

© БАЙКЕ Е. В., ДУТОВА А. А., БАЙКЕ Е. Е.

УДК 616.28-008-07

DOI: 10.20333/2500136-2018-1-36-43

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА

Е. В. Байке¹, А. А. Дутова², Е. Е. Байке²

¹Краевая клиническая больница №1, Чита 672038, Российская Федерация

²Читинская государственная медицинская академия, Чита 672090, Российская Федерация

Цель исследования. Изучить частоту встречаемости генетического полиморфизма *IL-1β* (*C3953T*, *T511C*, *T31C*), *IL-10* (*G1082A*, *C592A*, *C819T*) и его ассоциацию с концентрацией *IL-1β*, *IL-10* в сыворотке крови и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезией у больных разными формами хронического гнойного среднего отита.

Материал и методы. Обследованы 299 пациентов с хроническим гнойным средним отитом (146 пациентов с мезотимпанитом, 153 – с эптитимпанитом) и 183 человека без патологии (контрольная группа). Всем обследуемым для верификации диагноза были выполнены стандартные общеклинические, рентгенологические, аудиометрические исследования, проведен молекулярно-генетический анализ ДНК методом ПЦР и иммунологическое исследование методом ИФА. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA 6,0 (StatSoftInc., США). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался менее 0,05.

Результаты. Установлено статистически значимое преобладание гомозиготного генотипа *C/C* и гетерозиготного генотипа *-T/C* по высокопродуктирующему аллелю *C** гена *IL-1β* соответственно в полиморфных локусах *31* и *511* и гомозиготных генотипов *A/A* и *C/C* по низкопродуктирующим аллелям соответственно *A** и *C** гена *IL-10* соответственно в полиморфных локусах *-1082* и *-819* в группе пациентов с кариозно-деструктивным течением хронического гнойного среднего отита. Зарегистрированы высокие значения содержания *IL-1β* ($p < 0,05$) на фоне низких значений *IL-10* ($p < 0,05$) в сыворотке крови у лиц с эптитимпанитом при носительстве высокопродуктирующих вариантов генов провоспалительных цитокинов и низкопродуктирующих аллелей противовоспалительных цитокинов. Лимфоцитарно-тромбоцитарная депрессия обнаружена у всех пациентов с хроническим гнойным средним отитом.

Заключение. Полученные данные позволяют предположить, что общим иммунопатогенетическим звеном хронического гнойного среднего отита является ось: гены *IL-1β*, *IL-10* – соответствующие цитокины – лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия. Носительство генотипов *-31CC* и *-511TC* промотора гена *IL-1β* повышает вероятность развития деструктивной формы заболевания.

Ключевые слова: интерлейкины, однонуклеотидный полиморфизм, хронический гнойный средний отит, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия.

Для цитирования: Байке ЕВ, Дутова АА, Байке ЕЕ. Иммуногенетические механизмы патогенеза хронического гнойного среднего отита. *Сибирское медицинское обозрение*. 2018;(1): 36-43. DOI: 10.20333/2500136-2018-1-36-43

IMMUNOGENETIC MECHANISMS OF PATHOGENESIS THE CHRONIC PURULENT OTITIS MEDIA

Е. В. Байке¹, А. А. Дутова², Е. Е. Байке²

¹ Regional Clinical Hospital №1, Chita 672038, Russian Federation

² Chita State Medical Academy, Chita 672090, Russian Federation

The aim of the research. To study the frequency of genetic polymorphism of *IL-1β* (*C3953T*, *T511C*, *T31C*), *IL-10* (*G1082A*, *C592A*, *C819T*) and its association with concentration *IL-1β*, *IL-10* in the blood serum and lymphocytic-platelet adhesion in patients with various forms of chronic purulent otitis media.

Material and methods. 299 patients with chronic purulent otitis media (146 patients with mesotympanitis, 153 with epitympanitis) and 183 patients without pathology (control group) were examined. All patients had standard clinical, x-ray, audiometric examinations to verify the diagnosis, molecular genetic analysis of DNA by PCR and immunological examination by ELISA were carried out. Statistical processing of the obtained data was carried out using a software package STATISTICA 6,0 (StatSoftInc., USA). The critical level of significance in testing of statistical hypotheses was taken to be less than 0.05.

Results. A statistically significant prevalence of the homozygous genotype *C / C* and the heterozygous genotype *-T / C* over the high-producing allele *C** *IL-1β* gene, respectively, in polymorphic loci *31* and *511* and homozygous genotypes *A / A* and *C / C* for the low-producing alleles of the *A** and *C** *IL-10* gene respectively in the polymorphic loci *-1082* and *-819* in the group of patients with a cariouse-destructive course of chronic purulent otitis media. High values of *IL-1β* ($p < 0.05$) were registered against a background of low *IL-10* values ($p < 0.05$) in the serum of patients with epitympanitis in the carriage of high-producing variants of the genes of pro-inflammatory cytokines and low-producing alleles of anti-inflammatory cytokines. Lymphocytic-platelet depression was found in all patients with chronic purulent otitis media.

Conclusion. The data obtained suggest that the common immunopathogenetic link of chronic purulent otitis media is the axis: genes *IL-1β*, *IL-10* - the corresponding cytokines - lymphocytic-platelet adhesion. The carrier of genotypes *-31CC* and *-511TS* promoter of the *IL-1β* gene increases the possibility of developing a destructive form of the disease.

Key words: interleukins, single nucleotide polymorphism, chronic purulent otitis media, lymphocytic-platelet adhesion.

Citation: Bayke EV, Dutova AA, Bayke EE. Immunogenetic mechanisms of pathogenesis the chronic purulent otitis media. *Siberian Medical Review*. 2018;(1): 36-43. DOI: 10.20333/2500136-2018-1-36-43

Введение

Хронический гнойный средний отит (ХГСО) – это хроническое гнойное воспаление среднего уха, протекающее с наличием стойкой перфорации барабанной перепонки, постоянным или периодически повторяющимся гноетечением из уха и снижением слуха различной степени, постепенно прогрессирующем при длительном течении заболевания. Во всем мире хроническим гнойным средним отитом страдают от 1 до 46 % населения, проживающего в развитых и развивающихся странах, это около 65-330 млн человек, 60 % из них имеют значительное снижение слуха [1]. При этом хронический средний отит с холестеатомой выявляется у 24-63 % больных независимо от локализации перфорации барабанной перепонки. Костная резорбция, сопровождающая такие случаи, обнаруживается в 78,8 % и более случаев, что является причиной развития отогенных осложнений [2]. В этой связи ХГСО является не только медицинской, но и социально-экономической проблемой, так как более половины всех больных являются лицами трудоспособного возраста.

В патогенезе ХГСО в иммунный ответ вовлекаются как местные, так и общие механизмы защиты. Уровень иммунных реакций, особенно слизистой оболочки среднего уха, имеет непосредственное отношение к проблеме становления хронического воспаления и, в известной мере, к организации характера воспалительного ответа. Главная роль в обеспечении межклеточной кооперации при реализации позитивной и негативной иммунорегуляции, отводится цитокинам. Функционирование цитокиновой сети зависит от индивидуальных различий в продукции экспрессируемых интерлейкинов, обусловленных генетическими особенностями индивида [3-5].

В связи с вышеизложенным, представляется актуальным комплексное изучение патогенетических закономерностей течения ХГСО, а также поиск генетических и иммунологических предикторов тяжести течения заболевания.

Материал и методы

В исследование были включены 299 пациентов, находившихся на стационарном лечении в оториноларингологическом отделении Краевой клинической больницы г. Читы. Все обследуемые были разделены на 2 группы. Первую составили 146 пациентов, страдающих туботимпанальной формой хронического гнойного среднего отита. Вторая группа была представлена 153 больными эптитимпано-антральной формой хронического отита, у которых жалобы, анамнестические данные, отомикроскопия, рентгенограммы и дальнейшее оперативное лечение подтверждали кариозно-деструктивные процессы в среднем ухе. Контрольная группа состояла из 183 человек, никогда не страдавших заболеваниями уха. По национальной

принадлежности все исследуемые являлись русскими, родившимися и проживающими на территории Забайкальского края, были сопоставимы по возрасту и полу.

Всем обследуемым были выполнены стандартные общеклинические, рентгенологические, аудиометрические исследования. Молекулярно-генетическому анализу подвергали геномную ДНК 482 человек, 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 в режиме реального времени. Результаты анализа позволяли дать три типа заключений: гомозиготный генотип по «диному» аллелю, гетерозиготный генотип по мутантному аллелю, гомозиготный генотип по мутантному аллелю.

Для исследования при тестировании ДНК пациентов были включены те цитокины, которые являются функционально значимыми для развития деструктивных процессов в среднем ухе. Особый интерес представляли следующие полиморфизмы генов про- и противовоспалительных цитокинов *IL-1 β* (*C3953T*, *T511C*, *T31C*), *IL-10* (*G1082A*, *C592A*, *C819T*).

Подсчет общего числа лейкоцитов проводили стандартным методом в камере Горяева. Субпопуляции лимфоцитов определяли методом иммуногистохимии с использованием моноклональных антител ТОО «МедБиоспектр» (Москва). Определение показателя лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, относящегося к функциональным тестам оценки иммунокомпетентных клеток, проводили по методу, предложенному Ю.А. Витковским с соавт. [6].

Для определения концентрации цитокинов (*IL-1b*, *IL-6*, *IL-10*, *TNFa*) использовали наборы реагентов ООО «Вектор-Бест».

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью электронных программ Microsoft Excel 2007, STATISTICA 6,0 (StatSoft Inc., США), с определением статистической значимости различий при $p < 0,05$.

При нормальном распределении признака использовали параметрические методы статистики. Результаты представлены как среднее значение со стандартной ошибкой среднего ($M \pm m$). Для сопоставления двух групп применялся критерий Стьюдента. Для сравнения групп по качественному бинарному признаку применялся критерий с (Пирсона), при необходимости вводилась поправка на Йейтса на непрерывность. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 .

Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель отношения шансов (OR). Величина $OR=1$

указывала на отсутствие ассоциации, $OR > 1$ – наблюдается при положительной ассоциации «фактора риска» и $OR < 1$ – отрицательная ассоциация аллеля, генотипа с заболеванием. Обсуждение величин OR проводили при уровне значимости не более 5 %.

Вычислялась оценка взаимосвязи качественных признаков на принципе взаимной сопряженности с использованием коэффициента Юла (Q -коэффициент) и коэффициент контингенции (Φ , Φ).

Результаты и обсуждение

В ходе молекулярно-генетического исследования обнаружены все искомые мутации в гомо- и гетерозиготном состоянии полиморфных ДНК-локусов генов следующих цитокинов *IL-1 β* (*C3953T*, *T511C*, *T31C*) и *IL-10* (*G1082A*, *C592A*, *C819T*) у больных и здоровых людей. Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга за счет разницы наблюдаемого и ожидаемого гетерозиготного генотипа или гомозиготного генотипа по мутантному аллелю выявлено только для *IL-1 β* (*T31C*) и *IL-1 β* (*T511C*) (табл. 1).

Таблица 1

Тест Харди-Вайнберга для изучаемых генетических полиморфизмов при хроническом гнойном среднем отите ($n=299$) (χ^2 , $df=1$)

Показатели	Генотипы	Наблюдаемые частоты	HWE	χ^2	p
IL-1 β (T31C)	T/T	0,217	0,188	4,41	0,04
	T/C	0,431	0,491		
	C/C	0,351	0,321		
IL-1 β (T511C)	T/T	0,278	0,323	10,36	0,001
	T/C	0,582	0,491		
	C/C	0,140	0,186		

Примечание: указаны полиморфизмы с частотным отклонением от равновесия Харди-Вайнберга.

Анализ промоторных участков генов цитокинов, оказывающих регуляторное действие на функции иммунной системы, показал, что в развитии ХГСО имеются генетически детерминированные предпосылки. Для жителей Забайкальского края, страдающих хроническим воспалительным процессом среднего уха, характерно носительство гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-1 β* в позиции 3953 ($Q=0,6$), присутствие гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-1 β* в позиции 31 ($Q=0,6$), гомозиготного генотипа *A/A* гена *IL-10* в позиции 1082 ($Q=0,7$; $\Phi=0,5$) и гомозиготного генотипа *T/T* гена *IL-10* в позиции 819 ($Q=0,5$). При этом, риски развития хронического воспалительного процесса в среднем ухе будут существенно ниже при имеющихся генотипе *C/C* гена *IL-1 β* (*T511C*) ($OR = 0,24$; 95% CI (0,15 – 0,37)), генотипе *T/T* гена *IL-1 β* (*T31C*) ($OR = 0,29$; 95% CI (0,19 – 0,43)) и генотипе *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) ($OR = 0,27$; 95% CI (0,18 – 0,41)).

Обзор современной литературы свидетельствует о том, что персональные различия в продукции ме-

диаторов воспаления, лежащие в основе активности воспалительного процесса, определены полиморфизмом генов [7]. Наличие положительной связи между состоянием определенного генетического полиморфизма и проявлением патологии, позволяет говорить о связи этого варианта с конкретной патологией [8]. Функциональные полиморфные варианты генов, кодирующие белки *IL-1 β* и *IL-10*, могут оказывать влияние не только на предрасположенность к развитию заболевания, но и на характер его течения.

Так, для лиц с кариозно-деструктивной формой ХГСО характерно носительство гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-1 β* в полиморфном локусе 3953 ($OR = 3,264$; 95 % CI (2,059 – 5,174); $p < 0,01$), гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-1 β* в полиморфном локусе 31 ($OR = 7,822$; 95 % CI (4,654 – 13,148)). Кроме того, присутствие гетерозиготного генотипа *T/C* гена *IL-1 β* в позиции 511 также значимо для формирования агрессивно протекающего патологического процесса в среднем ухе ($OR = 6,7$; 95 % CI (4,095 – 10,972)). При этом, имеющиеся гомозиготные генотипы по низкопродуцирующим аллелям *A** и *C** гена *IL-10* в позициях 1082 ($OR = 8,254$; 95 % CI (4,906 – 13,886); $p < 0,01$) и 819 ($OR = 3,136$; 95 % CI (1,708 – 5,756); $p < 0,01$) соответственно также способствуют усугублению деструктивного процесса в среднем ухе (табл. 2).

В то же время, выявленное носительство гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-1 β* в позиции 3953 ($OR = 3,146$; 95 % CI (1,975 – 5,012); $p < 0,01$), гомозиготного генотипа *C/C* и гетерозиготного генотипа *T/C* по высокопродуцирующему аллелю *C** гена *IL-1 β* соответственно в полиморфных локусах 511 и 31 ($OR = 1,913$; 95 % CI (1,181 – 3,099); $p < 0,01$), ($OR = 2,209$; 95 %, $p < 0,01$), а также увеличение частоты встречаемости гетерозиготных генотипов *G/A* и *C/T* гена *IL-10* соответственно в полиморфных локусах -1082 и -819 ($OR = 3,271$; 95 % CI : (2,074 – 5,157); $p < 0,01$) и ($OR = 1,632$; 95 %, $p < 0,01$) соответственно) определяло развитие хронического воспаления в среднем ухе по мукозному типу, клинически проявляющимся симптомами туботимпанальной формы хронического гнойного среднего отита.

Главная роль в определении вариантов воспалительного ответа и развитие специфических иммунологических реакций при внедрении патогенов при ХГСО, обусловленных начальными этапами развития воспалительной реакции, отводится цитокинам. Количественные изменения в продукции медиаторов воспаления связаны с заменой единичного химического звена в нуклеотидных последовательностях ДНК, так называемым полиморфизмом единичных нуклеотидов. Уровень экспрессируемых цитокинов влияет на функциональную активность клеток, принимающих участие в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета при реализации воспалительного ответа [7].

Таблица 2

Частота встречаемости полиморфизмов генов про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов при разных формах хронического гнойного среднего отита

Гено типы/ аллели	Контроль n=183 (%)	Мезотимпанит n=146 (%)	Эпитимпанит n=153 (%)	χ^2 , p		OR (95%CI)	
				для 1-ой клин.группы	для 2-ой клин.группы	для 1-ой клин.группы	для 2-ой клин.группы
Полиморфизм IL-1 β (C3953T)							
C/C	46 (25,1)	75 (51,3)	80 (52,3)	22,926*	25,064*	3,146 (1,975-5,012)	3,264 (2,059-5,174)
C/T	103(56,2)	63 (43,1)	65 (42,5)	5,091*	5,808*	0,59 (0,38-0,914)	0,574 (0,372-0,885)
T/T	34 (18,7)	8 (5,6)	8 (5,2)	11,365*	12,386*	0,254 (0,114-0,518)	0,242 (0,108-0,54)
C	195 (53)	207 (72,9)	216 (73,5)	20,460*	20,299*	2,136 (1,542-2,957)	2,105 (1,528-2,899)
T	171 (47)	85(27,1)	90 (26,5)	20,460*	20,299*	0,468 (0,338-0,648)	0,475 (0,345-0,655)
Полиморфизм IL-1 β (T511C)							
T/T	42 (23)	53 (36,3)	30 (19,6)	6,413*	0,372	0,543 (0,34-0,868)	0,019 (0,005-0,079)
T/C	66 (36)	53 (36,3)	121 (79,1)	0,005	60,755*	1,01 (0,643-1,589)	6,703 (4,095-10,972)
C/C	75 (41)	40 (27,4)	2 (1,3)	6,009*	72,031*	1,913 (1,181-3,099)	0,819 (0,483-1,387)
T	150 (41)	159 (54,4)	181 (59,1)	11,294*	21,285*	1,722 (1,262-2,348)	2,085 (1,531-2,839)
C	216 (59)	133 (45,6)	125 (40,9)	11,294*	21,285*	0,581 (0,426-0,792)	0,48 (0,352-0,653)
Полиморфизм IL-1 β (T31C)							
T/T	90 (49,2)	48 (32,9)	17 (11,1)	8,208*	53,903*	0,506 (0,322-0,794)	0,129 (0,072-0,231)
T/C	66 (36)	81 (55,5)	48 (31,4)	11,610*	0,623	2,209 (1,416-3,445)	0,810 (0,514-1,278)
C/C	27 (14,8)	17 (11,6)	88 (57,5)	0,436	65,802*	0,761 (0,397-1,459)	7,822 (4,654-13,148)
T	246 (67)	177 (60,6)	82 (26,8)	2,798	107,342*	0,751 (0,545-1,034)	0,179 (0,128-0,249)
C	120 (33)	115 (39,4)	224 (73,2)	2,798	107,342*	1,332 (0,967-1,835)	5,6 (4,009-7,821)
Полиморфизм IL-10 (G1082A)							
G/G	87 (47,5)	34 (23,3)	25 (16,4)	19,515*	35,115*	0,335 (0,207-0,542)	0,216 (0,128-0,362)
G/A	69 (37,7)	97 (66,4)	38 (24,8)	25,684*	5,779*	3,271 (2,074-5,157)	0,546 (0,34-0,876)
A/A	27 (14,8)	15 (10,3)	90 (58,8)	1,089	69,378*	0,662 (0,338-1,296)	8,254 (4,906-13,886)
G	243 (66)	165 (56,5)	88 (28,8)	6,326*	92,945*	0,658 (0,479-0,903)	0,204 (0,147-0,284)
A	123 (34)	127 (43,5)	218 (71,2)	6,326*	92,945*	1,521 (1,107-2,088)	4,894 (3,522-6,802)
Полиморфизм IL-10 (C592A)							
C/C	81 (44,3)	60 (41,1)	73 (47,7)	0,216	0,273	0,879 (0,566-1,364)	1,149 (0,747-1,768)
C/A	96 (52,4)	83 (56,8)	80 (52,3)	0,466	0,006	1,194 (0,771-1,849)	0,993 (0,646-1,527)
A/A	6 (3,3)	3 (2,1)	0	0,133	3,409	0,619 (0,152-2,518)	0,000
C	258 (70)	203 (69,5)	226 (73,9)	0,034	0,777	0,955 (0,683-1,335)	1,183 (0,842-1,661)
A	108 (29)	89 (30,5)	80 (26,1)	0,034	0,777	1,047 (0,749-1,465)	0,846 (0,602-1,188)
Полиморфизм IL-10 (C819T)							
C/C	87 (47,5)	45 (30,8)	65 (42,5)	8,766*	0,668	0,492 (0,312-0,775)	0,834 (0,541-1,287)
C/T	78 (42,6)	80 (54,7)	49 (32,0)	4,345*	3,542	1,632 (1,053-2,529)	0,634 (0,405-0,993)
T/T	18 (9,9)	21(14,5)	39 (25,5)	1,201	13,406*	1,54 (0,787-3,013)	3,136 (1,708-5,756)
C	252 (68)	170 (58,2)	179 (58,5)	7,528*	7,327*	0,63 (0,457-0,869)	0,638 (0,464-0,876)
T	114 (32)	122 (41,8)	127 (41,5)	7,528*	7,327*	1,586 (1,151-2,187)	1,568 (1,142-2,154)

Примечание: * - статистическая значимость между группой здоровых лиц и больными клинических при $p < 0,05$.

Исходя из этого, нами было изучено влияние SNP генов IL-1 β и IL-10 на продукцию кодируемых цитокинов при разных вариантах течения ХГСО (табл. 3, 4).

Таблица 3

Уровень цитокинов в сыворотке крови больных эпитимпано-антральной формой хронического гнойного среднего отита, ассоциированного с часто встречающимися полиморфизмами генов IL-1 β , IL-10, пг/мл (M \pm m)

Цитокин, пг/мл	Генотипы IL-1 β (%)		
	C/C -3953 (52,3)	T/C -511 (79,1)	C/C -31 (57,5)
IL-1 β	22,87 \pm 0,36	21,8 \pm 0,19	32,5 \pm 0,29
	Генотипы IL-10 (%)		
	A/A -1082 (58,8)	C/A -592 (52,3)	C/C -819 (42,5)
IL-10	0,72 \pm 0,22	0,57 \pm 0,15	1 \pm 0,1

Таблица 4

Уровень цитокинов в сыворотке крови больных туботимпанальной формой хронического гнойного среднего отита, ассоциированного с часто встречающимися полиморфизмами генов IL-1 β , IL-10, пг/мл (M \pm m)

Цитокин, пг/мл	Генотипы IL-1 β (%)		
	C/C -3953 (51,3)	T/T -511 (36,3)	T/C -31 (55,5)
IL-1 β	14,42 \pm 0,25	11,8 \pm 0,12	7,7 \pm 0,21
	Генотипы IL-10 (%)		
	G/A -1082 (66,4)	C/A -592 (56,8)	C/T -819 (54,7)
IL-10	1,5 \pm 0,12	0,69 \pm 0,3	0,9 \pm 0,18

Так, при эпитимпано-антральной форме содержание IL-1 β в сыворотке крови зарегистрировано на 57 % выше относительно концентрации этого цитокина у лиц с доброкачественным течением туботимпанальной формой ХГСО ($p < 0,05$). Низкий уровень противовоспалительного IL-10 у пациентов второй группы, скорее всего, был обусловлен обладанием ими низкопродуктивных аллелей A* и T* SNP гена IL-10 соответственно в позициях -1082 и -819. Разница в содержании цитокинов у пациентов с разными формами ХГСО при носительстве одинаковых генотипов полиморфизмов генов, в частности IL-1 β -3953C/C, по нашему мнению, определена участием других цитокинов в иммунной защите индивида.

Любой воспалительный процесс среднего уха сопровождается повреждением эпителиоцитов слизистой оболочки и целостности эндотелия, затруднением экспрессии большинства молекул адгезии, результатом чего является нарушение кооперации и миграции клеток в зоне травмы, осуществляющих репаративные функции [9]. Тромбоциты, синтези-

руя и секретируя значительное число биологически активных соединений, способны вступать непосредственно в контакт с эндотелиальными клетками, гранулоцитами, моноцитами, лимфоцитами и эритроцитами, обеспечивая последним взаимодействие с коллагеновыми волокнами сосудов. Более того, тромбоциты, содержащие весь комплекс сократительных белков и способных самостоятельно передвигаться, помогают лимфоцитам перейти в очаг повреждения в условиях тока жидкости, осуществляя трофическую и репаративную функции путем секреции в окружающую среду ростковых факторов [10]. Особенность лимфоцитов адгезировать на своей поверхности кровяные пластинки способствует реализации феномена лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА), являющейся одной из физиологических функций организма, направленной на развитие иммунных реакций, воспаления и тромбоза [11]. Механизм лимфоцитарно-тромбоцитарного взаимодействия включает в себя образование интегриновых и неинтегриновых мостов, таких как $\alpha_{\text{IIb}}/\beta_3$ - β_1 -связанные интегрины, Р-селектин-PSGL и CD40-CD40L. Регулирование ЛТА осуществляется цитокинами и индукторами агрегации тромбоцитов [10, 12].

Наше исследование продемонстрировало, что течение хронического гнойного среднего отита сопровождалось снижением общего и относительного количества лимфоцитов в сыворотке крови пациентов и депрессией иммунорегуляторного индекса (CD4 $^+$ /CD8 $^+$), обусловленного дефицитом Т-хелперов в крови (табл. 5).

Таблица 5

Показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у пациентов с хроническим гнойным средним отитом (M \pm m)

Показатели	Контроль (n=183)	Мезотимпанит (n=146)	Эпитимпанит (n=153)
Т-клетки (CD3 $^+$), мкл	2,1 \pm 0,21	1,92 \pm 0,1*	1,82 \pm 0,15*
ЛТА, относит. кол-во, %	14,3 \pm 1,0	8,3 \pm 0,2*	10,9 \pm 0,17*
ЛТА, абс. кол-во, $\times 10^9$ /л	0,31 \pm 0,03	0,16 \pm 0,02*	0,2 \pm 0,03
ЛТИ	3,2 \pm 0,1	1,8 \pm 0,1*	3,9 \pm 0,1*
Тх-клетки (CD3 $^+$ CD4 $^+$) абс. кол-во, $\times 10^9$ /л	0,85 \pm 0,03	0,71 \pm 0,06	0,65 \pm 0,23
% ЛТА от Т-НК-клеток (CD4 $^+$)	36,5 \pm 1,13	22,5 \pm 0,07*	30,7 \pm 0,06*
Т-НК-клетки (CD4 $^+$ CD16 $^+$), абс. кол-во, $\times 10^9$ /л	1,13 \pm 0,1	0,91 \pm 0,08	0,83 \pm 0,09*
% ЛТА от Т-НК-клеток (CD4 $^+$ CD16 $^+$)	27,4 \pm 1,2	17,6 \pm 0,1*	24,1 \pm 0,12*

Примечание: * - статистическая значимость между группой здоровых лиц и больными клинических групп.

Это объясняется тем, что из всех лейкоцитов при хроническом процессе именно лимфоциты устремляются в очаг повреждения, обезвреживая вирусы и другие патогены, а также, уничтожая разрушающиеся клетки путем специфического иммунного ответа с одновременным развитием клеточного иммунодефицита и изменением значений ЛТА [13, 14]. Снижение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии регистрировалось при обеих формах ХГСО, однако, факторы, определяющие концентрацию лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов в сыворотке крови, были различны и обусловлены характером течения заболевания.

В случаях с больными туботимпанальной формой ХГСО малое количество коагрегатов явилось результатом угнетенной способности лимфоцитов к адгезии тромбоцитов, т.е. развитием феномена лейкоцитарной депрессии, часто имеющим место при вялотекущем заболевании. Это подтверждалось и крайне низким значением лимфоцитарно-тромбоцитарного индекса у больных мезотимпанитом относительно здоровых лиц.

Напротив, при холестеатомно-деструктивных процессах в среднем ухе лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс превышал контрольные значения. Активированные лимфоциты усиленно адгезируют тромбоциты и, благодаря ретракции последних, продвигаются далее через поврежденную стенку вглубь травмированного участка, где развивается иммунный ответ [15-17]. Следовательно, низкие значения ЛТА у пациентов с эптитимпано-антральной формой ХГСО явились результатом усиленной миграции лимфоцитов из сосудистого русла в очаг повреждения.

Регресс воспалительных реакций связан с повышением в патологическом очаге и в сыворотке крови противовоспалительных цитокинов и *IL-10*, продуцируемых Th2. Увеличение уровня и *IL-10*, по данным литературы, сопровождается уменьшением ЛТА и, следовательно, прекращением миграции иммунных клеток в очаг повреждения [6, 18]. Оказываемый эффект *IL-10* позволяет регулировать, а в финале и разорвать миграционный поток лимфоцитов в месте развития воспалительной реакции. Одновременно с этим *IL-10*, замедляя свертываемость крови и стимулируя фибринолиз, устраняет гиперкоагуляцию и ишемию тканей [19-21]. Однако именно у лиц с тяжелым деструктивным течением хронического среднего отита уровень экспрессируемого цитокина в сыворотке крови выявлен в низкой концентрации (табл. 3).

Таким образом, общим иммунопатогенетическим звеном ХГСО является ось: предикторные генотипы генов *IL-1β*, *IL-10* → ассоциированный уровень одноименных цитокинов → лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия. От полиморфизма генов цитокинов зависит концентрация кодируемого активирующего

(*IL-1β*) или тормозящего (*IL-10*) цитокинов, определяющими контактные взаимодействия лимфоцитов и кровяных пластинок. Суммарно представленные факты значимо влияют на иммунный ответ при патологии среднего уха.

Заключение

У больных ХГСО выявлены все варианты изучаемых полиморфизмов генов цитокинов, большинство которых подчинено равновесию Харди-Вайнберга. Выявленная нами высокая частота встречаемости гомозиготных генотипов *C/C* гена *IL-1β* в полиморфном локусах 3953 и 31 соответственно, гетерозиготного генотипа *T/C* гена *IL-1β* в позиции 511, а также гомозиготных генотипов *A/A*, *C/C* по низкопродуцирующим аллелям соответственно *A** и *C** гена *IL-10* соответственно в полиморфном локусах -1082 и -819 пациентов с эптитимпано-антральной формой указывает на возможное их участие в этиопатогенезе заболевания в виде детерминирующего фактора в количественной продукции цитокинов, обуславливая развитие в сторону провоспалительного ответа. При деструктивных процессах в среднем ухе обнаружено увеличение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии в 2 раза и лимфоцитарно-тромбоцитарного индекса на 29 % относительно этих показателей у лиц контрольной группы. Воспалительный процесс при туботимпанальной форме ХГСО сопровождался снижением уровня ЛТА и ЛТИ в 2 и в 1,7 раза соответственно.

Литература / References

1. Гаров ЕВ, Гарова ЕЕ. Современные принципы диагностики и лечения пациентов с хроническим гнойным средним отитом. *Русский медицинский журнал*. 2012;(27):1355-9. [Garov EV, Garova EE. Modern principles of diagnosis and treatment of patients with chronic purulent otitis media. *Russkij Medicinskij Zhurnal*. 2012;(27):1355-9. (In Russian)] DOI: 10.1017/s0022215116005375
2. Пальчун ВТ. Оториноларингология : рук. для врачей. М. : Гэотар-Медиа; 2013. 616 с. [Palchun VT. *Otorhinolaryngology*. Moscow : Geotar-Media; 2013. 616 p. (In Russian)]
3. Доржиева НЭ, Витковский ЮА, Судакова ЛР. Полиморфизм гена *IL-10* (C819T) у больных с воспалительными заболеваниями пародонта в Забайкальском крае. *Забайкальский медицинский вестник*. 2011;(1):44-7. Ссылка активна на 11.02.2017. [Dorzhieva NE, Vitkovsky YuA, Sudakova LR. *IL-10* (C819T) gene polymorphism of in patients with inflammatory periodontal diseases in the Zabaikalsky kray. *The Transbaikalian Medical Bulletin*. 2011;(1):44-7. Accessed February 11, 2017 (In Russian)] <http://chitgma.ru/zmv2/journal/2011-1/7.pdf>
4. Емельянова АН. Полиморфизм генов цитокинов *IL-2* (T330G), *IL10* (C819T) и *IL-10* (G1082A) при

хроническом вирусном гепатите С. *Молекулярная медицина*. 2013;(3):46-8. [Emelyanova AN. Polymorphism of genes of cytokines IL-2 (T330G), IL-10 (S819T) and IL-10 (G1082A) in chronic viral hepatitis C. *Molecular Medicine*. 2013;(3):46-8. (In Russian)]

5. Ризванова ФФ, Пикуза ОИ, Файзуллина РА, Гайфуллина РФ, Ризванов АА, Кравцова ОА. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов. *Практическая медицина*. 2010;45(6):41-3. [Rizvanova FF, Pikuz OI, Fayzullina RA, Gayfullina RF, Rizvanov AA, Kravcova OA. Genetic diagnosis: cytokine gene polymorphism. *Practical Medicine*. 2010;45(6):41-3. (In Russian)]

6. Витковский ЮА, Кузник БИ, Солпов АВ. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования. *Иммунология*. 1999;(4):35-7. [Vitkovskij YuA, Kuznik BI, Solpov AV. The phenomenon of platelet-lymphocyte adhesion. *Immunologiya*. 1999;(4):35-7. (In Russian)]

7. Симбирцев АС, Громова АЮ, Рыдловская АВ. Роль полиморфизма генов цитокинов в регуляции воспаления и иммунитета. *Медицинский академический журнал*. 2006;(1):144-9. [Simbirtsev AS, Gromova AYU, Rydlovskaya AV. The role of polymorphisms of genes of cytokines in the regulation of inflammation and immunity. *Medical Academic Journal*. 2006;(1):144-9. (In Russian)]

8. Crawford DC, Akey DT, Nickerson DA. The patterns of natural variation in human genes. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2005;25(6):287-312. DOI: 10.1146/annurev.genom.6.080604.162309.

9. Семинский ИЖ, Майборода АА. Особенности клеточных реакций в очагах воспаления разной этиологии. Сообщение 4. Факторы, механизмы и критерии хронизации воспаления. *Журнал инфекционной патологии*. 2000;7(3-4):33-8. [Seminskij IZh, Majboroda AA. Features cellular responses in areas of inflammation of different etiology. Message 4. Factors, mechanisms and criteria for chronic inflammation. *Zhurnal Infekcionnoj Patologii*. 2000;7(3-4):33-8. (In Russian)]

10. Витковский ЮА, Кузник БИ, Солпов АВ, Гвоздева ОВ, Роднина ОС. Состояние иммунитета и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при диффузном токсическом зобе. *Медицинская иммунология*. 2010;12(1-2):133-8. DOI: 10.15789/1563-0625-2010-1-2-133-138. [Vitkovskij YuA, Kuznik BI, Solpov AV, Gvozdeva OV, Rodnina OS. Immunity and lymphocyte-platelet adhesion in diffuse toxic goiter. *Medical Immunology*. 2010;12(1-2):133-8. (In Russian)]

11. Kuznik BI, Solpov A, Magen E. Lymphocyte-platelet crosstalk in grayes' disease. *American Journal of the Medical Sciences*. 2014;347(3):206-10. DOI: 10.1097/maj.0b013e3182831726

12. Любин АВ, Солпов АВ, Шаповалов КГ. Агрегация тромбоцитов. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2012(1):112. [Lyubin AV, Solpov AV, Shapovalov

KG. Aggregation of thrombocytes. *Far East Medical Journal*. 2012;(1):112. (In Russian)]

13. Витковский ЮА., Кузник Б.И., Солпов А.В.. Итоги 10-летнего исследования механизмов лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. *Забайкальский медицинский вестник*. 2008;(2):36-41. [Vitkovskij YuA, Kuznik BI, Solpov AV. Results of the 10-year study of mechanisms of lymphocyte-platelet adhesion. *The Transbaikalian Medical Bulletin*. 2008;(2):36-41. (In Russian)]

14. Li N, Ji Q, Hjendahl P. Platelet-lymphocyte conjugation differ between lymphocyte subpopulation. *Thrombosis and Haemostasis*. 2006;(4):874-881. DOI: doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.01817.

15. Sigal A, Bleijs DA, Grabovsky V. The LFA-1 integrin supports rolling adhesion on ICAM-1 under physiological shear flow in a permissive cellular environment. *Immunology*. 2000;165(1):442-542. DOI: 10.4049/jimmunol.165.1.442.

16. Hawrylowich CM, Howells GL, Feldmann M. Platelet-derived interleukin-1 induces human endothelial adhesion molecule expression and cytokine production. *Journal of Experimental Medicine*. 1991;174(4):785-90. DOI: 10.1084/jem.174.4.785.

17. Solpov A, Shenkman B, Vitkovsky Y, Brill G, Koltakov A, Farzam N, Varon D, Bank I, Savion N. Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: Role of platelet aggregation, integrins, and non-integrin receptors. *Thrombosis and Haemostasis*. 2006;95(5):815-21. DOI: 10.1160/th05-07-0524.

18. Brandt E, Ludwig A, Peterson F, Flad HD. Platelet-derived CXC chemokines: old players in new games. *Immunology Reviews*. 2000;(17):204-16. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2000.17705.

19. Dudek A, Nesmelova I, Majo K. Platelet factor 4 promotes adhesion of hematopoietic progenitor cells and binds IL-8. *Blood*. 2003;101(12):4687-92. DOI: 10.1182/blood-2002-08-2363

20. Weyrich AS, Zimmerman GA. Platelets: signaling cells in the immune continuum. *Trends of Immunology*. 2004;25(9):489-95. DOI: 10.1016/j.it.2004.07.003

21. Solpov AV, Kuznik BI, Vitkovskij YuA, Yedelev D. Influence of interleukin 4 and 10 on haemostasis. *Thrombosis and Haemostasis. Abstr. XVII Congress of the ISTH, Washington D.C., August 14-21*. 1999;(34):110. DOI: 10.1016/s0248-8663(00)87076-9

22. Browder T, Folkman J, Pirie-Shepherd S. The haemostatic system as a regulator of angiogenesis. *The Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(3):1521-4. DOI: 10.1074/jbc.275.3.1521

23. Folkman J, Browder T, Palmblad J. Angiogenesis research: Guidelines for translation to clinical application. *Thrombosis and Haemostasis*. 2001;86(1):23-33.

24. Vitkovskij YuA, Kuznik BI, Solpov AV. Cytokine influence on lymphocyte-platelet adhesion. *Thrombosis and Haemostasis*. 2001;(43):2711.

Сведения об авторах

Байке Елена Викторовна, к.м.н., заведующий отделением оториноларингологии, Краевая клиническая больница; адрес: Российская Федерация, 672038, г. Чита, ул. Коханского, д. 7; тел.: 89144851170; e-mail: elenabayke@yandex.ru

Дутова Анастасия Александровна, к.м.н., ассистент, Читинская государственная медицинская академия; адрес: Российская Федерация, 672090, г. Чита, ул. Горького, 39а; тел.: 8(3022) 354324; e-mail: dutova.nastya75@yandex.ru

Байке Евгений Ерболович, к.м.н., доцент, Читинская государственная медицинская академия; адрес: Российская Федерация, 672090, г. Чита, ул. Горького, 39а; тел.: 8(3022) 354324; e-mail: eugenij.bee@yandex.ru

Author information

Elena V. Bayke, Cand. Med. Sci., Head of the Department of Otorhinolaryngology, Regional Clinical Hospital; Address: 7, Kokhanskiy Str., Chita, Russian Federation 672035; Phone: +79144851170; e-mail: elenabayke@yandex.ru

Anastasiya A. Dutova, Cand. Med. Sci., Assistant, Chita State Medical Academy; Address: 39 a, Gorkiy Str., Chita, Russian Federation 672090; Phone: + 7 (3022) 354324; e-mail: dutova.nastya75@yandex.ru

Evgeniy E. Bayke, Cand. Med. Sci., Associate Professor, Chita State Medical Academy; Address: 39 a, Gorkiy Str., Chita, Russian Federation 672090; Phone: + 7 (3022) 354324; e-mail: eugenij.bee@yandex.ru

Поступила 14.02.2017 г.
Принята к печати 12.12.2017 г.

© ТИГАНОВ С. И., ГРИГОРЬЯН А. Ю., БЛИНКОВ Ю. Ю., ПАНКРУШЕВА Т. А., МИШИНА Е. С., ЖИЛЯЕВА Л. В.

УДК 616-002.3:615.468:615.28]-092.9

DOI: 10.20333/2500136-2018-1-43-48

ПРИМЕНЕНИЕ МИРАМИСТИНА И МЕТРОНИДАЗОЛА В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГНОЙНЫХ РАН

С. И. Тиганов¹, А. Ю. Григорьян², Ю. Ю. Блинков², Т. А. Панкрушева², Е. С. Мишина², Л. В. Жилиева²

¹Курская городская больница скорой медицинской помощи, Курск 305035, Российская Федерация

²Курский государственный медицинский университет, Курск 305041, Российская Федерация

Цель исследования. Изучение процесса заживления экспериментальной раны при применении разработанной нами комбинации с мирамистином и метронидазолом в сравнительном аспекте с мазью «Левомеколь».

Материал и методы. Материалом для исследования послужил следующий состав: Раствор Мирамистина 0,01 % - 100,0 г, Метронидазол – 1,0 г, Натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы – 4,0 г. Эксперимент был выполнен на 120 крысах-самцах породы Вистар, которые были разделены на 2 статистически однородные группы по 60 животных в каждой, всем подопытным моделировалась гнойная рана по методике П. И. Толстых. В контрольной группе местное лечение раны проводилось с помощью мази «Левомеколь», в опытной группе проводили лечение составом 1. Оценку течения раневого процесса производили с помощью планиметрического, микробиологического и гистологического методов исследования. Протоколирование данных и выведение животных из опыта осуществляли на 1-е, 3-и, 5-е, 8-е, 10-е и 15-е сутки.

Результаты. Данные микробиологического исследования подтвердили высокую эффективность разработанной нами комбинации в отношении стандартных тест-штаммов микроорганизмов-возбудителей раневой инфекции. В результате планиметрического исследования было выявлено достоверное уменьшение площади ран в опытной группе по сравнению с контрольной на 10-е и 15-е сутки наблюдения, что указывает на более благоприятное течение процесса заживления в опытной группе. Применение в лечении гнойно-воспалительного процесса мягких тканей разработанной нами комбинации способствует скорейшему понижению микробной обсемененности ран, по сравнению с мазью «Левомеколь», что было отмечено на 8-е и 10-е сутки. После проведенного гистологического исследования было отмечено, что процессы регенерации и эпителизации протекали лучше в опытной группе по отношению к контролю.

Заключение. Таким образом, созданная нами комбинация с мирамистином и метронидазолом оказывает эффективное противомикробное действие в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, сокращает срок течения первой и второй фазы раневого процесса по сравнению с использованием стандартного средства.

Ключевые слова: гнойная рана, лечение ран, мирамистин, метронидазол, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, мазь «Левомеколь».

Для цитирования: Тиганов СИ, Григорьян АЮ, Блинков ЮЮ, Панкрушева ТА, Мишина ЕС, Жилиева ЛВ. Применение мирамистина и метронидазола в лечении экспериментальных гнойных ран. *Сибирское медицинское обозрение*. 2018;(1): 43-48. DOI: 10.20333/2500136-2018-1-43-48

THE USE OF MIRAMISTIN AND METRONIDAZOLE IN THE TREATMENT OF EXPERIMENTAL PURULENT WOUNDS

S. I. Tiganov¹, A. Yu. Grigoryan², Yu. Yu. Blinkov², T. A. Pankrusheva², E. S. Mishina², L. V. Zhilyeva²

¹ Kursk Municipal Ambulance Hospital, Kursk 305035, Russian Federation

² Kursk State Medical University, Kursk 305041, Russian Federation

The aim of the research. To study the healing process of the experimental wound with the use of our combination with miramistin and metronidazole in comparative aspect with the “Levomekol” ointment.

Material and methods. The following composition served as the material for the study: Miramistin solution 0.01 % - 100.0 g, Metronidazole 1.0 g, Sodium salt of carboxymethyl cellulose - 4.0 g. The experiment was performed on 120 male Wistar rats, which were divided into 2 statistically homogeneous groups of 60 animals in each, a purulent wound was modeled to all the experimental subjects using the method of P.I. Tolstykh. In the control group the local treatment of the wound was performed with the help of “Levomekol” ointment, in the experimental group the treatment was performed by composition 1. Assessment of the course of the wound process was carried out using planimetric, microbiological and histological methods of research. The data were registered and the animals were removed from the experiment on the 1st, 3rd, 5th, 8th, 10th and 15th days.