

lek. Martyna Waniewska-Łęczycka

**Tytuł: „Nowe aspekty molekularne i leczenie przewlekłego
zapalenia zatok przynosowych”.**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Mariola Popko Zagor
Klinika Otorynolaryngologii, Wydział Lekarsko-Stomatologiczny, WUM



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022

2. STRESZCZENIE

Wstęp

Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych (PZZP) jest częstym schorzeniem górnych dróg oddechowych, występującym u 5-12% populacji na całym świecie. Dolegliwości towarzyszące PZZP w dużym stopniu pogarszają jakość życia pacjentów (QoL). Dokładna patofizjologia PZZP nie jest znana. Jednym z istotnych czynników wymienianych w aspekcie patomechanizmu PZZP jest zaburzenie w ilości białka PD-L1, będącej składową szlaku PD-1/PD-L1, w błonie śluzowej jam nosa. Nieprawidłowości w osi PD-1/PD-L1 zostały zaobserwowane w wielu chorobach onkologicznych i zapalnych, jak również w PZZP, jednak nie w pełni w tym aspekcie poznane.

Obecnie glikokortykosteroidy (GKS) w terapii donosowej stanowią najczęściej stosowane leczenie wśród pacjentów z PZZP. Dostępnych jest wiele kwestionariuszy używanych w ocenie QoL pacjentów z PZZP, jednak żaden z nich nie jest odpowiednio przystosowany i dedykowany ocenie donosowej terapii GKS. Zaobserwowano również, iż komercyjnie dostępne aplikatory do podawania GKS do nosa, nie są odpowiednio dostosowane do podawania leku pacjentom z PZZP, szczególnie po zabiegu operacyjnym.

Cel

Celem pracy była ocena ilości białka PD-L1 w błonie śluzowej jam nosa i zatok przynosowych pacjentów z PZZP oraz ustalenie korelacji wyników z wybranymi danymi klinicznymi i molekularnymi. Równocześnie, celem pracy była ocena QoL pacjentów z PZZP podczas donosowej terapii GKS przy użyciu nowych metod podawania leków – MAD (*Mucosal Atomization Device*) oraz NSI (*ang. nasal saline irrigation*; irygacja do nosa), poprzez zastosowanie Uzupełniającego Kwestionariusza dotyczącego Miejscowego Podawania Leków, w skrócie Kwestionariusza Uzupełniającego.

Material i Metody

Badanie w kierunku analizy ilości białka PD-L1 objęło grupę 93 pacjentów (61 pacjentów z PZZP oraz 32 pacjentów z grupy kontrolnej - GK) w wieku od 18 do 83 lat, operowanych w 2016-2020 roku w Klinice Otorinolaryngologii Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Pacjenci z PZZP zostali podzieleni na podgrupy zgodnie z następującymi klasyfikacjami: klasyfikacją EPOS 2012 (European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps) (28 pacjentów z PZZP bez

polipów – PZZPbP oraz 33 pacjentów z PZZP z polipami – PZZPzP), oraz zgodnie z najnowszą klasyfikacją EPOS 2020 (39 pacjentów z eozynofilowym PZZP – EPZZP, oraz 19 pacjentów z nie-eozynofilowym PZZP – nie-EPZZP). GK obejmowała pacjentów zoperowanych z powodu schorzeń niezapalnych, takich jak skrzywienie przegrody nosa czy odmienności w budowie anatomicznej bocznej ściany nosa. U pacjentów z GK stan zapalny, charakterystyczny dla PZZP, został wykluczony w badaniu przedmiotowym obejmującym m.in. endoskopię jam nosa oraz badanie radiologiczne (tomografię komputerową). Materiał tkankowy stanowiła błona śluzowa kompleksu ujściowo-przewodowego (z wyrostka haczykowatego, powierzchni bocznej lub przednio-dolnej małżowiny nosowej środkowej) pobrana w trakcie leczenia operacyjnego.

Przy użyciu metod immunohistochemii określono ilość białka PD-L1 w materiale tkankowym. Równocześnie oceniono ilość eozynofili w nacieku zapalnym w badanym materiale tkankowym (HPEC), na podstawie którego zastosowano podział pacjentów z PZZP na EPZZP oraz nie-EPZZP. Uzyskane wyniki skorelowano z wybranymi danymi klinicznymi oraz molekularnymi, a analizę statystyczną przeprowadzono w programie IBM SPSS Statistics, wersja 20.0.

Badaniu w kierunku oceny efektywności podawania preparatów donosowych przy pomocy specjalnych aplikatorów do nosa: MAD oraz NSI objęło grupę 43 pacjentów (16 pacjentów z PZZPbP oraz 27 pacjentów z PZZPzP) w wieku od 18 do 84 lat, po leczeniu operacyjnym metodą full house FESS (*ang. fronto-spheno-ethmoidectomy*) zastosowanym 60-90 dni przed włączeniem do badania. Kwalifikację i ocenę pacjentów przeprowadzono w Klinice Otorynolaryngologii Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2018-2019. Ocenę QoL pacjentów z PZZP podczas stosowania donosowej terapii GKS poprzez MAD i NSI przeprowadzono przy użyciu skali SNOT-22 oraz Kwestionariusza Uzupełniającego. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w programie IBM SPSS Statistics, wersja 13.0.

Wyniki i wnioski

1. Wykazano obecność białka PD-L1 na poziomie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych zarówno z polipami, jak i bez polipów nosa.
2. Wykazano występowanie białka PD-L1 w błonie śluzowej nosa i zatok przynosowych jednocześnie w różnych rejonach błony śluzowej nosa i zatok przynosowych: w błonie

komórkowej komórek nabłonku, w jądra komórek nabłonka oraz w gruczołach Bowmana w badanych grupach pacjentów.

3. Obserwowana w grupach pacjentów z PZZPzP oraz PZZPbP wyższa ilość białka PD-L1 w błonie śluzowej nosa i zatok przynosowych w stosunku do grupy kontrolnej może sugerować miejscowe zaburzenia w regulacji osi PD-1/PD-L1 u tych pacjentów oraz o roli PD-1/PD-L1 w patomechanizmie PZZP.
4. Najwyższa ilość białka PD-L1 w błonie śluzowej nosa i zatok przynosowych była obserwowana w grupie PZZPzP oraz EPZZP w stosunku do pozostałych grup badanych co może sugerować występowanie istotnych zaburzeń w funkcjonowaniu szlaku PD-1/PD-L1 u pacjentów z PZZPzP oraz EPZZP.
5. Wykazano brak korelacji występowania białka PD-L1 w nabłonku błony śluzowej nosa i zatok przynosowych z poziomem eozynofili we krwi obwodowej (BEC) w badanych grupach pacjentów, z wyjątkiem dodatniej korelacji zaobserwowanej w jądrach komórek nabłonka w grupie PZZPzP. Na tej podstawie można dodatkowo przypuszczać o zaburzeniu w regulacji szlaku PD-1/PD-L1 bezpośrednio na poziomie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych.
6. Obecna w grupie pacjentów z PZZPzP wyższa ilość białka PD-L1 w nabłonku błony śluzowej nosa i zatok przynosowych pozwala przypuszczać, iż ta grupa pacjentów osiągnęłaby najwyższe korzyści ze stosowania terapii anty PD-1/PD-L1.
7. Wykazano obecność w grupie pacjentów z PZZPbP najwyższą częstość występowania wybarwienia 2 stopnia. Obserwacja ta pozwala przypuszczać, że zaburzenie w osi PD-1/PD-L1 może częściej występować u pacjentów z PZZPbP, co może wpłynąć na gorszy przebieg leczenia.
8. Na podstawie pozytywnej korelacji występowania białka PD-L1 z poziomem ekspresji Hscore BRM w błonie śluzowej nosa i zatok przynosowych w grupie pacjentów z PZZPzP można przypuszczać, iż grupa ta odniosłaby większe korzyści z zastosowania terapii anty-PD-1/PD-L1.
9. W grupie kontrolnej wykazaliśmy statystycznie istotną dodatnią korelacją pomiędzy występowaniem białka PD-L1 w błonie śluzowej nosa i zatok przynosowych a ekspresją receptora witaminy D3 (VDR) oraz negatywną korelacją między ekspresją PD-L1 a VDR u pacjentów z PZZPzP i PZZPbP. Wynik ten może sugerować rolę witaminy D i jej receptorów w szlaku molekularnym PD-1/PDL-1 i wpływać na przebieg choroby u pacjentów z PZZPzP i PZZPbP.

10. Wykazaliśmy, iż zastosowanie skali SNOT-22 jako jedyne narzędzia w ocenie jakości życia pacjenta (QoL) w odniesieniu do stosowania GKS w terapii miejscowej jest niewystarczające.
11. Uzupełniający Kwestionariusz dotyczący Miejscowego Podawanie Leków u pacjentów z PZZP okazał się przydatnym narzędziem uzupełniającym skalę SNOT-22 w ocenie QoL pacjentów z PZZP w trakcie stosowania miejscowej terapii GKS.
12. Różnice w wynikach uzyskanych na podstawie Kwestionariusza Uzupełniającego pozwalają stwierdzić, iż aplikacja GKS do nosa przy użyciu MAD powinna być zalecana szczególnie u pacjentów, którzy zgłaszają dolegliwości uszne w postaci bólu uszu, uczucia pełności w uszach oraz epizodów zapalenia ucha środkowego, a także w przypadku uporczywego opóźnionego wyciekania leku z nosa w dłuższym odstępie czasu od jego podania.
13. Różnice w wynikach uzyskanych na podstawie Kwestionariusza Uzupełniającego pozwalają wnioskować, iż aplikacja donosowych GKS przy użyciu NSI powinna być rozważana szczególnie w przypadku pacjentów skarżących się na podrażnienie błony śluzowej nosa, suchość w nosie, uczucie ściekania leku po tylnej ścianie gardła tuż po zastosowaniu preparatu, jak również na towarzyszące miejscowej terapii GKS uczucie nieprzyjemnego smaku lub zapachu.