

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ОСТЕОМИЕЛИТА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

© 2018 г. Е. В. Попова, А. В. Костюшко, В. С. Дубов,
С. А. Милехина

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, Россия

Поступила: 14.05.2018. Принята: 21.06.2018

В статье представлена оценка системного уровня фактора некроза опухоли α , интерферона γ , интерлейкина-4, интерлейкина-10, матричной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора-1 типа у больных с посттравматическим остеомиелитом и неосложненными переломами нижней челюсти. В ходе исследования определены показатели системы про- и противовоспалительных цитокинов, свидетельствующие об их существенной роли в иммунопатогенезе посттравматического остеомиелита нижней челюсти. Выявлены дополнительные маркеры диагностики посттравматического остеомиелита нижней челюсти (ФНО α , ИФН γ , ИЛ-10), определение которых в начале терапии и в динамике ее проведения позволят наиболее персонализированно подойти к тактике ведения этой категории больных.

Ключевые слова: травма, цитокины, остеомиелит, матриксные металлопротеиназы

DOI: 10.31857/S102872210002418-4

Адрес: 690002 Владивосток, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Tel.: +79502885345, E-mail: popovavl@list.ru

Авторы:

Попова Е. В., аспирант ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Владивосток, Россия;

Костюшко А. В., к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Владивосток, Россия;

Дубов В. С., студент 6 курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Владивосток, Россия;

Милехина С. А., к.м.н., ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Владивосток, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

К системе цитокинов относятся около 200 индивидуальных полипептидных веществ. Участниками обширной цитокиновой сети, регулирующей в организме процессы пролиферации и дифференцировки как в физиологических

условиях, так и при развитии реакций воспаления и иммунной защиты на внедрение инфекционного агента, является большинство клеток организма [1–5]. Показано, что особое влияние на развитие деструктивного процесса в костях челюстей связано с бактериальной флорой ротовой полости и активацией системы врожденного иммунитета, в том числе, системы цитокинов. Цитокины запускают комплекс местных защитных реакций, вовлекают все типы клеток-эффекторов в элиминацию патогенна и восстановление целостности тканей [5].

Наличие иммуногена на мембране макрофага в сочетании с активирующими стимулами инициирует пролиферацию Th0, выработку ими TNF α , IFN γ , IL-4, -10, а также их дифференцировку. Цитокины, продуцируемые Th1, обеспечивают развитие клеточных механизмов защиты, активируя макрофаги – эффекторные клетки реакций гиперчувствительности замедленного типа, а также способствуя активации цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8⁺) через продукцию соответствующих иммуномедиаторов. Результатом действия медиаторов, синте-

зируемых Th 2, является активация В-лимфоцитов, дифференцировка их в плазматические клетки и синтез последними антител [1–5].

Особую роль в развитии и поддержании хронического воспаления играют матриксные металлопротеиназы (MMPs) — это Zn^{2+} и Ca^{2+} -зависимые эндопептидазы — ферменты катаболизма большинства белков внеклеточного матрикса на различных этапах воспалительного процесса. MMPs наряду с другими внеклеточными протеиназами способны осуществлять такие процессы как коагуляция, активация иммунного ответа, физиологическая перестройка тканей [2].

Они секретируются различными клетками: нейтрофилы, фибробласты, эпителиоциты, макрофаги, гладкомышечные клетки эндотелия сосудов, остеобласты, остеокласты и т.д. Одна и та же клетка может синтезировать разные MMP [2–4]. В последние годы к ним проявляют особое внимание ученые для понимания особенностей течения и разработки новых методов диагностики, лечения и профилактики разных заболеваний.

Целью исследования явилось изучение в сыворотке крови уровня TNF α , IFN γ , IL-4, IL-10, MMP-9 и TIMP-1 у больных с посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти и неосложненными переломами нижней челюсти.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стали 100 пациентов, находившихся на стационарном лечении в отделении челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Краевой клинической больницы № 2» г. Владивостока с октября 2015 г. по август 2017 г. На основании ретроспективного анализа, пациенты были распределены на 2 группы. В I группу были включены 50 больных (мужчины — 35 чел., женщины — 15 чел.; средний возраст 43 [33;52] года) с острым посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти. Во II группу вошли 50 пациентов с неосложненными переломами нижней челюсти (мужчины — 35, женщины — 15; средний возраст 33 [26;33] года). Группу контроля составили 30 клинически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами. Были проанализированы клинико-anamnestические, рентгенологические и лабораторные данные.

Определение уровня цитокинов и матриксной металлопротеиназы 9 типа и ее тканевого ингибитора I типа в сыворотке крови проводили с помощью специфических реактивов

фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Забор сыворотки крови производился в первые сутки госпитализации в стационар и на 10 сутки лечения. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Расчеты количества биомаркеров проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл (для цитокинов) и в нг/мл для MMP-9 и TIMP-1, в виде медианы (Me), 25% и 75% квартилей (Q25; Q75), минимального (min) и максимального (max) значения. Уровень статистической значимости, при котором отклонялись нулевые гипотезы, составлял менее 0,05. Для выявления чувствительности и специфичности изменения выбранных параметров использовали метод линейной регрессии с построением ROC-кривых в программе MedCalc.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание TNF α при поступлении в стационар в группе с острым посттравматическим остеомиелитом и неосложненными переломами нижней челюсти было достоверно выше значений группы контроля ($p < 0,001$). Известно, что TNF α регулирует иммуно-воспалительную реакцию при травмах или инфекциях, являясь главным стимулятором для нейтрофилов и эндотелиальных клеток, для их взаимодействия и дальнейшего перемещения лейкоцитов, увеличения количества фибробластов и эндотелия при заживлении раны [3–4]. Наибольшие показатели TNF α в сыворотке крови зарегистрированы у пациентов с острым посттравматическим остеомиелитом по сравнению с неосложненными травмами ($p < 0,01$). Значения IFN γ у обследованных в сыворотке крови так же превышали референсные величины. Уровень IFN γ в группе с неосложненными переломами был достоверно выше значений пациентов с посттравматическим остеомиелитом ($p < 0,05$). При оценке противовоспалительных цитокинов на первом этапе нами зафиксировано, что содержание IL-4 у пациентов с острым посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти соответствовало контрольным величинам ($p < 0,05$) и в среднем в 3 раза были ниже показателей группы с неосложненными переломами. При поступлении в стационар не выявлено достоверной разницы содержания IL-10 в сыворотке крови между обследованными группами (**таблица 1**).

Таблица 1. Показатели цитокинового профиля сыворотки крови пациентов с острым посттравматическим остеомиелитом и неосложненными переломами нижней челюсти

Показатели	Пациенты с острым посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти n=50 (I группа) Ме (Q25; Q75)		Пациенты с неосложненными переломами челюстей n=50 (II группа) Ме (Q25; Q75)		Группа контроля n=50 Ме (Q25; Q75)
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	
TNF α (пг/мл)	21,54 (17,64;23,87)***	18,54 (15,21;21,32) ***	12,35 (11,19;12,55) ***p<0,01	2,24 ↓ (1,42;3,28) ### p<0,001	1,04 (0,38;3,04)
IFN γ (пг/мл)	41,43 (32,54;45,99)***	27,34↓ (19,12;30,45) *** ###	21,56 (17,01;40,02)*** p<0,05	17,81↓ (13,1;25,60) *** ## p>0,05	10,77 (7,4;14,75)
IL-4 (пг/мл)	1,76 (1,56;3,34)	5,62↓ (3,21;6,87)* ##	8,92 (5,98;12,17)** p<0,001	5,08 ↓ (2,80;8,37)* # p>0,05	2,19 (1,77;4,78)
IL-10 (пг/мл)	19,65 (11,24;22,32)***	5,32↓ (4,21;10,32) ###	11,95 (3,65;20,62)*** p>0,05	5,76↓ (3,59;8,74) ### p>0,05	8,82 (5,28;10,61)

Примечание: Статистическая достоверность различий (p) с контрольной группой – p<0,05 – *, p<0,01 – **, p<0,001 – ***; # – p<0,05; ## – p<0,01; ### – p<0,001 – статистическая достоверность 1–10 сутки; p – 1, 2 группы обследованных.

Анализируя динамику про- и противовоспалительных цитокинов зарегистрировано наименьшее значение TNF α , IFN γ в группе с неосложненными переломами нижней челюсти по сравнению с острым посттравматическим остеомиелитом и входили в границы контрольных величин. Не выявлено достоверной разницы IL-4 между группами на 10 день, но продолжало сохраняться выше группы контроля.

Дальнейшая оценка значений исследуемых показателей была проведена методом линейной регрессии – ROC-анализом, который позволил сузить набор иммунологических маркеров посттравматического остеомиелита нижней челюсти. Метод линейной регрессии предназначен для определения чувствительности и специ-

фичности выбранных медиаторов воспаления (определенных результатами дискриминантного анализа) в сыворотке крови. Их концентрацию оценивали с помощью площади, ограниченной ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций (AUC). Известно, что чем больше AUC, тем выше вероятность предлагаемого диагностического признака.

При оценке продукции ФНО α в сыворотке крови качество линейной регрессии между группой с неосложненными переломами и острым остеомиелитом было максимальным (AUC=0,83). Определены достоверные различия ROC-кривых ИЛ-10 между группой с неосложненными переломами и с острым посттравматическим остеомиелитом (AUC=0,84, **рисунок 1**).

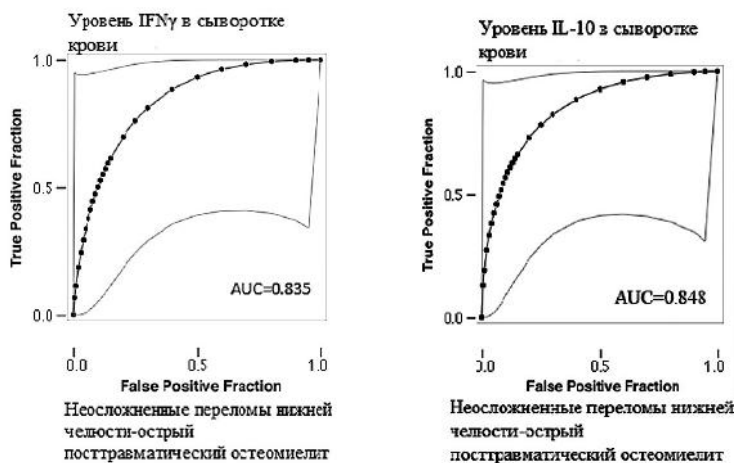


Рисунок 1. ROC-кривая оценки про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у пациентов с посттравматическим остеомиелитом в сравнении с неосложненными переломами нижней челюсти в день поступления в стационар

Таблица 2. Уровень матричных металлопротеиназ и их тканевого ингибитора сыворотки крови пациентов с острым посттравматическим остеомиелитом и неосложненными переломами нижней челюсти

Показатели (нг/мл)	Пациенты с острым посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти n=50 (I группа) Me (Q25; Q75)		Пациенты с неосложненными переломами челюстей n=50 (II группа) Me (Q25; Q75)		Группа контроля n=50 Me (Q25; Q75)
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
ММР-9	700,31 (643,21;728,12) ***	521,74 (487,21;698,43) ***	484,61 (396,4;509,15)** p<0,05	567,91 (479,33;589,50)*** p>0,05	309,61 (198,21;423,3)
ТИМР-1	314,65 (283,21;355,78) ***	309,21 (266,21;346,89) ***	280,46 (237,11;313,29)*** p>0,05	296,96 (281,67;340,22)*** p>0,05	216,36 (203,59;223,57)

Примечание: Статистическая достоверность различий (p) с контрольной группой – p<0,05 – *, p<0,01 – **, p<0,001 – ***; # – p<0,05; ## – p<0,01; ### – p<0,001 – статистическая достоверность 1–10 сутки; p – 1, 2 группа обследованных.

Показатели ММР-9 в сыворотке крови больных с острым посттравматическим остеомиелитом на первом этапе исследования в среднем в 1,5–2 раза превышали значения пациентов с неосложненными переломами. Доказано, что ММР-9 принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования ткани и репарации, мобилизации матрикс-связанных факторов роста и процессинга цитокинов [2]. Анализ ТИМР-1 у обследованных не показал существенных отличий между группами (таблица 2).

Проведя сравнительную оценку показателей матричных металлопротеиназ и их тканевого ингибитора I типа в динамике у пациентов с острым посттравматическим остеомиелитом и неосложненными переломами нижней челюсти в сыворотке крови зарегистрировано, что уровень ММР-9 в сыворотке крови на втором этапе исследования во всех анализируемых группах имел тенденцию к снижению в сравнении с первым днем, но достоверной разницы между обследуемыми группами не установлено. Показатели ТИМР-1 в анализируемых группах сохранялись выше контрольных величин и существенных различий между обследованными не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование уровней изучаемых показателей в сыворотке крови с острым посттравматическим остеомиелитом было информативным и выявило изменения их концентрации, что позволило разработать дополнительные прогностические критерии развития острого посттравматического остеомиелита нижней челюсти. Установлено, что показатели ФНОα>15 пг/мл (χ=8,8, d.f. 1 ст. свободы, p<0,05), ИФНγ>35 пг/мл

(χ=3,8, d.f. 1 ст. свободы, p<0,05), ИЛ-10>15 пг/мл (χ=5,8, d.f. 1 ст. свободы, p<0,05) могут свидетельствовать об их существенной роли в иммунопатогенезе остеомиелита и являться прогностическим критерием развития посттравматического остеомиелита нижней челюсти.

ВЫВОДЫ

Выявлены дополнительные маркеры диагностики посттравматического остеомиелита нижней челюсти (ФНОα, ИФНγ, ИЛ-10), определение которых в начале терапии и в динамике ее проведения позволят наиболее персонализированно подойти к тактике ведения этой категории больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Караулов А. В., Быков С. А., Быков А. С. Иммунология, микробиология и иммунопатология кожи: учебник. М.: Издательство БИНОМ, 2012, 328. [Karaulov A. V., Bykov S. A., Bykov A. S. Immunology, microbiology and immunopathology of the skin: a textbook. Moscow: Publishing House BINOM 2012, 328.]
2. Маркелова Е. В., Здор В. В., Романчук А. Л., Бирко О. Н. Матриксные металлопротеиназы: их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2016, № 2, 11–22. [Markelova E. V., Zdor V. V., Romanchuk A. L., Birko O. N. Matrix metalloproteinases: their relationship with the cytokine system, diagnostic and prognostic potential. Immunopathology, allergology, infectology 2016, № 2, 11–22.]
3. Попова Е. В., Фрисман Д. М., Решетникова О. Ю., Стрелкова Ю. В. Ранние иммунологические маркеры развития хронического посттравматического остеомиелита нижней челюсти. Тихоокеанский медицинский журнал 2016, № 3, 94–95. [Popova E. V., Frisman D. M., Reshetnikova O. Y., Strelkova

- va Y. V. Early immunological markers for the development of chronic posttraumatic osteomyelitis of the lower jaw. Pacific Medical Journal 2016, № 3, 94–95.]
4. Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека.— СПб: Фолиант 2018, 512. [Simbirtsev A. S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases. St. Petersburg: Folio 2018, 512.]
5. Ярилин А. А. Иммунология: учебник.— М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010, 752 с. [Yarilin A. A. Immunology: a textbook. Moscow: GEOTAR-Media, 2010, 752.]

IMMUNOLOGICAL MARKERS OF EARLY DIAGNOSTICS OF POSTTRAUMATIC OSTEOMYELITIS OF THE LOWER JAW

© 2018 E. V. Popova, A. V. Kostushko, V. S. Dubov, S. A. Milekhina

FSBEI of Higher Education «Pacific State Medical University» of the Ministry of Healthcare of Russia, Vladivostok, Russia

Received: 14.05.2018. Accepted: 21.06.2018

The article presents an assessment of the systemic level of tumor necrosis factor α , interferon γ , interleukin-4, interleukin-10, matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor-1 type in patients with posttraumatic osteomyelitis and uncomplicated mandible fractures. The study identified indicators of the system of Pro- and anti-inflammatory cytokines, indicating their significant role in the immunopathogenesis of post-traumatic osteomyelitis of the mandible. Identification of additional markers for the diagnosis of post-traumatic osteomyelitis of the mandible (TNF, IFN- γ , IL-10), the definition of which at the beginning of therapy and the dynamics of its implementation will allow for a more personalized approach to the management of this category of patients

Key words: trauma, cytokines, osteomyelitis, matrix metalloproteinases

Authors:

Popova E. V., ☒ post-graduate student of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University» of the Ministry of Healthcare of Russia, Vladivostok, Russia; 690002 Vladivostok, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University» of the Ministry of Healthcare of Russia. Phone: +79502885345, E-mail: popovavl@list.ru

Kostushko A. V., MD, associate professor of the Department of normal and pathological physiology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University» of the Ministry of Healthcare of Russia, Vladivostok, Russia;

Dubov V. S., 6th year student of the medical faculty, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University» of the Ministry of Healthcare of Russia, Vladivostok, Russia;

Milekhina S. A., Ph.D., assistant of the Department of normal and pathological physiology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University» of the Ministry of Healthcare of Russia, Vladivostok, Russia.