

РИСК РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА У НОСИТЕЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ПОЛИМОРФНЫХ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ

Байке Е.В.

ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», Чита, elenabayke@yandex.ru

Изучена частота ассоциаций генотипов генов IL-1b (T511C, T31C) и IL-10 (G1082A, C819C) у 299 пациентов с хроническим гнойным средним отитом и 183 здоровых лиц. Носительство комбинации генотипов генов IL-1b 511T/C, IL-10 1082 A/A, IL-10 819 C/C, IL-1b 31 C/C является фактором риска развития хронического воспалительного процесса в среднем ухе по деструктивному типу течения заболевания. В то же время, носительство совокупности генотипов генов IL-1b 511T/T, IL-10 1082G/A, IL-10 819 C/C, IL-1b 31 T/T лежит в основе благоприятной формы хронического гнойного среднего отита - мезотимпанита. Носительство мутантных гомозигот генов провоспалительных интерлейкинов повышает вероятность развития кариозно-деструктивной формы хронического гнойного среднего отита, фенотипически проявляющейся наличием в барабанной полости, аттике, антруме, адитусе и клетках сосцевидного отростка холестеатомными массами, резко выраженным грануляционным процессом.

Ключевые слова: ассоциация генотипов генов, интерлейкины, хронический гнойный средний отит, микрофлора

THE RISK OF DEVELOPMENT OF CHRONIC PURULENT OTITIS MEDIA IN SOME POLYMORPHIC ALLELES OF PRO-INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY INTERLEUKINS

Bayke E.V.

Chita State Medical Academy (672090, Chita, street Gorky, 39a), E-mail: pochta@chitgma.ru

The incidence of association of genotypes of genes IL-1b (T511C, T31C) and IL-10 (G1082A, C819C) in 299 patients with chronic purulent otitis media and 183 healthy individuals. Carriage combination of genotypes genes IL-1b 511T/C, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31C/C is a risk factor for the development of chronic inflammation in the middle ear by a destructive type of disease. At the same time, carriage of the aggregate genotypes genes IL-1b 511T/T, IL-10 1082G/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31T/T is the basis of a favorable form of chronic purulent otitis media - mesotympanitis. Carriage homozygous mutant genes of proinflammatory interleukin increases the risk of caries-destructive forms of chronic purulent otitis media, phenotypically manifested by the presence in the tympanic cavity, attic, antrum, and aditus and the cells of the mastoid process cholesteatoma masses, pronounced granulating process.

Keywords: Association of genotypes of genes, interleukins, chronic purulent otitis media, microflora

Воспалительная реакция – ответ организма на агрессивный внешний фактор. Реализация ее стандартна и протекает типично при многих известных нам заболеваниях. Однако, из практики нам известно, что патологический ответ у разных людей может протекать различно и по интенсивности своего проявления и по продолжительности, несмотря на кажущуюся одинаковость воздействия внешнесредовых факторов (климатические условия, питание и образ жизни пациентов). По литературным данным известно, что в основе активности воспалительного ответа лежит дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов [4,5]. Персональные различия в продукции медиаторов воспаления определяются полиморфизмом генов. В работе Совалкина В.И. и соавт. выявлено, что полиморфизмы генов фактора некроза опухолей α G-308A и интерлейкина-10 G-1082A были связаны с длительным течением внебольничной

пневмонии [8]. Исследователи Киселевой Е.А. и соавт. изучали фенотипические проявления полиморфизма промоторных участков генов интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей α в предрасположенности формирования «провоспалительного генотипа» с последующей неопластической трансформации слизистой оболочки полости рта [2]. Насибуллиным Т.Р. и соавт. установлена связь между генами CCL2 (5357 C>T), SELE (3832 C>T) и CxCR3 (-3328 A>C) и риском развития эссенциальной гипертензии [3]. Наследственная предрасположенность к развитию рассеянного склероза также отмечена работой Хусаиновой А.Н. и соавт. и рядом других авторов [10]. О выраженности воспалительного процесса в среднем ухе можно судить по содержанию цитокинов в сыворотке крови, что подтверждено данными исследований В.П. Шпотина и соавт [4]. В работе изучалось изменение уровней IL-2, IL-6 и TNF α у больных с ХГСО в зависимости от активности воспалительного процесса. Поэтому изучение частоты встречаемости мутантных полиморфных аллельных вариантов генов у больных ХГСО представляется перспективным в теоретическом и практическом отношениях [1,7]. Выявление ассоциации деструктивных форм хронического гнойного среднего отита с определенными комбинациями генотипов, в конечном итоге, может дать возможность прогнозировать риск развития «злокачественного» течения заболевания и провести профилактику развития осложнений.

Цель исследования – изучить частоту генотипов и аллелей и оценить предикторную направленность носительства полиморфизма генов IL-1b (T511C, T31C) и IL-10 (G1082A, C819C) у больных с хроническим гнойным средним отитом. **Материалы и методы.** В исследование были включены 482 пациента, находившихся на стационарном лечении в оториноларингологическом отделении Краевой клинической больницы г. Читы. Из них 253 человека были мужского пола, 229 – женского. Все испытуемые были разделены на 3 группы. Первую составили 146 пациентов, страдающих туботимпанальной формой хронического гнойного среднего отита (наличие центральной перфорации, отсутствие деструктивных изменений на компьютерных томограммах, стойкая ремиссия или обострения не более 2 раз в год). Вторая группа представлена 153 больными тимпаноантральной формой хронического отита, у которых жалобы, анамнестические данные, отомикроскопия, рентгенограммы и дальнейшее оперативное лечение подтверждают кариозно-деструктивные процессы в среднем ухе. Контрольная группа состояла из 183 человек, никогда не страдавших заболеваниями уха. Все наблюдаемые были сопоставимы по возрасту и полу.

Всем больным были выполнены стандартные общеклинические, рентгенологические, аудиометрические исследования. Молекулярно-генетическому анализу подвергали геномную ДНК человека, выделенную из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс – кровь» (ООО НТП «Литех», г. Москва) с последующей амплификацией

(ДТ-916, Махугене, Германия) и детекцией продуктов либо в режиме реального времени либо гель – электрофорезом с окраской геля 1% этидия бромидом в проходящем ультрафиолетовом свете. Результаты анализа позволяли дать три типа заключений: нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гомозигота.

Распределение SNP (single nucleotide polymorphism) генов цитокинов в исследованных группах соответствовало распределению Харди-Вайнберга ($HWE > 0,05$). Для сравнения различий частот генотипов и аллелей полиморфизма генов использован критерий Хи-квадрат, значения уровня $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые. Для оценки ассоциации изучаемых полиморфных вариантов генов с риском развития хронического гнойного среднего отита рассчитывали отношение шансов OR (Odds Ratio) с доверительным интервалом 95%, причем $OR = 1$ трактовали как «отсутствие ассоциаций»; $OR > 1$ – как «положительную ассоциацию» («повышенный риск развития патологии»), $OR < 1$ – как «отрицательную ассоциацию» генотипа с ХГСО («пониженный риск развития патологии»). Математическую обработку полученных результатов проводили методами непараметрической статистики на персональном компьютере при помощи «Statistica 10» и с использованием on-line-калькулятора ([http:// gen-exp.ru/calculator_or.php](http://gen-exp.ru/calculator_or.php)).

Результаты и обсуждение. Носительство следующих комбинаций генотипов полиморфизма генов IL-1b 511T/C, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31C/C ($OR > 1$ [CI 95% 8,44-459,48]), IL-1b 511T/T, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31T/C и IL-1b 511T/T, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31C/C ($OR > 1$ [CI 95% 0,88-62,39]; $OR > 1$ [CI 95% 1,99-20,54]) могут являться маркерами развития кариозно-деструктивного процесса в среднем ухе (табл.1). Клиническая картина пациентов, являющимися носителями таких сочетаний вариантов генотипов представлена распространенным холестеатомным процессом в среднем ухе, активным ростом грануляций и наличием полипозной ткани как в барабанной полости, так и за ее пределами. Кроме этого, 97 человек с эпитимпанитом вне зависимости от длительности заболевания оказались носителями мутантных гомозигот по IL-1b (511T/T, 31T/C) или IL-10 (1082G/A). Также было выявлено, что носительство некоторых генотипов полиморфизма генов противо- и провоспалительных интерлейкинов предполагает отсутствие развития хронического патологического процесса в среднем ухе, за исключением случаев присутствия прямого негативного влияния факторов внешней среды согласно гипотезе о мультифакторности заболеваний [9].

Таблица 1

Распределение частоты ассоциаций полиморфизма генов у пациентов контрольной группы и разных форм хронического гнойного среднего отита

Ассоциация полиморфизмов генов	Контроль n=183	Эпитимпанит n=153	$p\chi^{2\ 1-2}$	OR
IL-1b 511T/T, IL-10 1082 G/A, IL-10 819 C/C, IL-31 T/T	11	1	0,0108*	OR=9,72 CI 95% (1,24 до 76,17)
IL-1b 511T/T, IL-10 1082 A/A, IL-10 819 C/C, IL-31 T/C	1	6	0,0349*	OR=7,43 CI 95% (0,88 до 62,39)
IL-1b 511T/T, IL-10 1082 A/A, IL-10 819 C/C, IL-31 C/C	1	12	0,0009*	OR=15,49 CI 95% (1,99 до 20,54)
IL-1b 511T/C, IL-10 1082 A/A, IL-10 819 C/C, IL-31 C/C	1	39	0,0000*	OR=62,26 CI 95% (8,44 до 459,48)
Ассоциация полиморфизмов генов	Контроль n=183	Мезотимпанит n=146	$p\chi^{2\ 1-3}$	OR
IL-1b 511T/T, IL-10 1082 G/A, IL-10 819 C/T, IL-31 T/C	0	13	0,0001*	
IL-1b 511T/C, IL-10 1082 G/G, IL-10 819 C/T, IL-31 T/T	8	1	0,0470*	OR=10,63 CI 95% (1,31 до 85,98)
Ассоциация полиморфизмов генов	Мезотимпанит n=146	Эпитимпанит n=153	$p\chi^{2\ 2-3}$	OR
IL-1b 511T/T, IL-10 1082 G/A, IL-10 819 C/C, IL-31 T/T	9	1	0,0104*	OR=10,13 CI 95% (1,27 до 81,03)
IL-1b 511T/T, IL-10 1082 G/A, IL-10 819 C/C, IL-31 T/C	7	1	0,0309*	OR=7,65 CI 95% (0,93 до 63,00)
IL-1b 511T/T, IL-10 1082 A/A, IL-10 819 C/C, IL-31 T/C	1	6	0,0706	OR=6,91 CI 95% (0,70 до 49,77)
IL-1b 511T/T, IL-10 1082 A/A, IL-10 819 C/C, IL-31 C/C	1	12	0,0036*	OR=12,34 CI 95% (1,58 до 96,16)
IL-1b 511T/C, IL-10 1082 A/A, IL-10 819 C/C, IL-31 C/C	1	39	0,0000*	OR=31,53 CI 95% (4,26 до 233,05)

$p\chi^{2\ 1-2}$ -сравнение между контрольной группой и эпитимпанита

$p\chi^{2\ 1-3}$ -сравнение между контрольной группой и мезотимпанита

$p\chi^{2\ 2-3}$ -сравнение между группами мезотимпанита и эпитимпанита

* - различия статистически значимы ($p < 0,05$)

Комбинация генотипов IL-1b 511T/T, IL-10 1082G/A, IL-10 819C/T, IL-1b 31T/C встречалась в нашем исследовании только в группе с туботимпанальной формой хронического гнойного среднего отита. Носительство ассоциации генотипов IL-1b 511T/C, IL-10 1082G/G, IL-10 819C/T, IL-1b 31T/T снижает риски развития хронического процесса в ухе (OR<1 [CI 95% 0,02-1,26]).

При проведении анализа молекулярно-генетического исследования генотипов между двумя формами хронического гнойного среднего отита выявлено, что комбинации генетических полиморфизмов цитокинов IL-1b 511T/C, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b31C/C (OR>1 [CI 95% 4,26-233,05]) и IL-1b 511T/T, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b31C/C (OR>1 [CI 95% 1,58-96,16]) являются маркерами более «злокачественного» течения заболевания, в то время как носительство следующих ассоциаций IL-1b 511T/T, IL-10 1082G/A, IL-10 819C/T, IL-1b31T/C и IL-1b 511T/T, IL-10 1082G/A, IL-10 819C/C, IL-1b31T/T (OR<1 [CI 95% 0,01 до 0,84]) резко снижает риск развития деструктивных процессов у среднем ухе. Дисбаланс между противо- и провоспалительными цитокинами способствует нарушению физиологического течения воспалительного ответа. Патоморфологически мы наблюдаем неадекватное соотношение интенсивности альтеративных и пролиферативных стадий. В конечном итоге, происходит затягивание во времени всех фаз воспаления с наложением их друг на друга, что клинически проявляется вялотекущим процессом в среднем ухе [6]. В этом случае решающую роль начинают играть неблагоприятные внешние факторы, а именно микроорганизмы. Кроме того, носительство мутантных гомозигот в рассматриваемых вариантах генов, которое наблюдается только у лиц с эптитимпанитом, наводит на мысль о синергизме генов цитокинов с генами, отвечающих за структурную организацию остеоцитов и эпителиоцитов слизистой оболочки среднего уха. Возможно, в основе увеличения площади деструктивного поражения лежит количественное и качественное изменение структуры эпителиоцитов и остеоцитов, составляющих основной элемент репаративных процессов, а также быстрое истощение пула естественных антиоксидантов из-за недостаточности кровоснабжения костного участка пораженного кариозным процессом вследствие локального тромбоза питающих сосудов.

Выводы:

1. Выявлено, что у лиц с комбинацией генотипов генов IL-1b 511T/C, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31C/C риск кариозно-деструктивного течения ХГСО выше, чем у носителей ассоциации генотипов IL-1b 511T/T, IL-10 1082G/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31T/T.
2. Носительство мутантных гомозигот генов провоспалительных интерлейкинов повышает вероятность развития тимпаноантральной формы ХГСО, фенотипически проявляющейся холестеатомным и грануляционным процессами.

Список литературы

1. Байке Е.В., Витковский Ю.А. Частота полиморфизма генов IL-1b, IL-6, IL-10 и TNF-α у больных хроническим гнойным средним отитом // Забайкальский медицинский вестник - №1.- 2015. – С.94-98.- Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv>.

2. Киселева Е.А. Фенотипическая роль полиморфизма генов цитокинов при хронических воспалительных и неопластических стоматологических заболеваниях / Е.А. Киселева, А.З. Элбакидзе, О.Ю. Николаева // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т.10, № 4. – С.52-55.
3. Насибуллин Т.Р. Роль полиморфных маркеров генов медиаторов воспаления в формировании наследственной предрасположенности к эссенциальной гипертензии / Т.Р. Насибуллин, В.А. Белоногова, В.В. Эрдман и др. // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т.10, № 3. – С.22-26.
4. Оценка цитокинового статуса у больных хроническим гнойным средним отитом / В.П. Шпотин [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2012. - Т.11., №4. - С.82-84.
5. Полиморфизм гена IL-10 (С819Т) у больных с воспалительными заболеваниями пародонта в забайкальском крае / Н.Э. Доржиева [и др.] // Забайкальский медицинский вестник. — 2011. — №1. — С. 44-48. — Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv>
6. Серебренникова С.Н. Влияние иммуномодулятора на механизмы регуляции клеточных реакций в очаге экспериментального воспаления: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 2012. – 22с.
7. Смольникова М.В., Смирнова С.В., Коноплева О.С. Цитокины: полиморфизм генов и уровень продукции в формировании контроля над течением атопической бронхиальной астмы у детей. // Цитокины и воспаление. – 2014. – Т.13, № 1. – С. 122.
8. Совалкин В.И. Роль полиморфизма генов фактора некроза опухолей α G-308A, интерлейкина-1 β C511T и интерлейкина-10 G-1082A в развитии затяжного течения внебольничной пневмонии / В.И. Совалкин, Е.Г. Поморгайло, О.Н. Сабитова, Е.П. Подгурская // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т.12, №6. – С.54-61.
9. Тихомирова И.А. Хронические заболевания ЛОР органов в формировании профиля патологии: автореф. дисс... докт. мед.наук / И.А. Тихомирова. – СПб., 2009. – 47с.
10. Хусаинова А.Н. Роль аллельных генов цитокинов в формировании наследственной предрасположенности к рассеянному склерозу / Хусаинова А.Н., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А. и др. // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т.10, № 4. – С.74-79.

Рецензенты:

Мироманов А.М., д.м.н., доцент, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита;

Гончарова Е.В., д.м.н., доцент, заведующий кафедрой ультразвуковой и функциональной диагностики ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита.