



UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra i Zakład Patologii Jamy Ustnej

Paula Duc-Godziek

**Objawy kliniczne i profil proteinowy śliny
u pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego błony śluzowej jamy ustnej
w powiązaniu ze stanem ogólnym**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor:

prof. dr hab. Małgorzata Radwan-Oczko

Promotor pomocniczy:

dr n.med. Irena Duś-Ilnicka

Wrocław 2022

*„Nie dokonuje odkrycia,
kto nie bada niemożliwości”.*
- Albert Einstein

Mojej Promotor
prof. dr hab. Małgorzacie Radwan-Oczko
Serdecznie podziękowania za
inspirację, zaangażowanie, poświęcony czas
oraz merytoryczne wsparcie,
które było nieocenione
podczas powstawania tej pracy.

Dziękuję mojej Promotor pomocniczej
dr n.med. Irenie Duś-Ilnickiej
za ogromne wsparcie i wszechstronną pomoc
w pisaniu pracy.

*„Nauka
leży u podstaw każdego postępu,
który ułatwia życie ludzkie
i zmniejsza cierpienie.”
- Maria Skłodowska-Curie*

*Pracę tę dedykuję mojej **Mamie**.
Dziękuję Ci za nieustanne wsparcie,
miłość i mądrość.*

*Dziękuję mężowi **Tomaszowi**
Za wsparcie, miłość i ogromną wiarę we mnie.*

*Serdeczne podziękowania także dla wszystkich,
którzy wspierali mnie w tworzeniu tej pracy.*

SPIS TREŚCI.....	4
WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY.....	6
1. WSTĘP.....	7
1.1 Liszaj płaski.....	8
1.2 Etiopatogeneza liszaja płaskiego.....	8
1.2.1 Podłoże genetyczne.....	9
1.2.2 Czynniki psychoneurogenne – liszaj płaski jako neurodermatoza.....	9
1.2.3 Wirus zapalenia wątroby typu C.....	10
1.2.4 Wirus HPV i inne, a liszaj płaski.....	11
1.2.5 Dysfunkcja tarczycy.....	12
1.2.6 Cukrzyca i nadciśnienie.....	13
1.2.7 Choroba przeszczep przeciw gospodarzowi.....	14
1.2.8 Czynniki metaboliczne.....	14
1.2.9 Czynniki immunologiczne.....	15
1.2.10 Zmiany lichenoidalne.....	17
1.3 Obraz kliniczny liszaja płaskiego.....	18
1.4 Diagnoza kliniczna i obraz histopatologiczny liszaja płaskiego.....	25
1.5 Leczenie.....	28
1.5.1 Glikokortykosteroidy.....	29
1.5.2 Inhibitory kalcyneuryny i cyklosporyna A.....	30
1.5.3 Inne metody terapeutyczne.....	31
1.6. Ślina jako materiał diagnostyczny w chorobach błony śluzowej jamy ustnej..	35
1.6.1. Mucyny ślinowe – rola w OLP i innych schorzeniach jamy ustnej.....	38
2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY.....	42
3. MATERIAŁ I METODY BADAŃ.....	43
3.1 Materiał badań.....	43
3.2 Metodyka badań.....	43
3.2.1 Badanie podmiotowe.....	43
3.2.2 Badanie przedmiotowe.....	44
3.2.3 Pobranie śliny niestymulowanej.....	47
3.2.4 Metodologia badania śliny.....	47

3.2.4.1 ELISA białek MUC w ślinie.....	48
3.2.4.2 SDS-PAGE śliny.....	49
3.2.5 Analiza statystyczna.....	51
4. WYNIKI BADAŃ.....	52
4.1 Charakterystyka wybranych grup badanych.....	52
4.1.1 Wyniki badania podmiotowego.....	52
4.1.2 Wyniki badania przedmiotowego.....	61
4.1.3 Wyniki badania poziomu mucyn w ślinie z wykorzystaniem ELISA.....	73
4.1.4 Wyniki elektroforezy SDS-PAGE śliny.....	78
5. DYSKUSJA.....	89
6. UOGÓLNIENIA.....	107
7. WNIOSKI.....	110
8. PIŚMIENNICTWO.....	111
9. STRESZCZENIE.....	122
10. SUMMARY.....	129
11. SUPLEMENT	
11.1 Karta badania klinicznego.....	135
11.2 Zgoda komisji bioetycznej.....	139

WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY

(w układzie alfabetycznym)

CD4 – *cluster of differentiation 4* – glikoproteina występująca na powierzchni komórek układu odpornościowego

CD8 – *cluster of differentiation 8* - glikoproteina występująca na powierzchni komórek układu odpornościowego

EBV (HHV-4) – *Epstein-Barr virus* - wirus Epsteina-Barr

ELISA – *enzyme-linked immunosorbent assay* – test immunoenzymatyczny

EPOCH – monochromatorowy spektrofotometr do płytek mikrotitracyjnych

FT4 – *free thyroxine* – wolna tyroksyna (hormon tarczycy)

GKS – glukokortkosteroidy

GvHD – *Graft versus Host Disease* – choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi

HCV – *hepatitis C virus* - wirus zapalenia wątroby typu C

HIV – *human immunodeficiency virus* – ludzki wirus upośledzenia odporności

HLA – *human leukocyte antigen* – ludzki antygen leukocytarny

HPV – *human papilloma virus* – wirus brodawczaka ludzkiego

HRP – *horseradish peroxidase* – peroksydaza chrzanowa

HSP – *heat shock proteins* – białka szoku cieplnego

IFN- γ – interferon gamma – białko, mediator odpowiedzi immunologicznej

IL – interleukiny – grupa cytokin biorąca udział w procesach układu odpornościowego

Limfocyty CD4+ – limfocyty z ekspresją CD4

Limfocyty Th1/Th2 – limfocyty T-helper(pomocnicze) subklasy 1 i 2

LP – lichen planus - liszaj płaski

MHC II – *major histocompatibility complex II* – główny układ zgodności tkankowej klasy II

MMP – *matrix metalloproteinases* – metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej

NK – *natural killer* – „urodzeni zabójcy”, komórki układu odpornościowego o właściwościach cytotoksycznych

OLL – *oral lichenoid lesions* – ustne zmiany lichenoidalne

OLP – *oral lichen planus* – postać ustna liszaja płaskiego

OLR – *oral lichenoid reactions* – ustne reakcje lichenoidalne

OSCC – *oral squamous cell carcinoma* – rak kolczystokomórkowy jamy ustnej

PDT – *photodynamic therapy* – terapia fotodynamiczna

SDS-PAGE – *sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis* – elektroforeza w żelu poliakrylamidowym z użyciem dodecylosiarczanu sodu

sIgA – *secretory Immunoglobulin A* – wydzielniczna immunoglobulina A

TAA – *total antioxidant activity* – całkowita zdolność antyoksydacyjna

TIMP – *tissue inhibitors of metalloproteinases* - tkankowe inhibitory metaloproteinaz

TNF – *tumor necrosis factor* – czynnik martwicy nowotworów

TSH – *thyroid-stimulating hormone* – tyreotropina, hormon tyreotropowy

WHO – *World Health Organization* – Światowa Organizacja Zdrowia

wsp. – współautorzy

1. WSTĘP

1.1 Liszaj płaski (*lichen planus*/ *lichen Wilsoni*, LP)

Liszaj płaski Wilsona jest idiopatyczną, przewlekłą, niezakaźną chorobą błony śluzowej jamy ustnej o charakterystycznym obrazie klinicznym. Może również występować w innych lokalizacjach i dotyczyć m.in. przełyku, krtani, spojówki, okolicy anogenitalnej i paznokci. (1) Zmiany mogą zajmować jedną lub wiele okolic, ponadto różne formy liszaja mogą występować zarówno w tym samym czasie, jak i następować po sobie. (2) Nazwa „liszaj” pochodzi od greckiego wyrazu „*leichen*” oznaczającego roślinę z gatunku mchów, łaciński przymiotnik „*planus*” (płaski) natomiast wskazuje, że jego cechą charakterystyczną jest występowanie płaskich grudek. (3) Po raz pierwszy został opisany w 1869r. przed Erasmusa Wilsona, a histologicznie w 1906r. przez Dubdreuilh. (1,4) Schorzenie to, w zależności od źródła cytowania, ma różną częstość występowania w zakresie od 0,5 do 1,5%. (5) Pojawia się na ogół u pacjentów w średnim wieku, między 30. a 60. rokiem życia, z przewagą występowania u kobiet. Odnotowano również przypadki występowania u młodszych pacjentów, jednak są one rzadkie. (1,4,6)

Wykwitom skórnym i tym na błonie śluzowej towarzyszy świąd, a często również ból i pieczenie. Występowanie zmian o charakterze liszaja płaskiego wpływa znacząco na jakość życia pacjentów oraz ich stan psychiczny. (7) Cechą charakterystyczną liszaja płaskiego jest zmienny przebieg z okresami złagodzenia i zaostrzenia objawów choroby. (6)

Zmiany występujące wyłącznie w jamie ustnej określamy jako ustną postać liszaja płaskiego (łac.: OLP – *oral lichen planus*).

1.2 Etiopatogeneza liszaja płaskiego

Liszaj płaski to schorzenie o nadal niejasnej, a także bardzo skomplikowanej etiologii. W świetle aktualnej wiedzy autorzy są zgodni, że jest to proces immunologiczny zapoczątkowany przez nieznaną antygen, który aktywuje warstwę nabłonkowych keratynocytów, czyniąc je podatnymi na atak komórek układu immunologicznego. (8) Wiele czynników, między innymi bodźce psychiczne,

metaboliczne czy infekcyjne, mogą wywołać w obrębie skóry i błony śluzowej ekspresję nowych antygenów, które zapoczątkowują procesy immunologiczne.

Liszaj płaski występuje często w połączeniu z chorobami o udokumentowanym podłożu autoimmunologicznym, jak: cukrzyca, miastenia, łysienie plackowate, toczeń rumieniowaty, niedoczynność tarczycy, wrzodziejące zapalenie jelita grubego. (4,9,10) Pomimo to, sam nie jest klasycznym schorzeniem autoimmunologicznym, ponieważ nie jest znany specyficzny antygen wywołujący reakcję zapalną, będącą podstawą schorzenia. (4) U około 20% pacjentów postać ustna liszaja płaskiego współwystępuje z zajęciem błony śluzowej narządów płciowych, ta grupa objawów jest w literaturze określana mianem zespołu sromowo-pochwowo-dziąsłowego. (11) Postać ustna choroby występuje w około 25% przypadków.

Wśród czynników etiologicznych leżących u podstawy schorzenia wymienia się: genetyczny, psychoneurogeny, wirusowy, chemiczny, metaboliczny oraz immunologiczny.

1.2.1 Podłoże genetyczne

W wyniku przeprowadzonych rodzinnych badań genetycznych i badań obserwacyjnych mających na celu ocenę obecności zmian liszaja płaskiego, tę patologię stwierdzono u około 10% krewnych pierwszego stopnia osób chorych. Prawdopodobne rodzinne występowanie choroby wiąże się z obecnością konkretnej grupy antygenów thankowych (ang.: *human leukocyte antigen*) podtypu HLA-DR1, DQ1, DR3, DR9, a w postaci ustnej HLA-B15, Bw57, B5, B7, BX, DR2. (4) Istotnym czynnikiem ryzyka rozwoju postaci ustnej choroby może być polimorfizm genu kodującego interferon-gamma. (12) Podczas gdy wzrost allelu 308A czynnika TNF-alfa może determinować skórne występowanie choroby. (3)

1.2.2 Czynniki psychoneurogeny – liszaj płaski jako neurodermatoza

Rola czynnika psychoneurogennego jest w etiopatogenezie liszaja płaskiego analizowana od dawna. Jest ona jednak trudna do bezpośredniego udowodnienia. Według wielu autorów liszaj płaski jest schorzeniem psychosomatycznym, co oznacza, że nasilenie stresu może być czynnikiem wywołującym objawy choroby lub powodującym jej zaostrzenie. (7)

U pacjentów z objawami liszaja płaskiego na skórze i w jamie ustnej wykazano podwyższony poziom lęku i stresu, a także zwiększoną częstość występowania przypadków depresji. (7,13) W badaniach Manczyk i wsp. pacjenci ze zmianami OLP wykazali znacząco wyższe zaawansowanie depresji i lęku niż pacjenci bez żadnych zmian na błonie śluzowej jamy ustnej (grupa kontrolna). (13) Co więcej, zaostrzenia objawów liszaja występowały w powiązaniu z okresami nasilonego stresu. Badania sugerują ponadto, że nasilony stres emocjonalny jest prawdopodobnym czynnikiem przejścia formy siateczkowej OLP w erozyjną (3,13) Niektóre badania wykazały znaczący spadek jakości snu u pacjentów z OLP w porównaniu do grupy kontrolnej (mierzonej skalą jakości snu Pittsburgh'a). (13) Dodatkowo, według piśmiennictwa, u pacjentów z OLP podwyższony poziom kortyzolu w ślinie korelował pozytywnie z wysokim poziomem odczuwanego lęku. Co więcej, poza odczuwanym przez pacjentów dyskomfortem, obawiali się oni o możliwość zezłośliwienia zmian, a także o ich zakaźność. (3) Uznaje się, że podwyższony poziom stresu u pacjentów może wpływać na przebieg choroby modyfikując równowagę limfocytów Th1/Th2 i zwiększając odpowiedź Th2, co może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby autoimmunologicznej. (8) Pacjenci z OLP mogą wymagać dodatkowej opieki psychologicznej. Niektórzy autorzy sugerują ponadto możliwość wykorzystywania kwestionariuszy do oceny statusu psychologicznego na początku i w trakcie leczenia pacjentów z OLP. (7)

1.2.3 Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV)

Symetryczne występowanie zmian i obecność wtrętów wirusowych w badaniach mikroskopowych przemawiają na korzyść hipotezy o wirusowej etiologii zmian OLP. Pierwsze doniesienia o powiązaniu liszaja płaskiego z wirusowym zapaleniem wątroby typu C pojawiły się w 1991r. (3) W licznych badaniach wykazano częstsze występowanie zmian o charakterze liszaja płaskiego w przebiegu przewlekłego zapalenia wątroby typu C, co może być wyjaśnione zdolnością wirusa zapalenia wątroby typu C do replikacji w komórkach innych niż hepatocyty, np. komórkach skóry i nabłonka błony śluzowej. (6) Dodatkowo, wysoka zdolność do mutacji wirusa HCV prawdopodobnie aktywuje komórki układu odpornościowego (zwłaszcza limfocyty B i T) wzmagając ryzyko rozwinięcia odpowiedzi immunologicznej. (6)

Zasugerowano także, że leki stosowane w leczeniu przewlekłych chorób wątroby - interferon i rybawiryna, mogą być czynnikiem spustowym wystąpienia na błonie śluzowej jamy ustnej wykwitów podobnych w obrazie klinicznym do zmian liszaja płaskiego. (6,8) W zależności od źródła, częstość występowania infekcji HCV u pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego waha się między 0,5% a 35%. (14)

Wspólne występowanie liszaja płaskiego i wirusowego zapalenia wątroby typu C wykazuje duże zróżnicowanie geograficzne. Systematyczne przeglądy piśmiennictwa wykazały znacznie częstsze współwystępowanie tych dwóch jednostek chorobowych w krajach śródziemnomorskich, Japonii i Stanach Zjednoczonych, a znacząco niższe w Europie Północnej. (3) Najprawdopodobniej to zróżnicowanie występowania wynika z podłoża genetycznego (obecności różnych antygenów HLA). (3) Przykładem może być populacja pacjentów włoskich, gdzie znacząca większość osób z OLP seropozytywnych dla HCV posiadało podtyp HLA-DR6. (3)

Niektórzy autorzy postulują konieczność przesiewowego badania u pacjentów z liszajem płaskim miana przeciwciał anti-HCV (2)

1.2.4 Wirus HPV i inne, a liszaj płaski

Liczne badania wykazały częstsze występowanie wirusa HPV (ang.: *human papilloma virus* – wirus brodawczaka ludzkiego) w zmianach liszaja płaskiego w jamie ustnej. W badaniu Syrjänen i wsp. autorzy wykazali statystycznie wyższy poziom HPV 16 u pacjentów z OLP w porównaniu do zdrowych. (15) Ponadto, częstość występowania wirusa wzrastała wraz z zaawansowaniem obrazu klinicznego OLP. Obecność HPV w zmianach może nasilać ryzyko przemiany nowotworowej. W badaniach Mahnaz i wsp. częstość występowania HPV 16 wynosiła 27,5 % w materiale z biopsji z jamy ustnej pacjentów z liszajem płaskim. Dodatkowo, obecność HPV 16 w zmianach dysplastycznych OLP była istotnie wyższa i wynosiła 57%, niż w zmianach OLP bez dysplazji gdzie stwierdzono obecność wirusa w 15%. (8,15–17) Autorzy sugerują, że wysoka częstość wykrywania wirusa HPV w zmianach liszaja płaskiego może być związana z częstszym występowaniem nadżerek błony śluzowej jamy ustnej, będących miejscami podatnymi na infekcję wirusową, a także stosowaniem w leczeniu preparatów kortykosteroidowych, które mogą sprzyjać replikacji wirusowej. (6)

Dyskutowana jest obecność innych wirusów neurotropowych, jak wirus Epstein-Barr, herpes simplex, cytomegalowirus i innych, a także ich związek ze zmianami LP w jamie ustnej.

Znane są kazuistyczne doniesienia o wystąpieniu zmian o obrazie klinicznym przypominającym liszaja płaskiego po szczepieniu przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby typu B.(18)

1.2.5 Dysfunkcja tarczycy

Wśród czynników etiologicznych występowania liszaja płaskiego, na uwagę zasługuje związek między obecnością zmian OLP a niedoczynnością tarczycy i zapaleniem tarczycy typu Hashimoto. Istotą zapalenia Hashimoto jest obecność nacieków limfocytarnych tarczycy i wytwarzanie przeciwciał przeciw antygenom tarczycowym, co dowodzi autoimmunologicznej etiologii schorzenia. Choć liszaj płaski nie jest klasycznym schorzeniem autoimmunologicznym, to cechą charakterystyczną zmian OLP jest naciek limfocytów T skierowany przeciwko keratynocytom warstwy podstawnej nabłonka. Badania Robledo-Sierra i wsp. wykazały istotnie podwyższony poziom TSH i obniżony poziom FT4 w surowicy krwi pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego, wskazując na niezdiagnozowaną lub subkliniczną postać niedoczynności tarczycy. (19) Natomiast w badaniach Lo i wsp. z 2013r. częstość występowania choroby Hashimoto u pacjentów z OLP wynosiła 14,3%, podczas gdy w całej populacji przyjęto wartość 1% (według badania NHANES III przeprowadzonego w Stanach Zjednoczonych w 2002r.). (20,21) Badanie przeprowadzono na grupie 105 pacjentów, spośród których u 15 osób zdiagnozowano równocześnie chorobę Hashimoto. (22) Również Zhou i wsp. (23) na podstawie otrzymanych wyników podkreślili powiązanie OLP/OLL z chorobą Hashimoto w populacji chińskiej.

Metaanaliza wielu opublikowanych badań również wskazała na obecność nadal niewyjaśnionego zagadnienia powiązania autoimmunologicznej choroby tarczycy i liszaja płaskiego.(24)

Liczne publikacje podają, że u pacjentów przyjmujących lewotyroksynę w ramach leczenia niedoczynności tarczycy wykazano wyższą częstość występowania zmian OLP, co może również świadczyć o reakcji lichenoidalnej, odczynowej na stosowany lek (ang.: OLL – *oral lichenoid lesion*). (3,10,25) Zdecydowana

większość piśmiennictwa podaje, że schorzenia tarczycy inne niż niedoczynność tarczycy i zapalenie Hashimoto występują u pacjentów z liszajem płaskim w podobnej częstości jak u zdrowych pacjentów. (25)

Powyższe wyniki badań sugerują, że wszyscy pacjenci z OLP, a szczególnie kobiety, które statystycznie częściej cierpią na schorzenia tarczycy, powinni być poddawani badaniom przesiewowym w kierunku chorób tarczycy. (21,26)

1.2.6 Cukrzyca i nadciśnienie

Związek między cukrzycą, nadciśnieniem i liszajem płaskim został po raz pierwszy wykazany na małej grupie pacjentów przez Grinspana i współpracowników, którzy ogłosili wyniki swoich badań na Kongresie Dermatologicznym w Buenos Aires w 1963r. (27,28) Ta triada objawów chorobowych, często równocześnie diagnozowanych, została nazwana zespołem Grinspana. (28) W przypadku cukrzycy upośledzona funkcja endokrynną może powodować rozregulowanie układu odpornościowego i w konsekwencji wystąpienie objawów liszaja płaskiego w jamie ustnej. Zachorowalność na cukrzycę wśród pacjentów z OLP waha się między 1,6% a 37,7% według różnych autorów. (29)

W patogenezie nadciśnienia tętniczego niezwykle rolę odgrywa układ immunologiczny, zwłaszcza odporność typu komórkowego. Istotą mechanizmu nadciśnienia tętniczego jest reakcja zapalna na neoantygeny, powstające wskutek stresu oksydacyjnego. Następnie neoantygeny prowadzą do aktywacji limfocytów T, nadprodukcji cytokin prozapalnych (zwłaszcza IL-6, IL-17 I TNF-alfa) i rozwoju nadciśnienia tętniczego. Patogeneza trzech jednostek chorobowych opisywanych jako zespół Grinspana wykazuje więc wiele podobieństw. (27)

Lamey i wsp. jako pierwsi postulowali, że prawdopodobna jest też reakcja lichenoidalna na leki przyjmowane przez tą grupę pacjentów. (3,14) Mechanizm polekowej reakcji lichenoidalnej pozostaje niejasny. Jedną z teorii wskazuje na uszkodzenie keratynocytów warstwy podstawnej nabłonka z tworzeniem przeciwciał. Zmiany OLP na błonie śluzowej występujące w tej grupie pacjentów mają często mniej charakterystyczny przebieg, układ zmian jest mniej symetryczny, częste jest współwystępowanie postaci erozyjnej. (4,30) Dodatkowo zmiany liszaja płaskiego w jamie ustnej u pacjentów ze schorzeniami współistniejącymi są bardziej odporne na leczenie, wykazują częstsze nawroty.

1.2.7 Choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (Graft versus Host Disease-GvHD)

Obraz kliniczny liszaja płaskiego w jamie ustnej wykazuje znaczne podobieństwo do obrazu choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. GvHD to niepożądana reakcja w organizmie biorcy przeszczepu na wprowadzone obce antygenowo limfocyty. Powikłania w jamie ustnej są częste i występują nawet u 80% pacjentów. (3) Chorobę tę określa się jako ostrą, kiedy rozwija się do 100 dni po przeszczepie i jako przewlekłą, jeśli rozwija się po tym czasie. Istotą schorzenia jest naciekanie przez limfocyty T obcych antygenowo tkanek gospodarza. Najczęściej zajętymi narządami są przewód pokarmowy, wątroba i skóra. (30)

Zarówno w OLP jak i GvHD w obrazie histopatologicznym wycinków z jamy ustnej stwierdza się uszkodzenie keratynocytów warstwy podstawnej, nieregularne rogowacenie nabłonka, nacieki złożone z limfocytów T, komórek NK, komórek Langerhansa oraz komórek pamięci. Mimo, że obraz obu jednostek jest zbliżony, w GvHD obserwuje się mniejszy naciek limfocytarny, mniejszą ilość komórek CD4+, a zwiększoną liczbę komórek CD8+, komórek plazmatycznych i eozynofili. (4,30)

1.2.8 Czynniki metaboliczne

Niektórzy autorzy wskazują znaczenie niedoboru niektórych witamin w etiopatogenezie liszaja płaskiego jamy ustnej, jednak rola tego czynnika nie jest dokładnie wyjaśniona i udokumentowana. W literaturze istnieją liczne doniesienia o obniżonym poziomie witamin w schorzeniach o podłożu autoimmunologicznym, zwłaszcza witaminy D. Rola tej witaminy w regulacji pracy układu odpornościowego jest znacząca – wpływa na aktywację i proliferację limfocytów (m.in. T-helper), wytwarzanie swoistych przeciwciał, regulację odpowiedzi immunologicznej. (31) Bahramian i wsp. porównali poziom witaminy D w surowicy pacjentów zdrowych i ze zmianami OLP i stwierdzili jego obniżenie u chorych, ale nie było ono statystycznie istotne. (31) W badaniach Akanksha i wsp. natomiast poziom witaminy D3 w surowicy pacjentów z OLP był istotnie statystycznie niższy niż w grupie kontrolnej. (31)

Należy podkreślić, że poziom witaminy D w surowicy pacjentów wykazuje znaczną zmienność w zależności od szerokości geograficznej, a wyniki badań porównujących poziom tej witaminy u pacjentów z OLP i zdrowych są niejednoznaczne. (31)

1.2.9 Czynniki immunologiczne

Liszaj płaski często występuje w połączeniu z chorobami autoimmunologicznymi, jednak sam nie jest klasycznym zaburzeniem autoimmunologicznym – nie są znane specyficzne antygeny wywołujące reakcję zapalną. (4)

Większość autorów jest zgodnych, że liszaj płaski jest wynikiem reakcji typu komórkowego. Istotą tego procesu jest atak limfocytów T skierowany przeciwko keratynocytom warstwy podstawnej nabłonka. (32–34) Zarówno zewnętrzne – jak i wewnętrzne czynniki mogą zainicjować odpowiedź immunologiczną u pacjenta podatnego genetycznie. (1) Wśród autoantygenów opisuje się białko szoku termicznego (ang.: HSP – *heat shock protein*). Ekspresja HSP wzrasta pod wpływem m.in. wzrostu temperatury, wirusów, leków, niedoborów metabolicznych. (8) Wśród czynników zewnętrznych mogą to być wymienione wyżej czynniki psychologiczne, wirusowe, systemowe. W odpowiedzi na obecność antygeny dochodzi do nacieków prozapalnych z komórek Langerhansa oraz okolicznych limfocytów (IL1, IL-8, TGF- α). Jest to potwierdzone w badaniu histopatologicznym – znamieny jest naciek limfocytarny tuż pod błoną podstawną. Przeważające początkowo limfocyty pomocnicze CD4+ biorą udział w zjawisku prezentacji antygenów przez komórki dendrytyczne Langerhansa, które tworzą głębszą warstwę nacieku, umiejscowioną w tkance łącznej. (35) Wraz z progresją choroby w nacieku zaczyna przeważać populacja limfocytów T cytotoksycznych/supresorowych (CD8+), które są odpowiedzialne za reakcję cytotoksyczną, uszkodzenie keratynocytów i uwolnienie szeregu cytokin: IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-17, TNF- α , INF- γ , co powoduje dalszą progresję zmian. (1,3,8,18,36). Apoptoza keratynocytów objawia się klinicznie powstaniem nadżerek.

Ważną rolę w etiopatogenezie liszaja płaskiego odgrywają ponadto komórki dendrytyczne (m.in. komórki Langerhansa i komórki plazmatyczne). Aktywują one limfocyty T i prowadzą do reakcji zapalnej. Najwcześniej występującą zmianą jest zwiększenie liczby komórek dendrytycznych Langerhansa. [22] To one odpowiadają

za wychwyt i prezentację antygeny limfocytom T (pierwotna odpowiedź immunologiczna), a także komórkom pamięci (wtórna odpowiedź immunologiczna odpowiedzialna za objawy choroby) poprzez kompleks zgodności tkankowej MHC II. (8) Dodatkowo miejscowa produkcja interferonu-gamma przez limfocyty CD4+(Th1) może podtrzymywać ekspresję MHC II przez keratynocyty, co współistnieje z przewlekłym przebiegiem liszaja płaskiego. Istotną rolę w uszkodzeniu keratynocytów odgrywają także komórki tuczne, które uwalniają cytokiny prozapalne takie jak: IL-3, IL-4, IL-5 oraz TNF-alfa. Cytokiny te działają jako autokrynne czynniki pobudzenia lub zahamowania wzrostu komórkowego. Całkowity efekt proliferacji keratynocytów wynika z przeciwstawnych aktywności, co w badaniu histopatologicznym można zaobserwować jako wzory wzrostu i zaniku nabłonka. Lokalna aktywacja limfocytów T i produkowane przez nie cytokiny wpływają na dalszy rozwój i rozprzestrzenianie się zmian. (18)

W dalszej kolejności, następuje wzmożona migracja limfocytów przez tkankę łączną. (8) Badania wykazały, że w OLP znaczącą rolę odgrywa zaburzenie równowagi pomiędzy poziomem metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP – ang: *matrix metalloproteinases*) i tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (TIMP – ang: *tissue inhibitors of metalloproteinases*). W różnych klinicznych formach liszaja płaskiego (erozyjne i nieerozyjne) występują istotne statystycznie różnice w poziomie ekspresji różnych metaloproteinaz, przy czym MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-4 są zwykle związane z wystąpieniem zmian o charakterze erozyjnym. Co więcej, MMP-2 i MMP-9 są opisywane jako możliwy marker ryzyka przemiany nowotworowej zmian liszaja płaskiego w jamie ustnej.(8)

Badania wykazały, że polimorfizm genów niektórych cytokin (IFN-gamma, TNF-alfa, IL-4, IL-10) może być odpowiedzialny za podatność na zachorowanie na OLP. (37)

Kolejnym argumentem za podłożem immunologicznym LP jest podobieństwo obrazu klinicznego i histopatologicznego do nadwrażliwości typu późnego (typ IV), charakterystycznej dla reakcji alergicznych. (38)

1.2.10 Zmiany lichenoidalne – OLL – Oral Lichenoid Lesions / OLR – Oral Lichenoid Reactions

W piśmiennictwie występuje różnicowanie na liszaj płaski idiopatyczny OLP i OLL – ustne zmiany lichenoidalne. Jeśli występuje udowodniony związek z określonym czynnikiem patologicznym, a zmiany na błonie śluzowej ustępują po jego eliminacji określa się je jako zmianę lichenoidalną lub reakcję lichenoidalną - OLL/OLR. Obraz kliniczny i histologiczny ustnych zmian lichenoidalnych jest niezwykle zbliżony z idiopatycznym liszajem płaskim. Zmiany OLL są mniej symetryczne niż OLP, często występują jednostronnie na dystalnej powierzchni błony śluzowej policzka lub brzegu języka. W obrazie klinicznym może nie występować typowa siateczka, prezentując postać płytkową lub atroficzną. (11)

Ustne zmiany lichenoidalne mogą być spowodowane czynnikami miejscowymi, jak materiały stomatologiczne (amalgamat, związki metali). Powiązано również powstawanie tych zmian z przyjmowaniem niektórych leków, wśród których wymienia się:

- beta-blokery,
- inhibitory ACE,
- penicylaminę,
- metyldopę,
- sole złota,
- ibuprofen,
- furosemid i wiele innych. (11,14,32)

W przypadku występowania zmian o charakterze liszaja płaskiego w jamie ustnej zawsze konieczne jest zebranie bardzo dokładnego wywiadu odnośnie leków przyjmowanych przez pacjenta. W rzadkich przypadkach czynnikiem sprawczym mogą być leki przyjmowane nawet do 2 lat przed wystąpieniem zmian OLP i/lub zmian skórnych.

Zmiany lichenoidalne są wynikiem reakcji nadwrażliwości typu IV na związek chemiczny i po usunięciu czynnika przyczynowego, wycofują się. (11) Dodatkowo, inne choroby śluzówkowo-skinne, jak pemfigoid, choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD), toczeń rumieniowaty krążkowy, mogą dawać objawy podobne do zmian lichenoidalnych. (30)

1.3 Obraz kliniczny liszaja płaskiego

Obraz kliniczny liszaja płaskiego może różnić się w zależności od lokalizacji choroby. Zmiany na skórze mają postać płasko-wyniosłych grudek barwy szaroczerwonej lub niebieskawej, może im towarzyszyć nasilony świąd i dyskomfort. Wykwity mogą ustępować z pozostawieniem długo utrzymujących się przebarwień, zwłaszcza u osób o ciemnej karnacji. Najczęstszą lokalizacją zmian skórnych są nadgarstki i podudzia.

Zmiany w obrębie błony śluzowej jamy ustnej mają zróżnicowaną postać. Zmiany liszaja płaskiego najczęściej lokalizują się obustronnie na policzkach, ale mogą występować też w innych lokalizacjach jamy ustnej: na języku, dziąsłach, wargach, najrzadziej na podniebieniu. (1,4,5) Wykwitem pierwotnym liszaja płaskiego jest grudka. (2)

Klinicznie wyróżnia się sześć typów OLP (Andreasen, 1968r.), które mogą występować pojedynczo lub łącznie: siateczkowy, płytkowy, plamkowy, atroficzny, erozyjny i pęcherzowy. Najczęściej występujące to postać siateczkowa, erozyjna (wrzodziejąca) i płytkowa. (1,3) U pacjentów starszych wzrasta częstość występowania formy erozyjnej i atroficznej. (3)

Siateczkowy OLP (ang.: *reticular OLP*), najczęstszy, charakteryzuje się występowaniem grudek o średnicy ok. 2 mm, koloru mlecznobiałego. Grudki układają się w drzewkowaty układ cienkich, białych prążków, o wzorze siateczki, będącej rezultatem przerostu warstwy ziarnistej. (1,4) Zmiany te występują obustronnie na błonie śluzowej policzków w okolicy zębów przedtrzonowych i trzonowych, na bocznych powierzchniach języka i dziąsłach. Zmiany OLP mogą występować w każdej lokalizacji jamy ustnej, jednak podniebienie jest bardzo rzadko objęte wykwitami.

W przypadkach braku charakterystycznej siateczki postawienie prawidłowej diagnozy może być trudne i konieczne jest potwierdzenie poprzez pobranie biopsji i weryfikację histopatologiczną. (3) Grudki tworzą się często na skutek uszkodzającego bodźca mechanicznego, jest to tzw. zjawisko Köbnera. Zmiany siateczkowe są zwykle początkowo bezobjawowe. (1,5,13). Ból, pieczenie, dyskomfort może pojawiać się w związku z progresją zmian, pojawieniem się dodatkowego czynnika drażniącego lub nadkażenia grzybiczego.



Ryc. 1. Postać siateczkowa liszaja płaskiego na błonie śluzowej policzka



Ryc. 2. Postać siateczkowa liszaja płaskiego na błonie śluzowej policzka



Ryc. 3. Postać siateczkowa liszaja płaskiego na dziąśle

Postać erozyjna (ang.: *erosive OLP*) powstaje często w wyniku zaostżenia zmian siateczkowych i/lub atroficznych. Klinicznie zmiany te mają postać czerwonych lub czerwono-białych plam, o zróżnicowanych kształtach, są często pokryte włóknikiem lub błoną rzekomą. (4)



Ryc. 4. Postać erozyjna liszaja płaskiego – na błonie śluzowej bocznej powierzchni języka

Często obserwowana na błonie śluzowej jamy ustnej jest postać płytkowa, klinicznie przypominająca leukoplakię, w postaci homogennej, uniesionej, białej płytki występującej najczęściej na powierzchni grzbietowej i bocznych języka, rzadziej na policzkach. (3,4)



Ryc. 5. Postać płytkowa liszaja płaskiego na błonie śluzowej grzbietowej powierzchni języka

W postaci atroficznej (ang.: *atrophic OLP*) czerwone zmiany liszaja są otoczone charakterystyczną białą siateczką. Jeśli występują na dziąsłach diagnozujemy je jako “złuszczające zapalenie dziąseł”, które może występować także w innych schorzeniach śluzówkowo-skórnych, jak np. pemfigoid, pęcherzyca, rumień wysiękowy wielopostaciowy i inne. (1)

Zmiany te są zazwyczaj bolesne i trudne w leczeniu.(4,39) Utrudniają zachowanie prawidłowej higieny jamy ustnej, co może prowadzić do nadkażenia (np. grzybiczego), nasilenia się zmian i wzrostu objawów bólowych. Mogą być również powikłane zapaleniem dziąseł związanym z obecnością płytki bakteryjnej. (4)



Ryc. 6. Postać atroficzna liszaja płaskiego – błona śluzowa bocznej powierzchni języka (potwierdzona wynikiem histopatologicznym).



Ryc. 7. *Gingivitis desquamativa* – złuszczające zapalenie dziąseł - postać erozyjna, jako objaw zmian OLP

Zmiany OLP, które występują łącznie z brązowymi, płytkowymi depozytami melaniny są określane jako melanoza zapalna. (1) Badania wycinków histopatologicznych pacjentów z OLP mogą wykazywać obecność dużej liczby melanofagów i depozytów melaniny, częściej u pacjentów z ciemną karnacją. To zjawisko nie jest specyficzne dla liszaja płaskiego, występuje również w zmianach lichenoidalnych, a także wielu chorobach zapalnych skóry. (30,40)

Zmiany liszaja płaskiego objawowego mogą być związane z dużym dyskomfortem w przyjmowaniu pokarmów (szczególnie ostrych, kwaśnych), użytkowaniu uzupełnień protetycznych, a także wykonywaniu zabiegów higienicznych. (1) Należy podkreślić rolę dokładnej higieny jamy ustnej, by zmniejszyć ryzyko pojawienia się zmian atroficznych i erozyjnych, a także obniżyć ryzyko nadkażenia. Zmiany OLP często trwają latami, z okresami remisji i zaostrzeń objawów. U starszych pacjentów przebieg choroby jest zwykle cięższy. (1)

Liszaj płaski jamy ustnej jest uznawany za stan potencjalnie złośliwy, ponieważ opisywano ryzyko przemiany zmian OLP w raka kolczystokomórkowego. (41) Według danych WHO to ryzyko jest niskie, wynosi około 0,95% i jest to poziom podobny do ogólnego występowania nowotworów w populacji. (5) (1-5%).

Ryzyko transformacji nowotworowej zmian OLP budzi wiele kontrowersji, ze względu na różnorodne kryteria diagnostyczne zastosowane w badaniach, trudność w różnicowaniu z zmianami potencjalnie złośliwymi, oceniany różny czas obserwacji, a także współwystępowanie wielu trudnych do obiektywnej oceny, a nakładających się czynników ryzyka jak palenie tytoniu, nadużywanie alkoholu. W retro- i prospektywnych badaniach kohortowych opisywano rozwój raka kolczystokomórkowego nie tylko w jamie ustnej, ale również w okolicy anogenitalnej i w przełyku. (2) Ryzyko przemiany nowotworowej jest znacząco wyższe dla zmian atroficznych i erozyjnych (1,5,42), a także dla zmian lichenoidalnych. (4) Czynniki, które zwiększają ryzyko przemiany nowotworowej to między innymi palenie tytoniu, oraz zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu C. Współwystępująca cukrzyca oraz płeć żeńska należą do czynników istotnie zwiększających ryzyko zezłośliwienia zmian OLP i OLL. (43,44)

1.4 Diagnoza kliniczna i obraz histopatologiczny liszaja płaskiego

Rozpoznanie postaci siateczkowej OLP nie sprawia trudności doświadczonemu klinicyście i zwykle wstępną diagnozę można postawić bez weryfikacji histopatologicznej. Występowanie zmian liszaja na skórze lub w innych lokalizacjach dodatkowo ułatwia postawienie rozpoznania tej choroby na błonie śluzowej jamy ustnej.

Diagnoza różnicowa w liszaju płaskim powinna obejmować przede wszystkim: leukoplakię (zwłaszcza w postaci płytkowej w szczególności na grzbietowej powierzchni języka), przewlekłą kandydozę, zmiany związane z chorobami pęcherzowymi, zmiany w przebiegu toczenia rumieniowatego oraz objawy w jamie ustnej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD). (1)

W celu uzyskania wstępnego rozpoznania różnicującego zmiany OLP z leukoplakią można przeprowadzić na błonie śluzowej nieskeratynizowanej próbę jodową z zastosowaniem roztworu płynu Lugola, czyli jodu w jodku potasu. Istotą testu, jest obecność zabarwienia związanego z połączeniem jodu z glikogenem obecnym w prawidłowym nabłonku, co powoduje ciemnobrązowe zabarwienie podłoża, a zmiany białe liszaja nie wybarwiają się i są bardziej widoczne. Czasami dopiero po wykonaniu tego testu uwidaczniają się białe wykwity wcześniej słabo widoczne w badaniu klinicznym.



Ryc. 8. Postać siateczkowo-płytkowa liszaja płaskiego, zmiany białe widoczne po wybarwieniu płynem Lugola.

Złotym standardem w diagnostyce liszaja płaskiego pozostaje biopsja zmiany i badanie histopatologiczne. Badania te pozwalają na wykluczenie obecności dysplazji i złośliwego charakteru zmiany. (3)

Histologiczne cechy rozpoznania OLP są podobne do cech postaci skórnej (opisane po raz pierwszy w 1906r. przez Dubreuill). (40)

Zweryfikowane, aktualne wytyczne WHO w diagnozowaniu OLP pochodzą z 2003r. W obrazie mikroskopowym występuje hiperkeratoza, orto- lub parakeratoza. Obserwuje się zwyrodnienie wodniczkowe keratynocytów warstwy podstawnej i zgrubienie warstwy ziarnistej. Sople nabłonkowe są uciśnięte i tworzą charakterystyczny obraz “zębów piły”. Występuje uszkodzenie włókien elastycznych i obfity naciek limfocytarny, natomiast nabłonkowa dysplazja jest nieobecna. (5,8) W warstwie podstawnej obserwowana jest apoptoza komórek i tzw. ciała Civatte’a. Są to koloidalne ciała utworzone przez degenerujące keratynocyty, które przybierają postać homogennych struktur eozynofilowych. (1,3,4) Są zwykle zlokalizowane w głębszych warstwach nabłonka lub górnych warstwach tkanki łącznej. Ciała koloidalne są uważane przez autorów za bardzo typową cechę histopatologiczną liszaja płaskiego. Badanie Vij i współpracowników wykazało, że mogą one pozwolić na różnicowanie OLP od OLL. W zmianach lichenoidalnych ciała Civatte’a występują zwykle w warstwie kolczystej, a w idiopatycznym LP są zlokalizowane w połączeniu nabłonkowo-łącznotkankowym. (1,45)

W populacji osób, u których rzadziej obserwuje się występowanie OLP, a więc wśród mężczyzn i osób w młodszym wieku, w obrazie histopatologicznym i immunohistochemicznym opisywane jest większe zaawansowanie zmian (46)

W badaniach Górskiej i wsp. wykazano różnice w obrazie histopatologicznym zmian OLP z jednoczesną infekcją *C. albicans*. Zaobserwowano większe nasilenie nacieku zapalnego, większą liczbę limfocytów T(CD4+), limfocytów cytotoksycznych/supresorowych (CD8+) oraz komórek NK(CD57+) w porównaniu ze zmianami bez stwierdzonej infekcji grzybiczej. U żadnego z tych pacjentów nie stwierdzono ciałek koloidalnych, typowych dla liszaja płaskiego. (46)

Drogoszewska i wsp. przeprowadzili badanie dermatoskopowe (ang.: *direct oral microscopy*) zmian liszaja płaskiego w jamie ustnej. W tym badaniu potwierdzono, że ta metoda pozwala na znalezienie najlepszego miejsca do biopsji, a także skuteczniej diagnozuje zmiany o potencjale nowotworowym. (47)

W diagnostyce OLP potwierdzoną w badaniach skuteczność wykazuje także immunofluorescencja bezpośrednia. W badaniu widać ciała Civatte'a i IgM wzdłuż błony podstawnej wraz z komponentą C3 dopełniacza. (3) To badanie jest pomocne także w trudnych do zdiagnozowania histopatologicznie przypadkach OLP. (48)

1.5 Leczenie OLP

Postępowanie terapeutyczne w liszaju płaskim jest wciąż ogromnym wyzwaniem dla klinicystów ze względu na jego niejasną etiologię. Podstawą wdrożenia prawidłowego postępowania jest diagnoza oparta na badaniu podmiotowym, przedmiotowym, potwierdzona w razie wskazań badaniem histopatologicznym. Leczenie ustnej postaci liszaja płaskiego jest zwykle objawowe i u większości pacjentów udaje się uzyskać wyeliminowanie lub złagodzenie objawów. (4) Z uwagi na ograniczone dane pochodzące z randomizowanych badań kontrolowanych wybór metody leczenia zależy przede wszystkim od doświadczenia klinicznego. (2)

Postać siateczkowa bezobjawowa zwykle nie wymaga leczenia, ale konieczna jest kontrola zmian i ich obserwacja. Natomiast, w innych bardziej zaawansowanych postaciach OLP niezbędne jest wdrożenie odpowiedniego postępowania. (1) Celem terapii jest wygojenie zmian nadżerkowych, zmniejszenie dolegliwości bólowych i związanych z nimi trudności w przyjmowaniu pokarmów i płynów.

Dokładnie zebrany wywiad może dostarczyć informacji o przyjmowanych przez pacjenta lekach, które mogą powodować reakcję lichenoidalną. (3) Jeśli jest to możliwe, w porozumieniu z lekarzem prowadzącym, można podjąć próbę modyfikacji leczenia choroby podstawowej.

Istotne jest wyeliminowanie potencjalnych drażniących bodźców, jak np. ostre brzegi zębów, nieprawidłowo wykonane wypełnienia, złogi nazębne czy pozostałości korzeniowe. W zaleceniach dla pacjentów z OLP należy pamiętać o łagodnej diecie z ograniczeniem pokarmów kwaśnych, ostrych, gorących, a także instruktazu dokładnej higieny jamy ustnej. (1) Znane karcynogeny, jak alkohol i tytoń, powinny być wyeliminowane. Udowodniono, że unikanie i eliminacja czynników drażniących, mechanicznych i/lub chemicznych, termicznych zmniejsza częstotliwość nawrotów i zaawansowanie objawów LP. (33)

Zalecane jest unikanie drażniących płukanek i środków do higieny jamy ustnej, jak np. płukanki z zawartością alkoholu, mentolu i związków zapachowych. Wskazane natomiast jest leczenie osłaniające, jak preparaty z zawartością Inu, kwasu hialuronowego, witaminy A i E, olejów. (2,4)

Preferowanym leczeniem farmakologicznym są preparaty miejscowe, z uwagi na możliwość zminimalizowania systemowych działań niepożądanych. (49)

1.5.1 Glikokortykosteroidy

Najczęściej stosowanymi lekami pierwszego wyboru, o udokumentowanej skuteczności klinicznej w OLP, są glikokortykosteroidy (GKS) aplikowanymi miejscowo (fluocinolon, clobetazol). (3,50–52) Są to leki działające przeciwzapalnie, przeciwalergicznie i immunosupresyjnie. (52) Efekt przeciwzapalny osiągają m.in. dzięki: inhibicji syntezy cytokin prozapalnych (IL-1, IL-3, IL-6), zaburzeniu działania komórek Langerhansa, hamowaniu proliferacji limfocytów T, B i mastocytów. (53) Dostępne są one w postaci miejscowych żeli/maści lub płukanek. Odpowiednia adhezja leku do powierzchni błony śluzowej jest ważnym elementem leczenia, dlatego istotnym jest poinstruowanie pacjenta o konieczności wysuszenia błony śluzowej przed aplikacją. Po nałożeniu leku pacjent powinien powstrzymać się od picia, jedzenia i mówienia. Badania potwierdzają, że ogólnoustrojowe przenikanie miejscowo stosowanych glikokortykosteroidów jest bez znaczenia klinicznego. Wykazują one miejscowo wysoką skuteczność w eliminowaniu objawów bólu i pieczenia, mają jednak działania uboczne jak:

- wtórna kandydoza,
- zmiany zanikowe błony śluzowej jamy ustnej,
- kserostomia,
- ból gardła. (3)

Stosowanie glikokortykosteroidów miejscowych skojarzonych z lekiem przeciwgrzybiczym ma pozytywny wpływ na gojenie się zmian liszaja płaskiego. (52) Uogólnione zmiany erozyjne lub atroficzne, szczególnie te nieodpowiadające na leczenie miejscowe lub utrudniające połykanie mogą być leczone ogólnoustrojowo. (1,52) Kolejnym wskazaniem do systemowego podania GKS ogólnie są towarzyszące zmiany liszaja płaskiego w innych lokalizacjach (skóra, genitalia, przełyk). Stosuje się wtedy glikokortykosteroidy doustne, np. prednizon w dawce 0,5-1,0mg./kg/24h przez 4-6tyg, (2) Wiąże się to jednak z dużym ryzykiem działań niepożądanych, takich jak: bezsenność, retencja płynów, zaburzenia gospodarki węglowodanowej, powstawanie zmian skórnych o charakterze rozstępów. (6) Dodatkowo, brakuje jednoznacznych danych potwierdzających skuteczność tej metody leczenia. Po przerwaniu leczenia zmiany najczęściej powracają. Leczenie takie powinno być prowadzone przez lekarza dermatologa lub w ramach leczenia zespołowego.

1.5.2 Inhibitory kalcyneuryny

Inną grupą leków stosowanych miejscowo u pacjentów z OLP są inhibitory kalcyneuryny : takrolimus, pimekrolimus i cyklosporyna A. (1,54) Leczenie ustnej postaci liszaja płaskiego tymi preparatami odbywa się poza ich rejestracyjnymi wskazaniami (off-label). Są to leki o działaniu immunomodulującym i przeciwzapalnym podawane pacjentom po transplantacjach narządów w celu zapobiegnięcia odrzucenia przeszczepów. Kalcyneuryna funkcjonuje w komórkach jako element szlaku sygnalizującego prowadzącego do aktywacji komórek T. Mechanizm działania inhibitorów kalcyneuryny polega na wiązaniu się z receptorem cytoplazmatycznym limfocytów T, co implikuje utworzenie kompleksu, który działa hamująco na kalcyneurynę i prowadzi do obniżenia produkcji cytokin prozapalnych (w szczególności IL-2, także IL-4, IL-5). (55,56) Działania niepożądane, jakie mogą wystąpić po podaniu tych leków to: przejściowe zaburzenia smaku, uczucie pieczenia i mrowienia, grzybica jątrogenna.

Badania dowodzą, że preparat do stosowania miejscowego z takrolimusem o stężeniu 0,1% jest dobrze tolerowany i skuteczny w erozyjnej postaci liszaja płaskiego, po braku odpowiedzi na kortykosteroidy lub przy konieczności dłuższego leczenia. (1) Inne badania porównujące skuteczność 0,1% maści z takrolimusem i 0,05% preparatu klobetazolu wykazały wyższą skuteczność takrolimusu. (9)

Pimekrolimus ma podobne działanie do takrolimusu, wchodzi w reakcję z makrofiliną-12 i hamuje proliferację limfocytów T – zarówno Th1, jak Th2, ale jest bardziej wybiórczy (nie wpływa na proliferację komórek Langerhansa).(57)

W badaniu Soria i wsp., siedmiu pacjentów z erozyjną nawracającą postacią liszaja płaskiego w jamie ustnej poddano leczeniu preparatem sirolimus do stosowania miejscowego (1mg/1ml), dwa razy dziennie przez okres trzech miesięcy. U czterech pacjentek z grupy badanej nastąpiła całkowita remisja zmian erozyjnych, a u dwóch zmiany wycofały się częściowo. Jedna pacjentka zrezygnowała z kontynuacji leczenia z powodu miejscowego dyskomfortu. Autorzy proponują preparat sirolimus jako skuteczny lek w nawracających zmianach erozyjnego OLP, który powoduje występowania niewielkich skutków ubocznych. (58)

Cyklosporyna A jest lekiem immunosupresyjnym dającym dobre efekty terapeutyczne w leczeniu skórnej postaci liszaja płaskiego. Lek ten hamuje produkcję interleukiny 1 z monocytów i interleukiny 2 z limfocytów T pomocniczych. Proliferacja

limfocytów T jest także zahamowana przez ten lek, co może tłumaczyć możliwą skuteczność cyklosporyny w leczeniu liszaja płaskiego. (59) Według licznych doniesień cyklosporyna w postaci płukanki (5ml trzy razy dziennie roztworu 100mg/ml) była skuteczna w ciężkich postaciach OLP. Najnowsze badania porównujące efektywność roztworu cyklosporyny i 0,1% maści z triamcinolonem nie wykazały istotnie wyższej skuteczności cyklosporyny. Skutki uboczne leczenia cyklosporyną obejmują m.in.: pieczenie jamy ustnej, obrzęk warg i wybroczyny krwotoczne. (1,55)

1.5.3 Inne metody terapeutyczne

Kolejnymi lekami miejscowymi stosowanymi w leczeniu OLP były retinoidy, czyli grupa związków wykazująca aktywność charakterystyczną dla witaminy A. (60)

W dwóch małych randomizowanych badaniach kontrolowanych z użyciem placebo i retinoidów, w których chorzy stosowali dwa razy dziennie przez 4 miesiące 0,1% tretynoinę w postaci roztworu oraz przez 8 tygodni 0,1% izotretynoinę w postaci żelu na zmiany liszaja płaskiego w jamie ustnej, wykazano przewagę retinoidów nad placebo. (2) Retinoidy były zalecane w postaciach z obecnością grudek i wykwitów przypominających tarczki, bez nadżerek. Zmniejszenie zmian wykazano u 97% chorych stosujących roztwór i 21% chorych otrzymujących placebo, oraz u 90% stosujących żel i 10% u stosujących placebo. (2) Najczęstszym objawem niepożądanym odczuwanym przez pacjentów podczas stosowania retinoidów było uczucie pieczenia po aplikacji. (2) Należy podkreślić potencjał teratogeny retinoidów, wynikający bezpośrednio z ich wpływu na podział i różnicowanie komórek. (60) Obecnie odchodzi się od leczenia retinoidami, ze względu na brak wskazań leczenia zmian białych bezobjawowych OLP.

W terapii trudno gojących się zmian liszaja płaskiego można zastosować jako leczenie uzupełniające metotreksat ogólnoustrojowo, łącznie z glikokortykosteroidami. (61) Metotreksat jest antagonistą kwasu foliowego, posiada działanie immunosupresyjne, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe. W literaturze opisane są różne schematy dawkowania, a stosowany zakres dawek oscylował między 2-20mg/raz na tydzień w połączeniu z kwasem foliowym(5mg), podawanym w celu zminimalizowania działań niepożądanych. Preparat był dobrze tolerowany, a opisane efekty leczenia były widoczne po dłuższym okresie stosowania tego preparatu.(62).

Należy jednak podkreślić, że metotreksat ze względu na wiele efektów ubocznych powinien być stosowany we współpracy z lekarzem ogólnym i pod jego kontrolą.

Dodatkowymi opcjami terapeutycznymi są wyciągi z aloesu, kwas hialuronowy i leki osłaniające (3,4)

Aloes zwyczajny (łac. *Aloe vera*) jest sukulentem o wyjątkowych właściwościach leczniczych. Wykazuje szerokie działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwgrzybicze. (1) Surowcem pozyskiwanym z tej rośliny jest sok aloesowy, który dzięki zawartości polisacharydów ma silne właściwości nawilżające. W randomizowanym badaniu klinicznym Choonhakarn i wsp. porównano efekt leczenia żelem aloesowym (70% żel aloesowy) i placebo u 54 pacjentów. Wykazano istotną statystycznie redukcję bólu i pieczenia u pacjentów leczonych żelem aloesowym, pieczenie ustąpiło całkowicie u 33%, a w grupie z placebo - u 4%, różnica była istotna statystycznie ($p=0,005$). Co istotne, nie zanotowano znaczących skutków ubocznych. (57,63)

Kolejną substancją stosowaną wspomagająco w terapii OLP jest kwas hialuronowy, będący liniowym polisacharydem, naturalnie występującym w organizmie człowieka. Bierze on udział przede wszystkim w gojeniu się ran, poprzez modulację odpowiedzi zapalnej, redukcję rozkładu kolagenu i namnażanie keratynocytów podstawnych. Kwas hialuronowy wspiera nawodnienie tkanek i odporność na uszkodzenia mechaniczne. W badaniu oceniającym skuteczność 0,2% żelu z kwasem hialuronowym w terapii ustnej postaci liszaja płaskiego wykazano obniżenie odczuwania bólu przez pacjentów. (57,64) Ze względu na brak immunogenności i liczne korzystne właściwości kwas hialuronowy może być stosowany jako bezpieczne i długoterminowe wspomaganie zasadniczej terapii OLP.

Niektórzy autorzy proponują związki cynku jako wspomagające leczenie w OLP, ze względu na jego działanie przeciwzapalne i regenerujące. W badaniu Nallan i wsp. pacjenci zostali podzieleni na dwie grupy: jedni przyjmowali 50mg octanu cynku z miejscowym preparatem 0,1% triamcinolonu, drudzy byli leczeni tylko 0,1% triamcinolonem. Pacjenci stosowali zalecone leczenie dwa razy dziennie przez okres 8 tygodni. Zaobserwowano znaczący statystycznie spadek zakresu zmian i dolegliwości miejscowych w grupie stosującej octan cynku w połączeniu z glukokortykosteroidem. (65)

Ponadto trwają badania nad zastosowaniem efalizumabu w terapii liszaja płaskiego. Jest to rekombinowane, humanizowane przeciwciało monoklonalne przeciwko CD11a, stosowane dotąd w leczeniu łuszczycy. Przeciwciało to zmniejsza aktywację i migrację limfocytów T, co może wpływać pozytywnie na zmiany liszaja płaskiego w jamie ustnej. (50)

Alternatywną terapią OLP jest leczenie nefarmakologiczne, jak: terapia fotodynamiczna lub wycięcie chirurgiczne.

Terapia fotodynamiczna (PDT) jest techniką, która wykorzystuje związek fotouczulający, taki jak błękit metylenowy, aktywowany określoną długością fali światła laserowego, aby zniszczyć docelową komórkę poprzez silne utleniacze, które powodują uszkodzenia komórek. PDT jest z powodzeniem stosowany w leczeniu guzów głowy i szyi. Działanie immunomodulujące i przeciwzapalne działanie tej metody może być przydatne w leczeniu zmian OLP, ale zastosowanie terapii fotodynamicznej w terapii liszaja płaskiego w jamie ustnej wymaga dalszych badań. (1)

U pacjentów ze zmianami erozyjnymi, bolesnymi, niereagującymi na miejscowe kortykosteroidy, alternatywnym leczeniem może być wycięcie chirurgiczne lub terapia laserowa. Wycięcie zmienionych chorobowo obszarów może być zasadne w zmianach o ograniczonych wymiarach, a także we wszystkich przypadkach histologicznie potwierdzonej dysplazji. Szerokie wycięcie w rozsianej postaci OLP niesie ze sobą ryzyko powstania blizn i pooperacyjnego upośledzenia funkcji. (6)

Autorzy badań i publikacji opisywali zastosowanie różnego typu laserów m.in.: lasera diodowego 980nm, lasera CO₂, lasera biostymulacyjnego i lasera ekscymerowego małej dawki 308nm (z wykorzystaniem promieni UV-B) w leczeniu liszaja. Jednak leczenie to wykazuje niejednoznaczną skuteczność, wraz z częstymi nawrotami zmian. W badaniu van der Hem i wsp. oceniającym skuteczność leczenia OLP z zastosowaniem lasera CO₂, stwierdzono, że choć metoda ta nie zastępuje leczenia glukokortykosteroidami, u 62% osób z badanej grupy ustąpiły całkowicie objawy bólowe i nie było nawrotu. Podczas wizyt kontrolnych po 3 tygodniach, zauważano całkowitą epitelializację zmian leczonych laserem CO₂, a ewentualne nawroty wystąpiły w innych miejscach niż leczone terapią laserową. (66) Nadal prowadzone są badania nad zastosowaniem laseroterapii w leczeniu OLP, ale ich skuteczność nie została jednoznacznie potwierdzona. (1,50)

Ze względu na ryzyko przemiany nowotworowej, zwłaszcza zmian atroficznych i erozyjnych, pacjenci z OLP powinni być pod stałą kontrolą, a także wskazane jest leczenie interdyscyplinarne. W zmianach opornych na leczenie konieczne jest wykonanie badania histopatologicznego, w celu wykluczenia dysplazji/metaplazji i obecności raka kolczystokomórkowego. (2)

W 2005 roku Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaklasyfikowała liszaj płaski jamy ustnej jako stan potencjalnie złośliwy (ang.: *potentially malignant condition*). Według literatury transformacja zmian OLP w raka kolczystokomórkowego była obserwowana u 0,5-2% przypadków. Większość autorów postuluje, że postaci erozyjna i atroficzna niosą największe ryzyko zezłośliwienia. Stała i regularna kontrola pacjentów z OLP jest z tego powodu niezwykle istotna. (6)

1.6. Ślina jako materiał diagnostyczny w chorobach błony śluzowej jamy ustnej

Ślina jest wydzieliną trzech parzystych gruczołów ślinowych: ślinianek podżuchwowych, ślinianek przyusznych i ślinianek podjęzykowych produkujących ślinę w proporcji kolejno: 70%, 25%, 5%, a także małych gruczołów ślinowych rozsianych w błonie śluzowej jamy ustnej. Ilość wydzielanej śliny różni się osobniczo i wynosi u dorosłego człowieka około 1 do 1,5 litra na dobę, czyli 0,2 - 0,3ml na minutę. Na wydzielanie śliny wpływa szereg czynników, jak pora dnia, leki hormonalne, stan psychologiczny pacjenta, choroby ogólnoustrojowe, rodzaj spożywanych pokarmów, miejscowe czynniki drażniące. Prawidłowy odczyn śliny mieści się w granicach 4,5 do 8,0 pH. Ślina to w około 99% woda, pozostałą część stanowią związki organiczne i nieorganiczne. Mimo, że składa się głównie z wody, ślina pełni szereg ważnych funkcji. Zwilża błonę śluzową, bierze udział w czynności obronnej – dzięki zawartości lizozymu, inhibiny i mucyny. Uczestniczy w procesie trawienia, tworzeniu kęsa pokarmowego, przemiany materii czy wydalania. (67)

Użycie śliny jako materiału diagnostycznego ma szereg zalet w porównaniu z innymi materiałami badanymi. Pobranie śliny jest dla pacjenta bezpieczne, odtwarzalne. Ślina jest biomateriałem dostępnym łatwo i bezinwazyjnie – nie wymaga przzerwania powłok skórnych. Z tego względu, rośnie zainteresowanie środowiska stomatologicznego wykorzystaniem ludzkiej śliny do diagnostyki i monitorowania chorób ogólnoustrojowych, jako alternatywy dla próbek krwi (68). W przeciwieństwie do krwi, ślina jest niesterylnym płynem ustrojowym (68), co wpływa na ryzyko dla diagnosty laboratoryjnego pracującego z tym materiałem, szczególnie w czasie pandemii COVID-19, gdy materiał ten jest potencjalnie zakaźny (69). Jedną z wykorzystanych w tej pracy technik biologii molekularnej była SDS-PAGE (ang.: *Sodium Dodecyl Sulfate Poliacrylamide Gel Electrophoresis*). Ta metoda analizy białek śliny opierająca się na elektroforezie na żelu akrylamidowym polega na rozdzieleniu i wizualizacji białek, kwasów nukleinowych, czy peptydów. O czasie migracji molekuł w polu elektrycznym wytwarzanym w buforze, w którym żel pozostaje zatopiony na czas reakcji, decyduje m.in. natężenie pola elektrycznego, ładunek białka, jego wielkość oraz kształt.

Od dawna wykorzystywano ocenę składu śliny do badania ryzyka występowania choroby próchnicowej, chorób przyzębia brzeżnego oraz innych zmian patologicznych jamy ustnej poprzez badanie jej zdolności buforowej, poziomu

enzymów ślinowych i obecności różnych rodzajów patogenów. Współcześnie dzięki osiągnięciom mikrobiologii, immunologii i biochemii ślina coraz częściej jest używana jako materiał diagnostyczny, również w badaniach chorób ogólnoustrojowych, takich jak: cukrzyca, sarkoidoza, choroby kory nadnerczy, czy zespół Sjögrena. (67)

Publikacje na temat badań składu śliny w chorobach błony śluzowej jamy ustnej nie są liczne. Dowiedziono znaczące statystycznie różnice w sialometrycznej i sialochemicznej analizie, oraz składzie białkowym śliny u pacjentów z zespołem pieczenia jamy ustnej (ang.: BMS – *Burning Mouth Syndrome*). Analiza profilu proteinowego pacjentów za pomocą elektroforezy wykazała większą ekspresję niskocząsteczkowych białek u pacjentów z BMS. (70)

Liszaj płaski często współwystępuje z innymi schorzeniami o podłożu autoimmunologicznym, jak zespół Sjögrena, toczeń trzewny, cukrzyca. Choroby te powiązane są z zaburzeniami w składzie śliny, dlatego badacze zaczęli interesować się profilem ślinowym pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego. (71)

W 1982r. Lundstrom wykazał niższą całkowitą szybkość wydzielania śliny u pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego, podczas gdy pH i zdolność buforowa mieściły się w zakresach fizjologicznych. (71)

Pacjenci z liszajem płaskim często mają podwyższony poziom lęku i stresu. Dowiedziono także wyższą częstość występowania depresji w tej grupie pacjentów. (13) W badaniach poziomu koryzolu w ślinie, biologicznego markera stresu, wykazano jego podwyższony poziom u pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego w porównaniu z grupą kontrolną. (72–74)

Wielu badaczy skupiało swoje badania na zawartości w ślinie parametrów statusu immunologicznego pacjenta, na przykład poziomu IFN- γ /IL-4, który bezpośrednio określa równowagę Th1/Th2. Wyniki badań były sprzeczne, a najnowsze opublikowane w 2009 roku (Mozaffari) nie wykazały różnic w poziomie tego parametru między pacjentami zdrowymi i ze zmianami OLP. (75) W badaniach Wei i wsp. za pomocą cytometrii zbadano profil Th1/Th2 i powiązanych cytokin w ślinie pacjentów z liszajem płaskim. Wykazano różnice w tym profilu, zwłaszcza poziom IL-10 i IL-6 był istotnie wyższy u pacjentów z OLP, co mogłoby stanowić wskaźnik diagnostyczny. (76)

W literaturze występują doniesienia o zwiększonej sekrecji wydzielniczej IgA w ślinie u pacjentów z OLP w stosunku do osób zdrowych. Ślinowe IgA może być używane do oceny immunologicznego statusu pacjenta. (72) Gandolfo i wsp. wykazali znacząco wyższy poziom sIgA (ang: *secretory immunoglobulin A* – wydzielnicza

immunoglobulina A) u pacjentów z atroficzną i erozyjną postacią OLP w porównaniu do osób z formą siateczkową OLP. (77) W badaniach Polesello i wsp. potwierdzono znacząco wyższego poziomu ślinowej beta-defensyny 1, białka produkowanego przez komórki nabłonka w stanie zapalnym. (78)

Mimo, że w wielu chorobach autoimmunologicznych, jak cukrzyca, zespół Sjögrena, choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi, występują charakterystyczne zaburzenia w pracy ślinianek, w OLP wyniki badań są sprzeczne. Badania Gandary i wsp. (2005r.) nie wykazały istotnej dysfunkcji gruczołów ślinowych u pacjentów z liszajem płaskim. (71)

Wielu pacjentów z liszajem płaskim w jamie ustnej zgłasza uczucie suchości o różnym nasileniu. Dokładne mechanizmy kserostomii u pacjentów z OLP są jednak niejasne. Autorzy postulują, że zapalne uszkodzenie błony śluzowej jest główną przyczyną odczuwania suchości w jamie ustnej, które zwykle nie ma potwierdzenia w badaniach całkowitej ilości i szybkości przepływu śliny. Badania Al-Janaby i wsp. wykazały, że miejscowe leczenie glikokortykosteroidami zmniejsza subiektywne odczucie suchości (prawdopodobnie poprzez działanie przeciwzapalne), nie wpływając na poziom pH, szybkość przepływu i zdolność buforową śliny. (79)

Battimo i wsp. wykazali niski poziom kwasu moczowego w ślinie i spadek potencjału antyoksydacyjnego śliny u pacjentów z OLP. Poziom całkowitej zdolności antyoksydacyjnej (ang. TAA - *total antioxidant activity*) był znacznie niższy u pacjentów z OLP w porównaniu do grupy kontrolnej, a poziom malondialdehydu (MDA), który jest produktem peroksydacji lipidów śliny był znacząco wyższy. (8,80) Świadczy to o zachwianej równowadze oksydacja-redukcja i wzroście stresu oksydacyjnego u pacjentów z liszajem płaskim. Badania Bakhtiari i wsp. również wykazały istotnie obniżony poziom kwasu moczowego w ślinie pacjentów z OLP w porównaniu do grupy kontrolnej. Kwas moczowy jest istotnym antyoksydantem, dlatego jego poziom w ślinie mógłby stać się istotnym biomarkerem przebiegu choroby i skuteczności leczenia liszaja płaskiego w jamie ustnej. (81)

W badaniach Agha-Hosseini i wsp. porównano poziom MMP-13 u pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego i rakiem kolczystokomórkowym jamy ustnej (OSCC). (82) MMP-13 była po raz pierwszy wyizolowana z komórek raka gruczołu piersiowego, a niektórzy badacze wykazali również jej zwiększony poziom w nowotworach głowy i szyi. Istotne jest, że MMP-13 wykazuje ekspresję w keratynocytach nieprawidłowych i nowotworowo zmienionych, a nie wykazuje ekspresji w komórkach zdrowych.

W cytowanych powyżej badaniach Agha-Hosseini poziom MMP-13 w ślinie pacjentów z OLP i OSCC nie różnił się. Poziom MMP-13 w surowicy istotnie korelował z MMP-13 w ślinie niestymulowanej ale nie w stymulowanej. To zagadnienie poruszone było po raz pierwszy w tej publikacji i wymaga dalszych badań. (82)

W innym badaniu Agha-Hosseini i wsp. poddano ocenie poziom białka p53 w ślinie niestymulowanej u pacjentów z OLP oraz OSCC. Białko p53 to czynnik transkrypcyjny o roli supresora nowotworowego. Wykorzystanie badania poziomu tego białka w ślinie mogłoby być markerem transformacji nowotworowej liszaja płaskiego w jamie ustnej w raka kolczystokomórkowego. Wyżej wymienione badanie wykazało niską częstość mutacji białka p53 w ślinie pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego w jamie ustnej, co potwierdza niski wskaźnik przemiany nowotworowej (według WHO około 1%). (83)

W pracy Y.V. Kristenev omówiono możliwość diagnozowania liszaja płaskiego jamy ustnej na podstawie analizy śliny z wykorzystaniem spektroskopii czasowo-domenowej THz i chemometrii. Dwustopniowa metoda klasyfikacji wykorzystująca kilka widm absorpcyjnych dla pojedynczej próbki śliny zapewniała 100% dokładność klasyfikacji różnicowej pomiędzy podgrupami OLP i grupą kontrolną. (84)

1.6.1 Mucyny ślinowe – rola w OLP i innych schorzeniach jamy ustnej

Analiza proteomu ludzkiej śliny pozwoliła na scharakteryzowanie w niej około 3000 różnych białek i peptydów. (85) Należą do nich m.in.: kwaśne i zasadowe białka bogate w prolinę, α -amylazy, mucyny, cystatyny, histatyny, stateryny oraz peptydy obrony gospodarza. (85)

W całym organizmie ludzkim występuje co najmniej 20 zidentyfikowanych mucyn, które pokrywają wilgotne powierzchnie nabłonkowe, takie jak przewód pokarmowy, drogi oddechowe i oczy. Każda z tych mucyn ma unikalną strukturę, która może wpływać na jej lokalizację i funkcję. (86) Rola mucyn w utrzymaniu zdrowia jamy ustnej jest nie do przecenienia. (87)

W ślinie mucyny pochodzą z gruczołów podżuchwowych, podjęzykowych i licznych mniejszych gruczołów ślinowych rozmieszczonych strategicznie w całej jamie ustnej. Pomimo stosunkowo niewielkiego udziału w całkowitej objętości śliny

produkowanej w ciągu doby (~10%), te mniejsze gruczoły dostarczają do 70% wszystkich mucyn znajdujących się w ślinie. (88)

Do specyficznych typów mucyn, które zostały scharakteryzowane w jamie ustnej należą MUC5B, MUC7, MUC19, MUC1 i MUC4. (85) Ponieważ mucyny są hydrofilne i zawierają dużo wody, zapewniają utrzymanie wilgotnej powierzchni zębów i błony śluzowej jamy ustnej. Pełnią funkcję ochronną, zarówno przed wysychaniem błony śluzowej jamy ustnej, jak i przedostawaniem się substancji potencjalnie uszkodzających komórki nabłonka, a także przed proteazami produkowanymi przez bakterie w płytce nazębnej.(85)

Zmienność złożonych łańcuchów bocznych oligosacharydów w mucynach stwarza szerokie możliwości interakcji z powierzchniami w jamy ustnej, mikroorganizmami jamy ustnej i innymi białkami ślinowymi, takimi jak IgA, laktoferyna i lizozym, zmieniając w ten sposób ich właściwości i zdolność do modulowania kolonizacji mikrobiologicznej w jamie ustnej. Jednakże mucyny są również dominującym i najbardziej dostępnym źródłem cukru dla wzrostu bakterii.(85,88)

Mucyna 5B (MUC5B) to podstawowa mucyna żelotwórcza w jamie ustnej, jest wydzielana przez komórki śluzowe ślinianek podżuchwowych, podjęzykowych, gruczołów ślinowych podniebiennych i wargowych. (86,87) Szkielet MUC5B składa się z około 5,700 aminokwasów i jest zorganizowany w N-koniec, centralny region glikozylowany i C-koniec.(86)

Sugeruje się, że żelotwórcza mucyna MUC5B tworzy matrycę zatrzymującą inne białka ochronne, takie jak IgA, laktoferyna i lizozym na zębach i powierzchniach błony śluzowej.(89)

Wykazano, że MUC5B wpływa na interakcje pomiędzy gatunkami drobnoustrojów poprzez promowanie koegzystencji *S. mutans* i *Streptococcus sanguinis*, zmniejszając przyczepność i tworzenie biofilmu *S. mutans* oraz przesuując komórki z biofilmu do stanu jednokomórkowego (planktonicznego), a tym samym wpływając na skład mikrobioty jamy ustnej.(85)

Ponadto MUC5B ogranicza wirulencję *Candida albicans* poprzez redukcję tworzenia się strzępek, które są związane z inwazją komórek gospodarza. Może to tłumaczyć, dlaczego oportunistyczne patogeny, takie jak *C. albicans*, mogą egzystować w mikrobiocie jamy ustnej jako niepatogenni rezydenci, nie powodując jawnej kandydozy jamy ustnej. (85,86)

Mucyna 7 (MUC7) jest mniejsza niż MUC5B i jest nieżelową mucyną produkowaną zarówno przez śluzowe, jak i surowicze komórki ślinianek, z wyjątkiem ślinianki przyusznej i komórek surowiczych języka. (87) MUC7 ma 357-aminokwasowy szkielet z centralnym regionem powtarzających się jednostek składających się z 23 aminokwasów. (86)

Chociaż MUC7 jest mniej wydajna jako substancja smarująca, jest ona znacznie bardziej wydajna w aglutynacji i usuwaniu bakterii niż MUC5B i dlatego jest ważną częścią nieimmunologicznego systemu obronnego śliny. (85) MUC7 wiąże się bezpośrednio z mikroorganizmami, aby ułatwić ich usunięcie w trakcie połykania. Dobrym przykładem jest ochrona jamy ustnej przed infekcją *Candida albicans* przez fizyczne wiązanie. (86) MUC7 wiąże się również z kwaśnymi i zasadowymi białkami bogatymi w prolinę, staterynami i histatyną 1, a poprzez tworzenie kompleksów z tymi białkami chroni je przed proteolizą, moduluje ich funkcję i aktywność. (85)

Szeroko opisana została rola mucyn w zapobieganiu choroby próchnicowej. (86) Zarówno mucyny ślinowe MUC5B jak i MUC7 biorą udział w zapobieganiu powstawania ubytków próchnicowych. Zawiesiny oczyszczonej ludzkiej MUC5B w stężeniach fizjologicznych zmniejszają przyczepianie się i tworzenie biofilmu *Streptococcus mutans*, jednej z głównych bakterii powodujących niszczenie tkanek zębów. MUC7 chroni przed próchnicą wiążąc się bezpośrednio z białkiem alpha-enolazą bakterii *S.mutans*. (86) Badania Szkaradkiewicz-Karpińskiej i wsp. (90) wskazały na możliwość zastosowania badania poziomu MUC7 w ślinie jako ryzyka rozwoju choroby próchnicowej. Badania T.Cavallari i wsp. wykazały, że genetyczne różnice w genie MUC5B mogą wpływać na rozwój próchnicy zębów. (91)

Istnieją liczne doniesienia naukowe, że mucyny 5B i 7 zmniejszają namnażanie wirusa HIV. Kiedy oczyszczone MUC5B i MUC7 są zmieszane z HIV-1, a następnie umieszczone w kontakcie z komórkami T, wszystkie komórki T pozostają zdrowe i niezainfekowane. (92) Rola mucyny 5B i mucyny 7 w inhibicji namnażania wirusa HIV została także potwierdzona w badaniu Habte i wsp. Wykazano, że inkubacja HIV z ludzką śliną pełną i śliną podżuchwową prowadzi do zmniejszenia zakaźności wirusa, i że to zahamowanie jest znacznie zmniejszone po przefiltrowaniu śliny. Obserwacje te sugerują, że wywołana śliną agregacja wirusów powoduje eliminację wirusa z jamy ustnej i zmniejsza możliwość transmisji doustnej. (93)

Badacze szukali też związku między zespołem Sjögrena a poziomem mucyn, z uwagi na kserostomię występującą w tym schorzeniu. Chaudhury i wsp. (94) zbadali

poziom mucyn 5B i 7 w ślinie pacjentów zdrowych i chorujących na zespół Sjögrena. Chociaż stężenia mucyn MUC5B i MUC7 były podobne u chorych i w grupie kontrolnej, porównanie Western blottingu białek i barwienia glikanów wykazało zmniejszenie glikacji mucyn w chorobie Sjögrena, szczególnie w przypadku MUC7.(94)

U pacjentów z przewlekłym i agresywnym zapaleniem przyzębia zbadano zawartość mucyny i amylazy w ślinie, jednak nie wykazano znaczących różnic w ich stężeniach w odniesieniu do grupy zdrowych pacjentów. (95)

Badania poziomu mucyn u chorych z ustną postacią liszaja płaskiego są nieliczne, podczas gdy wielu pacjentów z OLP doświadcza nasilonej suchości jamy ustnej.

Agha-Hosseini i wsp. (96) w 2017 roku przeprowadzili badanie poziomu mucyny 5B w ślinie i surowicy krwi pacjentów z OLP i zdrowych (metodą ELISA). Wyniki badania potwierdziły, że zarówno szybkość wydzielania śliny, jak i poziom mucyny 5B były niższe u pacjentów z OLP. Ponieważ mucyna 5B skutecznie nawilża jamę ustną, wynik ten może sugerować możliwą przyczynę suchości w jamie ustnej u pacjentów z OLP. (96)

2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Liszaj płaski jest dermatozą, jednak obserwuje się coraz liczniejsze przypadki występowania zmian tylko w jamie ustnej. Mimo wielu przeprowadzonych badań, różnorodność czynników etiologicznych i skomplikowany mechanizm powstawania zmian jest wciąż niejasny.

Według doniesień z literatury istnieje silny związek między stanem ogólnym pacjenta oraz leczeniem ogólnoustrojowym, a zmianami OLP. Przykładem tego mogą być zmiany lichenoidalne (ang.: OLL – *Oral Lichenoid Lesion*), które są klinicznie i histopatologicznie trudne do odróżnienia od zmian OLP. Do innych istotnych czynników mogących wpływać na przebieg liszaja płaskiego zaliczamy stan higieny jamy ustnej, stosowaną dietę, użytkowanie uzupełnień protetycznych, wypełnień amalgamatowych w jamie ustnej, palenie tytoniu.

Dodatkowo podnoszona jest teza, iż skład śliny pacjentów w wielu chorobach błony śluzowej jamy ustnej i zapaleniach przyzębia, jest różny. Przeprowadzone do tej pory badania nie dostarczyły jednoznacznej i wyczerpującej odpowiedzi na temat składu śliny pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego w porównaniu do zdrowych pacjentów, a także różnic w składzie śliny w zależności od przyjmowanych leków i stanu ogólnego. Rozszerzenie wiedzy w zakresie składu proteinowego śliny pacjentów z OLP mogłoby przedstawić wygodny i dostępny materiał diagnostyczny i ułatwić ocenę progresji zmian oraz zwiększyć efektywność leczenia tej patologii.

Celem głównym pracy była ocena objawów klinicznych OLP, objawów subiektywnych OLP podawanych przez pacjentów, stanu jamy ustnej, oraz profilu proteinowego śliny u pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego błony śluzowej jamy ustnej w powiązaniu ze stanem ogólnym i przyjmowanymi lekami.

Aby przeprowadzić badania wytyczono cele szczegółowe:

1. badanie podmiotowe – wywiad wraz z uzyskaniem parametrów do dalszej oceny,
2. badanie kliniczne - wraz z ewaluacją parametrów do dalszej oceny,
3. ocenę poziomu białek śliny: mucyny 5B i mucyny 7,
4. rozdział elektroforetyczny śliny,
5. poszukiwanie powiązań między badanymi parametrami w odniesieniu do stanu ogólnego pacjenta (analiza statystyczna).

3. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

3.1 Materiał badań

Materiał badań stanowiła grupa 119 pacjentów Poradni Specjalistycznej Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej Akademickiej Polikliniki Stomatologicznej we Wrocławiu. Badanie zostało przeprowadzone w latach 2018-2020.

Wszyscy pacjenci zostali poinformowani o celach i zasadach przeprowadzonego badania i wyrazili dobrowolną, pisemną zgodę na wzięcie udziału w badaniu, w oparciu o zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu nr KB – 803/2018 z dnia 3.01.2019.

Kryterium włączenia do grupy badanej była zdiagnozowana klinicznie i/ lub histopatologicznie ustna postać liszaja płaskiego (OLP).

Do grupy kontrolnej utworzonej w celu oceny poziomu frakcji białek - mucyn MUC5B i MUC7 oraz elektroforezy śliny włączono pacjentów ogólnie zdrowych, nie leczonych ogólnie, bez zmian błony śluzowej jamy ustnej oraz dopasowanych wiekiem i płcią do grupy badanej.

Kryteria wyłączenia do badań obejmowały:

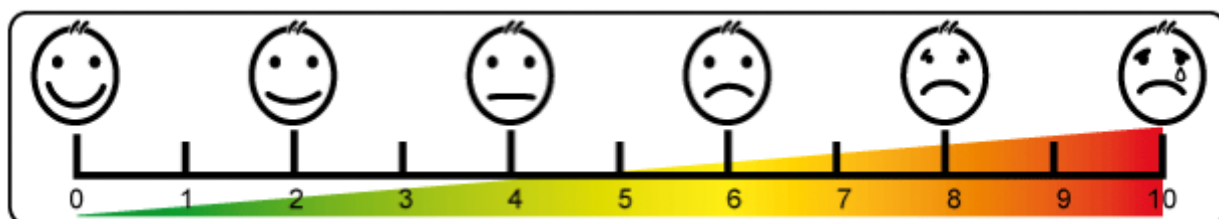
- brak pisemnej zgody na uczestnictwo w badaniu
- ciąża
- choroba nowotworowa w leczeniu lub przebyta
- stosowanie ogólnie leków kortykosterydowych,
- inna choroba o podłożu immunologicznym oprócz choroby Hashimoto

3.2. Metodyka badań

3.2.1 Badanie podmiotowe

W trakcie badania podmiotowego pytano pacjentów o: wiek, płeć i wykształcenie, czas obecności zmian liszaja płaskiego (liczba miesięcy), obecność lub brak zmian współistniejących: zmian skórnych, paznokciowych lub zmian na błonach śluzowych w innych lokalizacjach. Następnie gromadzono informacje o chorobach ogólnych i przyjmowanych lekach, z potwierdzeniem od lekarza leczącego chorobę ogólną.

Oceniano również obecność dolegliwości bólowych lub pieczenia w jamie ustnej z zastosowaniem skali VAS –(ang. *visual analog scale* – wizualna skala analogowa), dolegliwości podczas spożywania pokarmów, użytkowania protez oraz wykonywania zabiegów higienicznych. Anamneza obejmowała również pytanie o ocenę subiektywną stanu higieny jamy ustnej oraz nikotynizm.



Rycina 9. Skala VAS – Wizualna skala użyta w badaniu do oceny bólu u pacjentów

3.2.2. Badanie przedmiotowe

Badanie przedmiotowe jamy ustnej przeprowadzono w ramach rutynowego badania klinicznego na fotelu dentystycznym.

Badano stan jamy ustnej z oceną:

- liczby zębów,
- obecności uzupełnień protetycznych,
- obecności wypełnień amalgamatowych,
- poziomu higieny jamy ustnej dokonywanej na podstawie aproksymalnego wskaźnika płytki bakteryjnej (ang.: *API - Approximal Plaque Index*). (97) przy następujących wartościach wskaźnika:
 1. API 100-70% - niewłaściwa higiena jamy ustnej
 2. API 69-40% - higiena jamy ustnej przeciętna, konieczna poprawa
 3. API 38-25% - higiena jamy ustnej dobra
 4. API < 25% - higiena jamy ustnej optymalna
- lokalizacji i rozległości zmian OLP i oszacowania zaawansowania choroby według klasyfikacji Malhotra.

W zależności od lokalizacji i ich zakresu oceniano rozległość zmian liszaja płaskiego w całej jamie ustnej oceniane są liczbą punktów od 0 do 12 (zgodnie z Tabelą nr 1).

Tabela 1. Ocena zmian liszaja płaskiego wg Malhotra (98)

<i>LOKALIZACJA</i>	<i>WYSTĘPOWANIE ZMIAN OLP (a)</i>	<i>Punktacja</i>
<i>Policzek prawy</i>	<50%	1
<i>Policzek prawy</i>	>50%	2
<i>Policzek lewy</i>	<50%	1
<i>Policzek lewy</i>	>50%	2
<i>Język - grzbietowa część</i>	<50%	1
<i>Język - grzbietowa część</i>	>50%	2
<i>Język – brzuszna część</i>	<50%	1
<i>Język – brzuszna część</i>	>50%	2
<i>Warga górna</i>	zajęta	1
<i>Warga górna</i>	niezajęta	0
<i>Warga dolna</i>	zajęta	1
<i>Warga dolna</i>	niezajęta	0
<i>Dziąsło</i>	zajęte	1
<i>Dziąsło</i>	niezajęte	0
<i>Podniebienie</i>	zajęte	1
	niezajęte	0

Minimalna wartość możliwa do uzyskania przez pacjenta w trakcie badania klinicznego to 0, maksymalna to 12 punktów. Następnie na podstawie uzyskanej wartości punktowej oceniano stopień zaawansowania choroby od 0 do III. (Tabela 2)

Tabela 2. Stopień zaawansowania choroby – klasyfikacja Malhotra

<i>Stopień 0</i>	<i>0 pkt</i>
<i>Stopień I</i>	<i>1-3 pkt</i>
<i>Stopień II</i>	<i>4-6 pkt</i>
<i>Stopień III</i>	<i>7-12 pkt</i>

Na końcu na podstawie stopnia choroby i występowania lub nie objawów dodatkowych- bólowych dla postaci symptomatycznej oraz zmian erozyjnych, dla każdego pacjenta opisano poziom zaawansowania choroby jako:

- **Postać łagodną:** asymptomatyczna / stopień I;
- **Postać średnio ciężką:** symptomatyczna / stopień I / stopień II;
- **Postać ciężką :** postać erozyjna (każdy stopień) lub stopień III.

Na podstawie tylko objawów subiektywnych podawanych przez pacjentów oraz obrazu klinicznego, zmiany OLP u wszystkich badanych włączono do 3 stanów klinicznych scharakteryzowanych jako:

- **stan kliniczny asymptomatyczny** – zmiany białe lub białe - czerwone bez objawów bólowych i/lub pieczenia;
- **stan kliniczny symptomatyczny** - zmiany białe lub białe – czerwone z obecnością bólu i/lub pieczenia;
- **oraz stan kliniczny erozyjny** – zmiany erozyjne.

Wszystkie dane, uzyskane z badania podmiotowego i badania klinicznego zapisywano w opracowanej karcie badań, a następnie przenoszono do elektronicznej bazy w celu sporządzenia oceny statystycznej.

3.2.3 Pobranie śliny niestymulowanej

Po zakończeniu badania klinicznego, przepłukaniu ust i odpoczynku przez około 10 minut, u części badanych pobierano do sterylnych probówek 5 ml śliny niestymulowanej całkowitej metodą odpluwania. Pobranie śliny było zgodne z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), według poniższych zasad:

- pacjent nie je, nie pije i nie myje zębów przez dwie godziny przed pobraniem śliny;
- pacjent przepłukuje jamę ustną letnią wodą, następnie odpluwa wodę bez jej połykania;
- pacjent czeka 5 minut po przepłukaniu jamy ustnej wodą;
- ślina jest zbierana poprzez odpluwanie, podczas naturalnego jej wydzielania bez stymulacji (w spokojnych warunkach), do sterylnej probówki o objętości 5ml;
- mierzone jest pH śliny i wynik wpisywany jest do kwestionariusza;
- ślina jest przechowywana w laboratorium w warunkach -24°C .

Ślinę pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego (przyjmujących leki i nieprzyjmujących leków) i pacjentów grupy kontrolnej poddano analizie laboratoryjnej. Oceniano pH, a także poziom białek: mucyny 5B i mucyny 7.

3.2.4 Metodologia badania śliny

Po pobraniu śliny, zgodnie ze sposobem przedstawionym we wcześniejszym podrozdziale, do sterylnej probówki o objętości 5ml, biomateriał wstawiono na chłodzik/lód i przekazywano do Pracowni Naukowej Badań Biologii Molekularnej Katedry Patologii Jamy Ustnej. Następnie, ślinę wirowano w 2500 rpm przez 10 minut i zbierano supernatant rozdzielając na alikwoty zgodnie z możliwościami wynikającymi z dostępności biomateriału. Etap ten był wspólny dla procedur opisywanych w podpunktach 3.2.4.1. i 3.2.4.2.

3.2.4.1. ELISA białek MUC w ślinie

Test immunoenzymatyczny (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) jest szeroko stosowany jako narzędzie diagnostyczne w medycynie, a także narzędzie analityczne w badaniach biomedycznych do wykrywania i oznaczania ilościowego określonych antygenów lub przeciwciał w danej próbce (99,100). Podstawą zastosowania tej metody jest wiązanie antygeny ze swoim specyficznym przeciwciałem, co umożliwia wykrycie nawet niskich ilości antygenów (białek, peptydów, hormonów lub przeciwciał) w płynnej próbce (99).

W zastosowanych w tej pracy badaniach wykorzystano komercyjne zestawy przeznaczone do diagnostyki pacjentów zdrowych, czyli fizjologicznie nie wykazujących zmian chorobowych, ze względu na zakres stężeń najbardziej odpowiadający możliwym oznaczeniom protein MUC w ślinie (101,102). Na rynku testów komercyjnych brak jest zestawów dostosowanych do badań w kierunku białek MUC w ślinie, co wymagało od pracowników laboratorium wykonania rozcieńczeń biomateriału w przypadku uzyskania wyniku o wartości poza skalę oznaczeń. Po każdym rozcieńczeniu liczba dostępnych testów do dalszej analizy spadała ze względu na ograniczoną wielkość płytki mikrotitracyjnej (96 dołków), co spowodowało brak wykonania oznaczeń dla części pacjentów. Badanie przeprowadzono zgodnie z procedurą zalecaną przez producenta (101,102). Po rozcieńczeniu próbek odpipetowano je do określonych studzienek płytek 96 dołkowych. Po inkubacji i przemyciu dołków z niezwiązanego materiału próbki biologicznej, dodano koniugat znakowany peroksydazą chrzanową (ang.: *horseradish peroxidase*, HRP) w celu związania wychwyconych przeciwciał. W drugim etapie płukania niezwiązany koniugat usunięto. Kompleks immunologiczny utworzony przez związany koniugat wizualizowano na podstawie substratu, który dał produkt reakcji barwnej. Intensywność tego produktu była proporcjonalna do ilości swoistych przeciwciał w próbce. Dało to zmianę koloru w punkcie końcowym odczytu. Końcowe wartości absorbancji dla każdego wzorca/kontroli i próbki w układzie płytek oznaczono przy 450 nm z korekcją absorbancji przy 620 nm, stosując spektrofotometrię na aparacie EPOCH.

3.2.4.2. SDS-PAGE śliny

Ze względu na wykorzystanie w niniejszej pracy procedury SDS-PAGE w analizie próbek klinicznych nawiązano współpracę naukową z Zakładem Mikrobiologii, Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.

Pierwszym etapem laboratoryjnym wykonanym w celu anlizy SDS-PAGE w ślinie pacjentów było oznaczenie poziomu białka całkowitego zgodnie z procedurą:

- przygotowano 5 rozcieńczeń wzorca, zakres odczytu od 8,0 μ l to 80,0 μ l;
- 160 μ l próbki napipetowano do dołków płytki mikrotitracyjnej;
- dodano 40 μ l barwnika Bio-Rad Protein Assay Dye Reagent Concentrate firmy Biorad;
- inkubowano w temperaturze pokojowej przez 5 minut;
- dokonywano odczytu w zakresie 595 nm na aparacie EPOCH.

Metodyka przygotowania próbek klinicznych do analizy była opracowywana do zastosowania w warunkach specjalnych, wynikających z bezpieczeństwa pracownika laboratorium. Znaczenie poszczególnych elementów składowych mieszaniny, i wykorzystana w oznaczeniach objętość i ich szkodliwość dla operatora zostały zebrane w poniższych podpunktach:

- próbka śliny (lub wzorca) została dodana w objętości 5 μ l;
 - bufor Laemmli dodawano w objętości 4,75 μ l na każdą próbkę;
- β -merkaptotanol (BME) dodano w objętości 0,25 μ l.

W odniesieniu do bezpieczeństwa pracy z powyższymi odczynnikami, w dobie pandemii COVID-19, zalecanym jest przed pobraniem próbki śliny zebranie od pacjenta wywiadu epidemiologicznego, oraz subsekwentnie praca w warunkach laboratoryjnych BSL-II (ang. Biosafety Level II, drugi poziom bezpieczeństwa), bądź z wykorzystaniem nie sprecyzowanego przez WHO podstawowego urządzenia zabezpieczającego pracownika (103). BME jest związkiem lotnym i odparowującym z roztworu. Jest to substancja niebezpieczna, sklasyfikowana jako toksyczna (toksyczność ostra kontaktowa i oddechowa) zgodnie z dyrektywami UE 67/548/EWG lub 1999/45/WE, zatem wymagająca zastosowania wyciągu chemicznego. Bufor Laemmli nie jest substancją niebezpieczną zgodnie z powyższymi dyrektywami.

Celem przygotowania próbek do nałożenia na żel akrylamidowy wykonano wstępną inkubację w czasie 5 min. w temp. 95°C w termobloku dla probówek 24 x 1,5 ml (BIOSAN) (BS-010143-GK). Próbki o objętości 15 µl nakładano na żel firmy Biorad. Elektroforeza wykonywana była w napięciu 200 V w czasie min. 45 minut, do momentu wyrównania wskaźnika z końcem żelu akrylamidowego.

1) Próbki o objętości 20 µl nakładano na 10% żel wykonany w Zakładzie Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego.

2) Próbki o objętości 15 µl nakładano na 15% żel komercyjny firmy Biorad, Mini-PROTEAN TGX Stain-Free™.

Odczytu dokonywano w świetle białym aparatu Biorad GelDoc EZ System.

3.2.5 Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki badań poddano opracowaniu statystycznemu. Aby zweryfikować hipotezy o zależności między badaną grupą a pozostałymi zmiennymi, przeprowadzono test ANOVA (w przypadku zmiennych ilościowych) lub chi-kwadrat (w przypadku zmiennych jakościowych). Dla zmiennych ilościowych podano średnie i odchylenia standardowe dla każdej z grup, dla zmiennych jakościowych liczebność i wartość procentową. Dla rozkładów znacznie różniących się od normalnego, zamiast ANOVA zastosowano test Kruskala-Wallisa oraz obliczono medianę i rozstęp kwartyłowy. *W ostatniej kolumnie podano p-wartość dla odpowiedniego testu.*

Analizę statystyczną wyników badania śliny przeprowadzono obliczając korelacje Spearmana między zmiennymi *MUC* a zmiennymi ilościowymi. Zależności między zmiennymi jakościowymi zbadano przy pomocy testu Manna-Whitneya lub Kruskala-Wallisa. Porównując wartości mucyn i pH z grupą kontrolną przeprowadzono test t-Studenta lub Manna-Whitneya (jeśli rozkład znacznie różnił się od normalnego). Za poziom istotności przyjęto 0.017 [korekta Bonferroniego na 3 testy]. Uzyskane wyniki analizowano oraz dyskutowano z dr Piotrem Szulcem - który analizę statystyczną przeprowadził.

4. WYNIKI BADAŃ

4.1 Charakterystyka badanych grup pacjentów

4.1.1. Wyniki badania podmiotowego

W badaniu wzięło udział 119 pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego w jamie ustnej. Całą grupę pacjentów podzielono na trzy grupy badane:

- **Z** – pacjentów ogólnie zdrowych, nie przyjmujący żadnych leków;
- **NS/C** – pacjentów przyjmujących leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie;
- **L** – pacjentów przyjmujących leki inne niż NS/C, w sposób ciągły między innymi: leki antydepresyjne, inhibitory pompy protonowej, kortykosteroidy, leki przeciwalergiczne.

Tabela 3. Grupa badana - podział zgodnie z lekami stosowanymi przez badanych pacjentów

	<i>Grupa leków stosowanych przez pacjentów</i>	
	Liczba pacjentów	Udział %
<i>Z - pacjenci nieprzyjmujący leków</i>	43	36,13
<i>L – pacjenci przyjmujący inne leki</i>	26	21,85
<i>NS/C – przyjmujący leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie</i>	50	42,02
	119	100,00

Z grupy wszystkich 119 pacjentów, u których przeprowadzono część ankietową i badanie kliniczne, u 57 osób pobrano do badania ślinę i wykonano w niej oznaczenie poziomów MUC5B. Poziom MUC7 oznaczono w 20 próbkach śliny. Liczbę pacjentów, u których badano poziom mucyn w poszczególnych grupach przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Badanie śliny – liczebność grup

	Z	L	NS/C	Grupa kontrolna
<i>MUC5B</i>	24	14	19	18
<i>MUC7</i>	9	2	9	18

Grupa kontrolna dla oceny białek śliny liczyła 18 osób. Większość badanej grupy stanowiły kobiety – 14 osób (77,8%), średni wiek wynosił 37 lat, przeważało wykształcenie średnie – u 12 osób (66,7%). Żadna z osób nie przyjmowała stale leków. (Tabela 5)

Tabela 5. Rozkład płci i wieku w grupie kontrolnej

<i>Płeć</i>	<i>n (%)</i>
<i>Kobieta</i>	14 (77,8)
<i>Mężczyzna</i>	4 (22,2)
<i>Wykształcenie</i>	<i>n (%)</i>
<i>Średnie</i>	12 (66,7)
<i>wyższe</i>	6 (33,3)

W całej grupie badanej (119 pacjentów) było 87 kobiet w wieku od 22 do 82 lat (średnia wieku 60,6 lat) i 32 mężczyzn w wieku od 29 do 93 lat (średnia wieku 57,4). (Tabela 6)

Kobiety stanowiły większość całej grupy badanej (73,1%), jak również poszczególnych grup. (Tabela 7)

Tabela 6. Charakterystyka wieku z uwzględnieniem płci i grup badanych

<i>Płeć</i>	<i>Wiek średni a</i>	<i>SD</i>	<i>MIN</i>	<i>MAX</i>	<i>25Q</i>	<i>M</i>	<i>75Q</i>
<i>M n=32</i>	57,4	14,0	29,0	93,0	47,5	57,0	64,5
<i>K n=87</i>	60,6	12,2	22,0	82,0	55,0	64,0	68,0
<i>Cała grupa badana n=119</i>	59,8	12,8	22,0	93,0	54,0	62,0	68,0
<i>Z n=43</i>	53,6	12,9	29,0	77,0	42,5	55,0	62,5
<i>L n=26</i>	59,96	13,7	22,0	78,0	54,0	64,0	67,8
<i>NS/C n=50</i>	65,3	9,35	46,0	93,0	61,0	64,5	69,0

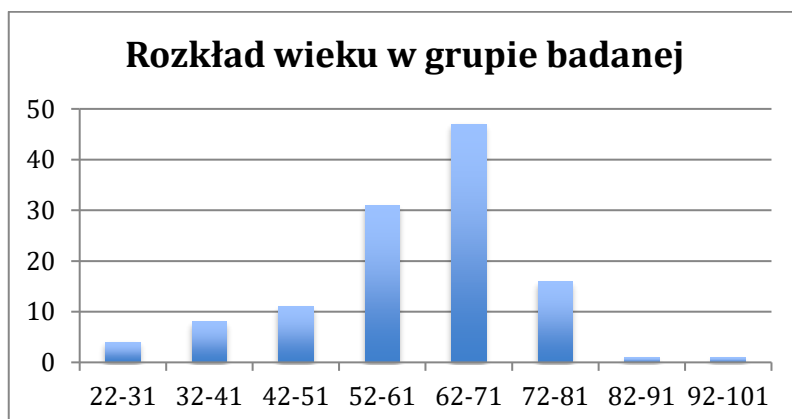
Tabela 7. Rozkład płci pacjentów w badanych grupach

	<i>Ogółem n= 119 n (%)</i>	<i>Z n=43 n (%)</i>	<i>L n=26 n (%)</i>	<i>NS/C n=50 n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Mężczyźni</i>	32 (26,9)	13 (30,2)	10 (38,5)	9 (18,0)	0,134
<i>Kobiety</i>	87 (73,1)	43(36,1)	26(21,8)	50(42,0)	

Badane grupy istotnie różniły się średnią wieku. Pacjenci przyjmujący leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie (gr. NS/C) byli istotnie statystycznie starsi od pacjentów zdrowych ($p < 0.001$). Nie stwierdzono istotnej różnicy wieku pacjentów między grupami Z i L ($p = 0.079$) oraz między L i NSC ($p = 0.145$). (Tabela 8).

Tabela 8. Porównanie wieku w badanych grupach

	<i>Z n= 43</i> <i>Średnia (SD)</i>	<i>L n=26</i> <i>Średnia (SD)</i>	<i>NS/C n=50</i> <i>Średnia (SD)</i>	<i>Z vs L vs</i> <i>NS/C</i> <i>p</i>
<i>Wiek (w latach)</i>	53,6 (12,9)	59,96 (13,7)	65,3 (9,4)	<0,001

**Rycina 10.** Rozkład wieku w grupie badanej

Najliczniej była reprezentowana grupa osób w wieku 62-71 lat - 47 pacjentów, a następnie w wieku 52-61 lat –31 pacjentów. W zakresie wieku 22-31 lat oraz powyżej 82 roku życia znalazło się po 4 pacjentów.

Poziom wykształcenia pacjentów przedstawiono w Tabeli 9. W całej grupie badanej większość posiadała wykształcenie średnie, następnie wykształcenie wyższe. Dotyczyło to zarówno pacjentów przyjmujących leki, jak i zdrowych, ale różnice nie były istotne statystycznie.

Tabela 9. Dystrybucja wykształcenia w badanych grupach

<i>Wykształcenie</i>	<i>n (%)</i>	<i>Z n=43</i> <i>n (%)</i>	<i>L n=26</i> <i>n (%)</i>	<i>NS/C n=50</i> <i>n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Podstawowe</i>	8 (6,7)	1 (2,3)	2 (7,7)	5 (10,0)	0,389
<i>Średnie</i>	81 (68,1)	29 (67,4)	16 (61,5)	36 (72,0)	
<i>Wyższe</i>	30 (25,2)	13 (30,2)	8 (30,8)	9 (18,0)	

Czas obecności zmian OLP w poszczególnych grupach przedstawiono w Tabeli 10. Dla całej grupy badanej średni czas trwania choroby wynosił 32,5 miesiąca.

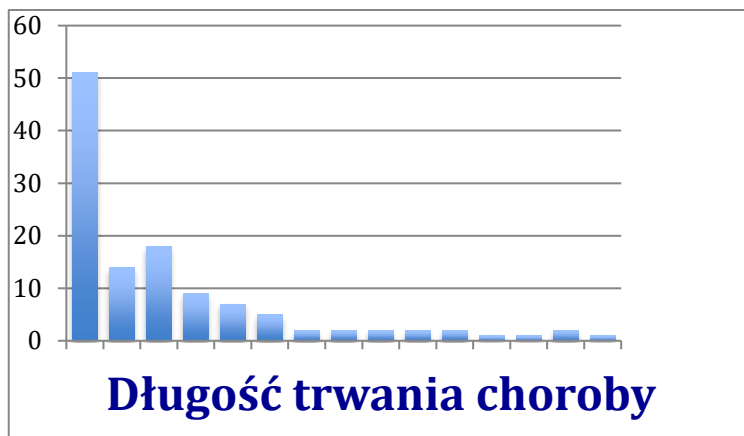
W grupie osób zdrowych, nieprzyjmujących leków – Z - ten średni czas wynosił 24,3 miesiąca, leczonych różnymi lekami – L - 28,6 miesięcy, a najdłuższy średni czas trwania OLP stwierdzono w grupie pacjentów leczonych z powodu chorób serca i nadciśnienia – NS/C - 41,5 miesiąca. Analiza porównawcza nie wykazała istotnych statystycznie różnic między badanymi grupami ($p=0,188$)

Najkrótszy oceniany czas obecności zmian OLP w chwili zgłoszenia się pacjenta do naszej poradni to 1 miesiąc, natomiast wartość maksymalna to 240 miesięcy (20 lat). Część z badanych pacjentów chorujących dłużej była leczona wcześniej w innych poradniach.

Tabela 10. Czas trwania choroby w chwili badania w badanych grupach

<i>Czas trwania choroby (miesiące)</i>	<i>min</i>	<i>Q1</i>	<i>median</i>	<i>Q3</i>	<i>max</i>	<i>średnia</i>	<i>SD</i>	<i>p</i>
<i>Cała badana grupa n=119</i>	1,0	4,0	12,0	36,0	240	32,5	46,0	0,188
<i>Z n=43</i>	1,0	4,0	11,0	36,0	137	24,3	32,0	
<i>L n=26</i>	1,0	3,0	9,0	34,5	240	28,6	49,7	
<i>NS/C n=50</i>	1,0	4,5	24,0	48,0	204	41,5	53,1	

U większości badanych pacjentów w chwili pierwszego badania czas obecności zmian OLP był krótki – od 1 do 10 miesięcy. Mniej liczną grupą byli pacjenci, u których liszaj płaski w jamie ustnej występował od 21 do 30 miesięcy. U nielicznych osób choroba utrzymywała się powyżej 80 miesięcy (1-2 osoby w każdym przedziale czasowym). (Rycina 11 i Tabela 11)



Rycina 11. Długość trwania choroby w w całej grupie badanej

Tabela 11. Czas trwania zmian OLP w jamie ustnej pacjentów biorących udział w badaniu

<i>Czas obecności zmian OLP (w miesiącach)</i>	<i>Liczba osób</i>
1-10	51
11-20	14
21-30	18
31-40	9
41-50	7
51-60	5
81-90	2
91-100	2
101-110	2
111-120	2
131-140	2
151-160	1
161-170	1
201-210	2
231-240	1

U większości pacjentów zmiany liszaja płaskiego występowały tylko w jamie ustnej (46,2%), w dalszej kolejności zaobserwowano współistniejące zmiany paznokciowe, a następnie współistniejące zmiany skórne (odpowiednio u 23,5% i 18,5% badanych).

Tabela 12. Występowanie zmian liszaja płaskiego poza jamą ustną

<i>Obecność zmian liszaja poza jamą ustną</i>	<i>Ogółem n=119 n (%)</i>	<i>Z n=43 n (%)</i>	<i>L n=26 n (%)</i>	<i>NS/C n=50 n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Brak zmian poza jamą ustną</i>	55 (46,2)	22 (51,2)	13 (50,0)	20 (40,0)	0,642
<i>Zmiany paznokciowe</i>	28 (23,5)	9 (20,9)	7 (26,9)	12 (24,0)	
<i>Zmiany skórne</i>	22 (18,5)	8 (18,6)	5 (19,2)	9 (18,0)	
<i>Zmiany wieloogniskowe (w wielu lokalizacjach jednocześnie)</i>	14 (11,8)	4 (9,3)	1 (3,8)	9 (18,0)	

Nie zaobserwowano różnic w występowaniu zmian w innych lokalizacjach między ocenianymi grupami.

W odniesieniu do nałogu palenia papierosów, zaobserwowano w całej grupie badanej istotnie mniejszą liczbę osób palących niż niepalących i zależność ta była obecna we wszystkich porównywanych grupach. Nikotyzm występował tylko u 9 pacjentów, w tym u 7 w grupie przyjmującej leki naserkowe i/lub obniżające ciśnienie. (Tabela 13)

Tabela 13. Nikotyzm – porównanie między grupami

	<i>Z n=43 n (%)</i>	<i>L n=26 n (%)</i>	<i>NS/C n=50 n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Nikotyzm</i>	2 (4,7)	0 (0)	7 (14,0)	0,060

W Tabeli 14 przedstawiano częstość występowania objawów subiektywnych w jamie ustnej zgłaszanych przez pacjentów w grupach przyjmujących i nieprzyjmujących leków.

W grupie Z - pacjentów nieprzyjmujących leków 30,2% osób nie odczuwało żadnych objawów dodatkowych, natomiast w grupie przyjmującej leki NS/C było takich osób tylko 16%. Najczęściej obserwowanym objawem w całej grupie badanych było uczucie pieczenia jamy ustnej występujące u 38,7%. Analiza porównawcza nie wykazała istotnych statystycznie różnic między badanymi grupami. ($p=0,302$).

Tabela 14. Charakterystyka objawów odczuwanych przez pacjentów w badanych grupach

	Ogółem <i>n (%)</i>	Z <i>n=43</i> <i>n (%)</i>	L <i>n=26</i> <i>n (%)</i>	NS/C <i>n=50</i> <i>n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Brak objawów</i>	30 (25,2)	13 (30,2)	9 (34,6)	8 (16,0)	0,302
<i>Objawy inne, lub wszystkie obecne jednocześnie</i>	38(31,9)	12 (27,9)	7 (26,9)	19 (38,0)	
<i>Pieczenie</i>	46(38,7)	17 (39,5)	10 (38,5)	19 (38,0)	
<i>Suchość</i>	5(4,2)	1 (2,3)	0 (0)	4 (8,0)	

Problemy ze spożywaniem pokarmów w związku z istniejącą w jamie ustnej patologią zgłosiło w całej grupie 62,2% badanych, w tym u 58,1% badanych nieprzyjmujących leków (Z), u 64% osób przyjmujących leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie (NS/C) i u 65,4% przyjmujących inne leki (L). (Tabela 15) Między badanymi grupami nie wykazano różnic istotnych statystycznie. ($p=0,786$).

Tabela 15. Problemy ze spożywaniem pokarmów – porównanie w badanych grupach

	Ogółem <i>n (%)</i>	Z <i>n=43</i> <i>n (%)</i>	L <i>n=26</i> <i>n (%)</i>	NS/C <i>n=50</i> <i>n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Obecność problemów z przyjmowaniem pokarmów</i>	74(62,2)	25 (58,1)	17 (65,4)	32 (64,0)	0,786

Pacjenci pytani o występowanie problemów z wykonywaniem zabiegów higienicznych w jamie ustnej, w całej grupie w 42,9% potwierdzili tą sugestię. Nie stwierdzono różnic między grupami (Tabela 16).

Tabela 16. Problemy ze higieną jamy ustnej – porównanie w badanych grupach

	Ogółem <i>n (%)</i>	Z <i>n=43</i> <i>n (%)</i>	L <i>n=26</i> <i>n (%)</i>	NS/C <i>n=50</i> <i>n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Obecność problemów z higieną jamy ustnej</i>	51 (42,9)	17 (39,5)	13 (50,0)	21 (42,0)	0,687

Przed przystąpieniem do badania przedmiotowego poproszono pacjentów o samoocenę higieny jamy ustnej. Zdecydowana większość pacjentów (77 osób - 69,4%) oceniła swoją higienę jako bardzo dobrą, tendencja ta utrzymywała się we wszystkich porównywanych grupach. Najwięcej osób oceniających swoją higienę jako bardzo dobrą należało do osób zdrowych nieprzyjmujących leków – (Z) - 69,8%. (Tabela 17)

Tabela 17. Samoocena higieny jamy ustnej

<i>Samoocena higieny j.u.</i>	<i>Cała grupa badana n=119</i>	Z <i>n=43</i> <i>n (%)</i>	L <i>n=26</i> <i>n (%)</i>	NS/C <i>n=50</i> <i>n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Przeciętna/słaba</i>	42 (35,3)	13 (30,2)	10 (38,5)	19 (38,0)	0,686
<i>Bardzo dobra</i>	77 (69,4)	30 (69,8)	16 (61,5)	31 (62,0)	

4.1.2 Wyniki badania przedmiotowego

W trakcie badania przedmiotowego oceniano higienę jamy ustnej wyrażoną wskaźnikiem API (%). W Tabeli 18 przedstawiono wartości wskaźnika API, odchylenie standardowe (SD), wartości minimalne i maksymalne dla poszczególnych grup. Średnia wartość wskaźnika API w całej grupie wynosiła 29,7%, co zgodnie z przyjętymi wartościami (API 25%-39%) wskazuje na higienę dobrą. W grupie pacjentów zdrowych (Z) średnia wartość wskaźnika oraz jego mediana były niższe, co wskazywało na optymalną higienę jamy ustnej. Natomiast w grupach L i NS/C wartości te były bardzo zbliżone i nieco wyższe, wskazujące na higienę dobrą. Nie wykazano różnic istotnych statystycznie (Tabela 19).

Tabela 18. Wartość wskaźnika API w badanych grupach pacjentów.

<i>Wskaźnik API (%)</i>	<i>min</i>	<i>Q1</i>	<i>median</i>	<i>Q3</i>	<i>max</i>	<i>średnia</i>	<i>SD</i>
<i>Cała badana grupa n=110</i>	0	7,0	23,0	47,5	100,0	29,7	30,0
<i>Z n=41</i>	0	7,0	19,0	33,0	100,0	24,0	23,6
<i>L n=24</i>	0	8,3	20,0	50,0	100,0	33,2	34,7
<i>NS/C n=45</i>	0	8,0	26,0	50,0	100,0	33,2	32,3

*u 9 osób bezzębnych wskaźnik API nie był oceniany

Tabela 19. Wskaźnik API – analiza porównawcza w badanych grupach

<i>Wskaźnik API</i>	<i>Z</i> <i>n=41</i>	<i>L</i> <i>n=24</i>	<i>NS/C</i> <i>n=45</i>	<i>p</i>
<i>mediana [IQR]</i>	19,0 [7,0; 33,0]	20,0 [8,3; 50,0]	26,0 [8,0; 50,0]	0,536

Średnia liczba zębów w jamie ustnej pacjentów w badanych grupach różniła się. Pacjenci zdrowi (Z) posiadali średnio 22,5 zęba, natomiast pacjenci z grupy L oraz NS/C istotnie mniej – odpowiednio 18,5 oraz 17,2 zęba (Tabela 20 i 21). **Różnica ta była istotna statystycznie** ($p=0,003$). Podobne różnice wykazano również w wartościach mediany.

Tabela 20. Liczba zębów w badanych grupach pacjentów

<i>Liczba zębów</i>	<i>min</i>	<i>Q1</i>	<i>median</i>	<i>Q3</i>	<i>max</i>	<i>średnia</i>	<i>SD</i>
<i>Cała badana grupa n=119</i>	0	14,0	23,0	26,0	28,0	19,4	9,0
<i>Z n=43</i>	0	22,0	25,0	27,5	28,0	22,5	7,7
<i>L n=26</i>	0	10,5	22,5	26,0	28,0	18,5	9,7
<i>NS/C n=50</i>	0	9,5	20,0	25,0	28,0	17,2	9,1

Tabela 21. Liczba zębów – analiza porównawcza

<i>Liczba zębów</i>	<i>Z</i> <i>n=43</i>	<i>L</i> <i>n=26</i>	<i>NS/C</i> <i>n=50</i>	<i>p</i>
<i>(mediana, [IQR])</i>	25,0 [22,0; 27,5]	22,5 [10,5; 26,0]	20,0 [9,5; 25,0]	0,003

W całej grupie badanej większość pacjentów – 92 osoby -77,3%, nie posiadała wypełnień amalgamatowych w jamie ustnej. W grupie pacjentów nieprzyjmujących leków (Z) takie wypełnienia stwierdzono u 32,6% osób, w grupie L u 30,8% natomiast w grupie pacjentów przyjmujących leki NS/C tylko u 10% ($p=0,019$). (Tabela 22)

Tabela 22. Obecność wypełnień amalgamatowych w badanych grupach pacjentów

<i>Wypełnienia amalgamatowe</i>	<i>Ogółem</i> <i>n (%)</i>	<i>Z n=43</i> <i>n (%)</i>	<i>L n=26</i> <i>n (%)</i>	<i>NS/C n=50</i> <i>n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Obecne (%)</i>	27 (22,7)	14 (32,6)	8 (30,8)	5 (10,0)	0,019
<i>Brak (%)</i>	92(77,3)	29 (67,4)	18 (69,2)	45 (90,0)	

Uzupełnienia protetyczne częściej posiadali pacjenci przyjmujący leki - grupa L w porównaniu do grupy pacjentów zdrowych - grupa Z. W grupie pacjentów zdrowych tylko 18,6% użytkowało uzupełnienia ruchome, natomiast w grupie pacjentów przyjmujących leki NS/C było to 34%. Natomiast uzupełnienia stałe występowały najczęściej u pacjentów zdrowych (37,2%) w porównaniu do grupy L przyjmującej różne leki oraz grupy NS/C (kolejno 19,2% i 22%). Nie były to jednak różnice istotne statystycznie ($p=0,132$). (Tabela 23)

Tabela 23. Użytkowanie uzupełnień protetycznych w badanych grupach

	<i>Ogółem n=119 n (%)</i>	<i>Z n=43 n (%)</i>	<i>L n=26 n (%)</i>	<i>NS/C n=50 n (%)</i>	
<i>Brak uzupełnień protetycznych</i>	49(41,2)	19 (44,2)	12 (46,2)	18 (36,0)	p
<i>ruchome (%)</i>	31(26,1)	8 (18,6)	6 (23,1)	17 (34,0)	0,132
<i>Ruchome i stałe (%)</i>	7(5,9)	0 (0)	3 (11,5)	4 (8,0)	
<i>stałe(%)</i>	32(26,0)	16 (37,2)	5 (19,2)	11 (22,0)	

Do oceny nasilenia odczuwanego przez pacjentów bólu użyto skali VAS (0-10). Średnia wartość odczuwanego bólu w całej grupie badanych, grupie pacjentów zdrowych - Z i przyjmujących leki – L nie różniła się i była zbliżona – odpowiednio 4,0; 3,8; 3,6, natomiast u pacjentów leczonych NS/C wynosiła 4,7 (p=0,6). (Tabela 24) Nie stwierdzono istotnych różnic w nasileniu bólu między grupami.

Tabela 24. Wartość odczuwanego bólu w skali VAS – porównanie pacjentów zdrowych i przyjmujących leki.

<i>Skala VAS</i>	<i>min</i>	<i>Q1</i>	<i>median</i>	<i>Q3</i>	<i>max</i>	<i>średnia</i>	<i>SD</i>
<i>Cała badana grupa n=119</i>	0	0	5,0	6,0	10,0	4,0	3,1
<i>Z n=43</i>	0	0	4,0	6,5	10,0	3,8	3,1
<i>L n=26</i>	0	0	5,0	6,0	10,0	3,6	3,1
<i>NS/C n=50</i>	0	1,0	5,0	6,8	10,0	4,7	3,2
<i>Grupy</i>	<i>Z n=43</i>	<i>L n=26</i>	<i>NS/C n=50</i>		<i>p</i>		
	<i>(median [IQR])</i>	<i>(median [IQR])</i>	<i>(median [IQR])</i>				
<i>SkalaVAS</i>	4,0 [0; 6,5]	5,0 [0; 6,0]	5,0[1,0; 6,8]		0,6		

Na podstawie lokalizacji i zakresu zmian oceniano rozległość zmian liszaja płaskiego w jamie ustnej według klasyfikacji Malhotra (wartości od 0 do 12). We wszystkich badanych grupach wartość średnia była zbliżona do 3 – (odpowiednio: Z-3,3, L-2,8, NS/C 3,2. (Tabela 25). We wszystkich badanych grupach zmiany OLP były najczęściej uogólnione i występowały w wielu lokalizacjach, w drugiej kolejności występowały tylko na błonie śluzowej policzków, najrzadziej występowały tylko na języku (Tabela 26). Zarówno rozległość zmian jak i ich lokalizacje nie wykazywały różnic istotnych między grupami.

Tabela 25. Lokalizacja i zakres zmian liszczaka płaskiego w badanych grupach

Lokalizacja-wynik(0-12)	min	Q1	median	Q3	max	średnia	SD
Cała badana grupa	1,0	2,0	3,0	4,0	8,0	3,2	1,8
Z n=43	1,0	2,0	3,0	5,0	8,0	3,3	1,7
L n=26	1,0	2,0	2,0	4,0	7,0	2,8	1,6
NS/C n=50	1,0	2,0	3,0	4,0	8,0	3,2	1,9

Tabela 26. Szczegółowa lokalizacja w poszczególnych grupach

Lokalizacja zmian -szczegółowa	Ogółem n=119 n (%)	Z n=43 n (%)	L n=26 n (%)	NS/C n=50 n (%)	p
- język	6 (5,0)	1 (2,3)	2 (7,7)	3 (6,0)	0,365
- policzki	39 (32,8)	13 (30,2)	12 (46,2)	14 (28,0)	
- różne lokalizacje	74 (62,2)	29 (67,4)	12 (46,2)	33 (66,0)	

W każdej z badanych grup oceniano stopień zaawansowania choroby w oparciu o kryteria skali Malhotra. W całej badanej grupie 119 osób stopień nasilenia I wg skali Malhotra wysąpił u 63,9% badanych, stopień II/III u 36,1%. Stopień I – najmniejszego nasilenia choroby w grupie pacjentów zdrowych wykazano u 65,1% zdrowych (Z), w grupie pacjentów L u 57,7%, a u przyjmujących leki NS/Cw najwyższym odsetku 86%. Nie były to jednak różnice istotne statystycznie.

Tabela 27. Nasilenie zmian - stopień choroby według klasyfikacji Malhotra w poszczególnych grupach

Stopień choroby	Ogółem n (%)	Z n=43 n (%)	L n=26 n (%)	NS/C n=50 n (%)	p
I	76 (63,9)	28 (65,1)	15 (57,7)	43 (86,0)	0,757
II/III	43 (36,1)	15 (34,9)	11 (42,3)	17 (34,0)	

Oprócz stopnia zaawansowania choroby (I-III), oceniano występowanie lub brak dodatkowych objawów subiektywnych takich jak ból i/ lub pieczenie oraz obecność lub brak zmian erozyjno-nadżerkowych OLP. Na tej podstawie, w kontynuacji zasad klasyfikacji Malhotra scharakteryzowano 3 postaci choroby: postać łagodną, postać średnio ciężką oraz postać ciężką w odniesieniu do uzyskanych wartości ocenianych parametrów. W całej grupie badanej – 119 osób, u prawie połowy pacjentów (49,6%) stwierdzono postać średnio ciężką, w dalszej kolejności postać łagodną (35,3%), a następnie postać ciężką (15,1%). Podobny rozkład zauważono we wszystkich ocenianych grupach. (Tabela 28)

Postać średnio ciężka i ciężka były najczęściej diagnozowane w grupie pacjentów leczonych NS/C – odpowiednio 52,0% i 22%, a łagodna w grupie osób zdrowych – Z – 39,5%. Różnice te nie były jednak istotne. Porównując grupy L i NS/C: w grupie pacjentów przyjmujących inne leki (L), ciężką postać stwierdzono tylko u 3,8%, w grupie chorych na nadciśnienie i/lub choroby serca – aż u 22% osób. (Tabela 28)

Tabela 28. Postać choroby – analiza porównawcza między grupami

	<i>Ogółem n (%)</i>	<i>Z n=43 n (%)</i>	<i>Ln=26 n (%)</i>	<i>NS/C n=50 n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Postać łagodna</i>	42 (35,3)	17 (39,5)	12 (46,2)	13 (26,0)	0,182
<i>Postać średnio ciężka</i>	59 (49,6)	20 (46,5)	13 (50,0)	26 (52,0)	
<i>Postać ciężka</i>	18 (15,1)	6 (14,0)	1 (3,8)	11 (22,0)	

Biorąc pod uwagę obecność lub brak objawów subiektywnych podawanych przez pacjentów oraz obraz kliniczny, zmian 119 badanych pacjentów włączono do 3 stanów klinicznych:

- 30 pacjentów wykazywało stan kliniczny asymptotyczny;
- 76 pacjentów wykazywało stan kliniczny symptomatyczny;
- 13 pacjentów stan kliniczny erozyjny. (Tabela 29)

Stan kliniczny asymptotyczny był najczęściej obserwowany w grupie pacjentów leczonych lekami innymi (L) – 34,6%. Stan kliniczny symptomatyczny występował w podobnej częstości w badanych grupach: Z: 65,1%, L: 65,4%, NS/C: 62%. Natomiast stan kliniczny erozyjny występował ze zdecydowaną przewagą w grupie pacjentów NS/C: 16% w stosunku do 10,9 % w całej grupie i do 0% w grupie pacjentów L. (Tabela 29)

Tabela 29. Stan kliniczny OLP analiza porównawcza w badanych grupach

	<i>Cała grupa badana</i>	<i>Z n=43 n (%)</i>	<i>L n=26 n (%)</i>	<i>NS/C n=50 n (%)</i>	<i>p</i>
<i>Stan kliniczny asymptotyczny</i>	30 (25,2)	10 (23,3)	9 (34,6)	11 (22,0)	0,261
<i>Stan kliniczny symptomatyczny</i>	76 (63,9)	28 (65,1)	17 (65,4)	31 (62,0)	
<i>Stan kliniczny erozyjny</i>	13 (10,9)	5 (11,6)	0 (0)	8 (16,0)	

ANALIZA JEDNOCZYNNIKOWA – SKALA VAS vs inne zmienne

Analiza jednoczynnikowa wykazała istotną statystycznie zależność między ciężkością przebiegu choroby a skalą VAS: wartość tej skali w postaci łagodnej była istotnie niższa niż w postaciach o cięższym przebiegu ($p < 0,001$ dla różnicy między przebiegiem łagodnym a średnio ciężkim, $p < 0,001$ dla różnicy między przebiegiem łagodnym a ciężkim, brak istotnej różnicy między przebiegiem średnio ciężkim a ciężkim ($p = 0,616$)). (Tabela 30)

Tabela 30. Analiza jednoczynnikowa zależności między ciężkością przebiegu choroby a skalą VAS

	<i>Postać łagodna (1)</i>	<i>Postać średnio- ciężka (2)</i>	<i>Postać ciężka (3)</i>	<i>p</i>
<i>Skala VAS (median[IQR])</i>	0 [0; 3,75]	5,0 [4,5; 7,0]	5,5 [3,3; 8,0]	1 vs 2 vs 3 < 0,001

Wartość skali VAS wykazywała istotną zależność również z objawami subiektywnymi klinicznymi choroby. W stanie klinicznym asymptotycznym była istotnie niższa niż w pozostałych postaciach ($p = 0,009$ dla różnicy między stanem asymptotycznym a symptomatycznym, oraz $p = 0,002$ dla różnicy między stanem asymptotycznym a erozyjnym). Nie stwierdzono istotnej różnicy między stanem symptomatycznym a erozyjnym ($p = 0,808$)). (Tabela 31)

Tabela 31. Analiza jednoczynnikowa zależności między stanem klinicznym OLP a skalą VAS

	<i>Stan kliniczny asymptomatyczny (1)</i>	<i>Stan kliniczny symptomatyczny (2)</i>	<i>Stan kliniczny erozyjny (3)</i>	<i>p</i>
<i>Skala VAS (median [IQR])</i>	0 [0; 0]	5,0 [4,0; 7,0]	5,0 [4,0; 8,0]	1 vs 2 vs 3 <0.001 1 vs 2 $p=0,009$ 1 vs 3 $p=0,002$ 2 vs 3 $p=0,808$

Skala VAS istotnie korelowała także z czasem trwania choroby i dłuższy jej przebieg wiązał się istotnie z wyższą wartością skali bólu VAS. (Tabela 32)

Tabela 32. Korelacja między czasem trwania choroby a skalą VAS – współczynnik korelacji Spearmana.

<i>rho</i>	<i>p</i>
0,28	0,002

Przy ustalonych pozostałych zmiennych stan kliniczny był istotnie związany ze skalą VAS. W porównaniu ze stanem klinicznym asymptomatycznym, w stanie symptomatycznym oczekujemy średnio o 4,74, a w stanie erozyjnym o 4,15 punktu wyższą wartość w skali VAS. (Tabela 33).

Tabela 33. Analiza wieloczynnikowa wybranych zmiennych ze skalą VAS

<i>Zmienna</i>	<i>Współczynnik</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>
<i>(Intercept)</i>	-0,40	0,48	0,415
<i>Log (Długość trwania choroby)</i>	0,14	0,15	0,346
<i>Stopień choroby II/III</i>	0,30	0,45	0,510
<i>Postać choroby średnio-ciężka</i>	0,59	0,58	0,319
<i>Postać choroby ciężka</i>	1,04	1,17	0,375
<i>Stan kliniczny symptomatyczny</i>	4,74	0,63	<0.001
<i>Stan kliniczny erozyjny</i>	4,15	1,34	0,002

ANALIZA JEDNOCZYNNIKOWA – Długość trwania choroby vs inne zmienne

Długość trwania zmian OLP istotnie korelowała z objawami subiektywnymi i klinicznymi choroby. Czas obecności zmian liszaja w stanie asymptotycznym był istotnie krótszy w porównaniu z pozostałymi ($p < 0.001$ między stanem asymptotycznym a symptomatycznym, $p < 0.001$ dla różnicy między stanem asymptotycznym a erozyjnym, brak istotnej różnicy między stanem symptomatycznym a erozyjnym ($p = 0.075$)). (Tabela 34)

Tabela 34. Analiza jednoczynnikowa zależności długości trwania choroby w powiązaniu z objawami subiektywnymi i klinicznymi

	<i>Stan kliniczny asymptomatyczny (1)</i>	<i>Stan kliniczny symptomatyczny (2)</i>	<i>Stan kliniczny erozyjny (3)</i>	<i>P 1/2/3</i>
<i>Długość trwania choroby (median [IQR]) (w miesiącach)</i>	4,0 [2,0; 21,0]	18,0 [5,8; 36,0]	48,0 [16,0; 96,0]	0,001

W porównaniu z stanem klinicznym asymptotycznym, w stanie symptomatycznym oczekujemy średnio o 0,97 miesiąca dłużej trwającej choroby, a w postaci erozyjnej o 2,23 miesiąca dłużej trwającej choroby. (Tabela 35)

Tabela 35. Analiza wieloczynnikowa wybranych zmiennych z długością trwania choroby

<i>Zmienna</i>	<i>Współczynnik</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>
<i>(Intercept)</i>	1,81	0,26	<0,001
<i>Stopień choroby II/III</i>	0,15	0,29	0,602
<i>Ciężkość przebiegu choroby średnio ciężka</i>	-0,08	0,37	0,834
<i>Ciężkość przebiegu choroby ciężka</i>	-0,67	0,75	0,368
<i>Stan kliniczny symptomatyczny</i>	0,97	0,39	0,014
<i>Stan kliniczny erozyjny</i>	2,23	0,83	0,008

4.1.3. Wyniki badania poziomu mucyn w ślinie z wykorzystaniem ELISA

Wartości poziomów badanych mucyn w ślinie: MUC 5B i MUC 7 oraz wartości *pH* w grupie osób z OLP porównano z wynikami grupy kontrolnej. Poziomy obu badanych białek były wyższe w grupie badanej i była to różnica istotna statystycznie ($p < 0,001$, $p = 0,011$). Również średnia wartość *pH* w grupie badanej była nieznacznie wyższa w porównaniu do kontrolnej. (Tabela 36)

Tabela 36. Porównanie wartości stężenia mucyn i *pH* w grupie badanej i kontrolnej

	<i>Grupa badana</i>	<i>Grupa kontrolna</i>	<i>p</i>
<i>MUC 5B (median [IQR]) ng/ml</i>	3422,3 [1498,2; 6575,8]	340,9 [212,6; 388,3]	<0,001
<i>MUC 7 (median [IQR]) ng/ml</i>	725,3 [326,8; 1235,5]	152,0 [141,0; 160,0]	0,011
<i>wartość pH (mean (SD))</i>	6,9 (0,5)	6,8 (0,2)	0,508

Stwierdzono różnice stężeń badanych mucyn w powiązaniu z płcią. Mediana poziomu MUC 5B była wyższa u mężczyzn w porównaniu do kobiet (odpowiednio: 3430,7 i 2740,6). Z kolei wartość mediany MUC7 była wyższa u kobiet i wynosiła 847,5, u mężczyzn natomiast 388,1. Nie wykazano różnic istotnych statystycznie (Tabela 37).

Tabela 37. Poziom mucyn w zależności od płci w grupie badanej

	<i>Kobiety</i>	<i>Mężczyźni</i>	<i>p</i>
<i>MUC 5B (median [IQR]) ng/ml</i>	2740,6 [1483,7; 7650,9]	3430,7 [1587,9; 4000,0]	0,536
<i>MUC 7 (median [IQR]) ng/ml</i>	847,5 [406,1; 1235,5]	388,1 [295,6; 1317,0]	0,538

Poziom mucyny 5B był najwyższy w grupie pacjentów przyjmujących różne leki – 4037,7, następnie w grupie Z – 3464,9 i najniższy w grupie leczonej z powodu chorób serca i/lub nadciśnienia – 2000,0. Z kolei poziom mucyny 7 był najwyższy w grupie pacjentów przyjmujących leki nasercowe/obniżające ciśnienie, następnie w grupie osób Z i w końcu w grupie osób przyjmujących inne leki, a średnie poziomy białka w tych grupach wynosiły odpowiednio: 916,0 ng/ml, 522,8 ng/ml oraz 387,7 ng/ml. Różnice te nie były istotne statystycznie (*Tabela 38*).

Tabela 38. Poziom mucyn ślinowych w badanych grupach

	Z	L	NS/C	p
<i>MUC 5B (median [IQR]) ng/ml</i>	3464,9 [1493,4; 5818,7]	4037,7 [1738,9; 8800,0]	2000,0[1323,4; 4310,6]	0,336
<i>MUC 7 (median [IQR]) ng/ml</i>	552,8 [353,6; 916,0]	386,7 [244,3; 529,2]	916,0[422,6; 2031,2]	0,331

Stężenie mucyny 7 u osób zgłaszających problem z przyjmowaniem pokarmów był istotnie statystycznie niższy. Natomiast dla poziomu MUC5B nie zaobserwowano istotnych różnic (*Tabela 39*).

Tabela 39. Poziom mucyn ślinowych w powiązaniu z problem z przyjmowaniem pokarmów

	<i>Brak problemów</i>	<i>Obecność problemów</i>	p
<i>MUC 5B (median [IQR]) ng/ml</i>	2029,5 [1764,5; 3685,8]	4000,0 [1448,5; 6625,7]	0,695
<i>MUC 7 (median [IQR]) ng/ml</i>	985,3 [854,9; 2523,4]	388,1 [200,2; 813,3]	0,013

W ocenie powiązania poziomu mucyny 5B z higieną jamy ustnej stwierdzono jej istotnie niższy poziom u pacjentów określających swoją higienę jako przeciętną lub słabą.

Potwierdza to również wartość ujemna współczynnika korelacji Spearana poziomu MUC5B i poziomu higieny jamy ustnej ocenianej wskaźnikiem API. Wynosił on -0,37, czyli gorsza higiena jamy ustnej wiązała się z niższym stężeniem mucyny MUC5B (Tabela 41).

Poziom MUC7 był również niższy w grupie osób oceniających swoją higienę jako przeciętną – słabą w porównaniu do grupy z dobrą oceną higieny, ale różnica nie była istotna statystycznie (Tab. 40).

Tabela 40. Poziom mucyn ślinowych a samoocena poziomu higieny

	<i>Bardzo dobra</i>	<i>Przeciętna/słaba</i>	<i>p</i>
<i>MUC 5B (median [IQR]) ng/ml</i>	4127,9 [1548,1; 8800,0]	1971,2 [1493,4; 3517,8]	0,052
<i>MUC 7 (median [IQR]) ng/ml</i>	916,0 [433,0; 1235,5]	612,2 [241,3; 1194,8]	0,643

Tabela 41. Korelacje między wskaźnikiem API a poziomem mucyn

	<i>MUC 7 rho</i>	<i>MUC 5B rho</i>	<i>MUC 7 p</i>	<i>MUC 5B p</i>
<i>API(%)</i>	0	-0,37	0,998	0,007

Ocena zależności poziomu mucyn w powiązaniu z lokalizacją zmian liszaja płaskiego w jamie ustnej wykazała, że najwyższe stężenie MUC 5B było powiązane ze zmianami na języku, natomiast MUC 7 na policzkach (Tabela 42).

Tabela 42. Poziom mucyn ślinowych a lokalizacja zmian

	<i>Język</i>	<i>Policzki</i>	<i>kilka lokalizacji</i>	<i>p</i>
<i>MUC 5B</i> (median [IQR]) ng/ml	6625,7 [3816,7; 7712,9]	2000,0 [1530,8; 4600,0]	3464,9 [1536,9; 6319,3]	0,321
<i>MUC 7</i> (median [IQR]) ng/ml	NA [NA; NA]	916,0 [453,2; 3015,6]	671,6 [246,2; 916,0]	0,720

Poziom mucyn różnił się również w zależności od stopnia zaawansowania zmian liszaja płaskiego (I-III), i był wyższy dla obu białek w stopniu I w porównaniu dla poziomów w stopniu II /III (łącznie ze względu na ich małą liczebność). Dla MUC7 była to różnica istotna. (Tabela 43).

Tabela 43. Poziom mucyn a stopień choroby (zasięg i rozległość)

	<i>I</i> <i>n=37</i>	<i>II/III</i> <i>n=20</i>	<i>p</i>
<i>MUC 5B</i> (median [IQR]) ng/ml	3499,1 [1627,6; 6625,7]	2023,00 [1118,1; 5806,2]	0,406
<i>MUC 7</i> (median [IQR]) ng/ml	916,0 [453,2; 1785,3]	422,6 [226,4; 459,4]	0,073

Poziom MUC 5B był najniższy w ciężkiej postaci choroby w porównaniu do nieco wyższego w postaci postaci łagodnej i i jeszcze wyższego w postaci średnio ciężkiej. Poziom mucyny 7 jednoznacznie wskazywał tendencję spadkową wraz z nasilaniem się ciężkości choroby i był najniższy w postaci ciężkiej- erozyjnej liszaja płaskiego (Tabela 45).

Tabela 45. Poziom mucyn ślinowych w powiązaniu z postacią OLP

	<i>Postać łagodna</i>	<i>Postać średnio- ciężka</i>	<i>Postać ciężka</i>	<i>p</i>
<i>MUC 5B (median [IQR]) ng/ml</i>	2029,5 [1496,2; 7621,6]	3654,6 [1640,4; 6600,8]	1969,3 [1423,2; 4000,0]	0,482
<i>MUC 7 (median [IQR]) ng/ml</i>	916,0 [641,9; 1239,1]	687,7 [195,3; 2333,7]	334,4 [215,1; 511,7]	0,238

Z kolei w ocenie stanu klinicznego OLP w powiązaniu z poziomem MUC 5B był on najniższy w stanie klinicznym bezobjawowym, wyższy w stanie klinicznym erozyjnym i najwyższy w w stanie symptomatycznym, ale różnice między grupami nie były istotne. Z kolei stężenie mucyny 7 było również najniższe w postaci erozyjnej, nieco wyższe w postaci bezobjawowej i najwyższe w postaci objawowej – bólowej ale bez zmian erozyjnych. (Tabela 46).

Tabela 46. Poziom mucyn ślinowych w powiązaniu z stanem klinicznym OLP

	<i>OLP- stan kliniczny asymptomatyczny</i>	<i>OLP- stan kliniczny symptomatyczny</i>	<i>OLP stan kliniczny erozyjny</i>	<i>p</i>
<i>MUC 5B (median [IQR]) ng/ml</i>	1934,5 [835,6; 8800,0]	3499,1 [1710,0; 6296,2]	2971,2 [1609,2; 4000,0]	0,760
<i>MUC 7 (median [IQR]) ng/ml</i>	793,8 [582,5; 1573,3]	916,0 [258,2; 1597,3]	334,4 [215,1; 511,7]	0,277

4.1.4. Wyniki elektroforezy SDS-PAGE śliny

Przed wykonaniem oznaczeń przeprowadzono pomiar białka całkowitego w próbkach śliny, która miała zostać poddana procedurze SDS-PAGE. Oznaczenie wykonano z wykorzystaniem jednokanałowego spektrofotometru mikropłytkowego o zakresie 200-999nm firmy EPOCH (Tabela 47).

Tabela 47. Przedstawienie stężeń białka całkowitego w ślinie wykonane z wykorzystaniem aparatu EPOCH

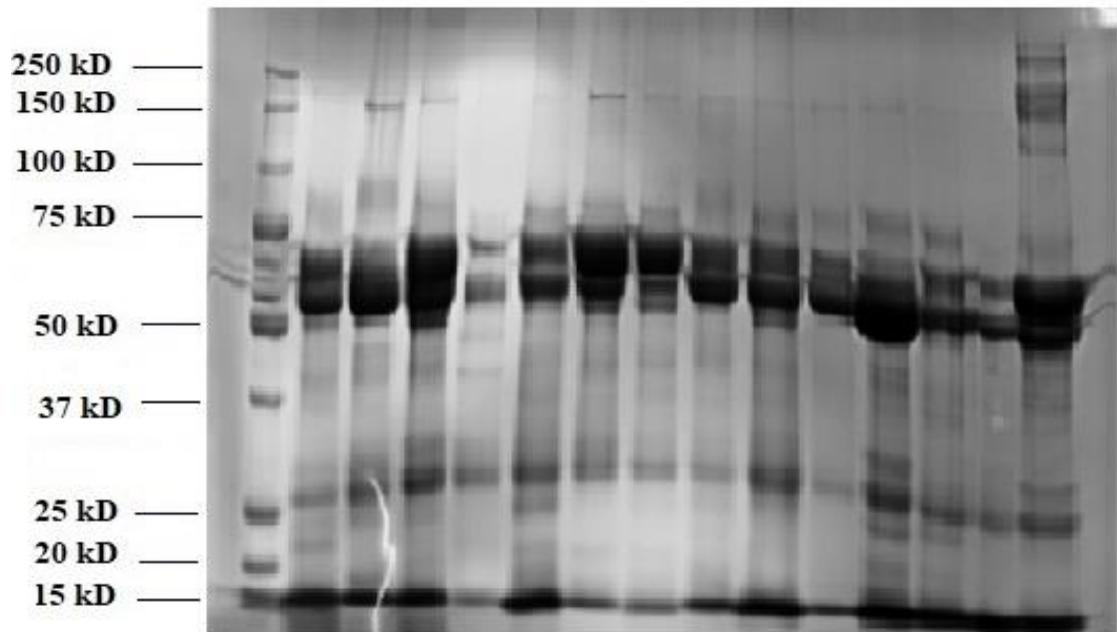
Rodzaj próbki śliny	595	Odczyt z aparatu	Przeliczenie stężeń po uwzględnieniu rozcieńczenia	Jednostka
*	1,639	0,684	1,368	mg/ml
	1,538	0,571	1,142	mg/ml
	1,331	0,334	0,668	mg/ml
	1,313	0,309	0,618	mg/ml
	1,185	0,162	0,324	mg/ml
	1,248	0,223	0,446	mg/ml
	1,737	1,149	2,298	mg/ml
	1,708	0,994	1,988	mg/ml
	1,814	1,273	1,264	mg/ml
	1,505	0,533	1,066	mg/ml
	1,379	0,391	0,782	mg/ml
	1,294	0,285	0,57	mg/ml
	1,639	0,684	1,368	mg/ml
	1,911	1,989	5,476	mg/ml
	1,528	0,559	1,118	mg/ml
	1,778	1,371	2,742	mg/ml
	1,752	1,233	2,466	mg/ml
**	1,239	0,21	0,42	mg/ml
	1,651	0,697	1,394	mg/ml

	1,695	0,928	1,856	mg/ml
	0,938	0,078	0,156	mg/ml
	1,391	0,405	0,81	mg/ml
	1,831	1,674	2,232	mg/ml
	1,881	2,856	3,808	mg/ml
	1,75	1,219	2,438	mg/ml
	1,542	0,575	1,15	mg/ml
	1,305	0,299	0,598	mg/ml
	1,597	0,636	1,272	mg/ml
	1,967	2,715	3,62	mg/ml
	1,864	0,897	1,196	mg/ml
	1,731	1,121	2,242	mg/ml
	1,775	1,182	1,576	mg/ml
	1,901	0,603	0,804	mg/ml
	1,783	1,396	2,792	mg/ml
	1,667	0,777	1,554	mg/ml
	1,594	0,633	1,266	mg/ml
	1,43	0,448	0,896	mg/ml
	1,816	0,528	0,704	mg/ml
	1,589	0,627	1,254	mg/ml
	1,734	1,136	2,272	mg/ml
	1,861	0,966	1,288	mg/ml
	1,556	0,591	1,182	mg/ml
	1,805	1,383	1,844	mg/ml
	1,835	0,528	0,704	mg/ml
	1,801	0,627	0,836	mg/ml
	1,956	0,87	1,16	mg/ml
	1,469	0,492	0,984	mg/ml
	1,795	0,999	1,332	mg/ml
	1,734	1,137	2,274	mg/ml
	1,539	0,572	1,144	mg/ml
	1,982	0,477	0,636	mg/ml
	1,712	1,018	2,036	mg/ml

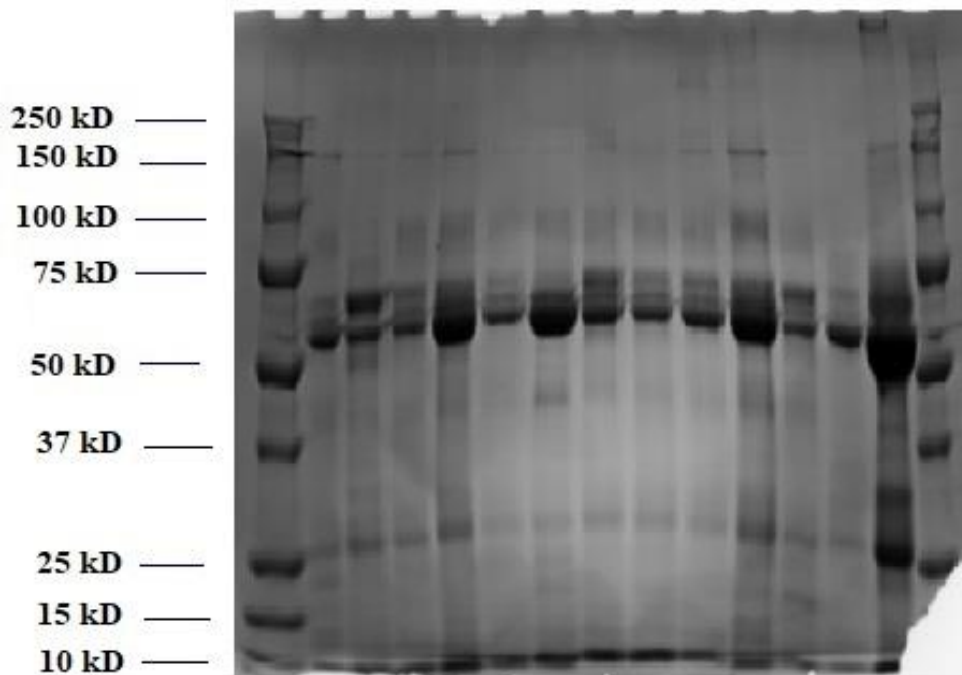
	1,794	0,459	0,612	mg/ml
	1,777	1,367	2,734	mg/ml
	1,844	0,549	0,732	mg/ml
	1,665	0,765	1,53	mg/ml
	1,853	1,155	1,54	mg/ml
	1,824	1,701	2,268	mg/ml
	1,969	0,477	0,636	mg/ml
	1,673	0,808	1,616	mg/ml
	0,963	0,081	0,162	mg/ml
	0,477	0,028	0,056	mg/ml
	0,827	0,067	0,134	mg/ml
	1,091	0,118	0,236	mg/ml
	1,95	0,789	1,052	mg/ml
	1,65	0,696	1,392	mg/ml
	1,609	0,65	1,3	mg/ml
	1,516	0,546	1,092	mg/ml
	1,702	0,966	1,932	mg/ml
	1,625	0,669	1,338	mg/ml

Legenda: *kolorem niebieskim oznaczono wyniki parametrów uzyskanych w grupie kontrolnej, ** kolorem żółtym oznaczono wyniki białka całkowitego w grupie badanej.

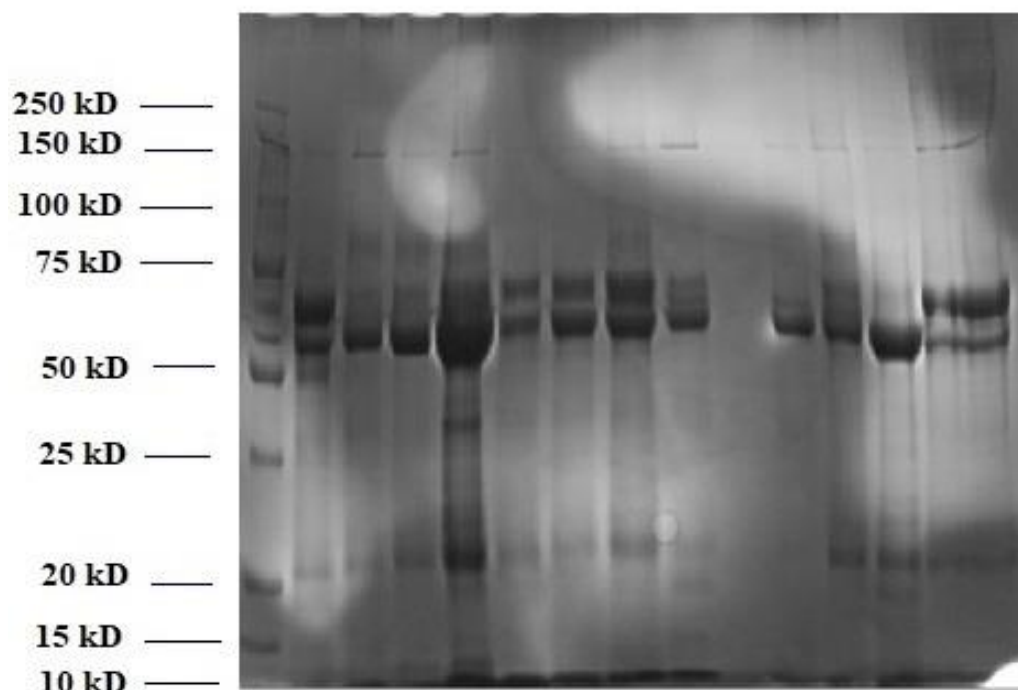
Badanie w kierunku elektroforezy akrylamidowej białek z wykorzystaniem procedury SDS-PAGE wykonano u 75 pacjentów włączonych do niniejszego badania. Ze względu na występujący u części pacjentów niski poziom wydzielania śliny uzyskane objętości pobranej śliny w części przypadków okazały się niewystarczające do wykonania przewidzianego w rozprawie doktorskiej szeregu badań. Jako drabinki (markera) wielkości użyto Precision Plus Protein™ All Blue Prestained Protein Standards firmy Biorad. Wyniki przedstawiono na rycinach umieszczonych poniżej.



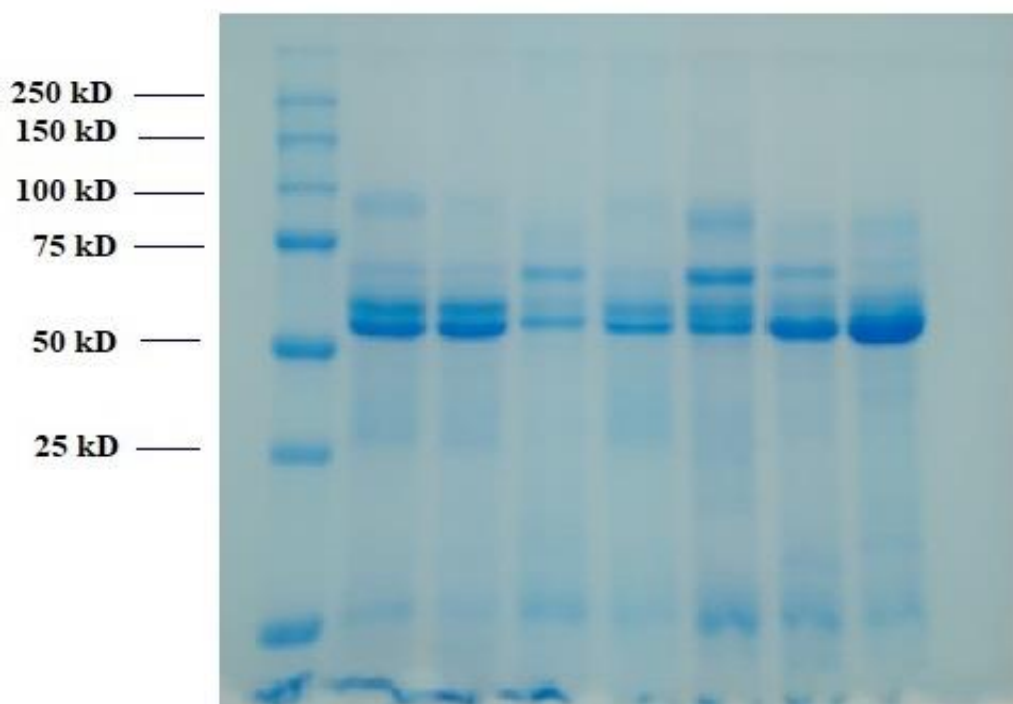
Rycina 12. Marker masy białek, próbki śliny pacjentów zanonimizowane do numerów z tabeli 47: 9, 17, 15, 86, 97, 78, 44, 8, 68, 64, 61, 101, 103, 18. Wynik wykonany za pomocą zestawu do analizy Mini-PROTEAN TGX Stain-Free™ firmy Biorad w Pracowni Naukowej Badań Biologii Molekularnej (PNBBM) UMED Wrocław.



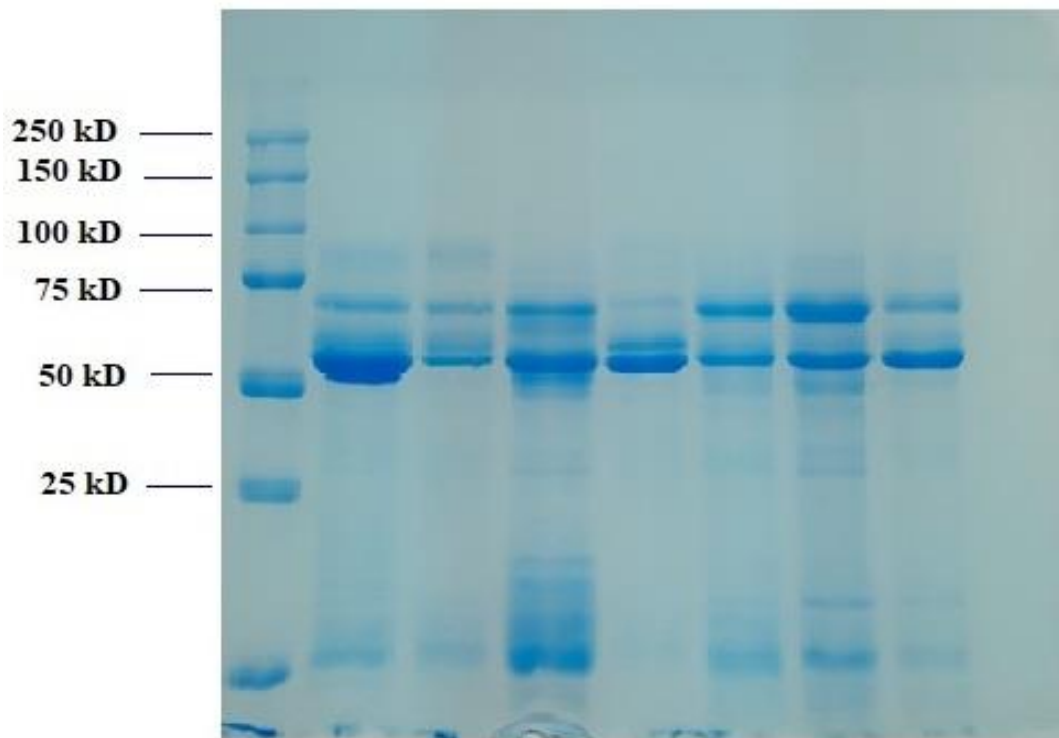
Rycina 13. Marker masy białek, próbki śliny pacjentów zanonimizowane do numeracji: 1, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 14, 16, 21, 28, marker masy białek. Wynik wykonany za pomocą komercyjnego zestawu do analizy Mini-PROTEAN TGX Stain-Free™ firmy Biorad w PNBBM UMED Wrocław.



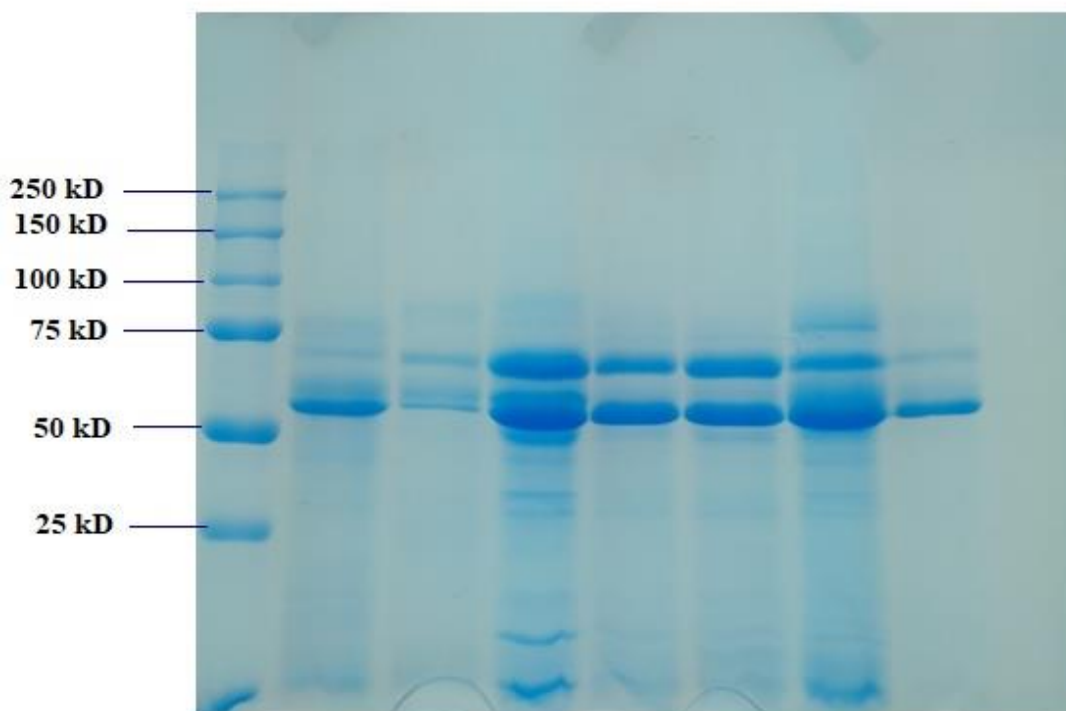
Rycina 14. Marker masy białek, próbki śliny pacjentów zanonimizowane do numeracji: 32, 49, 53, 60, 65, 66, 67, 77, 80, 70, 71, 79, 18. Wynik wykonany za pomocą komercyjnego zestawu do analizy Mini-PROTEAN TGX Stain-Free™ firmy Biorad w PNBBM UMED Wrocław.



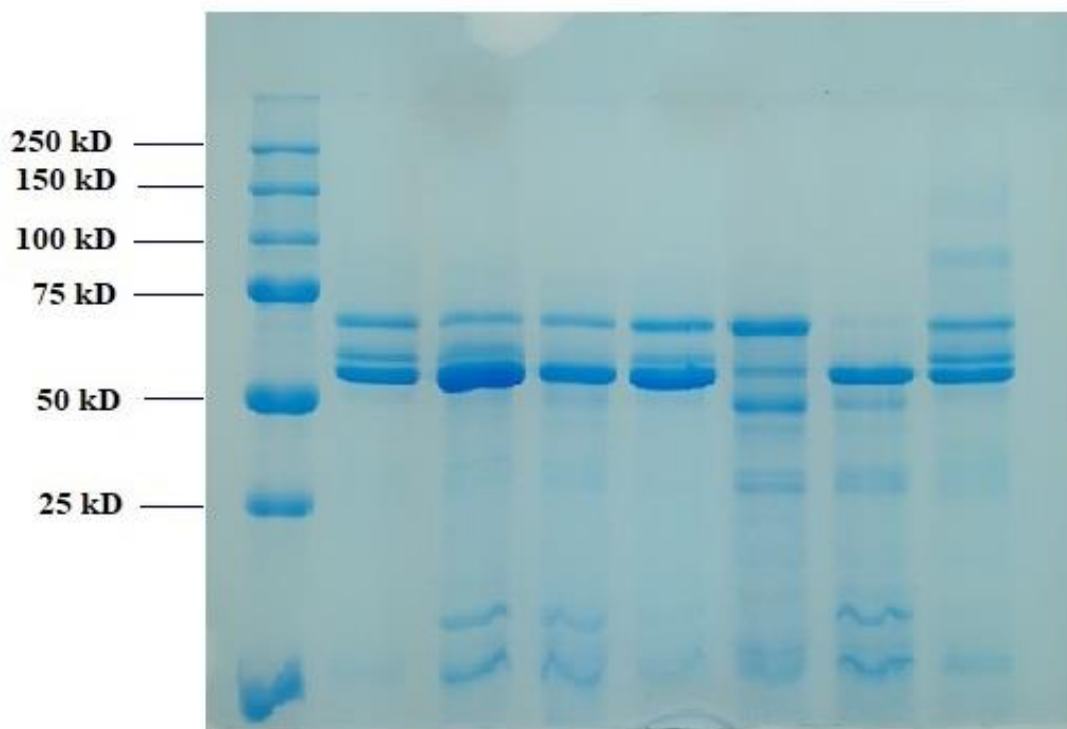
Rycina 15. Marker masy białek, próbki śliny pacjentów zanonimizowane do numeracji: 2, 10, 84, 49, 58, 59, 69. Wynik wykonany za pomocą komercyjnego zestawu do analizy w Zakładzie Mikrobiologii, Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.



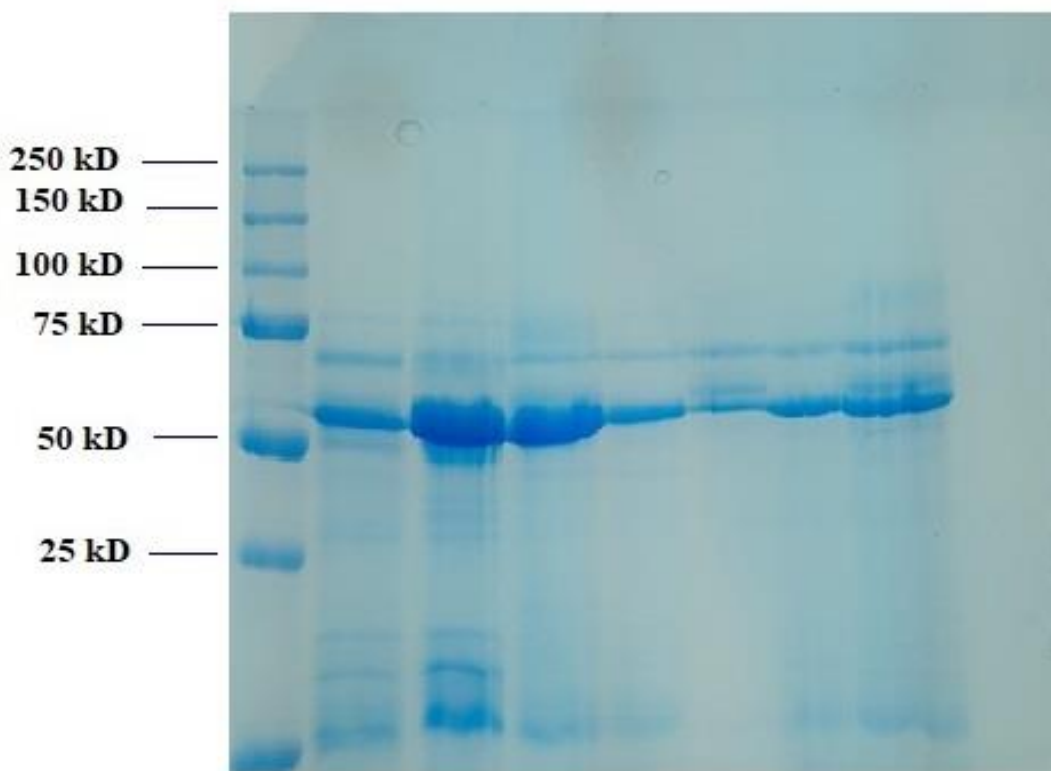
Rycina 16. Marker masy białek, próbki śliny pacjentów zanonimizowane do numeracji: 83, 82, 77, 75, 74, 73, 72, Marker masy białek. Wynik wykonany za pomocą komercyjnego zestawu do analizy w Zakładzie Mikrobiologii, Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.



Rycina 17. Marker masy białek, próbki śliny pacjentów zanonimizowane do numeracji: 87, 88, 91, 92, 93, 94, 95. Wynik wykonany za pomocą komercyjnego zestawu do analizy w Zakładzie Mikrobiologii, Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.



Rycina 18. Marker masy białek, próbki śliny pacjentów zanonimizowane do numeracji: 119, 118, 117, 116, 115; marker masy białek. Wynik wykonany za pomocą komercyjnego zestawu do analizy w Zakładzie Mikrobiologii, Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.



Rycina 19. Marker masy białek, próbki śliny pacjentów zanonimizowane do numeracji: 106, 108, 109, 110, 111, 112, 113. Wynik wykonany za pomocą komercyjnego zestawu do analizy w Zakładzie Mikrobiologii, Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.

Na przedstawionych powyżej rycinach zaobserwowano indywidualne różnice makroskopowe parametrów oznaczanych białek śliny pomiędzy pacjentami w zakresie od >250 kD do <10 kD. Poszczególne próbki z obu grup wykazywały zmienność prążków o niskiej masie cząsteczkowej. Dzięki wykorzystaniu różnych typów żeli akrylamidowych (15% i 10%) i uzyskanych na nich wynikach, wysunięto wniosek o konieczności wykorzystywania do analizy śliny żeli akrylamidowych o stężeniu wyższym niż 10% celem uwidocznienia prążków o niskiej masie. W wyniku powyżej przedstawionego jakościowego procesu analizy próbek badanych pacjentów z *Lichen planus* w porównaniu do grupy badanej, wykazano również zbliżony układ prążków w obu grupach. Dalsze badania z wykorzystaniem szczegółowych metod analizy poszczególnych prążków (reakcje ze specyficznymi przeciwciałami, Western Blot, spektrometria mas) mogą zostać wykonane, aby dokonać analizy szczegółowej uzyskanych danych.

5. DYSKUSJA

Liszaj płaski jest przewlekłą, niezakaźną chorobą skóry i błon śluzowych o charakterystycznych objawach klinicznych. (3,6) Etiologia choroby jest wciąż niejasna i skomplikowana, jednak stan ogólny pacjenta bez wątplenia ma duże znaczenie kliniczne w przebiegu liszaja płaskiego. Wielu autorów zwraca uwagę na fakt, że jama ustna jest zwierciadłem chorób ogólnoustrojowych, a manifestacje ustne choroby ogólnoustrojowej mogą służyć jako wstępna wskazówka w diagnozie i postępowaniu w pierwotnej patologii systemowej. W świetle aktualnej wiedzy wiele czynników, zarówno miejscowych, jak i ogólnych, m.in. bodźce psychiczne, metaboliczne czy infekcyjne mogą wywołać w obrębie skóry i błony śluzowej ekspresję nowych antygenów i zapoczątkować procesy immunologiczne.(8) Ponadto analiza literatury potwierdza, że liszaj płaski często współwystępuje z chorobami o podłożu autoimmunologicznym, jak: cukrzyca, miastenia, łysienie plackowate, niedoczynność tarczycy, toczeń rumieniowaty. (4,10) W pracy Lauritano i wsp. (5) choroby ogólne takie jak: nadciśnienie, cukrzyca, zapalenie wątroby B i C, zapalenie tarczycy, depresja i zaburzenia lękowe występują częściej u pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego niż w populacji ogólnej. Zdecydowana większość pacjentów (39-44,8%) chorowała na nadciśnienie tętnicze, co pokrywa się też z obserwacjami innych badaczy. (5,104)

Wpływ stanu ogólnego pacjenta na objawy kliniczne liszaja płaskiego to temat interesujący wielu badaczy. Szczególnie zbadany jest związek między nadciśnieniem a liszajem płaskim, który został po raz pierwszy zauważony przez Grinspana (24,25) ze względu na podobną patogenezę obu jednostek chorobowych. Istotą mechanizmu nadciśnienia tętniczego jest reakcja zapalna na neoantygeny, powstające wskutek stresu oksydacyjnego. Następnie neoantygeny prowadzą do aktywacji limfocytów T, nadprodukcji cytokin prozapalnych (zwłaszcza IL-6, IL-17 I TNF-alfa) i rozwoju nadciśnienia tętniczego. (24). Wykazano również inną zależność. W badaniach Daye i wsp. z 2020r. stwierdzono, że występowanie zespołu metabolicznego (wiążącego się z otyłością brzuszną, dyslipidemią, nietolerancją glukozy lub cukrzycą oraz nadciśnieniem tętniczym) w grupie osób ze zmianami liszaja płaskiego było istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej.(105)

W celu zbadania powiązań między stanem ogólnym pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego w jamie ustnej, przyjmowanymi lekami oraz objawami subiektywnymi i klinicznymi a także profilem proteinowym śliny całą badaną grupę 119 osób

podzielono na trzy grupy: pacjentów zdrowych, nie przyjmujących leków (Z), pacjentów przyjmujących leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie (NS/C) oraz pacjentów przyjmujących inne leki: m.in. przeciwzapalne, antyhistaminowe, antydepresanty, hormony tarczycy.

Zarówno w przypadku pacjentów przyjmujących leki nasercowe i obniżające ciśnienie, jak i w przypadku pacjentów przyjmujących inne leki, mogły występować reakcje typu zmian lichenoidalnych. Opisano powiązanie ustnych zmian lichenoidalnych z przyjmowaniem wielu leków, m.in. ibuprofenu, inhibitorów-ACE, beta-blokerów czy furosemidu.(11,14,32) Zmiany lichenoidalne są wynikiem nadwrażliwości komórkowej typu IV, ustępują zwykle po wycofaniu leku przyczynowego. Jednak niezwykle trudno jest ustalić, zarówno w badaniu klinicznym jak i histopatologicznym, powiązanie stosowanego leku z występowaniem zmian. Te działania uboczne mogą pojawić się nawet po kilku latach leczenia danym preparatem. Jednak niewiele jest jednoznacznych opisów leków w literaturze, których przyjmowanie wiąże się z obecnością zmian lichenoidalnych. Z kolei konwersja stosowanego leku na inny, może nie zawsze być korzystna w leczeniu choroby podstawowej.

Autorzy są zgodni, że liszaj płaski częściej występuje u kobiet, w stosunku do mężczyzn 1,4: do 1. (1,42,52) Również w przeprowadzonych badaniach własnych kobiety stanowiły znaczącą większość grupy badanej – 87 osób wśród 119 (73,1%), a także poszczególnych badanych grup.

Chociaż dokładna częstość występowania OLP nie jest znana, ocenia się ją między 0,1 a 1,2% w populacji. Dzieci stanowią jedynie 1-4% pacjentów z OLP, a obraz kliniczny zmian jest często nietypowy. (1,4,6) W badaniu retrospektywnym z 2017r. przeprowadzonym przez Cascone i wsp. opisano 8 przypadków liszaja płaskiego w jamie ustnej u pacjentów poniżej 18 rż. Autorzy podają, że zmiany OLP u dzieci występują z częstotliwością 0,03%, są częściej zlokalizowane na języku (6/8 przypadków) niż na policzkach. (106) Ponadto udokumentowano dziecięcą postać LP jako powikłanie szczepienia przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby typu B (HBV), w którym rekombinowane proteiny szczepionki - a konkretnie wirusowy epitop S - mogą wywoływać komórkową odpowiedź autoimmunologiczną skierowaną przeciwko keratynocytom. (106) W przytoczonym badaniu u większości pacjentów występowała dodatkowa choroba autoimmunologiczna (7/8 przypadków). (106)

Według piśmiennictwa liszaj płaski pojawia się na ogół u pacjentów w wieku między 30. a 60. rokiem życia. W badaniu własnym średnia wieku pacjentów wynosiła 59,8 lat. Średnia ta w grupie kobiet była nieco wyższa i wynosiła 60,6 lat, natomiast grupa mężczyzn była nieistotnie młodsza - ze średnią wieku 57,4 czyli niższą o niecałe 4 lata. Najliczniej reprezentowani byli pacjenci w wieku 52-61 lat, najmniej było pacjentów powyżej 82 roku życia (4 osoby). Nie było żadnego przypadku OLP poniżej 22 roku życia.

Pacjenci przyjmujący leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie (NS/C) byli istotnie statystycznie starsi – o średniej wieku 65,3 lat w porównaniu z pacjentami bez leczonych schorzeń ogólnych (Z).

Stan taki może być związany z faktem, że w większości populacji ryzyko chorób sercowo-naczyniowych wzrasta gwałtownie wraz z wiekiem. Proces starzenia się ma niezaprzeczalny wpływ na strukturę i funkcję układu sercowo-naczyniowego. U osób w podeszłym wieku występuje także większe prawdopodobieństwo występowania innych chorób współistniejących.(107) W badaniach Vallée i wsp. częstość występowania nadciśnienia tętniczego wynosiła 31,3% wśród pacjentów między 18 a 72 rokiem życia, i wzrastała wraz z wiekiem, osiągając 68,8% populacji w wieku 65-74 lat, co jest zgodne ze średnią wieku w grupie osób leczonych z powodu chorób serca lub nadciśnienia tętniczego stwierdzoną w badaniach własnych. (108)

W całej badanej grupie większość pacjentów posiadała wykształcenie wyższe, w drugiej kolejności średnie. Można przypuszczać, że wyższe wykształcenie wiąże się z wyższym poziomem stresu odczuwanego w życiu codziennym, a stres jest istotnym czynnikiem etiologicznym OLP.(7) Podobny rozkład wystąpił we wszystkich badanych grupach.

Ocena psychologiczna przy użyciu DASS-42 w badaniu Kalkur i wsp. z 2015r. pokazała, że u pacjentów z liszajem płaskim częściej występowały elementy współchorobowości psychiatrycznej, takie jak depresja, lęk i stres w porównaniu z grupą kontrolną. (7) Badania sugerują ponadto, że nasilony stres emocjonalny jest prawdopodobnym czynnikiem przejścia formy siateczkowej OLP w erozyjną (3,13)

Liszaj płaski jest chorobą przewlekłą charakteryzującą się okresami zaostrzeń i remisji zmian wraz z wycofywaniem się objawów klinicznych. (4,6). Według literatury pacjenci często wiążą wystąpienie i nasilenie objawów z podwyższonym poziomem stresu. (74) Badania Lakshmi i wsp. (74) są zbieżne z wynikami większości autorów, wykazując pozytywny związek między wysokim poziomem kortyzolu,

zwanego „hormonem stresu” w ślinie a poziomem lęku u pacjentów z OLP, co sugeruje, że leczenie psychiatryczne wraz z tradycyjnym leczeniem może być skuteczne w zmniejszaniu rozmiaru zmian. (74)

W badaniach własnych w przeprowadzonej ocenie średni czas trwania choroby wynosił 32,5 miesiąca i był najdłuższy w grupie pacjentów przyjmujących leki NS/C – 41,5 miesiąca, był o 9 miesięcy dłuższy od średniej dla całej grupy. W badaniach pacjentów włoskich (Lauritano i wsp.) czas trwania zmian w OLP wynosił znacznie więcej - 65 miesięcy, bez istotnych różnic ($p > 0,05$) między mężczyznami (62,7) i kobietami (67,4). U 44,8% (39 pacjentów) występowało nadciśnienie tętnicze, jednak nie podano średniego wieku ani czasu trwania choroby dla tej grupy. (5) W badaniach Radwan-Oczko i wsp. średni czas trwania choroby wynosił 33 miesiące (od 3 do 186 miesięcy) i pokrywał się z obserwacjami własnymi. (4)

U większości pacjentów w badaniach własnych zmiany liszaja płaskiego występowały tylko w jamie ustnej (46,2%), w dalszej kolejności zaobserwowano zmiany paznokciowe i skórne (23,5% i 18,5%). Nie wykazano istotnych różnic w badanych grupach.

Zmiany paznokciowe charakteryzowały się głównie zcieńczeniem lub występowaniem rowków w płytce paznokciowej. Zmiany skórne natomiast występowały m.in. na nadgarstkach, przedramionach, podudziach, tułowiu, skórze głowy. Miały najczęściej charakterystyczny obraz grudkowej, swędzącej wysypki.

W badaniach Eisen i wsp. (109) skupiono się na ocenie zmian skórnych, zmian błony śluzowej narządów płciowych, paznokci, przetyku i oczu u pacjentów z liszajem płaskim jamy ustnej. U 11,8% pacjentów (11 spośród 93 osób) stwierdzono zmiany paznokciowe typowe dla liszaja płaskiego. Do najczęstszych objawów klinicznych należało ścieńczenie, zgrubienie i dystalne rozszczepienie płytki paznokciowej. Rozległe bliznowacenie i tworzenie się pterygium wystąpiło tylko u 1 pacjenta. U połowy pacjentów zajęte były wszystkie paznokcie; u pozostałych 3, choroba była ograniczona do kilku paznokci, a u 2 zajęte były paznokcie u rąk i nóg. Zajęcie paznokci poprzedzało wystąpienie zmian w jamie ustnej u wszystkich pacjentów o około 2 do 5 lat. (109)

Według literatury najczęstszą lokalizacją zmian skórnych są zgięciowe powierzchnie nadgarstków, skóra kończyn dolnych, pleców i klatki piersiowej. (109) Zmiany skórne są opisywane jako wysypkowe, płasko-wyniosłe, rumieniowe grudki i blaszki, głównie na zgięciowych stronach nadgarstków lub kostek, wyprostnych

stronach podudzi, skórze dolnej części środkowej części pleców i skórze kręgosłupa. Niektórzy pacjenci zgłaszają zajęcie narządów płciowych z cechami podobnymi do zmian skórnych. Zajęcie skóry głowy powoduje powstawanie łuszczących się grudek z wysypką, zaczopowanie mieszków włosowych, oraz blizny zanikowe z trwałą, nierównomierną utratą włosów.(52)

W badaniach Eisen i wsp. skórna postać liszaja płaskiego była częstsza u mężczyzn, ale u kobiet rozwijała się znacznie później. Około połowa pacjentów zgłaszała jednocześnie wystąpienie zmian skórnych i w jamie ustnej. (109)

W badaniu własnym nie potwierdzono związku występowania zmian liszaja płaskiego w jamie ustnej z paleniem tytoniu. W całej grupie badanych tylko u 9 osób występował nałóg palenia tytoniu. Składniki dymu tytoniowego to substancje o działaniu kancerogennym, zwiększają ryzyko transformacji nowotworowej liszaja płaskiego, dlatego pacjenci powinni być poinformowani o konieczności wyeliminowania nałogu tytoniowego. (52) W badaniach Casparis i wsp. potwierdzono wysoką korelację palenia tytoniu z ciężkością diagnozy w badaniu histopatologicznym zmian o charakterze OLP.(110) Palenie tytoniu jest znanym w literaturze czynnikiem rozwoju raka jamy ustnej. (39) Niektórzy autorzy (Gonzales-Mores i wsp.) podają, że nadmierne rogowacenie spowodowane paleniem tytoniu może maskować zmiany liszaja płaskiego w jamie ustnej.(111) Częstość palenia tytoniu wśród pacjentów z OLP była niska również w innych badaniach. (4) Dodatkowo pacjenci często rezygnują z tej używki, ze względu na jej drażniący charakter, mogący zaostrzać objawy OLP w postaci bólu i progresji zmian. (4)

Postać ustna liszaja płaskiego wiąże się z występowaniem objawów subiektywnych, takich jak: świąd i suchość błony śluzowej, uczucie pieczenia i dyskomfortu. (42) W całej grupie badanej 74,8% badanych wskazało na występowanie tych objawów w jamie ustnej. Natomiast najczęściej występowały one w grupie chorych leczonych z powodu choroby serca lub nadciśnienia tętniczego. Zdecydowanie najczęstszym objawem zgłaszanym przez badanych pacjentów we wszystkich grupach było pieczenie jamy ustnej, (38 - 39% osób), lub połączenie tego odczucia z innymi: suchością, szorstkością błony śluzowej- od 27-38% badanych.

Autorzy są zgodni, że najczęstszymi objawami zgłaszanymi przez pacjentów z OLP jest ból i pieczenie. (42) Boorghani podaje, że pacjenci zgłaszają bolesność błony śluzowej jamy ustnej, szorstkość nabłonka w jamie ustnej, wrażliwość błony śluzowej jamy ustnej na gorące lub pikantne potrawy. (42)

Według wielu publikacji zmiany lichenoidalne (OLL/OLR), związane z przyjmowaniem określonych leków mogą być symetryczne lub asymetryczne, nadżerkowe, co wiąże się z większymi dolegliwościami bólowymi. (104,112)

Najczęstszymi lekami związanymi z OLR (Oral Lichenoid Reactions) są niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) i inhibitory konwertazy angiotensyny (kaptopril, enalapril). (104) Już w 1994 r. Thompson i Skaehill wykazali, że leki takie jak beta-blokery, metyldopa, penicylamina i NLPZ mają związek z wystąpieniem wykwitów liszajowatych.(104)

W kolejnym etapie badań oceniano nasilenie odczuwanego przez pacjentów bólu używając skali VAS. Nie stwierdzono różnic w średniej wartości odczuwanego bólu w zależności od stanu ogólnego pacjenta . W całej grupie badanej wartość średnia odczuwanego bólu wynosiła 4, która odpowiadała „bólowi umiarkowanemu”. Nie stwierdzono różnic w poziomie odczuwanego bólu między badanymi grupami pacjentów a wartości skali VAS oscylowały od 3,81 do 4,36.

Pacjenci, u których obecne są zmiany ustne liszaja płaskiego, mogą zgłaszać problemy z przyjmowaniem pokarmów lub wykonywaniem zabiegów higienicznych w jamie ustnej.

W całej grupie badanych 62,2% pacjentów miało problemy ze spożywaniem pokarmów, zwłaszcza słonych, kwaśnych, pikantnych i bardzo twardych. Nie wykazano różnicy istotnej między grupami w zależności od stanu zdrowia (od 58% do 64%). Powodowało to problem natury bólowej, ale także emocjonalnej. Pacjenci byli zmuszeni do zmiany nawyków żywieniowych, ograniczając spożywanie tych pokarmów, które powodowały dyskomfort i powstawanie nowych wykwitów. Zjawisko to, opisane po raz pierwszy w 1887r. przez Heinricha Köbnera, polega na powstawaniu zmian skórnych lub śluzówkowych w odpowiedzi na drażniący bodziec. (4,103) W przypadku OLP i OLL tym bodźcem mogą być: płytka nazębna i kamień nazębny, ostre brzegi wypełnień czy zębów. Uraz mechaniczny spowodowany przez guzki zębowe tłumaczy obustronny, lustrzany obraz zmian w OLP, które najczęściej obejmują błonę śluzową policzka i boczną powierzchnię języka.(113)

Dodatkowo, ograniczenia w spożywaniu pokarmów mogą prowadzić do zaburzeń w odżywianiu i sprzyjać m.in. niedoborom witamin i minerałów. (4)

W badaniach Battimo i wsp. wykazano spadek potencjału antyoksydacyjnego śliny u pacjentów z OLP. Poziom całkowitej zdolności antyoksydacyjnej (ang. TAA - *total antioxidant activity*) był znacznie niższy u pacjentów z OLP w porównaniu do grupy

kontrolnej, a poziom malondialdehydu (MDA), który jest produktem peroksydacji lipidów śliny był znacząco wyższy. (8,80) Świadczy to o zachwianej równowadze aktywności oksydacyjno-redukcyjnej i wzroście stresu oksydacyjnego u pacjentów z liszajem płaskim. Badania pokazują także, że poziom witamin C i E, które są ważnymi antyoksydantami, jest niższy u pacjentów z OLP w porównaniu do osób zdrowych.(114) Dlatego też poziom witamin C i E, jako antyoksydantów, może być biomarkerem brany pod uwagę przy monitorowaniu stanów potencjalnie nowotworowych, takich jak OLP. (114)

W badaniu ankietowym w całej grupie badanych trudności z wykonywaniem zabiegów higienizacyjnych w jamie ustnej spowodowane zmianami OLP zgłosiło 42,7% pacjentów. Podobna liczba pacjentów miała takie trudności w grupie przyjmujących leki nasercowe i/lub na nadciśnienie – 42%, oraz nieznacznie więcej w grupie pacjentów przyjmujących leki inne (L) – 50%. Obecność wykwitów i ich rozległość miała niewątpliwy wpływ na ten stan bo zabiegi higieniczne wywoływały dyskomfort lub ból. Niektóre składniki past do zębów wywoływały u pacjentów z OLP dodatkowe działanie drażniące. Higiena jamy ustnej ma niepodważalny wpływ na przebieg i terapię każdej patologii błony śluzowej jamy ustnej, w tym ustnej postaci liszaja płaskiego. (42) Gojenie wykwitów OLP przebiega szybciej i efektywniej u pacjentów z dobrą higieną jamy ustnej. Co istotne, higiena ta powinna być dokładna, jednak na tyle delikatna, żeby nie powodowała urazu mechanicznego/chemicznego i powstawania nowych zmian.

W badaniu Megroni i wsp. z zastosowaniem wskaźnika Escudier, wykazano, że bardzo dokładna (zastąpiono m.in. szczoteczki manualne sonicznymi) higiena jamy ustnej u pacjentów ze złuszcającym zapaleniem dziąseł w przebiegu liszaja płaskiego ma pozytywny wpływ na zmniejszenie klinicznych objawów choroby, zmniejszenie bólu, a także poprawę jakości życia. (115) W 2015 roku Stone i wsp. jako pierwsi przedstawili mocne dowody na znaczenie kontroli płytki nazębnej w leczeniu pacjentów z OLP, dzięki dobrze zaprojektowanemu randomizowanemu badaniu kontrolowanemu u 82 pacjentów z OLP. (116)

Do tej pory opublikowano kilka prac na temat roli bakterii płytki nazębnej w etiopatogenezie OLP. He i wsp. stwierdzili, że obecność wykwitów liszaja płaskiego jamy ustnej była związana ze zmianami w mikrobiomie jamy ustnej, ze znacząco podwyższonymi poziomami trzech rodzajów bakterii: Fusobacterium, Leptotrichia i Lautropia, w porównaniu do grupy kontrolnej (117).

Nowe spojrzenie zostało przedstawione przez Choi i wsp. którzy badali pacjentów z OLP i stwierdzili, że bakterie jamy ustnej mogą upośledzać fizyczną barierę nabłonka, wnikać do komórek nabłonka lub komórek T i promować uwalnianie chemokin z komórek T. Wykazali oni, że obecność patogenów w obrębie blaszki właściwej nabłonka ma pozytywną korelację z poziomem komórek T w tkankach OLP, sugerując, że bakterie wewnątrzkomórkowe mogą istotnie wpływać na infiltrację komórek odpornościowych. (118) W świetle tych doniesień higiena jamy ustnej u pacjentów z OLP nabiera jeszcze większego znaczenia.

W badaniach własnych mimo wskazanych trudności w codziennej higienie jamy ustnej zdecydowana większość pacjentów całej grupy badanej oceniła swój stan higieny jako bardzo dobry (69,4%). W poszczególnych grupach w zależności od stanu zdrowia ogólnego wartości te były podobne (od 61,5% do 69,8%). W trakcie badania przedmiotowego oceniono higienę jamy ustnej pacjentów używając wskaźnika API (Approximal Plaque Index).

W całej grupie średnia wartość tego wskaźnika wynosiła 29,7%, co oznacza higienę dobrą. Pacjenci zdrowi - nieprzyjmujący leków wykazali się średnią wartością wskaźnika 23,9%, co świadczy o jeszcze lepszej higienie jamy ustnej. Z kolei u pacjentów przyjmujących leki nsercowe i/lub obniżające ciśnienie, a także pacjentów przyjmujących inne leki wartość wskaźnika API wynosiła średnio około 33% - co wskazuje na nieznacznie gorszą higienę jamy ustnej. Różnice te nie były istotne statystycznie. Najniższa wartość wskaźnika w grupie pacjentów zdrowych może potwierdzać hipotezę o roli płytki nazębnej w patogenezie OLP. Może również wskazywać na większe trudności z utrzymaniem optymalnej higieny jamy ustnej u pacjentów chorujących na schorzenia ogólne. Co ciekawe w tych dwóch ostatnich grupach pacjenci posiadali średnio statystycznie mniej zębów, 18,5 zęba w grupie przyjmujących inne leki, oraz 17,2 zęba, w grupie przyjmujących leki nsercowe i/lub obniżające ciśnienie w porównaniu do grupy pacjentów zdrowych, w której średnia wartość wynosiła 22,5 zęba i była to różnica istotna statystycznie.

Wypełnienia amalgamatowe lub protetyczne mogą stanowić miejscowy czynnik ryzyka wystąpienia zmian lichenoidalnych. (11) Wśród wszystkich zbadanych pacjentów znacząca większość nie posiadała wypełnień amalgamatowych (77,3%). Natomiast wśród pacjentów przyjmujących leki nsercowe i/lub obniżające ciśnienie wypełnienia amalgamatowe występowały tylko u 10% osób, a różnice te były istotne statystycznie.

Laeijendecker i wsp. (119) w swoim badaniu stwierdzili, że alergia kontaktowa na związki rtęci ma istotne znaczenie w patogenezie liszaja płaskiego jamy ustnej/zmian lichenoidalnych, zwłaszcza w przypadku bliskiego kontaktu z wypełnieniami amalgamatowymi i braku współistniejącego liszaja płaskiego skóry. Amalgamat w jamie ustnej jest podatny na korozję i poprzez uwalnianie jonów metali może być odpowiedzialny za zwiększenie miejscowej wrażliwości i reakcje alergiczne (typ IV, zależna od limfocytów T). Proces ten może prowadzić do długotrwałej stymulacji antygenowej, ze zmianami w błonie śluzowej, a ostatecznie do zmian OLP. Kolejna hipoteza mówi, że bliski kontakt różnych metali (np. amalgamatu i złota) może powodować powstanie różnych potencjałów i reakcji elektrochemicznych, korozji i zwiększonego uwalniania jonów metali, co również może prowadzić do zmian w błonie śluzowej. W przypadku dodatnich reakcji na związki rtęci w testach płatkowych, częściowa lub całkowita wymiana wypełnień amalgamatowych prowadzi do znacznej poprawy u prawie wszystkich pacjentów. (119)

W badaniu przedmiotowym oprócz wypełnień amalgamatowych oceniano również obecność uzupełnień protetycznych. Prace protetyczne posiadają w swojej konstrukcji niejednokrotnie elementy metalowe, które jak wyżej wspomniano, mogą być czynnikiem ryzyka wystąpienia reakcji lichenoidalnych.

W badaniu własnym w całej grupie 58,8% pacjentów użytkowało uzupełnienia protetyczne, w porównywalnym zakresie 26% ruchomych i stałych oraz około 6% mieszanych-czyli jednocześnie ruchomych i stałych. Największy udział procentowy uzupełnień stałych zaobserwowano w grupie pacjentów ogólnie zdrowych – (37%), a uzupełnień ruchomych – w grupie pacjentów przyjmujących leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie (34%).

Zmiany liszaja płaskiego w jamie ustnej mogą występować w różnych lokalizacjach i mieć różnorodne nasilenie. Najczęstszą lokalizacją OLP jest błona śluzowa policzków w części dystalnej, a następnie błona śluzowa języka, dziąseł i warg. Charakterystyczne dla tej choroby jest obustronne, symetryczne rozmieszczenie zmian chorobowych.(4,6) Podstawowym wykwitem charakterystycznym dla OLP jest grudka a ich skupiska generują białe siateczkowate prążki (prążki Wickhama) lub blaszki. OLP o charakterze grudkowym, siateczkowym jest opisywany jako "postać biała", zwykle bezobjawowa. Z drugiej strony, warianty zanikowe, rumieniowe, nadżerkowe i pęcherzowe OLP są objawowe i określane jako "postać czerwona".(5)

Rozległość zmian oceniana w skali Malhotra od 0 do 12 nie wykazała różnicy między badanymi grupami i wynosiła 3,16 dla całej grupy oraz od 2,81 – do 3,33 dla poszczególnych grup.

Lokalizacja zmian liszaja płaskiego w badaniu własnym była w całej badanej grupie w 62,2% wieloogniskowa. W podobnym nasileniu w wielu lokalizacjach występowały zmiany OLP w grupach osób zdrowych (67%) i leczonych z powodu chorób serca i nadciśnienia (66%). Z kolei w grupie osób przyjmujących leki inne, zmiany występowały najczęściej na policzkach oraz w różnych lokalizacjach – w tym samym nasileniu - 46,2%. Natomiast najrzadziej występowała izolowana postać zmian na języku w całej grupie 5% i bez różnic istotnych między grupami.

W oparciu o kryteria skali Malhotra oceniono stopień zaawansowania choroby od I do III. W grupie wszystkich badanych 119 pacjentów najczęściej występował stopień I -u 63,9%. a II/III – oceniane wspólnie u 36,1%. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie między grupami, ale należy podkreślić iż stopień I zaawansowania był najczęściej diagnozowany – u 86% w grupie osób leczonych NS/C.

W końcowym etapie badania klinicznego oceniano nasilenie zmian OLP jako postać choroby, na podstawie rozległości zmian, obecności zmian erozyjno-nadżerkowych oraz dodatkowych objawów subiektywnych. Nie uzyskano istotnych różnic między grupami: postać średnio ciężka i ciężka były najczęściej diagnozowane w grupie pacjentów przyjmujących leki obniżające ciśnienie i nasercowe (52% i 22%). Postać łagodna natomiast była najczęściej obserwowana w grupie L (46,2%) - oraz w grupie osób zdrowych (39,5%).

Na podstawie objawów subiektywnych i obrazu klinicznego włączono pacjentów do 3 stanów klinicznych: asymptomatycznego, symptomatycznego i erozyjnego.

W całej grupie badanej stan erozyjny był diagnozowany najrzadziej. Z kolei jego obecność w poszczególnych grupach wskazała, że najczęściej – w 16% stwierdzany był w grupie osób leczonych z powodu chorób serca i nadciśnienia tętniczego, i nie występował u przyjmujących inne leki (L- 0,0%). Obserwacje te potwierdzają hipotezę, że liszaj płaski ma cięższy przebieg u pacjentów przyjmujących leki ogólne w szczególności obniżające ciśnienie i nasercowe.(104)

W piśmiennictwie od wielu lat rozważany jest związek OLP i nadciśnienia. Kokten i wsp. opisali przypadek przemiany nowotworowej liszaja płaskiego w raka koleczystokomórkowego (OSCC) u pacjenta z zespołem Grinspana. (120) Transformacja złośliwa OLP jest obecnie nadal tematem kontrowersyjnym. Postacie zanikowe

i nadżerkowe obarczone są większym ryzykiem transformacji złośliwej. W tych postaciach OLP czynniki nowotworowe mogą łatwiej reagować z powodu zaniku lub braku nabłonka. (120)

Zarówno OLP, jak i odczyny lichenoidalne mogą być przyczyną OSCC. W przeprowadzonej niedawno metaanalizie 57 badań obejmującej dane dotyczące 19 676 przypadków OLP i 419 przypadków odczynu lichenoidalnego jamy ustnej, Aghbari i wsp. [14] stwierdzili, że wskaźnik transformacji złośliwej dla OLP wynosił 1,1%, a dla odczynu lichenoidalnego jamy ustnej 2,5%.(121)

W ostatniej dekadzie choroby układu krążenia (ang.: CVDs - *cardiovascular diseases*) zostały powiązane z niektórymi chorobami skóry, a badania nad liszajem płaskim wykazały również możliwy związek z dyslipidemią (Drehier i in., 2009) i częstszym występowaniem miażdżycy.(122,123) Autorzy stwierdzili również, że u pacjentów z liszajem płaskim stwierdzono wyższe markery zarówno metabolicznych, jak i sercowo-naczyniowych czynników ryzyka w stosunku do grupy kontrolnej, prawdopodobnie z powodu długo utrzymującego się stanu zapalnego (Saleh i wsp., 2014), co sugeruje związek między przewlekłym stanem zapalnym a dyslipidemią. (124)

Badacze włoscy udowodnili istotnie statystycznie wyższe ryzyko wystąpienia ostrej choroby wieńcowej u pacjentów ze zmianami atroficznymi i erozyjnymi OLP w stosunku do pacjentów ze zmianami białymi hiperkeratocytycznymi. (123)

Chaker i wsp. (125) opisali w 2008r. przypadek lichen planus pemphigoides indukowanego stosowaniem kaptoprylu – leku z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny, stosowanego m.in. w nadciśnieniu tętniczym i zastoinowej niewydolności krążenia.(125) Podobny przypadek opisali badacze z Tajlandii, lichen planus pemphigoides został wywołany przez enalapryl, lek z tej samej grupy.(126)

Analiza zależności między opisywanymi parametrami dowiodła istotnego związku między postacią OLP a skalą VAS. Stopień odczuwanego bólu wzrastał wraz z zaawansowaniem choroby i był najwyższy w postaci ciężkiej. Z kolei w stanie klinicznym erozyjnym oczekiwana wartość bólu w skali VAS była statystycznie wyższa o 4,15 punktu, a w stanie objawowym o 4,74 punktu w porównaniu do stanu asymptomatycznego.

Interesujący jest wynik korelacji czasu występowania zmian OLP ze stanem zaawansowania klinicznego. W porównaniu ze stanem asymptomatycznym w stanie objawowym oczekujemy średnio o 0,97 miesiąca dłuższego trwania choroby,

a w postaci erozyjnej o 2,23 miesiąca. Pacjenci z cięższym przebiegiem liszaja płaskiego chorują statystycznie dłużej, zmiany są ponadto trudniejsze w leczeniu.

Te obserwacje są zgodne z danymi z literatury. Charakterystycznym objawem klinicznym OLP opisywanym w piśmiennictwie jest pieczenie i ból, zwiększający się w okresach zaostrzenia choroby. (52) Ponadto, pacjenci ze zmianami siateczkowatymi są często bezobjawowi, natomiast zanikowe (rumieniowe) lub nadżerkowe (wrzodziejące) OLP często wiąże się z uczuciem pieczenia i bólem. (42)

W ocenie pH stwierdzono w grupie pacjentów z OLP wartość wyższą niż w kontrolnej, ale nie była to różnica istotna statystycznie. W badaniach Foglio-Bonda i wsp. (127) również uzyskano istotnie wyższe wartości pH w grupie osób z zmianami błony śluzowej jamy ustnej w porównaniu do grupy bez takich patologii (pH 6,70 vs pH 6,95), ale podkreślono, że było to związane ze zmienną nałogą nikotynizmu.

Doniesienia naukowe związane z zagadnieniem składu proteinowego śliny w liszaju płaskim jamy ustnej są nieliczne. Jak potwierdziły obserwacje własne, suchość jamy ustnej jest jednym z objawów towarzyszących zgłaszanych przez pacjentów z OLP. Na obecność objawów suchości wskazało w całej grupie badanej tylko 4,2% pacjentów, natomiast w grupie pacjentów przyjmujących leki obniżające ciśnienie i nasercowe 8% pacjentów. Z kolei w grupach pacjentów zdrowych ogólnie i stosujących leki inne suchość występowała odpowiednio u 2.3% oraz 0%.

W szerokiej analizie dotyczącej badań na temat parametrów śliny omawianych jako „salivaomics” Martina i wsp. (128) wskazali obniżenie poziomu protein śliny – czynnika zasadniczego odpowiedzialnego za lubrykację oraz lepkość i sprężystość błony śluzowej, jako jeden z ważnych czynników związanych z obecnością objawów kserostomii.

W badaniach własnych oceniano poziom mucyn ślinowych, z uwagi na potwierdzoną rolę ochronną tych białek i ich potencjalną rolę w etiopatogenezie liszaja płaskiego. (85) Mucyny ślinowe biorą one udział w nieimmunologicznej ochronie błony śluzowej jamy ustnej. Ogólnie rola mucyn w zapobieganiu próchnicy została szeroko opisana w piśmiennictwie. (86) Zarówno mucyny ślinowe MUC5B jak i MUC7 biorą udział w zapobieganiu próchnicy zębów. Istnieją ponadto liczne doniesienia naukowe, że mucyny 5B i 7 zmniejszają namnażanie wirusa HIV. (92) Jako prawdopodobną przyczynę autorzy podają fakt, że wydzielane mucyny, takie jak MUC5B, tworzą w drogach oddechowych i innych drogach wewnętrznych organizmu żele, które chronią nabłonki wyściełające błony śluzowe tych dróg przed szkodliwymi czynnikami. Wyniki

badania Peacocke i wsp. (92) sugerują, że wirus HIV może być zatrzymywany przez mucyny w ślinie.

W badaniach poziomu mucyn w zespole Sjögrena porównanie Western blottingu białek i barwienia glikanów wykazało zmniejszenie glikacji mucyn w chorobie Sjögrena, szczególnie w przypadku MUC7.(94) Autorzy podkreślają, że zaobserwowane zmiany w glikozylacji MUC7 mogą stanowić potencjalne narzędzie diagnostyczne jakości śliny i mogą być brane pod uwagę w przyszłych terapiach tego wieloczynnikowego zespołu.

Z uwagi na potwierdzoną ochronną rolę mucyn, w szczególności mucyny 5B i 7, można wysnuć hipotezę, że ich obniżona ilość mogłaby być czynnikiem sprzyjającym wystąpieniu wykwitów liszaja płaskiego jamy ustnej. Poziom mucyn mógłby także stanowić łatwy do wykorzystania diagnostyczny marker wystąpienia zmian liszaja płaskiego w jamie ustnej. W 2017r. Agha-Hosseini i wsp. potwierdzili istotnie niższy poziom mucyny 5B w ślinie niestymulowanej pacjentów z OLP. (96) Ponieważ zarówno poziom wydzielania śliny, jak i poziom mucyny 5B zmniejszają się u pacjentów z OLP, a mucyna odgrywa rolę w zwilżaniu i smarowaniu jamy ustnej, wyniki te mogą, przynajmniej częściowo, wyjaśnić przyczynę kserostomii u pacjentów z OLP. Wyniki te były bardzo obiecujące, ponieważ było to pierwsze tak szerokie badanie poziomu mucyn w ślinie pacjentów z OLP. Autorzy wskazywali ponadto na konieczność kontynuacji badań, również dotyczących mucyny 7.(96)

W badaniu własnym, stężenia obu mucyn oceniono w grupie kontrolnej liczącej 18 osób oraz w grupie badanej u 57 pacjentów z OLP dla MUC5B i u 20 pacjentów dla MUC7. Poziomy obu badanych białek były wyższe w grupie badanej niż kontrolnej. Należy podkreślić, iż w przypadku poziomu MUC5B różnica ta była istotna statystycznie. Wyniki te nie były zgodne z przytoczonym badaniem Agha-Hosseini.(96)

Stężenia mucyn różniły się w powiązaniu z płcią. U mężczyzn stwierdzono wyższy poziom MUC5B, z kolei u kobiet wyższy poziom MUC7. Różnice te nie były jednak istotne statystycznie, a grupa mężczyzn liczyła tylko 15 osób. Większa liczebność badanych grup mogłaby wskazać na bardziej jednoznaczne wyniki.

Następnie porównano poziom obu badanych białek - mucyny 5B i mucyny 7 w badanych grupach różniących się stanem ogólnym pacjentów. Poziom mucyny 5B był najwyższy w grupie pacjentów L – przyjmujących różne leki i podobny do poziomu w grupie osób ogólnie zdrowych – nieleczonych. Najniższy poziom białka uzyskano

w grupie osób leczonych lekami nasercowymi i/lub obniżającymi ciśnienie, nie były to jednak różnice istotne statystycznie.

Wymienione leki mogą wywoływać jako skutek uboczny swojego działania suchość błony śluzowej jamy ustnej, co może wiązać się z niskim poziomem tej mucyny w ślinie. Z kolei poziom mucyny 7 był najwyższy w grupie osób przyjmujących leki NS/C i najniższy w grupie przyjmującej leki inne (L). Chociaż MUC7 jest mniej wydajna jako substancja smarująca, jest ona znacznie bardziej wydajna w aglutynacji i usuwaniu bakterii niż MUC5B i dlatego jest ważną częścią nieimmunologicznego systemu obronnego śliny. (85) Wysoki poziom mucyny 7 u pacjentów przyjmujących leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie może wskazywać na przeklekły stan zapalny występujący u tych pacjentów. (129) Poziom mucyny 5B był niższy u osób palących tytoń, co może wiązać się z suchością błony śluzowej występującej często u palaczy. Natomiast poziom mucyny 7 był nieistotnie statystycznie wyższy w tej grupie. Te wyniki nie mogą być jednak jednoznaczne ze względu na bardzo małą liczbę osób palących, u których dokonano pomiaru stężenia białek. Ważną obserwacją było potwierdzenie istotnie niższego poziomu mucyny 7 był u osób zgłaszających problem z przyjmowaniem pokarmów, co może wskazywać na większą suchość jamy ustnej u tych pacjentów i mniejszą odporność miejscową błony śluzowej. Z kolei dla MUC5B poziom u tych badanych był wyższy, ale bez istotności statystycznej.

Zależność na granicy istotności statystycznej zauważono badając powiązanie poziomu mucyny 5B z samooceną higieny jamy ustnej. Poziom tego białka był niższy u pacjentów o deklarowanej słabej/przeciętnej higienie. Również stężenie MUC7 było nieistotnie niższe w tej grupie pacjentów. Potwierdziła to także uzyskana wartość ujemna współczynnika korelacji między poziomem MUC5B i wskaźnikiem API ($\rho = -0,37$). Zależność tą potwierdzają wyniki innych autorów. Słaba higiena jamy ustnej w połączeniu z niższą zawartością mucyny w ślinie, może według piśmiennictwa być czynnikiem ryzyka rozwoju choroby próchnicowej, a także stanów zapalnych błony śluzowej jamy ustnej. (86) W prowadzonym badaniu zauważono różne poziomy mucyn w zależności od lokalizacji i rozległości zmian OLP na błonie śluzowej jamy ustnej. Najwyższy poziom MUC5B związany był ze zmianami na języku, natomiast MUC7 ze zmianami na policzkach. Jednak różnice te nie były istotne statystycznie.

Analiza poziomu mucyn w powiązaniu ze stopniem choroby I, II i III ocenianymi wg skali Malhotra na podstawie zasięgu i rozległości zmian wykazała, że poziom obu

mucyn był wysoki w zmianach łagodnych (stopień I), a niski w zmianach zaawansowanych (stopień II /III). Dla stężeń MUC7 wartości te wykazywały różnicę zbliżającą się do istotności statystycznej.

Z kolei ocena poziomu mucyn w zależności od postaci choroby wykazała najniższy poziom zarówno mucyny 5B, jak i 7 w postaci ciężkiej choroby – nie były to jednak różnice istotne statystycznie. Również w najbardziej zaawansowanym stanie klinicznym - erozyjnym poziom mucyny 7 był najniższy. Poziom mucyny 5B był najniższy w stanie klinicznym asymptotycznym, a następnie w erozyjnym. Potwierdza to obserwację o spadku ochronnej roli mucyn w miarę rozwoju zaawansowania zmian OLP. Może to także wyjaśniać problem podatności błony śluzowej pacjentów z OLP na czynniki drażniące, takie jak pokarmy, środki do higieny jamy ustnej czy urazy mechaniczne. Spadek ochronnej roli mucyn postępuje z progresją zmian liszaja płaskiego w jamie ustnej. Obserwacje te mogłyby posłużyć do stosowania poziomów mucyn jako markerów do standardowej oceny ewentualnej progresji zmian OLP. Zagadnienia te wymagają jednak bardziej szerokich badań, wykonanych na większej liczbie oznaczeń laboratoryjnych.

Pomimo, iż nie wykazano istotnych różnic w poziomach badanych białek w zależności od stanu zaawansowania zmian OLP, uwagę zwraca obniżony poziom mucyn w stanach o większym nasileniu zmian.

Analiza składu proteinowego omawianego biomateriału za pomocą elektroforezy SDS-PAGE została wykonana celem przedstawienia ewentualnych różnic proteomicznych w składzie śliny natywnej pomiędzy pacjentami z rozpoznaniem *Lichen planus*, a grupą kontrolną. Kryteria wyszukiwania w bazie pubmed.gov po wprowadzeniu słów kluczowych „SDS-PAGE AND *Lichen planus* AND saliva” nie przedstawiają wyników w postaci publikacji. Świadczyć to może o innowacyjności tego badania, w schorzeniu o nadal niejasnej etiologii oraz uważanym za stan potencjalnie przednowotworowy. Omawiana metoda analizowana może być z wykorzystaniem modelowego profilu proteinowego śliny uzyskanego w ramach analizy śliny pacjentów zdrowych, czy ze schorzeniami innymi niż OLP celem uzyskania szerszej bazy wyników. Potwierdzeniem tego jest 281 rekordów na dzień 13.05.2022 w cytowanej bazie dla słów kluczowych „SDS-PAGE AND saliva”.. Wcześniejsze badania naukowe w grupie pacjentów z rozpoznaniem próchnicy wskazują wykazały, że pozorna masa cząsteczkowa, liczba i intensywność prążków różni się pomiędzy pacjentami z powodu zmiennego polimorfizmu fenotypu genetycznego (130). Obserwowane różnice mają

zatem złożone podłoże wymagające szczegółowej i dogłębnej analizy. Mucyny natomiast, to białka o masie cząsteczkowej 200-100 kD, które występują w populacji zmiennie również z powodu takich czynników jak wiek, poziom higieny jamy ustnej czy nasielnie oraz stadium choroby próchnicowej (131). Szczegółowe różnice w zakresie tego parametru zostały przedstawione w analizie za pomocą procedury ELISA.

Jak zaznaczyli Lamand i wsp. ponieważ SDS-PAGE prawdopodobnie nie może zapewnić wystarczająco wysokiej rozdzielczości analizy, aby oddzielić różne rodzaje białek, które mogą być obecne w pojedynczym prążku białka, dalsze badania z zastosowaniem bardziej specyficznych metod są konieczne celem wyróżnienia specyficznych frakcji proteomu śliny (132). Ze względu na złożoność analizy proteomu śliny pacjentów z OLP, kontynuacja badań w kierunku charakterystyki poszczególnych frakcji białek powinny być prowadzone, gdyż mogą być wskaźnikiem diagnostycznym samej patologii oraz wyników jej leczenia.

Podsumowanie

Liszaj płaski jest schorzeniem, na który mają wpływ czynniki miejscowe, takie jak profil białkowy śliny, ale również różnorodne czynniki ogólnoustrojowe – jak przyjmowane przez pacjentów leczenie ogólne i /lub miejscowe. Część pacjentów włączonych do badań miało prawdopodobnie wcześniej prowadzone próby leczenia zmian – głównie przez miejscowe stosowanie preparatów zalecanych przez lekarza ogólnego, lekarza dentystę, lub stosowanych przez samego pacjenta w ramach samoleczenia. Niestety, w większości nie potrafili oni przekazać jednoznacznych informacji jakie to były preparaty, kiedy i jak długo stosowane. Więc można przypuszczać, iż w części przypadków zmiany te były mniej aktywne lub bardziej aktywne spowodowane wcześniejszym korzystnym lub niekorzystnym postępowaniem terapeutycznym.

Podobne wnioski wyciągnęli ze swoich badań inni autorzy (133), którzy oceniając profil proteinowy u pacjentki z typowym obrazem liszaja płaskiego błony śluzowej jamy ustnej, wykazali ekspresję wielu białek i wskazali na możliwość stosowania ich w przyszłości do oceny jako biomarkerów zarówno w ślinie jak i surowicy krwi w przebiegu OLP. Podkreślili jednak, że ekspresja protein może być wynikiem nie tylko obecności tej patologii błony śluzowej, ale również lekami stosowanymi przez pacjentów.

Należy podkreślić, że zmiany w jamie ustnej o charakterze liszaja płaskiego nie powinny być traktowane jako odosobniona jednostka chorobowa i powinny wymagać bez wątpienia wielodyscyplinarnej strategii w ich diagnostyce i leczeniu. Bardzo istotnym jest wywiad z pacjentem, w czasie którego dowiadujemy się o wielu czynnikach i objawach mogących wskazywać na powiązania te patologii z czynnikami miejscowymi i/lub ogólnoustrojowymi. Przebieg OLP u pacjentów przyjmujących leczenie ogólnoustrojowe, w szczególności leki obniżające ciśnienie/i nasercowe, jest niecharakterystyczny, ale może być niejednokrotnie cięższy i trudniejszy w leczeniu objawowym w porównaniu do pacjentów nieprzyjmujących leków. Koniecznym wydaje się opracowanie strategii terapeutycznych dostosowanych do tych grup pacjentów.

Stężenie mucyn, w tym MUC5B i MUC7 w bardzo dostępnym medium, jakim jest ślina, mogą w przyszłości posłużyć jako marker progresji liszaja płaskiego jamy ustnej, co bez wątpienia ułatwiłoby działania diagnostyczno-terapeutyczne. Ponadto

poziom mucyn mógłby być zastosowany jako marker progresji choroby i pomóc w profilaktyce transformacji zmian OLP w raka koleczystokomórkowego jamy ustnej (OSCC = oral squamous cell carcinoma).

SDS-PAGE jest metodą wymagającą małego nakładu czasu, o niskim koszcie całkowitym w stosunku do analizy z wykorzystaniem procedur ELISA. Jest to jednak badanie wymagające usystematyzowania procesów przedanalizacyjnych mogących wpłynąć na wynik badania, a także zinterpretowania wartości wyników uzyskanych przez pacjenta. Dodatkowo w metodzie tej stosowane są związki toksyczne, co wymaga użycia specjalistycznej aparatury, ograniczając zakres jej dostępności. W związku z tym, SDS-PAGE proteomu śliny pacjenta nie wykazuje potencjału jako laboratoryjne badanie diagnostyczne, stanowi jednak niedłaczny proces analiz naukowych.

Pomimo bardzo wielu badań i opracowań liszaj płaski w jamie ustnej stanowi nadal wyzwanie dla dalszych działań naukowych, diagnostycznych, leczenia i profilaktyki jego progresji oraz nawrotów.

6. UOGÓLNIENIA

1. W badanej grupie pacjentów z OLP większość stanowiły kobiety.
2. Najliczniejszą była grupa osób w wieku 62-71 lat.
3. Średni czas obecności zmian OLP wynosił w całej grupie 32,5 miesiąca i nie różnił się statystycznie między grupami osób przyjmujących leki lub nie.
4. Zmiany liszaja płaskiego poza jamą ustną występowały u 53,8% całej badanej grupy i nie wykazano różnic między poszczególnymi grupami.
5. Nikotyzm występował tylko u 9 pacjentów (7,6%), w tym u 7 (14%) - w grupie przyjmującej leki nasecowe i/lub obniżające ciśnienie.
6. Różne objawy w jamie ustnej pacjentów : pieczenie, ból, suchość, uczucie szorstkości błony śluzowej związane z obecnością OLP występowały u 74,8% badanych i nie wykazano różnic istotnych statystycznie między grupami.
7. Problemy w ograniczeniach w spożywaniu pokarmów wystąpiły u 62,2% badanych i nie stwierdzono różnic istotnych między grupami.
8. Na problemy z wykonywaniem zabiegów higienicznych w jamie ustnej wskazało 42,9% pacjentów i w tym przypadku również nie wykazano różnic między grupami.
9. W samoocenie aż 69,4% pacjentów z OLP oceniło swoją higienę jamy ustnej jako bardzo dobrą, nie stwierdzono różnic między grupami.
10. Średnia wartość wskaźnika API w całej grupie wyniosła 29,7%, co wskazuje na higienę bardzo dobrą. Higienę optymalną (średnia wartość API - 23,9%) wykazano w grupie osób ogólnie zdrowych - nie przyjmujących leków.
11. Średnia liczba zębów w całej grupie z OLP wynosiła 19,4 zęba, i była istotnie wyższa w grupie osób zdrowych w odniesieniu do grupy osób przyjmujących różne leki oraz grupy osób leczonych z powodu chorób serca i nadciśnienia.
12. Najmniejszą i statystycznie istotną liczbę uzupełnień amalgamatowych stwierdzono w grupie osób leczonych z powodu chorób serca i nadciśnienia w odniesieniu do pozostałych dwóch grup Z i L.
13. Uzupełnienia protetyczne użytkowało 58,8% z OLP i nie wykazano różnic między grupami.

14. Średnia wartość bólu oceniane wg skali VAS wynosiła 4,0 i nie wykazano różnic między grupami.
15. Najczęściej, bo w 62,2% zmiany OLP występowały w wielu różnych lokalizacjach i nie stwierdzono różnic między grupami.
16. Zarówno w całej grupie jak i w grupach badanych najczęściej diagnozowano I stopień nasilenia zmian wg skali Malhotra.
17. Zarówno w całej grupie z OLP, jak i w grupach badanych najczęściej występowała postać średnio ciężka wg skali Malhotra.
18. W całej grupie z OLP oraz w poszczególnych grupach badanych najczęściej diagnozowany był stan kliniczny symptomatyczny, z obecnością różnych objawów w jamie ustnej podawanych przez pacjentów, związanych z zmianami liszaja.
19. Stan kliniczny erozyjny natomiast, najczęściej był obserwowany w grupie osób przyjmujących leki z powodu chorób serca i/lub nadciśnienia
20. Wykazano istotne statystycznie dodatnie korelacje między wartościami skali VAS a stopniem zaawansowania zmian OLP oraz ocenianym stanem klinicznym a także czasem obecności zmian liszaja.
21. Stwierdzono również istotną zależność między czasem obecności zmian OLP a stanem klinicznym tych zmian.
22. Poziomy obu badanych białek MUC 5B i MUC 7 były wyższe w grupie osób z OLP w porównaniu do grupy kontrolnej.
23. Poziom pH śliny nie różnił się między grupą z OLP a kontrolną.
24. Nie wykazano zależności poziomu mucyn MUC 5B i MUC 7 w powiązaniu z płcią.
25. Stężenie MUC 5B było najwyższe w grupie osób przyjmujących różne leki (L), natomiast MUC 7 w grupie osób leczonych z powodu chorób serca i/lub nadciśnienia, ale różnice nie były istotne statystycznie.
26. Nie stwierdzono zależności poziomu badanych mucyn w powiązaniu z nałogiem palenia papierosów.
27. Zauważono istotnie niższe stężenie MUC 7 u pacjentów podających obecność problemów z przyjmowaniem pokarmów.
28. Stężenie MUC 5B było wyższe i zbliżało się do granicy istotności u badanych oceniających swoją higienę jamy ustnej jako bardzo dobrą.

29. Wykazano obecność ujemnej korelacji między wartością wskaźnika higieny – API a poziomem mucyny 7.
30. Poziom obu badanych mucyn nie różnił się w zależności od lokalizacji zmian OLP.
31. Wykazano wyższy poziom MUC 7 w I stopniu OLP – o wartości zbliżającej się do granicy istotności statystycznej.
32. W badaniu elektroforezy zaobserwowano indywidualne różnice makroskopowe parametrów oznaczanych białek śliny pomiędzy pacjentami w zakresie od >250 kD do <10 kD.
33. Wykazano zbliżony układ prążków w jakościowej analizie SDS-PAGE próbek pacjentów z Oral lichen planus i grupy badanej.

Nie wykazano jednoznacznego powiązania między ocenianymi postaciami zmian OLP (łagodna, średnio-ciężka, ciężka) a także opisanym stanem klinicznym OLP (asymptomatyczny, symptomatyczny, erozyjny) a poziomem badanych mucyn.

Elektroforeza białek śliny z wykorzystaniem SDS-PAGE wykazuje potencjał w analizie wyników w badaniach naukowych, jednak nie stanowi potencjału jako badanie diagnostyczne z wykorzystaniem przedstawionej w tej rozprawie metodyki. Po wykonaniu SDS-PAGE może zostać kontynuowana szczegółowa analiza badająca rodzaj analizowanych białek z wykorzystaniem bardziej zaawansowanych metod laboratoryjnych jak spektrometria mas, procedura Western blot etc.

7. WNIOSKI

1. Przyjmowanie leków stosowanych w leczeniu chorób serca i/lub nadciśnienia tętniczego może zaostrzać/ pogarszać stan kliniczny OLP w jamie ustnej.
2. Bardziej zaawansowany stan kliniczny zmian OLP wiąże się z występowaniem bardziej nasilonych odczuć bólowych.
3. Poziom mucyn MUC 5B i MUC 7 był wyższy u pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego w jamie ustnej w porównaniu do grupy kontrolnej.
4. Poziom MUC 7 był niższy u pacjentów podających w wywiadzie problemy z przyjmowaniem pokarmów
5. Stężenie obu badanych białek MUC 5B i MUC 7 było wyższe u pacjentów z dobrą higieną jamy ustnej.
6. Zauważono tendencję obniżonego poziomu obu badanych białek w stanach o większym nasileniu zmian OLP.
7. Nie wykazano powiązania stężenia mucyn w powiązaniu ze stanem ogólnym pacjentów ze zmianami OLP, pomimo tego, że mieli różne obciążenia kliniczne i farmakologiczne.
8. W analizie elektroforetycznej śliny konieczne jest wykorzystanie żeli akrylamidowych o stężeniu wyższym niż 10% celem uwidocznienia prążków o niskiej masie.
9. Dalsze badania z wykorzystaniem szczegółowych metod analizy poszczególnych prążków (reakcje ze specyficznymi przeciwciałami, Western Blot, spektrometria mas) mogą zostać wykonane, aby dokonać analizy szczegółowej uzyskanych danych.

Wniosek końcowy

Przeprowadzone badania wskazują na powiązania profilu białkowego pacjentów z OLP ze stanem ogólnym. Badane grupy nie były liczne. Dalsze badania prowadzone w tym kierunku z uwzględnieniem konkretnych stosowanych leków mogłyby bardziej jednoznacznie wskazać prawdopodobne różnice.

8. PIŚMIENNICTWO:

1. Gangeshetty N. Oral lichenplanus: Etiology, pathogenesis, diagnosis, and management. *World J Stomatol.* 2015;4(1):12.
2. Fran CC. liszaj płaski. 2012;(5):5–16.
3. Alrashdan MS, Cirillo N, McCullough M. Oral lichen planus: a literature review and update. *Arch Dermatol Res.* 2016;308(8):539–51.
4. Radwan-Oczko M, Mendak-Ziółko M. Ocena dolegliwości w jamie ustnej oraz stanu ogólnego pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego. *Zdr i dobrostan.* 2015;XXI:289–98.
5. Lauritano D, Arrica M, Lucchese A, Valente M, Pannone G, Lajolo C, et al. Oral lichen planus clinical characteristics in Italian patients: A retrospective analysis. *Head Face Med.* 2016;12(1):1–6.
6. Mutafchieva MZ, Draganova-Filipova MN, Zagorchev PI, Tomov GT. Oral Lichen Planus - Known and Unknown: a Review. *Folia Med (Plovdiv).* 2018;60(4):528–35.
7. Kalkur C, Sattur A, Guttal K. Role of depression, anxiety and stress in patients with oral lichen planus: A pilot study. *Indian J Dermatol.* 2015;60(5):445–9.
8. Payeras MR, Cherubini K, Figueiredo MA, Salum FG. Oral lichen planus: Focus on etiopathogenesis. *Arch Oral Biol.* 2013;58(9):1057–69.
9. Corrocher G, Di Lorenzo G, Martinelli N, Mansueto P, Biasi D, Nocini PF, et al. Comparative effect of tacrolimus 0.1% ointment and clobetasol 0.05% ointment in patients with oral lichen planus. *J Clin Periodontol.* 2008;35(3):244–9.
10. Pavan kumar T, Priyadarshini R, Sujatha S, Rakesh N, Shwetha V. Association of OLP and thyroid disorder: Case report and review of literature. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2019;
11. Carrozzo M, Porter S, Mercadante V, Fedele S. Oral lichen planus: A disease or a spectrum of tissue reactions? Types, causes, diagnostic algorithms, prognosis, management strategies. *Periodontol 2000.* 2019;80(1):105–25.
12. Carrozzo M, De Capei MU, Dametto E, Fasano ME, Arduino P, Broccoletti R, et al. Tumor Necrosis Factor- α and Interferon- γ Polymorphisms Contribute to Susceptibility to Oral Lichen Planus. *J Invest Dermatol.* 2004;122(1):87–94.
13. Manczyk B, Gołda J, Biniak A, Reszelewska K, Mazur B, Zając K, et al.

- Evaluation of depression, anxiety and stress levels in patients with oral lichen planus. *J Oral Sci.* 2019;61(3):391–7.
14. Chowdhury S, Chakraborty P *pratim*. Universal health coverage - There is more to it than meets the eye. *J Fam Med Prim Care.* 2017;6(2):169–70.
 15. Syrjänen S, Lodi G, von Bültzingslöwen I, Aliko A, Arduino P, Campisi G, et al. Human papillomaviruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: A systematic review. Vol. 17, *Oral Diseases.* 2011. p. 58–72.
 16. Sahebjamiee M, Sand L, Karimi S, Bietsolahi JM, Jabalameli F, Jalouli J. Prevalence of human papillomavirus in oral lichen planus in an Iranian cohort. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2015;19(2):170–4.
 17. Yildirim B, Sengüven B, Demir C. Prevalence of herpes simplex, Epstein Barr and human Papilloma viruses in oral lichen planus. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011;16(2):170–4.
 18. Liszaj płaski • Nowa Medycyna 11:2000 • Czytelnia Medyczna BORGIS.
 19. Robledo-Sierra J, Landin-Wilhelmsen K, Filipsson Nyström H, Eggertsen R, Larsson L, Dafar A, et al. A mechanistic linkage between oral lichen planus and autoimmune thyroid disease. *Oral Dis.* 2018;24(6):1001–11.
 20. Hollowell JG, Staehling NW, Dana Flanders W, Harry Hannon W, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(2):489–99.
 21. Li D, Li J, Li C, Chen Q, Hua H. The association of thyroid disease and oral lichen planus: A literature review and meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8(NOV):1–7.
 22. Lo Muzio L, Santarelli A, Campisi G, Lacaita MG, Favia G. Possible link between Hashimoto's thyroiditis and oral lichen planus: A novel association found. *Clin Oral Investig.* 2013;17(1):333–6.
 23. Zhou T, Li D, Chen Q, Hua H, Li C. Correlation between oral lichen planus and thyroid disease in China: A case-control study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9(JUN):1–6.
 24. Guarneri F, Giuffrida R, Bari F Di, Cannavò SP, Benvenga S. Thyroid autoimmunity and lichen. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8(JUN):1–7.
 25. Kats L, Goldman Y, Kahn A, Goldman V, Gorsky M. Oral lichen planus and thyroid gland diseases: possible associations. *BMC Oral Health.* 2019;19(1):169.

26. Tang Y, Shi L, Jiang B, Zhou Z, Shen X. A Cross-Sectional Study of Oral Lichen Planus Associated With Thyroid Diseases in East China. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;10(January):1–6.
27. Znaczenie układu odpornościowego w nadciśnieniu tętniczym. 2011;
28. Tomera-niekowal I. © 2018 Polish Dental Association LICHEN PLANUS COEXISTING WITH DIABETES MELLITUS AND HYPERTENSION (GRINSPAN 'S SYNDROME) – DESCRIPTION OF TWO CASES. 2018;449–56.
29. Albrecht M, Bánóczy J, Dinya E, Tamás G. Occurrence of oral leukoplakia and lichen planus in diabetes mellitus. *J Oral Pathol Med*. 1992;21(8):364–6.
30. Müller S. Oral lichenoid lesions: Distinguishing the benign from the deadly. *Mod Pathol*. 2017;30(s1):S54–67.
31. Bahramian A, Bahramian M, Mehdipour M, Falsafi P, Khodadadi S, Dabaghi Tabriz F, et al. Comparing Vitamin D Serum Levels in Patients with Oral Lichen Planus and Healthy Subjects. *J Dent (Shiraz, Iran)*. 2018;19(3):212–6.
32. Ramalingam S, Malathi N, Thamizhchelvan H, Sangeetha N, Rajan ST. Role of Mast Cells in Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Reactions. *Autoimmune Dis*. 2018;2018.
33. Chen HX, Blasiak R, Kim E, Padilla R, Culton DA. Triggers of oral lichen planus flares and the potential role of trigger avoidance in disease management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2017;124(3):248–52.
34. Wang Y, Shang S, Sun Q, Chen J, Du G, Nie H, et al. Increased infiltration of CD11c⁺/CD123⁺ dendritic cell subsets and upregulation of TLR/IFN- α signaling participate in pathogenesis of oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;125(5):459-467.e2.
35. Assessment I. Obraz histopatologiczny i immunohistochemiczny w liszaju płaskim Histopathological and Immunohistochemical Assessment. 2008;374–81.
36. Abdel-Latif AM, Abuel-Ela HA, El-Shourbagy SH. Increased caspase-3 and altered expression of apoptosis-associated proteins, Bcl-2 and Bax in lichen planus. *Clin Exp Dermatol*. 2009;34(3):390–5.
37. Lu R, Zhang J, Sun W, Du G, Zhou G. Inflammation-related cytokines in oral lichen planus: An overview. Vol. 44, *Journal of Oral Pathology and Medicine*. 2015. p. 1–14.
38. Axéll T. Hypersensitivity of the oral mucosa: Clinics and pathology. *Acta*

- Odontol Scand. 2001;59(5):315–9.
39. Eisen D. The clinical features, malignant potential, and systemic associations of oral lichen planus: A study of 723 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2002;46(2):207–14.
 40. Cheng YSL, Gould A, Kurago Z, Fantasia J, Muller S. Diagnosis of oral lichen planus: a position paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016;122(3):332–54.
 41. Diagnostyka stanów przedrakowych błony śluzowej jamy ustnej | Walter | Forum Medycyny Rodzinnej.
 42. Boorghani M, Gholizadeh N, Taghavi Zenouz A, Vatankhah M, Mehdipour M. Oral lichen planus: clinical features, etiology, treatment and management; a review of literature. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2010;4(1):3–9.
 43. Shearston K, Fateh B, Tai S, Hove D, Farah CS. Oral lichenoid dysplasia and not oral lichen planus undergoes malignant transformation at high rates. *J Oral Pathol Med.* 2019;48(7):538–45.
 44. Abdel Hay RM, Fawzy MM, Metwally D, Kadry D, Ezzat M, Rashwan W, et al. DNA polymorphisms and tissue cyclooxygenase-2 expression in oral lichen planus: A case-control study. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2012;26(9):1122–6.
 45. Vij H, Vij R, Rao NN, Radhakrishnan R, Gupta V. Quantification of colloid bodies in oral lichen planus and oral lichenoid reaction - a histochemical study. *J Clin Exp Dent.* 2011;3(3).
 46. Characteristics I, Lichen O, Lesions P, History N. Obraz histopatologiczny i immunohistochemiczny w liszaju płaskim in situ w zależności od przebiegu choroby Histopathological and Immunohistochemical Characteristics of Oral Lichen Planus Lesions Depends on the Natural History of Disease. 2008;248–54.
 47. Drogoszewska B, Chomik P, Polcyn A, Michcik A. Clinical diagnosis of oral erosive lichen planus by direct oral microscopy. *Postep Dermatologii i Alergol.* 2014;31(4):222–8.
 48. Maloth KN, Sunitha K, Boyapati R, Shravan Kumar DR. Bullous lichen planus treated with oral minipulse therapy: A rare case report. *J Clin Diagnostic Res.* 2014;8(12):ZD17–9.
 49. Boras VV, Valter K, Mekic MS, Gabric D. Oral Lichen Planus. *Lichen Planus Epidemiol Symptoms Treat.* 2015;143:19–42.

50. Lavanya N, Jayanthi P, Rao U, Ranganathan K. Oral lichen planus: An update on pathogenesis and treatment. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2011;15(2):127–32.
51. Topical corticosteroids in dental practice - Savage - 2005 - Australian Dental Journal - Wiley Onlin.
52. Sugerman PB, Savage NW. Oral lichen planus: Causes, diagnosis and management. *Aust Dent J.* 2002;47(4):290–7.
53. Kaszuba A, Pastuszka M. Miejscowe glikokortykosteroidy w leczeniu chorób skóry — zalecane standardy postępowania Topical glucocorticosteroids in the treatment — the recommended standards. *Forum Med Rodz.* 2009;3(5):347–58.
54. Suresh SS, Chokshi K, Desai S, Malu R, Chokshi A. Medical management of oral lichen planus: A systematic review. *J Clin Diagnostic Res.* 2016;10(2):ZE10–5.
55. Tedesco D, Haragsim L. Cyclosporine: A Review. *J Transplant.* 2012;2012:1–7.
56. Resende JPM, Das Chaves MGAM, Aarestrup FM, Aarestrup BV, Olate S, Netto HD. Oral lichen planus treated with tacrolimus 0.1%. *Int J Clin Exp Med.* 2013;6(10):917–21.
57. Thongprasom K, Prapinjumrune C, Carrozzo M. Novel therapies for oral lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 2013;42(10):721–7.
58. Soria A, Agbo-Godeau S, Taïeb A, Francès C. Treatment of refractory oral erosive lichen planus with topical rapamycin: 7 Cases. *Dermatology.* 2008;218(1):22–5.
59. Ho VC, Gupta AK, Ellis CN, Nickoloff BJ, Voorhees JJ. Treatment of severe lichen planus with cyclosporine. *J Am Acad Dermatol.* 1990;22(1):64–8.
60. Marona H, Gunia A, Pękala E. Retinoidy – rola w farmakoterapii w aspekcie komórkowego mechanizmu działania. *Farm Pol.* 2010;66(3):187–92.
61. Manousaridis I, Manousaridis K, Peitsch WK, Schneider SW. Individualisierte behandlung und therapiewahl bei lichen planus: Ein schrittweiser ansatz. Vol. 11, *JDDG - Journal of the German Society of Dermatology.* 2013. p. 981–92.
62. Bulbul Baskan E, Yazici S. Treatment of lichen planopilaris: methotrexate or cyclosporine a therapy? *Cutan Ocul Toxicol.* 2018;37(2):196–9.
63. Choonhakarn C, Busaracome P, Sripanidkulchai B, Sarakarn P. The efficacy of aloe vera gel in the treatment of oral lichen planus: A randomized controlled trial. *Br J Dermatol.* 2008;158(3):573–7.
64. Nolan A, Badminton J, Maguire J, Seymour RA. The efficacy of topical

- hyaluronic acid in the management of oral lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 2009;38(3):299–303.
65. Sneha Ambwani, Arup Kumar Misra RK. Prucalopride: A Recently Approved Drug by the Food and Drug Administration for Chronic Idiopathic Constipation. *Int J Appl Basic Med Res.* 2017;2019(November):193–5.
 66. van der Hem PS, Egges M, van der Wal JE, Roodenburg JLN. CO2 laser evaporation of oral lichen planus. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37(7):630–3.
 67. Lawrence HP. Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J Can Dent Assoc.* 2002;68(3):170–4.
 68. Thomadaki K, Helmerhorst EJ, Tian N, Sun X, Siqueira WL, Walt DR, et al. Whole-saliva proteolysis and its impact on salivary diagnostics. *J Dent Res.* 2011;90(11):1325–30.
 69. Leung EC man, Chow VC ying, Lee MK ping, Lai RW man. Deep throat saliva as an alternative diagnostic specimen type for the detection of SARS-CoV-2. *J Med Virol.* 2020;(May).
 70. de Moura SAB, de Sousa JMA, Lima DF, Negreiros AN do M, Silva F de V, da Costa LJ. Burning mouth syndrome (BMS): sialometric and sialochemical analysis and salivary protein profile. *Gerodontology.* 2007;24(3):173–6.
 71. Gandara BK, Izutsu KT, Truelove EL, Mandel ID, Sommers EE, Ensign WY. Sialochemistry of Whole, Parotid, and Labial Minor Gland Saliva in Patients with Oral Lichen Planus. *J Dent Res.* 1987;66(11):1619–22.
 72. Lopez-Jornet P, Cayuela CA, Tvarijonaviciute A, Parra-Perez F, Escribano D, Ceron J. Oral lichen planus: Salival biomarkers cortisol, immunoglobulin A, adiponectin. Vol. 45, *Journal of Oral Pathology and Medicine.* 2016. p. 211–7.
 73. Salivary cortisol and dehydroepiandrosterone (DHEA) levels, psychological factors in patie.
 74. Nadendla LK. Association of Salivary Cortisol and Anxiety Levels in Lichen Planus Patients. *J Clin Diagnostic Res.* 2014;10–2.
 75. Mozaffari HR, Molavi M, Lopez-Jornet P, Sadeghi M, Safaei M, Imani MM, et al. Salivary and serum interferon-gamma/interleukin-4 ratio in oral lichen planus patients: A systematic review and meta-analysis. *Med.* 2019;55(6):1–10.
 76. Wei W, Sun Q, Deng Y, Wang Y, Du G, Song C, et al. Mixed and inhomogeneous expression profile of Th1/Th2 related cytokines detected by cytometric bead array in the saliva of patients with oral lichen planus. *Oral Surg*

- Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2018;126(2):142–51.
77. Ghaleyani P, Sardari F, Akbari M. Salivary IgA and IgG in oral lichen planus and oral lichenoid reactions diseases. Vol. 1, Advanced biomedical research. 2012. p. 73.
 78. Polesello V, Zupin L, Di Lenarda R, Biasotto M, Pozzato G, Ottaviani G, et al. DEFB1 polymorphisms and salivary hBD-1 concentration in Oral Lichen Planus patients and healthy subjects. Arch Oral Biol. 2017;73:161–5.
 79. Al-Janaby H, El-Sakka H, Masood M, Ashani W, Mendis W, M. Slack-Smith L, Parsons R, et al. Xerostomia and Salivary Gland Hypofunction in Patients with Oral Lichen Planus Before and After Treatment with Topical Corticosteroids. Open Dent J. 2017;11(1):155–63.
 80. Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I, Mikaili S, Abdollahi M. Increased salivary lipid peroxidation in human subjects with oral lichen planus. Int J Dent Hyg. 2009;7(4):246–50.
 81. Bakhtiari S, Toosi P, Samadi S, Bakhshi M. Assessment of Uric Acid Level in the Saliva of Patients with Oral Lichen Planus. Med Princ Pract. 2017;26(1):57–60.
 82. Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I. Serum and saliva collagenase-3 (MMP-13) in patients with oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. Med J Islam Repub Iran. 2015;29(1):1–6.
 83. Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I, Miri-Zarandi NS. Unstimulated salivary p53 in patients with oral lichen planus and squamous cell carcinoma. Acta Med Iran. 2015;53(7):439–43.
 84. Kistenev Y V., Borisov A V., Titarenko MA, Baydik OD, Shapovalov A V. Diagnosis of oral lichen planus from analysis of saliva samples using terahertz time-domain spectroscopy and chemometrics. J Biomed Opt. 2018;23(04):1.
 85. Lynge Pedersen AM, Belstrøm D. The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. J Dent. 2019;80(August 2018):S3–12.
 86. Frenkel ES, Ribbeck K. Salivary mucins in host defense and disease prevention. J Oral Microbiol [Internet]. 2015 [cited 2019 Aug 10];7(1):29759. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26701274>
 87. Piras M, Hand AR, Tore G, Ledda GP, Piludu M. Ultrastructural localization of salivary mucins MUC5B and MUC7 in human labial glands. Eur J Oral Sci. 2010;118(1):14–8.

88. Tabak LA, Levine MJ, Mandel ID, Ellison SA. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J Oral Pathol Med.* 1982;11(1):1–17.
89. Sonesson M, Wickström C, Kinnby B, Ericson D, Matsson L. Mucins MUC5B and MUC7 in minor salivary gland secretion of children and adults. *Arch Oral Biol.* 2008;53(6):523–7.
90. Szkaradkiewicz-Karpińska AK, Ronij A, Goślińska-Kuźniarek O, Przybyłek I, Szkaradkiewicz A. MUC7 Level As A New Saliva Risk Factor For Dental Caries In Adult Patients. *Int J Med Sci [Internet].* 2019 [cited 2019 Aug 29];16(2):241–6. Available from: <http://www.medsci.org/v16p0241.htm>
91. T Cavallari 1, H Salomão 1, S T Moysés 1, S J Moysés 1 RIW 1. The impact of MUC5B gene on dental caries. *Oral Dis.* 2018;24(3):372–6.
92. Peacocke J, Lotz Z, De Beer C, Roux P, Mall AS. The role of crude saliva and purified salivary mucins in the inhibition of the Human Immunodeficiency Virus type 1. *Virol J [Internet].* 2012;9(1):1. Available from: *Virology Journal*
93. Habte HH, Mall AS, De Beer C, Lotz ZE, Kahn D. The role of crude human saliva and purified salivary MUC5B and MUC7 mucins in the inhibition of Human Immunodeficiency Virus type 1 in an inhibition assay. *Virol J [Internet].* 2006 Nov 24 [cited 2019 Aug 10];3(1):99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17125499>
94. Chaudhury NMA, Proctor GB, Karlsson NG, Carpenter GH, Flowers SA. Reduced mucin-7 (MUC7) sialylation and altered saliva rheology in Sjögren's syndrome associated oral dryness. *Mol Cell Proteomics.* 2016;15(3):1048–59.
95. Acquier AB, Pita AKDC, Busch L, Sánchez GA. Comparison of salivary levels of mucin and amylase and their relation with clinical parameters obtained from patients with aggressive and chronic periodontal disease. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(3):288–94.
96. Agha-Hosseini F, Imanpour M, Mirzaii-Dizgah I, Moosavi MS. Mucin 5B in saliva and serum of patients with oral lichen planus. *Sci Rep.* 2017;7(1):5–10.
97. Stomatologii Zachowawczej Periodontologii Poznaniu KA. Stan jamy ustnej i stomatologiczne zachowania prozdrowotne studentów stomatologii Condition of the Oral Cavity and the Anti-Plaque Behavior of Dentistry Students PRACE ORYGINALNE. *Dent Med Probl.* 2006;43:222–7.
98. López-Jornet P, Camacho-Alonso F. Clinical assessment of oral lichen planus based on different scales. *Int J Dermatol.* 2010;49(3):272–5.

99. Gan SD, Patel KR. Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2013;133(9):1–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2013.287>
100. Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *Obes Res*. 1996;4(6):583–600.
101. Wuhan FineTest. Human MUC7(Mucin-7) ELISA Kit. 7(818):1–9.
102. Wuhan FineTest. Human MUC5B(Mucin-5B) ELISA Kit. p. 1–9.
103. WHO. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19). Interim Guid [Internet]. 2020;2019(February):1–13. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331138/WHO-WPE-GIH-2020.1-eng.pdf>
104. Shamimul Hasan, Sameer Ahmed, Ravi kiran, Rajat Panigrahi, Joseph Mathew Thachil SS. Oral lichen planus and associated comorbidities: An approach to holistic health. *J Fam Med Prim Care*. 2019;8(11):3504–17.
105. Daye M, Temiz SA, Isik B. The relationship between lichen planus and metabolic syndrome. *J Cosmet Dermatol*. 2021;20(8):2635–9.
106. Cascone M, Celentano A, Adamo D, Leuci S, Ruoppo E, Mignogna MD. Oral lichen planus in childhood: a case series. *Int J Dermatol*. 2017;56(6):641–52.
107. Lakatta EG, Cohen JD, Fleg JL, Frohlich ED, Gradman AH. Hypertension in the elderly: Age- and disease-related complications and therapeutic implications. *Cardiovasc Drugs Ther*. 1993;7(4):643–53.
108. Vallée A, Gabet A, Grave C, Lelong H, Blacher J, Olié V. Home blood pressure monitoring in France: Device possession rate and associated determinants, the Esteban study. *J Clin Hypertens*. 2020;22(12):2204–13.
109. Eisen D. Ocular Involvement in Patients With Oral Lichen Planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1999;431–6.
110. Casparis S, Borm JM, Tektas S, Kamarachev J, Locher MC, Damerau G, et al. Oral lichen planus (OLP), oral lichenoid lesions (OLL), oral dysplasia, and oral cancer: retrospective analysis of clinicopathological data from 2002–2011. *Oral Maxillofac Surg*. 2015;19(2):149–56.
111. González-Moles MÁ, Warnakulasuriya S, González-Ruiz I, González-Ruiz L, Ayén Á, Lenouvel D, et al. Worldwide prevalence of oral lichen planus: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis*. 2021;27(4):813–28.
112. Potts AJC, Hamburger J, Scully C. The medication of patients with oral lichen

- planus and the association of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with erosive lesions. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1987;64(5):541–3.
113. Panta P, Andhavarapu A, Sarode S, Sarode G, Patil S. Reverse Koebnerization in a Linear Oral Lichenoid Lesion: A Case Report. *Clin Pract.* 2019;9(2):61–4.
 114. Nosratzahi T. Oral lichen planus: An overview of potential risk factors, biomarkers and treatments. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2018;19(5):1161–7.
 115. hygiene .pdf.
 116. Stone SJ, Heasman PA, Staines KS, Mccracken GI, Bender R., Salvi. The impact of structured plaque control for patients with gingival manifestations of oral lichen planus: a randomised controlled study Scientific release from the European Federation of Periodontology Affiliation: Prepared by a resident of the Postgraduat. *J Clin Periodontol.* 2015;42–356.
 117. Yu FY, Wang QQ, Li M, Cheng YH, Cheng YSL, Zhou Y, et al. Dysbiosis of saliva microbiome in patients with oral lichen planus. *BMC Microbiol.* 2020;20(1):1–12.
 118. Choi YS, Kim Y, Yoon HJ, Baek KJ, Alam J, Park HK, et al. The presence of bacteria within tissue provides insights into the pathogenesis of oral lichen planus. *Sci Rep.* 2016;6(July):1–13.
 119. Laeijendecker R, Dekker SK, Burger PM, Mulder PGH, Van Joost T, Neumann MHA. Oral lichen planus and allergy to dental amalgam restorations. *Arch Dermatol.* 2004;140(12):1434–8.
 120. Kökten N, Uzun L, Karadağ AS, Zenginkinet T, Kalcioğlu MT. Grinspan's Syndrome: A Rare Case with Malignant Transformation. *Case Rep Otolaryngol.* 2018;2018:1–4.
 121. Aghbari SMH, Abushouk AI, Attia A, Elmaraezy A, Menshawy A, Ahmed MS, et al. Malignant transformation of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: A meta-analysis of 20095 patient data. *Oral Oncol.* 2017;68:92–102.
 122. Dreiherr J, Shapiro J, Cohen AD. Lichen planus and dyslipidaemia: A case-control study. *Br J Dermatol.* 2009;161(3):626–9.
 123. Davide Conrotto, 1 Roberta Barattero, 1 Mario Carbone, 1 Alessio Gambino, 1 Veronica Sciannameo, 2 Fulvio Ricceri², Federico Conrotto³, Roberto Broccoletti 1 Paolo G. Arduino.¹. Can atrophic erosive oral lichen planus promote cardiovascular diseases? A population-based study. *Oral Dis.* 2018;24(1–2):215–8.

124. Saleh N, Samir N, Megahed H, Farid E. Homocysteine and other cardiovascular risk factors in patients with lichen planus. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2014;28(11):1507–13.
125. Chaker Ben Salem MD1*, Lilia Chenguel MD2, Najet Ghariani MD2, Mohamed Denguezli MD2 HHM and KBM. Captopril-induced lichen planus pemphigoides. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2008;17(May):722–4.
126. Onprasert W, Chanprapaph K. Lichen Planus Pemphigoides Induced by Enalapril: A Case Report and a Review of Literature. *Case Rep Dermatol.* 2017;9(3):217–24.
127. Foglio-Bonda PL, Brillì K, Pattarino F, Foglio-Bonda A. Salivary flow rate and pH in patients with oral pathologies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(2):369–74.
128. Martina E, Campanati A, Diotallevi F, Offidani A. Saliva and oral diseases. *J Clin Med.* 2020;9(2).
129. Agita A, Thaha M. Agita A., Alsagaff M.T. Inflammation, Immunity, and Hypertension. *Acta. Med. Indones.* 2017; 49:158–165. *Acta Med Indones.* 2017;49(2):158–65.
130. Banderas-Tarabay JA, Zacarías-D'Oleire IG, Garduño-Estrada R, Aceves-Luna E, González-Begné M. Electrophoretic analysis of whole saliva and prevalence of dental caries. A study in Mexican dental students. *Arch Med Res.* 2002;33(5):499–505.
131. Khan ZM, Waheed H, Khurshid Z, Zafar MS, Moin SF, Alam MK. Differentially Expressed Salivary Proteins in Dental Caries Patients. *Biomed Res Int.* 2021;2021.
132. Lamanda A, Cheaib Z, Turgut MD, Lussi A. Protein Buffering in Model Systems and in Whole Human Saliva. Imhof A, editor. *PLoS One* [Internet]. 2007 Feb 28 [cited 2019 Aug 10];2(2):e263. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0000263>
133. María Guadalupe F-L, Beatriz Elizabeth L-Á, Carlos L-E, Cynthia Georgina T-I, A Rodríguez M, José Francisco G-C, et al. Analysis of proteinic profile in oral lichen planus. *Integr Mol Med.* 2018;5(1).

9. STRESZCZENIE

Wstęp

Praca doktorska podejmuje tematykę objawów klinicznych i profilu proteinowego śliny u pacjentów z liszajem płaskim jamy ustnej w powiązaniu ze stanem ogólnym.

Liszaj płaski to idiopatyczna, przewlekła, niezakaźna choroba skóry i błony śluzowej. Występuje głównie u pacjentów między 30. a 60. rokiem życia, statystycznie częściej u kobiet. OLP jest schorzeniem o nadal niejasnej i skomplikowanej etiologii. Badania potwierdzają, że jest to proces immunologiczny zapoczątkowany przez nieznaną antygen, który aktywuje warstwę nabłonkowych keratynocytów, czyniąc je podatnymi na atak komórek układu immunologicznego. Wśród czynników etiologicznych mogących zapoczątkowywać proces immunologiczny można wymienić: podłoże genetyczne, czynnik psychoneurogeny, wirusowy, chemiczny, metaboliczny.

Pierwotnym wykwitem skórny w liszaju płaskim jest grudka. Zmiany mają postać płasko-wyniosłych grudek barwy szaroczerwonej lub niebieskawej, może im towarzyszyć nasilony świąd i dyskomfort. Charakterystyczną cechą przebiegu liszaja płaskiego są okresy zaostrzeń i remisji objawów. Klinicznie wyróżnia się sześć typów OLP (Andreasen, 1968r.), które mogą występować pojedynczo lub łącznie: siateczkowy, płytkowy, plamkowy, atroficzny, erozyjny i pęcherzowy. Najczęściej obserwowaną postacią jest postać siateczkowa, dla której charakterystyczne są mlecznobiałe grudki układające się w drzewkowaty układ (siateczka Wickhama). Rozpoznanie postaci siateczkowej nie sprawia trudności doświadczonemu klinycyście i zwykle wstępną diagnozę można postawić bez weryfikacji histopatologicznej. Diagnoza różnicowa może obejmować między innymi: leukoplakię, przewlekłą kandydozę, zmiany w jamie ustnej związane z chorobami pęcherzowymi, zmiany w przebiegu choroby przeszczep przeciw gospodarzowi. Złotym standardem w diagnostyce OLP pozostaje biopsja zmiany i badanie histopatologiczne.

Zarówno obraz kliniczny jak i cechy histopatologiczne zmian OLP są praktycznie nie do odróżnienia od zmian lichenoidalnych – (Oral Lichenoid Lesions- OLL). Przyczyną tej drugiej patologii są albo leki stosowane ogólnie powodując zmiany uogólnione lub czynniki miejscowe – wtedy zmiany są pojedyncze, najczęściej występujące w bezpośrednim kontakcie z czynnikiem przyczynowym, który można zidentyfikować i wyeliminować.

W pracy doktorskiej zwrócono także uwagę na rolę śliny i jej składu w liszaju płaskim jamy ustnej. Ślina jako materiał diagnostyczny ma szereg zalet. Pobranie śliny jest bezpieczne, łatwo dostępne i bezinwazyjne - nie wymaga przerywania powłok skórnych. Mimo to, publikacje na temat badań składu śliny w chorobach błony śluzowej jamy ustnej nie są liczne. W pracy własnej skupiono się na roli ochronnych białek ślinowych – mucyny 5B i mucyny 7 – w patogenezie liszaja płaskiego. Mucyny te pełnią funkcję ochronną, zarówno przed wysychaniem błony śluzowej jamy ustnej, jak i przedostawaniem się substancji potencjalnie uszkadzających komórki nabłonka, a także przed proteazami produkowanymi przez bakterie w płytce nazębnej. Mucyna 5B to podstawowa mucyna żelotwórcza, wydzielana przez komórki śluzowe ślinianek podżuchwowych, podjęzykowych, gruczołów ślinowych podniebiennych i wargowych. Mucyna 7 jest nieżelową mucyną produkowaną zarówno przez śluzowe, jak i surowicze komórki ślinianek, z wyjątkiem ślinianki przyusznej i komórek surowicznych języka. Chociaż MUC7 jest mniej wydajna jako substancja smarująca, jest ona znacznie bardziej wydajna w aglutynacji i usuwaniu bakterii niż MUC5B i dlatego jest ważną częścią nieimmunologicznego systemu obronnego śliny.

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę zmian liszaja płaskiego w powiązaniu z ich statusem klinicznym, objawami subiektywnymi podawanymi przez badanych, składem proteinowym śliny pacjentów oraz leczeniem ogólnoustrojowym.

Material i metody

W badaniu wzięło udział 119 pacjentów Poradni Specjalistycznej Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej Akademickiej Polikliniki Stomatologicznej we Wrocławiu. Badanie zostało przeprowadzone w latach 2018-2020. Średnia wieku w grupie badanej wynosiła 59,8 lat. Większość stanowiły kobiety – 73,1%.

Całą grupę pacjentów podzielono na trzy grupy badane:

Z – pacjentów ogólnie zdrowych, nie przyjmujących żadnych leków,

NS/C – pacjentów przyjmujących leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie.

L – pacjentów przyjmujących leki inne niż NS/C, w sposób ciągły między innymi: leki antydepresyjne, inhibitory pompy protonowej, kortykosteroidy, leki przeciwalergiczne.

W trakcie badania podmiotowego pytano pacjentów o: wiek, płeć i wykształcenie, czas obecności zmian liszaja płaskiego (liczba miesięcy), obecność lub brak zmian współistniejących: zmian skórnych, paznokciowych lub zmian na błonach śluzowych

w innych lokalizacjach. Następnie gromadzono informacje o chorobach ogólnych i przyjmowanych lekach, oceniano dolegliwości w jamie ustnej (skala VAS) podczas wykonywania zabiegów higienicznych, spożywania pokarmów i użytkowania uzupełnień protetycznych.

Podczas badania przedmiotowego oceniano stan jamy ustnej, w tym m.in. liczbę zębów, obecność uzupełnień protetycznych i uzupełnień amalgamatowych. Dokonywano także oceny higieny jamy ustnej za pomocą wskaźnika API. Zmiany liszaja płaskiego jamy ustnej były następnie analizowane pod względem lokalizacji, rozległości i zaawansowania (klasyfikacja Malhotra). Na końcu na podstawie stopnia choroby i występowania lub nie objawów dodatkowych - bólowych dla postaci symptomatycznej oraz zmian erozyjnych, dla każdego pacjenta opisano poziom zaawansowania choroby jako: postać łagodną, średnio ciężką lub ciężką.

Po zakończeniu badania klinicznego, przepłukaniu ust i odpoczynku przez około 10 minut, u części badanych (57 osób) pobierano do próbek 5 ml śliny niestymulowanej całkowitej metodą odpluwania.

Ślinę pacjentów z ustną postacią liszaja płaskiego (całą grupę badaną) i pacjentów grupy kontrolnej poddano analizie laboratoryjnej. W ślinie oceniano następujące parametry: wskaźnik pH, a także metodą ELISA zbadano poziom białek: mucyny 5B i mucyny 7. Następnie przeprowadzono elektroforezę białek śliny metodą SDS-PAGE.

Uzyskane wyniki badań poddano opracowaniu statystycznemu. Aby zweryfikować hipotezy o zależności między badaną grupą a pozostałymi zmiennymi, przeprowadzono test ANOVA (w przypadku zmiennych ilościowych) lub chi-kwadrat (w przypadku zmiennych jakościowych). Dla zmiennych ilościowych podano średnie i odchylenia standardowe dla każdej z grup, dla zmiennych jakościowych liczebność i wartość procentową. Dla rozkładów znacznie różniących się od normalnego, zamiast ANOVA zastosowano test Kruskala-Wallisa oraz obliczono medianę i rozstęp kwartyłowy. Za istotność statystyczną uznano $p \leq 0,05$, natomiast $0,05 < p < 0,1$ przyjęto za możliwość istnienia tendencji.

Porównując wartości mucyn i pH z grupą kontrolną przeprowadzono test t-Studenta lub Manna-Whitneya (jeśli rozkład znacznie różnił się od normalnego). Za poziom istotności przyjęto 0.017 [korekta Bonferroniego na 3 testy].

Wyniki – uogólnienia

1. W badanej grupie pacjentów z OLP większość stanowiły kobiety.
2. Najliczniejszą była grupa osób w wieku 62-71 lat.
3. Średni czas obecności zmian OLP wynosił w całej grupie 32,5 miesiąca i nie różnił się statystycznie między grupami osób przyjmujących leki lub nie.
4. Zmiany liszaja płaskiego poza jamą ustną występowały u 53,8% całej badanej grupy i nie wykazano różnic między poszczególnymi grupami.
5. Nikotyzm występował tylko u 9 pacjentów (7,6%), w tym u 7 (14%) - w grupie przyjmującej leki nasercowe i/lub obniżające ciśnienie.
6. Różne objawy w jamie ustnej pacjentów : pieczenie, ból, suchość, uczucie szorstkości błony śluzowej związane z obecnością OLP występowały u 74,8% badanych i nie wykazano różnic istotnych statystycznie między grupami.
7. Problemy w ograniczeniach w spożywaniu pokarmów wystąpiły u 62,2% badanych i nie stwierdzono różnic istotnych między grupami.
8. Na problemy z wykonywaniem zabiegów higienicznych w jamie ustnej wskazało 42,9% pacjentów i w tym przypadku również nie wykazano różnic między grupami.
9. W samoocenie aż 69,4% pacjentów z OLP oceniło swoją higienę jamy ustnej jako bardzo dobrą, nie stwierdzono różnic między grupami.
10. Średnia wartość wskaźnika API w całej grupie wyniosła 29,7%, co wskazuje na higienę bardzo dobrą. Higienę optymalną (średnia wartość API- 23,9%) wykazano w grupie osób ogólnie zdrowych - nie przyjmujących leków.
11. Średnia liczba zębów w całej grupie z OLP wynosiła 19,4 zęba, i była istotnie wyższa w grupie osób zdrowych w odniesieniu do grupy osób przyjmujących różne leki oraz grupy osób leczonych z powodu chorób serca i nadciśnienia.
12. Najmniejszą i statystycznie istotną liczbę uzupełnień amalgamatowych stwierdzono w grupie osób leczonych z powodu chorób serca i nadciśnienia w odniesieniu do pozostałych 2 grup Z i L.
13. Uzupełnienia protetyczne użytkowało 58,8% z OLP i nie wykazano różnic między grupami.

14. Średnia wartość bólu oceniane wg skali VAS wynosiła 4, i nie wykazano różnic między grupami.
15. Najczęściej, bo w 62,2% zmiany OLP występowały w wielu różnych lokalizacjach i nie stwierdzono różnic między grupami.
16. Zarówno w całej grupie jak i w grupach badanych najczęściej diagnozowano I stopień nasilenia zmian wg skali Malhotra.
17. Zarówno w całej grupie z OLP, jak i w grupach badanych najczęściej występowała postać średnio- ciężka wg skali Malhotra.
18. W całej grupie z OLP, oraz poszczególnych grupach badanych najczęściej diagnozowany był stan kliniczny symptomatyczny, z obecnością różnych objawów w jamie ustnej podawanych przez pacjentów, związanych z zmianami liszaja.
19. Stan kliniczny erozyjny natomiast, najczęściej był obserwowany w grupie osób przyjmujących leki z powodu chorób serca i/lub nadciśnienia
20. Wykazano istotne statystycznie dodatnie korelacje między wartościami skali VAS a stopniem zaawansowania zmian OLP oraz ocenianym stanem klinicznym a także czasem obecności zmian liszaja.
21. Stwierdzono również istotną zależność między czasem obecności zmian OLP a stanem klinicznym tych zmian.
22. Poziomy obu badanych białek MUC 5B i MUC 7 były wyższe w grupie osób z OLP w porównaniu do grupy kontrolnej.
23. Poziom pH śliny nie różnił się między grupą z OLP a kontrolną.
24. Nie wykazano zależności poziomu mucyn MUC 5B i MUC 7 w powiązaniu z płcią.
25. Stężenie MUC 5B było najwyższe w grupie osób przyjmujących różne leki (L), natomiast MUC 7 w grupie osób leczonych z powodu chorób serca i/lub nadciśnienia, ale różnice nie były istotne statystycznie.
26. Nie stwierdzono zależności poziomu badanych mucyn w powiązaniu z nałogiem palenia papierosów.
27. Zauważono istotnie niższe stężenie MUC 7 u pacjentów podających obecność problemów z przyjmowaniem pokarmów.
28. Stężenie MUC 5B było wyższe i zbliżało się do granicy istotności u badanych oceniających swoją higienę jamy ustnej jako bardzo dobrą.

29. Wykazano obecność ujemnej korelacji między wartością wskaźnika higieny – API a poziomem mucyny 7.
30. Poziom obu badanych mucyn nie różnił się w zależności od lokalizacji zmian OLP.
31. Wykazano wyższy poziom MUC 7 w I stopniu OLP – o wartości zbliżającej się do granicy istotności statystycznej.
32. W badaniu elektroforezy zaobserwowano indywidualne różnice makroskopowe parametrów oznaczanych białek śliny pomiędzy pacjentami w zakresie od >250 kD do <10 kD.
33. Wykazano zbliżony układ prążków w jakościowej analizie SDS-PAGE próbek pacjentów z Oral lichen planus i grupy badanej.

Wnioski

1. Przyjmowanie leków stosowanych w leczeniu chorób serca i/lub nadciśnienia tętniczego może zaostrzać/ pogarszać stan kliniczny OLP w jamie ustnej.
2. Bardziej zaawansowany stan kliniczny zmian OLP wiąże się z występowaniem bardziej nasilonych odczuć bólowych.
3. Poziom mucyn MUC 5B i MUC 7 był wyższy u pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego w jamie ustnej w porównaniu do grupy kontrolnej.
4. Poziom MUC 7 był niższy u pacjentów podających w wywiadzie problemy z przyjmowaniem pokarmów
5. Stężenie obu badanych białek MUC 5B i MUC 7 było wyższe u pacjentów z dobrą higieną jamy ustnej.
6. Zauważono tendencję obniżonego poziomu obu badanych białek w stanach o większym nasileniu zmian OLP.
7. Nie wykazano powiązania stężenia mucyn w powiązaniu ze stanem ogólnym pacjentów ze zmianami OLP, pomimo tego, że mieli różne obciążenia kliniczne i farmakologiczne.
8. W analizie elektroforetycznej śliny konieczne jest wykorzystanie żeli akrylamidowych o stężeniu wyższym niż 10% celem uwidocznienia prążków o niskiej masie.

9. Dalsze badania z wykorzystaniem szczegółowych metod analizy poszczególnych prążków (reakcje ze specyficznymi przeciwciałami, Western Blot, spektrometria mas) mogą zostać wykonane, aby dokonać analizy szczegółowej uzyskanych danych.

Wniosek końcowy

Przeprowadzone badania wskazują na powiązania profilu białkowego pacjentów z OLP ze stanem ogólnym. Badane grupy nie były liczne. Dalsze badania prowadzone w tym kierunku z uwzględnieniem konkretnych stosowanych leków mogłyby bardziej jednoznacznie wskazać prawdopodobne różnice.

10. SUMMARY

Introduction

This dissertation addresses the clinical manifestations and salivary protein profile in patients with oral lichen planus in relation to general condition.

Lichen planus is an idiopathic, chronic, non-infectious disease of the skin and mucous membranes. It mainly occurs in patients between 30 and 60 years of age, statistically more often in women. OLP is a condition with a still unclear and complicated aetiology. Studies confirm that it is an immunological process initiated by an unknown antigen that activates the epithelial layer of keratinocytes, making them susceptible to attack by immune cells. Etiological factors that may initiate the immune process include: genetic background, psychoneurogenic, viral, chemical or metabolic factor.

The primary lesion in lichen planus is a papule. The lesions are flat-elevated papules of greyish-red or bluish colour and may be accompanied by intense itching and discomfort. Periods of exacerbation and remission of symptoms are characteristic of the course of lichen planus. Clinically, there are six types of OLP (Andreasen, 1968), which may occur singly or in combination: reticular, lamellar, macular, atrophic, erosive and bullous. The most commonly observed form is the reticular form, which is characterised by milky-white papules arranged in a tree-like pattern (Wickham's reticulum). The diagnosis of the reticular form is not difficult for an experienced clinician and the initial diagnosis can usually be made without histopathological verification. Differential diagnosis may include, but is not limited to: leukoplakia, chronic candidiasis, oral lesions associated with bullous disease, graft versus host disease. The gold standard for diagnosis of OLP remains lesion biopsy and histopathological examination.

Both the clinical picture and the histopathological features of OLP lesions are hardly distinguishable from Oral Lichenoid Lesions (OLL). The causes of the second pathology are either systemic drugs causing generalized lesions or local factors, where the lesions are single, usually occurring in direct contact with the causative agent, which can be identified and eliminated.

In this dissertation, special attention was paid to the role of saliva and its composition in oral lichen planus. Saliva as a diagnostic material has several

advantages. Collection of saliva is safe, easily accessible and non-invasive - it does not require disruption of the skin. Despite this, there are not many publications on the study of saliva composition in oral mucosa diseases. In our study, we focused on the role of protective salivary proteins - mucin 5B and mucin 7 - in the pathogenesis of lichen planus. These mucins have a protective function, both against drying of the oral mucosa and the entry of potentially damaging substances into the epithelial cells, as well as against proteases produced by bacteria in the plaque. Mucin 5B is the primary gel-forming mucin, secreted by the mucous cells of the submandibular salivary glands, sublingual salivary glands, palatal salivary glands and labial salivary glands. Mucin 7 is a non-gel-forming mucin produced by both mucous and serous cells of the salivary glands, with the exception of parotid gland cells and serous cells of the tongue. Although MUC7 is less efficient as a lubricant, it is much more efficient in agglutination and bacterial removal than MUC5B and is therefore an important part of the non-immune defence system of saliva.

The study aimed to evaluate the lesions of lichen planus in relation to clinical status, the protein composition of the patients' saliva and systemic treatment. The aim of the study was to find a possible better diagnostic method and a more effective treatment for lichen planus lesions.

Material and methods

The study included 119 patients of the Specialised Clinic for Periodontal and Oral Mucosal Diseases of the Academic Dental Polyclinic in Wrocław. The study was conducted between 2018 and 2020. The mean age in the study group was 59,8 years. The majority were women – 73,1%.

The entire group of patients was divided into three study groups:

Z - generally healthy patients, not taking any medication,

NS/C - patients taking cardiac and/or blood pressure lowering drugs.

L - patients taking drugs other than NS/C, on a continuous basis, among others: antidepressants, proton pump inhibitors, corticosteroids, anti-allergic drugs.

During the subjective examination, patients were asked about: age, gender and education, duration of presence of lichen planus lesions (number of months), presence

or absence of coexisting lesions: skin lesions, nail lesions or mucosal lesions in other locations. Then, information was collected on general diseases and medications taken, and oral complaints (VAS scale) were assessed during hygienic procedures, eating and use of prostheses.

During the physical examination, the condition of the oral cavity was assessed, including the number of teeth, the presence of prosthetic restorations and amalgam restorations. Oral hygiene was also assessed using the API index. Oral lichen planus lesions were then analysed in terms of location, extent and severity (Malhotra classification). Finally, based on the degree of disease and the presence or absence of additional symptoms/pain for the symptomatic form and erosive lesions, the level of disease was described for each patient as: mild, moderate or severe form.

After completing the clinical examination, rinsing the mouth and resting for approximately 10 minutes, some subjects (57 patients) had 5 ml of unstimulated total saliva collected into tubes by spitting.

The saliva of patients with oral lichen planus (drug users and non-drug users) and controls was subjected to laboratory analysis. The following parameters were evaluated in saliva: pH index, and the levels of mucin 5B and mucin 7 proteins were examined by ELISA, followed by SDS-PAGE electrophoresis of saliva proteins.

The obtained results were statistically analysed. In order to verify hypotheses on the relationship between the study group and other variables, ANOVA test (for quantitative variables) or chi-square test (for qualitative variables) was performed. For quantitative variables, the means and standard deviations for each group were given, for qualitative variables the counts and percentages. For distributions significantly different from normal, the Kruskal-Wallis test was used instead of ANOVA and the median and quartile range were calculated. Statistical significance was considered $p \leq 0,05$, while $0,05 < p < 0,1$ was taken as the possibility of a trend.

When comparing mucin and pH values with the control group, Student's t-test or Mann-Whitney test was performed (if the distribution was significantly different from normal). The significance level was taken as 0,017 [Bonferroni correction for 3 tests].

Results - Generalisations

1. The majority of OLP patients in the study group were women.
2. The most numerous was the group of people aged 62-71 years.
3. The mean duration of OLP lesions was 32.5 months in the whole group and did not differ statistically between the groups of patients taking medication or not.
4. Lichen planus lesions outside the oral cavity were present in 53.8% of the entire study group and there were no differences between the groups.
5. Nicotinism was present in only 9 patients (7.6%), including 7 (14%) in the group taking cardiac and/or blood pressure lowering drugs.
6. Various symptoms in the oral cavity of the patients: burning, pain, dryness, feeling of mucosal roughness associated with the presence of OLP were present in 74.8% of the patients and there were no statistically significant differences between the groups.
7. Problems with food restrictions occurred in 62.2% of the subjects and no significant differences were found between the groups.
8. Problems with oral hygiene were indicated by 42.9% of patients and in this case also no differences between groups were found.
9. In the self-assessment, up to 69.4% of OLP patients assessed their oral hygiene as very good, no differences between groups were found.
10. The mean value of the API index in the whole group was 29.7%, which indicates very good hygiene. Optimal hygiene (mean API value - 23.9%) was found in the group of generally healthy people - not taking medication.
11. The average number of teeth in the whole group with OLP was 19.4 teeth, and was significantly higher in the group of healthy people in relation to the group of people taking various drugs and the group of people treated for heart disease and hypertension.
12. The lowest and statistically significant number of amalgam restorations was found in the group of subjects treated for heart disease and hypertension in relation to the other 2 groups Z and L.
13. Prosthetic restorations were used by 58.8% of OLP and no differences were found between groups.
14. The mean value of pain assessed according to VAS scale was 4, and there were no differences between the groups.

15. The most frequent, 62.2% of OLP lesions had multiple locations and there were no differences between the groups.
16. Both in the whole group and in the study groups, the most frequent diagnosis of OLP lesions was grade I according to the Malhotra scale.
17. Medium-severe Malhotra was the most common diagnosis in both OLP and study groups.
18. In the whole group with OLP, as well as in individual study groups, the most frequent diagnosis was symptomatic clinical state, with the presence of various oral symptoms reported by the patients, associated with lichen lesions.
19. Erosive clinical state, on the other hand, was most frequently observed in the group of patients taking medication for heart disease and/or hypertension
20. Statistically significant positive correlations were found between VAS scale values and OLP lesion severity, clinical status, and time of lichen lesion presence.
21. There was also a significant correlation between the time of presence of OLP lesions and the clinical status of these lesions.
22. The levels of both studied proteins MUC 5B and MUC 7 were higher in the OLP group compared to the control group.
23. Salivary pH levels did not differ between the OLP and control groups.
24. There was no correlation of mucin levels MUC 5B and MUC 7 with gender.
25. The concentration of MUC 5B was the highest in the group of people taking various drugs (L), while MUC 7 was the highest in the group of people treated for heart disease and/or hypertension, but the differences were not statistically significant.
26. There was no correlation between the levels of mucins studied and smoking habits.
27. Significantly lower levels of MUC 7 were observed in patients reporting the presence of problems with food intake.
28. The concentration of MUC 5B was higher and approached the limit of significance in subjects assessing their oral hygiene as very good.
29. There was a negative correlation between the value of hygiene index - API and the level of mucin 7.
30. The level of both mucins did not differ depending on the location of OLP lesions.
31. The level of MUC 7 was higher in OLP stage I - with the value approaching the limit of statistical significance.
32. Electrophoresis showed individual macroscopic differences in salivary protein parameters between patients ranging from >250 kD to <10 kD.

33. Similar pattern of striations was demonstrated in qualitative SDS-PAGE analysis of Oral lichen planus patient samples and the study group.

Conclusions

1. Taking medications used to treat heart disease and/or hypertension may exacerbate/worsen the clinical condition of oral OLP.
2. More advanced clinical status of OLP lesions is associated with more severe pain sensations.
3. MUC 5B and MUC 7 mucin levels were higher in patients with oral lichen planus lesions compared to controls.
4. MUC 7 levels were lower in patients with a history of food intake problems
5. The levels of both proteins tested, MUC 5B and MUC 7, were higher in patients with good oral hygiene.
6. There was a trend towards lower levels of both proteins studied in conditions with more severe OLP lesions.
7. There was no association of mucin levels with the general condition of patients with OLP lesions, despite having different clinical and pharmacological burdens.
8. Electrophoretic analysis of saliva requires the use of acrylamide gels at concentrations greater than 10% to visualise low mass bands.
9. Further studies using specific methods for analysis of individual bands (reactions with specific antibodies, Western blot, mass spectrometry) can be performed for detailed analysis of the data obtained.

Final conclusion

Our study indicates that the protein profile of OLP patients is associated with general status. The groups studied were not numerous. Further studies conducted in this direction taking into account the specific drugs used could more clearly indicate likely differences.

11.1. Karta badania klinicznego

Imię i nazwisko Wiek: lat

Płeć:

- K
- M

Wyrażam zgodę na udział w nieinwazyjnym badaniu (wypełnienie ankiety, badanie jamy ustnej) w ramach badań do publikacji naukowej.

Data

Podpis.....

1. Wykształcenie

- podstawowe
- gimnazjalne
- średnie (w tym policealne)
- wyższe (w tym licencjat)

2. Od kiedy występują zmiany w jamie ustnej?

.....

3. Współistniejące zmiany: skórne / paznokciowe / inne błony śluzowe od kiedy?.....

4. Choroby ogólne:

.....
.....
.....

5. Przyjmowane leki (nazwa leku, dawka, czas stosowania)

.....
.....
.....

Informacja od lekarza ogólnego o stosowanych lekach:

.....
.....

6. Nikotynizm:

- NIE
- TAK ile sztuk dziennie?

7. Dolegliwości miejscowe:

- NIE
- TAK jakie?
- mała ilość śliny (uczucie suchości jamy ustnej)
- pieczenie błony śluzowej jamy ustnej

8. Czy ma Pan(i) problem z przyjmowaniem pokarmów w związku z występującą patologią?

- NIE
- TAK

9. Czy ma Pan(i) problem z wykonywaniem zabiegów higienicznych w jamie ustnej w związku z występującą patologią?

- NIE
- TAK

10. Czy ma Pan(i) problem z użytkowaniem protez ruchomych w związku z występującą patologią?

- NIE
- TAK

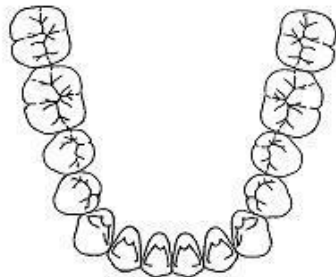
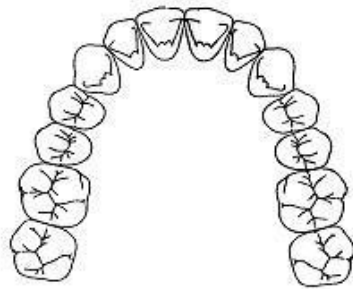
11.. Swoją higienę jamy ustnej określił/a/bym jako:

- niezadowalającą
- przeciętną
- bardzo dobrą

	7	6	5	4	3	2	1		1	2	3	4	5	6	7
API															
	7	6	5	4	3	2	1		1	2	3	4	5	6	7

12. Wypełnienia amalgamatowe

- nieobecne
- obecne



13. Uzupełnienia protetyczne

- nieobecne
- obecne
- proteza całkowita
- proteza szkieletowa
- proteza częściowa akrylowa
- most – rodzaj
- korona – rodzaj
- implant

jakość/wiek uzupełnienia

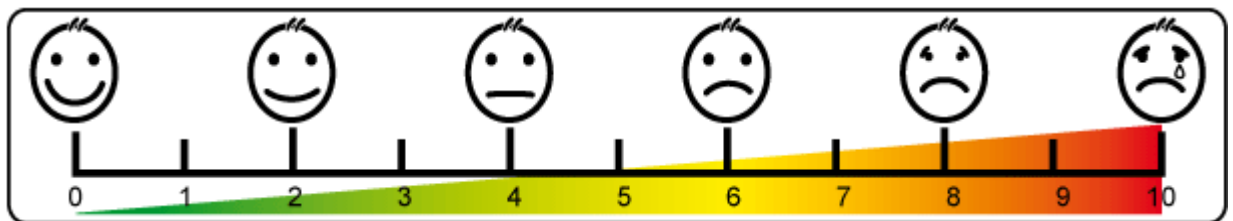
14. Wyniki badań dodatkowych:

- mykologiczne wynik:
- histopatologiczne wynik:
- próba jodowa wynik:

15. Diagnoza:

- liszaj płaski
- zmiany lichenoidalne

16. Proszę o zaznaczenie nasilenia odczuwanego w jamie ustnej bólu na poniższej skali od 0 do 10, gdzie 0 oznacza całkowity brak bólu, natomiast 10 najgorszy wyobrazalny ból.



17. Klasyfikacja wg Malhotra:

LOKALIZACJA	WYSTĘPOWANIE ZMIAN OLP (a)	Punktacja
Policzek prawy	<50%	1
Policzek prawy	>50%	2
Policzek lewy	<50%	1
Policzek lewy	>50%	2
Język - grzbietowa część	<50%	1
Język - grzbietowa część	>50%	2
Język - brzuszna część	<50%	1
Język - brzuszna część	>50%	2
Warga górna	zajęta	1
Warga górna	niezajęta	0
Warga dolna	zajęta	1
Warga dolna	niezajęta	0
Dziąsło	zajęte	1
Dziąsło	niezajęte	0
Podniebienie	zajęte	1
	niezajęte	0

Maksymalny wynik: 12

Wynik pacjenta:

Stopień (w oparciu o wynik)

Stopień 0 : 0

Stopień I : 1-3

Stopień II : 4-6

Stopień III: 7-12

Wynik pacjenta:

Zaawansowanie choroby (w oparciu o stopień):

Łagodna: asymptomatyczna / stopień I

Średnio ciężka: symptomatyczna / stopień I / stopień II

Ciężka : stopień III / postać erozyjna(każdy stopień)

Wynik pacjenta:

11.2. Zgoda komisji bioetycznej

KOMISJA BIOETYCZNA
przy
Uniwersytecie Medycznym
we Wrocławiu
ul. Pasteura 1; 50-367 WROCLAW

OPINIA KOMISJI BIOETYCZNEJ Nr KB – 803/2018

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu, powołana zarządzeniem Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu nr 133/XV R/2017 z dnia 21 grudnia 2017 r. oraz działająca w trybie przewidzianym rozporządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. (Dz.U. nr 47, poz. 480) na podstawie ustawy o zawodzie lekarza z dnia 5 grudnia 1996 r. (Dz.U. nr 28 z 1997 r. poz. 152 z późniejszymi zmianami) w składzie:

dr hab. Jacek Daroszewski, prof. nadzw. (endokrynologia, diabetologia)
prof. dr hab. Krzysztof Grabowski (chirurgia)
dr Henryk Kaczkowski (chirurgia szczękowa, chirurgia stomatologiczna)
mgr Irena Knabel-Krzyszowska (farmacja)
prof. dr hab. Jerzy Liebhart (choroby wewnętrzne, alergologia)
ks. dr hab. Piotr Mrzygłód, prof. nadzw. (duchowny)
mgr Luiza Müller (prawo)
dr hab. Sławomir Sidorowicz (psychiatria)
dr hab. Leszek Szenborn, prof. nadzw (pediatria, choroby zakaźne)
Danuta Tarkowska (pielęgniarstwo)
prof. dr hab. Anna Wiela-Hojeńska (farmakologia kliniczna)
dr hab. Andrzej Wojnar, prof. nadzw. (histopatologia, dermatologia) przedstawiciel
Dolnośląskiej Izby Lekarskiej)
dr hab. Jacek Zieliński (filozofia)

pod przewodnictwem
prof. dr hab. Jana Kornafela (ginekologia i położnictwo, onkologia)

Przestrzegając w działalności zasad Good Clinical Practice oraz zasad Deklaracji Helsińskiej,
po zapoznaniu się z projektem badawczym pt.

„Objawy kliniczne i profil proteinowy śliny u pacjentów ze zmianami liszaja płaskiego błony
śluzowej jamy ustnej w powiązaniu ze stanem ogólnym”

zgłoszonym przez **lek. dent. Paulę Duc** uczestniczkę studiów doktoranckich w Katedrze i Zakładzie Patologii Jamy Ustnej Wydziału Lekarsko Stomatologicznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz złożonymi wraz z wnioskiem dokumentami, w tajnym głosowaniu postanowiła **wyrazić zgodę** na przeprowadzenie badania w Katedrze i Zakładzie Patologii Jamy Ustnej oraz Pracowni Naukowej Badań Biologii Molekularnej Wydziału Lekarsko Stomatologicznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu pod nadzorem dr hab. Małgorzaty Radwan-Oczko, prof. nadzw. UMW **pod warunkiem zachowania anonimowości uzyskanych danych.**

Uwaga: Badanie to zostało objęte ubezpieczeniem odpowiedzialności cywilnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z tytułu prowadzonej działalności.

Pouczenie: W ciągu 14 dni od otrzymania decyzji wnioskodawcy przysługuje prawo odwołania do Komisji Odwoławczej za pośrednictwem Komisji Bioetycznej UM we Wrocławiu.

Opinia powyższa dotyczy projektu badawczego będącego podstawą rozprawy doktorskiej.

Wrocław, dnia **3** stycznia 2019 r.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KOMISJA BIOETYCZNA
przewodniczący
prof. dr hab. Jan Kornafel