УДК 616.28-008-07

Байке Е.В., Витковский Ю.А.

ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ IL-1b, IL-6, IL-10 и TNF-α У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГНОЙНЫМ СРЕДНИМ ОТИТОМ

ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия

Резюме. *Изучена частота аллелей и генотипов генов IL-1b (C3953T, T511C, T31C), IL-6 (C174G), IL-10 (G1082A, C592A, C592A) и TNF-α (G308A) у 220 пациентов с хроническим гнойным средним отитом и 183 здоровых лиц. Носительство аллели C полиморфного гена IL-1b (C3953T) является фактором риска развития хронического воспалительного процесса в среднем ухе. В то же время, носительство аллели T гена провоспалительного IL-1b (T31C) (OR=0.37, CI 95%, 0.28-0.49), аллели G и C генов противовоспалительного IL-10 (G1082A, C819T) (OR=0.63, CI 95%, 0.47-0.84; OR=0.63, CI 95%, 0.47-0.85) указывает на отрицательную ассоциацию с заболеванием.*
Ключевые слова: *полиморфизм генов, интерлейкины, хронический гнойный средний отит.*

Bayke E.V., Vitkovsky Yu.A.

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

Summary. *At was studied the alleles and genotypes genes of IL-1b (C3953T, T511C, T31C), IL-6 (C174G), IL-10 (G1082A, C592A, C592A) and TNF-α (G308A) in 220 patients with chronic purulent media otitis and 183 healthy individuals. Carriage of SNP of IL-1b (C3953T) gene is a factor of risk of chronic inflammation in the middle ear. At the same time, carriage of allele T of the proinflammatory of IL-1b (T31C) gene (OR = 0,37, CI 95%, 0,28-0,49), alleles G and C of antiinflammatory IL-10 (G1082A, C819T) genes (OR = 0,63, CI 95%, 0,47-0,84; OR = 0,63, CI 95% 0,47-0,85) indicates a negative association with the disease.*
Keywords: *gene polymorphism, interleukins, chronic purulent otitis media.*

Введение. Одной из причин, приводящей к развитию тугоухости и, следовательно, снижению качества жизни пациента, является хронический гнойный средний отит. В структуре ЛОР-патологии хроническое воспаление среднего уха занимает 27,2% [3]. Из клинических наблюдений известно, что реализация воспалительного ответа может существенно различаться по интенсивности и продолжительности: у одних больных он протекает более остро и агрессивно, у других имеет затяжной характер [8]. Так как цитокины являются медиаторами воспаления, несомненно, что анализ генетических основ, обуславливающих индивидуальные реакции организма, является важной задачей при исследовании механизмов развития и течения заболеваний и выявлении предрасположенности [4, 7]. Количественное содержание интерлейкинов у пациентов отражает генетические особенности регуляции их синтеза и устойчивое формирование «провоспалительного генотипа». Встречаются статьи, посвященные анализу вариабельности однонуклеотидных полиморфизмов гена TNF-α и предрасположенностью к развитию некоторых воспалительных болезней (хронического бронхита, фиброзирующего альвеолита, острого отита и т.д.) [9, 10]. Ранее исследовалась ассоциация между тремя полиморфизмами генов (TNFα-308, IL-1β +3953, IL-6 -174) провоспалительных цитокинов и восприимчивости к отиту у детей и было обнаружено, что TNFα-308 и IL-6-174 полиморфизм (но не IL-1β +3953) существенно связан с предрасположенностью к воспалению среднего уха [1].

Холестеатомно-деструктивные формы хронического гнойного среднего отита, часто осложненные внутричерепной патологией, являются серьезным осложнением перенесенных острых отитов. Большая роль в этом отводится цитокинам, кооперации клеток в процессе иммунного ответа и тем самым определяющих течение, длительность и интенсивность заболевания [6]. Активизация интерлейкинами 1,6,10 и TNFα синтеза коллагеназы, гипо- или гиперпродукция которой приводит к разрушению соединительнотканных барьеров в среднем ухе, обеспечивает проникновение (или инвазию) микроорганизмов с развитием хронического

воспалительного процесса в ухе. Таким образом, представляет большой научный интерес комплексное исследование полиморфизма генов про- и противовоспалительных интерлейкинов у больных, страдающих хроническим гнойным средним отитом.

Цель исследования - изучение частоты полиморфизма генов IL-1b (C3953T, T511C, T31C), IL-6 (C174G), IL-10 (G1082A, C592A, C592A) и TNF-α (G308A) у больных хроническим гнойным средним отитом и здоровых лиц.

Материалы и методы. В исследование были включены 403 пациента, находившихся на стационарном лечении в оториноларингологическом отделении Краевой клинической больницы г. Читы, которые были разделены на 2 группы. 1-ю группу составили 220 пациентов, страдающих хроническим гнойным средним отитом (98 женщин и 122 мужчин) в возрасте от 15 до 70 лет; во вторую группу вошли 183 человека, никогда не страдавшие заболеваниями уха. Лица обеих групп были сопоставимы по возрасту, полу.

Всем больным были выполнены стандартные общеклинические, рентгенологические, аудиометрические 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 аллель-специфичных праймеров в режиме реального времени, гель – электрофорезом в ультрафиолетовом свете. Результаты анализа позволяли дать три типа заключений: нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гомозигота.

Распределение SNF (single nucleotide polymorphism) генов цитокинов в исследованных группах соответствовало распределению Харди-Вайнберга. Для статистической оценки различий качественных признаков при проведении изучения 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). OR доверительным интервалом с 95% определены (CI). 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).

Результаты и обсуждение. Установлено, что среди пациентов с хроническим средним отитом частота генотипа CC гена IL1b (C3953T) встречалась в 114 (51,8%) случаях по сравнению с контрольной группой – 46 (25,1%). Гетерозиготный вариант CT практически одинаково часто выявлялся в обеих группах. Патологический гомозиготный генотип обнаруживался у 12 (5,5%) и 34 (18,7%) лиц первой и второй групп соответственно (таб. 1).

Изучение полиморфизма гена IL1b (T511C) не выявило статистически значимых различий в распределении нормальной гомозиготы в исследуемых группах. Частота встречаемости гетерозиготного варианта TC гена IL1b (T511C) в группе с ХГСО составила 128 (58,1%) человек и была выше в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой. Патологическая гомозигота CC определена у 31 (14,2%) пациента с отитом и у 75 (41%) здоровых лиц.

Гомозиготный мутантный вариант CC гена IL1b (T31C) у пациентов 1-ой группы встречался в 2 раза чаще, чем в контрольной группе – 77 (35%) и 27 (14,8%) соответственно. Для группы здоровых лиц характерно превалирование нормальной гомозиготы TT исследуемого гена 90 (49,2%) практически в 2 раза, по отношению к группе хронического гнойного среднего отита – 48 (21,8%) ($p<0,01$).

При анализе частоты распределения генотипов гена IL6 (C174G) в обеих группах статистически значимой разницы получено не было. Различий генотипов полиморфизма гена IL10 (G1082A, C592A) в сравниваемых группах также не получено.

При анализе генотипов гена IL10 (C819T) у пациентов с хроническим гнойным средним отитом выявлена высокая частота встречаемости патологической гомозиготы TT - 44 (20%) раза, что достоверно выше по сравнению с группой здоровых лиц 18 (9,9%).

Гомозиготный вариант GG гена TNFα (G308A) встречался у большинства больных ХГСО и составил 78,6%, в группе контроля – 67,2%. Патологическая гомозигота АА выявлена только 1 раз в 1-ой группе и 3 раза во 2-ой и составила 0,45% и 1,7% соответственно.

Таблица 1

Распределение генотипов генов противо- и провоспалительных интерлейкинов у пациентов с ХГСО и здоровых людей

Генотипы генов интерлейкинов	**ХГСО (абс.,%) n=220**	**Контроль (абс.,%) n=183**	**Критерий χ^2, p**
IL1b (C3953T)			
C/C	114 (51,8%)	46 (25,1%)	13,17 p=0,0003
C/T	94 (42,7%)	103 (56,2%)	2,51 p=0,1134
T/T	12 (5,5%)	34 (18,7%)	13,43 p=0,0002
IL1b (T511C)			
T/T	61 (27,7%)	42 (23%)	0,71 p=0,3923
T/C	128 (58,1%)	66 (36%)	6,99 p=0,0082
C/C	31 (14,2%)	75 (41%)	21,57 p=0,0000
IL1b (T31C)			
T/T	48 (21,8%)	90 (49,2%)	16,13 p=0,0001
T/C	95 (43,2%)	66 (36%)	0,91 p=0,3402
C/C	77 (35%)	27 (14,8%)	12,89 p=0,0003
IL6 (C174G)			
C/C	35 (15,9%)	24 (13,1%)	0,47 p=0,4949
C/G	107 (48,6%)	84 (45,9%)	0,11 p=0,7434
G/G	78 (35,5%)	75 (41%)	0,58 p=0,4459
IL10 (G1082A)			
G/G	73 (33,2%)	87 (47,5%)	3,69 p=0,0548
G/A	99 (45%)	69 (37,7%)	0,90 p=0,3415
A/A	48 (21,8%)	27 (14,8%)	2,27 p=0,1317
IL10 (C592A)			
C/C	98 (44,5%)	81 (44,3%)	0,00 p=0,9718
C/A	120 (54,6%)	96 (52,4%)	6,05 p=0,8181
A/A	2 (0,9%)	6 (3,3%)	2,77 p=0,0963
IL10 (C819T)			
C/C	81 (36,8%)	87 (47,5%)	1,93 p=0,1643
C/T	95 (43,2%)	78 (42,6%)	0,01 p=0,9431
T/T	44 (20%)	18 (9,9%)	5,87 p=0,0154
TNFα (G308A)			
G/G	173 (78,6%)	123 (67,2%)	1,03 p=0,3100
G/A	46 (20,95%)	57 (31,1%)	3,24 p=0,0717
A/A	1 (0,45%)	3 (1,7%)	1,40 p=0,2371

Примечание: p-достигнутый уровень значимости; χ^2 – значение хи-квадрат.

У исследуемых больных с хроническим гнойным средним отитом частота аллели С полиморфного гена IL-1b (C3953T) значительно превышала контроль и составила 322 (73%) против 195 (53%) в контроле (OR=2,39, CI=95% 1,78-3,21) (таб.2). Значение отношения шансов в группе ХГСО превышает единицу в два раза, что является доказательством носительства аллели С как фактора риска развития хронических заболеваний среднего уха. Также выявлена взаимосвязь аллели С гена IL-1b (T31C) (OR=2,67, CI 95%, 2,00-3,56) с повышенным риском развития хронического процесса в среднем ухе. Это согласуется с данными литературы, где показана ассоциация выраженных клинических симптомов воспалительного ответа в среднем ухе с высокими цифрами интерлейкинов. Известно, что различные полиморфные варианты генов медиаторов воспаления непосредственно сказываются на их продукции.

Исследованиями Г.В. Власовой и соавт. были выделены следующие клинические признаки деструктивного процесса в ухе (грануляционная ткань в ухе, значительные объемы деструктивных изменений слуховых косточек и расположение в наиболее труднодоступных местах) у пациентов с ХГСО сопровождающиеся сочетанием нарушений Т-клеточной системы и системной продукции цитокинов (IL-1, IL-2, IL-8), причем более выраженные иммунологические расстройства наблюдаются у больных с холестеатомно-деструктивным процессом в среднем ухе [2]. В работе И.А. Тихомировой впервые применена оценка полиморфизма генов, кодирующих регуляторные интерлейкины — IL4, IL4R и гена, регулирующего секрецию муцина CC16 в формировании аденоидов 3 степени, хронического тонзиллита и секреторного отита. При анализе полиморфизма гена CC16(38 G>A) выявлено, что частота встречаемости гомо- и гетерозиготных полиморфных аллелей у детей с секреторным средним отитом, заключающаяся в замене G (гуанин) на A (аденин), в два раза выше, чем в группе сравнения [5].

Однако носительство в группе ХГСО аллели T гена IL-1b (T31C) (OR=0,37, CI 95%, 0,28-0,49), G и C гена противовоспалительного IL-10 (G1082A, C819T) (OR=0,63, CI 95%, 0,47-0,84; OR=0,63, CI 95%, 0,47-0,85) по сравнению с контрольной группой указывает на отрицательную ассоциацию с заболеванием, то есть на достоверно пониженный риск развития хронического гнойного среднего отита.

Таблица 2

Распределение аллелей у пациентов с хроническим гнойным средним отитом

Аллели	ХГСО,n (%)	Контроль, n (%)	Критерий χ^2, p	OR, p
Полиморфизм IL-1b (C3953T)				
C	322 (73%)	195 (53%)	34,4, p<0,01	OR=2,39 (1,78 до 3,21) CI 95%
T	118 (27%)	171 (47%)	---	OR=0,41 (0,31 до 0,56) CI 95%
Полиморфизм IL-1b (T511C)				
T	250 (57%)	150 (41%)	20,04, p<0,01	OR=1,89 (1,43 до 2,51) CI 95%
C	190 (43%)	216 (59%)	---	OR=0,52 (0,39 до 0,69) CI 95%
Полиморфизм IL-1b (T31C)				
T	191 (43%)	246 (67%)	45,61, p<0,01	OR=0,37 (0,28 до 0,49) CI 95%
C	249 (57%)	120 (33%)	---	OR=2,67 (2,00 до 3,56) CI 95%
Полиморфизм IL-6 (C174G)				
C	177 (40%)	132 (36%)	1,46, p>0,05	OR=1,19 (0,89 до 1,58) CI 95%
G	263 (60%)	234 (64%)	---	OR=0,83 (0,63 до 1,11) CI 95%
Полиморфизм IL-10 (G1082A)				
G	245 (56%)	243 (66%)	9,6, p<0,01	OR=0,63 (0,47 до 0,84) CI 95%
A	195 (44%)	123 (34%)	---	OR=1,57 (1,18 до 2,07) CI 95%
Полиморфизм IL-10 (C592A)				
C	316 (72%)	258 (70%)	6,17, p>0,05	OR=1,06 (0,78 до 1,44) CI 95%
A	124 (28%)	108 (29%)	---	OR=0,93 (0,69 до 1,27) CI 95%
Полиморфизм IL-10 (C819T)				
C	257 (58%)	252 (68%)	9,36, p<0,01	OR=0,63 (0,47 до 0,85) CI 95%
T	183 (42%)	114 (32%)	---	OR=1,57 (1,17 до 2,10) CI 95%
Полиморфизм TNF-α (G308A)				
G	392 (89%)	303 (83%)	6,69, p<0,01	OR=1,69 (1,13 до 2,54) CI 95%
A	48 (11%)	63 (17%)	---	OR=0,58 (0,39 до 0,88) CI 95%

Таким образом, в основе своевременности и направленности иммунного ответа, и, как следствие, в интенсивности и тяжести течения заболевания лежит влияние различных полиморфных вариантов генов на продукцию интерлейкинов. Исследования полиморфизма генов, как фактора генетической предрасположенности к различным заболеваниям человека, открывают новые возможности в выявлении групп риска и применения в них превентивных методов коррекции соответствующей патологии.

Выводы. Развитие хронического гнойного процесса в среднем ухе имеет в своей основе генетически детерминированные предпосылки. Нами обнаружено, что больше половины больных, страдающих ХГСО, явились носителями гомозиготных вариантов полиморфизма генов противо- и провоспалительных интерлейкинов. Интересно, что при изучении гена IL-1b у лиц с хроническим гнойным средним отитом наблюдалось предикторная направленность разных вариантов полиморфизма: IL-1b (3953 CC), IL-1b (31 CC), IL-1b (511 TC). Носительство аллели C гена IL-1b (C3953T, T31C) повышает риск развития ХГСО (OR=2,39; 1,78-3,21; CI 95% и OR=2,67; 2,00-3,56; CI 95%) соответственно.

Литература.

1. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов / Ф.Ф. Ризванова [и др.] // Практическая медицина. – 2010. – № 45. – С.42-43.
2. Особенности общей и местной иммунореактивности у детей с хроническими средними отитами / Г.В Власова [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т.4, №4. – С.39-44.
3. Показатели заболеваемости и качество оказания амбулаторной ЛОР-помощи больным с патологией уха и верхних дыхательных путей в Москве/ А.И. Крюков [и др.] // Фармакологические и физические методы лечения в оториноларингологии: материалы VII науч.-практ. конф. – Москва, 2008. – С.10-13.
4. Полиморфизм гена IL-10 (C819T) 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
5. Полиморфизм гена CC16 как маркер предрасположенности к развитию секреторного среднего отита / И.А. Тихомирова [и др.] // Российская оториноларингология. – 2006. – Т. 25, № 6. – С. 10–12.
6. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков, TNFα и IL4 у больных механической желтухой / С.В. Тарасенко [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2014. – Т.13, №1. – С.51-56.
7. Прогностическое значение аллельных вариантов генов цитокинов (TNFA, IL1B, IL1RN) у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / Т.А. Хабелова [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т.11, №2 – С.28-32.
8. Симбирцев А.С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления. / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова // Цитокины и воспаление. – 2005. – № 1. – С. 6-10.
9. Association between cytokine gene polymorphisms and risk for upper respiratory tract infection and acute otitis media / K. Revai [et al.] // Clin. Infect. Dic. – 2009. – Vol.49, №2. – P.257-261.
10. Association of proinflammatory cytokine gene promoter polymorphisms with susceptibility to otitis media / J.A. Patel [et al.] // Pediatrics. – 2006. – Vol.118, № 6. – P. 2273-2279.