

Karolina PISKADŁO-ZBOROWSKA

**OCENA WPŁYWU POLIMORFIZMU
W RECEPTORACH SMAKU GORZKIEGO I WĘCHU
NA PREDYKCJE DO ROZWOJU PRZEWLEKŁEGO
ZAPALENIA ZATOK PRZYNOSOWYCH**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: dr hab. n. med. Karolina Dżaman, prof. CMKP

Promotor pomocniczy: dr n. med. Eliza Brożek-Mądry

Warszawa 2021

WSTĘP

Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych (PZZP) jest jednym z najczęstszych zgłaszanych schorzeń w praktyce lekarza otolaryngologa. Trudny problem terapeutyczny stanowi głównie PZZP oporne na standardowe leczenie zachowawcze i chirurgiczne. Patofizjologia PZZP nie została do końca poznana. W ciągu ostatnich kilkunastu lat w światowym piśmiennictwie medycznym pojawiło się wiele prac dotyczących etiologii, mechanizmów powstawania oraz leczenia PZZP. Najnowsze doniesienia coraz częściej sugerują udział czynników genetycznych w patogenezie choroby. W komórkach błony śluzowej zatok i jam nosa zlokalizowanych jest wiele receptorów. Należą do nich m.in. receptory smaku gorzkiego i węchu. Uważa się, że polimorfizm genotypu receptora smaku gorzkiego – TAS2R38 może przyczyniać się do indywidualnych różnic w predyspozycji do rozwoju PZZP. Brak jest jednak doniesień tłumaczących ten mechanizm. Drugi receptor narządów zmysłu – receptor węchu OR1G1, mimo swoich licznych odmian genetycznych i ścisłego powiązania funkcjonalnego z błoną śluzową nosa i zatok, w ogóle nie był dotychczas oceniany pod kątem wpływu na predyspozycje do rozwoju PZZP. Poznanie genetycznych podstaw choroby wydaje się być kluczowe dla wytworzenia nowych form terapii przewlekłego zapalenia zatok.

CEL PRACY

Celem niniejszej pracy było porównanie funkcjonowania zmysłu węchu i zmysłu smaku gorzkiego u chorych z PZZP oraz w grupie kontrolnej osób zdrowych. Oceniono polimorfizmy w receptorach smaku gorzkiego TAS2R38 i receptorach węchu OR1G1 u chorych z PZZP i grupie kontrolnej oraz oceniono korelację polimorfizmów w obrębie genów tych receptorów z nasileniem zmian zapalnych w zatokach przynosowych oraz z nasileniem zaburzeń węchu i smaku u pacjentów z PZZP. Określono również mechanizm wpływu receptorów narządów zmysłu na stan zapalny błony śluzowej zatok.

MATERIAŁ I METODA

Materiał badań obejmował 100 osób. Grupę badaną stanowiło 40 chorych z PZZP bez polipów nosa oraz 30 pacjentów z polipami nosa (PZZPzP), którzy zgłosili się do Oddziału Otolaryngologii Międzyzyleskiego Szpitala Specjalistycznego w Warszawie. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 30 osób z rozpoznaniem skrzywieniem przegrody nosa, bez zmian zapalnych z zatokach przynosowych w TK zatok. Materiał badawczy stanowiły próbki krwi obwodowej oraz fragmenty błony śluzowej zatok pobrane podczas operacji nosa i zatok.

Wszyscy chorzy mieli przeprowadzone badanie otolaryngologiczne, pełne badanie olfatometryczne metodą Sniffin'Sticks , badanie gustometryczne smaku gorzkiego roztworem PROP (6-n-propylotiouracyl). Wykonano badanie polimorfizmów genów TAS2R38 oraz OR1G1, następnie określono genotyp TAS2R38 oraz OR1G1. Przeprowadzono ilościową analizę genu OR1G1 oraz wykonano badanie immunohistochemiczne receptora smaku gorzkiego TAS2R38 oceniające ekspresję białek bezpośrednio w pobranych tkankach.

WYNIKI

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano istotne upośledzenie funkcjonowania zmysłu węchu i smaku gorzkiego u pacjentów z PZZP oraz z PZZPzP i ich wzajemną korelację. Potwierdzono znamienne korelację pomiędzy podtestem Sniffin'Sticks próg powonienia (T-treshold test) a przewodzeniowymi zaburzeniami węchu ($p=0,0002$). Wśród pacjentów z PZZPzP stwierdzono istotnie statystycznie niższe wyniki całościowe ze Sniffin'Sticks testu w stosunku do chorych z PZZP ($p<0,0001$) i grupy kontrolnej ($p<0,001$). Uzyskano istotną różnicę w progu odczuwania smaku gorzkiego między grupami badanymi a grupą kontrolną ($p<0,0001$). Pacjenci z PZZP, jak i z PZZPzP mieli znamienne wyższe progi odczuwania smaku gorzkiego w stosunku do osób zdrowych. Stwierdzono brak pojedynczych polimorfizmów genu OR1G1 w populacji polskiej. Udowodniono natomiast wzrost poziomu transkryptu genu OR1G1 u pacjentów chorych na PZZP w stosunku do pacjentów kontrolnych, co sugeruje udział receptorów OR1G1

w patogenezie PZZP. Wykazano związek zaburzeń zarówno w obrębie zmysłu węchu, jak i smaku z genotypem rec. TAS2R38 badanego. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono obecność wszystkich trzech rodzajów genotypów TAS2R38 – PAV/PAV, PAV/AVI oraz AVI/AVI w populacji polskiej. Częstość heterozygot (PAV/AVI) była największa u osób chorych. Analiza immunohistochemiczna wykazała znamienne nadekspresję receptora TAS2R38 u chorych z PZZP ($p=0,015$), co korelowało nie tylko z nasileniem zmian zapalnych, ale również z genotypem niefunkcyjnym AVI/AVI chorego. Potwierdzono u tych chorych predyspozycje do rozwoju PZZP. Co więcej, z przeprowadzonych badań wynika, że receptory TAS2R38 u chorych z PZZP i PZZPzP migrują do jądra, co prawdopodobnie może świadczyć o funkcji receptora w przekazywaniu sygnału bezpośrednio do jądra komórkowego. Zależność pomiędzy procentem wybarwionych jąder komórkowych pacjentów kontrolnych i badanych była znamienne statystycznie ($p=0,034$).

WNIOSKI

1. Wykazano statystycznie istotne upośledzenie funkcjonowania zmysłu węchu i smaku gorzkiego u pacjentów z PZZP oraz z PZZPzP i ich wzajemną korelację.
2. Potwierdzono istotność przeprowadzania kompleksowych badań węchu w różnicowaniu etiologii zaburzeń powonienia. Wykazano znamienne korelację pomiędzy podtestem Sniffin'Sticks próg powonienia (T-treshold test), a przewodzeniowymi zaburzeniami węchu.
3. Stwierdzono brak pojedynczych polimorfizmów nukleotydowych (SNP) w sekwencji genu OR1G1 w populacji polskiej. Oznacza to brak korelacji pomiędzy SNP a patogenezą PZZP.
4. Udowodniono wzrost poziomu transkryptów genu OR1G1 u pacjentów chorych na PZZP w stosunku do pacjentów kontrolnych, co sugeruje udział receptorów OR1G1 w patogenezie PZZP.

5. W populacji polskiej występują wszystkie trzy rodzaje genotypów rec. TAS2R38 – PAV/PAV, PAV/AVI oraz AVI/AVI, przy czym genotyp protekcyjny PAV/PAV występował znacznie rzadziej u chorych na PZZP i PZZPzP.
6. U pacjentów z PZZP jak i z PZZzP występuje zwiększona ekspresja receptora TAS2R38 w porównaniu do osób zdrowych. Nadekspresja receptora występowała głównie u pacjentów z genotypem nefunkcyjnym AVI/AVI.
7. Wykazano migrację receptorów TAS2R38 do jądra komórkowego u pacjentów z PZZP i PZZPzP.
8. Analiza immunohistochemiczna potwierdziła korelację ekspresji receptora TAS2R38 z nieprawidłowym odczuwaniem zapachów w Sniffin'Sticks teście.
9. Stwierdzono istotny statystycznie łączny wpływ nasilenia zmian zapalnych, odchyłań w Sniffin'Sticks test oraz nasilenia subiektywnych objawów PZZP (wg EPOS) na intensywność wybarwienia komórek (index H-score), świadczący o wzroście gęstości receptora TAS2R38 w błonie śluzowej nosa.