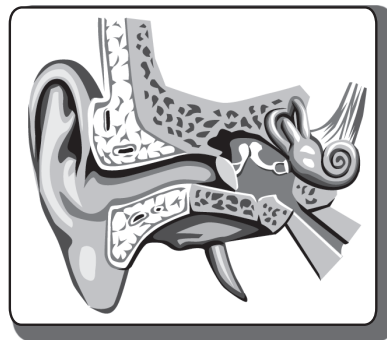




УДК 616.28-008-07

Е.В. Байке

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА IL-10 (G1082A) И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА СОДЕРЖАНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 В КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГНОЙНЫМ СРЕДНИМ ОТИТОМ

*Читинская государственная медицинская академия,
672090, ул. Горького, 39а, тел. 8-(3022)-35-43-24, факс 8-(3022)-32-30-58, e-mail: pochta@chitgma.ru, г. Чита*

Резюме

В ходе иммуногенетического исследования проведено изучение влияния полиморфизма гена IL-10 (G1082A) на содержание интерлейкина-10 в крови больных с разным течением хронического гнойного среднего отита. Установлено, что у больных аллель А гена IL-10 (G1082A) встречается чаще в 2 раза, чем среди здоровых лиц. Отмечается высокая частота встречаемости аллеля А в участке G1082A промотора гена IL-10 с преобладанием гомозиготного варианта А/А, особенно при кариозно-деструктивном течении заболевания. Присутствие А-аллели у больных хроническим гнойным средним отитом сопровождается уменьшением продукции IL-10 при вариантах генотипов G/A и А/А вариантах носительства полиморфизма гена IL-10 (G1082A).

Ключевые слова: хронический гнойный средний отит, полиморфизм генов интерлейкина-10 (G1082A).

E.V. Bayke

THE GENETIC POLYMORPHISM OF GENE IL-10 (G1082A) AND ITS INFLUENCE ON THE MAINTENANCE OF INTERLEUKIN-10 IN BLOOD OF PATIENTS WITH THE CHRONIC PURULENT OTITIS MEDIA

Chita state medical academy, Chita

Summary

During immunogenetic studies we have researched the influence of polymorphism of IL-10 gene (G1082A) on the content of IL-10 in the blood of patients with chronic purulent otitis media. We found that patients with chronic purulent otitis media allele A gene IL-10 (G1082A) occurs 2 times more frequently than in healthy individuals. Spotted an almost equal frequency of alleles A in the sector G1082A gene promoter of IL-10 with a predominance of homozygous variant A/A, especially in patients with caries-destructive course of the disease. The presence of A-allele in patients with chronic purulent otitis media accompanied by a decrease in the production of IL-10 heterozygous G/A and homozygous A/A variants carrier gene polymorphism IL-10 (G1082A).

Key words: chronic purulent otitis media, gene polymorphisms of interleukin-10 (G1082A).

Направление и активность иммунного ответа зависят от концентрации и соотношения продукции целого каскада цитокинов, сопровождающих развитие любого воспалительного ответа [3, 4]. Функционирование цитокиновой сети при любой патологии зависит от многих причин, в число которых входят индивидуальные различия в продукции медиаторов воспаления, обусловленных генетическими особенностями. Полиморфизм генов цитокинов является существенным фактором предрасположенности к инфицированию, развитию заболевания и длительному, осложненному его течению [1, 2, 7]. Известно, что заболеваемость хроническим гнойным средним отитом в РФ остается высокой – до

39,2 на 1 000 населения и с частотой 0,61 на 100 000 населения осложняется внутричерепной патологией, развивающейся вследствие кариозно-деструктивных процессов, протекающих в среднем ухе [5, 8, 10].

Целью исследования явилось изучение влияния полиморфизма гена IL-10 (G1082A) на содержание интерлейкина-10 в крови больных хроническим гнойным средним отитом при тимпаноантральной и тубо-тимпанальной формах.

Материалы и методы

В исследование были включены 299 пациентов ЛОР-отделения ККБ г. Читы. В работе с обследуемы-

Распределение частоты полиморфизма генов у пациентов с разными формами хронического гнойного среднего отита

Полиморфизм IL-10(G1082A)	Генотипы			Аллели	
	G/G	G/A	A/A	G	A
Контроль, n=183 (%)	87 (47,5 %)	69 (37,7 %)	27 (14,8 %)	243 (66 %)	123 (34 %)
Мезотимпанит, n=146 (%)	34 (23,3 %)	97 (66,4 %)	15 (10,3 %)	165 (56,5 %)	127 (43,5 %)
Эпитимпанит, n=153 (%)	25 (16,4 %)	38 (24,8 %)	90 (58,8 %)	88 (28,8 %)	218 (71,2 %)
χ^2_{1-2} OR ₁	9,77*	8,72*	1,14	1,59 OR ₁ =1,52, CI 95 % (1,11-2,09)	3,01 OR ₁ =0,66, CI 95 % (0,48-0,90)
χ^2_{1-3} OR ₂	18,90*	3,32	34,38*	33,39* OR ₂ =4,89, CI 95 % (3,52-6,80)	30,65* OR ₂ =6,20, CI 95 % (0,15-0,28)
χ^2_{2-3} OR ₃	1,53	20,01*	38,69*	19,20* OR ₃ =3,22, CI 95 % (2,29-4,52)	12,80* OR ₃ =0,31, CI 95 % (0,22-0,44)

Примечание. χ^2_{1-2} – сравнение между контрольной группой и мезотимпанита; χ^2_{1-3} – сравнение между контрольной группой и эпитимпанита; χ^2_{2-3} – сравнение между группами мезотимпанита и эпитимпанита; OR₁ – сравнение между контрольной группой и мезотимпанита; OR₂ – сравнение между контрольной группой и эпитимпанита; OR₃ – сравнение между группами мезотимпанита и эпитимпанита; * – различия статистически значимы ($p < 0,05$).

ми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000-поправки) и правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными приказом Минздравсоцразвития РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Пациенты распределялись по характеру течения заболевания на 2 группы. Первую составили 146 пациентов, страдающих туботимпанальной формой ХГСО (мезотимпанит), с мукозным течением в среднем ухе (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 (эпитимпанит), 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. В качестве контрольной группы обследовано 183 здоровых жителя Забайкальского края. Группы сопоставимы по полу и возрасту.

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 аллель-специфичных 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 определения концентрации IL-10 использовали наборы реагентов ООО «Вектор Бест» (Новосибирск). Измерение уровня цитокинов проводили методом твёрдофазного ИФА.

Полученные данные обработаны с помощью пакетов программ BIOSTAT, STATISTICA 6,0 (StatSoft Inc., США). Для определения частот аллельных вариантов генов применялся закон Харди-Вайнберга. Для анализа ассоциации маркёров исследуемых генов с заболеванием сравнивали частоты аллелей и генотипов в группах больных, используя критерий χ^2 . Данные о концентрации цитокинов оценивали непараметрическими методами с определением медианы (M_e), интерквартильной широты (25 %-75 %), с использованием критерия Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Гены интерлейкинов обладают чрезвычайно высокой степенью полиморфизма, при этом количество вариативных участков может быть множественным. Анализ промоторного участка гена IL-10 (G1082A), оказывающего влияние на фенотипическое проявление заболевания, показал, что в развитии хронического гнойного процесса в среднем ухе имеются генетически детерминированные предпосылки (табл. 1).

В последнее время описаны аллельные полиморфизмы не только структурных генов, оказывающих влияние на структуру и функциональные свойства цитокинов, но также некодируемых участков – интронов, промотора, мутации которых изменяют экспрессию и количество кодируемого белка [9]. Исходя из этого, нами было изучено влияние анализируемого полиморфизма G1082A гена IL-10 на уровень продукции кодируемого цитокина (табл. 2, 3).

Таблица 2

Содержание IL-10 в сыворотке крови больных хроническим гнойным средним отитом в зависимости от генотипа полиморфизма гена IL-10 (G1082A), пкг/мл (M_e , 25-75 %)

Течение заболевания	Сроки наблюдения	
	1-е сутки	10-е сутки
генотип G/G		
Контроль	1,4 (0,8-1,7)	
ХГСО	119,3 (82,2-154,1) $p_1 < 0,001$	63,7 (45,2-83,9) $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$
генотип G/A		
Контроль	1,2 (0,7-1,3)	
ХГСО	51,72 (38,5-72,2) $p_1 < 0,001$, $p_3 < 0,001$	26,5 (14,9-47,9) $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$, $p_3 < 0,001$
генотип A/A		
Контроль	0,9 (0,4-1,2)	
ХГСО	30,64 (15,1 – 49,3) $p_1 < 0,001$, $p_3 < 0,001$, $p_4 < 0,001$	21,7 (12,5 – 34,6) $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$, $p_3 < 0,001$, $p_4 < 0,001$

Примечание. p_1 – статистическая значимость различий с контролем; p_2 – статистическая значимость различий с 1-ми сутками наблюдения; p_3 – статистическая значимость различий по сравнению с генотипом G/G; p_4 – статистическая значимость различий по сравнению с генотипом G/A.

Таблица 3

Содержание IL-10 в сыворотке крови больных с разным течением ХГСО в зависимости от генотипа полиморфизма гена IL-10 (G1082A), пкг/мл (M_с, 25-75 %)

Течение ХГСО	Сроки наблюдения	
	1-е сутки	10-е сутки
генотип G/G		
Контроль	1,4 (0,8-1,7)	
Туботимпанальная форма	83,1 (66,5-98,4) p ₁ <0,001	31,4 (20,1-42,7) p ₁ <0,001, p ₂ <0,001
Эпитимпаноантральная форма	46,3 (33,9-62,7) p ₁ <0,001	14,3 (8,7-18) p ₁ <0,001, p ₂ <0,001
генотип G/A		
Контроль	1,2 (0,7-1,3)	
Туботимпанальная форма	29,6 (19,8-41,3) p ₁ <0,001, p ₃ <0,001	16,2 (13,1-19,3) p ₁ <0,001, p ₂ <0,001, p ₃ <0,001
Эпитимпаноантральная форма	22,12 (12,8-30,1) p ₁ <0,001, p ₃ <0,001	8,7 (6,2-10,5) p ₁ <0,001, p ₂ <0,001, p ₃ <0,001
генотип A/A		
Контроль	0,9 (0,4-1,2)	
Туботимпанальная форма	16,5 (13,2-19,6) p ₁ <0,001, p ₂ <0,001, p ₄ <0,001	10,7 (6,2-14,3) p ₁ <0,001, p ₂ <0,001, p ₃ <0,001, p ₄ <0,001
Эпитимпаноантральная форма	14,4 (8,7-17,9) p ₁ <0,001, p ₂ <0,001, p ₃ <0,001, p ₄ <0,001	8,0 (6,3-10,5) p ₁ <0,001, p ₂ <0,001, p ₃ <0,001, p ₄ <0,001

Примечание. p₁ – статистическая значимость различий с контролем; p₂ – статистическая значимость различий с 1-ми сутками наблюдения; p₃ – статистическая значимость различий по сравнению с генотипом G/G; p₄ – статистическая значимость различий по сравнению с генотипом G/A.

Выявлено, что уже в 1-е сутки наблюдения у пациентов с ХГСО, независимо от генотипа, повышается концентрация интерлейкина-10 по сравнению с группой контроля (p<0,001). Однако, у больных-носителей разных генотипов уровень цитокинов в крови различный. Так, при «доброкачественном» течении хронического среднего отита у лиц с генотипом G/G концентрация IL-10 существенно выше группы контроля в 80 раз (p<0,001). У носителей гетерозиготного варианта G/A содержание IL-10 составило 29,6 (19,8-41,3) пкг/мл, а у обладателей гомозиготного A/A – 16,5 (13,2-19,6) пкг/мл.

Интересно то, что у лиц, страдающих кариозно-деструктивными процессами в среднем ухе (эпитимпаноантральной формой ХГСО) зарегистрированы высокие уровни противовоспалительного цитокина в крови по сравнению с группой контроля, однако это практически в 2 раза ниже концентрации исследуемого медиатора воспаления больных с мукозным течением хронического среднего отита.

На 10-е сутки консервативной терапии лиц 1-й группы и комплексного лечения (проводились оперативные вмешательства) второй группы у всех пациентов наблюдалось снижение уровня IL-10 в крови. Наличие аллели G существенно изменило концентрацию интерлейкина-10 в крови больных. Среди лиц, страдающих ХГСО, носителей гетерозиготы G/A его содержание при мезотимпаните составило 16,2 (13,1-19,3) пкг/мл, а при эпитимпаните – 8,7 (6,2-10,5) пкг/мл. Максимальные концентрации IL-10 выявлялись среди лиц гомозиготных носителей G/G. При туботимпанальной форме ХГСО она составила 31,4 (20,1-42,7) пкг/мл, а при эпитимпанальной – 14,3 (8,7-18) пкг/мл.

Следовательно, полученные результаты демонстрируют влияние аллельного полиморфизма G1082A гена IL-10 на уровень противовоспалительного цитокина 10 в крови больных хроническим гнойным средним отитом.

Учитывая, что мутация G1082A занимает промоторную область гена IL-10, можно утверждать, что именно она сказывается на скорости транскрипции и трансляции кодируемого белка IL-10, продуцируемого активированными моноцитами и Т-лимфоцитами. Известно, что IL-10 – это противовоспалительный цитокин, оказывающий тормозящее действие на Т-хелперы 1-го клона, снижая таким образом, синтез провоспалительных цитокинов [6]. В случае низкого уровня IL-10 поддерживается высокая концентрация провоспалительных цитокинов, что также приводит к неблагоприятному течению и исходу заболевания.

Таким образом, снижение продукции IL-10 у носителей аллели А полиморфизма гена IL-10 (G1082A) является важным звеном патогенеза кариозно-деструктивного процесса в среднем ухе.

Выводы

У больных хроническим гнойным средним отитом аллель А гена IL-10 (G1082A) встречается в 3 раза чаще, чем среди здоровых лиц.

Распределение генотипов среди лиц, страдающих хроническим гнойным средним отитом, характеризуется превалированием вариантов G/A и A/A гена IL-10 (G1082A).

Присутствие аллеля А сопровождается снижением продукции IL-10 у больных хроническим средним отитом при гетерозиготном G/A и гомозиготном A/A вариантах носительства полиморфизма гена IL-10 (G1082A).

Литература

1. Доржиева Н.Э., Витковский Ю.А., Судакова Л.Р. Полиморфизм гена IL-10 (C819T) у больных с воспалительными заболеваниями пародонта в забайкальском крае // Забайкальский медицинский вестник

[электронный ресурс]. – 2011. – № 1. – С. 44-48. – Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv>.

2. Емельянова А.Н. Полиморфизм генов цитокинов ИЛ-2 (T330G), ИЛ-10 (C819T) и ИЛ-10 (G1082A) при

хроническом вирусном гепатите С // Молекулярная медицина. – 2013. – № 3 – С. 46-48.

3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2008. – 552 с.

4. Коненков В.И., Смольникова М.В. Полиморфизм промоторных регионов генов IL-4 и 10 и фактора некроза опухолей α у ВИЧ-инфицированных // Бюллетень экспериментальной биологии медицины. – 2002. – Т. 133, № 4. – С. 449-451.

5. Крюков А.И., Гаров Е.В., Сидорина Н.Г. и др. Саннирующая хирургия при хроническом гнойном среднем отите с холестеатомой // Вестник оториноларингологии. – 2011. – № 1. – С. 62-65.

6. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – № 2 (22). – С. 3-14.

7. Ризванова Ф.Ф., Пикуза О.И., Файзуллина Р.А. и др. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов // Практическая медицина. – 2010. – № 6 (45). – С. 41-43.

8. Свистушкин В.М. Отогенные интракраниальные осложнения в ЛОР-практике в настоящее время // Материалы XI Российского конгресса оториноларингологов «Наука и практика в оториноларингологии». – М.: 2012. – С. 115-117.

9. Сенников С.В. Методы определения цитокинов // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 22-27.

10. Янов Ю.К., Кривопапов А.А., Корнеев А.А. и др. Клинические особенности отогенных внутричерепных осложнений на современном этапе // Вестник оториноларингологии. – 2015. – № 5. – С. 23-29.

Literature

1. Dorzhieva N.E., Vitkowsky Yu.A., Sudakova L.R. IL-10 (C819T) gene polymorphism in patients with inflammatory periodontal diseases in the Transbaikal territory // Transbaikal Medical Bulletin [electronic resource]. – 2011. – № 1. – P. 44-48. – Access: <http://medacadem.chita.ru/zmv>.

2. Emelyanova A.N. Polymorphism of cytokines IL-2 (T330G), IL-10 (S819T) and IL-10 (G1082A) genes in chronic viral hepatitis C // Molecular Medicine. – 2013. – № 3. – P. 46-48.

3. Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines. – SPb.: LLC «Publishing Folio», 2008. – 552 p.

4. Konenkov V.I., Smolnikova M.V. Polymorphism of gene promoter regions of IL-4 and 10, and tumor necrosis factor α in HIV // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2002. – Vol. 133, № 4. – P. 449-451.

5. Kriukov A.I., Garov E.V., Sydorina N.G. Sanation surgery for the treatment of chronic suppurative otitis

media with cholesteatoma // Journal of otolaryngology. – 2011. – № 1. – P. 62-65.

6. Kuznik B.I., Tsybikov N.N., Vitkowsky Yu.A. Uniform cell and humoral protection system // Thrombosis, haemostasis and rheology. – 2005. – № 2 (22). – P. 3-14.

7. Rizvanova F.F., Pikuz O.I., Fayzullina R.A., et al. Genetic diagnosis: cytokine gene polymorphism // Practical Medicine. – 2010. – № 6 (45). – P. 41-43.

8. Svistushkin V.M. Currently otogenic intracranial complications in otorhinolaryngology // Materials of XI Russian congress of otorhinolaryngologists «Science and practice in otorhinolaryngology. – 2012. – P. 115-117.

9. Sennikov S.V. Methods of cytokines detection // Cytokines and Inflammation. – 2005. – Vol. 4, № 1. – P. 22-27.

10. Yanov Yu.K., Krivopalov A.A., Korneenkov A.A., et al. Clinical features of otogenic intracranial complications at the present stage // Vestnik otorinolaringologii. – 2015. – № 5. – P. 23-29.

Координаты для связи с авторами: Байке Елена Викторовна – канд. мед. наук, ассистент кафедры офтальмологии с курсом оториноларингологии ЧГМА, тел. +7-914-485-11-70, e-mail: elenabayke@yandex.ru.

