

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ IL-1b, IL-6, IL-10 И TNF- α У БОЛЬНЫХ РАЗНЫМИ ФОРМАМИ ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА

Байке Е.В., Байке Е.Е.

ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», e-mail: elenabayke@yandex.ru

Изучен полиморфизм генов IL-1b (C3953T, T511C, T31C), IL-6 (C174G), IL-10 (G1082A, C592A, C592A) и TNF- α (G308A) у 299 пациентов с туботимпанальной и тимпаноантральной формами хронического гнойного среднего отита. Выявлена взаимосвязь ассоциации носительства аллеля T полиморфного гена IL-1b (T31C) и аллелей G и T генов противовоспалительного IL-10 (G1082A) и IL-10 (C819T) с пониженным риском развития деструктивных форм хронического среднего отита. 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. Установлено, что полиморфизм генов IL-6 (C174G) и TNF- α (G308A) не определяет интенсивность и тяжесть течения хронического среднего отита.

Ключевые слова: полиморфизм генов, интерлейкины, хронический гнойный средний отит

GENE POLYMORPHISMS OF IL-1b, IL-6, IL-10 AND TNF- α IN PATIENTS WITH DIFFERENT FORMS OF CHRONIC PURULENT OTITIS MEDIA

Bayke E.V., Bayke E.E.

Chita State Medical Academy, e-mail: elenabayke@yandex.ru

It was studied the gene polymorphism of IL-1b (C3953T, T511C, T31C), IL-6 (C174G), IL-10 (G1082A, C592A, C592A) and TNF α (G308A) in 299 patients with tubotympanic and tympanoantral forms of chronic purulent media otitis. The lower risk of destructive forms of chronic media otitis correlates with T allele of polymorphic gene IL-1b (T31C) and allele G and T of IL-10 gene (G1082A) and IL-10 (S819T). 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. It was established, that gene polymorphisms of IL-6 (C174G) and TNF- α (G308A) do not determine the intensity and severity of chronic media otitis.

Keywords: gene polymorphism, interleukins, chronic purulent media otitis

В настоящее время туботимпанальная форма (мезотимпанит) встречается у половины больных хроническим гнойным средним отитом (ХГСО) и характеризуется вялотекущим катаральным воспалением слизистой оболочки среднего уха (мукозитом). Костные структуры при этом часто остаются интактными. Течение этой формы хронического гнойного среднего отита считается доброкачественным в связи с малой долей вероятности развития местных и внутричерепных осложнений. Хронический эпитимпанит отличается вовлечением в воспалительный ответ не только слизистой оболочки среднего уха, но и костных структур, что клинически проявляется кариозно-деструктивными процессами стенок барабанной полости и сосцевидного отростка. Отогенные внутричерепные осложнения являются следствием таких прогрессирующих морфофункциональных нарушений и представляют непосредственную угрозу для жизни больного и продолжают занимать доминирующее положение в перечне причин летальных исходов при патологии

ЛОР-органов [3]. Несмотря на очевидную роль инфекционного агента, внешних неблагоприятных факторов в этиопатогенезе среднего отита, в последние десятилетия предпринимаются активные усилия для выявления генетических предикторов хронических заболеваний. Большое количество работ посвящено медиаторам воспаления и генетическим маркерам предрасположенности к хронической ЛОР-патологии [2, 7]. Исследователями А.А. Устиновичем и соавт. впервые определена доля наследственных факторов в формировании предрасположенности к острым отитам у близкородственных лиц, которая составила 56%, а на участие внешнесредовых факторов авторами отводится 44% [6]. В исследованиях И.А. Тихомировой (2009 г.) установлено, что полиморфизм гена интерлейкина 4 ассоциирован с формированием у ребенка хронического тонзиллита и аденоидов [5]. Американскими учеными изучался вклад в частоту рецидивирования острого среднего отита у детей полиморфизма единичных нуклеотидов генов провоспалительных цитокинов [8]. Однако роль полиморфизма генов, отвечающих за баланс взаимодействия провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в развитии хронического гнойного среднего отита, изучена не достаточно полно.

Цель исследования

Изучение полиморфизма генов IL-1b (C3953T, T511C, T31C), IL-6 (C174G), IL-10 (G1082A, C592A, C592A) и TNF- α (G308A) у больных с туботимпанальной и тимпаноантральной формами хронического гнойного среднего отита.

Материалы и метод

В исследование были включены 299 пациентов ЛОР-отделения ККБ г. Читы. Первую группу составили 146 пациентов, страдающих туботимпанальной формой ХГСО (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. Частота обострений «злокачественной» формы заболевания составила в среднем 4 раза в год. Всем больным были выполнены стандартные общеклинические исследования. Анализу подвергали геномную ДНК человека, выделенную из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс – кровь» (ООО НТП «Литех», г. Москва). С образцом выделенной ДНК параллельно проводили две реакции амплификации с двумя парами аллельспецифичных праймеров в режиме реального времени (PCR-rt), гель-электрофорезом в ультрафиолетовом свете. Результаты анализа позволяли дать три типа заключений: нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гомозигота.

Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди—Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в двух субпопуляциях использовали критерий Хи-квадрат. Значения уровня $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые. Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к изучаемой патологии судили по величине относительного риска заболевания OR (Odds Ratio). Математическую обработку полученных результатов проводили методами непараметрической статистики на персональном компьютере при помощи «Statistica 10» и с использованием online-калькулятора ([http:// gen-exp.ru/calculator_or.php](http://gen-exp.ru/calculator_or.php)).

Результаты и обсуждение

Гены интерлейкинов обладают чрезвычайно высокой степенью полиморфизма, при этом количество вариабельных участков может быть множество. Нами проведен анализ полиморфизма генов изучаемых цитокинов именно промоторных участков генов, оказывающих влияние на фенотипическое проявление заболевания. Интерлейкин-1 является индуцибельным белком, синтез которого начинается на внедрение микроорганизмов либо повреждение тканей, и необходим для развития воспаления и осуществления всего комплекса защитных реакций, называемых острофазовым ответом. Равновесие между продукцией, экспрессией и ингибацией синтеза цитокинов семейства интерлейкина-1 играет важную роль в исходе воспалительной реакции. Из литературных данных известно, что лица, гомо- или гетерозиготные по высокопродуцирующему аллелю интерлейкина-1 бета (C3953T), продуцируют в 4 и 2 раза соответственно большее количество цитокина, чем лица с нормальным вариантом исследуемого гена. В ходе молекулярно-генетического исследования нами установлено, что частота встречаемости генотипов гена IL1b (C3953T) среди пациентов с деструктивной и мукозной формами хронического гнойного среднего отита оставалась практически одинаковой (табл. 1).

Таблица 1

Распределение генотипов генов противо- и провоспалительных интерлейкинов у пациентов с туботимпанальной и тимпаноантральной формами хронического гнойного среднего отита

Генотипы	Туботимпанальная форма	Тимпаноантральная форма	Критерий χ^2, P	OR, p
IL1b (C3953T)				
C/C	0,479	0,477	0,02 p=0,9932	OR=1,01 (0,64 до 1,59) CI 95%
C/T	0,459	0,458		OR=1,01 (0,64 до 1,59) CI 95%
T/T	0,062	0,065		OR=0,94 (0,37 до 2,38) CI 95%
IL1b (T511C)				

T/T	0,568	0,294	78,43 p=0,0001	OR=3,16 (1,96 до 5,10) CI 95%
T/C	0,137	0,627		OR=0,09 (0,05 до 0,17) CI 95%
C/C	0,295	0,078		OR=4,91 (2,46 до 9,77) CI 95%
IL1b (T31C)				
T/T	0,384	0,176	46,58 p=0,0004	OR=2,90 (1,70 до 4,95) CI 95%
T/C	0,473	0,314		OR=1,96 (1,22 до 3,14) CI 95%
C/C	0,144	0,510		OR=0,16 (0,09 до 0,28) CI 95%
IL6 (C174G)				
C/C	0,158	0,196	4,57 p=0,1038	OR=0,77 (0,42 до 1,39) CI 95%
C/G	0,452	0,529		OR=0,73 (0,47 до 1,16) CI 95%
G/G	0,390	0,275		OR=1,69 (1,04 до 2,75) CI 95%
IL10 (G1082A)				
G/G	0,329	0,314	27,88 p=0,0003	OR=1,07 (0,66 до 1,74) CI 95%
G/A	0,568	0,098		OR=12,12 (6,48 до 22,65) CI 95%
A/A	0,103	0,588		OR=0,08 (0,04 до 0,15) CI 95%
IL10 (C592A)				
C/C	0,418	0,490	3,43 p=0,1842	OR=0,75 (0,47 до 1,18) CI 95%
C/A	0,568	0,510		OR=1,27 (0,80 до 2,00) CI 95%
A/A	0,014	0		OR=5,31 (0,25 до 11,15) CI 95%
IL10 (C819T)				
C/C	0,404	0,686	24,15 p=0,0001	OR=0,31 (0,19 до 0,50) CI 95%
C/T	0,452	0,229		OR=2,78 (1,69 до 4,58) CI 95%
T/T	0,144	0,085		OR=1,81 (0,87 до 3,76) CI 95%
TNFα (G308A)				
G/G	0,774	0,784	1,06 p=0,5961	OR=0,94 (0,55 до 1,63) CI 95%
G/A	0,219	0,216		OR=1,02 (0,59 до 1,77) CI 95%
A/A	0,007	0		OR=3,16 (0,13 до 78,32) CI 95%

Обнаружено, что для больных с мезотимпанитом характерно носительство немутантных генотипов генов IL1b (511 TT, 31 TT). Среди пациентов с эптитимпанитом

гетерозиготный вариант гена IL1b (T511C) регистрировался чаще относительно первой группы ($p=0,0001$). Мутантный вариант гена IL1b (31 CC) у больных со «злокачественным» течением заболевания среднего уха встречался в 3,5 раза чаще по сравнению с первой группой ($p=0,0004$). Воспаление у носителей гетерозиготных генотипов более продолжительное и интенсивное, что фенотипически подтверждается кариозно-деструктивными процессами в среднем ухе и частыми обострениями хронического гнойного среднего отита в год.

Интерлейкин-6 относят к интегральным медиаторам, но длительное и чрезмерное повышение его уровня коррелирует с продолжительностью и тяжестью имеющегося заболевания. Это подтверждено работой В.П. Шпотина и соавт., где проанализирована зависимость концентрации цитокинов (IL-6) от степени деструктивного процесса в среднем ухе [7]. В нашем исследовании частота генотипов в группах наблюдения достоверно не отличалась. Следовательно, необходимо учитывать, что в процессе воспаления способность клеток к выработке цитокинов зависит от степени и протяженности воспалительного ответа, обусловленных не только генетически, но и многими другими факторами: внешнесредовыми, а также возрастом и иммунитетом реципиента.

Из литературных источников известно, что основная функция интерлейкина-10, реализующаяся путем изменения иммунного ответа с Th1 на Th2, проявляется в подавлении избыточного синтеза и гиперактивации провоспалительных цитокинов и ферментов. В нашем исследовании обнаружено, что среди лиц, страдающих мезотимпанитом, гетерозиготный генотип гена IL10 (1082 GA, 819 CT) наблюдался чаще относительно больных с эптитимпанитом. Вероятно, иммуносупрессивная функция интерлейкина-10 на иммунокомпетентные клетки у больных с мезотимпанитом приводит к пониженной выработке провоспалительных цитокинов (IL-1 и IL-6), обеспечивая «доброкачественное» течение заболевания (табл. 1).

Активный интерес к провоспалительному цитокину TNF α поддерживается его широким спектром биологического действия: он инициирует синтез провоспалительных интерлейкинов, является хемоаттрактантом для нейтрофилов, стимулирует макрофаги и пролиферацию Т-, В-лимфоцитов. Ранее исследовалась ассоциация между тремя полиморфизмами генов (TNF α -308, IL-1 β +3953, IL-6 -174) провоспалительных цитокинов и восприимчивости к отиту у детей. Было обнаружено, что TNF α -308 и IL-6-174 полиморфизм (но не IL-1 β +3953) существенно связан с предрасположенностью к воспалению среднего уха [4]. Изучаемый нами генетический полиморфизм гена TNF α (G308A) ассоциирован с развитием хронического отита, однако выраженность деструктивного процесса в среднем ухе не зависит от частоты встречаемости генотипов в рассматриваемых клинических группах

[1]. Следовательно, сила и интенсивность патологического ответа с участием вышеперечисленных цитокинов обусловлены скорее активацией мононуклеарных периферических клеток (МНПК) и продуктами воспаления, чем генетической предрасположенностью.

У исследуемых больных с мезотимпанитом частота аллеля Т полиморфного гена IL-1b (Т31С) значительно превышала значение в группе пациентов с эптитимпанитом, что является доказательством носительства аллеля Т как фактора пониженного риска развития кариозно-деструктивных процессов среднего уха (табл. 2).

Таблица 2

Распределение частоты аллелей у пациентов с разными формами хронического гнойного среднего отита

Аллели	Мезотимпанит n (%)	Эпитимпанит n (%)	Критерий χ^2 , p	OR, p
Полиморфизм IL-1b (С3953Т)				
С	0,709	0,706	0,01 0,94	OR=1,01 (0,71 до 1,44) CI 95%
Т	0,291	0,294		OR=0,99 (0,69 до 1,40) CI 95%
Полиморфизм IL-1b (Т511С)				
Т	0,637	0,608	0,54 0,46	OR=1,13 (0,81 до 1,57) CI 95%
С	0,363	0,392		OR=0,88 (0,63 до 1,23) CI 95%
Полиморфизм IL-1b (Т31С)				
Т	0,620	0,333	49,21 0,000	OR=3,26 (2,33 до 4,56) CI 95%
С	0,380	0,667		OR=0,30 (0,22 до 0,43) CI 95%
Полиморфизм IL-6 (С174G)				
С	0,384	0,461	36,5 0,06	OR=0,73 (0,52 до 1,07) CI 95%
G	0,616	0,539		OR=1,37 (0,99 до 1,90) CI 95%
Полиморфизм IL-10 (G1082A)				
G	0,613	0,363	37,47 0,001	OR=2,78 (1,99 до 3,87) CI 95%
A	0,387	0,637		OR=0,36 (0,26 до 0,50) CI 95%
Полиморфизм IL-10 (С592A)				
С	0,702	0,745	1,39 0,07	OR=0,80 (0,56 до 1,15) CI 95%
A	0,298	0,255		OR=1,24 (0,86 до 1,77) CI 95%
Полиморфизм IL-10 (С819Т)				
С	0,630	0,801	21,43 0,001	OR=0,42 (0,29 до 0,61) CI 95%
Т	0,370	0,199		OR=2,36 (1,63 до 3,40) CI 95%

				95%
Полиморфизм TNF-α (G308A)				
G	0,884	0,892	0,11 0,74	OR=0,92 (0,55 до 1,52) CI 95%
A	0,116	0,108		OR=1,09 (0,65 до 1,81) CI 95%

Наличие аллелей G IL-10 (G1082A) (OR=2,78) и T IL-10 (C819T) (OR=2,36) повышает вероятность течения хронического процесса в среднем ухе по доброкачественному типу.

Таким образом, генетический полиморфизм отражается на работе медиаторов воспаления, что фенотипически проявляется в той или иной форме ХГСО.

Выводы

1. У лиц, страдающих кариозно-деструктивными формами хронического гнойного среднего отита, чаще встречается носительство гетерозиготы и мутантной гомозиготы провоспалительного гена IL-1b (T511C, T31C).
2. Носительство аллеля T полиморфных генов IL-1b (T31C) в сочетании с носительством аллелей G и T противовоспалительных генов IL-10 (G1082A, C819T) снижает риск развития хронического гнойного среднего отита по типу кариозно-деструктивного процесса.

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. 2015. (1). Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv>
2. Власова Г.В. Особенности общей и местной иммунореактивности у детей с хроническими средними отитами / Г.В. Власова, Л.В. Егоров, А.Ю. Котов и др. // Цитокины и воспаление. — 2005. — № 4. — С. 39–44.
3. Косяков С.Я. Отогенные внутричерепные осложнения: актуальные вопросы диагностики лечения / С.Я. Косяков, Е.В. Носуля, Б. Перич // Вестник оторинолар. — 2014. — № 1. — С. 64–69.
4. Ризванова Ф.Ф. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов / Ф.Ф. Ризванова, О.И. Пикуза, Р.А. Файзуллина и др. // Практическая медицина. — 2010. — № 45. — С. 42–43.
5. Тихомирова И.А. Хронические заболевания ЛОР-органов в формировании профиля патологии: автореф. дисс. ... докт. мед.наук. — СПб. — 2009. — 17 с.
6. Устинович А.А. Вклад наследственных факторов в развитие острых средних отитов у новорожденных и детей первых месяцев жизни /А.А. Устинович, Т.Н. Войтович, К.Н. Устинович // Медицинский журнал. — 2013. — № 2. — С. 115–118.

7. Шпотин В.П. Оценка цитокинового статуса у больных хроническим гнойным средним отитом / В.П. Шпотин, Х.М. Галимзянов, Н.В. Еремина и др. // Цитокины и воспаление. — 2012. — Т. 11, № 4. — С. 82–84.
8. Patel J.A. Association of proinflammatory cytokine gene promoter polymorphisms with susceptibility to otitis media /J.A. Patel // Pediatrics. — 2006. — Т. 118, № 6. — P. 2273–2279.

Рецензенты:

Ходакова О.В., д.м.н., доцент, проректор по учебно-воспитательной работе ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита;

Романова Е.Н., д.м.н., профессор госпитальной терапии и эндокринологии ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита.