PLUNC протеините: нов поглед върху патогенезата на хроничния риносинуит

PLUNC proteins: A New Side of the Pathogenesis of Chronic Rhinosinuitis

Ю. Хаджиев, Сп. Тодоров, Д. Конов,
О. Стоянов, Ст. Йорданов
Hadjiev Y., Sp. Todorov, D. Konov,
O. Stoianov, St. Yordanov

Резюме:

Хроничният риносинуит представлява персистиращ възпалителен процес на синусалната лигавица. Основни защитни механизми са мукоцилиарният клирънс, който е комбинация от движението на цилиите на епитела и тънкия мукусен филм, както и различни секреторни белтъци (част от неспецифичния имунитет). Лигавицата на горните дихателни пътища има основна роля като входна врата за различни патогени, така че ранното разпознаване на бактериалните продукти е от съществено значение за защитата на макроорганизма. В този процес на протекция участват различни групи протеини: PLUNC proteins (palate, lung and nasal epithelium clone), lipid transfer/lipopolysaccharide binding protein (LT/LBP), bactericidal/permeability increasing protein (BPI), cholesteryl ester transfer protein (CETP). Дисфункцията на PLUNC протеините има важна роля в патогенезата на хроничния риносинуит, като създава подходяща среда, благоприятстваща микробната колонизация.

Abstract

Chronic rhinosinuitis is a persistent inflammatory process of the sinonasal mucosa. The basic defence mechanisms of the paranasal sinuses and the nose include the mucociliary clearance (which is a combination of the movements of the respiratory epithelium cilia and thin mucosal film) as well as different secretory proteins (which are part of the innate immune system). The upper respiratory tract mucosa serves as a gateway for different pathogens so the early detection of bacteria is essential for the defence of the organism. This protection process consists of different groups of protein: PLUNC proteins (palate, lung and nasal epithelium clone), lipid transfer/lipopolysaccharide binding protein (LT/LBP), bactericidal/permeability increasing protein (BPI), cholesteryl ester transfer protein (CETP). PLUNC proteins dysfunction is primary in developing the pathogenesis of chronic rhinosinuitis for it creates a suitable environment, which can be conducive for microbial colonization.

Въведение

Хроничният риносинуит (ХРС) е здравен проблем със значително социално-икономическо значение. Според GA2LEN проучването ХРС (съгласно EP3OS критериите) ангажира 10,9% от популацията. Обикновено е с мултибактериална етиология. (19)

Материали и методи

Направен е литературен обзор по темата за PLUNC протеини и хроничен риносинуит през последните години чрез PubMed.

Introduction

Chronic rhinosinuitis (CRS) is a health problem with a great socio-economic impact. According to the GA2LEN research, it engages about 10,9% of the population. It is usually with a multibacterial etiology (19).

Materials and methods

A thorough literature survey on PLUNC proteins and chronic rhinosinuitis has been carried out over recent years via PubMed.

Дискусия

Хроничният риносинуит се определя като възпалителен процес на носа и околоносните кухини, продължаващ поне 8–12 седмици с поне 2 от следните симптома:

1. носна обструкция.
2. повишено отделяне на секрет от носа (напред през ноздрите или назад към хоаните).
3. лицева болка/тежест и/или намалено обоняние/загуба на обоняние.
4. ендоскопски данни (мукопуrolентна или безцветна носна секреция, най-често в средния носов ход с/без носни полипи) или КАТ данни за промени на лигавицата. (17)

Хроничният риносинуит се разделя на два вида:

1. Хроничен риносинуит с носни полипи (ХРС с НП)
2. Хроничен риносинуит без носни полипи. (ХРС без НП)

Носните полипи представляват двустранни туморовидни образувания със сивкаво-белезникав цвят, гладка блестяща повърхност, еластична консистенция, крушовидна или овална форма, най-често изхождащи от етмоидалните клетки. Характерни са честите рецидиви след тяхното отстраняване. Причина на възникването им се отдава на теорията на Бернули. Бернули феноменът се отнася до течности и газове, които преминават през стеснени пространства (каквито обикновено се срещат в носа и околоносните кухини), което създава отрицателно налягане в съседство на стриктурата. Така създаденото отрицателно налягане предизвиква преминаване на плазма екстравазално с едематозно просмукване на тъканта. Формират се ограничени оточни участъци (полипи), които под силата на тежестта се уголемяват надолу. Полипите или хипертрофичната носна лигавица в областта на средния носов ход блокират остеомеаталния комплекс (мястото на естествените отвори на синусите). По този начин се възпрепятства аерацията на синусите, нарушава се мукоцилиарният клирънс със задръжка на секрет в синуса.

Нелекуваният риносинуит може да причини орбитални или интракраниални усложнения. Целта на хирургичното лечение на хроничния риносинуит е отстраняване на полипозните

Discussion

CRS is defined as an inflammation of the nasal cavity and paranasal sinuses with a duration period of at least 8–12 weeks and at least 2 of the following symptoms:

1. Nasal obstruction
2. Increased secretion from the nose (anterior from the nostrils or posterior from the choanae)
3. Facial pain or facial pressure/loss of sense of smell.
4. Endoscopic signs (mucopurulent or discolored secretion, in most cases from the middle nasal meatus with/without nasal polyps) or CT signs for pathology to the mucosa. (17)

Chronic rhinosinuitis (CRS) is divided into two types:

1. Chronic rhinosinuitis with nasal polyps.
2. Chronic rhinosinuitis without nasal polyps.

Nasal polyps are bilateral, tumor-like formations that are greyish in color, have smooth glistening surface, oval in shape and elastic consistency. In most cases they grow from the ethmoid cells. Nasal polyposis is a recurrent condition. The pathogenesis of the nasal polyps is related to the Bernoulli's principle. The Bernoulli's principle refers to liquids and gases passing through narrow spaces (which are very common in the nose and sinuses). An increase in the speed of the fluid or the gas through the nose causes a decrease of pressure next to the narrowing. In such cases, negative pressure is created in the mucosa next to the stenosis. Because of this negative pressure, the intravascular liquid passes through blood vessels in the extravascular space. The result is a localized edema of the nasal and paranasal mucosa. Nasal polyps are formed and because of the gravity they enlarge downwards. Polyps or hypertrophic mucosa in middle nasal meatus block the osteomeatal complex (this is the place of the natural ostia of the sinuses). The result of this blocking is a decrease of the airflow into the sinuses, mucociliary clearance dysfunction, and extra mucus within the sinus.

If the chronic rhinosinuitis is not treated, an orbital and/or intracranial complications are possible. The main objective of sinus surgery is the removal of the nasal polyps and hypertrophic mucosa with

маси и патологично променената лигавица с дезобструкция на средния носов ход. Използват се две групи оперативни техники:

1. Функционална ендоскопска синус хирургия.
2. Отворени оперативни техники (трепанация на фронталния синус, фронтотомидектомия, трепанация на максиларния синус по Калдуел-Люк).

При хроничния риносинуит се наблюдава персистиращ възпалителен процес на лигавицата. Едни от основните защитни механизми на макроорганизма (неспецифичен имунитет) са:

1. **Мукоцилиарният клирънс** (комбинация от движението на цилиите на епитела и тънкия мукусен филм).
2. Различни **секреторни белтъци** (отделяни от респираторния епител) (1):
 - ♦ PLUNC proteins (palate, lung and nasal epithelium clone).
 - ♦ LT/LBP (lipid transfer/lipopolysaccharide binding protein).
 - ♦ BPI (bactericidal/permeability increasing protein).
 - ♦ CETP (cholesteryl ester transfer protein).

PLUNC протеините (palate, lung and nasal epithelium clone) представляват група от седем белтъка. Кодират се от ген (BPIFA1), който съдържа девет екзона и е разположен в хромозома 20q11.2. Белтъците от PLUNC се разделят в две основни групи в зависимост от размера им:

1. „Къси“ белтъци, SPLUNC1 (256 аминокиселини), SPLUNC2 (249 аминокиселини), SPLUNC3 (253 аминокиселини)
2. „Дълги“ белтъци, LPLUNC1 (484 аминокиселини), LPLUNC2 (458 аминокиселини), LPLUNC3 (463 аминокиселини), LPLUNC4 (> 469 аминокиселини) (2)

SPLUNC протеините се отделят от големите и малки слюнчени жлези, респираторния ресничест епител, а LPLUNC протеините са продукт на чашковидните клетки на епитела на мукозата на горните дихателни пътища и устната кухина. (3)

opening of the middle nasal meatus. There are two types of surgery techniques for chronic rhinosinusitis:

1. FESS
2. Different open surgical techniques (trepanation of the frontal sinus, fronto-ethmoidectomy, Caldwell-Luc operation)

In cases of chronic rhinosinusitis, a persistent inflammatory process of the sinunasal mucosa is observed.

The basic defence mechanisms of paranasal sinuses and the nose include:

1. **The mucociliary clearance** (it consists of the movements of the respiratory epithelium cilia and thin mucosal film);
2. Different secretory proteins (excreted through the respiratory epithelium) (1):
 - ♦ PLUNC proteins (palate, lung and nasal epithelium clone).
 - ♦ LT/LBP (lipid transfer/lipopolysaccharide binding protein).
 - ♦ BPI (bactericidal/permeability increasing protein).
 - ♦ CETP (cholesteryl ester transfer protein).

PLUNC proteins (palate, lung and nasal epithelium clone) are a group of seven proteins. They are encoded by a gene (BPIFA1) which consists of nine exons and is located in the 20q11.2 chromosome. The proteins, which make up PLUNC, are divided in two major groups according to their size:

1. „short“ proteins, SPLUNC1 (256 amino acids), SPLUNC2 (249 amino acids), SPLUNC3 (253 amino acids)
2. „long“ proteins, LPLUNC1 (484 amino acids), LPLUNC2 (458 amino acids), LPLUNC3 (463 amino acids), LPLUNC4 (> 469 amino acids) (2)

SPLUNC proteins are a product of the major and minor salivary glands, respiratory epithelium.

LPLUNC proteins are a product of the goblet cells of the upper respiratory tract mucosa and the oral cavity. (3)

Фигура 1. Респираторен епител

Figure 1. respiratory epithelium

PLUNC протеините се откриват в епитела на лигавицата на горните дихателни пътища (ГДП), в слюнката, в мукуса, покриващ ГДП, субмукозните слюнчени жлези (4), лигавицата на средното ухо (11). PLUNC протеините имат следните функции:

1. Участват в неспецифичния имунен отговор на горните дихателни пътища
2. Намаляват повърхностното напрежение на въздушно-водната повърхност на ГДП.
3. Инхибират образуването на биофилм от патогенни причинители.
4. Участват в регулацията на епителните натриеви каналчета – спомага за адекватно „изчистване“ на мукозните повърхности.
5. Оказват влияние върху синтеза (намалява) на IL-8, IL-6, IL-1b
6. Предполага се, че участват в химиотаксиса на неутрофили и макрофаги.

PLUNC proteins are observed in the upper respiratory tract (URT) epithelium, saliva, URT mucus, submucosal minor salivary glands (4), middle ear mucosa. (11) The functions of the PLUNC proteins are the following:

1. Taking part in the innate immune system;
2. Decreasing the surface pressure on the air-liquid surface of the URT.
3. Inhibition of biofilm formation from different bacteria.
4. Regulation of the epithelial sodium channel-more adequate „cleaning“ of the mucosal surfaces.
5. Inhibition of the production of IL-8, IL-6, IL-1b.
6. Taking part in the chemotaxis of neutrophils and macrophages.

Фигура 2. Биофилм, образуван от *Staphylococcus aureus*

Figure 2. *Staphylococcus aureus* biofilm

7. Предполага се връзката им с туморния растеж при някои злокачествени тумори (белодробен карцином).

Структурата на PLUNC протеините е сходна със структурата на белтъка латерин. Латеринът се намира в слюнката на коня и представлява белтък със силно изразен сърфактантен ефект. (5) По този начин PLUNC протеините намаляват повърхностното напрежение на въздушно-водната повърхност, което понижава адхезионната способност на патогенните микроорганизми на горните дихателни пътища. PLUNC също оказват противовъзпалителен ефект, като намаляват синтеза на IL-8, IL-6, IL-1b 5-6. (9) Според Gakhar L et al. PLUNC протеините предотвратяват бактериалната колонизация на лигавицата и имат изразен антибиофилм ефект. (6)

Заклучение

Биофилмите представляват мултибактериални съобщества, които са прикрепени към лигавицата, включени са в матрикс от екстрацелуларни полизахариди, отличават се с изразена антибиотична резистентност. Инхибирането образуването на биофилм върху лигавицата от PLUNC протеините е от изключително значение за протекцията на макроорганизма от мултирезистентни бактериални щамове. Bartlett JA твърди, че дисфункцията на PLUNC протеините има важна роля в патогенезата на хроничния риносинусит, като създава подходяща среда, благоприятстваща микробната колонизация (7). PLUNC потискат активирането на епителните натриеви каналчета, които са свързани с мукоцилиарния клиърънс (10). По този начин дисфункция на PLUNC води до дисрегулация на натриевите каналчета и нарушение в мукоцилиарния клиърънс.

При пациенти с хроничен риносинусит се установяват ниски нива на експресия на PLUNC (15). Пациентите, при които се извършва повторно синус хирургия (поради рецидивиращ риносинусит), имат много по-ниски нива на PLUNC експресия в сравнение с пациенти с еднократна хирургична намеса. Разбирането на връзката между експресията на PLUNC и рецидивиращия риносинусит може да доведе до нова стратегия в лечението на това хронично заболяване. (16)

7. Taking part in tumor growing in lung carcinoma.

The structure of the PLUNC proteins is similar to that of the protein laterin. Laterin can be found in horse saliva and has a pronounced surfactant effect. (5). That is the way PLUNC proteins reduce the surface pressure of the air/water surface, which in turn reduces the adhesive ability of the pathogenic microorganisms in the upper respiratory tract. PLUNC proteins also have an anti-inflammatory effect because they reduce the synthesis of IL-8, IL-6, IL-1b 5-6. (9) According to Gakhar et al, PLUNC proteins prevent bacterial colonization in the mucosa and they have a pronounced anti-biofilm effect. (6)

Conclusion

Biofilms are multibacterial communities attached to the mucosa. They are included in a matrix of extracellular polysaccharides and are distinguished for their high antibiotic resistance. The formation of biofilm on the mucosa by PLUNC proteins is essential for protecting the organism from multi-resistant bacterial strains. Bartlett JA claims that the dysfunction of PLUNC proteins plays a very important part in the pathogenesis of chronic rhinosinuitis for it creates a comfortable environment for microbial colonization. (7) PLUNC proteins suppress the activation of the epithelial sodium channels that are connected to the mucociliary clearance (10). Thus, dysfunction of PLUNC proteins results in deregulation of the sodium channels and disturbance in the mucociliary clearance.

In patients suffering from chronic rhinosinuitis, low levels of PLUNC expression are found (15). Patients who undergo a second sinus surgery (because of recurrent rhinosinuitis) show much lower levels of PLUNC expression compared to patients who had undergone only one surgery. Understanding of the connection between PLUNC expression and recurrent rhinosinuitis can lead to developing a new strategy in the treatment of this chronic condition (16).

References

1. Sung, Y.K., Moon, C., Yoo, J.Y., Moon, C., Pearse, D., Pevsner, J. and Ronnett, G.V. (2002) PLUNC, a member of the secretory gland protein family, is up-regulated in nasal respiratory epithelium after olfactory bulbectomy. *J. Biol. Chem.*, Jan. 30.
2. Bingle CD, Craven CJ. PLUNC: a novel family of candidate host defence proteins expressed in the upper airways and nasopharynx. *Hum Mol Genet.* 2002 Apr 15; 11(8): 937-43.
3. Bingle L, Bingle CD. Distribution of human PLUNC/BPI fold-containing (BPIF) proteins. *Biochem Soc Trans.* 2011 Aug; 39(4): 1023-7.
4. Luo Q, Zhang J, Zhang H, Wei Y, Li H. Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. [Expression of palate, lung, and nasal epithelial clone in primary and recurrent nasal polyps]. 2014 Jun; 28(11): 764-7.
5. Kennedy MW. Latherin and other biocompatible surfactant proteins. *Biochem Soc Trans.* 2011 Aug; 39(4): 1017-22.
6. Gakhar L, Bartlett JA, Penterman J, Mizrahi D, Singh PK, Mallampalli RK, Ramaswamy S, McCray PB Jr. PLUNC is a novel airway surfactant protein with anti-biofilm activity. *PLoS One.* 2010 Feb 9; 5(2):e9098.
7. Bartlett JA, Gakhar L, Penterman J, Singh PK, Mallampalli RK, Porter E, McCray PB Jr. PLUNC: a multifunctional surfactant of the airways. *Biochem Soc Trans.* 2011 Aug; 39(4): 1012-6.
8. Bartlett JA, Hicks BJ, Schlomann JM, Ramachandran S, Nauseef WM, McCray PB Jr. PLUNC is a secreted product of neutrophil granules. *J Leukoc Biol.* 2008 May; 83(5): 1201-6.
9. Lukinskiene L, Liu Y, Reynolds SD, Steele C, Stripp BR, Leikauf GD, Kolls JK, Di YP. Antimicrobial activity of PLUNC protects against *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Immunol.* 2011 Jul 1; 187(1): 382-90.
10. Garcia-Caballero A, Rasmussen JE, Gaillard E, Watson MJ, Olsen JC, Donaldson SH, Stutts MJ, Tarran R. SPLUNC1 regulates airway surface liquid volume by protecting ENaC from proteolytic cleavage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jul 7; 106(27): 11412-7.
11. McGillivray G, Bakaletz LO. The multifunctional host defense peptide SPLUNC1 is critical for homeostasis of the mammalian upper airway. *PLoS One.* 2010 Oct 7; 5(10):e13224
12. Ghafouri B, Kihlström E, Stehlöbom B, Tagesson C, Lindahl M. PLUNC (palate, lung and nasal epithelial clone) proteins in human nasal lavage fluid. *Biochem Soc Trans.* 2003 Aug; 31(Pt 4): 810-4.
13. Vitorino R, Lobo MJ, Ferrer-Correia AJ, Dubin JR, Tomer KB, Domingues PM, Amado FM. Identification of human whole saliva protein components using proteomics. *Proteomics.* 2004 Apr; 4(4): 1109-15.
14. Preciado D, Goyal S, Rahimi M, Watson AM, Brown KJ, Hathout Y, Rose MC. MUC5B is the predominant mucin glycoprotein in chronic otitis media fluid. *Pediatr Res.* 2010 Sep; 68(3): 231-6.
15. Tsou YA, Peng MT, Wu YF, Lai CH, Lin CD, Tai CJ, Tsai MH, Chen CM, Chen HC. Decreased PLUNC expression in nasal polyps is associated with multibacterial colonization in chronic rhinosinusitis patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2014 Feb; 271(2): 299-304.
16. Passali D, Sarafoleanu C, Manea C, Loglisci M, Passali FM, Cambi J, Iosif C, Panaitescu E, Bellussi LM. PLUNC proteins positivity in patients with chronic rhinosinusitis: a case-control study. *Scientific World Journal.* 2014; 2014: 853583.
17. Hastan D, Fokkens WJ, Bachert C, Newson RB, Bislimovska J, Bockelbrink A, Bousquet PJ, Brozek G, Bruno A, Dahlén SE, Forsberg B, Gunnbjörnsdóttir M, Kasper L, Krämer U, Kowalski ML, Lange B, Lundbäck B, Salagean E, Todo-Bom A, Tomassen P, Toskala E, van Drunen CM, Bousquet J, Zuberbier T, Jarvis D, Burney P. Chronic rhinosinusitis in Europe an underestimated disease. A GAILEN study. *Allergy.* 2011 Sep; 66(9): 1216-23.
18. Verhoeff M, van der Veen EL, Rovers MM, Sanders EA, Schilder AG. Chronic suppurative otitis media: a review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006 Jan; 70(1): 1-12.
19. Bachert C, Pawankar R, Zhang L, Bunnag C, Fokkens WJ, Hamilos DL, Jirapongsananuruk O, Kern R, Meltzer EO, Mullol J, Naclerio R, Pilan R, Rhee CS, Suzaki H, Voegels R, Blaiss M. ICON: chronic rhinosinusitis. *World Allergy Organ J.* 2014 Oct 27; 7(1):25.
20. Morris P. Chronic suppurative otitis media. *Clin Evid (Online).* 2012 Aug 6; 2012.

За контакти:

Д-р Юлиян Хаджиев
УМБАЛ „Царица Йоанна“ – ИСУЛ
ул. „Бяло море“ 8
гр. София
България

For contact:

Dr Yuliyana Hadzhiev
University Hospital „Tsaritsa Yoanna – ISUL“
8 Byalo More Str
Sofia
Bulgaria