistence prone to chronic inflammation.

12. Fifth study. The role of stem cells in rat CRS treatment

Objectives

The aim of this study is obtaining an immunomodulatory effect in CRS induced by exposure to *Aspergillus fumigatus* (Af) in mice and opening new research directions of the treatment with mesenchymal stem cells of refractory chronic rhinosinusitis to the standard treatment.

Material and method

Seventy CD 1 female mice weighting 27-35 gr were held and attended according to the standard rules of Experimental Medicine Centre of UMF of Cluj-Napoca. The study comprises two stages: Exposure to *Aspergillus fumigatus* (Af): the exposed group (n=32) and control group (n=32), respectively the phase of exposure to mesenchymal stem cells (MSC): the group exposed to Af and MSC (n=12), the control group (n=12).

The histological analysis follows the changes occurred at nasal mucosa level after exposure to Af through specific inflammatory markers appraisal, as well as by MSC prominence by scanning with Zeiss LSM 710 (Zeiss, Oberkochen, Germany) confocal microscope equipped with Argon and HeNe laser amplifying 400X in Alexa 546 spectrum, with images storing and processing with ZEN package attached to the microscope.

Results

The evolution of the inflammation during the 12 weeks is progressive as the microscopic inflammatory changes become prominent starting with the 8th week of exposure while in the 12th week the changes are macroscopically noticeable. At the end of the first phase of the study, the histopathological changes indicate the presence of chronic inflammation with diffuse character. Samples examination by scanning with the confocal microscope is achieved in the next 7 days after MSC injection, as such in the 4th day, cells presence at the examined mucosa level is in very low number, in the 5th day the cells number increases and in the 6th day the MSC number intensifies and in

the 7th day is at peak as represented in a large number considering the previous days (day 5, 6). The control group is represented by rats that were not exposed to Af and left from the control group in the first stage of the study (n=12) and to which MSC was injected but it does not appear in the examined mucosa.

Conclusions

This study is innovative as considering CRS healing using stem cells and if in the first stage succeeds to show the importance and CRS aggressiveness as determined by Af, in the second part underlines the non-invasive and efficient character of MSC administration in CRS mice.

General conclusions

The importance of postoperative treatment is underlined by the immediate and delayed post ESS complications prophylaxis. The time immediately after ESS, the postoperative treatment of chronic rhinosinusitis includes CSin, saline lavage, and surgical debridement and optionally may be added antibiotic treatment in short cures and the rest of the adjuvant treatments. The bacterial biofilms presented in CRS have a negative influence in postoperative evolution, especially to the bacteria component resisting to usual treatments. The presence of biofilms require aggressive treatment strategies, especially more treatment cures at once; the antibiotics, CSin and saline lavage are the most important. The cryogenic therapy applied intraoperatory maintains viable the ostial opening having importance in sinusal functionality. A restricted lifestyle as concerning noxae, toxics and allergens during post ESS healing period may lower the risk of complications and relapses in this period. Smoking is involved in extending the healing of surgical wound after ESS and in some cases may determine inflammatory lesions with a progressive character. The stem cells may identify and travel at sinuses mucosa level with CRS specific changes and locally may determine the inflammatory process regression in a very short period of time with good results.