

А.В. Москалёв¹, А.Р.М. Фалсафи², Н.А. Шумилова²,
А.И. Яременко², О.В. Галкина¹

Характеристика отдельных показателей врожденного и адаптивного иммунитета у больных одонтогенным остеомиелитом челюстей

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Резюме. Показана динамика наиболее значимых лабораторных показателей, отражающих состояние механизмов врожденного и адаптивного иммунитета и ранний воспалительный процесс. Установлено, что у больных одонтогенным остеомиелитом челюстей снижена микробицидная эффективность нейтрофилов, что является следствием неэффективного иммунного воспаления. Профили провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α), белков системы комплемента и противовоспалительного IL-10 отражают выраженность супрессивных механизмов, снижающих функциональную активность иммунокомпетентных клеток. Состояние местного иммунного гомеостаза отражает более высокий уровень иммуновоспалительного процесса, по сравнению с системным. Одонтогенный остеомиелит челюстей не сопровождается нарушением костного метаболизма. Доказано, что для оценки местного гомеостаза у больных одонтогенным остеомиелитом челюстей в качестве изучаемых биосубстратов могут использоваться как слюна, так и назальные смывы. Так, у пациентов с одонтогенным остеомиелитом исходная концентрация TNF- α в назальных смывах находилась в диапазоне от 100 до 293 пг/мл (230 ± 67 пг/мл). Через 7 дней после начала терапии уровень данного цитокина снизился более чем в 8 раз (26 ± 12 пг/мл). Концентрация IL-8 в ротовой жидкости и назальных смывах у пациентов с одонтогенным остеомиелитом при поступлении в клинику достоверно превышала уровень данного цитокина здоровых лиц и была в пределах от 56 до 1910 пг/мл (476 ± 75 пг/мл), а после лечения достоверно снизилась в 7–10 раз и составила от 10,5 до 400 пг/мл ($82,1 \pm 17$ пг/мл). Достоверных различий в уровнях IL-8 в слюне и назальных смывах в группе больных не выявлено. Динамика IL-8 как в назальных смывах, так и слюне обследованных больных полностью отражает воспалительные реакции, протекающие на слизистых.

Ключевые слова: одонтогенный остеомиелит челюстей, фагоцитоз, цитокины, белки системы комплемента, иммунное воспаление, остеокласты, назальные смывы, слюна.

Введение. Этиологической причиной одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний у человека чаще всего являются неспорообразующие анаэробы родов *Bacteroides* (*B. fragilis*), *Prevotella* (*P. melaninogenica*), *Porphyromonas* (*P. saccharolytica*), *Fusobacterium* (*F. nucleatum*), *Peptococcus* (*P. asaccharolyticus*) и *Peptostreptococcus* (*P. anaerobius*) [1, 8].

Превалирующего влияния какого-либо одного из них на частоту возникновения одонтогенного остеомиелита челюстей (ООЧ) не выявлено [9, 10]. Поэтому важнейшее значение для определения стадии и прогноза дальнейшего развития ООЧ, выбора тактики и стратегии его терапии приобретают результаты исследования иммунного гомеостаза больных и в первую очередь – показателей врожденного иммунитета.

А. Heimdahl, С.Е. Nord [8] и D.K. Lam, G.K. Sándor, H.I. Holmes [9] считают, что основной причиной развития ООЧ являются изменения иммунного гомеостаза, связанные со снижением функциональных возможностей клеток моноцитарно-фагоцитарной системы, контролирующей аутомикрофлору.

Больные ООЧ составляют 40–50% среди всех пациентов в специализированных челюстно-лицевых

стационарах [3, 5]. Вопросы патогенеза, ранней диагностики, лечения и профилактики одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний остаются наиболее актуальными для современной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии [3, 6]. Одним из направлений является разработка и внедрение в клиническую практику новых методик ранней диагностики и прогнозирования гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, в том числе острого одонтогенного остеомиелита [1, 7].

В отличие от периферической крови, иммунологические показатели биологических жидкостей из инфекционного очага отражают выраженность местного воспаления и могут иметь диагностическое значение при локальных патологических процессах [10, 11]. Показано, что инфекция, развивающаяся на слизистых, коррелирует с уровнем мукозных антител лучше, чем с концентрацией антител в сыворотке крови, так как именно состав биологической жидкости из очага инфекции тесно связан с местными воспалительными реакциями [4, 11].

Актуальность исследования определяется широкой распространенностью среди населения больных

с одонтогенным остеомиелитом, трудоемкостью и дорогостоящим лечением, частыми рецидивами и осложнениями заболевания, переходом в хроническую форму, а также значительным интересом исследователей к вопросам лабораторной диагностики одонтогенных остеомиелитов.

Цель исследования. Оценка некоторых показателей врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с одонтогенным остеомиелитом челюстей как факторов, позволяющих выявить раннее воспаление.

Материалы и методы. Обследовано 70 пациентов в возрасте от 23 до 67 лет (средний возраст 42 ± 5 лет) с острыми инфекционно-воспалительными одонтогенными заболеваниями челюстно-лицевой области с преимущественным поражением костной ткани. Все больные поступили в отделение челюстно-лицевой и пластической хирургии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова в экстренном порядке с диагнозом: острый одонтогенный остеомиелит верхней или нижней челюсти и имели показания к хирургическому лечению для адекватного дренирования очага гнойного воспаления (удаление «причинного» зуба, внутриротовой разрез). Из группы исследования исключались пациенты с сопутствующей патологией, сопровождающейся поражением костной ткани (например, остеопороз), а также больные с сопутствующей острой и хронической патологией полости носа, нарушением пневмотизации околоносовых пазух.

Контрольную группу составили 29 здоровых добровольцев в возрасте от 22 до 62 лет (средний возраст 41 ± 8 лет).

Обследование больных включало: сбор анамнестических данных, гематологический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, осмотр терапевта и выявление сопутствующих заболеваний, пальпаторная диагностика границ воспалительного процесса, перкуторное выявление «причинного» зуба, рентгенологическая оценка костной ткани верхней или нижней челюсти в области «причинного» зуба/зубов и очага воспаления.

Для оценки состояния механизмов фагоцитоза у пациентов, страдающих ООЧ, использовали результаты цитохимического варианта методики восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) по М.Е. Виксман,

А.И. Маянскому [2], характеризующего кислород-зависимые микробицидные системы фагоцита, и средние показатели цитохимической лизосомальной катионной пробы (ЛКП) по В.Е. Пигаревскому и соавт. [2], применяемой для изучения кислороднезависимых механизмов фагоцитоза.

Определение компонентов комплемента С3 и С5 человека проводили с помощью наборов реагентов общества с ограниченной ответственностью «Цитокин» (Санкт-Петербург). Продукцию цитокинов: фактора некроза опухолей-альфа (TNF- α), интерферона-гамма (IFN- γ), интерлейкинов (IL) – 1 β , 2, 6, 8, 10 исследовали, используя твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА), применяя соответствующие наборы реагентов закрытого акционерного общества «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Местное иммунологическое обследование включало определение концентраций IL-8, TNF- α , IgE и тартрат резистентной кислой фосфатазы (TRAP) в слюне и смывах из полости носа. TRAP – фермент, секретируемый остеокластами и попадающий в повышенном количестве в кровоток при увеличении количества и возрастании активности остеокластов. Оценку производили при поступлении и через 7 дней после начала проведения терапии, а концентрацию TRAP – однократно до начала лечения, используя ИФА.

Результаты исследования обрабатывались с использованием t-критерия Стьюдента для определения различий относительных и абсолютных величин. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы различий принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. Степень активности микробицидных систем фагоцитов в ЛКП-пробе (основана на цитохимическом выявлении неферментных лизосомальных катионных белков по среднему цитохимическому коэффициенту) и кислородзависимые механизмы фагоцитоза в НСТ-пробе в базальных и стимулированных условиях свидетельствуют об имеющихся существенных уменьшениях резервной метаболической емкости нейтрофилов у больных ООЧ (табл. 1).

Отсутствие достоверных различий базальной НСТ-пробы больных с показателями здоровых лиц свидетельствует о том, что даже в базальных условиях у больных имеется гиперактивация фагоцитов. К сожалению, этого недостаточно для эффективного развития микробицидных эффектов нейтрофилов.

Таблица 1

Оценка кислородзависимых и кислороднезависимых механизмов фагоцитоза у больных ООЧ, у.е.

Группа	ЛКП	НСТ		Индекс завершенности фагоцитоза
		базальный	стимулированный	
Больные	$1,33 \pm 0,03^*$	$0,11 \pm 0,03$	$0,94 \pm 0,05^*$	$1,9 \pm 0,05^*$
Здоровые	$1,67 \pm 0,05$	$0,06 \pm 0,01$	$1,44 \pm 0,09$	$4,9 \pm 0,07$

Примечание: * – различия с группой здоровых, $p < 0,001$.

Стимулированная НСТ-проба подтверждает, что у больных ООЧ снижена эффективность кислородзависимых механизмов фагоцитоза. Это свидетельствует как о снижении иницирующей возможности фагоцита, так и о его возможных метаболических дефектах, т.е. неспособности нейтрофилов продуцировать достаточное количество активных форм кислорода (АФК), которые необходимы для нормального процесса фагоцитоза [1, 3]. Показатели ЛКП в исследуемых группах также отражали снижение эффективности кислороднезависимых механизмов фагоцитоза у больных ООЧ.

Суммарную эффективность фагоцитоза отражает индекс его завершенности, подтверждающий снижение активности нейтрофилов осуществлять фагоцитоз микроорганизмов. Несмотря на достоверные различия по ряду показателей фагоцитоза, наблюдается неоднородность и глубина их изменений. Так, процесс поглощения культуры *S. aureus* сохранялся в пределах нормы у 78% лиц, а показатель завершенности их переваривания был снижен более чем в половине случаев. То есть снижение резервной метаболической емкости у больных не сопровождалось значительным угнетением процессов поглощения микроорганизмов.

Установлено, что у больных ООЧ значительно снижается функциональная активность фагоцитов, которая приводит к неэффективности как кислородзависимых, так и кислороднезависимых механизмов фагоцитоза. Существенный вклад в поддержание микробицидных эффектов нейтрофилов на высоком уровне вносят провоспалительные цитокины, а также компоненты комплемента С3а, играющие важную роль в поддержании воспаления и С3b – в опсонизации микроорганизмов, без которых фагоцитоз в большинстве случаев остается незавершенным. Поэтому анализ спектра и динамики профиля сывороточных уровней цитокинов, белков системы комплемента при

активном патологическом процессе, в том числе при локальном повреждении, представляет как теоретический, так и практический интерес.

Профили цитокинов также подтверждают, что у больных ООЧ имеется локальное воспаление, однако это недостаточно для развития адекватного воспалительного процесса, необходимого для нейтрализации и элиминации патогенна (табл. 2).

Профили основных провоспалительных цитокинов у больных ООЧ лишь незначительно превышают границы доверительной нормы или находятся в её пределах, что недостаточно для эффективного фагоцитоза. Так, профили $IFN\gamma$ хоть и достоверно ($p<0,01$) превышают показатели контрольной группы, но незначительно отличаются от верхней границы нормы, а ведь именно этот цитокин вместе с IL-12 определяет развитие клеточно-опосредованных механизмов иммунного ответа. Данное обстоятельство также подтверждает наличие супрессивных механизмов, подавляющих развитие эффективного иммунновоспалительного процесса. Профили основных компонентов комплемента свидетельствуют о недостаточной эффективности воспалительного процесса.

Установлено, что снижение функциональных возможностей фагоцитов, связанное с недостаточной продукцией цитокинов, определяющих фазу острого воспаления (IL-1, IL-8, $IFN\gamma$) и цитокинов хронического воспаления (IL-6, IL-10), повышает возможность развития ООЧ. Неэффективность иммунного ответа может быть связана и с отсутствием увеличения концентрации IL-2. Активность Th1/Th2-ответа по индексу соотношения $IFN\gamma/IL-10$ показала отсутствие выраженности развития иммунновоспалительного ответа, что в итоге, объясняет неэффективность механизмов фагоцитоза. Выявленные факты указывают на то, что при выборе тактики лечения больных ООЧ в обязательном порядке необходимо использовать иммуномодулирующую терапию.

Таблица 2

Уровни цитокинов, белков системы комплемента (С3, С5) у больных ООЧ

Цитокин	Больные	Здоровые	Доверительные границы нормы цитокинов (наши исследования)
IL-1 β , пг/мл	18,6 $\pm$ 0,5**	16,9 $\pm$ 0,3	0–15
IL-2, пг/мл	12,38 $\pm$ 0,32*	11,3 $\pm$ 0,37	0–12
IL-6, пг/мл	15,7 $\pm$ 0,42**	13,1 $\pm$ 0,23	0–10
IL-8, пг/мл	16,03 $\pm$ 0,43*	14,5 $\pm$ 0,37	0–10
IL-10, пг/мл	10,95 $\pm$ 0,2	10,95 $\pm$ 0,3	0–5,5
TNF α , пг/мл	19,18 $\pm$ 0,32**	14,05 $\pm$ 0,34	0–15
$IFN\gamma$, пг/мл	17,9 $\pm$ 0,4**	16,5 $\pm$ 0,37	0–15
$IFN\gamma/IL-10$, у.е.	1,67 $\pm$ 0,04***	1,51 $\pm$ 0,32	–
С3, мг/мл	1,1 $\pm$ 0,03***	0,94 $\pm$ 0,02	1,2 $\pm$ 0,17
С5, мг/мл	0,18 $\pm$ 0,04*	0,075 $\pm$ 0,035	0,2 $\pm$ 0,04

Примечание: различия между показателями больных и здоровых, * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$.

В назальных смывах и слюне здоровых лиц концентрация TNF- α достоверных различий не имела и составила от 0 до 2 пг/мл. Схожий цитокиновый состав ротовой жидкости и носовых смывов свидетельствует о возможности использования смывов из полости носа для оценки местного течения воспалительных процессов челюстно-лицевой области в случае наличия примеси крови в слюне. Именно по этой причине не проводилось изучение уровня TNF- α в слюне исследуемой группы больных.

У 39% пациентов (27/70) с одонтогенным остеомиелитом исходная концентрация TNF- α в назальных смывах находилась в диапазоне от 100 до 293 пг/мл (средняя концентрация 230 ± 67 пг/мл). В назальных смывах остальных пациентов (43/70) концентрация цитокина не превышала 10 пг/мл. Через 7 дней после начала терапии у пациентов с исходно высокими значениями уровень данного цитокина снижался до 26 ± 12 пг/мл, что более чем в 8 раз ниже исходного уровня ($p < 0,05$). У остальных пациентов к окончанию курса терапии концентрация TNF- α была 0 пг/мл.

В контрольной группе уровень TRAP (маркера нарушения скорости ремоделирования костной ткани) был в интервале от 0,95 до 3,2 МЕ/л (среднее значение $1,8 \pm 0,5$ МЕ/л) и соответствовал уровню нормы (референтный интервал у мужчин – до 4,82 МЕ/л, у женщин – до 4,15 МЕ/л). В крови обследованных пациентов одонтогенным остеомиелитом концентрация данного маркера ни в одном случае не выходила за пределы референтного интервала и составила от 1,2 до 3,9 МЕ/л (среднее значение $1,8 \pm 0,6$ МЕ/л). А.И. Яременко [5], A. Heimdahl, C.E. Nord [8], D.K. Lam, G.K. Sándor [9] указывают на то, что концентрация TRAP в крови коррелирует со скоростью резорбции кости, а основной причиной повышения TRAP является остеопороз. Достоверных различий показателей TRAP в крови больных и здоровых лиц не выявлено, что свидетельствует об отсутствии патогенетической взаимосвязи между одонтогенным остеомиелитом и нарушением костного метаболизма.

В ротовой жидкости и назальных смывах здоровых лиц концентрация IL-8 составила от 10 до 120 пг/мл (среднее значение $63,4 \pm 30,8$ пг/мл), и от 1,4 до 102 пг/мл (среднее значение $58,6 \pm 37,6$ пг/мл) соответственно. Достоверных различий в уровне IL-8 в слюне и назальных смывах не выявлено, что подтверждает теорию о единстве мукозной иммунной системы ротовой и носовой полостей.

При поступлении в клинику пациентов с одонтогенным остеомиелитом концентрация IL-8 в ротовой жидкости и назальных смывах достоверно превышала уровень данного цитокина здоровых лиц и была в пределах от 56 до 1910 пг/мл (среднее значение 476 ± 75 пг/мл), а после лечения достоверно снижалась в 7–10 раз и составила от 10,5 до 400 пг/мл (среднее значение $82,1 \pm 17$ пг/мл). Достоверных различий в уровнях IL-8 в слюне и назальных смывах в группе больных не выявлено. Динамика IL-8 как в назальных смывах, так и слюне обследованных больных полностью отражает воспалительные реакции, протекающие на слизистых.

Данный цитокин является мощным хемоаттрактантом, привлекающим нейтрофилы в зону воспаления, играющим важную роль в регуляции местного иммунитета. Повышение местного синтеза IL-8 усиливает приток клеток, участвующих в воспалительных процессах. Это приводит к усилению защитных реакций на слизистых и способствует скорейшей элиминации патогена [4, 6]. Повышенный уровень IL-8 через 7 дней после начала терапии свидетельствует о продолжении воспалительных реакций на слизистой оболочке и после исчезновения клинических признаков воспаления.

Заключение. Установлено, что ООЧ протекает на фоне выраженной иммуносупрессии, что подтверждают профили IL-10 и результаты комплексной оценки микробицидных эффектов нейтрофилов. Незавершенность иммунновоспалительных процессов у таких больных отражают повышенные уровни IL-8 в назальных смывах на фоне отсутствия клинической симптоматики. Отсутствие достоверных различий в уровне TRAP у больных одонтогенным остеомиелитом в сравнении с группой здоровых лиц свидетельствует о том, что патогенетически заболевание не связано с нарушениями костного метаболизма.

В качестве материала для исследования местной воспалительной реакции у больных с остеомиелитом челюстей могут использоваться как слюна, так и назальные смывы.

Литература

1. Губин, М.А. Итоги изучения осложнений острой одонтогенной инфекции у стоматологических больных / М.А. Губин, Ю.М. Харитонов // Росс. стоматол. журн. – 2005. – № 1. – С. 10–15.
2. Москалёв, А.В. Лабораторные методы оценки иммунного статуса / А.В. Москалёв, В.Н. Цыган, А.В. Чечеткин // Медицинские лабораторные технологии. Руководство по клинической лабораторной диагностике. – 3-е изд., испр. доп. – Т. 2. – М.: Гэотар-Медиа, 2013. – С. 243–328.
3. Робустова, Т.Г. Новые тенденции в течении одонтогенных остеомиелитов челюстей / Т.Г. Робустова // Росс. стоматол. журн. – 2006. – № 5. – С. 32–34.
4. Соловьева, М.А. Уровень интерлейкина-8 в слезной жидкости отражает активность местного воспаления при туберкулезе глаз / М.А. Соловьева [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2011. – № 3 – С. 27–29.
5. Яременко, А.И. Лечение и профилактика инфекционно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области у пациентов старших возрастных групп (клинико-эксперим. исслед.): автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. / А.И. Яременко – СПб., 2007. – 37 с.
6. Baltensperger, M. Is primary chronic osteomyelitis a uniform disease? Proposal of a classification based on a retrospective analysis of patients treated in the past 30 years / M. Baltensperger [et al.] // J. craniomaxillofac. surg. – 2004. – Vol. 32, № 1. – P. 43–50.
7. Gutiérrez-Pérez, J.L. Orofacial infections of odontogenic origin / J.L. Gutiérrez-Pérez [et al.] // Med. oral. – 2004. – Vol. 9, № 4. – P. 280–287.
8. Heimdahl, A. Oral yeast infections in immunocompromised and seriously diseased patients / A. Heimdahl, C.E. Nord // Acta odontol. scand. – 1990. – Vol. 48, № 1. – P. 77–84.
9. Lam, D.K. Marble bone disease: a review of osteopetrosis and its oral health implications for dentists // D.K. Lam, G.K. Sándor, H.I. Holmes // J. can. dent. assoc. – 2007. – Vol. 73, № 9. – P. 839–843.

10. Lavis, J.F. Osteomyelite chronique multifocale recurrenente. A propos d'un cas de la mandibule / J.F. Lavis [et al.] // Arch. pediatr. – 2002. – Vol. 9, № 12. – P. 1252–1255.
11. Springer, I.N. A new method of monitoring osteomyelitis / I.N. Springer [et al.] // Int j. oral maxillofac. surg. – 2007. – Vol. 36, № 6. – P. 527–532.

A.V. Moskalev, A.R.M. Falsafi, N.A. Shumilova, A. I. Yaremenko, O.V. Galkina

Characteristics of individual parameters of innate and adaptive immunity in patients with odontogenic osteomyelitis of jaws

Abstract. Dynamics of the most significant laboratory indicators reflecting a condition of mechanisms of congenital both adaptive immunity and early inflammatory process is shown. It is established that at patients odontogenic by an osteomyelitis of jaws it is lowered microbicidal efficiency neutrophilic granulocytes that is a consequence of an inefficient immune inflammation. Profiles proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α), system proteins complement and anti-inflammatory IL-10 reflect expressiveness suppressive the mechanisms reducing functional activity cells of immunocompetent. The condition local immune homeostasis reflects higher level of immuno-inflammatory process, in comparison with the system. Odontogenic an osteomyelitis of jaws it is not accompanied by infringement of a bone metabolism. It is proved that for an estimation of a local homeostasis at patients odontogenic by an osteomyelitis of jaws as studied biosubstrat can be used as a saliva and nasal washouts. Thus, patients with osteomyelitis odontogenic had initial TNF- α concentration in the nasal lavage is in the range from 100 to 293 pg / ml (230 ± 67 pg/ml). 7 days after initiation of therapy levels of this cytokine decreased by more than 8 times (26 ± 12 pg/ml). The concentration of IL-8 in saliva and nasal washings from patients with osteomyelitis odontogenic admission to the clinic significantly exceed the level of this cytokine and were healthy individuals range from 56 to 1910 pg/ml (476 ± 75 pg/mL) and significantly after treatment decreased by 7–10 times and ranged from 10,5 to 400 pg/ml ($82,1 \pm 17$ pg/ml). No significant differences in the levels of IL-8 in saliva and nasal swabs in patients have been identified. Dynamics of IL-8 in nasal swabs and saliva of patients examined fully reflect the inflammatory reactions occurring on the mucous membranes.

Key words: odontogenic an osteomyelitis of jaws, phagocytosis, cytokines, proteins of system complement, immune inflammation, osteoclast, saliva, nasal washouts.

Контактный телефон: 8-921-989-17-42; e-mail: sofiaarm@yandex.ru