

УДК 616-06.001.18: 575.21:616.155.34

**ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО
ПОТЕНЦИАЛА ГРАНУЛОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ
С ОДОНТОГЕННЫМИ ИНФЕКЦИОННО-
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

**Дурагина Л. Х.¹, Гордиенко А. И.², Химич Н. В.²,
Прийма Н. В.¹, Колесник В. М.¹**

*ФГАОУ ВО «Крымский Федеральный университет
им. В. И. Вернадского» институт «Медицинская академия
им. С. И. Георгиевского» Минздрава России, кафедра стоматологии
и ортодонтии¹, кафедра нормальной физиологии человека²,
г. Симферополь, Российская Федерация.*

Цель работы – оценить диагностическую и прогностическую значимость динамики ЛПС-связывающего потенциала НГ периферической крови пациентов с одонтогенными инфекционно-воспалительными процессами.

Объекты и методы. Было проведено обследование 32 практически здоровых взрослых и 87 пациентов с одонтогенными инфекционно-воспалительными заболеваниями. Уровень специфических антиэндотоксин-связывающих рецепторов определяли методом проточной лазерной цитофлуорометрии с использованием конъюгата *E. coli* K235 ЛПС с флуоресцеинизотиоцианатом в качестве флуоресцентно меченого зонда.

Результаты. У пациентов групп 1 и 2 существенных изменений уровня ЛПС-связывающих рецепторов не наблюдали. В группе 3 во время госпитализации ЛПС-связывающий потенциал гранулоцитов был в среднем в 1,5 раза выше уровня этого показателя группы здоровых лиц. В дальнейшем, по мере применения интенсивной терапии, у пациентов с положительными результатами лечения снижался ЛПС-связывающий потенциал гранулоцитов. Однако у пациентов с неблагоприятным течением заболевания (при развитии полиорганной недостаточности) показатель не имел положительной динамики, к 10 суткам он оставался в 2,2 раза выше физиологической нормы и не проявлял тенденции к снижению.

Заключение. У пациентов с осложненным течением инфекционно-воспалительных заболеваний после операции наблюдается увеличе-

ние ЛПС-связывающего потенциала, что может быть использовано при прогнозировании развития тяжелых осложнений, сопровождающихся системной воспалительной реакцией.

Ключевые слова: инфекционно-воспалительные процессы лица и шеи; гранулоциты; рецепторы к липополисахаридам.

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE OF DETERMINING THE LIPOPOLYSACCHARIDE-BINDING POTENTIAL OF GRANULOCYTES OF PATIENTS WITH ODONTOGENIC PURULENT-INFLAMMATORY PROCESSES

Duryagina L. Ch.¹, Gordienko A. I.², Chimich N. V.²,
Prima N. V.¹, Kolesnik V. M.¹

Crimean Federal University named by V. I. Vernadsky, Institute "Medical Academy named by S. I. Georgievsky", Department of Dentistry and Orthodontics¹, Department of Normal Human Physiology², Simferopol, Russian Federation.

The aim – evaluation of the diagnostic and prognostic significance of the dynamics of the LPS-binding potential of granulocytes in peripheral blood of patients with odontogenic purulent-inflammatory processes.

Objects and methods. A survey was conducted of 32 conditionally healthy adults and 87 patients with odontogenic purulent-inflammatory diseases. The level of specific antiendotoxin-binding receptors was determined by flow laser cytofluorometry using *E. coli* K235 LPS conjugate with fluoresceiniso-thiocyanate as a fluorescently labeled probe.

Results. There were no significant changes in the level of LPS-binding receptors in patients of groups 1 and 2. In the 3rd group during hospitalization, the LPS-binding potential of granulocytes was on average 1,5 times higher than the level of this indicator in the group healthy donors. In the future, as intensive therapy was used, the LPS-binding potential of granulocytes decreased in patients with positive treatment results. However, in patients with an unfavorable course of the disease (the development of multiple organ failure), the indicator had no positive dynamics, by the 10th day it remained 2,2 times higher than the physiological norm and showed no tendency to decrease.

Conclusion. In patients with a complicated course of purulent-inflammatory diseases, an increase in LPS-binding potential is observed after sur-

gery, which can be used in predicting the development of severe complications accompanied by systemic inflammatory response.

Keywords: pyogenic processes of face and neck; granulocytes; receptors for lipopolysaccharide.

Введение. Общеизвестно, что одонтогенные инфекционно-воспалительные заболевания возникают при непосредственном участии условно-патогенных, в том числе, грамотригативных микроорганизмов. Существуют данные, подтверждающие, что липополисахарид (ЛПС) грамотригативных бактерий является мощным триггером воспалительных реакций. Помимо основного источника инфекции при инфекционно-воспалительных процессах, ЛПС в кровоток непрерывно поступает из кишечника через систему портальной вены, усугубляя и/или поддерживая системный воспалительный ответ.

У клеток неспецифического иммунитета, в том числе, нейтрофильных гранулоцитов (НГ), на цитоплазматической мембране имеется ряд молекул и надмолекулярных структур, способных связываться с микробными паттернами, включая ЛПС [4]. В результате взаимодействия происходит нейтрализация потенциально опасных молекулярных структур, или запуск каскада провоспалительных реакций, направленных на блокирование жизнедеятельности патогена [3].

На гранулоцитах специфические мембранно-ассоциированные ЛПС – связывающие рецепторы представлены CD14 (mCD14), Toll Like Receptors (TLR) и, так называемым, Scavenger receptor A (ScA). После связывания данных рецепторов с лигандом, развиваются принципиально различные события. Так, ScA – рецептор непосредственно элиминирует патогены путем их адгезии на поверхности эффекторных клеток и последующего эндоцитоза, тогда как mCD14 и TLR индуцируют каскад воспалительных реакций. Активационный сигнал mCD14 – TLR приводит к приобретению клеткой морфологии активированной, с характерным повышением синтеза ряда провоспалительных цитокинов (в частности, фактора некроза опухоли α (ФНО- α)) и ростовых факторов, дегрануляцией и индукцией кислородного взрыва, инициируя целый ряд событий, связанных с гиперпродукцией провоспалительных медиаторов, вплоть до септического шока [2].

Хотя в настоящее время выяснены многие аспекты структурно-функциональной организации клеточных ЛПС-связывающих рецепторов, их роль при различных патологических процессах во многом остается неясной. Поскольку данные рецепторы могут играть важную

роль в клиренсе эндотоксина и активации защитных реакций, их количественная оценка может иметь прогностическое значение.

Цель работы — оценить диагностическую и прогностическую значимость динамики ЛПС-связывающего потенциала НГ периферической крови пациентов с одонтогенными инфекционно-воспалительными процессами.

Объекты и методы. Проведено обследование 32 практически здоровых взрослых и 87 пациентов с одонтогенными инфекционно-воспалительными заболеваниями, не страдавшими сопутствующей хронической патологией.

Пациенты были разделены на 3 группы. В группу 1 (n=37) включены пациенты с периоститами, а также абсцессами одного поверхностного клетчаточного пространства; в группу 2 (n=34) — пациенты с флегмонами глубоких пространств, в том числе, осложнивших острый одонтогенный остеомиелит челюсти; в группу 3 (n=16) — пациенты с осложненным течением (медиастинит, сепсис) острого остеомиелита или флегмоны. В последней группе четверо пациентов погибли из-за развития септических осложнений. Во всех наблюдениях проводили первичную хирургическую обработку инфекционно-воспалительных очагов, их дренирование, удаление причинных зубов и комплексное противовоспалительное лечение.

Уровень антиэндотоксин-связывающих рецепторов (LPS-FITC) на гранулоцитах периферической крови определяли методом проточной лазерной цитофлуорометрии (PAS-III; Partec, Germany), используя в качестве флуоресцентно-меченого зонда конъюгат ЛПС *E. coli* K235 с флуоресцеинизотиоцианатом (FITC) [1].

Результаты. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Динамика уровня экспрессии ЛПС-связывающего потенциала НГ периферической крови пациентов с острыми инфекционно-воспалительными заболеваниями.

Сроки наблюдения	LPS-FITC на гранулоцитах (усл. ед.)		
	1 группа (n=37)	2 группа (n=34)	3 группа (n=16)
До операции	1,71±0,1	1,78±0,1	2,25±0,3*
1 сутки	1,52±0,08	1,88±0,04	2,0±0,1*

Продолжение таблицы 1

Сроки наблюдения	LPS-FITC на гранулоцитах (усл. ед.)		
	1 группа (n=37)	2 группа (n=34)	3 группа (n=16)
3 сутки	1,3±0,1* p<0,001; p1<0,01	1,86±0,08	1,92±0,09*
10 сутки	1,65±0,1	1,66±0,07	1,91±0,04*
Условно здоровые лица, n=32			
1,7±0,03			

Примечание: индексами p и p₁ обозначен уровень достоверности различий по отношению соответственно к группам пациентов 2 и 3 в одинаковые сроки; * – по сравнению с группой практически здоровых лиц (p<0,05).

Из представленных результатов следует, что в группе 1 перед операцией ЛПС-связывающий потенциал НГ не отличался от уровня группы контроля. На следующие сутки после хирургического вмешательства показатель несколько снижался, но к 3 суткам в среднем он был только в 1,3 раза ниже, чем в группе доноров (p<0,05). В это период клинически у пациентов отмечено значительное улучшение общего состояния и местной картины заболевания. В течение нескольких последующих суток продолжался рост показателя и к 10 суткам равновесие в системе гомеостаза полностью восстанавливалось. Возможно, что такая динамика исследуемого показателя обусловлена возникающей в первые сутки после операции транзиторной перегрузкой рецепторного аппарата гранулоцитов большими количествами микробного и тканевого детрита, молекулы которого способны блокировать ScA рецепторы, делая их недоступными для взаимодействия с флюоресцентным зондом.

У пациентов группы 2 до операции ЛПС-связывающий потенциал НГ также достоверно не отличался от нормы. После первичной хирургической обработки инфекционно-воспалительного очага, хотя состояние пациента оставалось достаточно тяжелым, способность гранулоцитов к взаимодействию с ЛПС не менялась.

В то же время в группе 3 при госпитализации ЛПС-связывающий потенциал гранулоцитов в среднем в 1,5 раза превышал уровень этого показателя в группе практически здоровых лиц. В дальнейшем, по

мере применения интенсивной терапии, у пациентов с положительными результатами лечения ЛПС-связывающий потенциал гранулоцитов снижался. Однако у лиц с неблагоприятным течением заболевания (развитием полиорганной недостаточности) показатель не имел положительной динамики, к 10 суткам оставался в 2,2 раза выше уровня физиологической нормы и не проявлял тенденции к снижению.

Использованный методический подход не позволяет идентифицировать конкретный тип клеточных рецепторов, ответственных за связывание ЛПС, и соответственно определять соотношение между уровнями экспрессии гранулоцитами ScA и CD14/TLR рецепторов. Но в настоящее время установлено, что уменьшение экспрессии ScA рецепторов существенно повышает чувствительность животных к ЛПС-индуцированному септическому шоку [3]. Можно предположить, что выявленное повышение ЛПС-связывающего потенциала НГ крови у пациентов с осложненным течением острых инфекционно-воспалительных заболеваний отражает перераспределение между типами рецепторов гранулоцитов, который проявляется в виде уменьшения уровня экспрессии ScA-R и значительного усиления уровня экспрессии TLR/CD14. В целом это приводит к увеличению ЛПС-связывающего потенциала гранулоцитов у пациентов группы 3, и к сохранению этого показателя на уровне физиологической нормы у пациентов группы 2. Возможно, что наблюдаемый эффект обусловлен изменениями цитокинового профиля у пациентов с более тяжелым течением острых инфекционно-воспалительных процессов в сторону преобладания провоспалительных цитокинов.

Ретроспективное исследование ЛПС-связывающего потенциала гранулоцитов в зависимости от исхода заболевания позволило установить его прогностическую значимость. У пациентов группы 3 появление на мембранах гранулоцитов большого числа функционально активных ЛПС-связывающих рецепторов было ассоциировано с генерализацией воспалительного процесса.

Заключение. Выявлена взаимосвязь между ЛПС-связывающим потенциалом гранулоцитов периферической крови и тяжестью патологического процесса у пациентов с острыми инфекционно-воспалительными процессами. Выяснено, что у лиц с осложненным течением заболевания наблюдается существенный рост ЛПС-связывающего потенциала, что имеет прогностическую ценность при острых инфекционно-воспалительных заболеваниях, сопровождающихся выраженным системным воспалительным ответом.

Литература.

1. Гордиенко, А. И. Улучшенный метод получения флуоресцентного зонда для определения ЛПС-связывающих рецепторов методом проточной лазерной цитофлуориметрии / А. И. Гордиенко // Таврич. мед.-биол. вестн. – 2007. – Т. 10, № 4. – С. 156–160.
2. Симбирцев, А. С. Толл – белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета / А. С. Симбирцев // Иммунология. – 2005. – № 6. – С. 368–377.
3. Janssens, S. Role of Toll-Like receptors in pathogen recognition / S. Janssens, R. Beuwaert // Clin. Microbiol. Rev. – 2003. – Vol. 16. – P. 637–646. doi: 10.1128/CMR.16.4.637-646.2003
4. Viriyakosol, S. The N-terminal half of membrane CD14 is a functional cellular lipopolysaccharid receptor / S. Viriyakosol, Tn. Kirkland // Infect. and Immun. – 1996. – Vol. 64. – P. 653–656. doi: 10.1128/iai.64.2.653-656.1996