

Байке Е.В.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА МЕТОДОМ АНАЛИЗА КОМБИНАЦИЙ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫХ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, Чита, Россия

Проведён анализ ДНК у 300 больных хроническим средним отитом и 100 здоровых лиц на наличие вариантов генотипов генов IL-1b 511T/C, IL-1b 31T/C, IL-10 1082G/A, IL-10 819C/T. Комбинация вариантов генов IL-1b 511T/C, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31C/C встречалась у 57,8 % пациентов с эпителимпанитом, в 35,7 % случаев выявлено носительство генов 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. Сочетание IL-1b 511T/T, IL-10 1082G/A, IL-10 819C/T, IL-1b 31T/C наблюдалось в 46 % случаев мезотимпанита.

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

PREDICTION OF A COURSE OF CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA BY THE ANALYSIS OF COMBINATIONS OF GENE POLYMORPHISMS OF PROINFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES

Bayke E.V.

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

The urgency of otogenic intracranial complications in modern otolaryngology is connected with difficulties of the early diagnostics, severe course of the disease and rather high percentage of fatalities. All of that defines practical value of the matters aimed to improve definition of an individual's liability to aggressive course of chronic suppurative otitis media, which can cause direct threat for a patient's life. The aim of the study was to increase accuracy of diagnostics of destructive course of chronic suppurative otitis media with forecasting of intracranial pathology at early stages of inflammation. Molecular genetic analysis was conducted of human DNA from 300 patients with chronic purulent otitis media and 100 healthy individuals for the presence of genotype variants of genes cytokines: IL-1b (511T/C, 31 T/C), IL-10 (1082 G/A, 819 C/T). The SNP (single nucleotide polymorphism) distribution of gene cytokines in the studied groups corresponded Hardy-Weinberg equilibrium (HWE > 0.05). We found that a combination of genes IL-1b 511T/C, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31C/C occurred correspondingly in 57.8, 13.6 and 22 % of patients with attic disease, and were associated with expressed caries-destructive course of chronic suppurative otitis media complicated by intracranial pathology. The combination of gene polymorphisms of IL-1b 511 T/T, IL-10 1082 G/A, IL-10 819 C/T, IL-1b 31 T/C in 46 % of patients was clinically manifested by mucosal process in the middle ear.

Key words: gene polymorphism, chronic suppurative otitis media, prediction

ВВЕДЕНИЕ

Хронический гнойный средний отит (ХГСО) является одним из распространённых заболеваний в отиатрической практике и занимает второе место в структуре ЛОР-патологии. В мире на долю заболеваний среднего уха приходится 31,5 %, на долю хронического гнойного среднего отита – около 27 %. В России распространённость его составляет до 39,2 случая на 1000 взрослого населения, а в различных возрастных группах – от 15,3 до 52,0 случаев, или 0,8–4 % среди всего населения [7, 9].

Социальная значимость этого заболевания заключается как в формировании прогрессирующей тугоухости, значительно снижающей качество жизни пациента, так и в развитии опасных для жизни больного внутричерепных осложнений (ВЧО), больничная летальность при которых сохраняется до настоящего времени на высоком уровне – 27,6–30 % [3, 4, 6, 14]. Доля отогенных ВЧО в структуре общей летальности за период 2009–2013 гг. на территории, составляющей 54,68 % всей территории РФ, равна $51,0 \pm 22,5$ %, в структуре общей детской летальности – $74,3 \pm 23,5$ % [13]. Были диагностированы следующие ВЧО: менингиты – 22,9 %; энцефалиты – 15,5 %; эпидуральные

эмпиемы – 7,6 %; субдуральные эмпиемы – 6,8 %; абсцессы большого мозга и мозжечка – 11,0 %; синус-тромбоз – 11,0 %; ВЧО, сопровождающиеся сепсисом – 11,7 %; комбинированные внутричерепные поражения – 13,5 % [8, 11].

Диагностика кариозно-деструктивных форм ХГСО на начальных этапах является серьёзной проблемой. Все существующие на настоящий момент методы диагностики хронического гнойного среднего отита направлены на подтверждение уже имеющего место деструктивного процесса в среднем ухе и уточнение локализации патологического процесса [1, 2, 12]. Кроме того, возникновению диагностических ошибок способствует латентное развитие воспалительной внутричерепной патологии с невыраженной симптоматикой воспалительного поражения ЦНС и поздним поступлением пациентов в стационар [5, 10]. В последние годы особое внимание уделяется изучению роли генетических факторов в формировании воспалительных процессов ЛОР-органов. Однако результаты работ нередко противоречат друг другу, и до сих пор не существует надёжных критериев в определении рисков развития осложнённой патологии, поэтому разработка новых способов прогнозирования течения

ХГСО, основанных на исследовании комбинации аллельных вариантов нескольких генов, повышающих достоверность результатов, является актуальной проблемой в оториноларингологии.

Цель работы: повысить достоверность диагностики деструктивного течения ХГСО с прогнозированием развития внутричерепной патологии на ранних стадиях развития воспалительного процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 400 пациентов, находившихся на стационарном лечении в оториноларингологическом отделении Краевой клинической больницы г. Читы. Все испытуемые были разделены на 3 группы: первую составили 146 пациентов, страдающих туботимпанальной формой хронического гнойного среднего отита; вторую – 154 больных тимпанантральной формой хронического отита, у которых жалобы, анамнестические данные, отомикроскопия, рентгенограммы и дальнейшее оперативное лечение подтверждают кариозно-деструктивные процессы в среднем ухе. Контрольная (третья) группа состояла из 100 человек, никогда не страдавших заболеваниями уха. Исследуемые были сопоставимы по возрасту и полу. В работе с больными соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1975, 2008 ред.)).

Всем больным были выполнены стандартные общеклинические, рентгенологические, аудиометрические исследования. Молекулярно-генетическому анализу подвергали геномную ДНК 400 пациентов, 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%-м этидия бромидом в проходящем ультрафиолетовом свете. Результаты анализа позволяли дать три типа заключений: нормальная гомозигота; гетерозигота; мутантная гомозигота.

Для исследования при тестировании ДНК пациентов были включены те цитокины, которые являются функционально значимыми для развития деструктивных процессов в среднем ухе. Особый интерес представляют следующие генотипы генов про- и противовоспалительных цитокинов: IL-1b (511T/C, 31T/C), IL-10 (1082G/A, 819C/T).

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 осложнённого течения хронического гнойного среднего отита рассчитывали отношение шансов OR (Odds Ratio) с доверительным интервалом 95 %, причём 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 10.0 и с использованием онлайн-калькулятора (http://gen-exp.ru/calculator_or.php).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По литературным данным считается, что 50 % индивидуальных различий в продукции цитокинов обусловлено наличием однонуклеотидных замен в пределах гена, поэтому полиморфизмы названных цитокинов могут модифицировать естественное развитие ХГСО, и их комбинации могут служить маркерами доброкачественного или кариозно-деструктивного, осложнённого внутричерепной патологией, течения заболевания с надёжной достоверностью последнего.

Проведённый нами анализ ДНК у 400 исследуемых показал, что в случае полиморфизма в гене IL1b (511C/T) генотипы TT и CC примерно в равных долях выявлялись у больных с мукозным течением заболевания (у 70 (48 %) и 67 (46 %) человек соответственно), это в 2 раза чаще, чем в группе с эптитимпанитом. Генотип TC гена IL1b (511C/T) чётко ассоциировался со злокачественной формой заболевания среднего уха (наличием отоскопически выявляемой деструкцией костной ткани уха, холестеатомой) и был выявлен у 131 (85 %) пациента. В случае полиморфизма IL1b (31TC) генотип CC встречался в 51 % случаев в группе с агрессивным течением заболевания среднего уха, что в 3,5 раза чаще, чем в группе с «доброкачественным» течением ХГСО (14,4 %). Генотип GA в гене IL10 (-1082) среди пациентов с мезотимпанитом выявлялся в 12 раз чаще, чем у лиц с осложнённой формой ХГСО, а для генотипа AA этого же гена была отмечена тенденция к более частому выявлению у больных с деструктивным течением среднего отита в 5 раз. В случае полиморфизма (-819) CT в гене IL10 было обнаружено, что среди лиц с мягким течением заболевания ХГСО гетерозиготный генотип гена выявлялся в 2,5 раза чаще, по сравнению со второй группой пациентов, где встречалась внутричерепная патология.

На основании полученных данных были определены полиморфизмы, анализ комбинации которых предполагался для диагностики деструктивных форм ХГСО с прогнозированием развития внутричерепной патологии на ранних стадиях воспалительного процесса. Комбинация полиморфизма генов IL-1b 511T/C, IL-10 1082A/A, IL-10 819C/C, IL-1b 31C/C рассматривалась как маркер «злокачественного» течения хронического гнойного среднего уха с выраженными кариозно-деструктивными процессами, осложнившимися холестеатомой и развитием внутричерепной патологии. Из исследуемых 154 человек с эптитимпанитом у 89 (57,8 %) был зарегистрирован такой полиморфизм. При этом из 89 больных у 6 (6,74 %) развился менингит, у 4 (4,5 %) – эпидуральный абсцесс височной доли мозга на стороне поражения среднего уха, у 2 (2,24 %) наблюдалась клиника менингоэнцефалита, а мастоидит (местное осложнение) был выявлен у 6 (6,74 %)

Таблица 1
Распределение полиморфизма генов в зависимости от течения хронического гнойного среднего отита

Комбинация полиморфизмов генов	Нейтральное течение	Доброкачественное течение	Деструктивный, осложнённый ВЧП процесс
IL-1b (511) / IL-10 (1082) / IL-10 (819) / IL-1b (31)			
TTGACC TT	+	+	±
TT AA CC TC	–	±	++
TT AA CC CC	–	±	++
TC AA CC CC	–	±	++
TT GA CT TC	–	+	–
TC GG CT TT	+	±	–
TT GA CC TC	+	+	±
TT GA CC TC	+	+	±

Примечание. «+++» – обязательное присутствие; «±» – крайне редкое присутствие (1 человек); «–» – отсутствие.

пациентов. Остальным были проведены разные виды мастоидэктомий (радикальные операции) до развития внутричерепной патологии.

55 (35,7 %) лиц второй группы явились носителями следующих сочетаний генотипов: 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. Для них также характерны деструктивные процессы костной ткани среднего уха, но разрушения холестеатомными массами были ограничены аттиком и барабанной полостью. Из 55 больных у 10 (18,1 %) отмечалась мастоидальная реакция. Необходимо отметить, что длительность ХГСО у 47 человек составила 10 лет и более, что исключает фактор времени как обуславливающий тяжесть патологического процесса в ухе. Для оставшихся 10 человек были характерны различные единичные комбинации вариантов генотипов, статистически не значимые.

Носительство комбинации полиморфизма генов IL-1b 511T/T, IL-10 1082G/A, IL-10 819C/T, IL-1b 31T/C встречалось у 67 (46 %) лиц с доброкачественным течением ХГСО, отоскопическая картина которых проявлялась выраженным мукозным процессом, развитием грануляций и полиповидных разрастаний. Местных осложнений и внутричерепной патологии в первой группе зарегистрировано не было. В остальных случаях группы мезотимпанита были зарегистрированы ассоциации генотипов генов в малых количествах, которые были статистически не значимы.

Сочетание генотипов генов IL-1b 511T/C, IL-10 1082G/G, IL-10 819C/T, IL-1b 31T/T рассматривалось как нейтральное и наблюдалось чаще всего в группе здоровых лиц (92 %) и редко – в группе мезотимпанита с доброкачественным течением (6 %). По результатам тестирования ДНК на наличие указанных полиморфизмов в генах цитокинов предложена модель диагностики течения хронического гнойного среднего отита с прогнозированием развития внутричерепной патологии (табл. 1). Использование данных таблицы позволяет дать качественную оценку предикторной направленности у конкретного пациента к прогрессированию заболевания.

Таким образом, результаты исследования, основанные на анализе комбинации полиморфизма генов цитокинов, способствуют выявлению среди

пациентов с ХГСО высокой степени риска развития «злокачественного» по течению среднего отита. Этим больным необходимо рекомендовать обязательное наблюдение у ЛОР-врача и проведение диагностических тимпанотомий с целью раннего выявления латентно развивающихся холестеатомных и кариозных процессов в среднем ухе при первых же признаках формирования ретракционных карманов и наличия перфораций барабанной перепонки.

ВЫВОДЫ

1. Определены риски предикторной направленности в развитии осложнённого течения ХГСО на основании определения молекулярных маркеров (мутации интерлейкина 1b (T-511C, T-31C), интерлейкина 10 (G-1082A, C-819C) в геноме человека) в крови больных, что позволяет осуществлять прогнозирование развития внутричерепных осложнений.

2. Молекулярно-генетический анализ ДНК человека предусматривает надёжную диагностику кариозно-деструктивных состояний со стороны уха в латентный период заболевания, когда диагностика другими инструментальными и лабораторными методами сомнительна или затруднительна.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Грязнова Н.Г., Васильев А.Ю., Анютин Р.Г., Климов Б.А. Клинико-лучевая диагностика больных хроническим гнойным средним отитом // Инновации в науке и образовании. – 2006. – № 12. – С. 33.

Gryaznova NG, Vasilyev AY, Anyutin RG, Klimov BA. (2006). Clinical and radiological diagnostics of patients with chronic suppurative otitis media [Kliniko-luchevaya diagnostika bol'nykh khronicheskim gnoynym srednim otitom]. *Innovatsii v nauke i obrazovanii*, (12), 33.

2. Дмитриев Н.С., Косяков С.Я., Федосеев В.И. Компьютерная томография височной кости в предоперационном обследовании больных с различной патологией уха // Новости оториноларингологии и логопатологии. – 2001. – № 2. – С. 77–78.

Dmitriev NS, Kosyakov SY, Fedoseev VI. (2001). Computed tomography of temporal bone in preoperative examination of patients with pathologies of the

ear [Komp'yuternaya tomografiya visochnoy kosti v predoperatsionnom obsledovanii bol'nykh s razlichnoy patologiyey ukha]. *Novosti otorinolaringologii i logopatologii*, (2), 77-78.

3. Косяков С.Я., Пчеленок Е.В. Современные подходы к лечению хронического гнойного среднего отита с холестеатомой // Вестник оториноларингологии. – 2014. – № 6. – С. 4–7.

Kosyakov SY, Pchelenok EV. (2014). Modern approaches to the treatment of chronic suppurative otitis media with cholesteatoma [Sovremennye podkhody k lecheniyu khronicheskogo gnoynogo srednego otita s kholesteatomoy]. *Vestnik otorinolaringologii*, (6), 4-7.

4. Крюков А.И. Санлирующая хирургия при хроническом гнойном среднем отите с холестеатомой // Вестник оториноларингологии. – 2011. – № 1. – С. 62–65.

Kryukov AI. (2011). Surgical debridement in the treatment of chronic suppurative otitis media with cholesteatoma [Saniruyushchaya khirurgiya pri khronicheskom gnoynom srednem otite s kholesteatomoy]. *Vestnik otorinolaringologii*, (1), 62-65.

5. Лучихин А.А. Атипичное течение хронического гнойного среднего отита // Вестник оториноларингологии. – 2005. – № 5. – С. 52–53.

Luchikhin AA. (2005). Atypical clinical course of chronic suppurative otitis media [Atipichnoe techenie khronicheskogo gnoynogo srednego otita]. *Vestnik otorinolaringologii*, (5), 52-53.

6. Милешина Н.А., Курбатова Е.В. Холестеатома наружного и среднего уха в детском возрасте // Вестник оториноларингологии. – 2015. – № 1. – С. 25–27.

Mileshina NA, Kurbatova EV. (2015). Cholesteatoma of external and middle ear in children [Kholesteatoma naruzhnogo i srednego ukha v detskom vozraste]. *Vestnik otorinolaringologii*, (1), 25-27.

7. Миронов А.А. Хронический гнойный средний отит // Вестник оториноларингологии. – 2011. – № 5. – С. 72–76.

Mironov AA. (2011). Chronic suppurative otitis media [Khronicheskiy gnoynyy sredniy otit]. *Vestnik otorinolaringologii*, (5), 72-76.

8. Свистушкин В.М. Отогенные интракраниальные осложнения в ЛОР-практике в настоящее время // Матер. XI Рос. конгр. оториноларингологов «Наука и практика в оториноларингологии». – М., 2012. – С. 115–117.

Svistushkin VM. (2012). Current otogenic intracranial complications in otorhinolaryngology [Otogennyye intrakranial'nye oslozhneniya v LOR-praktike v nastoyashchee vremya]. *Materialy XI Rossiyskogo kongressa otorinolaringologov «Nauka i praktika v otorinolaringologii»*. Moskva, 115-117.

9. Тарасов Д.И., Морозов А.Б. Частота и структура хронических заболеваний уха, горла и носа среди

населения и их динамика // Вестник оториноларингологии. – 1991. – № 2. – С. 12–14.

Tarasov DI, Morozov AB. (1991). Frequency and structure of chronic diseases of the ear, nose and throat among the population and their dynamics [Chastota i struktura khronicheskikh zabolevaniy ukha, gorla i nosa sredi naseleniya i ikh dinamika]. *Vestnik otorinolaringologii*, (2), 12-14.

10. Тузиков Н.А. Структура и анализ ошибок в оказании медицинской помощи пациентам с отогенными и риносинусогенными внутричерепными осложнениями // Матер. IV Петербургского форума оториноларингологов России. – СПб., 2015. – С. 28–30.

Tuzikov NA (2015). Structure and analysis of the mistakes in the delivery of health care to patients with otogenic and rhinosinusogenic intracranial complications [Struktura i analiz oshibok v okazanii meditsinskoj pomoshchi patsientam s otogennymi i rinosinusogennymi vnutricherepnymi oslozhneniyami]. *Materialy IV Peterburgskogo foruma otorinolaringologov Rossii*. Sankt-Peterburg, 28-30.

11. Чумаков Ф.И., Селин В.Н., Голубовский Г.А. Динамика летальности ЛОР-больных в конце 20 века (по материалам ЛОР-стационара) // Российская оториноларингология. – 2002. – № 4. – С. 48–50.

Chumakov FI, Selin VN, Golubovskiy GA. (2002). Dynamics of case mortality among ENT patients in the late 20th century (based on the data of ENT hospital) [Dinamika letal'nosti LOR-bol'nykh v kontse 20 veka (po materialam LOR-statsionara)]. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*, (4), 48-50.

12. Шпотин В.П., Галимзянов К.М., Еремина Н.В., Простушкин А.И. Оценка цитокинового статуса у больных хроническим гнойным средним отитом // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 82–84.

Shpotin VP, Galimzyanov KM, Eremina NV, Prostushkin AI. (2012) Assessment of cytokine status in patients with chronic suppurative otitis media [Otsenka tsitokinovogo statusa u bol'nykh khronicheskim gnoynym srednim otitom]. *Tsitokiny i vospalenie*, 11 (4), 82-84.

13. Янов Ю.К. Эпидемиология ото- и риносинусогенных внутричерепных осложнений // Матер. IV Петербургского форума оториноларингологов России. – СПб., 2015. – С. 34–35.

Yanov YK. (2015) Epidemiology of oto- and rhinosinusogenic intracranial complications [Epidemiologiya oto- i rinosinusogennykh vnutricherepnykh oslozhneniy]. *Materialy IV Peterburgskogo foruma otorinolaringologov Rossii*, Sankt-Peterburg, 34-35.

14. Klenke C, Janowski S, Borck D, Widera D, Ebmeyer J, Kalinowski J, Leichtle A, Hofestädt R, Upile T, Kaltschmidt C, Kaltschmidt B, Sudhoff H. (2012). Identification of novel cholesteatoma-related gene expression signatures using full genome microarrays. *PLoS One*, 7 (12), 52-71.

Сведения об авторах
Information about the authors

Байке Елена Викторовна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры офтальмологии с курсом оториноларингологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, e-mail: elenabayke@yandex.ru)

Bayke Elena Viktorovna – Candidate of Medical Sciences, Teaching Assistant at the Department of Ophthalmology with the Course of Otorhinolaryngology of Chita State Medical Academy (672090, Chita, Gorky Str., 39a, e-mail: elenabayke@yandex.ru)