



<https://doi.org/10.24245/aorl.v67i1.7367>

Caracterización de la huella biológica de mucosa nasal vs pólipos nasales mediante espectroscopia FTIR

Characterization of the biological fingerprint of nasal mucosa vs nasal polyps by FTIR spectroscopy.

José Ricardo Sánchez-Santa Ana,¹ Gustavo Jesús Vázquez-Zapién,² Jorge Alberto Romo-Magdaleno,¹ Esmeralda García-Perez,¹ Mónica Maribel Mata-Miranda²

Resumen

OBJETIVO: Comparar la huella biológica de mucosa nasal vs pólipos nasales usando espectroscopia FTIR para determinar los cambios biomoleculares.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio prospectivo, observacional, descriptivo, transversal de casos y controles en el que se tomaron muestras de mucosa sana y de pólipos nasosinuales de pacientes con rinosinusitis crónica polipoidea. Se analizaron mediante espectroscopia FTIR en modo de reflectancia total atenuada y su función de mapeo bioquímico. Asimismo, se realizó análisis histopatológico mediante tinción de hematoxilina-eosina.

RESULTADOS: Se incluyeron 6 muestras de mucosa sana y 14 de pólipos nasosinuales. Se determinó mediante espectroscopia FTIR la huella biológica de la mucosa nasal sana y de pólipos inflamatorios nasosinuales, encontrando diferencias significativas en las regiones de proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos (colágeno y glucosaminoglucanos). Los hallazgos histológicos de los pólipos fueron principalmente metaplasia escamosa, edematización de la mucosa e infiltrado inflamatorio.

CONCLUSIONES: La espectroscopia FTIR permite diferenciar entre mucosa nasal sana y mucosa nasal inflamatoria, con lo que se propone a la espectroscopia FTIR como alternativa de estudio preoperatorio del paciente con rinosinusitis crónica polipoidea.

PALABRAS CLAVE: Rinitis; polipos nasales; bioespectroscopia infrarroja transformada de Fourier.

Abstract

OBJECTIVE: To compare the biological footprint of nasal mucosa vs nasal polyps using FTIR spectroscopy to determine biomolecular changes.

MATERIALS AND METHODS: A prospective, observational, descriptive, cross-sectional, case-control study was done taking samples of healthy mucosa and of sinonasal polyps from patients with chronic polypoid rhinosinusitis. They were analyzed by FTIR spectroscopy in attenuated total reflectance mode and their biochemical mapping function. Likewise, histopathological analysis was performed using hematoxylin-eosin staining.

RESULTS: There were included 6 samples of healthy mucosa and 14 of sinonasal polyps. The biological footprint of the healthy nasal mucosa, as well as of inflammatory sinonasal polyps, was determined by FTIR spectroscopy, finding significant differences in the regions of proteins, carbohydrates and nucleic acids (collagen and glycosaminoglycans). The histological findings of the polyps were mainly squamous metaplasia, mucosal edema, and inflammatory infiltrate.

¹ Servicio de Otorrinolaringología y CCC, Hospital Central Militar, SEDENA, Ciudad de México, México.

² Centro Militar de Ciencias de la Salud, Escuela Militar de Medicina, SEDENA, Ciudad de México, México.

Recibido: 26 de enero 2022

Aceptado: 2 de febrero 2022

Correspondencia

José Ricardo Sánchez-Santa Ana
dr_santaana@hotmail.com

Este artículo debe citarse como: Sánchez-Santa Ana JR, Vázquez-Zapién GJ, Romo-Magdaleno JA, García-Perez E, Mata-Miranda MM. Caracterización de la huella biológica de mucosa nasal vs pólipos nasales mediante espectroscopia FTIR. An Orl Mex 2022; 67 (1): 32-39.



CONCLUSIONS: FTIR spectroscopy makes it possible to differentiate between healthy nasal mucosa and inflammatory nasal mucosa, thus proposing FTIR spectroscopy as an alternative for the preoperative study of patients with chronic polypoid rhinosinusitis.

KEYWORDS: Rhinitis; Nasal polyps; Fourier transform infrared spectroscopy.

ANTECEDENTES

La rinosinusitis crónica es una enfermedad multifactorial que consiste en inflamación de la mucosa que reviste los senos paranasales.¹ En 2012, de acuerdo con el trabajo de posicionamiento europeo sobre rinosinusitis crónica y pólipos nasales (EPOS 2012),² se definió a la rinosinusitis crónica como un proceso inflamatorio de la nariz y los senos paranasales caracterizado por dos o más de los siguientes síntomas: congestión u obstrucción nasal, rino-rrea anterior o posterior, dolor o presión facial y disminución en el sentido del olfato por al menos 12 semanas de evolución sin alivio completo.

Tradicionalmente se ha subdividido a la rinosinusitis crónica en: rinosinusitis crónica sin pólipos y rinosinusitis crónica con pólipos, definidos como fenotipos. El diagnóstico de la rinosinusitis crónica con pólipos requiere la evidencia de pólipos en la cavidad nasal o en el meato medio mediante endoscopia nasal o mediante tomografía computada de nariz y senos paranasales que demuestre edema de la mucosa de los senos paranasales y la existencia de pólipos nasosinusales.¹ En general, la rinosinusitis crónica con pólipos representa una enfermedad más compleja, con síntomas más severos y peor pronóstico que la rinosinusitis crónica sin pólipos,^{3,4,5} además de ser concomitante con otras enfermedades, como rinosinusitis aguda, rinitis crónica, enfermedad por reflujo gastroesofágico, asma y apnea del sueño.⁶ Existe también un grupo de pacientes con rinosinusitis crónica

con pólipos y asma que también manifiestan síntomas respiratorios superiores e inferiores asociados con la ingestión de medicamentos que inhiben la enzima ciclooxigenasa 1 (COX-1). Estos pacientes tienen enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina que, en general, manifiestan una enfermedad más severa y requieren más cirugías que los pacientes únicamente con rinosinusitis crónica con pólipos.⁷

La fisiopatología de la rinosinusitis crónica con pólipos no está completamente comprendida. Se ha estudiado el papel que juegan las células del epitelio respiratorio sinusal, el sistema inmunitario del huésped y patógenos como hongos y bacterias. Se ha propuesto que la alteración en la barrera epitelial puede incrementar la exposición de patógenos inhalados, antígenos y partículas que, en un paciente con una respuesta inmunitaria alterada, genera un proceso inflamatorio crónico.⁸ Claramente, la clasificación clásica de rinosinusitis crónica en sin pólipos y con pólipos no describe adecuadamente la complejidad de la enfermedad^{9,10} y se ha evidenciado que existen subtipos o endotipos dentro de cada fenotipo. Identificar los endotipos inflamatorios puede guiar potencialmente el tratamiento y ofrecer alternativas de tratamiento en pacientes que son resistentes al manejo médico o quirúrgico convencional.^{11,12} Este abordaje ha sido útil en el manejo de pacientes con enfermedades inflamatorias, como esofagitis eosinofílica y asma.

Debido a la incidencia frecuente de enfermedad resistente en pacientes posoperados de rinosi-

nusitis crónica con pólipos a pesar del manejo médico o quirúrgico óptimo y de la imposibilidad de definir de manera preoperatoria los perfiles inflamatorios de cada paciente, se ha intentado definir biomarcadores que permitan predecir con precisión el tipo de patrón inflamatorio que muestran los pacientes.¹²

A la fecha, ningún biomarcador validado ha podido definir con precisión el subtipo o endotipo inflamatorio y tampoco predecir si un paciente va a responder mejor a manejo médico o a cirugía. Se ha intentado obtener marcadores inflamatorios en sangre periférica; sin embargo, éstos no necesariamente reflejan los cambios inflamatorios observados localmente en los pólipos nasales.¹³ Lou y colaboradores determinaron que la existencia de más de 55 eosinófilos por campo de alto poder en la histopatología de estos pacientes, o tener más de 27% de eosinófilos en el total del conteo celular en un espécimen de tejido sinusal, predice la recurrencia de poliposis nasal en los siguientes dos años.¹⁴ Se han estudiado alrededor de 20 mediadores, como la proteína catiónica eosinofílica, IL-5, IL-10, IL-13, la eotaxina, etc.; de todos éstos, únicamente la IL-10 ha demostrado una correlación significativa y positiva entre el lavado nasal y el tejido polipoideo.

La biospectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR) es una técnica vibracional que permite caracterizar muestras biológicas determinando su composición y cuantificación biomolecular. Su uso para el análisis de especímenes biológicos se está expandiendo rápidamente en la investigación. Se ha descrito a FTIR como un excelente método para analizar tejido biológico, permitiendo la construcción de imágenes de tejido o de su arquitectura celular mediante el paso de un espectro de datos a una serie de algoritmos computacionales.

En el análisis por espectroscopia FTIR existe absorción de radiación infrarroja cuando un fotón

es transferido a una molécula y la excita a un estado de energía mayor, resultando en vibraciones de uniones moleculares que generan una variabilidad de ondas o frecuencias. El material biológico, como proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos, contiene una estructura única, de manera que es posible obtener un espectro de su huella biológica que corresponde a estos grupos funcionales, estableciendo un patrón único para cada tipo de tejido.¹⁵

Esta técnica se ha demostrado como fundamental y útil en biología y medicina debido a su alta sensibilidad para detectar cambios en los grupos funcionales mencionados anteriormente.¹⁶ Para el estudio de materiales biológicos, las regiones del espectro medidas son habitualmente de región de la huella biológica del tejido ($1800\text{-}800\text{ cm}^{-1}$) y la región de las proteínas amida I y amida II ($1700\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$). Estas regiones comprenden la huella biológica de la estructura y función del espécimen celular. Además, mediante el análisis multivariado de datos, se permite elucidar marcadores diagnósticos potenciales que pueden usarse en conjunto con técnicas de histología convencional.¹³⁻¹⁶ Por tanto, la aplicación de la espectroscopia FTIR para caracterizar los componentes moleculares de tejido nasal o tejido polipoideo sinusal no se ha demostrado.

En este trabajo, establecemos el uso de la espectroscopia FTIR para determinar la huella biológica del tejido nasal sano y de pólipos sinusales de pacientes con rinosinusitis crónica polipoidea, así como comparar sus cambios biomoleculares, a fin de determinar si la espectroscopia FTIR es útil como estudio para diferenciar entre mucosa sana y pólipos nasales y determinar si este método pudiera ser útil para diferenciar entre endotipos inflamatorios, con el objetivo de contar con una herramienta adicional a la histología en el estudio de la endotipificación de pacientes con rinosinusitis crónica con pólipos.



MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio prospectivo, observacional, descriptivo, transversal, de casos y controles, realizado en el Hospital Central Militar de noviembre de 2020 a enero de 2021. En el grupo control se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años y menores de 65 años a quienes se les realizó cirugía nasal (septoplastia o rinoseptoplastia) y que no tuvieran enfermedad inflamatoria crónica de la cavidad nasal o de los senos paranasales. En el grupo de estudio se incluyeron todos los pacientes que acudieran a la consulta externa con rinosinusitis crónica polipoidea, definiendo la enfermedad de acuerdo con la EPOS 2012.² A los pacientes de ambos grupos se les realizó historia clínica completa y rinoendoscopia a fin de descartar enfermedad infecciosa o inflamatoria aguda o crónica, y a todos se les realizó tomografía computada de nariz y senos paranasales simple en cortes axiales, sagitales y coronales. Se excluyeron los pacientes con enfermedad infecciosa aguda o crónica, ya sea primaria o sobreagregada a la enfermedad inflamatoria crónica polipoidea, cirugía nasosinusal previa o que estuvieran fuera del intervalo de edad.

Recolección de muestras

Para las muestras del grupo control, la toma de mucosa nasal sana se hizo en todos los casos de la mucosa respiratoria del tabique nasal 2-3 mm posteriores a la unión mucocutánea septal del lado derecho, la toma de muestra se realizó bajo anestesia general al inicio del procedimiento quirúrgico nasal elegido para el paciente, bajo visión directa con lámpara frontal. En el caso de los pacientes del grupo de estudio, la toma de muestra se hizo de un pólipo de meato medio izquierdo, la muestra se tomó bajo visión endoscópica con lente de 30° y con pinza para toma de biopsia (Karl Storz, GmbH).

Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR)

Se realizó análisis espectral FTIR en el rango de espectro entre 4000 y 400 cm^{-1} (infrarrojo medio) utilizando un espectrómetro FTIR (6600, Jasco) en modo de muestreo de reflexión total atenuada (ATR). El instrumento tiene una resolución espectral de 4 cm^{-1} . La muestra se depositó en la superficie del cristal ATR y se dejó secar a temperatura ambiente por 15 minutos para eliminar el exceso de agua. La radiación infrarroja se propagó a través del cristal y de la muestra para obtener el espectro correspondiente a la absorción infrarroja de las muestras, en un promedio de 120 adquisiciones por cada medición. Se realizaron tres réplicas de cada muestra.

Histología

Inmediatamente después de la toma de mucosa nasal sana y pólipos nasosinuales, los tejidos se colocaron en tissue-tek (4853; Sakura) y se obtuvieron criocortes de 5 μm utilizando un criostato de pie a -25°C (ECO-1900; Ecoshel). Enseguida, los criocortes se fijaron con paraformaldehído al 4% durante 30 minutos a temperatura ambiente y se enjuagaron con solución buffer fosfato (PBS). Posteriormente, las muestras se tiñeron con la tinción de hematoxilina-eosina (H&E). Por último, las muestras histológicas se analizaron usando un microscopio óptico (Ti-U Eclipse, Nikon), analizando el tejido epitelial, el estroma de la mucosa y el infiltrado inflamatorio, capturándose microfotografías a 40X y 100X utilizando el programa Image Pro Premier 9.1 (Media Cybernetics).

Aspectos éticos

Se pidió a cada paciente consentimiento informado para la toma de una biopsia de 1 cm^3 de mucosa nasal sana (en el caso del grupo control) y de pólipo sinusal en el meato medio a fin de

participar en el estudio. El Comité Institucional de Ética en Investigación aprobó el protocolo y el consentimiento informado. Todos los experimentos fueron examinados y aprobados por el Comité de Ética.

Análisis multivariado

Una vez que se adquirieron todos los espectros de infrarrojo (espectros en crudo), se les aplicó un tratamiento de normalización de variable aleatoria normal tipificada con el programa Unscrambler X10.3 CAMO. Después de que los espectros fueron tratados, se utilizaron como datos de entrada para realizar un análisis de componentes principales, reduciendo la dimensionalidad de los datos mediante el programa IBM SPSS Statistics 22.

RESULTADOS

En la **Figura 1** se muestran los espectros FTIR normalizados y promediados de ambos grupos en la región de la huella dactilar biológica, donde pueden observarse bandas de absorción asociadas con diferentes tipos de biomoléculas que incluyen lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos, encontrando diferencias en la composición estructural y bioquímica entre mucosa nasal sana y pólipos nasosinusales.

Observamos la región de proteínas amida I y II a 1640 cm^{-1} y 1540 cm^{-1} , respectivamente. Enseguida, en particular con este trabajo observamos las características de absorción del colágeno (el triplete específico de bandas en 1280 , 1238 y 1204 cm^{-1}).¹⁷ Posteriormente a 1134 y 1072 cm^{-1} se observaron bandas espectrales relacionadas con glucosaminoglicanos (GAGs),¹⁸ apreciando que el tejido correspondiente a pólipos nasosinusales mostró mayor absorción de colágeno y GAGs. Por último, a 1060 cm^{-1} se observó mayor absorción en el tejido de pólipos y correspondía a las α -globulinas.

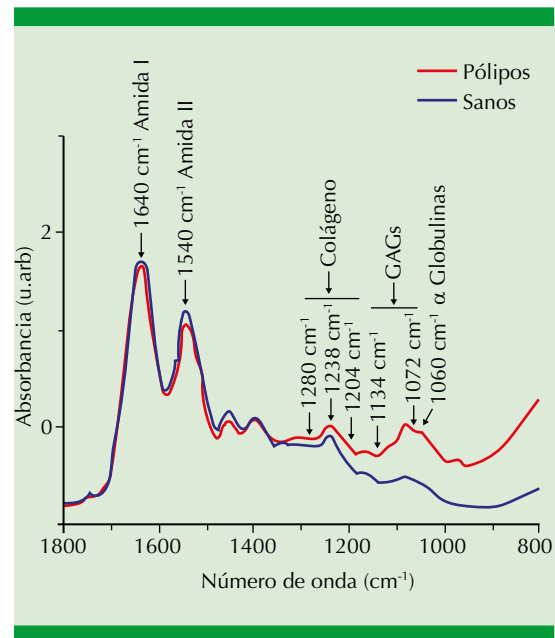


Figura 1. Espectros FTIR normalizados y promediados de mucosa nasal sana vs pólipos nasosinusales representados en la región de la huella dactilar biológica.

Por otro lado, obtenidos los espectros y utilizando su segunda derivada, se realizó un análisis de componentes principales para disminuir la dimensionalidad de las variables, obteniendo gráficas de puntuaciones en las regiones de colágeno (1238 cm^{-1}) y GAGs (1072 cm^{-1}), en las gráficas de las dos regiones se observaron grupos bien definidos asociados con mucosa nasal sana y pólipos nasosinusales (**Figura 2**). Al realizar este análisis de componentes principales, se apreció una clara discriminación al agrupar en el primer componente principal el 97.8% de las variables para el colágeno y el 98.7% en la región de GAGs, mientras que en el segundo componente principal se sumaron el 1.3% y el 1% de las variables, respectivamente.

Por último, en el análisis histológico (**Figura 3**) se observó que en el pólipo la superficie del epitelio muestra una metaplasia escamosa (**Figura 3A**), que fue muy evidente cuando se comparó con

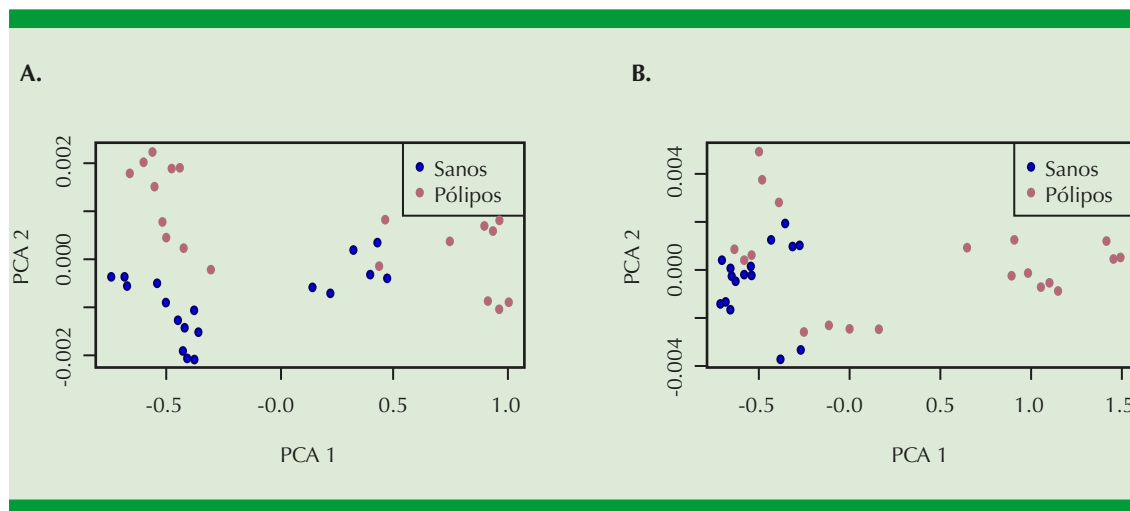


Figura 2. Gráficas de puntuaciones de los componentes principales calculados para los espectros de mucosa nasal sana vs pólipos nasosinusales en las regiones de colágeno (A) y glucosaminoglicanos (B).

la mucosa sana, además de que fue posible distinguir los cambios morfológicos que habían sufrido las células epiteliales, mostrándose algunos coilocitos, mismos que pueden distinguirse por el incremento en el radio núcleo/citoplasma, hiper cromasia nuclear y acromasia citoplasmática. Asimismo, se observó que un estroma laxo constituye una mucosa edematosa (**Figura 3B**), ocasionando la desorganización y rupturas de las fibras, en donde además se observaron glándulas mucosas hiperplásicas (**Figura 3C**) e infiltrado inflamatorio diverso (**Figura 3D**).

DISCUSIÓN

En este estudio investigamos la composición bioquímica de la mucosa nasal sana y de pólipos nasosinusales mediante el uso de espectroscopia FTIR, analizando las diferencias entre ambos tejidos, de manera que se estableció la huella biológica de la mucosa nasal, así como la de los pólipos inflamatorios nasosinusales encontrando diferencias significativas principalmente en la región de carbohidratos y ácidos nucleicos, además, fue posible realizar la caracterización mediante el análisis multivariado de análisis de

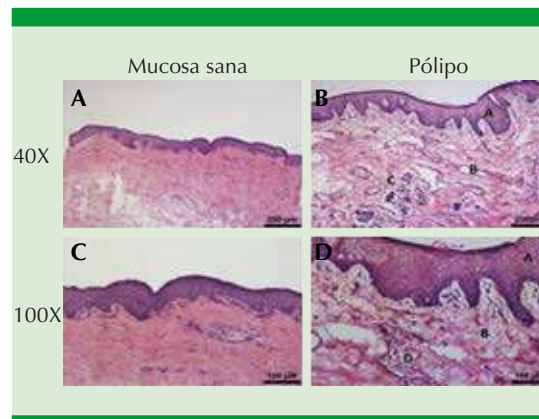


Figura 3. Análisis histológico de mucosa nasal sana vs pólipos nasosinusales. Microfotografías representativas teñidas con H&E. **A.** Metaplasia escamosa. **B.** Mucosa edematosa. **C.** Glándulas mucosas hiperplásicas. **D.** Infiltrado inflamatorio diverso.

componentes principales, pudiendo discriminar claramente ambos grupos en las regiones de colágeno y GAGs.

Enache y colaboradores¹⁹ demostraron posterior al análisis histopatológico de 150 pólipos nasales la heterogenicidad de los cambios estromales

y epiteliales y especialmente la existencia de diferentes poblaciones de células inflamatorias implicadas en la patogénesis de la enfermedad. Entre los cambios estromales encontraron infiltración eosinofílica y edema, concluyendo que la presencia eosinofílica intraepitelial, así como estromal, probablemente juegue un papel importante en el proceso de remodelación de la mucosa en la rinosinusitis crónica con pólipos. Este mismo hallazgo fue evidenciado por Seung-Heon y colaboradores, quienes encontraron patrones histológicos distintos en 349 pacientes.²⁰ El objetivo de este estudio fue demostrar que el análisis molecular mediante espectroscopia FTIR puede diferenciar entre mucosa sana y pólipos nasosinusales basado en la heterogenicidad celular que caracteriza al proceso inflamatorio de la mucosa nasal y al tejido polipoideo y que diferencia a los endotipos en la rinosinusitis crónica con pólipos.

Gil-Carcedo y su grupo²¹ describieron el uso de la espectroscopia FTIR en dos pacientes con parafinomas nasales como complicaciones posoperatorias; sin embargo, el uso de la espectroscopia en este estudio fue para determinar la naturaleza química del parafinoma y diferenciarlo del tejido nasal sano. Éste ha sido el único reporte en la bibliografía del uso de la espectroscopia FTIR para uso nasal; sin embargo, este estudio es el primer trabajo realizado específicamente en tejido nasal y polipoideo, así como el primero en determinar la huella biológica de la mucosa nasal sana y de pólipos nasosinusales.

Respecto a los resultados espectroscópicos, pudimos corroborar mayor cantidad de glucógeno en el tejido polipoideo, evidenciando mayor absorbancia entre 1300 y 1200 cm^{-1} ; de acuerdo con Tang y su grupo, en este intervalo espectral de amida III se localiza el triplete específico al colágeno.¹⁷ Asimismo, hubo cambios significativos en la región de

carbohidratos y ácidos nucleicos, insistiendo en la mayor absorbancia de GAGs en el tejido polipoideo con respecto al tejido sano, con base en los hallazgos de Sanden y colaboradores, quienes reportaron que en esta región pueden caracterizarse los GAGs.¹⁸

Además, a 1060 cm^{-1} se observó una diferencia significativa entre ambos grupos, resultado que ha sido reportado por Gonciarz y colaboradores como aumento de las $\alpha 2$ globulinas, lo que se relaciona con un proceso inflamatorio en diversos padecimientos.²² Respecto a nuestro trabajo, los pólipos nasosinusales conllevan procesos inflamatorios, como se mencionó, resultados que son congruentes con el proceso inflamatorio y cambios histológicos entre ambos grupos.

En este estudio encontramos que la espectroscopia FTIR es un método útil para analizar la estructura molecular del tejido nasal sano y de los pólipos nasosinusales. Asimismo, al usar análisis multivariado, es posible discriminar perfiles biomoleculares de muestras histológicas reduciendo la dimensionalidad de las variables.

Consideramos que esta tecnología puede ser útil en la diferenciación de pólipos nasosinusales con perfiles inflamatorios distintos a fin de poder determinar el endotipo de cada pólipo con base en su análisis espectral molecular y, en conjunto con la histología, categorizar de manera preoperatoria el tipo inflamatorio de cada pólipo nasosinusal con el objeto de definir de una forma más precisa el manejo médico o quirúrgico ideal para cada paciente, así como establecer un posible factor pronóstico. Para ello es necesario seguir analizando diferentes endotipos inflamatorios, aumentar el número de muestras en cada subgrupo y caracterizar mediante mapeo bioquímico las diferentes biomoléculas a fin de correlacionarlo con los análisis histológicos.



CONCLUSIONES

La espectroscopia FTIR y su análisis multivariado como el análisis de componentes principales permiten diferenciar entre mucosa nasal sana y mucosa nasal inflamatoria, con lo que se propone a la espectroscopia FTIR como alternativa de estudio preoperatorio del paciente con rinosinusitis crónica polipoidea.

REFERENCIAS

- Georgalas C, Fokkens W. Rhinology and skull base surgery, Thieme 2013, capítulo 16, pp 276.
- Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, et al. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A Summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology* 2012; 50 (1): 1-12. doi: 10.4193/Rhino12.000.
- Deal RT, Kountakis SE. Significance of nasal polyps in chronic rhinosinusitis: symptoms and surgical outcomes. *Laryngoscope* 2004; 114: 1932-5. doi: 10.1097/01.mlg.0000147922.12228.1f.
- Toros SZ, Bolukbasi S, Naiboglu B, Er B, Akkaynak C, Noshari H, et al. Comparative outcomes of endoscopic sinus surgery in patients with chronic sinusitis and nasal polyps. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007; 264: 1003-8. doi: 10.1007/s00405-007-0301-5.
- Batra PS, Tong L, Citardi MJ. Analysis of comorbidities and objective parameters in refractory chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2013; 123 (Suppl 7): S1-11. doi: 10.1002/lary.24418.
- Tan BK, Chandra RK, Pollak J, Kato A, Conley DB, Peters AT, et al. Incidence and associated premorbid diagnoses of patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 1350-60. doi: 10.1016/j.jaci.2013.02.002.
- Awad OG, Lee JH, Fasano MB, Graham SM. Sinonasal outcomes after endoscopic sinus surgery in asthmatic patients with nasal polyps: a difference between aspirin-tolerant and aspirin-induced asthma? *Laryngoscope* 2008; 118: 1282-6. doi: 10.1097/MLG.0b013e318170af1e.
- Soyka MB, Wawrzyniak P, Eiwegger T, Holzmann D, Treis A, Wanke K, et al. Defective epithelial barrier in chronic rhinosinusitis: the regulation of tight junctions by IFN-gamma and IL-4. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 1087-96. doi: 10.1016/j.jaci.2012.05.052.
- Yip J, Monteiro E, Chan Y. Endotypes of chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2019 Feb;27(1):14-19. doi: 10.1097/MOO.0000000000000503.
- Succar EF, Turner JH. Recent advances in understanding chronic rhinosinusitis endotypes. *F1000research*. 2018; 7. DOI: 10.12688/f1000research.16222.1.
- Lal D, Scianna JM, Stankiewicz JA. Efficacy of targeted medical therapy in chronic rhinosinusitis, and predictors of failure. *Am J Rhinol Allergy* 2009; 23 (4): 396-400. doi: 10.2500/ajra.2009.23.3334.
- Bachert C, Zhang N, Hellings PW, Bousquet J. Endotype-driven care pathways in patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 141 (5): 1543-51. doi: 10.1016/j.jaci.2018.03.004.
- Stevens WW, Schleimer RP, Kern RC. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016; 4 (4): 565-572. doi:10.1016/j.jaip.2016.04.012.
- Lou H, Meng Y, Piao Y, Wang C, Zhang L, Bachert C. Predictive significance of tissue eosinophilia for nasal polyp recurrence in the Chinese population. *Am J Rhinol Allergy* 2015; 29: 350-6. doi: 10.2500/ajra.2015.29.4231.
- Petibois C, Wehbe K, Belbachir K, Noreen R, Délérís G. Current trends in the development of FTIR imaging for the quantitative analysis of biological samples. *Acta Physica Polonica A* 2009.
- Mata-Miranda M, Guerrero-Ruiz M, González-Fuentes JR, Hernandez-Toscano CM, Garcia-Andino JR, Sanchez-Brito M, Vazquez-Zapie GJ. Characterization of the biological fingerprint and identification of associated parameters in stress fractures by FTIR spectroscopy. *BioMed Research International* 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/1241452>.
- Tang R, Samouillan V, Dandurand J, Lacabanne C, Nadal-Wollbold F, Casas Christiane, Schmitt AM. Thermal and vibrational characterization of human skin. *J Thermal Analysis Calorimetry* 2017; 127 (2): 1143-1154. DOI 10.1007/s10973-016-5384-z
- Sanden KW, Kohler A, Afseth NK, Böcker U, Rønning SB, Liland KH, Pedersen ME. The use of Fourier-transform infrared spectroscopy to characterize connective tissue components in skeletal muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *J Biophotonics* 2019; 12: e201800436. doi: 10.1002/jbio.201800436.
- Enache I, Ionita E, Mitroi M, Anghelina F, et al. Histopathological features of chronic rhinosinusitis with nasal allergic polyps. *Curr Health Sci J* 2020; 46(1): 66-71. doi: 10.12865/CHSJ.46.01.09.
- Seung-Heon S, Mi-Kyung Ye, Jung-Kyu K, Chang-Ho C. Histological characteristics of chronic rhinosinusitis with nasal polyps: Recent 10-year experience of a single center in Daegu, Korea. *Am Rhinol Allergy* 2014; 28 (2): 95-8. doi: 10.2500/ajra.2014.28.4003.
- Gil-Carcedo LM, Martín-Gil J, Gil-Carcedo ES, Vallejo LA, Martín-Gil FJ. Characterization of nasal paraffinoma following septorhinoplasty by attenuated total reflection-fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR). *Rhinology* 2006; 44: 156-159.
- Gonciarz W, Lechowicz L, Urbaniak M, Kaca W, Chmiela M. Use of Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) for monitoring experimental *Helicobacter pylori* infection and related inflammatory response in guinea pig model. *Int J Mol Sci* 2021; 22 (1): 281. <https://doi.org/10.3390/ijms22010281>.