STRESZCZENIE

WSTĘP

Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych (PZZP) dotyczy około 11% populacji

europejskiej i jest jedną z częściej występujących chorób wśród ludzi. Dotychczas nie

wyjaśniono wszystkich patomechanizmów biorących udział w przewlekłym zapaleniu zatok

przynosowych. Jednakże intensywny rozwój immunologii i biologii molekularnej

umożliwił zrozumienie na poziomie komórkowym, niektórych procesów

patofizjologicznych zaangażowanych w PZZP. Przypuszcza się, że w patogenezie PZZP

znaczącą rolę może odgrywać epigenetyczny kompleks remodelujący chromatynę

SWI/SNF, który zaangażowany jest w biosyntezę białek biorących udział w wielu procesach

komórkowych: adhezji, różnicowaniu, odpowiedzi hormonalnej, cyklu komórkowym oraz

naprawie DNA. Ponadto SWI/SNF zapewnia prawidłowe funkcjonowanie receptora dla

glikortykosteroidów oraz reguluje ekspresję genów zależnych od glikokortykosteroidów, a

także jest zaangażowany w odpowiedź przeciwzapalną i metabolizm witaminy D. Dokładna

analiza aspektów molekularnych oraz rola kompleksu SWI/SNF w PZZP jest niezbędna dla

lepszego zrozumienia patofizjologii PZZP.

Cel

Celem pracy było określenie funkcji kompleksu remodelującego chromatynę typu

SWI/SNF oraz przedstawienie innych aspektów molekularnych przewlekłego zapalenia

zatok przynosowych.

Materiał i Metody

Do badania zakwalifikowano 165 pacjentów, 63 kobiety (38%) oraz 102 mężczyzn

(62%), w wieku od 18 do 83 lat (średnia 42 lata). Pacjenci zostali podzieleni na 3 grupy:

kontrolną (n=59), PZZP bez polipów nosa (PZZPbPN) (n=52) oraz PZZP z polipami nosa

(PZZPzPN) (n=54), na podstawie wytycznych EPOS (European Position Paper on

Rhinosinusitis and Nasal Polyps) 2012. Do grupy kontrolnej włączono pacjentów

zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego z powodu skrzywienia przegrody nosa lub

odmienności budowy anatomicznej bocznej ściany nosa. U pacjentów grupy kontrolnej nie

stwierdzono zmian zapalnych w obrębie jam nosa i zatok przynosowych na podstawie

18

badania endoskopowego jam nosa oraz TK zatok przynosowych. Do grupy PZZPbPN

włączono pacjentów zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego PZZP bez polipów nosa,

natomiast do grupy PZZPzPN włączono pacjentów zakwalifikowanych do leczenia

operacyjnego PZZP z polipami nosa. PZZPbP i PZZPzPN rozpoznawano na podstawie

wywiadu oraz badania przedmiotowego z uwzględnieniem badania endoskopowego jam

nosa oraz TK zatok przynosowych, zgodnie z kryteriami klinicznymi EPOS 2012. Tkanki

do badań laboratoryjnych pobierano śródoperacyjnie z okolicy kompleksu ujściowo

przewodowego podczas operacji przeprowadzonych w latach 2016-2018 w Klinice

Otorynolaryngologii Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego WUM.

Próbki tkanek nosa pobranych od pacjentów zabarwiono immunohistochemicznie na

obecność podjednostek kompleksu SWI/SNF (BRG 1, BRM i BAF 155). W preparatach

histopatologicznych tkanek nosa pobranych od pacjentów oceniono także ilość eozynofili

w nacieku zapalnym błony śluzowej nosa i zatok przynosowych (HPEC). Następnie na

podstawie HPEC oraz wytycznych EPOS 2020 pacjenci byli kwalifikowani do grupy

eozynofilowego PZZP (ePZZP) oraz nie-eozynofilowego PZZP (nePZZP). Ponadto

analizowano ilość eozynofili (BEC) i neutrofili w krwi obwodowej oraz inne dane kliniczne

(m.in. skalę SNOT-22, skalę Lund-Kennedy, skalę Lund-Mackay, występowanie alergii,

astmy oraz triady aspirynowej).

Do oceny wpływu lipopolisacharydu (LPS), enterotoksyny gronkowcowej B (SEB)

oraz witaminy D3 na kompleks SWI/SNF wykorzystano linie komórkowe ludzkiego

nabłonka nosowego (ang. human nasal epithelial cells – HNECs), które zostały podzielone

na 6 grup: kontrolną, oraz 5 grup stymulowanych: LPS, SEB, witaminą D3, LPS i witaminą

D3, SEB i witaminą D3.

Analiza ekspresji genów kompleksu SWI/SNF w liniach komórkowych (HNECs)

poszczególnych grup była wykonana po izolacji RNA przy pomocy łańcuchowej reakcji

polimerazy (ang. polimerase chain reaction – PCR).

Zebrane dane zostały zapisane w arkuszu kalkulacyjnym Microsoft Excel 2010.

Baza danych została przeanalizowana za pomocą aplikacji SAS 9.4.

Wyniki

19

Analiza immunohistochemiczna wykazała obecność w błonie śluzowej nosa i zatok

przynosowych wszystkich badanych podjednostek SWI/SNF. Analiza statystyczna

wykazała istotnie statystycznie większą ekspresję BRG1, BRM oraz BAF 155 w badanym

materiale w grupach PZZPbPN oraz PZZPzPN w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto

obserwowano istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy ekspresją białka BRG1 a

ilością eozynofili oraz neutrofili w krwi obwodowej u pacjentów z PZZPzPN (p<0,05).

Ekspresja podjednostki BAF 155 korelowała pozytywnie z ekspresją VDR – receptora dla

witaminy D u pacjentów w grupie PZZPzPN (p<0,05). Po stymulacji linii komórkowych

(HNECs) lipopolisacharydem (LPS) obniżył się poziom transkryptu jedynie dla

podjednostek BRG 1, BAF 155 i INI1 (p<0,05). Inkubacja linii komórkowych z SEB

zwiększyła transkrypt BAF 170 oraz INI1 (p<0,05). Jednoczasowa stymulacja HNECs

witaminą D i SEB istotnie zwiększyła poziom transkryptu genów dla BAF 155 i BAF 170

(p<0,05). Stwierdzono istotnie wyższy wzrost transkryptu genu dla INI1 po stymulacji

witaminą D oraz LPS w porównaniu do transkryptu po stymulacji samą witaminą D

(p<0,05). Analiza ilości eozynofili w nacieku zapalnym błony śluzowej nosa i zatok

przynosowych wykazała istotną statystycznie pozytywną korelację pomiędzy HPEC i BEC

(r=0,59; p=0,001) w grupie pacjentów z eozynofilowym PZZPzPN (ePZZPzPN). Ponadto

istotną statystycznie negatywną korelację obserwowano pomiędzy HPEC i podjednostkami

BRM (r=-0,40; p=0,015) oraz BRG 1 (r=-0,34; p=0,045). Natomiast w odniesieniu do

stopnia nasilenia PZZP, HPEC istotnie korelował z wartościami skali SNOT-22 (r=0,36;

p=0,03) oraz Lund-Mackay (r=0,48; p=0,003).

Wnioski

1. Istotne różnice w ekspresji białka podjednostek SWI/SNF w błonie śluzowej nosa i

zatok przynosowych w PZZP w porównaniu z grupą kontrolną wskazują na istotną

rolę kompleksu SWI/SNF w patogenezie PZZP.

2. Stwierdzenie dodatniej korelacji ekspresji białka BAF155 z poziomem ekspresji

VDR potwierdza istotny związek kompleksu SWI/SNF z witaminą D i jej

metabolizmem. Zależność jakości kompleksu SWI/SNF od witaminy D może mieć

znaczenie w patofizjologii PZZP.

3. Stymulacja linii komórkowych z błony śluzowej ludzkiego nosa przez LPS, SEB i

witaminę D3 istotnie zmieniła ilość transkryptu genów kompleksu SWI/SNF, co

20

wskazuje na istotny potencjał terapeutyczny witaminy D3 w odniesieniu do błony

śluzowej nosa i zatok przynosowych.

4. Negatywna korelacja pomiędzy ekspresją podjednostek SWI/SNF a liczbą

eozynofilii we krwi i tkankach u pacjentów z PZZP sugeruje, że eozynofilia i

eozynofilowy naciek zapalny w tkankach są połączone z obniżoną ekspresją

podjednostek kompleksu SWI/SNF, a przez to gorszym przebiegiem PZZP.

5. Pozytywna korelacja intensywności nacieku eozynofilowego błony śluzowej zatok

przynosowych ze skalą L-M i SNOT-22 sugeruje pozytywną zależność

zawansowania objawów klinicznych PZZPzPN od wielkości nacieku

eozynofilowego błony śluzowej zatok przynosowych.

6. Naciek eozynofilowy w tkankach z błony śluzowej nosa (HPEC) jest lepszym

kryterium diagnostycznym dla ePZZPzPN i nePZZPzPN niż liczba eozynofili w

krwi obwodowej (BEC).

7. Negatywna korelacja BEC i HPEC z podjednostkami SWI/SNF może być

kluczowym wskaźnikiem niepowodzenia leczenia u pacjentów z ePZZPzPN.

Prawdopodobnie pacjenci z niższym poziomem ekspresji SWI/SNF wykazują

oporność na steroidy i nie reagują na typową terapię PZZP.

8. Wartości BEC i HPEC umożliwiają nowy sposób klasyfikacji pacjentów z PZZP na

grupę z eozynofilowym oraz nie-eozynofilowym PZZP oraz mogą sugerować opcje

leczenia PZZP.

9. Dodatnie korelacje liczby eozynofili w nacieku zapalnym oraz negatywne korelacje

ekspresji podjednostek kompleksu SWI/SNF z danymi klinicznymi (skala LundMackay oraz skala SNOT-22) dają możliwość dokładniejszego, niż to dotychczas

było możliwe, oszacowania nasilenia i rokowania ePZZP.