

Chronická rinosinuitída vo vzťahu k hubám v životnom prostredí

MUDr. Jozef Štrelinger¹, doc. Ing. Elena Piecková, PhD., MPH²

Obaja autori sú vedúci pracovníci na svojich pracoviskách

¹ *ORL oddelenie, Fakultná nemocnica Trnava*

² *Lekárska fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave*

ABSTRAKT

Úloha húb v etiológii chronickej rinosinuitídy (**CRS**) zostáva nejasná, napriek relatívne intenzívnemu výskumu v posledných desaťročiach. Hubové elementy je možné detegovať v nose a prínosových dutinách prakticky všetkých pacientov s CRS rovnako, ako sú prítomné aj u zdravých jedincov. O mechanizmoch účinku hubových čiaštočiek na sliznicu horných dýchacích ciest u citlivých osôb existuje v súčasnosti viacero teórií. Stále sú však nevyhnutné ďalšie štúdie objasňujúce prípadné patogénne pôsobenie húb pri vzniku a rozvoji CRS, ktorých hubových organizmov (ak vôbec) sa to týka a čo konkrétne charakterizuje imunologickú odpoveď pacienta na hubové elementy. Pri chýbajúcich presvedčivých objektívnych imunologických parametroch a klinickom zlepšení stavu CRS po antifungálnej liečbe nemôžeme teda jednoznačne vyhlásiť huby za etiologický (spolu)agens CRS. V každom prípade je z hľadiska verejného zdravia nutné sledovať možné zdroje a spôsoby nežiaducej kolonizácie sínusov jedincov mikroskopickými hubami pri ich neštandardnom výskyte v životnom prostredí ako rizikového faktora pre predisponovaných k ochoreniu CRS.

Kľúčové slová

hubové čiaštočky, horné dýchacie cesty, alergie, hubové toxikanty, obytné prostredie.

Úvod

Chronická rinosinusitída (CRS) je zápalové ochorenie nosa a prínosových dutín charakterizované prítomnosťou rôznorodých znakov (nosová obštrukcia, výtok z nosa, bolesti v oblasti tváre, porucha čuchu) a rinoendoskopickým nálezom, resp. pre ochorenie typickým CT nálezom. Infekcia sa do prínosových dutín dostáva spravidla cez nosovú dutinu, ide o rinogénnu infekciu, preto sa dnes už skôr používa pojem rinosinusitída, nielen sinusitída (1). Chronická rinosinusitída najčastejšie vzniká ako následok opakovaných akútnych zápalov a anatomickej predispozície (2). Symptómy nie sú také búrlivé ako pri akútnej rinosinusitíde, ale svojou nástoľčivosťou výrazne znižujú kvalitu života pacienta a sú v podstate podobné. O CRS hovoríme, ak ochorenie trvá viac ako 6 týždňov. Bakteriálna CRS sa podieľa na celkovom počte pacientov najvýraznejšie. Významnú, ale stále nevyjasnenú úlohu však zohrávajú aj huby. Katzenstein (3) v roku 1983 identifikoval neinvazívny *Aspergillus* sp. v tzv. alergickom mucíne u pacientov s nosovou polypózou. Ponikau (4) neskôr zdokonalil techniku odberu biologického materiálu a identifikácie. Ich práca a výsledky stimulovali rozsiahlu diskusiu o definícii, prevalencii a patomechanizmoch alergickej fungálnej rinosinusitídy.

Práca v tomto štádiu rozpracovania nebola mienená ako prípadová štúdia - išlo len o jednoduchý skríning výskytu rôznych húb u pacientov s CRS, pričom sa vyšetrili aj ľudia bez tejto Dg. a u každého vyšetreného aj jeho obytné prostredie. K štatistickej významnosti sa teda zatiaľ nevieme vyjadriť. Príspevok považujeme za krátku informáciu. Výsledky sú tiež uvádzané ako súhrnné zistenia, preto je udané len pomerne zastúpenie rôznych hubových druhov v celom vyšetrovanom súbore probandov, takže

jednoriadková tabuľka sa nám nezdaľa byť veľmi efektívna. Štúdia je súčasťou pripravovanej doktorandskej práce, takže spracovávanie výsledkov sa postupne rozvíja.

Materiál a metódy

V rokoch 2006 až 2010 sme vyšetrili 65-členný súbor pacientov s CRS a nosovou polypózou. Všetci pacienti boli vyšetrení na ORL klinickom pracovisku (BA, NR). Súbor vyšetrených sme rozdelili na tri skupiny. Prvú skupinu tvorili pacienti s CRS a klinickým nálezom nosových polypov. Zaradili sme do nej mužov aj ženy bez ďalších obmedzení. Všetci pacienti prvej skupiny podstúpili v tomto období chirurgickú liečbu, počas ktorej sa realizoval odber biologického materiálu. Druhú skupinu tvorili pacienti s chronickou nosovou obštrukciou a zároveň s imunologicky dokázanou alergickou rinosinuitídou. Tretiu skupinu tvorili pacienti bez akýchkoľvek príznakov, teda „rinologicky“ zdraví. Títo pacienti boli fyzikálne vyšetrení a u každého sme potvrdili fyziologický nález v nosovej dutine. Žiadne iné kritériá alebo obmedzenia sme neaplikovali.

Biologický materiál u prvej skupiny sme odoberali počas operácie (FESS-funkčná endoskopická operácia prínosových dutín) na operačnom sále pri dodržaní zásad sterility. Inštrumentárium sme excidovali dostatočne veľkú vzorku tkaniva (polyp a časť makroskopicky postihnutej sliznice) do sterilnej skúmavky, materiál sme zaliali sterilným fyziologickým roztokom. V druhej skupine sme sa zamerali na odber hlienov z nosovej dutiny u pacientov s alergickou rinosinuitídou na rinologickej ambulancii. **Spôsob odberu** bol nasledovný: Pacienta sme usadili vo vyšetrovacom kresle, do nosovej dutiny sme instilovali fyziologický roztok a následne sme pacienta inštruovali, aby vyfúkol obsah nosovej dutiny (hlien) do sterilnej misky.

Hlien sme následne umiestnili do sterilnej skúmavky. Tretiu skupinu tvorili zdraví pacienti a postupovali sme rovnakým spôsobom ako pri skupine č. 2. Takto spracovaný biologický materiál sme pri teplote 20 °C a bez priameho prístupu svetla transportovali do mykologického laboratória, kde bol vyšetrený do 48 hodín. Na spracovanie biologického materiálu sme použili niekoľko na seba nadväzujúcich metód. V prvom rade sme urobili priame mikroskopické pozorovanie odobraných vzoriek (polypy). Sledovali sme prítomnosť fungálnych fragmentov (hýfy, spóry). V ďalšom sme kultivovali biologický materiál (tkanivo aj výplach z nosovej dutiny). Izolovali sme čisté kultúry mikromycét a identifikovali podľa atlasu de Hoog a kol. (5). Na druhovú identifikáciu vybraných izolátov mikromycét (alternárie a penicíliá) sme použili aj metódu molekulovej analýzy PCR - polymerázová reťazová reakcia. Ide o metódu, ktorá umožňuje amplifikáciu špecifických úsekov DNA *in vitro* polymerizáciou pri využití špecifického katalytického účinku DNA-polymerázy pri cyklickom opakovaní celého procesu. V druhej línii pokusu sme s každým pacientom vyplnili dotazník, ktorý nás informoval o širších vzťahoch hlavne k jeho životnému prostrediu a návykom (otázky o type a spôsobe bývania, prostredia v práci, hygienickom návykom atď.).

Výsledky

Počet pacientov v prvej skupine bol 23 z toho bolo 39 % žien a 61 % mužov. Priemerný vek bol 52,8 rokov, pacienti boli vo vekovom rozložení od 34 - 91 rokov. Z toho ženy mali priemerný vek 53,2 roka (46 – 71 rokov) a muži mali priemerný vek 52,5 rokov (34 – 91 rokov). Počet pacientov v druhej skupine bol 22 z toho bolo 27 % žien a 73 % mužov. Priemerný vek pacientov bol 57,8 roka, pacienti boli vo vekovom rozložení od 27 – 83 rokov. Z toho ženy priemerný vek bol 63,6 roka (40 – 83 rokov) a muži priemerný vek bol 55,5 roka (27 – 73 rokov).

Tretiu skupinu reprezentovalo 20 zdravých osôb. Z tohto počtu bolo 55 % žien a 45 % mužov. Priemerný vek bol 39,2 roka (19 – 76 rokov) z toho ženy: 39,9 roka (19 – 76 rokov) a muži: 38,4 roka (20 – 60 rokov). Celkový počet vyšetrených pacientov a kontrol bol 65. Z toho 40 % tvorili ženy a 60 % muži.

Na základe kultivačného, histologického a antigén prezentujúceho dôkazu boli huby zistené u každého pacienta s CRS, ale tiež u každého zdravého človeka, dokonca sa dá povedať, že huby signifikantnejšie viac osídľujú sliznicu nosovej dutiny u klinicky zdravých pacientov. Je to zrejme tým, že pacienti s CRS užívajú viac intranazálne podávaných prípravkov, čím jemne znižujú porciu osídlenia nosovej sliznice hubami (spreje, kvapky, výplachy a iné).

Z obytných priestorov respondentov (pacienti s CRS, aj kontrolná skupina) sa izolovali mikroskopické vlákňité huby patriace k bežnej mykoflóre nesterilných vnútorných priestorov budov, prevažne k tzv. primárnym (vzdušné huby aspergily a penicíliá) a sekundárnym (kladospóriá, alternarie, chaetomia) kolonizátorom. Izolované sterilné mycéliá môžu byť napr. aj zárodkami vyšších húb, ktoré sa tiež bežne vyskytujú vo vzduchu, najmä vonkajšom v zelených zónach (záhrady, parky, lesy atď.) Sekundárne kolonizátory sú zástupcami húb prirodzene sa vyskytujúcich na rastlinnom materiáli živom (listy) aj odumretom (napr. listové odpady, pôdne komponenty). Prítomnosť nižších húb (rizopy) indikuje organické zvyšky v obytnom prostredí.

Diskusia

Úloha vzdušných húb vo vzťahu k patogenéze CRS nie je stále vyjasnená. Prvotný entuziazmus štúdií zameraných na prepracovanejší spôsob odberu biologického materiálu a identifikácie (hlavne PCR) nahrádza skepsa.

Ukazuje sa, že prítomnosť húb nie je špecifická pre pacientov s CRS, nakoľko sa vyskytuje aj u zdravých ľudí. Identifikáciou podtypov sa nezistil žiadny rozdiel v osídľovaní sliznice u zdravých a pacientov s CRS. Iniciálnu tézu či je rozdiel v osídlení sliznice nosovej dutiny a druhovom zastúpení vzdušných húb u pacientov s CRS a zdravých, skôr nahrádza otázka, akým spôsobom huby (a či vôbec) ovplyvňujú patomechanizmus CRS. Okrem vrodenej a získanej imunitnej odpovede na huby hrá však významnú úlohu aj tzv. „fungus antihost“ efekt. Vzdušné huby (špeciálne alternarie) produkujú látky, ktoré aktivujú mechanizmy vedúce k porušeniu bunkovej steny epitelu. V nadväznosti na štúdie, ktoré opisujú nepriamy spôsob aktivácie eozinofilov, sa ukazuje, že špeciálne *Alternaria alternata* dokáže aktivovať eozinofily priamo.

Pomerné zastúpenie jednotlivých húb (vyjadrené v percentách) je veľmi podobné ako v súbore prezentovanom Ponikauom (4). *Alternaria* sa u americkej populácie vyskytuje v 44,3 %, u slovenských probandov to bolo 24 %, *Aspergillus* 29,5 % v USA, 15 % na Slovensku. *Cladosporium* osídľuje sliznicu nosovej sliznice u americkej populácie pacientov s CRS v 39 % a u slovenských CRS pacientov 21,4 %. Veľmi podobné je osídlenie hubami *Penicillium*, v populácii USA je to 43,3 % a v populácii Slovenska 39,5 %. Menej porovnateľné je osídlenie nižšími hubami *Rhizopus*, je to 2,4 % u Američanov a 14,9 % u slovenských pacientov. Rozdiely sú v identifikácii niektorých druhov húb, ktoré neboli identifikované u americkej populácie, a naopak u slovenskej. *Candida* bola u americkej populácie identifikovaná v podiele 24,4 % a *Saccharomyces cerevisiae* v podiele 0,5 %.

V nedávnej štúdii realizovanej Inouom (6) sa opisuje, že eozinofily zdravých ľudí inkubované s antigénmi alternarií a penicilií vykazujú signifikantné množstvo EDN, čo je marker degranulácie eozinofilov.

Keď boli inkubované eozinofily pacientov s astmou alebo alergiami, zistilo sa uvoľnenie o 70 % viac EDN ako u zdravých. Ukazuje sa, že degranuláciu spôsobila len huba *Alternaria alternata* a ostatné huby ako *Candida*, *Aspergillus*, *Cladosporium* nie. Toto zistenie môže viesť v budúcnosti k vyjasneniu úlohy vzdušných húb v patogenéze CRS.

Alternarie sú považované za najpotentnejšie hubové alergény. Aspergily môžu produkovať širokú škálu mykotoxínov s minimálne dráždivým účinkom na dýchacie cesty. *A. versicolor* produkuje karcinogénny sterigmatocystín, ktorý v pokusoch *in vivo* aj *in vitro* poškodzoval samočistiacu schopnosť horných dýchacích ciest, pôsobil cytotoxicky na pľúcne tkanivo a indukoval jeho zápal, ako aj narúšal krvotvorbu u pokusných zvierat. Silným producentmi rôznych mykotoxínov a/alebo prchavých organických látok s dráždivým účinkom na sliznice sú aj penicíliá.

Z hľadiska ochrany verejného zdravia, prípustná kvantita hubových zárodkov vo vnútornom ovzduší **nie je zatiaľ zákonne limitovaná**, odporúča sa však max. **500 KTJ/m³** v zložení kopírujúcom vonkajšie ovzdušie a bez prítomnosti toxických húb. Vo všetkých tu vyšetovaných prípadoch kvalitatívne kritérium bolo splnené, vo vonkajšom vzduchu aj vnútornom ovzduší sa nachádzalo druhovo aj kvantitatívne podobné spektrum hubových zárodkov, čo súvisí so sezónnym zvýšením v období vegetačného pokoja, kedy sa merania vykonali. Je teda možné vzduch v dýchacej zóne vyšetrených obytných priestorov považovať za vyhovujúci a vonkajšie ovzdušie zas za zdroj mikroorganizmov nežiaduco kolonizujúcich vnútorné povrchy pri ich dlhodobo zvýšenej vlhkosti (7).

Záver

Spracovaním biologického materiálu a osobného dotazníka sme zistili, že kontrolná skupina zdravých a skupina pacientov s chronickou nosovou obštrukciou sa nelíšia osídlením sliznice nosovej dutiny hubami. Takisto sa tieto dve skupiny nelíšia ani druhmi húb, ktoré osídľujú sliznicu nosovej dutiny. Na základe týchto výsledkov sa prikláňame k záveru, že neinvazívne huby osídľujú sliznicu nosovej dutiny prirodzene a nie sú prvotnou príčinou chronickej nosovej obštrukcie v zmysle zápalu ani typickej IgE sprostredkovanej reakcie (samotné nie sú patogénmi). Preto prvotne odporúčané používanie antimykotík ako napr. amfotericínu B u týchto pacientov nie je indikované.

Literatúra

1. KALINER, M. A., OSGUTHORPE, J. D., FIREMAN, P.: Sinusitis: bench to bedside: current findings, future directions. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 1997; 116: 1-20.
2. LACKNER, A., REINHARD, B., STAMMBERGER, H., BRAUN, H.: The role of IL-16 in eosinophilic chronic rhinosinusitis, *European Archives of Otorhinolaryngology*. 2007; 264: 265-354.
3. KATZENSTEIN, A. L., SALE, S. R. , GREENBERGER, P. A.: Allergic Aspergillus sinusitis: a newly recognized form of sinusitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1983; 72: 89-93.
4. PONIKAU, J.: The Diagnosis and Incidence of Allergic Fungal Sinusitis, *Mayo Clinic Proceedings*. 1999;74: 877-884.
5. DE HOOG, G. S., GUARRO, J., GENÉ, J., FIGUERAS, M. J.: Atlas of clinical fungi. 2000. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1126 s.

6. INOUAE, Y.: Nonpathogenic, Environmental Fungi Induce Activation and Degranulation of Human Eosinophils. The Journal of Immunology. 2005; 175: 5439-5447.

7. PIECKOVÁ, E., HURBÁNKOVÁ, M., ČERNÁ, S., MAJOROŠOVÁ, M., KOVÁČIKOVÁ, Z., PANGALLO, D.: Respiratory toxicity of Aspergillus versicolor, the most common indoor mould in Slovakia. In: BREBBIA, C. A. et al. (Eds.): Environmental Health and Biomedicine. 15. Wit Press, Southampton, ZK, 2011. p. 135 - 145.

Adresa autora:

MUDr. Jozef Štrelinger

Fakultná nemocnica Trnava, ORL oddelenie

A. Žarnova 11

917 75 Trnava

meil: jstrelinger@gmail.com