

Клинико-иммунологический мониторинг содержания цитокинов десневой жидкости у пациентов с периимплантитом при фотодинамической терапии

Е. В. Ипполитов¹, д.м.н., проф., кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии, ведущий научный сотрудник, лаб. молекулярно-биологических исследований Научно-исследовательского медико-стоматологического института (НИМСИ)

С. Т. Ильясова^{1,2}, врач-стоматолог, отд. челюстно-лицевой хирургии, Республиканская клиническая больница, аспирант, каф. хирургической стоматологии

Г. Д. Ахмедов¹, д.м.н., проф., каф. хирургической стоматологии

А. В. Арутюнян¹, аспирант, каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии

В. Н. Царев¹, д.м.н., проф., заслуженный работник высшей школы России, директор Научно-исследовательского медико-стоматологического института (НИМСИ), зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии

¹ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Минздрава России

²ГБУ РД «Республиканская клиническая больница» Минздрава Республики Дагестан

Clinical and immunological monitoring of gingival fluid cytokines in patients with periimplantitis during photodynamic therapy

E. V. Ippolitov, S. T. Ilyasova, G. J. Akhmedov, A. V. Arutyunyan, V. N. Tsarev

Moscow State Medical and Dental University named after A. I. Evdokimov, Moscow, Russia

Резюме

Влияние ФДТ на процессы иммунитета слизистой оболочки, в частности на цитокиновый профиль, остается практически не изученным. Цель исследования: клинико-иммунологическая оценка эффективности ФДТ в комплексном лечении периимплантита на начальном этапе купирования воспалительного процесса. **Материалы и методы исследования.** В исследование были включены пациенты, обратившиеся в стоматологические учреждения Республики Дагестан и клинику кафедры хирургической стоматологии Московского государственного медицинского университета в возрасте от 20 до 49 лет с диагнозом периимплантит, всего 61 человек. 33 пациента получали АБТ (основная группа 1), 28 пациентов – ФДТ (основная группа 2). Контрольную группу составили 76 пациентов со стабильными имплантатами без признаков воспаления или пародонтита (интактный периодонт). Концентрацию цитокинов TNF, IL-1 β , IL-6 и IL-17A в ротовой жидкости определяли методом ИФА дважды с использованием анализатора INFINITE F50 (TECAN, Австрия) и тест-систем (вектор-Бест, Новосибирск, Россия). **Результаты.** Выявлены различия в состоянии цитокинового профиля при АБТ (амоксциллин/клавуланат натрия по 825/125 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней) и ФДТ (аппарат Фотосан 350, фотосенсибилизатор толуидиновый синий: 4 сеанса через 1 день по 40 с). Максимальный цитокиновый ответ наблюдался при оценке IL-1 β (137–139 пг/мл) и IL-17A (161–172 пг/мл). Через 1 месяц были выявлены статистически значимые различия между группами больных периимплантитом, получавших различные варианты лечения. Уровень ФНО- α снизился в 2,5 раза и соответствовал норме в случае ФДТ, но при АБТ он оставался достоверно выше, хотя мы также наблюдали тенденцию к снижению. Уровень ИЛ-17A показал статистически значимое снижение при ФДТ, в то время как при АБТ это снижение не было достоверным. Через 3 месяца после лечения в обеих сравниваемых группах наблюдалась полная нормализация уровней ФНО- α , ИЛ-6 и ИЛ-17A, за исключением ИЛ-1 β , который оставался повышенным: в 8,6 раза при ФДТ и в 25 раз при АБТ. **Вывод.** Цитокиновый профиль десневой жидкости при периимплантите является важным диагностическим маркером тяжести воспаления, который позволяет подтвердить наличие периимплантита и прогнозировать его течение. Содержание ИЛ-1 β и ИЛ-17A отражает тяжесть течения процесса. Восстановление нормального уровня ИЛ-1 β происходит медленнее, чем ИЛ-17A.

Ключевые слова: периимплантит, цитокиновый профиль, фотодинамическая терапия.

Abstract

The effect of FDT on the processes of mucosal immunity, in particular, the cytokine profile, remains practically unstudied. Objective: clinical and immunological assessment of the effectiveness of FDT in the complex treatment of periimplantitis at the initial stage of the relief of the inflammatory process. **Materials and research methods.** The study included patients who contacted the dental institutions of the Republic of Dagestan and the clinic of the Department of Surgical Dentistry of Moscow State Medical University aged 20 to 49 years with a diagnosis of periimplantitis, a total of 61 people. 33 patients received the ABT (the main group 1), 28 patients received the PDT (the main group 2). The control group consisted of 76 patients with stable implants without signs of inflammation or periodontitis (intact periodontium). The concentration of cytokines TNF, IL-1 β , IL-6, and IL-17A in the oral fluid was determined by ELISA twice using the INFINITE F50 analyzer (TECAN, Austria) and test systems (Vector-Best, Novosibirsk, Russia). **Results.** Differences in the state of the cytokine profile in ABT (amoxicillin / sodium clavulanate at 825/125 mg 2 times a day for 7 days) and PDT (FotoSan 350 apparatus, photosensitizer toluidine blue: 4 sessions every 1 day for 40 sec) were found. The maximum cytokine response was observed in the evaluation of IL-1 β (137–139 pg/ml) and IL-17A (161–172 pg/ml). After 1 month, statistically significant differences were revealed between the groups of patients with periimplantitis receiving different treatment options. The level of TNF- α decreased by 2.5 times and corresponded to the norm in the case of PDT, but with ABT it remained significantly higher, although we also observed a downward trend. The level of IL-17A showed a statistically significant decrease in PDT, while in ABT, the decrease was not significant. 3 months after treatment, complete normalization of the levels of TNF- α , IL-6 and IL-17A was observed in both compared groups, with the exception of IL-1 β , which remained elevated: 8.6 times with PDT and 25 times with ABT. **Conclusion.** The cytokine profile of gingival fluid in periimplantitis is an important diagnostic marker for the severity of inflammation, which can confirm the presence of periimplantitis and predict the course. The content of IL-1 β and IL-17A reflects the severity of the process. Restoring normal levels of IL-1 β is slower than IL-17A.

Key words: periimplantitis, cytokine profile, photodynamic therapy.

Задачами лечения периимплантитов и мукозитов являются: устранение инфекционного очага после проведения первичных мероприятий, коррекция биомеханической нагрузки на дентальный имплантат, предупреждение прогрессирования убыли костной ткани, реконструкция дефектов и создание благоприятных условий для проведения гигиены и восстановления микроциркуляции в пародонте [1, 2, 3, 4].

Важным компонентом комплексного лечения по данным ряда исследований является эрадикация пародонтопатогенной микробиоты из микробной биопленки периимплантационной зоны с использованием различных антимикробных воздействий – антибактериальной химиотерапии или фотодинамической терапии [5, 6, 7, 8]. Если эффективность антибактериальной терапии можно считать вполне обоснованной, то в отношении фотодинамической терапии имеются лишь отдельные экспериментальные и клинические исследования, показавших возможность санации имплантационной зоны с помощью фотосенсибилизаторов толлония хлорид и фотодитазин, показавших возможность эрадикации представителей пародонтопатогенной микробиоты, а также и дрожжевых грибов *Candida* [5]. Однако, механизм воздействия на иммунные процессы, процессы регенерации и остеоинтеграции при дентальной имплантации, который реализуется через цитокиновую сеть мукозального иммунитета, до настоящего времени изучен недостаточно, а имеющиеся данные очень противоречивы [7, 8, 9]. По данным последних работ отечественных авторов основную роль в развитии осложнений могут играть провоспалительные цитокины – IL-1 β , IL-6, которые следует рассматривать, как прогностически значимые критерии нормализации воспалительного процесса [5, 8].

Целью нашего исследования являлась лабораторная клиничко-иммунологическая оценка эффективности фотодинамической терапии при комплексном лечении периимплантита на начальном этапе купирования воспалительного процесса.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены пациенты, обратившиеся в стоматологические учреждения Республики Дагестан и клинику кафедры хирургической стоматологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова в возрасте от 20 до 49 лет с диагнозом периимплантит, всего 61 человек обоего пола. Из исследования были исключены пациенты, обратившиеся с запущенными случаями периимплантита с необходимостью удаления имплантата). Все отобранные для исследования пациенты подписывали информированное согласие на выбор варианта лечения: антибактериальная химиотерапия (АБТ) или фотодинамическая терапия (ФДТ). АБТ (1 основная группа) получали 33 пациента, ФДТ (2 основная группа) – 28 пациентов. Антибактериальные препараты системного действия назначали с учетом чувствительности к антибиотикам – во всех случаях это был амоксициллин/клавуланат натрия (825/125 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней). Фотодинамическую терапию проводили фотодиодным аппаратом импульсного действия

FotoSan 350 с фотосенсибилизатором толуидиновый синий (4 сеанса через 1 день по 40 с на перимплантационную область). Контрольную группу составили 76 пациентов со стабильными имплантатами без признаков воспаления или пародонтита (интактным пародонтом). Исследование одобрено межвузовским этическим комитетом г. Москвы.

Одновременно с этапными исследованиями динамики клинического состояния зоны патологического процесса (периимплантит) в нашей работе проводилось исследование цитокинового профиля десневой (периимплантационной) жидкости. Для проведения исследования ротовую жидкость собирали в стерильные пробирки у каждого пациента дважды: до начала ФДТ и на 1–3 день после окончания курса лечения в основных группах с перимплантитом и мукозитом и однократно – в контрольной группе со стабильными имплантатами. Концентрацию цитокинов TNF, IL-1 β , IL-6, и IL-17A в ротовой жидкости определяли методом ИФА с использованием анализатора INFINITE F50 (TECAN, Австрия) и тест-систем, произведенных ООО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия).

Алгоритм лечения периимплантита включал: снятие/чистку ортопедических супраконструкций и ревизию зон возможных нарушений, супра- и субгингивальную чистку поверхностей с удалением эпителия карманов и грануляционной ткани, местную аппликацию дезинфицирующих средств, назначение полосканий: 0,05 % раствора хлоргексидина биглюконата 3–4 раза в день на протяжении 5–7 суток, инструктаж проведения гигиены полости рта.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием параметрического t-критерия Стьюдента с определением вероятности различий для сравниваемых групп для $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

В табл. 1 представлены сравнительные результаты мониторинга цитокинового профиля у пациентов контрольной группы со стабильными имплантатами ($n=76$) и периимплантитом ($n=61$). Последние были разделены на 2 группы: пациенты получавшие сеансы ФДТ (основная группа – 28 пациентов) и курс антибактериальной химиотерапии (группа сравнения – 33 пациента). Динамика изменений прослеживалась трехкратно: до начала курса лечения, через 1 и 3 месяца после завершения, так как у большинства пациентов показатели нормализовались (и средние величины также).

Как видно из представленных данных, цитокин TNF- α , известный как сигнальный маркер воспаления, соответствовал норме в контрольной группе со стабильными имплантатами без признаков воспаления (0,8 пкг/мл), но был статистически достоверно повышен (2,89–2,92 пкг/мл) у пациентов с периимплантитом до начала лечения. При этом разницы между сравниваемыми группами с ФДТ и АБТ не отмечено, что говорит об однородности групп. Аналогичные результаты получены для других провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6, IL-17A. Причем, наиболее выраженный цитокиновый ответ и разброс данных отмечен в нашем исследовании при оценке цитокинов IL-1 β (137–129 пкг/мл) и IL-17A (161–172 пкг/мл).

Таблица 1. Цитокиновый профиль пациентов с периимплантитами в зависимости от варианта лечения, пг/мл

Группы сравнения/ Цитокины	Исходные параметры до начала лечения			t-критерий Стьюдента; достоверность для групп, p < 0,05
	Стабильные имплантаты, n = 76 (1)	Периимплантит с ФДТ, n = 28 (2)	Периимплантитс АБТ, n = 33 (3)	
TNF-α	0,8 ± 0,5	2,89 ± 0,4	2,92 ± 0,5	t=3,26; P2/1<0,001 t=3,00; P3/1<0,003 t=0,05; P3/2=0,962
IL-1β	3,8 ± 1,5	137,6 ± 21,3	129 ± 29,6	t=6,27; P2/1<0,000 t=4,22; P3/1<0,000 t=0,24; P3/2=0,814
IL-6	3,7 ± 0,9	8,7 ± 1,3	7,6 ± 1,5	t=3,16; P2/1<0,002 t=2,23; P3/1<0,028 t=0,55; P3/2=0,582
IL-17A	27,2 ± 15,3	161,4 ± 59,7	172,6 ± 61,8	t=2,18; P2/1<0,032 t=2,28; P3/1<0,024 t=0,13; P3/2=0,897
Параметры через 1 мес. после лечения				
TNF-α	0,8 ± 0,3	1,2 ± 0,3	2,3 ± 0,4	t=0,94; P2/1=0,348 t=3,00; P3/1<0,003 t=2,20; P3/2<0,032
IL-1β	3,8 ± 1,5	55,6 ± 11,1	112,4 ± 23,7	t=4,62; P2/1<0,000 t=4,57; P3/1<0,000 t=2,17; P3/2<0,034
IL-6	3,7 ± 0,9	3,5 ± 1,1	7,9 ± 1,9	t=0,14; P2/1=0,888 t=2,00; P3/1<0,048 t=2,00; P3/2>0,049
IL-17 A	27,2 ± 15,3	55,1 ± 13,4	84,9 ± 18,3	t=1,37; P2/1=0,173 t=2,42; P3/1<0,017 t=1,31; P3/2=0,194
Параметры через 3 мес. после лечения				
TNF-α	0,8 ± 0,5	0,6 ± 0,4	1,5 ± 0,7	t=0,31; P2/1=0,755 t=0,81; P3/1=0,418 t=1,12; P3/2=0,269
IL-1β	3,8 ± 1,5	32,8 ± 12,6	96,2 ± 18,4	t=2,29; P2/1<0,024 t=5,01; P3/1<0,000 t=2,84; P3/2<0,006
IL-6	3,7 ± 0,9	3,1 ± 0,4	3,4 ± 0,5	t=0,61; P2/1=0,544 t=0,29; P3/1=0,771 t=0,47; P3/2=0,641
IL-17A	27,2 ± 15,3	33,2 ± 11,8	42,7 ± 17,1	t=0,31; P2/1=0,757 t=0,68; P3/1=0,501 t=0,46; P3/2=0,649

Через 1 месяц выявляли статистически достоверные различия не только по сравнению с контрольной группой пациентов со стабильными имплантатами, но и между группами пациентов с периимплантитом, получавшим разные варианты лечения (ФДТ, АБТ). Так, уровень TNF-α снизился в 2,5 раза и соответствовал норме в случае проведения ФДТ, но при антибиотикотерапии оставался достоверно выше, хотя тенденция к снижению наблюдалась также (на 25 %). Аналогичная тенденция отмечена для IL-6, который нормализовался полностью при ФДТ, но оставался повышенным в группе с АБТ. Уровень IL-1β существенно понижался, но не достигал нормы, причем при ФДТ он снизился в 2 раза больше, чем при антибиотикотерапии. Уровень IL-17 A дал статистически значимое снижение в при ФДТ, но остался повышенным, а при антибиотикотерапии снижение было недостоверным.

Через 3 месяца после лечения отмечалась полная нормализация уровня TNF-α, для IL-6 и IL-17 A в обоих сравниваемых группах, однако IL-1β при значительном снижении все-таки оставался повышенным: в 8,6 раза при ФДТ и в 25 раз при антибиотикотерапии.

Таким образом, в нашем исследовании получены новые данные о динамике цитокинов в условиях традиционной схемы антибактериальной (амоксциллин/клавулат натрия по 825/125 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней) и фотодинамической терапии пациентов с периимплантитами. Динамику этих различий демонстрируют диаграммы на рис. 1–4, которые отражают более благоприятные тенденции при применении фотодинамической терапии.

В первых исследованиях, касающихся роли секреторных факторов иммунитета в развитии периимплантита установлена диагностическая и прогностическая роль некоторых цитокинов, преимущественно провоспалительного характера [6]. Примерно в этот же период времени было показано, что интенсивность цитокинового ответа при пародонтите имеет популяционные различия, в частности, она существенно выше у коренного населения Дагестана по сравнению с жителями Московского региона [11]. В нашем исследовании представлены усредненные данные, полученные также в обоих регионах, но уже при периимплантите. Однако следует отметить, что данная

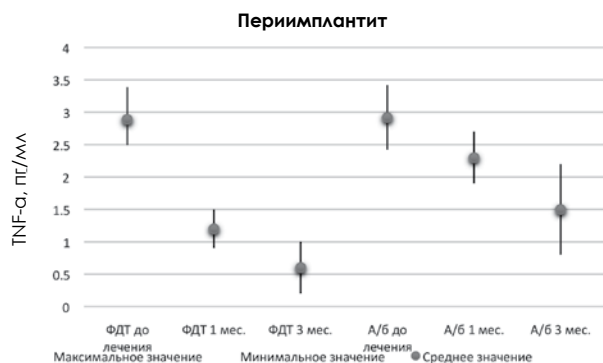


Рисунок 1. Динамика содержания TNF-α у пациентов с периимплантитом при различных вариантах лечения, пг/мл

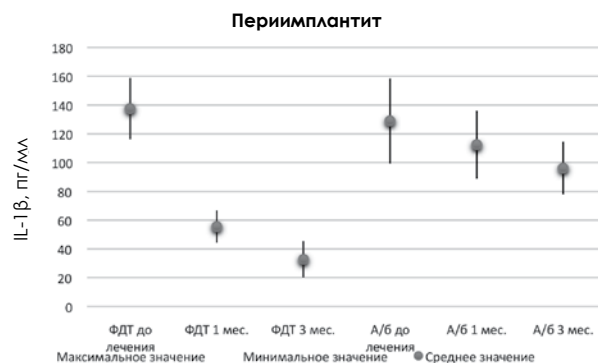


Рисунок 2. Динамика содержания IL-1β у пациентов с периимплантитом при различных вариантах лечения, пг/мл

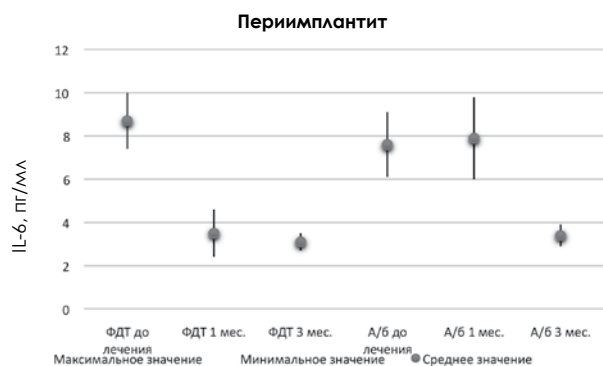


Рисунок 3. Динамика содержания IL-6 у пациентов с периимплантитом при различных вариантах лечения, пг/мл

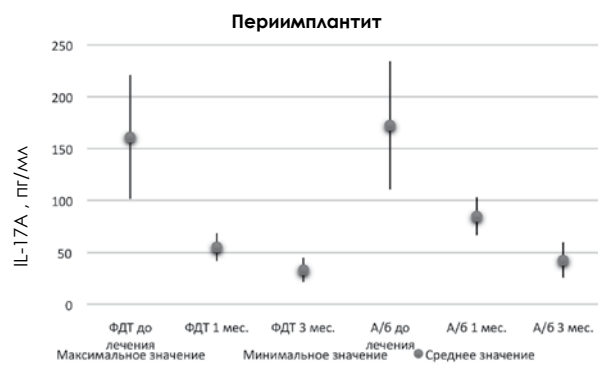


Рисунок 4. Динамика содержания IL-17A у пациентов с периимплантитом при различных вариантах лечения, пг/мл

тенденция при персонифицированном анализе цитокинового ответа при периимплантите в целом подтвердилась.

Таким образом, представленные результаты статистического анализа, отраженные на диаграммах, позволяют сделать заключение, что при периимплантите «работают» все рассмотренные нами цитокины, что имеет важное дифференциально-диагностическое и прогностическое значение.

Заключение

В результате проведенного исследования можно констатировать, что цитокиновый профиль десневой жидкости при воспалительных осложнениях дентальной имплантации (периимплантите) является важным диагностическим маркером выраженности воспаления, который позволяет подтвердить наличие периимплантита. Причем для цитокинов IL-1β и IL-17 A степень повышения отражает тяжесть процесса. Восстановление нормального уровня IL-1β происходит медленнее, чем IL-17 A. Сравнение эффективности разных вариантов антимикробной терапии по клинко-иммунологическим параметрам позволило установить, что ФДТ оказывает более благоприятное воздействие на цитокиновый профиль по сравнению с традиционной антибактериальной терапией, и этот факт, в свою очередь позволяет считать ФДТ эффективным и рациональным методом профилактики и лечения воспалительных осложнений дентальной имплантации.

Для цитирования: Ипполитов Е.В., Ильясова С.Т., Ахмедов Г.Д., Арутюнян А.В., Царев В.Н. Клинико-иммунологический мониторинг содержания цитокинов десневой жидкости у пациентов с периимплантитом при фотодинамической терапии. Медицинский алфавит. 2020;(12):15-18. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-12-15-18>

Список литературы

1. Аверьянов С. В., Гуляева О. А. Повышение эффективности консервативного лечения воспалительных осложнений после дентальной имплантации. *Стоматология*. 2017 (96) № 6-2:20-20.
2. Андреева В. В., Галиева Э. И. Диагностика и лечение периимплантита. *Актуальные вопросы стоматологии*. 2018:10-14.
3. Балмасов Р. С., Дюмеев Р. М., Галиева Э. И. Лечение и профилактика периимплантита. *Актуальные вопросы стоматологии*. 2018:29-32.
4. Лабутова А. В. и др. Нозологический статус хронического периимплантита: синдром или болезнь? *Пародонтология*. 2019 (24) № 4:15-21.
5. Кузнецов К.В. Оптимизация подготовки пациентов к амбулаторным хирургическим операциям и контроль эффективности лечения в послеоперационном периоде. Автореф. дисс. к.м.н. М., МГМСУ, 2019, 24с.
6. Николаева Е.Н., Царев В.Н., Панин А.М., Чувилкин В.И., Ипполитов Е.В., Хитаршвили М.В., Царева Т.В. Экспрессия цитокинов в зубодесневой борозде у больных периимплантитом. *Dental Forum*. 2012. № 2. С. 5-9.
7. Царев В.Н. Микробиология, вирусология, иммунология полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 720с. DOI: 10-33029-9704-5055-0-MVI-2019-1-720-ISBN 978-5-9704-5055-0.
8. Янушевич О.О., Ахмедов Г.Д., Панин А.М., Арутюнов С.Д., Царев В.Н. Микроэкология полости рта и инфекционно-воспалительные осложнения в хирургической стоматологии (монография). М.: Практическая медицина, 2019. 192с.
9. Kröger A. et al. The severity of human peri-implantitis lesions correlates with the level of submucosal microbial dysbiosis. *Journal of clinical periodontology*. 2018 (45) №12:1498-1509.
10. Kumar P. S. et al. Pyrosequencing reveals unique microbial signatures associated with healthy and failing dental implants. *Journal of clinical periodontology*. 2012(39) №5:425-433.
11. Ипполитов Е.В., Азизова А.С., Ахмедов Г.Д., Коробова Е.В. Различия цитокинового ответа у жителей Дагестана и московского региона при развитии хронического пародонтита. *Медицинский алфавит. Стоматология*. 2012. Т. 4. № 19. С. 25-29.

For citation: Ippolitov E.V., Ilyasova S.T., Akhmedov G.J., Arutyunyan A.V., Tsarev V.N. Clinical and immunological monitoring of gingival fluid cytokines in patients with periimplantitis during photodynamic therapy. *Medical alphabet*. 2020; (12):15-18. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-12-15-18>