

Streszczenie

Perlakiem określa się torbielowaty twór zbudowany z nabłonka wielowarstwowego płaskiego rogowaciejącego (macierz), wypełniony masami keratyny, otoczony zmienioną zapalnie tkanką łączną (podścielisko). Perlak rozrastając się w przestrzeniach ucha środkowego niszczy okoliczne struktury kostne. Proces ten może prowadzić do destrukcji łańcucha kosteczek słuchowych, utraty słuchu, zaburzeń przedsionkowych i porażenia nerwu twarzowego. Stanowi również ryzyko powikłań wewnątrzskroniowych i wewnątrzczaszkowych. Mimo rozwoju badań molekularnych i potwierdzenia wpływu wielu enzymów proteolitycznych, czynników wzrostu, takich jak cytokin mogących brać udział w patogenezie perlaka, proces ten jest nie do końca poznany, a zabieg operacyjny nadal pozostaje leczeniem z wyboru. W rozwoju perlaka szczególnie istotna wydaje się być rola metaloproteinazy-9 (MMP-9) jako enzymu trawiącego białka macierzy pozakomórkowej, w tym kolagen typu IV, wpływając tym samym na proces apoptozy, hiperprolifracji keratynocytów, angiogenezy i resorpcji kości.

Celem pracy było: 1. określenie lokalizacji i intensywności nacieku zapalnego w tkankach perlaka ucha środkowego; 2. określenie ekspresji MMP-9 i TIMP-1 w tkankach perlaka ucha środkowego oraz wycinkach zdrowej skóry okolicy zausznej (w podścielisku i macierzy); 3. ocena stężenia MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu uzyskanych z krwi pacjentów z przewlekłym zapaleniem ucha środkowego z perlakiem w porównaniu do grupy kontrolnej; 4. ocena zależności między stężeniami MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu w badanych grupach. Sformułowałam następujące hipotezy badawcze: 1. Proces zapalny rozwija się głównie w warstwie podścieliska i wpływa na progresję perlaka; 2. Ekspresja MMP-9 i TIMP-1 jest wyższa w tkankach perlaka w porównaniu do wycinków zdrowej skóry okolicy zausznej i dotyczy głównie warstwy podścieliska perlaka, 3. Stężenie MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu uzyskanych z krwi pacjentów z przewlekłym zapaleniem ucha środkowego z perlakiem jest istotnie wyższe w perlaku w porównaniu do grupy kontrolnej; 4. Może występować zależność między stężeniem MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu w każdej z badanych grup. Do badania włączono 25 pacjentów z przewlekłym zapaleniem ucha z perlakiem, zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego. Podczas zabiegu operacyjnego pobierano tkankę perlaka (grupa badana) i wycinek 3x2mm zdrowej skóry okolicy zausznej (materiał kontrolny). Przed zabiegiem operacyjnym pobierano krew żylną od tych samych pacjentów z (grupa badana: surowica, osocze) oraz od 25 pacjentów zakwalifikowanych do zabiegu septoplastyki z powodu upośledzonej drożności nosa (grupa kontrolna: surowica, osocze). Ekspresja MMP-9 i TIMP-1 w pobranych tkankach oceniana była z zastosowaniem metody

immunohistochemicznej. Stężenia MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu uzyskanych od pacjentów z grupy badanej i kontrolnej oznaczano metodą immunoenzymatyczną ELISA.

Analizę statystyczną otrzymanych wyników wykonano przy pomocy programu STATISTICA 13, Dell Inc 2016. Nie wszystkie dane miały rozkład normalny. Zastosowano nieparametryczny test U Manna-Whitneya do porównania stężenia MMP-9, TIMP-1 między grupami, współczynnik korelacji rang Spearmana do oceny siły współzależności między tymi parametrami oraz Chi 2 test do oceny ekspresji w tkankach. Za znamienne statystycznie przyjęto $p < 0.05$.

Uzyskałam wyższe stężenia MMP-9 w surowicy ($p < 0,69$) i TIMP-1 w osoczu ($p < 0,323$) w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną oraz niższe stężenia MMP-9 w osoczu ($p < 0,962$) i TIMP-1 w surowicy ($p < 0,194$) w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną. Wszystkie wyniki nie były istotne. W ocenie ekspresji MMP-9 i TIMP-1 w tkance perlaka i wycinkach zdrowej skóry wykazałam istotnie wyższą ekspresję MMP-9 w podścielisku perlaka w porównaniu z podścieliskiem wycinka zdrowej skóry ($p < 0,010$) oraz w porównaniu z macierzą perlaka ($p < 0,013$). Wykazałam istotnie wyższą ekspresję TIMP-1 w macierzy perlaka w porównaniu z podścieliskiem perlaka ($p < 0,043$) oraz istotnie wyższą ekspresję TIMP-1 w podścielisku zdrowej skóry w porównaniu z podścieliskiem perlaka ($p < 0,001$). W podścielisku perlaka była istotnie wyższa ekspresja MMP-9 w porównaniu z TIMP-1 ($p < 0,001$). Takiej różnicy nie odnotowałam w macierzy perlaka ani w żadnej warstwie badanego wycinka skóry. W każdej próbce tkanki perlaka, w barwieniu hematoksylina i eozyną była oceniana intensywność stanu zapalnego, w 60% oceniana była jako silna a w 25% jako średnia. Stan zapalny nie był stwierdzany w skórze. W ocenie zależności wykazałam dodatnią korelację między MMP-9 i TIMP-1 w osoczu grupy kontrolnej ($p < 0,48$), nie wykazałam zależności między MMP-9 a TIMP-1 w grupie badawczej.

Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Podścielisko perlaka może być odpowiedzialne za jego rozwój.
2. Ocena ekspresji MMP-9 i TIMP-1 w tkankach perlaka jest przydatna w określeniu stopnia nasilenia procesu zapalnego.
3. Ze względu na brak różnic w poziomie stężenia MMP-9 i TIMP-1 we krwi pacjentów w przewlekłym zapaleniu ucha środkowego z perlakiem, sugeruje się, że stan zapalny u tych chorych nie jest ogólnoustrojowy, a jedynie miejscowy.

4. Ocena stężenia MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu uzyskanym z krwi pacjentów z przewlekłym zapaleniem ucha z perlakiem ma niewielką przydatność kliniczną w diagnostyce tej choroby.

Na podstawie uzyskanych wyników badań, potwierdziłam hipotezę pierwszą. Hipoteza druga została potwierdzona w stosunku do ekspresji MMP-9, nie zaś do ekspresji TIMP-1 w tkankach perlaka i wycinkach zdrowej skóry okolicy zausznej. Nie potwierdziłam hipotezy trzeciej i czwartej.

Podsumowując, wyniki moich badań wskazują na udział podścieliska perlaka oraz przydatność oceny ekspresji MMP-9 i TIMP-1 w rozwoju tej choroby. Dalsze badania mogą przyczynić się do wyjaśnienia nowych patomechanizmów i ukazać nowy kierunek poszukiwań potencjalnych punktów uchwytu terapeutycznego w przewlekłym zapaleniu ucha środkowego z perlakiem.