

**Домище Мар'ян Юрійович,**

кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри медико-біологічних дисциплін  
стоматологічного факультету,  
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»  
ORCID ID: 0000-0003-3636-6621  
м. Ужгород, Україна

**Паллаг Александра Володимирівна,**

кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри медико-біологічних дисциплін  
стоматологічного факультету,  
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»  
ORCID ID: 0000-0003-3636-6621  
м. Ужгород, Україна

**Юсько Леся Сергіївна,**

кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри медико-біологічних дисциплін  
стоматологічного факультету,  
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»  
ORCID ID: 0000-0002-7072-0703  
м. Ужгород, Україна

**Дробнич Володимир Григорович,**

доктор фізико-математичних наук, професор,  
професор кафедри геодезії, землеустрою та геоінформатики  
географічного факультету,  
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»  
ORCID ID: 0000-0003-2391-8140  
м. Ужгород, Україна

**Костенко Євген Якович,**

доктор медичних наук, професор,  
декан стоматологічного факультету,  
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»  
ORCID ID: 0000-0002-3997-2371  
м. Ужгород, Україна

## **Вплив ТЕС-терапії на локальну імунну відповідь та пошук перспективних біомаркерів лікувального процесу після хірургічних втручань у ротовій порожнині**

У цій статті з'ясовано вплив транскраніальної електростимуляції на стан локальної імунної відповіді у пацієнтів після екстракції зубів мудрості у змішаній слині. Встановлено, що застосування цього методу сприяє підвищенню значень секреторного імуноглобуліну до норми та зниженню прозапальних інтерлейкінів: IL1  $\beta$  – у разі однократного застосування ТЕС-терапії та IL6 і TNF- $\alpha$  у разі двократного застосування ТЕС-терапії. Знайдено динамічні кореляційні зв'язки між імунними та бактеріальними показниками та представлено найбільш перспективні біомаркери цього лікувального процесу. Авторами доведено ефективність застосування ТЕС-терапії у пацієнтів після видалення зубів мудрості, а саме позитивний вплив на стан локального імунітету в порожнині рота, та доведено взаємозв'язок між імунними та бактеріальними показниками, які були ізольовані зі слини досліджуваних пацієнтів.

**Ключові слова:** локальна імунна відповідь, біомаркери, транскраніальна електростимуляція.

**Domyshe Marian Yuriiovych**, Senior Lecturer of the Department of Surgical Dentistry and Clinical Disciplines of the Faculty of Dentistry, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0002-7231-8814, Uzhhorod, Ukraine

**Pallah Oleksandra Volodymyrivna**, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Medical and Biological Disciplines of the Faculty of Dentistry, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0003-3636-6621, Uzhhorod, Ukraine

**Yusko Lesya Serhiivna**, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Medical and Biological Disciplines of the Faculty of Dentistry, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0002-7072-0703, Uzhhorod, Ukraine

**Drobnych Volodymyr Hryhorovych**, Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Professor, Professor of the Department of Geodesy, Land Management and Geoinformatics of the Faculty of Geography, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0003-2391-8140, Uzhhorod, Ukraine

**Kostenko Yevhen Yakovych**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Dean of the Faculty of Dentistry, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0002-3997-2371, Uzhhorod, Ukraine

## The effect of TES therapy on the local immune response and the search for prospective biomarkers of the treatment process after surgical interventions in the oral cavity

This article investigates the effect of transcranial electrical stimulation on the state of the local immune response in patients after the extraction of wisdom teeth in mixed saliva. It has been established that the use of this method contributes to the increase of secretory immunoglobulin values to normal and the reduction of pro-inflammatory interleukins: IL1  $\beta$  – with a single application of TES therapy and IL6 and TNF- $\alpha$  with a double application of TES therapy. Dynamic correlations between immune and bacterial indicators were found, and the most promising biomarkers of this treatment process were presented. The authors proved the effectiveness of the use of TES therapy in patients after the removal of wisdom teeth, namely the positive effect on the state of local immunity in the oral cavity, and proved the relationship between immune and bacterial indicators that were isolated from the saliva of the studied patients.

**Key words:** local immune response, biomarkers, transcranial electrical stimulation.

**Вступ.** Транскраніальна електростимуляція (ТЕС) є одним зі способів стимуляції відновних функцій організму на всіх етапах відновлення функції та анатомічної цілісності, що особливо важливо у стоматологічній практиці, оскільки дозволяє скоротити загальний час одужання та позбутися від необхідності застосування додаткових препаратів і цим самим зменшити імовірність виникнення алергічних реакцій [1].

Згідно із сучасними дослідженнями відомо, що імунна система слизових оболонок захищає господаря від умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів та підтримує імунний гомеостаз у здоровому стані [2]. Було показано, що коменсальна мікробіота відіграє ключову роль у розвитку та кондиціонуванні місцевого імунітету [3], а специфічні мікроорганізми відіграють важливу роль у регулюванні функцій імунних клітин [4]. Під час запального процесу імунна система не тільки захищає від інвазивних патогенів і зменшує запалення, але також підтримує гомеостаз кісток шляхом видалення пошкодженої та апоптозної тканини та стимулювання відновлення та регенерації кісткової тканини [5], тобто імунна система слизової оболонки має важливий вплив на контроль інфекції, а також на загоєння ран.

Імуноглобуліни відіграють захисну роль проти мікробів у ротовій порожнині. Основним імуноглобуліном, що міститься у виділеннях слизової оболонки, є секреторний IgA (SIgA), який є першою лінією захисту в ротовій порожнині. SIgA контролює флору порожнини рота, пригнічуючи адгезію бактерій до поверхні зуба та слизової оболонки [6; 7]. У ротовій порожнині імунна система постійно піддається впливу унікальних тканинно-специфічних сигналів, комменсальних мікробів та їхніх метаболітів, постійного пошкодження тканин від жування та антигенів

з їжі та повітряних часток. Дисбаланс місцевих реакцій пов'язаний зі схильністю тканин до специфічних захворювань. Однак слизова ротової порожнини також добре відома як місце, де часто проявляються системні запалення та аутоімунні захворювання, що вказує на те, що системна дерегуляція імунної системи відображається на функції імунної системи ротової порожнини [8] та зовнішньому вигляді.

**Матеріали та методи.** Під нашим спостереженням перебувало 50 пацієнтів з аномальним ростом восьмих зубів віком від 17 до 45 років. Середній вік становив  $28,6 \pm 1,7$  року. Чоловіки становили 54%, жінки – 46%. У ході досліджень після отримання письмової згоди відповідно до принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини як об'єкта дослідження», наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2008 р. вивчено у разі ранового процесу після екстракції зубів мудрості у змішаній слині до і після транскраніальної електростимуляції (ТЕС) локальну імунну відповідь.

Імунологічне дослідження на визначення IgA, IL-1 $\beta$ , IL-6 та TNF- $\alpha$  проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням комерційних тест-систем Вектор-Бест згідно з інструкціями виробника після однократного та двократного застосування ТЕС-терапії.

Базовий статистичний аналіз здійснювали відомими методами описової статистики та статистичного висновування (statistical inference), використовуючи бібліотеку створеного для наукових досліджень середовища Anaconda – Python та програмний пакет OriginPro фірми OriginLab для чисельного аналізу даних і наукової графіки.

Пошук статистично значущих парних кореляцій Пірсона і Спірмена [9; 10] між бактеріальними

та імунними показниками в моменти M0 (до застосування ТЕС), M1 (після першого застосування ТЕС) і M2 (після другого застосування ТЕС) здійснювали за допомогою бібліотеки Stats бібліотечного модуля SciPy середовища Anaconda – Python.

**Результати та обговорення.** У попередніх дослідженнях (табл. 1) нами було доведено позитивний вплив застосування методу ТЕС на мікробіоту порожнини рота у разі ранового процесу після екстракції зуба мудрості [11].

На додаток у рамках цього дослідження нами було вивчено вплив такого методу на локальну імунну відповідь у цих пацієнтів та пошуку найбільш перспективних маркерів лікувального процесу із застосуванням ТЕС.

Встановлено, що показники ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 та TNF- $\alpha$  перебували у межах референтних значень у обох досліджуваних групах, тобто з однократним та двократним застосуванням ТЕС.

Аналізуючи отримані експериментальні дані показників секреторного імуноглобуліну А (SIgA), у 24% пацієнтів спостерігали зниження такого показника (98 мг/мл), у 48% пацієнтів завищені значення (306 мг/мл) від референтних значень у першій групі. У пацієнтів другої групи також спостерігалися відхилення SIgA, а саме занижені значення цього показника у 60% пацієнтів.

Як видно з даних таблиці 2, спостерігається суттєвий ріст середніх значень показників SIgA як у разі однократного, так особливо на тлі двократного застосування ТЕС-терапії (P < 0,05).

Відзначалось несуттєве зниження ІЛ1  $\beta$  на тлі ТЕС-терапії та суттєве зниження ІЛ6 і TNF- $\alpha$  у разі двократного застосування ТЕС-терапії (P < 0,05).

Кореляційний аналіз даних щодо бактеріальних та імунних показників слини в моменти M0, M1 і M2

Для виявлення статистично значущих парних кореляцій показників, виміряних у момент M0, з такими, що відповідають моменту M1, ми використовували групи даних G\_M0 та G\_M1, тобто найбільші групи отриманих відомостей щодо моментів M0 і M1. Коефіцієнт кореляції *r* кожної пари показників обчислювали за Пірсоном або Спірманом [9, 10], причому вибір альтернативи «Пірсон-Спірман» здійснювали за даними таблиці 1. Результати розрахунків компактно представлено на рис. 1 у вигляді так званої теплової діаграми.

На цій діаграмі досліджувані показники, що відповідають моменту M1, зображені знизу (по горизонталі), а показники для моменту M0 – зліва (по вертикалі). Кожній конкретній парі «показник для M0 – показник для M1» відповідає на діаграмі певна комірка, колір якої презентує отриманий результат розрахунку коефіцієнта кореляції *r* таких показників. Наприклад, парі показників “SIgA для M0 – ІЛ\_6 для M1” відповідає темно-синя клітинка, що говорить про від’ємне і високе за абсолютною величиною (тобто близьке до -1) значення коефіцієнта кореляції таких показників. Чорний колір клітинки означає, що знайдена величина кореляційного коефіцієнта *r* для відповідної пари показників не є статистично значущим. А величини *r* статистично значущим.

Таблиця 1

**Мікробіота порожнини рота у пацієнтів після зуба мудрості**

Назва мікроорганізму	Кількість (КУО/мл) м.о. (до застосування ТЕС)	Кількість (КУО/мл) м.о. (однократне застосування ТЕС)	Кількість (КУО/мл) (двократне застосування ТЕС)
Acinetobacter spp.	(1 · 10 <sup>6</sup> ) ± 1,3	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 0,87	(1 · 10 <sup>3</sup> ) ± 0,25
Candida spp.	(5 · 10 <sup>5</sup> ) ± 1,73	–	–
Corynebacterium spp.	(1 · 10 <sup>6</sup> ) ± 0,25	–	–
Enterococcus spp.	(5 · 10 <sup>9</sup> ) ± 1,45	(3 · 10 <sup>8</sup> ) ± 0,25	(1 · 10 <sup>6</sup> ) ± 0,56
E. coli	–	(1,5 · 10 <sup>4</sup> ) ± 0,87	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 0,75
Lactobacillus spp.	(1 · 10 <sup>5</sup> ) ± 1,3	(2 · 10 <sup>5</sup> ) ± 1,35	(1 · 10 <sup>6</sup> ) ± 0,25
Neisseria spp.	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 0,25	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 1,3	(1 · 10 <sup>5</sup> ) ± 0,97
Peptostreptococcus spp.	(2 · 10 <sup>6</sup> ) ± 1,68	(1 · 10 <sup>5</sup> ) ± 0,87	(1 · 10 <sup>5</sup> ) ± 0,87
Staphylococcus spp.	(4 · 10 <sup>4</sup> ) ± 1,33	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 0,68	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 0,25
Streptococcus spp.	(2 · 10 <sup>8</sup> ) ± 0,25	(1 · 10 <sup>6</sup> ) ± 0,87	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 1,16
Veillonella spp.	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 0,25	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 1,48	(1 · 10 <sup>4</sup> ) ± 0,87
Actinomyces spp.	(1 · 10 <sup>5</sup> ) ± 0,25	(1 · 10 <sup>3</sup> ) ± 0,5	–

Таблиця 2

**Показники ІЛ1 $\beta$ , ІЛ6 та TNF- $\alpha$  у разі чистої рани лунки зуба мудрості до і після одно- і двократного застосування ТЕС-терапії (M $\pm$ m)**

Показники	Середні значення показників			
	До застосування ТЕС-терапії n= 20	Після застосування ТЕС-терапії		
		Однократно n= 20	Двократно n= 20	Референтні значення n= 20
SIgA, мг/мл	101,75 ± 13,63	223,5 ± 60,0*	246,25 ± 64,19*	115–299,7
ІЛ1 $\beta$ , пг/мл	4,8 ± 0,5	4,5 ± 0,75	4,05 ± 0,58	0–11
ІЛ6, пг/мл	7,17 ± 0,78	6,23 ± 0,28	4,33 ± 0,83*	1,5–7,0
TNF- $\alpha$ , пг/мл	5,23 ± 0,76	5,93 ± 0,76	4,65 ± 0,35*	0–13

Примітка: \*P < 0,05 порівняно з даними до застосування ТЕС-терапії.

щих коефіцієнтів кореляції представлено кольорами червоного і синього відтінків (відповідно для позитивних і негативних кореляцій).

Як видно з рис. 1, знайдених статистично значущих кореляцій є не так уже й багато. Але всі вони характеризуються досить високими за абсолютною величиною значеннями  $r$ , тобто відносяться до високих (0,7–0,9) або дуже високих кореляцій (0,9–1).

Найбільш «заселеною» статистично значущими кореляціями ділянкою діаграми є її головна діагональ (проходить зліва знизу – вправо вгору). Комірки на ній відповідають парам однойменних показників, виміряних у моменти M0 і M1. Такі кореляції виявлено для семи бактеріальних показників (*Acinetobacter spp.*, *Actinomyces spp.*, *Enterococcus spp.*, *Neisseria spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*) і одного імунного (IL\_6). Зазначимо, що ці кореляції вказують на маркерні властивості таких показників стосовно процесу лікування із застосуванням ТЕС.

На рис. 2 наведено абсолютно аналогічну теплову діаграму, що презентує кореляції показників, виміряних у моменти M1 і M2 (результати отримано за групами даних G2\_M1 та G2\_M2). Головна відмінність цієї картини кореляцій від вищерозглянутої – значно менша чисельність статистично значущих кореляцій. Причому в ній немає жодної значущої кореляції Спірмена.

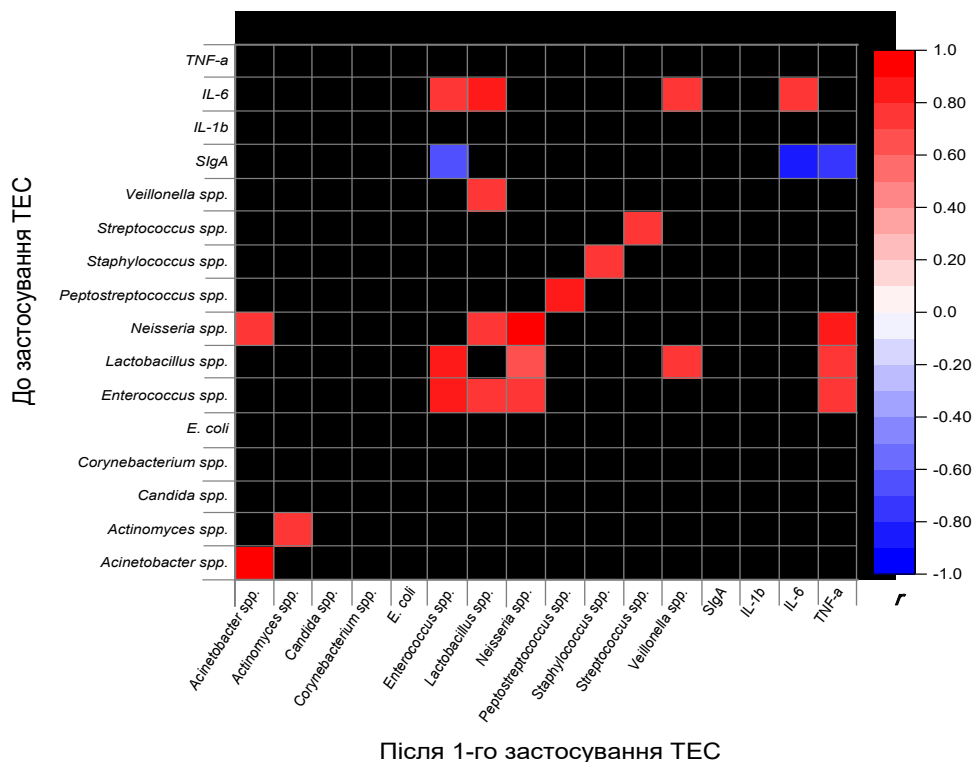
Як видно з рис. 2, «діагональні» кореляції (тобто статистично значущі кореляції однойменних показни-

ків, виміряних у різні часові моменти) тут виявлено лише для двох бактеріальних показників (*Acinetobacter spp.* і *Veillonella spp.*) та вже згадуваного вище одного імунного (IL\_6). Порівнюючи «діагональні» кореляції на рис. 1 і 2 можна зробити висновок, що *Acinetobacter spp.* і IL\_6 демонструють маркерні властивості стосовно процесу лікування із подвійним застосуванням ТЕС.

Для виявлення показників, що беруть участь у «не діагональних» кореляційних зв'язках протягом усього періоду лікування M0 – M1 – M2, нами виявлено всі статистично значущі кореляції досліджуваних показників для групи даних G\_M0\_M1\_M2. Отримана матриця цих кореляцій представлена тепловою діаграмою на рис. 3. Ці кореляції можна назвати динамічними, оскільки вони характеризують кореляційні взаємодії змінних у часі показників протягом усього лікувального процесу.

Як видно з рис. 3, найбільшою кількістю динамічних кореляційних зв'язків характеризуються бактеріальні показники *Enterococcus spp.* (6 зв'язків) і *Lactobacillus spp.* (5 зв'язків), найчастіше згадуваний імунний показник IL\_6 (5 зв'язків).

**Висновки:** 1) застосування ТЕС має позитивний вплив на стан локальної імунної відповіді; 2) за результатами кореляційного аналізу найбільш перспективними маркерами лікувального процесу із застосуванням ТЕС є бактеріальні показники *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus spp.* і *Lactobacillus spp.*, а також імунний показник IL\_6.



**Рис. 1. Кореляції досліджуваних показників слини, виміряних до та після 1-го застосування методу ТЕС**

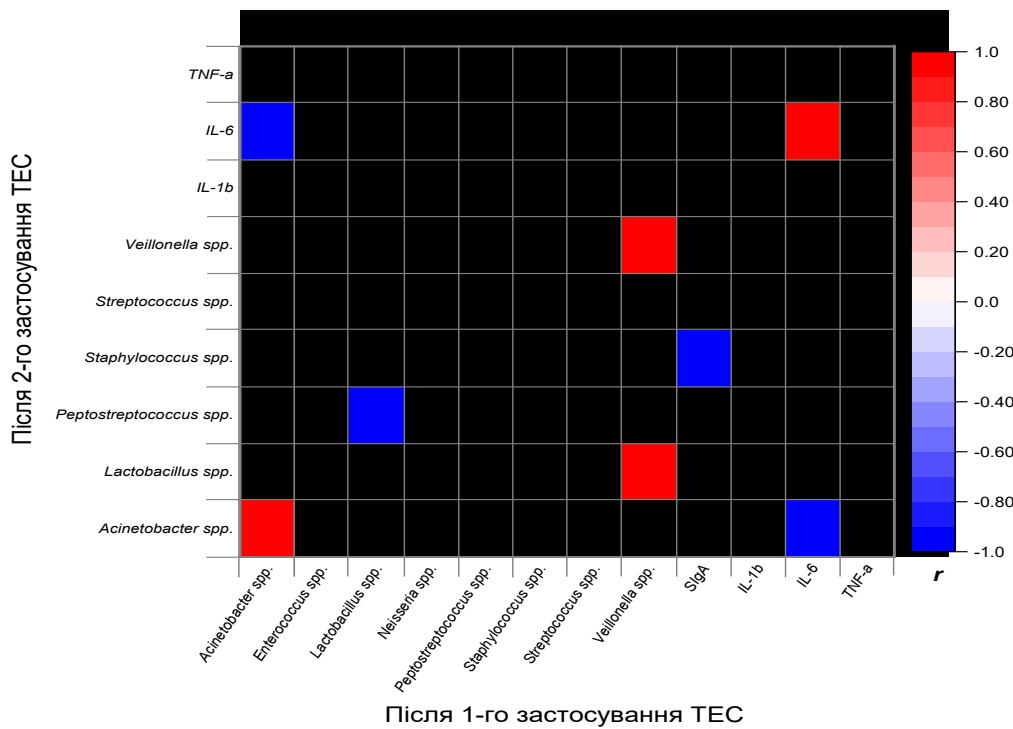


Рис. 2. Кореляції досліджуваних показників слини, вимірянних після 1-го та 2-го застосувань методу ТЕС

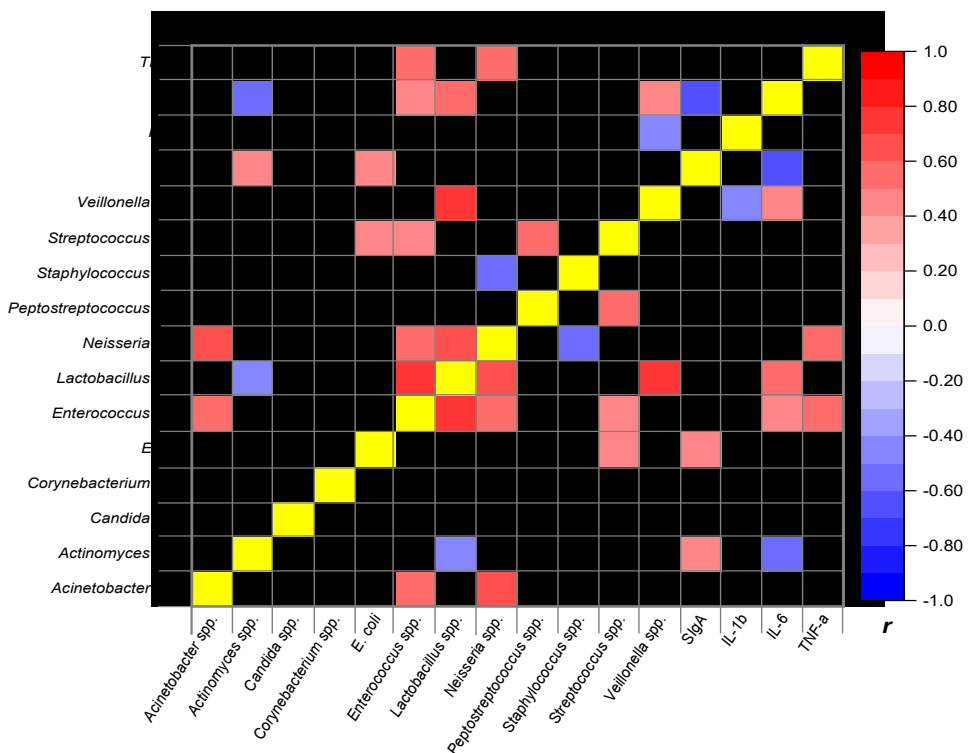


Рис. 3. Матриця динамічних кореляцій досліджуваних показників слини, яка відповідає всьому процесу лікування із застосуванням (двічі) методу ТЕС

## ЛІТЕРАТУРА

1. Назаревич М.Р. Вплив транскраніальної електростимуляції на гостру запальну реакцію у хворих із переломами виличних кісток та дуг. *Клінічна стоматологія*. 2014. № 1. С. 51–53.
2. Ruiqing W., Dunfang Z., Eric T., Qianming C., Wanjun C. The mucosal immune system in the oral cavity – an orchestra of T cell diversity. *Int J Oral Sci*. 2014. Vol. 6. No. 125. P. 32. DOI: 10.1038/ijos.2014.48.
3. Moutsopoulos N.M., Konkel J.E. Tissue-specific immunity at the oral mucosal barrier. *Trends Immunol*. 2018. Vol. 39. P. 276–287.
4. Baker J.L., Bor B., Agnello M., Shi W., He X. Ecology of the oral microbiome: Beyond bacteria. *Trends Microbiol*. 2017. Vol. 25, P. 362–374.
5. Dar H.Y., Azam Z., Anupam R., Mondal R.K., Srivastava R.K. Osteoimmunology: the between bone and immune system. *Front Biosci*. 2018. Vol. 23. P. 464–92. DOI: 10.2741/4600.
6. Baker J.L., Bor B., Agnello M., Shi W., He X. Ecology of the oral microbiome: Beyond bacteria. *Trends Microbiol*. 2017. Vol. 25. P. 362–374.
7. Ptasiewicz M., Grywalska E., Mertowska P., Korona-Głowniak I., Poniewierska-Baran A., Niedźwiedzka-Rystwej P., & Chałas R. Armed to the teeth – the oral mucosa immunity system and microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022. Vol. 23. No. 2. P. 882.
8. Moutsopoulos N.M., Moutsopoulos H.M. The Oral Mucosa: A Barrier Site Participating in Tissue-Specific and Systemic Immunity. *Oral Dis*. 2018. Vol. 24. No. 1–2. P. 22–25. DOI: 10.1111/odi.12729.
9. Ezekiel M., Fox K.A. Methods of correlation and regression analysis, linear and curvilinear. New York : Wiley, 1963, 562 p.
10. Machin David, Campbell Michael J., Walters Stephen J. Medical statistics. A text book for the health sciences, 4th edition. *John Wiley & Sons*, 2007. 346 p.
11. Домише М.Ю., Малияр А.В., Малияр В.А. Оцінка впливу ТЕС-терапії на мікробіоту порожнини рота у рановому процесі. *Проблеми клінічної педіатрії*. 2022. № 1–2.

## REFERENCES

1. Nazarevych, M.R., & Stadvych, I.I. (2014). Vplyv transkraniialnoi elektrostymulatsii na hostru zapalnu reaktsiiu u khvorykh iz perelomamy vylychnykh kistok ta duh. *Klinichna stomatolohiia*, (1) [in Ukrainian].
2. Wu, R.Q., Zhang, D.F., Tu, E., Chen, Q.M., & Chen, W. (2014). The mucosal immune system in the oral cavity – an orchestra of T cell diversity. *International Journal of Oral Science*, 6(3), 125–132.
3. Segata, N., Waldron, L., Ballarini, A., Narasimhan, V., Jousson, O., & Huttenhower, C. (2012). Metagenomic microbial community profiling using unique clade-specific marker genes. *Nature methods*, 9(8), 811–814.
4. Baker, J.L., Bor, B., Agnello, M., Shi, W., & He, X. (2017). Ecology of the oral microbiome: beyond bacteria. *Trends in microbiology*, 25(5), 362–374.
5. Dar, H.Y., Azam, Z., Anupam, R., Mondal, R.K., & Srivastava, R.K. (2018). Osteoimmunology: The Nexus between bone and immune system. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 23(3), 464–492.
6. Baker, J.L., Bor, B., Agnello, M., Shi, W., & He, X. (2017). Ecology of the oral microbiome: beyond bacteria. *Trends in microbiology*, 25(5), 362–374.
7. Ptasiewicz, M., Grywalska, E., Mertowska, P., Korona-Głowniak, I., Poniewierska-Baran, A., Niedźwiedzka-Rystwej, P., & Chałas, R. (2022). Armed to the teeth – the oral mucosa immunity system and microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 882.
8. Moutsopoulos, N.M., & Moutsopoulos, H.M. (2018). The oral mucosa: A barrier site participating in tissue-specific and systemic immunity. *Oral diseases*, 24(1–2), 22–25.
9. Ezekiel, M., & Fox, K.A. (1959). Methods of correlation and regression analysis: linear and curvilinear.
10. Machin David, Campbell Michael J., Walters, Stephen J. (2007). Medical statistics. A text book for the health sciences, 4th edition. *John Wiley & Sons*, 346 p.
11. Domysheche M.Iu., Maliar A.V., Maliar V.A. (2022). Otsinka vplyvu TES – terapii na mikrobiotu porozhnyny rota pry ranovomu protsesi. *Problemy klinichnoi pediatrii*. (1–2) [in Ukrainian].