

**lek. Przemysław BANT**, Klinika Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej z Kliniknym Oddziałem Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej WIM

**Promotor:** prof. dr hab. n. med. Dariusz Jurkiewicz

**Promotor pomocniczy:** płk dr n. med. Szczepan Cierniak

## **WYBRANE BADANIA IMMUNOHISTOCHEMICZNE W DIADNOSTYCE RÓŻNICOWEJ CHORÓB MIGDAŁKÓW PODNEBIEIENNYCH**

### **STRESZCZENIE**

Migdałki podniebienne są wtórnymi narządami limfatycznymi, w obrębie których zachodzą procesy immunologiczne, wpływające na powstanie ukierunkowanej odpowiedzi komórkowej i humoralnej. W zmienionych chorobowo migdałkach podniebiennych dochodzi do zaburzeń równowagi immunologicznej, w tym pomiędzy aktywnością czynników prozapalnych jak i przeciwzapalnych. Powoduje to rozwój chorób migdałków podniebiennych pod postacią zapalenia migdałków podniebiennych (z.m.p) i przerostu migdałków podniebiennych (p.m.p).

Niezwykle istotna jest właściwa diagnoza stanu chorobowego tkanki migdałków podniebiennych. Niestety, prawidłowe postawienie rozpoznania nie jest oczywiste ze względu na złożoność procesów immunologicznych zachodzących w tkance migdałków podniebiennych. W dostępnej literaturze medycznej wykazano wiele rozbieżności dotyczących kryteriów klasyfikacji stanów chorobowych migdałków podniebiennych. Pozwoliło to nam na wysnucie hipotezy badawczej o możliwości występowania swoistego profilu cech różnicującego te dwa stany chorobowe.

Głównym celem pracy była ocena występujących podobieństw i różnic w obrazie klinicznym i patomorfologicznym chorych zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego z powodu przerostu lub zapalenia migdałków podniebiennych. Realizację tego celu zaplanowano poprzez: wykazanie zależności pomiędzy badaniem podmiotowym i przedmiotowym a rozpoznaniem histopatologicznym danego stanu chorobowego migdałków podniebiennych, ocenę przydatności w diagnostyce różnicowej podstawowych badań krwi (leukocytozy, ASO, OB, CRP) oraz ocenę badania immunohistochemicznego tkanki migdałków podniebiennych. Do tonsillektomii/UPPP zostali zakwalifikowani chorzy w wieku od 19 do 70 lat, u których występowały stany zapalne migdałków podniebiennych lub objawy kliniczne przerostu migdałków podniebiennych. W badaniu wzięło udział 72 mężczyzn (68,6%) i 33 kobiety (31,4%). Badaniu histopatologicznemu i immunohistochemicznemu

poddano 105 migdałków podniebiennych. Jako diagnostyczny materiał patomorfologiczny został wybrany ten migdałek podniebienny, który w obrazie mikroskopowym wykazywał najbardziej zachowaną strukturę podziału wewnątrztkankowego oraz nie uległ uszkodzeniu podczas procedury chirurgicznej. Badania te zostały przeprowadzone przez jedną osobę, co pozwoliło na wykluczenie subiektywizmu i zróżnicowanej oceny badanej tkanki.

Wykazano znaczne rozbieżności w ocenie klinicznej i patomorfologicznej migdałków podniebiennych zakwalifikowanych do tonsillektomii, z tego powodu metody te należy traktować jako uzupełniające się. Badanie podmiotowe i przedmiotowe w zależności od przyjętej klasyfikacji klinicznej lub histopatologicznej wykazuje zróżnicowanie rozkładu cech będących podstawą przydziału do danej grupy. Stwierdzono, że wartość diagnostyczna badań krwi obejmujących oznaczenie: ASO, OB, CRP, Leukocytozy okazała się istotnym czynnikiem predykcyjnym chorób migdałków podniebiennych. W ocenie patomorfologicznej 75% badanych, którzy jednocześnie mieli podwyższone OB ( $>4,73$ ) i Leukocytozę ( $>6,96$ ) oraz obniżone ASO ( $<161,03$ ) i CRP ( $<0,31$ ) należało do grupy z.m.p. Analiza wykazała, że badanie immunohistochemiczne wykazuje zróżnicowany profil badanych markerów w zależności od rozpoznanej choroby migdałków podniebiennych. Rejonem tkanki migdałka podniebiennego, dla którego stwierdzono najwięcej istotnych statystycznych różnic pomiędzy badanymi markerami jest follicular center. Odnotowano tam odpowiedzi dla CD-40 i IL-1. Najwyższe miano o wartości istotnej statystycznie wykazywała IL-1 równe 1,95 w grupie p.m.p. Najniższa wartość o istotności statystycznej występowała dla CD-40 w grupie p.m.p. i wynosiła 0,42. Rejonami tkanki migdałka podniebiennego, które wykazywały po jednej wartości o istotności statystycznej dla badanych chemokin i limfokin były: epithelial, follicular oraz interfollicular. Dla epithelial odpowiedź wykazywała IL-10 równą 0,26 dla grupy z.m.p. i 0,29 dla grupy p.m.p. CD-25 wykazywało odpowiedź dla rejonu follicular i interfollicular osiągając wartość równą 0,8 dla follicular w grupie z.m.p. i 0,035 w grupie p.m.p. W rejonie interfollicular miano CD-25 było równe 1,22 w grupie z.m.p. i 0,51 w grupie p.m.p. Natomiast brak istotnych statystycznych różnic dla  $p < 0,05$  pomiędzy badanymi grupami odnotowano tylko w rejonie subepithelial. Należy podkreślić, że dla danych obejmujących całość (liczonych na podstawie danych z pomiarów dla wszystkich obszarów razem) nie odnotowano żadnych istotnych statystycznie różnic.

Podsumowując, uzyskane wyniki badań świadczą o obecności swoistego profilu immunohistochemicznego chorób migdałków podniebiennych.

# **SELECTED IMMUNOHISTOCHEMICAL TESTS IN DIAGNOSTICS OF PALATINE TONSILS DISEASES**

## **SUMMARY**

The palatine tonsils are secondary lymphatic organs within which immunological processes take place that induce the formation of a targeted cellular and humoral response. In palatine tonsils that have been infected by a disease, the immune balance is disturbed, including the activity of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors. This causes the development of diseases of the palatine tonsils in the form of z.m.p. and p.m.p.

The correct diagnosis of the condition of disorders in the homeostasis of the palatine tonsil tissue is a very important matter. Unfortunately, the correct diagnosis may not be recognisable at first due to the complexity of the immunological processes taking place in the tissue of the palatine tonsils. The available medical literature presents multiple discrepancies in the criteria for the classification of diseases of palatine tonsils. This allowed us to draw a research hypothesis about the possibility of a specific profile of traits differentiating these two disease states.

The main objective of the study was to assess the similarities and differences in the clinical and pathomorphological representation of patients qualified for surgery due to hypertrophy or inflammation of the palatine tonsils. The accomplishment of this goal was carried out by: demonstrating the relationship between the subjective and objective examination and the histopathological diagnosis of a given state of disease of the palatine tonsils, assessment of the usefulness of basic blood tests in differential diagnosis (leukocytosis, ASO, ESR, CRP), as well as the assessment of immunohistochemical analysis of palatine tonsil tissue. Patients aged 19 to 70 years with tonsillitis or clinical symptoms of palatine tonsil hypertrophy were qualified for tonsillectomy / UPPP. 72 men (68.6%) and 33 women (31.4%) participated in the study. 105 palatine tonsils were subjected to histopathological and immunohistochemical examination. The palatine tonsil which showed the most preserved intra-tissue division structure in the microscopic image and was not damaged during the surgical procedure was selected as the diagnostic pathomorphological material. These studies were carried out by one person in order to rule out subjectivism and differentiate the assessment of the examined tissue.

Significant discrepancies were found in the clinical and pathomorphological assessment of palatine tonsils qualified for tonsillectomy, therefore these methods should be treated as complementary. The subjective and objective examination, depending on the adopted clinical or histopathological classification, shows a diversity of the distribution of features which are

the basis for the allocation to a given group. It was concluded that the diagnostic value of blood tests including the determination of ASO, ESR, CRP, and Leukocytosis turned out to be an important predictor of palatine tonsil diseases. In the pathomorphological assessment, 75% of the subjects who simultaneously had increased ESR ( $> 4.73$ ) and Leukocytosis ( $> 6.96$ ) however decreased ASO ( $< 161.03$ ) and CRP ( $< 0.31$ ) belonged to the z.m.p. group. The analysis indicated that the immunohistochemical examination showed a different profile of the investigated markers depending on the diagnosed disease of the palatine tonsils. The follicular center is the region of the palatine tonsil tissue for which the most significant statistical differences between the markers studied were found. Responses for CD-40 and IL-1 were recorded there. The highest titer of statistically significant value was shown by IL-1 equal to 1.95 in the p.m.p. group. The lowest statistically significant value was for CD-40 in the p.m.p. group and was 0.42. The regions of the palatine tonsil tissue that showed one statistically significant value each for the chemokines and lymphokines tested were: epithelial, follicular and interfollicular. For the epithelial, the response showed an IL-10 of 0.26 for the z.m.p. group, and 0.29 for the p.m.p. group. CD-25 responded to the follicular and interfollicular regions with a value equal to 0.8 for the follicular in the z.m.p. group and 0.035 in the p.m.p. group. In the interfollicular region, the CD-25 titer was 1.22 in the z.m.p. group and 0.51 in the p.m.p. group. In addition, no significant statistical differences for  $p < 0.05$  between the studied groups were found only in the subepithelial region. It should be emphasized that for the entire data (calculated on the basis of data from measurements for all areas together), no statistically significant differences were noted.

Summing up, the obtained research results prove the presence of a specific immunohistochemical profile of palatine tonsil diseases.