مقایسه سطح IL-23 در مایع شیار لثه‌ای بیماران مبتلا به التهاب اطراف ایمپلنت با افراد دارای بافت پری ایمپلنت سالم

وحید اصفهانیان[۱]، شیرین زهرا فرهاد[۱]، محمد بختیاری[۲*]، مونا فیض الهی آلمالو[۳]

[۱]استادیار گروه پریودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

[۲]دستیار تخصصی گروه پریودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

[۳]دندانپزشک، اصفهان، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۹۶/۱۰/۱۳ – تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۲۴

Comparison of of Interleukin 23 Level in Gingival Crevicular Fluid between Peri-implantitis and Healthy Patients

Vahid Esfahanian[1], Shirin Zahra Farhad[1], Mohammad Bakhtiari[2*], Mona Feyzollahi Almaloo[3]

[1]Assistant Professor, Department Of Periodontics, Faculty Of Dentistry, Isfahan (Khorasgan), Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

[2]Postgraduate Student, Department Of Periodontics, Faculty Of Dentistry, Isfahan (Khorasgan), Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

[3]Dentist, Isfahan, Iran

Received: 3 January 2018; Accepted: 15 March 2018

Introduction: Peri-implantitis is characterized by irreversible lesions that are caused by microbial plaque, involving not only the soft tissue around the implant, but also the implant-supporting bone. In the peri-implant diseases, some cytokines are increased, and inflammatory mediators, which are observed in peri-implantitis, induce the activation of osteoclasts and bone resorption. The aim of this study was to compare the level of interleukin 23 (IL-23) in patients with peri-implantitis and those with healthy peri-implant tissue.

Materials & methods: This clinical trial was conducted on 19 patients with peri-implantitis and 19 patients with healthy peri-implant tissue. The samples were collected from sulcular fluid/gingival pocket fluid by paper cone and placed in vials. The level of IL-23 was determined using ELISA reader. Furthermore, the relationship of IL-23 levels with bleeding, probing depth, and pus formation was analyzed. Data analysis was performed using independent t-test, Pearson correlation coefficient, and Spearman test.

Results: According to the results, the level of IL-23 in the patients with peri-implantitis was significantly higher than that in the group with healthy peri-implant tissue ($P<0.001$). Furthermore, the level of IL-23 showed a direct relationship with probing depth ($P=0.008$), bleeding on probing ($P=0.01$), and pus formation ($P<0.001$) in the patient group.

Conclusion: As the findings indicated, the amount of IL-23 in the gingival fluid of the patients with peri-impinitis was higher than that of the healthy subjects. Probing depth, bleeding, and pus formation are directly associated with IL-23. Therefore, the evaluation of IL-23 level can be used in the diagnosis of peri-implantitis.

Keywords: Implant, Peri-implantitis, Crevicular fluid, Interleukin.

***Corresponding Author: mhdbakhtiari66@yahoo.com**

J Mash Dent Sch 2018; 42(2): 115-20.

چکیده

مقدمه: پری ایمپلنتیت ضایعه التهابی غیرقابل برگشتی است که به وسیله پلاک میکروبی ایجاد شده و در آن علاوه بر نسج نرم اطراف ایمپلنت، استخوان حمایت‌کننده آن نیز درگیر می باشد. تعدادی از سیتوکینها در بیماریهای اطراف ایمپلنت افزایش می یابد و مدیاتورهای التهابی که معمولاً در پری‌ایمپلنتیت ردیابی می شوند، سبب فعال شدن استئوکلاستها و تحلیل استخوان می‌گردند. هدف از این مطالعه، مقایسه سطح IL-23 در بیماران دارای پری-ایمپلنتیت و افراد دارای بافت پری ایمپلنت سالم بود.

---

* مولف مسؤول، نشانی: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان، واحد خوراسگان، گروه پریودانتیکس، تلفن: ۰۳۱-۳۵۰۰۰۲۱۴۱

E-mail: mhdbakhtiari66@yahoo.com

مواد و روشها: در این مطالعه بالینی، ۱۹ بیمار دارای پری‌ایمپلنت و ۱۹ بیمار دارای بافت پری ایمپلنت سالم انتخاب شدند. از مایع شیار لثه ای سالکوس (پاکت ایمپلنت) بیماران توسط کن کاغذی نمونه گیری شد. نمونه ها داخل ویالهای ترانسفر قرار داده شد و در آزمایشگاه توسط دستگاه الایزاریدر مقدار IL-23 آنها مشخص شد. همچنین رابطه میزان خونریزی و عمق پروبینگ و تشکیل چرک با سطح IL-23 نیز بررسی شد. داده ها توسط آزمونهای t مستقل، ضریب همبستگی پیرسون و اسپیرمن مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته ها: میزان سطح IL-23 در بیماران پری ایمپلنتیت به طور معناداری بیشتر از افراد دارای بافت پری- ایمپلنت سالم بود. (P <۰/۰۰۱). بین مقدار IL-23 با عمق پروبینگ (P =۰/۰۰۸)، میزان خونریزی (P =۰/۰۱) و تشکیل چرک (P <۰/۰۰۱) در گروه بیمار رابطه مستقیم و معناداری وجود داشت.

نتیجه گیری: میزان IL-23 در مایع شیار لثه ای افراد مبتلا به پری-ایمپلنتیت نسبت به افراد سالم بالاتر است. عمق پاکت، میزان خونریزی و ترشح چرک با IL-23 رابطه مستقیم دارند. بنابرین شاید بررسی سطح IL-23 بتواند در تشخیص پری ایمپلنتیت یا سیر آن مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: اینترلوکین، ایمپلنت، پری ایمپلنتیت، مایع شیار لثه ای.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۷ دوره ۴۲ / شماره ۲ : ۲۰-۱۱۵ .

مقدمه

امروزه با پیشرفت علم ایمپلنتولوژی ایمپلنتهای استئواینتگره شده دوام قابل توجهی دارند، اما همچون هر شیوه درمانی دیگر روند عوارض و پیامدهای نامطلوب بخش جدایی‌ناپذیر این درمان می باشد. از بین این عوارض، التهاب و عفونتهای اطراف ایمپلنت دارای اهمیت و حساسیت بیشتری است. پری ایمپلنتیت ضایعه التهابی غیرقابل برگشتی است که به وسیله پلاک میکروبی ایجاد شده و در آن علاوه بر نسج نرم اطراف ایمپلنت، استخوان حمایت‌کننده آن نیز درگیر می باشد.[۱] مهمترین عامل در پاتوژنز پری ایمپلنتیت تجمع پلاک میکروبی می باشد.[۲] که با ادم، اریتم، ترشح چرک، درد، عمق پروبینگ بیش از ٤ میلیمتر، خونریزی حین پرابینگ، رایولوسنسی اطراف ایمپلنت و تحلیل پیشرونده استخوان مشخص می شود.[۳] با حضور بیوفیلم باکتریال، سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی بدن فعال شده و به دنبال آن تولید و ترشح واسطه‌های التهابی با اهداف محافظتی آغاز می شود ولی آسیبهای بافتی به دنبال دارد. حضور و عملکرد بسیاری از مدیاتورهای التهابی در بیماریهای پریودنتال به اثبات رسیده اما به دلیل پیچیدگی شبکه ای واسطه ها و همپوشانی در عملکردشان کماکان مطالعات بر روی آنها ادامه دارد.[۲]

در بیماریهای پریودنتال، در پاسخ به حمله باکتریایی به نسوج پریودنشیوم، سیگنالهای سیتوکاینی منتشر می‌شوند که پاسخهای ایمنی را افزایش داده و به صورت اساسی در تنظیم پاسخهای التهابی- ایمنی و مبارزه با عفونتها موثر خواهد بود[۵] سایتوکینها که مهمترین مدیاتورهای التهابی هستند، توسط بسیاری از سلولهای درگیر در سیستم ایمنی ترشح می شوند و نقش کلیدی در ارتباطات بین سلولی و پاتوژنز بیماریهای پریودنتال ایفا می‌کنند.[٦] سیتوکینهای پیش‌التهابی در پاسخ به باکتریهای پریوپاتوژن و محصولات آنها ساخته شده و باعث پاسخ التهابی در پریودنشیم می شوند که محرک تحلیل استخوان و القاء پروتئازهای تجزیه کننده بافتی هستند.[۷] تعدادی از سیتوکینها در بیماریهای اطراف ایمپلنت (موکوزیت و پری‌ایمپلنتیت) افزایش می‌یابد.[۸] و مدیاتورهای التهابی که معمولاً در پری‌ایمپلنتیت ردیابی می‌شوند، سبب فعال شدن استئوکلاستها و تحلیل استخوان می گردند.[۹]

IL-23 یکی از سیتوکینهایی است که نقش منحصر به فردی در تمایز سلولهای *T cell* دارد.[۱۰] همچنین *IL-23* در بیماریهای التهابی مختلفی نقش دارد که در بیماریهای دهان نیز دیده شده است.[۱۱]

Fang و همکاران[۱۲] در مطالعه خود، تاثیر *IL-23* در پاتوژنز پریودنتیت را مثبت ارزیابی کردند *Lau* و همکاران[۱۳] در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که *IL-23* و *IL-22* در بیماران پری‌ایمپلنتیت افزایش چشمگیری داشته است.

با توجه به معدود بودن مطالعات در بررسی ارتباط اینترلوکین *-23* با پیشرفت بیماری پری‌ایمپلنتیت و با توجه به اینکه اینترلوکین-۲۳، از جمله سیتوکینهای جدید می باشد، هدف از این مطالعه تعیین سطح IL-23 در افراد دارای بافت پری ایمپلنت سالم و افراد دارای پری ایمپلنتیت و رابطه آن با متغیرهای بیماری بود.

مواد و روشها

در این مطالعه بالینی، ۱۹ بیمار ٦٥-۲۵ ساله مبتلا به پری ایمپلنتیت و ۱۹ بیمار دارای بافت پری‌ایمپلنت سالم انتخاب شدند. بیماران مبتلا دارای پاکت بیشتر از ٤ میلیمتر و تحلیل رادیوگرافیک استخوان همراه با علائم التهاب بافت نرم بودند. بیماران مبتلا به بیماریهای خاص، مصرف‌کننده داروهای خاص، بیمارانی که تحت درمانهای پریو در یک سال گذشته یا درمان با آنتی بیوتیکهای وسیع الطیف در ٦ ماه گذشته قرار گرفته بودند، بیماران سیگاری، الکلی، زنان باردار و شیرده از مطالعه خارج شدند.

بعد از بررسی شرایط کلینیکی بیمار، از مایع شیار لثه‌ای سالکوس (پاکت ایمپلنت) پس از ایزوله کردن آن از بزاق با قرار دادن کن کاغذی در مدخل سالکوس به مدت ۲ دقیقه نمونه گیری شد. سپس نمونه‌ها داخل ویالهای ترانسفر قرار داده شده و با حفظ زنجیره سرد ۲-۵ درجه سانتیگراد سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های استاندارد با قرار دادن حجم دلخواه از IL-23 در هر چاهک کیت (R&D Systems ELISA kits, USA) ساخته شد. همچنین برای کنترل میزان دقت آزمایش از کنترلها که با میزان اینترلوکین مشخص توسط کارخانه ارائه شده استفاده شد و در بقیه بخشهای کیت نمونه‌های بیماران قرار داده شدند. در هر بخش میزان ۱۰۰µl از هر نمونه قرار داده سپس به آن کونژوگه افزوده شد که به IL- 23 متصل می شد. سپس ظروف کاملا شسته شده و تمام مواد از آن خارج شد و تنها IL-23 به ظرف متصل می ماند. بعد از عمل شستشو، ماده رنگی به آن اضافه شد که نسبت به غلظت اینترلوکین متفاوت بود و برای پایان پروسه رنگ‌آمیزی از محلول Stop (آب مقطر) استفاده گردید. نمونه‌ها پس از شماره‌گذاری در دستگاه الایزا ریدر (eBioscience,Germany) قرار داده شدند.

در هنگام خوانش دستگاه در مقایسه مقادیر استاندارد و نمونه ها، مقادیر نمونه توسط دستگاه محاسبه گردید به این صورت که چون غلظت استانداردها مشخص بود، دستگاه خوانش غلظتها را بر اساس عبور نور در طول موج ٤٥٠ nm با هم مقایسه کرده و غلظت نمونه‌های مجهول را مشخص کرد. تشکیل چرک از طریق مشاهده بررسی شد. بدین گونه که بعد از ایزولاسیون و خشک کردن اطراف ایمپلنت، در صورتی که هیچ چرکی اطراف ایمپلنت مشاهده نشد (-)، مقدار کمی چرک (+) و مقدار زیادی چرک (++) علامت گذاری شد.

عمق پروبینگ نیز با استفاده از نفوذ اپیکالی پروب پریودنتال ویلیامز (شرکت جویا الکترونیک، تهران، ایران) با نیروی ملایم و مقاومت کم بافت به

داخل پاکت اندازه گیری شد که برای همه سطوح اطراف ایمپلنت (در شش سطح مزیو باکال، میدباکال، دیستوباکال، مزیولینگوال، مدیولینگوال دیستولینگوال) انجام شد. برای ایمپلنتهای دارای پری ایمپلنتیت، سطحی که دارای عمیقترین پاکت بود یادداشت و نمونه‌گیری شد.

بعد از ایزولاسیون و خشک کردن اطراف ایمپلنت، پروب پریودنتال در حالی که با دیواره سالکوس تماس داشت به آرامی وارد بافت اطراف ایمپلنت گردید و در جهات افقی حرکت داده شد. میزان خونریزی به مدت ۱۵ ثانیه، به عنوان سطح دارای خونریزی در نظر گرفته شد. میزان خونریزی از طریق تقسیم مجموع محلهای خونریزی اطراف هر ایمپلنت بر مجموع سطوح ارزیابی شده مشخص شد. داده های بدست آمده توسط آزمونهای آماری *t* مستقل، ضریب همبستگی پیرسون واسپیرمن و نرم افزار *SPSS-20* تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

میانگین IL-23 در افراد مبتلا به پری ایمپلنتیت به طور معناداری بیشتر از افراد دارای بافت پری- ایمپلنت سالم بود (P-value<۰/۰۰۱). (جدول۱) میانگین عمق پروبینگ در گروه مبتلا به پری ایمپلنتیت به طور معناداری بیشتر از افراد دارای بافت پری‌ایمپلنت سالم بود. (P-value<۰/۰۰۱) (جدول ۱) ۱۵/۸ درصد (۳ نفر) از افراد گروه بیمار بدون ترشح چرک، ۳٦/۸ درصد (۷ نفر) ترشح چرک کم (+) و ٤۷/٤ درصد (۹ نفر) از افراد ترشح چرک زیاد (++) داشتند. در گروه بیمار، بین مقدار IL-23 با عمق پروبینگ (P=۰/۰۰۸ و r=۰/۵۹۱)، میزان خونریزی (P =۰/۰۱ و r=۰/٥٦٨) و مقدار ترشح چرک(P <۰/۰۰۱ و r=۰/۹۱۸) رابطه مستقیم و معناداری وجود داشت. همچنین میزان IL-23 با عمق پروبینگ افراد سالم (P<۰/۰۰۱ ، r=۰/۸٤۳) و نیز عمق پروبینگ در مجموع افراد سالم و بیمار (P<۰/۰۰۱ ، r=۰/۹۰۲) ارتباط مستقیم و معنادار داشت.

جدول ۱. میانگین **IL-23** و عمق پروبینگ بر حسب میلیمتر در دو گروه سالم و مبتلا به پری ایمپلنتیت

متغیر	گروه	انحراف معیار± میانگین	حداقل	حداکثر	P.value
IL-23 (ng/ml)	سالم	٤ ± ۱/۲	۲/٤	٦/۲	<۰/۰۰۱
	بیمار	۳۹/۱۱±۱/۳	۲۳/۲	۵۸/۹	
عمق پروبینگ (mm)	سالم	۱/۹ ± ۰/۵	۰/۱	۲/۵	<۰/۰۰۱
	بیمار	٤/۱ ± ۰/٤	۳/۵	٤/۵	

بحث

مطالعه حاضر به بررسی میزان IL-23 در افراد با بافت پری‌ایمپلنت سالم و افراد دارای پری‌ایمپلنتیت و رابطه آن با افزایش التهاب پرداخته است. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، میانگین IL-23 افراد دارای پری ایمپلنتیت به طور قابل توجهی بیشتر از افراد دارای بافت پری ایمپلنت سالم بود. در روند بررسیهای انجام شده پیرامون نقش IL-23 در بیماری پری ایمپلنتیت،

پژوهشهای بسیار محدودی وجود دارد. تنها Luo و همکاران[۱۳] در بررسی سطح IL-23 و IL-22 در بیماران پری ایمپلنتیت، به این نتیجه رسیدند که میزان IL-23 در بیماران پری ایمپلنتیت افزایش داشته است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. بنابراین تجمع واسطه‌های پیش‌التهابی می‌تواند نقش موثری در پاتوژنز پری‌ایمپلنتیت داشته باشد. نتایج مطالعه حاضر وجود رابطه مستقیمی بین خونریزی و IL-23 را نشان داد. از آنجا که خونریزی یکی از علائم تشخیص التهاب می‌باشد و IL-23 نیز از ترشحات سلولهای دفاعی می‌باشد انتظار این است که در بیماران دارای پری ایمپلنتیت با افزایش خونریزی افزایش سطح IL-23 نیزدیده شود. ترشح چرک وجود سلولهای التهابی را در موضع بیماری نشان می‌دهد؛ سلولهایی که می‌توانند تولید کننده IL-23 نیز باشند. بنابراین افزایش IL-23 همراه با افزایش ترشح چرک دور از انتظار نیست. افزایش عمق پروبینگ نیز که نشان‌دهنده تخریب بافت اطراف ایمپلنت می‌باشد، می‌تواند ناشی از حضور و عملکرد سلولهای التهابی باشد که احتمالا همزمان به تولید IL-23 نیز می پردازند و لذا ارتباط مستقیم این دو متغیر می تواند مورد انتظار باشد.

نتایج مطالعه Himani و همکاران[۱۴] در بررسی نقش IL-23 در شروع و پیشرفت بیماری پریودنتال نشان داد که IL-23 در مایع شیار لثه‌ای بیماران پریودنتال بیشتر از افراد سالم می باشد. در این مطالعه بین سطح IL-23 با ایندکس لثه‌ای و شدت بیماری پریودنتال و از دست رفتن چسبندگی ارتباط مستقیم وجود داشت. Fang و همکاران[۱۲] در بررسی نقش IL-23 در پاتوژنز پریودنتیت به این نتیجه رسیدند که سطح IL-23 در مایع شیار لثه‌ای در بیماران پریودنتیت رابطه مثبتی با پارامترهای کلینیکی دارد. بنابراین IL-23 می‌تواند نقش مهمی در پاتوژنز پریودنتیت داشته باشد. همچنین در مطالعه Ohyama و همکاران[۱۵] نشان داده شد که IL-23 باعث القای مسیر Th17 شده که این باعث تحریک ضایعات پریودنتال می‌شود و در پاتولوژی پریودنتال تاثیر دارد.

در مطالعات متعددی به رابطه بین بیماریهای پریودنتال و IL-23 اشاره شده و با توجه به شبیه بودن مکانیسم و پارامترهای ارزیابی بیماری های پریودنتال و پری‌ایمپلنتیت، احتمالا IL-23 نقش مشابهی در پاتوژنز بیماری پری‌ایمپلنتیت خواهد داشت. مطالعه حاضر نیز همانند مطالعه Luo[۱۳] موید این ارتباط بوده است. بررسیهای بیشتری جهت مشخص شدن جزئیات این ارتباط مورد نیاز است.

نتیجه گیری

میزان IL-23 در مایع شیار لثه‌ای افراد مبتلا به پری‌ایمپلنتیت به‌طور معناداری نسبت به افراد با بافت پری‌ایمپلنت سالم بالاتر است. عمق پاکت، میزان خونریزی و ترشح چرک با IL-23 رابطه مستقیم دارند. بنابراین ممکن است بتوان از بررسی سطح IL-23 در تشخیص پری‌ایمپلنتیت یا سیر آن استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی و همچنین اساتید بزرگوار گروه پریودنتولوژی دانشگاه آزاد اسلامی (واحد خوراسگان) و نیز سرکار خانم راشین یغمایی مسئول محترم کتابخانه تقدیر و تشکر به عمل می آید.

منابع

1. Khammissa RA, Feller L, Meyerov R, Lemmer J. Peri-implant mucositis and peri-implantitis: clinical and histopathological characteristics and treatment. SADJ 2012; 67(3):122:124-6.
2. Misch CE. Contemporary implant dentistry. 3rd ed. St. Louis: Mosby Co; 2008. P.577
3. The American Academy of Periodontology. Peri-implant mucositis and peri-implantitis: a current understanding of their diagnoses and clinical implications. J Periodontol 2013; 84(4):436-43.
4. Balaji SM. Textbook of oral and maxillofacial surgery. 2nd ed. New Delhi: Elsevier India; 2013. P. 301-2.
5. Troen BR. Molecular mechanisms underlying osteoclast formation and activation. Exp Gerontol 2003; 38(6):605-14.
6. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 12th ed. St. Louis: WB. Saunders Co; 2015. P.86-87
7. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. J Periodontal Res 1991; 26(3 Pt 2):230-42.
8. Bhatavadekar NB, Williams RC. New directions in host modulation for the management of periodontal disease. J Clin Periodontol 2009; 36(2):124-6.
9. Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, Gursel M, Ataoglu T, Serpek B, et al. Interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha levels and neutrophil elastase activity in peri-implantitis crevicular fluid. Clin Oral Implants Res 2002; 13(5):470-6.
10. D'Elios MM, Del Prete G, Amedei A. Targeting IL-23 in human diseases. Expert Opin Ther Targets 2010; 14(7):759-74.
11. Tan ZY, Bealgey KW, Fang Y, Gong YM, Bao S. Interleukin-23: immunological roles and clinical implications. Int J Biochem Cell Biol 2009; 41(4):733-5.
12. Fang X, Jin Y, Gao KB, Wang Y, Lin XP. The influence of porcelain-fused-to-metal on the expression level of IL-23 in gingival crevicular fluid. Shanghai Kou Qiang Yi Xue 2016; 25(1):58-62.
13. Luo Z, Wang H, Sun Z, Luo W, Wu Y. Expression of IL-22, IL-22R and IL-23 in the peri-implant soft tissues of patients with peri-implantitis. Arch Oral Biol 2013; 58(5):523-9.
14. Himani GS, Prabhuji ML, Karthikeyan BV. Gingival crevicular fluid and interleukin-23 concentration in systemically healthy subjects: Their relationship in periodontal health and disease. J Periodontal Res 2014; 49(2):237-45.
15. Ohyama H, Kato-Kogoe N, Kuhara A, Nishimura F, Nakasho K, Yamanegi K, et al. The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. J Dent Res 2009; 88(7):633-8.