

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Daria Simčić

**RAZINA SALIVARNIH CITOKINA U
BOLESNIKA S ATIPIČNIM BOLNIM
STANJIMA**

MAGISTARSKI RAD

Zagreb, prosinac 2006.

Rad je ostvaren na Katedri za bolesti usta i parodonta Studija stomatologije Medicinskog fakulteta u Rijeci i Zavodu za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci.

Voditelj rada: Prof. dr. sc. Sonja Pezelj-Ribarić
Katedra za bolesti usta i parodonta Studija stomatologije
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Lektor hrvatskog jezika: Vlasta Vlašić, prof. (adresa: Sibeliusova 4.
Zagreb, br. telefona 01 38 80 225)

Lektor engleskog jezika: Branka Korunić, prof. (adresa: Ante Topić
Mimare 48. Zagreb, br. telefona: 01 37 90 137)

Rad sadrži: 80 stranica
10 slika
3 tablice
CD

Istraživanje je provedeno u sklopu projekta koje je financiralo
Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

Projekt broj 062058: Biološki učinci stomatoloških materijala

Glavni istraživač: Prof.dr. sc. Sonja Pezelj-Ribarić

Pri izradi magistarskog rada posebnu mi je pomoć, potporu i razumijevanje pružila prof. dr. sc. Sonja Pezelj-Ribarić koja mi je nesebično pomagala u osmišljavanju i koncepciji teme i u istraživačkom pristupu problemu, te pratila izradbu rada u svim fazama. Stoga joj najsrdačnije zahvaljujem.

Prof. dr.sc. Miljenku Marušiću zahvaljujem za statističku obradu podataka i matematičku interpretaciju rezultata.

Najtoplije zahvaljujem svojim prijateljima i kolegama, posebno mr.sc Dunji Ribarić na korisnim savjetima i potpori.

Zahvaljujem obitelji na strpljenju i podršci tijekom izrade ovog rada.

S A D R Ź A J

1.UVOD	1
1.1. BOL	2
1.2. SINDROM PEČENJA USTA	3
1.2.1. Epidemiologija sindroma pečenja usta	4
1.2.2. Etiologija sindroma pečenja usta	4
1.2.2.1 Lokalni čimbenici	4
1.2.2.2. Sustavni poremećaji	6
1.2.2.3. Neurološki uzroci	8
1.2.2.4. Psihološki uzroci	9
1.2.3. Lokalizacija simptoma sindroma pečenja usta	10
1.2.4. Simptomatologija sindroma pečenja usta	10
1.2.5. Dijagnostika sindroma pečenja usta	11
1.3. SLINA KAO DIJAGNOSTIČKO SREDSTVO	13
1.4. CITOKINI	14
1.4.1. Podjela citokina	14
1.4.2. Svojstva citokina	15
1.4.3. Receptori citokina	16
1.4.4. Učinci citokina	17
1.4.5. Interleukin 2 (IL-2)	18
1.4.6. Interleukin 6 (IL-6)	20
1.5. SINDROM PEČENJA USTA I CITOKINI	22
2. SVRHA ISTRAŽIVANJA	24

3. ISPITANICI I POSTUPCI RADA	26
3.1. ISPITANICI	27
3.1.1. Ispitna skupina- bolesnici sa sindromom pečenja usta	28
3.1.2. Kontrolna skupina	29
3.2 POSTUPCI RADA	29
3.2.1. Uzimanje uzoraka sline	29
3.2.2. Određivanje koncentracije imunoloških medijatora interleukina 2 i interleukina 6	30
3.3. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	34
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	35
4.1. OPĆI PODACI	36
4.1.1. Demografski podaci	36
4.1.1.1. Skupina bolesnika sa sindromom pečenja usta.	36
4.1.1.2. Kontrolna skupina	36
4.1.2. Kliničke karakteristike bolesnika	37
4.1.2.1. Bolesnici sa sindromom pečenja usta	38
4.1.2.2. Kontrolna skupina	38
4.2. ODREĐIVANJE RAZINA SALIVARNIH CITOKINA	38
4.2.1. Određivanje koncentracije interleukina 2.....	38
4.2.2. Određivanje koncentracije interleukina 6.....	44
5. RASPRAVA	50
5.1. DEMOGRAFSKI PODACI	51
5.2. KLINIČKE KARAKTERISTIKE BOLESNIKA	52

5.3. ODREĐIVANJE SALIVARNIH CITOKINA	53
6. ZAKLJUČCI	60
7. SAŽETAK	62
8. SUMMARY	64
9. LITERATURA	66
10. ŽIVOTOPIS	79

POPIS OZNAKA I KRATICA

ACTH	adrenokortikotropni hormon (engl. Adrenocorticotropic Hormone)
AIDS	sindrom stečenog gubitka imunosti (engl. Acquired Immunodeficiency Syndrome)
CRH	hormon koji potiče otpuštanje kortikotropina (engl. Corticotropin Releasing Hormone)
CSF	čimbenik stimulacije kolonija (engl. Colony Stimulating Factor)
ELISA	enzimski imunotest (engl. Enzyme-linked immunosorbent assay)
ERT	nadomjesno liječenje estrogenom (engl. Estrogen Replacment Therapy)
GF	čimbenik rasta (engl. Growth factor)
G-CSF	čimbenik stimulacije kolonija granulocita (engl., Granulocyte Colony Stimulating Factor)
GM-CSF	čimbenik stimulacije kolonija granulocita-makrofaga (engl. Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor)
IASP	Međunarodna udruga za istraživanje boli (engl. International Association for the Study of Pain)
IFN	interferon
Ig	imunoglobulin
IL	interleukin
LAK	ubilačka stanica aktivirana aktivirana limfokinom (engl. Lymphokine-activated-killer)

M-CSF	čimbenik stimulacije kolonija makrofaga (engl. Macrophage Colony Stimulating Factor)
NK	stanice ubojice (engl. Natural Killer)
SPU	sindrom pečenja usta
TNF	čimbenik tumorske nekroze (engl. Tumor Necrosis Factor)
TMZ	temporomandibularni zglob
TMD	temporomandibularni poremećaj (engl. Temporomandibular Disorder)

1. U V O D

1.1.BOL

Prema definiciji Međunarodne udruge za proučavanje boli (International Association for the Study of Pain - IASP) bol je neugodno senzoričko ili motoričko iskustvo povezano s postojećim ili mogućim oštećenjem tkiva (1). Mnogi se ljudi međutim žale na bol kada nema oštećenja tkiva ili nekog vjerojatnog patofiziološkog uzroka. Takva bol se obično javlja zbog psiholoških razloga (2). Najčešći problemi ovog tipa su pečenje, osjet suhoće i lošeg okusa i kroničnog su karaktera (3).

Dijagnosticiranje problema boli vrlo je složeno i potrebno je isključiti širok spektar patofizioloških procesa, uključujući traumatske, infektivne, neoplastične, metaboličke, neurogene, upalne i psihijatrijske poremećaje. Zbog složene prirode problema, dijagnostički postupci u takvih bolesnika uključuju višestruke konzultacije sa specijalistima različitih medicinskih specijalnosti i interdisciplinarnu suradnju (4).

1.2. SINDROM PEČENJA USTA

Sindrom pečenja usta (u daljnjem tekstu SPU) je idiopatska ili psihogena tegoba u vidu pečenja ili boli usne šupljine u ljudi s klinički zdravom oralnom sluznicom (5). Isključeni su i drugi zdravstveni problemi, te bol dentalnog porijekla. To su i idiopatski slučajevi u kojima su glavni simptomi opisani kao pečenje, bolne ili senzacije svrbeža, smještene u oralnoj sluznici, sa ili bez zahvaćanja jezika i sa ili bez povezanih simptoma u usnoj šupljini ili drugdje u tijelu (4). Termin je uveden kao sredstvo za bolje razumijevanje i uspješnijem tretmanu pacijenata. Rabe se različiti termini za sindrom pečenja usta (6). Njih karakteriziraju pojmovi kao što su stomatodynia, stomatopyrosis, oralna disesthesia.

Stomatodynia podrazumijeva bol u usnoj šupljini. Simptomi stomatodynije zahvaćaju cijelu usnu šupljinu ili više pojedinačnih dijelova sluznice usta. Stomatopyrosis je termin koji označava pečenje u usnoj šupljini. Javlja se u raznim područjima oralne sluznice.

Oralna disesthesia je pojam koji opisuje nelagodu koja se javlja u usnoj šupljini. To može biti osjećaj gorčine, kiselosti, metalnog okusa i drugo. Ti se simptomi mogu svrstati u poremećaje okusne osjetljivosti koji prate sindrom pečenja usta.

U literaturi se rabi velik broj naziva koji otežavaju istraživanje bolesti. Stoga je preporučen jedinstveni pojam odnosno SPU (3).

1.2.1 Epidemiologija sindroma pečenja usta

SPU se tipično javlja kod žena srednje dobi s rasponom od 38 do 78 godina starosti (7). Pojava simptoma prije 30. godine je rijetka (8). Odnos žene muškarci je 7:1 (9). Studije prevalencija bolesti u populaciji se razlikuju i variraju od 0.7 do 4.6 %. U svojoj ranoj studiji Lipton izvještava brojku od 1.3 milijuna Amerikanaca zahvaćenih ili potencijalno zahvaćenih sa SPU (10).

1.2.2. Etiologija sindroma pečenja usta

Pri određivanju uzroka SPU-a treba uzeti u obzir mnoštvo različitih čimbenika kao i mogućnost preklapanja dva ili više moguća uzroka. Za razumijevanje složene višezročne etiologije uzroci bolesti se svrstavaju u četiri glavne etiološke kategorije: lokalni uzroci, sistemski poremećaji, neurološki poremećaji, psihogeni poremećaji (6, 11, 12).

1.2.2.1 Lokalni čimbenici

Lokalni čimbenici podrazumijevaju nesanimirane ili neadekvatno sanirane zube, oralne lezije kao što su gingivitis, parodontitis, erozivne i ulcerativne promjene u usnoj šupljini (13), protetske nadomjestke, alergijske reakcije na materijale stomatoloških nadomjestaka (14, 15), infekcije usne šupljine (16, 17), oralni

galvanizam (15), parafunkcijske kretnje, kserostomija, konzumacija začinjene hrane koja djeluje iritirajuće (18).

Povezanost infekcija gljivama iz roda *Candida* i SPU je neupitna (16, 17). Infekcije usne šupljine *Candidom albicans* čine značajan etiološki čimbenik u simptomatologiji SPU. Međutim, gljivica iz roda *Candida* je strogo oportunistički patogen, te uzrokuje bolest samo kada su procesi domaćina oštećeni, pa se može zaključiti da SPU pogoduje razvoju oralne kandidijaze, a ne obrnuto.

Promjene okusa i/ili senzorne disfunkcije primjećene su kod osoba koje pate od SPU (19). Te promjene zajedno s oralnim pečenjem mogu nastati na isti način kao neka neurološka upalna stanja (neuritisi) ili regionalne traume živca (neuromi). Kod nekih pacijenata sa SPU primjećen je nedostatak inhibitornih interakcija između područja centralne projekcije okusnih živaca (n. chorda tympani i n. glossopharyngeus) (20, 21).

Prevalencija osoba s povećanom sposobnosti otkrivanja okusa tzv. supertasteri je povećana među pacijentima s SPU (22). Kod "supertastera" je primjećena povećana gustoća okusnih pupoljaka, a svaki pojedini pupoljak okružen je neuronima za prenos bola trigeminalnog živca. Žene su češće "supertasteri" nego muškarci, što odgovara predilekciji razvoja SPU kod žena (23).

Parafunkcijske aktivnosti (bruksizam, stiskanje zubi, grickanje, guranje i tiskanje jezika) primjećene su kod pacijenata s SPU (14). Znatno su povezane s anksioznošću, te mogu biti potpomognute raznim vanjskim utjecajima kao što su proživljeni stresni događaji, alkoholizam, karakteristike osobnosti, te psihološkim ili

neurološkim poremećajima (24). Nepodesne navike povezane su i s okluzalnom disfunkcijom (16). Parafunkcija može biti rezultat interakcije limbičkog sustava i motornog sustava s tim da može biti uključen i dopaminergični sustav. Moguće je da su parafunkcijske navike rezultat neuropatoloških promjena, koje vode pojavi SPU (25).

Disfunkciju žlijezda slinovnica prati smanjenje lučenja sline. Smanjeno izlučivanje sline nastalo zbog radiološke terapije glave i vrata, sistemskih bolesti ili kserogenih farmakoloških tvari (26) može povećati incidenciju SPU (27). SPU može nastati radi smanjenog volumena sline (28) ili smanjenja salivarnih sastojaka potrebnih za podmazivanje i zaštitu oralne sluznice (27).

1.2.2.2. Sustavni poremećaji

Sa SPU se povezuju razni sustavni čimbenici. Među značajnija predisponirajuća stanja za SPU su promjene pri menopauzi, dijabetes i nutritivne deficijencije te u novije vrijeme cervikobrahijalni sindrom.

Prema studijama (13, 29) gotovo 90% žena koje se javljaju liječniku zbog SPU su žene u peri-/post-menopauzi. Pojavu boli izvještavaju 3 godine prije i 12 godina poslije menopauze (30). Zaključuje se da se SPU pojavljuje zbog hormonalnih promjena, iako terapija estrogenom u dosta slučajeva nije dovela do olakšanja simptoma (7,31).

Različit odgovor na ERT (estrogen replacement therapy) može se objasniti prisustvom/odsustvom estrogenskih receptora u oralnoj sluznici ili mogućom aktivacijom revezibilnih ili irteverzibilnih neuropatskih mehanizama (27).

Zabilježena je povezanost između nutritivskih deficijencija i SPU. Pacijenti sa SPU mogu imati snižene vrijednosti vitamina B1, B2 (28) i B6 (29) te folne kiseline i željeza (13), ali povećanje B12 (29) u serumu (32). Lamey ukazuje na moguću ulogu anemija raznih tipova u patogenezi SPU (30). Terapija vitaminima B kompleksa često je neučinkovita (28, 30).

Lamey (30) sugerira ulogu diabetes melitusa u razvoju SPU kao i vezu između liječenja diabetesa inzulinom i SPU. Međutim Lamey i Lamb negiraju te povezanosti (31). Pritužbe na pečenje usta kod pacijenata koji boluju od diabetes melitusa mogu uzrokovati oralne infekcije, najčešće kandidijazu (17). Također, kod diabetičke neuropatije nastaju degenerativne promjene perifernih živaca i promjene percepcije vanjskih impulsa (33).

Cervikobrahijalni sindrom je stanje artroze cervikalnog dijela kralježnice, koje vodi prema iritaciji stražnjeg vratnog simpatikusa, što dalje može dovesti do smanjene cirkulacije u vertebro-bazilarnom slivu, te uzrokovati tinitus, bol u vratu i glavi. Ta patološka oštećenja vratne kralježnice, njenih živčanih i krvožilnih struktura mogu se dalje prenositi preko ogranaka gornjeg vratnog ganglija i sistema kranijalnih živaca (posebno n. hypoglossus, n. glossopharyngeus n. vagus) te uzrokovati glosalgiju (neuralgiju i parodontopatiju) (34, 35).

Studija Krampa i suradnika objašnjava gastrointestinalne, imunološke i dermatovenerološke uzroke SPU (35).

1.2.2.3. Neurološki uzroci

Istraživanja vršena zadnjih 10- tak godina pokazuju da postoji poremećaj autonomne inervacije usne šupljine kod pacijenata sa SPU. Pokazano je da postoji promjena u doživljaju jačine boli i poremećaj percepcije non nociceptivnih i nociceptivnih stimula, pojačana osjetljivost trigeminalnog živca i alteracija neuralne transmisije (36), poremećaj neurovaskularnog mikrocirkulatornog sistema (37). Ovi nalazi potvrđuju perifernu alteraciju funkcije senzornog trigeminalnog živčanog sistema kod bolesnika sa SPU.

Autori Jaaskelainen i sur. u svom istraživanju potvrđuje hipotezu nastanka SPU, kao posljedicu utjecaja smanjene dopaminergične inhibicije kod SPU, te zaključuju da je SPU poremećaj nigrostrijatalnog dopaminergičnog sistema, što primarno utječe na regulaciju nocicepcije trigeminalnog sistema i tako uzrokuje gubitak senzorne inhibicije (38).

Studija Forssell i sur. procjenjuje periferne i centralne živčane puteve trigeminalnog živca, metodama kvalitativnih senzoričkih testiranja i snimanjem "blink"refleksa (refleks moždanog debla pod inhibicijskom kontrolom dopaminergičnog sustava). Rezultati te studije pokazuju da je kod SPU prisutna subklinička trigeminalna neuropatija i povećanje ekscitabilnosti trigeminalnog sistema (39).

1.2.2.4. Psihološki uzroci

Brojne studije su pokazale povezanost psiholoških stanja i SPU (29, 40, 41, 42, 43). Postoje zaključci koji ukazuju na SPU kao psihološki poremećaj. Između potvrđenih psihijatrijskih dijagnoza kod SPU najučestalija je depresija. Depresiju slijedi anksioznost (44).

Al Quran proučava faktore osobnosti kod bolesnika sa SPU u odnosu na kontrolnu skupinu. Otkriva visoko značajne razlike neuroza, anksioznosti, depresije, impulzivnosti, ranjivosti, kao i značajne razlike otvorenosti i samosvjesnosti kod bolesnika sa SPU u odnosu na kontrolnu skupinu (45).

Prisutna je velika kontroverznost u stavovima jesu li psihogeni poremećaji primarne ili sekundarne pojave oralne boli (46).

Rojo i sur. pronalaze nisku prevalenciju psihopatoloških promjena u bolesnika sa SPU. Međutim isti autori tvrde da bolesnici sa SPU pokazuju simptome opsesivnog ponašanja nego kontrolna skupina. SPU povezuju s hipohondrijskom reakcijom. Autori nisu pronašli niti jedan psihopatološki fenomen koji je zajednički svim oboljelima od SPU (47).

Razmotrimo li ovakve spoznaje ne možemo sa sigurnošću utvrditi da li psihološka promjena uzrokuje SPU ili je ona posljedica pečenja usta. Osobe koje su ranije doživjele stresno iskustvo mogu kasnije u životu biti osjetljivije za razvoj SPU (45, 48).

1.2.3. Lokalizacija simptoma sindroma pečenja usta

Lokacija bola sindroma pečenja usta nije patognomonična. Pacijenti se mogu žaliti na bolne osjete pečenja u raznim regijama usne šupljine (8). Oralna bol može biti jednostrana, obostrana, može biti zahvaćeno više mjesta. Predilekcijsko mjesto boli je jezik, posebno prednje dvije trećine, donja usna i tvrdo nepce. Gornja usna i mandibulo-alveolarna regija može također biti zahvaćena. Rjeđe se bol pojavljuje na obraznoj sluznici i dnu usne šupljine. Ove nalaze potvrđuju većina autora (8, 10, 13, 49).

Pacijenti mogu patiti i od glavobolja i boli temporomandibularnog zgloba, kao i boli mastikatornih mišića, mišića vrata i ramena i suprahoidnih mišića (13).

1.2.4. Simptomatologija sindroma pečenja usta

Pojam SPU klinički opisuje mnoštvo kroničnih oralnih simptoma kojima se obično intenzitet pojačava pri kraju dana (50).

Simptomi SPU su produženi osjet pečenja i žarenja, kao i tupi ili probadajuća bol (8, 30). Uz bol značajno je i prisustvo promjene okusa kod bolesnika, te pojava suhih usta. (49, 50).

Bol je spontana, bez predvidljivih precipitirajućih faktora (7). Autor van der Waal izvještava da bol može trajati 12 godina i više (51).

Lamey i Lewis klasificiraju SPU pacijente u tri tipa:

Tip 1 karakteriziran je jutarnjim buđenjem bez simptoma, pečenje se počinje razvijati u jutarnjim satima, pojačava se tijekom dana i dostiže vrhunac navečer.

Tip 2 je određen kontinuiranim pečenjem koje se javlja nakon buđenja i traje cijeli dan. Kod ove podgrupe pacijenata primjećene su promjene u ponašanju, prehrani, te smanjenje socijalnih kontakata. Značajan je nalaz hipofunkcije žlijezde slinovnice koji se povezuje s korištenjem antidepresiva.

Tip 3 se manifestira isprekidanim pojavljivanjem pečenja. Učestalost anksioznosti i alergija osobito na hranu i njene aditive zabilježena je kod ovih pacijenata (48).

Kod 70% pacijenata primjećen je poremećaj osjeta okusa. Pacijenti imaju gorak okus ili okus metala u ustima. Primjećena je povećana osjetljivost za slatko i kiselo. Poremećaji osjeta okusa mogu biti znak poremećaja senzorne funkcije (49, 52). Kserostomiju izvještava 46-67% pacijenata sa SPU premda objektivni nalazi ne pokazuju simptome disfunkcije salivarnih žlijezda. Osjet suhih usta kod ovih pacijenata se povezuje s nalazom depresije ili nuspojavom kod upotrebe raznih kserostomnih lijekova (52, 53).

1.2.5. Dijagnostika SPU

SPU proizlazi iz jednog ili više uzroka, pa je tako dijagnostika vrlo kompleksna (54).

Detaljna klinička anamneza povezana s pažljivim pregledom oralne sluznice ponekad može biti dovoljna za postavljanje početne dijagnoze SPU.

Pri daljnjem istraživanju bolesti treba uzeti u obzir činjenice da se SPU definira po simptomima bez obzira na etiologiju, da se simptomatski trijas rijetko istovremeno pojavljuje kod jednog pacijenta, te da može postojati preklapajući stomatitis koji može unijeti dodatnu zbrku pri postavljanju dijagnoze (10, 48).

Kliničar treba usporediti specifične detalje glavnih simptoma s kliničkim oralnim nalazom, te uzeti u obzir psihološko i sustavna stanja s kojima je zabilježena pojava SPU.

Oralna testiranja uključuju inspekciju usne šupljine; palpaciju oralnih struktura, regionalnih limfnih čvorova, čeljusnog zgloba; mjerenje količine salivacije nestimulirane i stimulirane sline; bris oralne sluznice na kandidu; mjerenje elektrogalvanskih potencijala usne šupljine (55, 56).

Laboratorijska testiranja uključuju: kompletnu krvnu sliku, sedimentaciju eritrocita, diferencijalnu krvnu sliku, serumsko željezo, feritin i transferin, glukozu u krvi, jetrene probe, hormone štitnjače. Ponekad je potrebno učiniti i alergološko testiranje (56).

Zbog toga što je bol osim objektivnog i subjektivno iskustvo, nužno je u što većoj mogućoj mjeri bol objektivizirati. Pacijenti bol i pečenje doživljavaju različito, od mogućnosti podnošenja do potpune nesnošljivosti (57).

Po potrebi, pacijenta je poželjno uputiti na konzultacije kod liječnika drugih medicinskih specijalnosti, kako bi se dobila pomoć pri otkrivanju hormonalnih, neuroloških, cirkulatornih uzročnih faktora (7).

Potrebna je psihološka procjena pacijenta (3, 56).

1.3. SLINA KAO DIJAGNOSTIČKO SREDSTVO

Tehnološkim napretkom, posljednjih 15. godina učinjen je znatan napredak u korištenju sline za dijagnostičke svrhe. S mogućnosti mjerenja i praćenja molekularnih komponenata u slini, te usporedbom s komponentama seruma postalo je moguće proučavati mikroorganizme, kemijske i imunološke markere (58). Kao posljedica napretka tehnologije, slina, osim indikatora oralnog zdravlja, postaje moćno sredstvo pomoću kojega se mjere osnovne postavke ukupnog zdravlja čovjeka. Interes istraživanja sline za korištenje u dijagnostičke svrhe time raste. Analiza sline, jednako kao i analiza krvi, ima dva cilja: prvi, otkriti pojedinca koji pati od neke bolesti, i drugi, pratiti razvoj događanja te napredak tijekom tretmana. Prednosti sline kao dijagnostičkog medija u odnosu na krv su jednostavna i neinvazivna metoda dobivanja uzorka (bez ikakvih štetnih i stresnih posljedica) lako prihvatljiva pacijentu, njena ekonomičnost korištenja, te mogućnost korištenja u istraživačke svrhe. Jedna od najvažnijih prednosti korištenja sline u dijagnostičke svrhe je jednostavna, neinvazivna priroda postupka sakupljanja sline (59).

Slina je medij u kojem su raspršene tvari koje prenose podražaje oralnoj sluznici. Promjena koncentracije tvari u slini može utjecati na primanje i prenošenje podražaja i promijeniti percepciju oralne sluznice kod pacijenata sa SPU. Smanjeni salivni protok također može negativno djelovati na podražaje u usnoj šupljini.

U literaturi je smanjenje salivarnog protoka čest zajednički nalaz kod bolesnika koji pate od SPU, dok se kod te bolesti mišljenja o promjenama sastava sline razilaze (26, 56).

1.4. CITOKINI

Termin citokin danas se koristi kao generično ime grupe solubilnih proteina i peptida. U nano i piko molarnim koncentracijama djeluju kao regulatori imunološkog odgovora, te pod normalnim ili patološkim okolnostima moduliraju funkcionalnu aktivnost pojedine stanice i tkiva. Oni također direktno sudjeluju u interakciji između stanica i reguliraju procese u izvanstaničnom području (60).

Posljednjih 20 godina otkrićem i proučavanjem citokina uvelike su se promjenile spoznaje o funkcijama ovih molekula. Citokini su unutarstanični medijatori koje izlučuju različite hematopoetske strukturne stanice. Poznato je da djelovanjem na ciljne stanice sudjeluju u različitim funkcijama: regulaciji imunološke obrane, imunološkog odgovora, staničnog rasta i diferencijacije i tkivne remodelacije (60, 61, 62).

1.4.1. Podjela citokina

U najužem smislu citokini uključuju interleukine (IL), interferone (IFN), čimbenike stimulacije kolonija (CSF -Colony Stimulating Factor) i čimbenike rasta (GF- Growth Factor).

Interleukini su prvobitno dobili ime po tome što je smatrano da ih izlučuju leukociti, te da djeluju na leukocite. Danas se zna da ih izlučuju i nehematopoetske stanice te da imaju učinak na različite somatske stanice (60).

Za interferone se prvobitno smatralo da su uključeni u antivirusno djelovanje. Bacala i sur. dokazuju da interferoni posjeduju i antiproliferacijsko djelovanje normalnih i malignih stanica, te da moduliraju specifične i nespecifične imunološke reakcije (63). Tri su strukturno različita intrferona: α -molekula, β -molekula, te γ -molekula. Izvorni antiviralni protein je IFN – γ kojeg izlučuju različite virusom inficirane stanice i normalni T-limfociti. IFN α i β izlučuju različite stanice, osobito makrofagi i B-limfociti.

Čimbenici stimulacije kolonija (CSF) podržavaju rast stanica. Prema opisu Vainstein i sur. reguliraju proliferaciju i diferencijaciju hematopoetskih stanica, te pomažu pri sazrijevanju (64). Tri različita proteina ove grupe su izolirana i okarakterizirana kao citokini: 1. čimbenik stimulacije kolonija granulocita-makrofaga (GM-CSF -Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor), 2. čimbenik stimulacije kolonija granulocita (G-CSF -Granulocyte Colony Stimulating Factor) i 3. čimbenik stimulacije kolonija makrofaga (M-CSF -Macrophage Colony Stimulating Factor).

Čimbenici rasta su proteini koji reguliraju rast i diferencijaciju nehematopoetskih stanica (60).

1.4.2. Svojstva citokina

Citokine u organizmu izlučuju mnogobrojne stanice, a najviše imunološke i upalne stanice. Djelovanje im je autokrino (stanica luči citokin koji se vezuje na

vlastiti receptor stanice koja ga je stvorila), parakrino (izlučeni citokin utječe na rast i funkcionalnu aktivnost susjedne stanice), endokrino (citokin se izlučuje u cirkulaciju i djeluje na udaljene stanice) . Citokini su učinkoviti u vrlo malim koncentracijama budući da učinak ostvaruju vežući se na površinske stanične receptore koji su jako osjetljivi na citokine (60).

1.4.3. Receptori citokina

Biološka aktivnost citokina posredovana je specifičnim membranskim receptorima.

Autori Soede-Bobok i sur. izvještavaju da stanica već može posjedovati receptor. On se može izraziti tek nakon podražaja, ili će se pojaviti spontano tijekom staničnog ciklusa. Receptori su strukture sačinjene od dva polipeptidna lanca-podjedinice. Jedan lanac je specifičan i za njega se vezuje citokin, a drugi je nespecifičan, te vrši funkciju prenosnika signala u stanicu. Ekspresiju receptora može potaknuti hormon, antigen (limfociti), mitogen ili neki drugi citokin (65).

Paul i sur. (66) u svojoj studiji ukazuju da raspored i građa receptora za citokine objašnjava njihova svojstva pleotropizam i redundanciju. Pleotropizam je pojava gdje jedan te isti citokin djeluje na više vrsta stanica i ima više različitih učinaka. Također citokini imaju preklapajuće aktivnosti što se naziva redundancija (66).

1.4.4. Učinci citokina

Citokin može potaknuti ili zaustaviti djelovanje drugog čimbenika.

Pod nekim okolnostima pojedini citokin može potaknuti obratnu akciju, od akcije koja se dešava pod drugim okolnostima. Na tip, trajanje, i količinu staničnih aktivnosti, koje potiču pojedini citokin utječe mikrookoliš stanice. To ovisi o statusu rasta stanice, tipu susjednih stanica, koncentraciji citokina koji su prisutni u isto vrijeme, čak i o trenutnoj sekvenci različitih citokina, koji djeluju u isto vrijeme. Pod tim okolnostima kombinatorni efekti omogućavaju pojedinom citokinu da prenosi različite signale različitim skupovima stanica.

In vivo, niti jedan citokin ne djeluje sam, nego je u interakciji s ostalima.

Ward i sur. opisuju međusobne interakcije citokina i akcije s različitim čimbenicima u cilju regulacije genske ekspresije (67).

Kaskadna reakcija predstavlja akciju gdje jedan citokin potiče produkciju drugog. Ovdje može doći i do lučenja inhibitora koji će se kompetitivno vezati za receptor bez izazivanja biološkog učinka, ili može blokirati djelovanje citokina u serumu. Na taj se način stvara složena citokinska mreža.

Citokini su uključeni u gotovo sve opće sistemske reakcije organizma, uključujući važne procese regulacije imunološkog odgovora, upalne procese, hematopoezu i čudna izlječenja (68, 69). Ribatti i sur. opisuju citokine kao važne posrednike uključene u embriogenezu i razvoj organa, naročito angiogenezu (70). Martin i sur. izvještavaju da se aktivnosti citokina u prenatalnom periodu mogu

razlikovati od postnatalnih (71). Citokini su važni pozitivni ili negativni regulatori mitozu, diferencijacije, migracije, staničnog opstanka, stanične smrti i transformacije.

1.4.5. Interleukin 2 (IL-2)

Interleukin 2 (IL-2) je snažan imunoregulatorni interleukin (50).

Genski lokus za humani IL-2 je lokaliziran na kromosomu 4q27. IL-2 je protein kojeg čine 133 amino kiseline mase 15.4 k Da. Ne pokazuje homolognost sekvenci s drugim faktorima.

Stvaraju ga T stanice aktivirane antigenom ili mitogenom. IL-2 stvaraju i transformirane T stanice i B stanice, stanice leukemije, NK (natural killer) stanice. Za maksimalnu ekspresiju IL-2 potrebni su i različiti sekundarni signali (72, 73). Stanice u mirovanju ne stvaraju IL-2. In vitro sinteza IL-2 je inhibirana deksametazonom. Williams et al. navode da se starenjem smanjuje sinteza IL-2 stimulirana antigenom i mitogenom, pa imunološki odgovor posredovan T stanicama pada. Vitamin E može potaknuti produkciju IL-2 (72).

Smith, 1988. (74) u svojoj ranoj studiji opisuje višestruke funkcije ovog interleukina. IL-2 je faktor rasta za sve subpopulacije T-limfocita. On je antigen nespecifični faktor proliferacije T stanica. Potiče napredak staničnog ciklusa stanica u mirovanju, te tako omogućava ekspanziju aktiviranih T limfocita. Može stimulirati B-stanice, monocite, limfokine, aktivirane stanice ubojice, prirodno ubilačke (NK) stanice i "glioma" stanice. IL-2 potiče proliferaciju aktiviranih B limfocita zajedno s dodatnim faktorima npr. IL- 4. Zbog efekata na T i B limfocite centralni je regulator imunološkog odgovora. Stimulira sintezu IFN γ u perifernim leukocitima, potiče

sekreciju IL-1, TNF α i TNF β . Ima ulogu u protuupalnim reakcijama, hematopezi, i nadgledanju tumora (74).

Antitumorska aktivnost IL-2 očituje se u funkciji indukcije sekrecije tumoricidnih citokina (Smith, 1988., 74).

Setoguchi i sur. opisuju da poništavanjem djelovanja IL-2, limfociti T koji su zaduženi za reakcije s antigenom pokazuju smanjenu proliferaciju. Tako se nastoji dokazati autoimuna aktivnost IL-2 (75).

Huland iznosi hipotezu po kojoj bi određeni oblik IL-2 mogao sudjelovati u mehanizmu koji bi omogućio rast živca u stanjima kad oligodendrociti inhibiraju regeneraciju neurona. Vrše se istraživanja u tom smjeru (76).

IL-2 stimulira lučenje IL-1, IL-6, TNF α , TNF β , IFN γ , i aktivira makrofage pospešujući njihovo mikrobicidno i citotoksično djelovanje, pa se u povećanim razinama sreće kod upala (76).

IL-2 pokazuje znatnu funkcionalnu aktivnost na razne vrste tumorskih stanica, podržavajući proliferaciju i klonalnu ekspanziju T-stanica. U studiji Williams et al. navodi se upotreba IL-2 u terapiji metastaza renalnog karcinoma, karcinoma grudi, karcinoma ovarija, melanoma, karcinoma želuca (72).

Poremećena ekspresija IL-2, ili IL-2 receptora primjećena je kod reumatoidnog artritisa, sistemskog lupusa eritematosusa, AIDS, multiple skleroze, sindroma imunodeficijencije, bolesti Graft-versus-Host.

1.4.6. Interleukin 6 (IL-6)

Interleukin 6 (IL-6) je multi funkcionalni citokin koji regulira imunološki odgovor, reakcije akutne faze, hematopoezu i može igrati centralnu ulogu u obrambenom mehanizmu domaćina (60). Gen za humani IL-6 je lokaliziran na kromosomu 7p21. Određena je genomična sekvenca. Genski produkt IL-6 je lanac proteina (jedan) mase od 21 do 28 kDa što ovisi o staničnom izvoru (77).

IL-6 normalne stanice obično ne stvaraju konstantno, ali njegovu ekspresiju spremno inducira mnoštvo citokina, lipopolisaharida, te viralne infekcije. IL-6 je pleotrpni citokin kojeg stvara mnoštvo stanica, najviše makrofagi (61). On djeluje na širokom stupnju, mnoštvu tkiva čineći indukciju rasta, inhibiciju rasta i diferencijaciju ovisno o prirodi ciljne stanice (78).

U studiji Hirano i sur. opisuju se svojstva IL-6. On je uključen u indukciju diferencijacije B-limfocita; indukciju proteina akutne faze u stanicama jetre; promociju rasta stanica mijeloma /plazmocitoma/ hibridoma; proliferaciju i diferencijaciju T-limfocita; inhibiciju staničnog rasta pojedinih stanica mijeloične leukemije i indukciju njihove diferencijacije u makrofage; povećanje IL-3 inducirane kolonije stanične multipotencijske formacije u hematopoetskih stanica i indukciju sazrijevanja megakariocita kao trombopoeskog faktora; indukciju diferencijacije neuralnih stanica; indukciju rasta kreatinocita (79).

Abnormalna produkcija IL-6 se ranije povezivala s aktivacijom poliklonskih B-stanica s produkcijom autoantitijela kod pacijenata sa srčanim miksomom. Od tada je otkriveno da je IL-6 uključen u patogenezu mnogih bolesti.

Mjerenje nivoa IL-6 u serumu i ostalim tjelesnim tekućinama omogućuje spoznavanje mnogih različitih patoloških stanja. (60, 77, 79).

IL-6 je uključen u indukciju proteina akutne faze kod vrućice. Povećana razina IL-6 u serumu nađena je također kod pacijenata s opeklinama, u serumu i plazmi kao markeri za predviđanje postoperativnih komplikacija, u serumu i urinu primaoca bubrežnih transplantata prije odbacivanja, u serumu pri septičkom šoku, kod pacijenata s inflamatornim i traumatskim artritismom (80, 81).

Tjelesne tekućine pacijenata s bakterijskim i virusnim infekcijama kao i serum pacijenata s gram negativnom ili pozitivnom bakterijemijom sadrži povećanu razinu biološki aktivnog IL-6 (81).

Povećana razina cirkulirajućeg IL-6 otkrivena je kod pacijenata s srčanim miksomom, Kastelmanovom bolesti, reumatoidnim artritismom, IgM gamopatijom, AIDS, kao i kod onih s alkoholnom jetrenom cirozom. Kod pacijenata s psorijazom i mesengial proliferativnim glomerulonefritismom zamjećena je povećana razina IL-6 u plazmi. Povećana razina sistemskog IL-6 otkrivena je kod pacijenata s multiplim mijelomom, drugim diskrazijama B-st., limfoma, Kastelmanove bolesti, karcinoma bubrežnih stanica (60, 62).

1.5. SINDROM PEČENJA USTA I CITOKINI

Usprkos tome što postoje brojne studije koje se bave problematikom etiologije atipičnih bolnih stanja, jasni uzročni čimbenik ili mehanizam tog bolnog stanja nije razjašnjen. Stalno se razmatraju mogući lokalni (13- 27) , sustavni (13, 17, 27, 28, 29, 30 31, 32, 33, 34, 35) neurološki (36, 37, 38, 39) i psihogeni uzroci (29, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48).

Zbog toga što se imunološki sustav uglavnom sagledava kao samostalna struktura u stanju kronične boli njegova uloga ne dobiva potrebnu pažnju. Ustanovljeno je da imunokompetentne stanice izlučuju tvari, uključujući hormone, koje ne samo da utječu na funkcije u području oko stanica, nego također, imaju učinke na centralne i periferne ciljeve (82). Supstance otpuštene iz imunokompetentnih stanica direktno ili indirektno (via de novo) sintezom u CNS utječu na centralne mreže neurona zadužene za kontrolu neuroendokrinih i autonomnih funkcija (83).

Citokini su molekule koje nadziru gotovo sve reakcije specifične i nespecifične imunosti. Sastavni su dio složenog sustava komuniciranja među imunokompetentnim stanicama. Veliku skupinu citokina čine interleukini. Osnovne funkcije interleukina, između ostalih su regulacija rasta i sazrijevanje imunokompetentnih stanica (60). Kako IL-2 kao imunoregulatorni citokin te IL-6 proupalni citokin pokazuju sinergizam djelovanja pri upalnim reakcijama prisustvo i nalaz povećane razine ovih citokina moglo bi pomoći pri razrješavanju nepoznatog uzroka atipičnog bolnog stanja SPU. Povećane razine IL-2 i IL-6 mogu ukazivati na razinu upalne reakcije (84).

Nalaz autora Xia i sur. potvrđuje prisustvo interleukina IL-2 i IL-6 u serumu bolesnika sa SPU (85).

Streckfuss i sur. u slini dokazuju prisustvo IL-2 i IL-6 kod bolesnika koji pate od primarnog i sekundarnog Sjögrenova sindroma (84).

Određivanjem razine pojedinih citokina u slini pokušalo se doći do mogućeg etiološkog uzročnika SPU, te na taj način iskoristiti ranije navedene potencijale sline.

2. SVRHA ISTRAŽIVANJA

Problemi s kojima se susrećemo u svakodnevnoj kliničkoj praksi često su vezani za atipična bolna stanja poput sindroma pečenja usta. S obzirom na sve veće mogućnosti korištenja sline kao dijagnostičkog sredstva zbog dostupnosti i neinvazivnosti same pretrage, svrha ovog rada bila bi:

1. dokazati prisustvo citokina IL-2 i IL-6 u slini
2. odrediti razinu citokina IL-2 u slini bolesnika sa SPU-om i grupi zdravih ispitanika
3. odrediti razinu citokina IL-6 u slini bolesnika sa SPU-om i grupi zdravih ispitanika

3. ISPITANICI I POSTUPCI RADA

3.1. ISPITANICI

U ovoj studiji sudjelovalo je 60 ispitanika. Ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine. Ispitivanu skupinu sačinjavalo je 30 bolesnika sa sindromom pečenja usta (SPU), a 30 zdravih ispitanika koji nisu imali SPU tvorili su kontrolnu skupinu.

Prva skupina je ispitna skupina. Sačinjavalo ju je 28 žena i 2 muškarca. Prosječna dob ispitanika bila je od 55-65 godina starosti (tablica 1.). Svim ispitanicima je klinički dijagnosticiran SPU. Svi bolesnici liječeni su na Stomatološkoj poliklinici Medicinskog fakulteta u Rijeci u Ambulanti za bolesti usta.

Druga skupina je kontrolna skupina. Sačinjavalo ju je 24 žene i 6 muškaraca, a prosječna dob bila je također od 55-65 godina (tablica 1.). Uvjet koji je svaki ispitanik ove skupine trebao zadovoljiti bio je da nema nikakvih lokalnih tegoba ni osjećaja pečenja. Kontrolna skupina upućena je iz Ambulante za stomatološku protetiku Stomatološke poliklinike Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci.

Svi ispitanici prije početka ispitivanja bili su upoznati sa svrhom ispitivanja, te su potpisivanjem Informiranog pristanka odobrili svoje sudjelovanje.

Tablica 1. Dob i spol ispitanika za određivanje razine IL-2 i IL-6

	SPU grupa	Kontrola
Ukupni broj ispitanika	30	30
M/Ž	2/28	6/24
Godine starosti \pm SD	61.23 \pm 3.15	58.4 \pm 2.75
(raspon)	(55 – 65)	(55 – 65)

3.2.1. Ispitna skupina - Bolesnici sa sindromom pečenja usta

SPU je dijagnosticiran osobama s klinički urednom oralnom sluznicom i simptomom osjećaja spontanog pečenja na oralnoj sluznici.

Kriteriji za postavljanje dijagnoze SPU-a bili su idiopatska pekuća bol, normalna sluznica bez vidljivih promjena, nepostojanje mogućih iritirajućih djelova na zubima ili na nadomjescima, nepostojanje neodgovarajućih proteza.

Svim ispitanicima učinjen je klinički pregled koji je obuhvaćao inspekciju oralnih sluznica i bilježenje prisustva mobilnih zubnih nadomjestaka.

Kod svih ispitanika provedena je mikrobiološka obrada u svrhu isključenja dijagnoze oralne kandidijaze.

Anamnestički su popisane sistemske bolesti, trenutna medikacija i pušačke navike. Zabilježene su kardiovaskularne bolesti, neurološki, endokrinološki, psihogeni i lokomotorni poremećaji.

Regije na kojima je prisutan osjećaj pečenja posebno su označene.

3.2.2. Kontrolna skupina

Ispitanici kontrolne skupine su bez prisustva simptoma pečenja, te kliničkim pregledom nisu nađene patološke promjene oralne sluznice. Svakom ispitaniku zabilježene su sistemske bolesti, terapija i pušačke navike. Ispitanici ove skupine izabrani su na način da po dobi i spolu odgovaraju ispitnoj skupini.

3.2 POSTUPCI RADA

3.2.1. Uzimanje uzoraka sline

Sakupljani su uzorci nestimulirane sline kod obje skupine ispitanika. Uzorci sline uzimali su se uvijek u vremenskom periodu između 10 sati ujutro i 13 sati poslije podne. Ispitanici su sakupljenu slinu izbacivali u sterilnu, mjernu epruvetu tijekom 5 minuta. Nakon toga uzorci su do provođenja analize bili pohranjeni na temperaturi od -20°C . Prije početka istraživanja smrznuti uzorci otopljeni su kroz 30 minuta. Za sve uzorke u ovoj studiji usvojen je i primjenjivan jednak eksperimentalni postupak. Na taj način smanjena je opasnost gubitka pojedinih proteina u ciklusu smrzavanja i odmrzavanja.

3.2.2. Određivanje koncentracije imunoloških medijatora IL-2 i IL-6

Koncentracija citokina IL-2 i IL-6 u slini određivale su se metodom ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). ELISA test za određivanje citokina IL-2 i IL-6 u slini obavljen je na Zavodu za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci. Pri tome su rabljeni standardizirani kitovi (Immuno-Biological Laboratories, Hamburg: IL-6 kit, Cat.No: BE 530 61 i IL-2 kit Cat. No: BE 530 21). Specifična monoklonska antitijela visokog afiniteta u kombinaciji s biotin-avidin amplifikacijskim sistemom osiguravaju visoku osjetljivost testa, pa je moguće određivanje vrlo niskih koncentracija citokina (pg/ml).

Određivanje razine IL-2 i IL-6 u uzorku sline temelji se na uporabi monoklonskih protutijela za IL-2 i IL-6 koja se kompetitivno vežu za IL-2 i IL-6. Istraživanje se temelji na "sandwich" enzimoimunotestu. Za tu svrhu je rabljena mikrotitracijska pločica s 96 zdenaca ravnog dna na kojoj su adsorbirana specifična monoklonska protutijela te je učinjen eksperiment kako slijedi:

1. Pripremljeni su regensi.
2. Mikrotitracijska ploča na kojoj su adsorbirana monoklonska antitijela dva puta je isprana s 300 µl pufera za ispiranje po jažici.
3. Dodano je 100 µl Assay buffer u svaku jažicu.
4. Pripremljeni su standardi.
5. Dodan je uzorak; 50 µl po jažici.
6. Nakon dodavanja 50 µl biotin-konjugata u svaku jažicu, mikrotitracijska ploča je prekrivena s metalnom pločicom i stavljena na mješalicu (Redrotor Hoefler

Pharmacia Biotech Inc., San Francisco, California, USA) te inkubirana na sobnoj temperaturi 2 sata.

7. Mikrotitracijska ploča isprana je na ispiraju 4 x s 300 µl pufera za ispiranje.

8. Dodano je 100 µl pripremljenog Streptavidin-HRP u svaku jažicu. Sve je prekriveno metalnom pločicom i inkubirano na mješalici 1 sat.

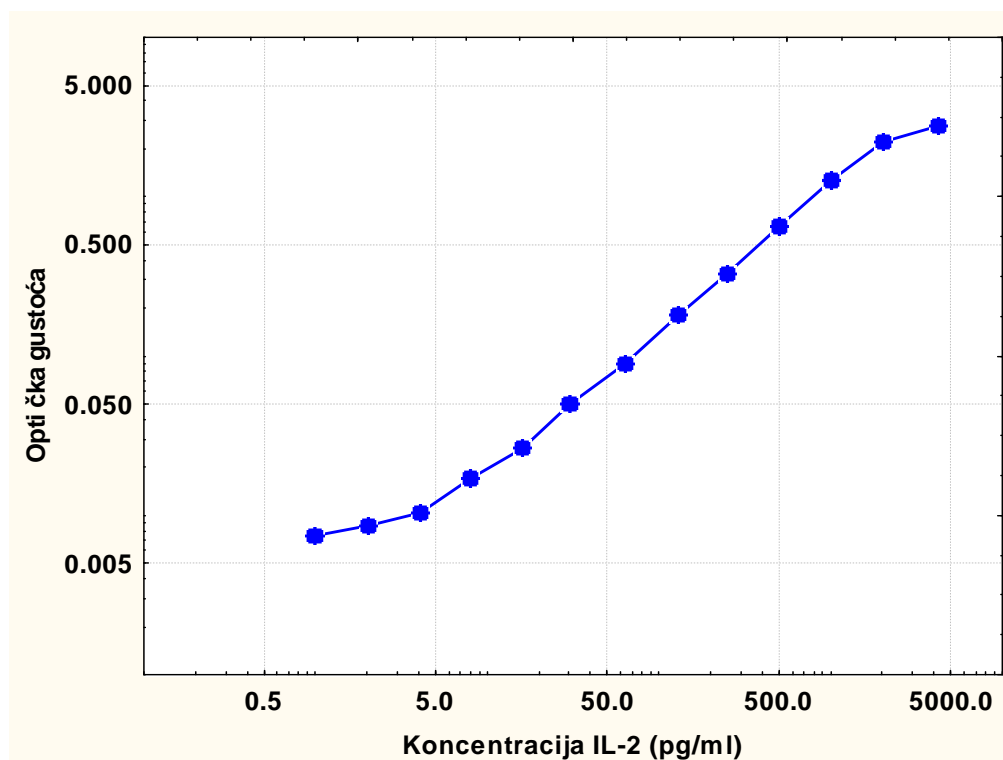
9. Mikrotitracijska ploča isprana je na ispiraju 4 x s 300 µl pufera za ispiranje.

10. Pipetirano je 100 µl otopine substrata TMB u svaku jažicu i inkubirano na mješalici 20 minuta, zaštićenoj od svijetla. Dodavanjem supstrata dolazi do promjene boje uzoraka, što je pokazatelj različite koncentracije interleukina u uzorcima.

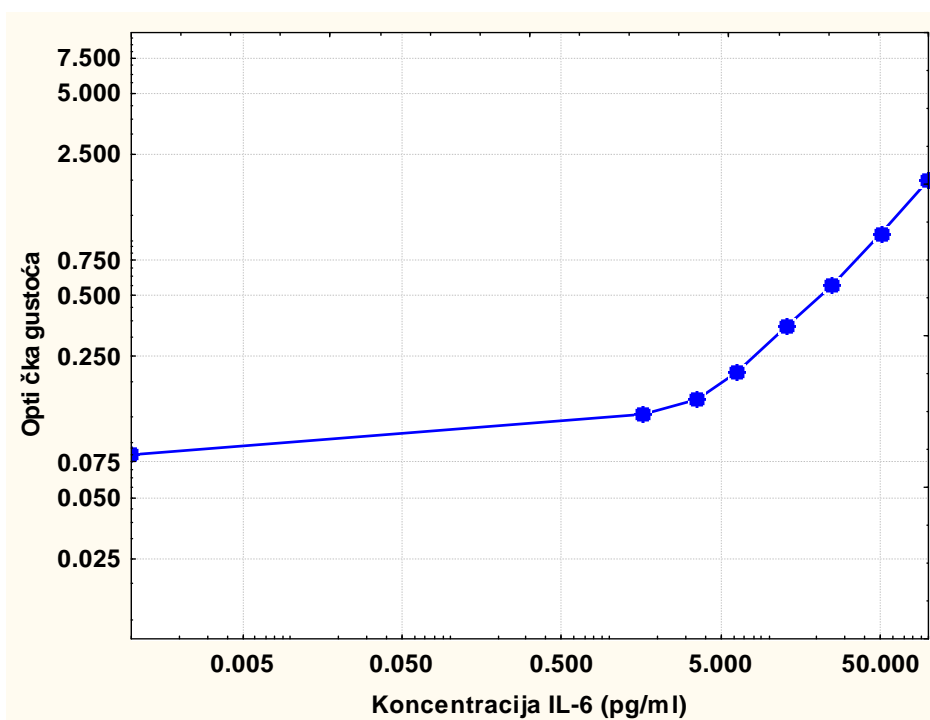
11. Dodana je Stop otopina u svaku jažicu da bi se zaustavila enzimska reakcija.

12. Adsorbcija u svakom uzorku izmjerena je u spektrofotometru (Stat fax ® 2600 Awareness Technology Inc, San Francisco, CA, USA) na valnoj duljini 450 nm, a izmjerene vrijednosti poslužile su za izradu standardnih krivulja.

Koncentracija IL-2 i IL-6 (pg/ml) izračunata je standardnom krivuljom i jednadžbom pravca $y=ax+b$



Slika 2. Standardna krivulja za određivanje IL-2



Slika 3. Standardna krivulja za određivanje IL-6

3.3 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

U statističkoj analizi ovog istraživanja su primjenjene univarijantne metode analize.

Osnovna obrada je izvršena deskriptivnom statistikom. Izračunate su srednje vrijednosti, standardna devijacija, medijan, minimalni i maksimalni da se dobije slika uzorka i njegove karakteristike.

Testiralo se postojanje značajnih razlika u distribucijama obilježja između dviju grupa ispitanika. Za testiranje razlike u srednjim vrijednostima korišten je neparametarski Wilcoxonov test sume rangova (Wilcoxon rank-sum test).

Svi su testovi rađeni uz razinu značajnosti od 0.05.

U statističkoj analizi korišten je programski paket SAS[®] System na Windows platformi.

Rezultati su prikazani grafički i tabelarno.

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. OPĆI PODACI

4.1.1. Demografski podaci

4.1.1.1. Skupina bolesnika sa sindromom pečenja usta

U ovom istraživanju je u skupini bolesnika s SPU-om srednja dob bila 61 godinu. Od ukupno 30 ispitanika 28 čine žene. Sve ispitanice su u periodu postmenopauze.

Od ukupnog broja bolesnika s SPU-om (N=30), 21 bolesnik je navodio suhoću oralne sluznice, 28 je imalo 1 ili više sistemskih dijagnoza, 27 je uzimalo 1 ili više lijekova za opće zdravstvene tegobe, 4 ispitanika je imalo poremećaj okusne osjetljivosti.

4.1.1.2. Kontrolna skupina

Prosječna dob ispitanika (N=30) kontrolne skupine iznosila je 58 godina. U kontrolnoj skupini bilo je 24 žene i 6 muškaraca. Od sistemskih dijagnoza pati 27 ispitanika. Korištenje lijekova za tretiranje sistemskih poremećaja navodi 27 ispitanika.

4.1.2. Kliničke karakteristike bolesnika

Lokalnim kliničkim pregledom u obje skupine nisu nađene nikakve patološke promjene oralne sluznice. Također oralnim pregledom ispitanika utvrđeno je da je oralna sluznica u skladu s dobi ispitanika.

4.1.2.1. Bolesnici sa sindromom pečenja usta

U ispitnoj skupini lokalizacija pečenja prema frekvenciji od najčešćih do najrjeđih bila je slijedeća: jezik 81%, cijela usta 7.1%, nepce 5.9%, usnica 5.6%.

U skupini ispitanika s SPU-om čak 15 bolesnika anamnestički navodi psihičke probleme u vidu depresije. Od hormonalnih poremećaja pati 12 osoba od toga njih 10 boluje od dijabetesa, od kardiovaskularnih bolesti 10 osoba, ginekoloških 6, gastrointestinalnih 6, lokomotornih poremećaja boluje 5 osoba, od alergija 3, te po 1 ispitanik pati od respiratornih i 1 uroloških bolesti.

Pušačke navike izvještavaju 2 ispitanika. u skupini s SPU-om.

Najzastupljenija sistemska terapija bila je u svrhu liječenja psihičkih bolesti; navodi ju 13 osoba, zatim slijede terapija hormonalnih poremećaja koju koristi 11 ispitanika, te kardiovaskularnih bolesti 10 ispitanika. Analgetike uzima 9 osoba. Terapijska sredstva za liječenje gastrointestinalnih poremećaja navodi 3 ispitanika.

4.1.2.2. Kontrolna skupina

U kontrolnoj skupini anamnestički se bilježi ovakva zastupljenost sistemskih poremećaja: kardiovaskularne bolesti navodi 12 ispitanika, hormonalne 7, gastrointestinalne 5, alergije 3, ginekološke 3, od psihičkih poremećaja –depresije pati 1 osoba.

Pušačke navike navodi 13 ispitanika.

Sistemsku terapiju za liječenje kardiovaskularnih poremećaja koristi 8 osoba u kontrolnoj skupini, za liječenje hormonalnih poremećaja 4, gastrointestinalnih 3. Korištenje analgetika bilježi se kod 10 osoba, te psihosedativa – anksiolitika kod 6 ispitanika.

4.2. ODREĐIVANJE RAZINA SALIVARNIH CITOKINA INTERLEUKINA 2 I INTERLEUKINA 6

4.2.1 Određivanje koncentracije interleukina 2

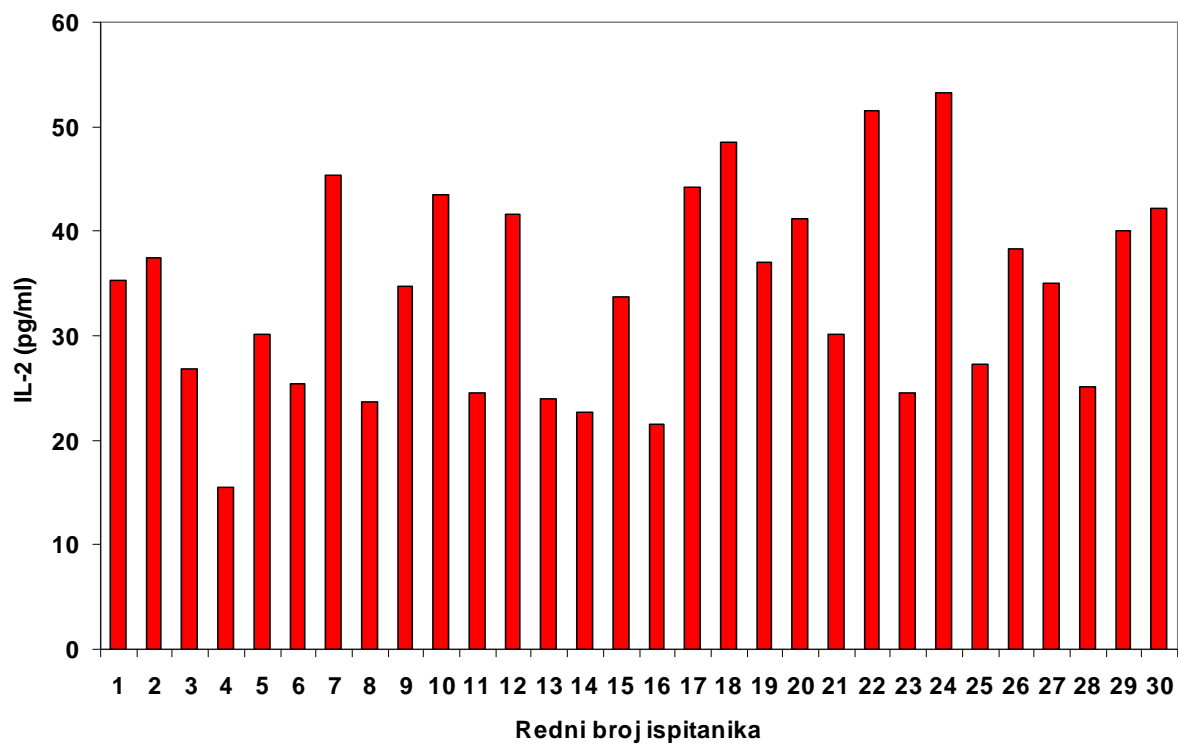
Koncentracija IL-2 je određivana metodom enzimoimunotesta u slini 30 bolesnika sa sindromom pekućih usta i 30 zdravih ispitanika. Na slikama 4. i 5. su prikazane pojedinačne vrijednosti razina citokina IL-2 kod ispitne i kontrolne

skupine. U tablici 2. navedene su srednje vrijednosti razina citokina IL-2 . Vidljivo je da pojedinačne vrijednosti dosta kolebaju; u skupini bolesnika s SPU od 15.5 pg/ml do 53.2 pg/ml, a u skupini zdravih ispitanika od 2.3 pg/ml do 12.6 pg/ml (slika 6.).

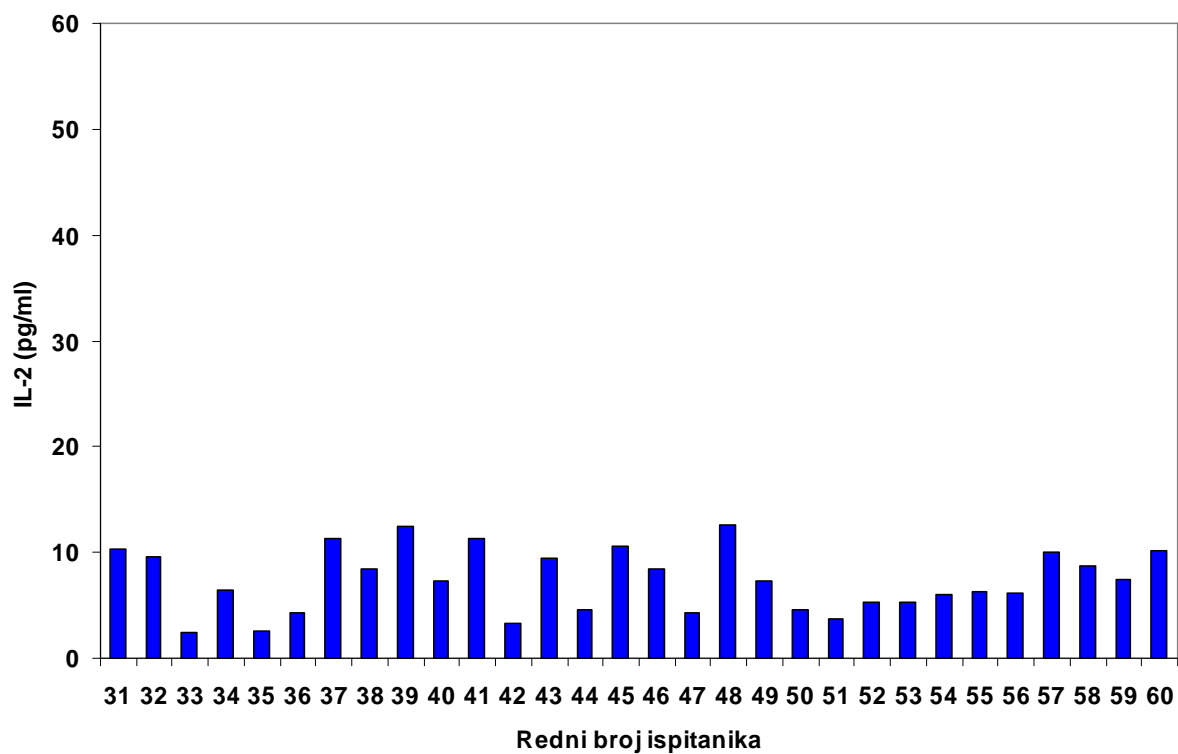
Srednja vrijednost koncentracije IL-2 je znatno viša u pokusnoj (34.1 pg/ml) nego u kontrolnoj skupini (7.3 pg/ml). Standardna devijacija u pokusnoj skupini iznosi 9.7, a u kontrolnoj skupini iznosi 3.0 (tablica 2.).

Razlika je značajna na razini $p < 0.0001$.

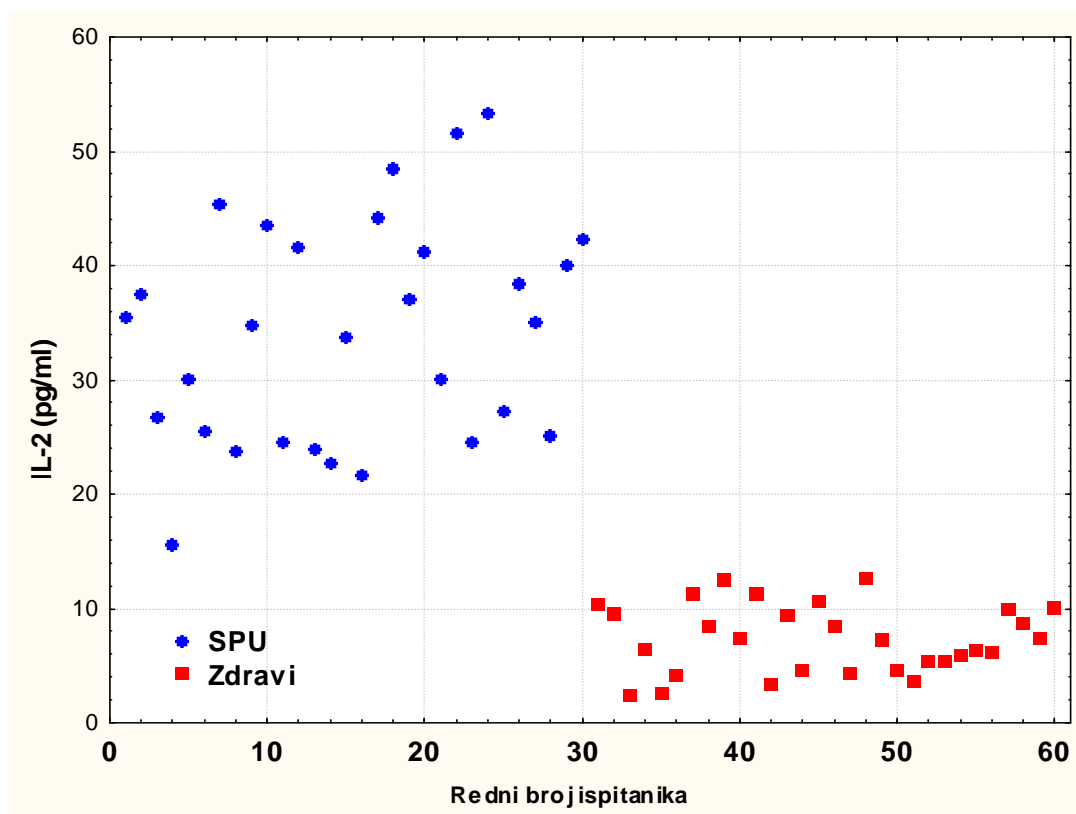
Iste odnose razina IL-2 između pokusne i ispitne skupine pokazuje i tablica 1. Medijan razine IL-2 u skupini s SPU iznosi 34.9 pg/ml u odnosu na 7.3 pg/ml kod zdravih ispitanika (slika 7.). Značajno je uočiti da je najviša vrijednost razina IL-2 kod zdravih ispitanika manja od najmanje vrijednosti kod skupine ispitanika sa SPU.



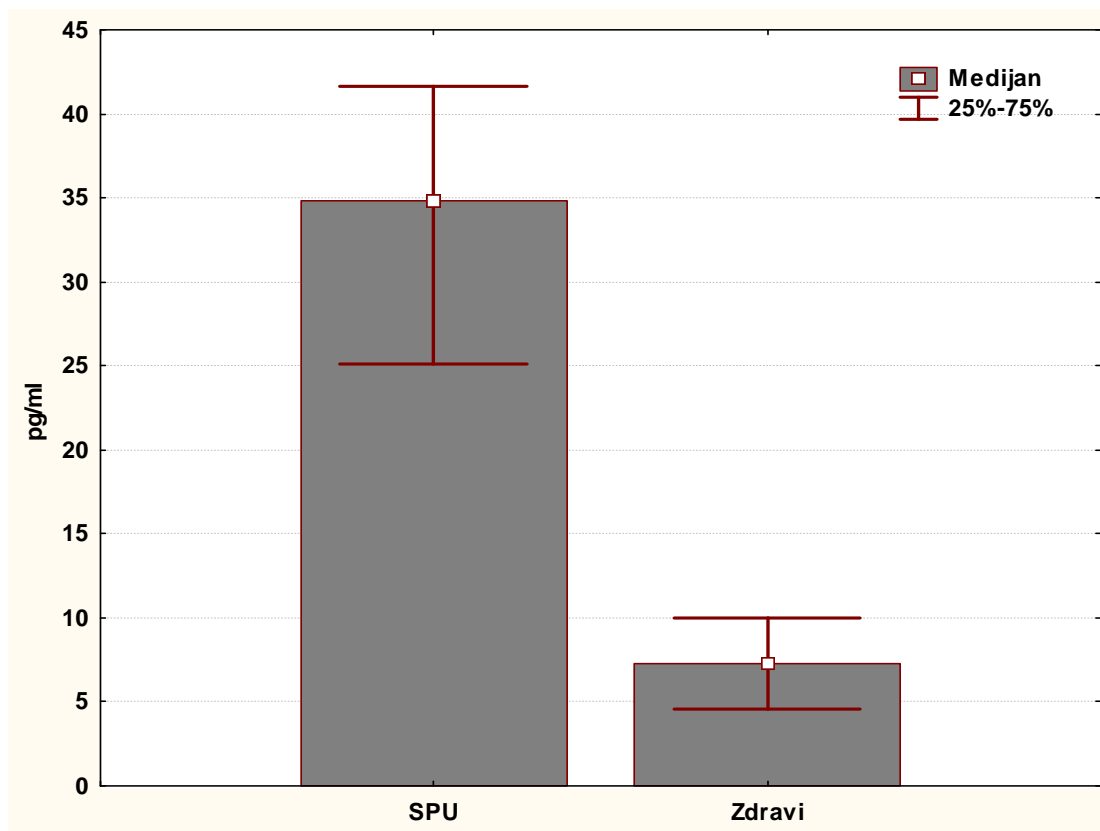
Slika 4. Koncentracija IL-2 kod bolesnika sa SPU



Slika 5. Koncentracija IL-2 kod zdravih ispitanika



Slika 6. Koncentracija IL-2 kod ispitanika sa SPU i zdravih ispitanika



Slika 7. Usporedba razine IL-2 kod ispitanika sa SPU i zdravih ispitanika

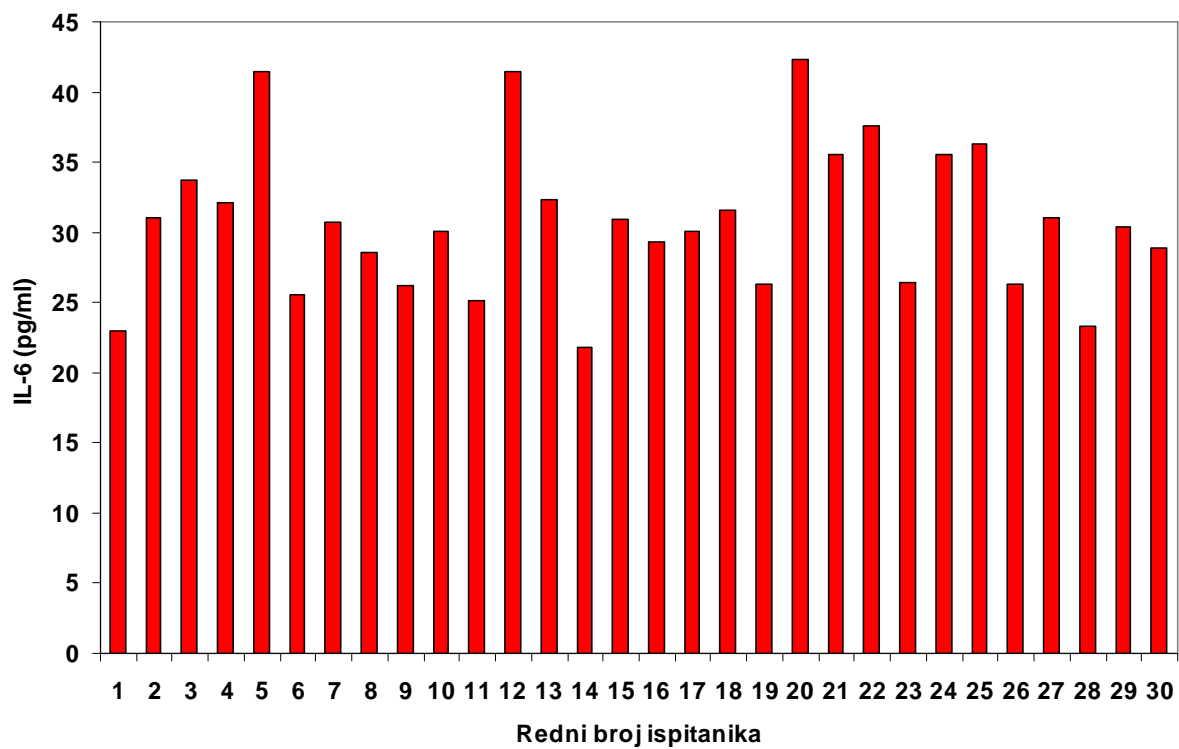
4.2.2. Određivanje koncentracije interleukina 6

Koncentracija IL-6 određivana je u slini 30 bolesnika sa sindromom pekućih usta i 30 zdravih ispitanika metodom enzimoimunotesta. Na slikama 8. i 9. su prikazane pojedinačne vrijednosti. Kolebljivost rezultata vidljiva je na sl.10. U skupini bolesnika sa SPU kreće se od 21.7 do 42.3 pg/ml, a u kontrolnoj skupini od 1.1 do 11.4 pg/ml.

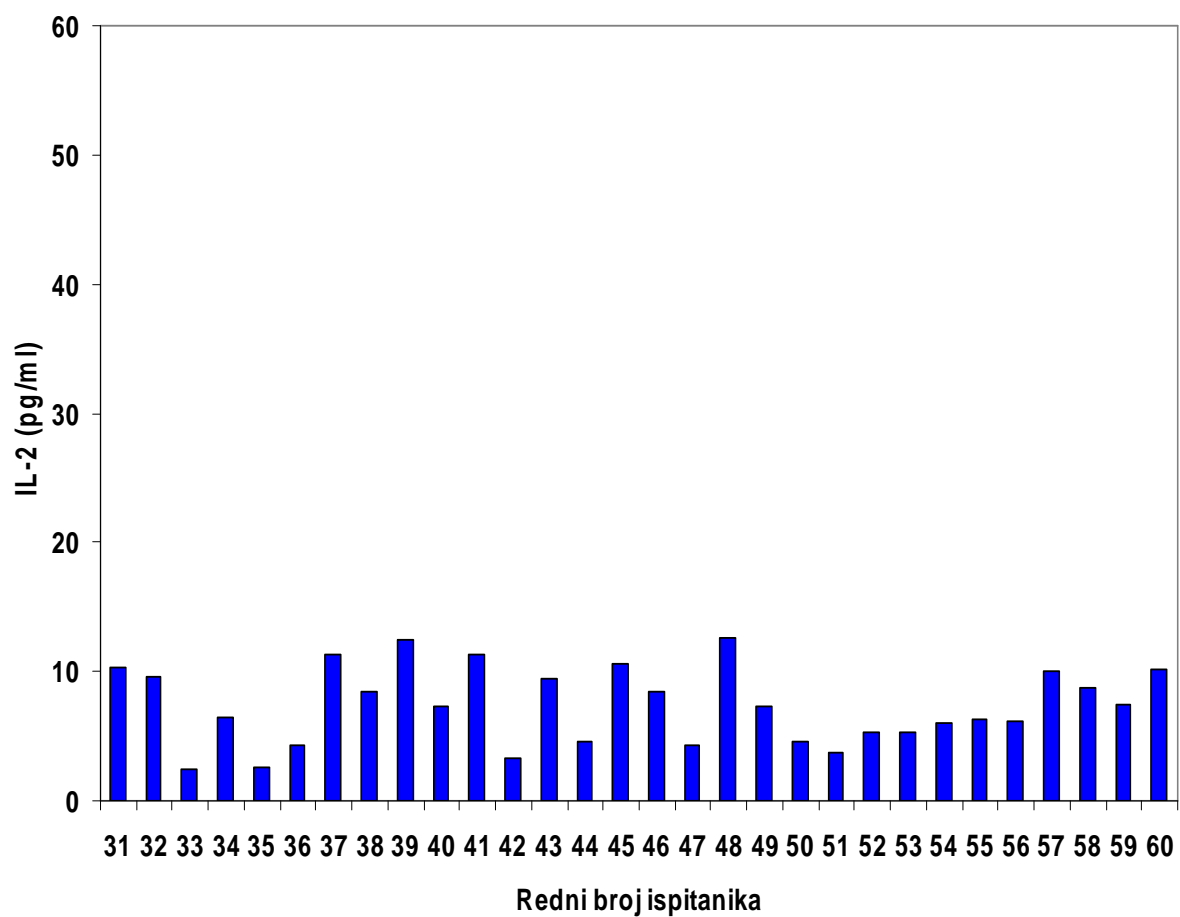
Srednja vrijednost koncentracije IL-6 je znatno viša u pokusnoj (30.8 pg/ml) nego u kontrolnoj skupini (5.2 pg/ml). Standardna devijacija u pokusnoj skupini iznosi 5.4, a u kontrolnoj skupini iznosi 3.1. Srednje vrijednosti te standardna devijacija pokusne i kontrolne skupine prikazane su u tablici 2.

Razlika je statistički značajna na razini $p < 0.0001$ tablica 1.

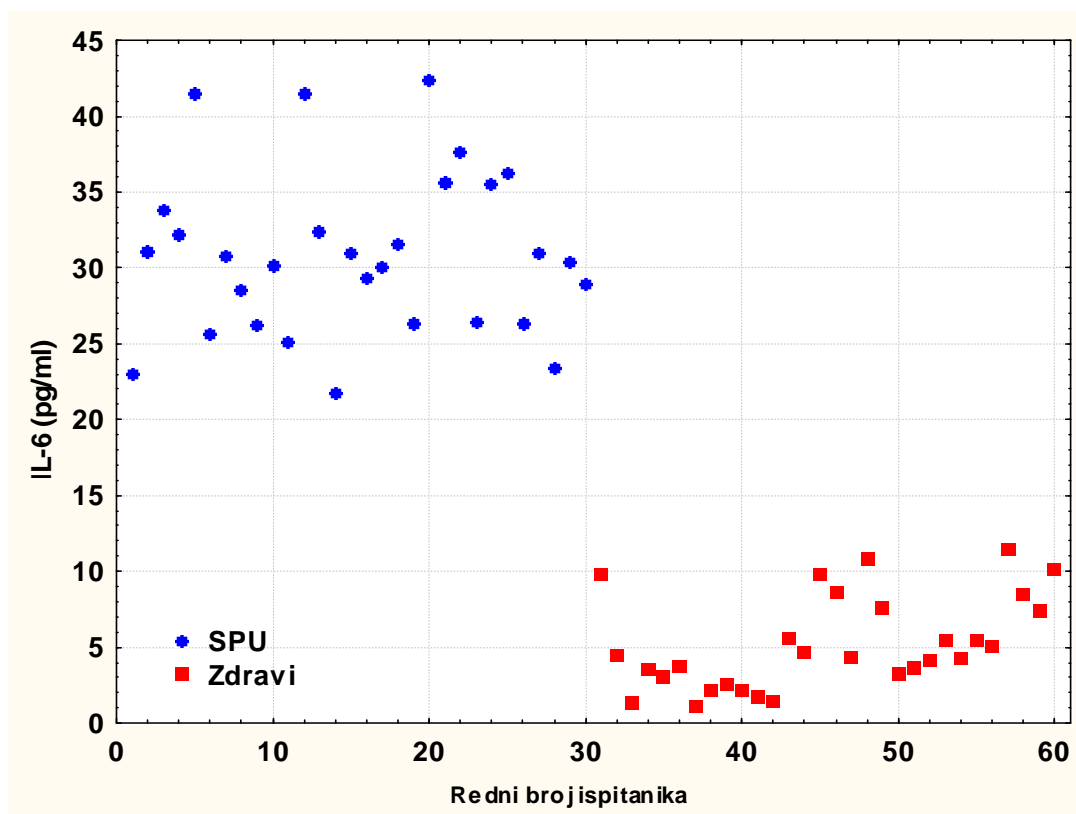
Tablica 1. pokazuje odnose razina IL-6 između skupine bolesnika sa SPU i zdravih ispitanika. Medijan razine IL-6 u skupini s SPU iznosi 30.5 pg/ml u odnosu na 4.4 pg/ml kod zdravih ispitanika. Može se uočiti da je najviša vrijednost razina IL-6 kod zdravih ispitanika manja od najmanje vrijednosti IL-6 kod skupine ispitanika sa SPU (slika 11.).



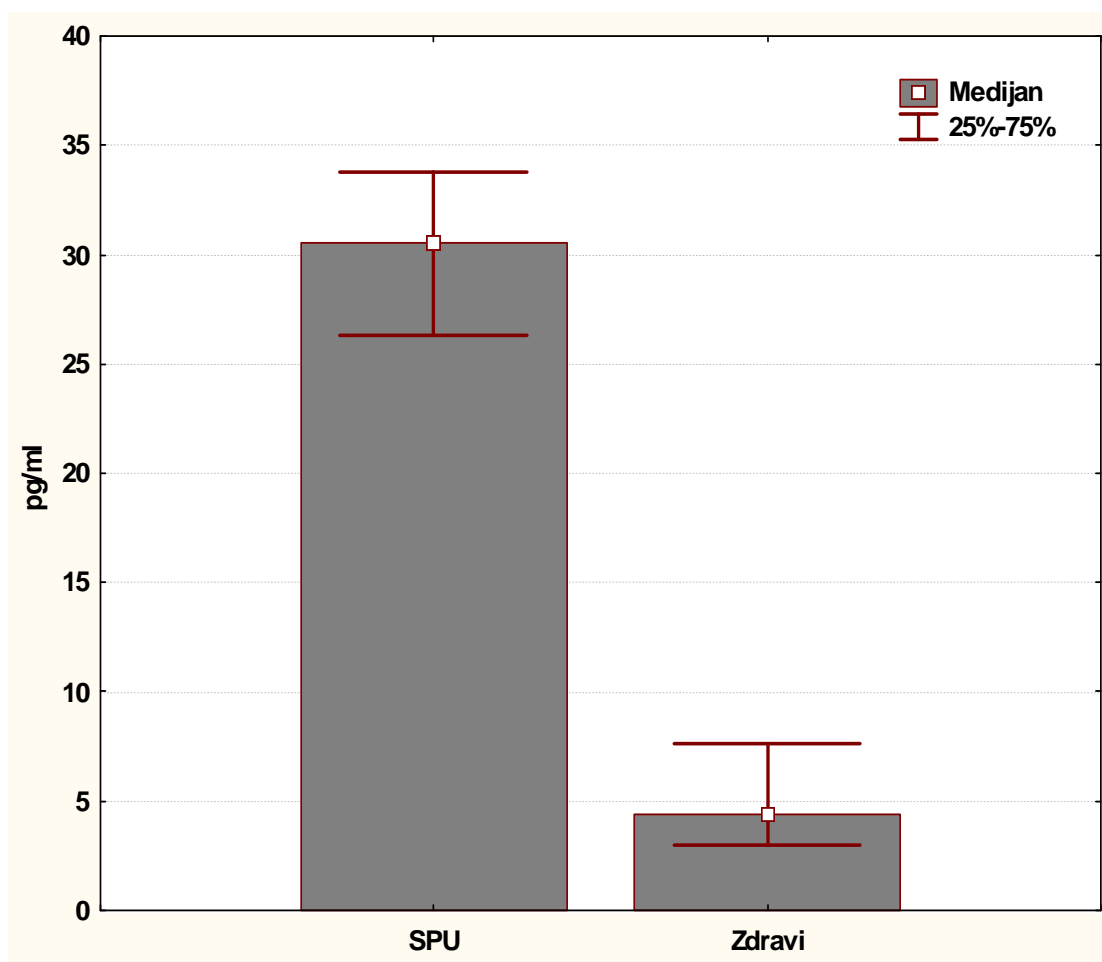
Slika 8. Koncentracija IL-6 kod bolesnika sa SPU.



Slika 9. Koncentracija IL-6 kod zdravih ispitanika



Slika 10. Koncentracija IL-6 kod ispitanika sa SPU i zdravih ispitanika



Slika 11. Usporedba razine IL-6 kod ispitanika sa SPU i zdravih ispitanika

Tablica 1. Usporedba ispitanika sa simptomom pečenja usta i zdravih ispitanika

	SPU (n=30)			Zdravi (n=30)			p*
	Med.	Min.	Max.	Med.	Min.	Max.	
IL-2	34.9	15.5	53.2	7.3	2.4	12.6	<0.0001
IL-6	30.5	21.8	42.3	4.4	1.1	11.4	<0.0001

* p-vrijednost za Wilcoxonov test sume rangova

Tablica 2. Usporedba srednjih vrijednosti kod ispitanika sa simptomom pečenja usta i zdravih ispitanika

	SPU (n=30)		Zdravi (n=30)	
	Sr.vr.	St.d.	Sr.vr.	St.d.
IL-2	34.1	9.7	7.3	3.0
IL-6	30.8	5.4	5.2	3.1

5. RASPRAVA

Bol je osnovni osjet koji obično ukazuje na oštećenje tkiva uzrokovano vanjskim ili unutarnjim čimbenicima (83). Međutim, bol koja perzistira, te ne ispunjava kriterije druge kranijalne neuralgije ili drugih opće opisanih bolnih sindroma, Headache society opisuje kao atipičnu orofacijalnu bol (3). Takva bol ne prati poznate anatomske puteve prenosa boli i povezane fiziološke mehanizme, ne može biti olakšana prekidom puta živca, nema identificirajući neuropatski, ekstraneuralni ili centralni uzrok. (86). Atipična bol lica, zajedno sa stomatodinijom (u koju neki autori svrstavaju SPU), atipičnom odontalgijom i poremećajima mastikatornih mišića i temporomandibuarnog zgloba (TMZ), te idiopatskom disgeuzijom čini kategoriju idiopatske orofacijalne boli (3, 86).

5.1. DEMOGRAFSKI PODACI

U ispitnoj skupini bilježi se prevalencija žena srednje i starije dobi.

Dob i spol naših ispitanika odgovara istim parametrima kao i u studijama sličnim ovom istraživanju (9, 10, 49). U toj dobi se kod žena javljaju promjene u hormonalnoj funkciji (7).

Ispitanici kontrolne skupine izabrani su na način da odgovaraju po dobi i spolu ispitnoj skupini. Između ispitne i kontrolne skupine ti su parametri usklađeni u svrhu njihove usporedbe.

5.2. KLINIČKE KARAKTERISTIKE BOLESNIKA

Sustavni čimbenici se redovito navode kao predisponirajući činitelji u razvoju SPU dok ih pojedini autori navode kao prateća stanja SPU.

Visok nalaz depresije bilježi se u ispitnoj skupini. Takav nalaz sukladan je nalazu nekih istraživanja (45, 46), dok drugi istraživači navode prevalenciju hormonalnih promjena vezanih za postmenopauzu (29, 30), dijabetesa (30), ili pojavu kroničnih bolnih stanja koja uključuju glavobolje i bolove na drugim lokacijama (23).

Vezano za medikaciju, terapija antidepresivima se pokazala najprevalentnijom. Grushka navodi napetost i depresiju kao stalnu pojavu kod pacijenata s SPU (23). Suprotno tome Rojo i sur. ne pronalaze niti jednu psihopatološku pojavu zajedničku svim oboljelima od SPU (47). Međutim, psihološka disfunkcija je česta koda osoba koje pate od kronične boli, te se može smatrati i rezultatom boli, a ne uzrokom (3,23).

Na subjektivnu suhoću u usnoj šupljini žalilo se dvije trećine ispitanika. Taj nalaz je uskladu s izvještajem Hugosona i sur. koji navode da se 46-76% pacijenata sa SPU žali na suha usta (28). Smanjeno lučenje sline može nastati kao popratna pojava korištenja lijekova za terapiju sistemskih bolesti ili biti popratna pojava psihičkih stanja kod kojih je dominantan simpatikus (npr. anksioznost i depresija) (59). Suprotno mišljenju da suhoća može biti uzrok SPU je nalaz Grushke i sur. koji navode da se kod osoba koje pate od SPU ne nalazi smanjen stimulirani ili nestimulirani protok sline (23). Subjektivna suhoća koju u ovoj studiji izvještava 75% ispitanika može biti popratni simptom kod dijela osoba oboljelih od SPU prije nego uzrok bolesti.

Od lokalnih faktora u nastanku SPU osim suhoće u literaturi se navodi i infekcija gljivicama roda *Candida* (16, 17). Ta mogućnost je u ovoj studiji isključena mikrobiološkom obradom svakog ispitanika radi isključenja dijagnoze oralne kandidijaze.

5.3. ODREĐIVANJE SALIVARNIH CITOKINA

Za određivanje koncentracije citokina u ovome istraživanju se kao medij koristila slina. Sreebny navodi višestruke mogućnosti korištenja sline (59). Kako se slina koristi pri dijagnostici hormonalnih poremećaja, autoimunih bolesti, kardiovaskularnih i renalnih bolesti, zatim pri otkrivanju virusa i bakterija, te detekciju alkohola, nikotina i droga (84) u ovom se istraživanju nastojalo iskoristiti prednosti ovog dijagnostičkog medija.

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je razina IL-2 u slini povišena kod bolesnika s SPU u odnosu na zdrave osobe, a razlika je statistički značajna. Razina IL-2 kod ispitanika koji pate od SPU iznosi $34.1 \text{ pg/ml} \pm 9.7$, u odnosu na kontrolnu skupinu u kojoj je razina IL-2 $7.3 \text{ pg/ml} \pm 3.0$. Povećana koncentracija IL-2 dokazana u ovom istraživanju daje mogućnost objašnjenja uzročnog mehanizma SPU imunološkim reakcijama upale (76, 87).

Imunološke reakcije upale u svojoj studiji dokazuju Ferlazzo i sur. koji su postavili hipotezu da IL-2 može mobilizirati prirodno ubilačke stanice (NK, natural killer) iz sekundarnih limfnih tkiva. Pokazali su da aktivacijom IL-2, NK iz limfnih

čvorova i krajnika stižu citolitičku aktivnost za ciljne stanice (73). Citokinom aktivirana NK stanica sudjeluje u obrani od infekcije unutar staničnih tvari (poglavito virusa) i u obrani od zloćudnih tumora, te se naziva se LAK (lymphokine-activated-killer).

IL-2 ima važnu ulogu u održavanju prirodne imunološke samotolerancije. Setoguchi i sur. su u svom istraživanju dokazali da se neutralizacijom IL-2 sprečavaju fiziološki procesi proliferacije određenih subpopulacija T limfocita, koji su vjerojatno odgovorni za uobičajen prirodni odgovor na auto antigen (75). To govori o ulozi IL-2 pri obrani od autoimunih reakcija.

U literaturi ne postoji jedinstven stav o uzroku nastanka SPU. Autori redovito zaključuju da je za nastanak SPU potrebno sagledati više uzročnih mehanizama koji opet nisu zajednički svim pacijentima. Neki uzročni čimbenik SPU kod konkretnog bolesnika ne mora uzrokovati pečenje - bol kod nekog drugog, koji pati od istog problema. Različite, višestruke aktivnosti IL-2 potvrđuju takvu hipotezu o nastanku SPU.

U ovom istraživanju razina IL-6 u slini osoba koje pate od SPU ($30.8 \text{ pg/ml} \pm 5.4$) je u odnosu na osobe bez simptoma (5.2 ± 3.1) povišen i razlika je statistički značajna.

Kako IL-6 kao plejotropni citokin (utječe na antigen specifične imunološke odgovore i upalne reakcije) ima mnoge učinke u organizmu, pa tako i u orofacijalnoj regiji, njegovo postojanje i povećana koncentracija u slini kod bolesnika sa SPU potvrđuje hipotezu o ulozi IL-6 u nastanku bolnog stanja SPU (87).

IL-6 je endogeni pirogen, što je posljedica njegovog izravnog djelovanja na centre u mozgu (60).

Moguće je povećanu koncentraciju IL-6 kod bolesnika s SPU koja je dokazana u ovom istraživanju dovesti u vezu s osjećajem lokalnog povišenja temperature.

Choi i sur. su proučavali učinke IL-6 na modulaciju nocicepcije u orofacijalnoj regiji. Potvrdili su da IL-6 injiciran u intersticij od ranije bolnog TMZ ne mijenja bolni odgovor kod štakora, dok IL-6 injiciran u međuprostor zdravog TMZ zgloba uzrokuje povećanje bolnog odgovora u orofacijalnoj regiji kod štakora (88). To ovisi o modelu orofacijalne boli, ali govori u prilog IL-6 kao modulatora bolnog odgovora u orofacijalnoj regiji, pa se može povući paralela s patogeneзом SPU.

Idiopatska orofacijalna bol u svoju kategoriju uključuje temporomandibularnu disfunkciju (TMD) (3, 86). Citokini dokazani u ovom istraživanju nađeni su i kod osoba koje pate od TMD, što govori u prilog činjenici mogućeg zajedničkog uzročnog procesa. U zglobovima bol može biti povezana s prisustvom osteolitičkog defekta, a da se dijagnostičkom pretragom to ne uspije otkriti (90).

Studija Chichorro i sur. izvještava da citokini IL-6, TNF α , IL-1 β , IL-8 značajno pridonose orofacijalnoj nocicepciji induciranoj formalinom kod štakora (81). Kim i suradnici dokazuju značajno smanjenje bolnog odgovora u orofacijalnoj regiji kod štakora, nakon tretmana citokinom IL-1. IL-1 stimulira lučenje IL-6. To govori u prilog tome da su citokini uključen u modulaciju nociceptivnog procesa (80).

Kardel i sur. su, uz citokin IL-2, istraživali postojanje citokina IL-1 α , IL-1 β , IL-1 ra, TNF α , IFN γ kod pacijenata s temporomandibularnom disfunkcijom i onih s osteoartritisom. Otkrili su da je razina citokina značajno povišena u obje grupe ispitanika. Kod biopsijom dokazanog upalnog procesa u zglobu, osteoartritisa, nađene su više koncentracije, te složeniji odnos svih ispitivanih citokina (91).

Navodi se da je učestalost dijabetesa kod populacije koja pati od atipičnih bolnih stanja od 30 do 50% veća nego kod opće populacije (3). Također tijekom ustanovljavanja dijabetične kontrole oralni simptomi se popravljaju ili nestaju (3, 17). U ovom istraživanju nalaz citokina IL-2 i IL-6 u slini osoba sa SPU podudara se s nalazom povećane razine citokina kod dijabetesa, pa se uzročni čimbenik SPU može potražiti u dijabetesu.

Smatra se da su mehanizmi aktivirane stečene imunosti uključeni u patogenezi dijabetesa (metaboličkog poremećaja). Pojavnost dijabetesa kod osoba koje pate od SPU je zabilježena. U literaturi postoje nalazi povećane razine proupalnih citokina kod dijabetesa koji se dovode u vezu s patogenezi bolesti. IFN γ , IL-1, TNF α sudjeluju u oštećenju pankreasnih otočića. Mogući autoimuni procesi povezuju se s neutralizacijom aktivnosti IL-2 (92, 93). IL-6 znatno smanjuje transport glukoze inzulinom, a TNF α ima ulogu povišavanja IL-6. IL-6, TNF α , IL-1 su posebno izraženi u dijabetesu tipa 2, dok je uz njih za tip 1 karakterističan IL-12. IL-6 je povećan u inzulin otpornim stanjima kao što je pretilost (94, 95).

Pretilost se značajno povezuje s općim umorom koji se dovodi u vezu s depresijom. Citokini istraživani u tom kontekstu su IL-6, IL-1, TNF α prisutni kod umora, dok IL-2 manje izaziva umor, a značajniji je za anhedoniju ključni simptom depresije (96). Oni djeluju kao modulatori CRH (corticotropin releasing hormone), što pojačava aktivnost osi hipotalamus –hipofiza- nadbubrežne žlijezde. To se odražava povećanjem ACTH (adrenokortikotropni hormon) i kortizola izrazito povišenih pri depresiji (97). Depresivni simptomi popraćeni su povećanjem produkcije ili razine citokina. Studija Thomas i sur. je dokazala povećanje nivoa IL-1 β u serumu, te jaku povezanost nivoa tog interleukina sa stupnjem depresije. Dokazuje se upalni odgovor kod bolesnika koji pate od depresije kako mlađe, tako i depresije starije dobi (98).

Depresija je učestala pojava kod bolesnika s atipičnim bolnim stanjima i SPU. Ono oko čega u literaturi ne postoji zajednički stav je da li depresija uzrokuje SPU ili je ona sekundarna posljedica kroničnog bolnog stanja (42, 43,44, 45, 46, 47).

Statistički značajna povećana razina citokina dokazan u ovom istraživanju, kao i povišen nalaz istih citokina (IL-2 i IL-6) istraživanih kod depresije potvrđuje povezanost depresije i SPU (85).

Sukladno našem nalazu je rezultat istraživanja Xia i sur. koji su proučavali razine IL-2 i IL-6 u serumu kod pacijenata sa ili bez depresije, koji pate od SPU (85). Oni navode da ne postoji značajna razlika serumskih IL-2 i IL-6 kod pacijenata sa SPU kod kojih je prisutna depresija u odnosu na osobe koje pate od SPU, a

nemaju klinički dokazanu depresiju. Zaključuju da stanje depresije ne mora značajno utjecati na razinu IL-2 i IL-6 u serumu, ali da postoji povezanost sa SPU.

Njihov dokaz prisustva IL-2 i IL-6 kod bolesnika sa SPU poklapa se s nalazom našeg istraživanja. Razlika je u tome što su ti autori IL-2 i IL-6 kod SPU dokazali u serumu, dok su u ovome istraživanju povećane koncentracije IL-2 i IL-6 dokazane u slini (85).

Razinu interleukina u serumu pacijenata koji boluju od oralnog lihen planusa mjerili su Sun i sur. Oni zaključuju da su IL-6 i IL-8 korisni markeri, iako IL-8 pokazuje veću osjetljivost (99). Rhodus i sur. također potvrđuju prisustvo salivarnih citokina kod ove bolesti (100).

Streckfus, Bigler i sur. dokazali su povećane koncentracije IL-2 i IL-6 u slini osoba koje pate od Sjögrenova sindroma (84). Destruktivne promjene žlijezda, tako se mogu povezati s imunološkim i upalnim odgovorima. Takva povezanost SPU i suhих usta može utjecati na akumulaciju simptoma boli; pečenja; poteškoća pri hranjenju, gutanju i govoru; i negativno utječe na kvalitetu života. Kod različitog broja SPU pacijenata koji se žale na suhoću usta, mogu se otkriti promjene kako količine, tako i kvalitete sline (26, 27, 86, 101). Iako povezanost između suhих usta i SPU postoji, uloga smanjenja salivarnog protoka, ili osećaja suhих usta kod osoba koje pate od SPU nije do kraja razjašnjena, pa tako ni priznata (59).

U ovom istraživanju je u svim uzorcima sline dokazano prisustvo IL-2 i IL-6. Kod pacijenata sa SPU je koncentracija ovih citokina veća i razlika je statistički značajna. To govori u prilog IL-2 i IL-6 kao objektivnih markera pri dijagnostici i određivanju bolnog stanja SPU.

Zbog toga što je SPU višezročna bolest, najsvrsishodnije je proučavati više imunoloških tvari, jer njihovo stvaranje i način djelovanja ovise o mnogostрукim, različitim i preklapajućim čimbenicima. Buduća istraživanja bi se trebala temeljiti na kombiniranim analizama imunoloških tvari, što može biti korisno za procjenu rizika bolesti SPU i kvaliteti terapije.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju postavljenih ciljeva te raščlambe dobivenih rezultata u ovom istraživanju, mogu se izvesti slijedeći zaključci:

1. Prisustvo citokina IL-2 i IL-6 moguće je dokazati u slini zdravih ljudi kao i osoba koje pate od SPU. Slina se je pokazala kao dobar dijagnostički medij, pouzdan za određivanje citokina IL-2 i IL-6..

2. U slini osoba koje pate od bolnog stanja SPU koncentracija IL-2 značajno je povišena (34.1 ± 9.7 pg/ml). Razlika je statistički značajna u odnosu na zdrave ispitanike (7.3 ± 3.0 pg/ml), $p < 0.0001$. Ovaj rezultat pokazuje da IL-2 može biti objektivan marker pri određivanju bolnog stanja SPU.

3. Koncentracija IL-6 je statistički značajno povišena ($p < 0.0001$) u slini bolesnika sa SPU (30.8 ± 5.4 pg/ml) u odnosu na zdrave ispitanike (5.2 ± 3.1 pg/ml). Iz ovoga se može izvesti zaključak da određivanje citokina IL-6 može pomoći u dijagnostici i praćenju SPU.

Za određivanje SPU, radi veće pouzdanosti potrebno je ispitati oba markera (citokina).

7. SAŽETAK

Sindrom pečenja usta (SPU) je stanje koje karakterizira osjet pečenja usne šupljine u odsustvu fizičke nepravilnosti sluznice usne šupljine ili drugih zdravstvenih poremećaja. Uzrok pojave SPU nije razjašnjen, iako brojni lokalni, sistemski i psihološki čimbenici imaju ulogu u razvoju bolnog stanja. Različiti citokini imaju ulogu u razvoju SPU, ali niti jedan od njih se ne može odrediti kao glavni uzrok SPU. Tehnološkim napretkom proteklih desetljeća omogućen je razvoj te korisnost upotrebe oralnih fluida, posebno sline pri dijagnozi raznih bolesti, predviđanju toka bolesti, praćenju razina lijekova prilikom terapije i otkrivanju droga.

Svrha istraživanja bila je odrediti razine salivarnih IL-2 i IL-6 kod bolesnika s SPU i usporediti ih s razinama tih citokina kod zdravih osoba iste dobi.

Ispitalo se prisustvo IL-2 i IL-6 ELISA testom u ukupnoj slini 30 bolesnika s SPU, dobi između 55 i 65 godina. Kontrolnu skupinu je sačinjavalo 30 zdravih ispitanika, dobi od 55 do 65 godina.

Razine salivarnih IL-2 i IL-6 su značajno povišene kod pacijenata s SPU u usporedbi s zdravim osobama. Povišene razine IL-2 i IL-6 su u korelaciji sa stupnjem bolesti. Jednostavna, neinvazivna priroda uzimanja uzoraka čini slinu vrijednim kliničkim medijem u dijagnostici oralnih bolesti.

KLJUČNE RIJEČI: interleukin 2, interleukin 6, slina, sindrom pečenja usta

8. S U M M A R Y

DETECTION OF SALIVARY INTERLEUKIN 2 AND INTERLEUKIN 6 IN PATIENTS WITH BURNING MOUTH SYNDROME

Objective: Burning mouth syndrome (BMS) is a condition characterized by burning sensations of oral cavity in the absence of physical abnormalities of mucosa or a detectable underlying medical disorder. Etiology of BMS remains unknown, although a number of local, systemic and psychological factors have been proposed as being of etiopathogenic importance. The role of various cytokines has been implicated in the development of BMS but no specific cytokine could be determined as a major contributor to the BMS.

Aim: The aim of this study was to evaluate levels of salivary IL-2 and IL-6 in patients with BMS, compared with age-matched healthy control volunteers.

Subjects and methods: Whole saliva from 30 patients with BMS, aged 55 to 65 was tested for the presence of IL-6 and IL-2 by enzyme immunoassay. The control group consisted of 30 healthy participants, aged 55-65 years.

Results: Salivary IL-2 i IL-6 levels were significantly increased in patients with BMS in comparison with healthy subjects.

Conclusion: Technological advances over the past decades have enabled oral fluid to expand its usefulness in the disease diagnostics, prediction of disease progression, monitoring of therapeutic drug levels and detection of illicit drugs. In patients with BMS, IL-2 and IL-6 levels in saliva are elevated, correlating with the severity of illness. This easy, non-invasive nature of sample collection makes the oral fluid a valuable clinical tool.

Keywords: interleukin 2, interleukin 6, saliva, burning mouth

9. L I T E R A T U R A

1. A sample list of frequently used terms from: Classification of Chronic Pain, Second Edition, IASP Task Force on Taxonomy, edited by H. Merskey and N. Bogduk, IASP Press, Seattle, 1994; 209-214.
2. Turk DC, Assess the Person, Not Just the Pain, Pain 1993 Sept; (3)
3. Lynch MA, Brightman VJ, Greenberg MS : Burket's Oral Medicine, Ninth edition. J.B.Lippincott Company, Philadelphia 1994; 379-405.
4. Lavigne G, Woda A, Truelove E, Ship JA, Dao T, Goulet JP. Mechanisms associated with unusual orofacial pain. J Orofac Pain. 2005;19:9-21.
5. Rhodus N, Miller CS, Carlson CS; Burning Mouth Disorder; Quintessence International. 2003, 34: 587-91.
6. Souza PR, De Villa D, da Silva Carneiro SC, Ramos-e-Silva M. Stomatodynia or burning mouth syndrome. Acta Dermatovenerol Croat. 2003;11:231-5.
7. Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, Leuci S, Lo Muzio L. The diagnosis of burning mouth syndrome represents a challenge for clinicians J Orofac Pain. 2005;19:168-73
8. Lipton JA, Ship JA, Larach-Robinson D. Estimated prevalence and distribution of reported orofacial pain in the United States. J Am Dent Assoc 1993; 124:115–121.
9. Marskey LS, van der Bijl P, Gird I. Burning mouth syndrome: Evaluation of multiple variables among 85 patients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1993; 75(3): 303-307.

10. Lamey PJ, Lamb AB, Hughes A, Milligan KA, Forsyth A. Type 3 burning mouth syndrome: psychological and allergic aspects. *J Oral Pathol Med* 1994; 23:216–219.
11. Maina G, Albert U, Gandolfo S, Vitalucci A, Bogetto F. Personality disorders in patients with burning mouth syndrome. *J Personal Disord.* 2005;19:84-93.
12. Bergdahl M, Bergdahl J. Burning mouth syndrome: prevalence and associated factors. *J Oral Pathol Med* 1999; 28:350–354.
13. Dutree-Meulenberg RO, Kozel MM, van Joost T. Burning mouth syndrome: a possible etiologic role for local contact hypersensitivity. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26:935–940.
14. Tourne LP, Friction JR. Burning mouth syndrome. Critical review and proposed clinical management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 74:158–167.
15. Bergdahl BJ, Anneroth G, Anneroth I. Clinical study of patients with burning mouth. *Scand J Dent Res* 1994; 102:299–305.
16. Forabosco A, Negro C. Burning mouth syndrome. *Minerva stomatol.* 2003 Dec;52 (11-12) : 507-21.
17. Carrington J, Getter L, Brown RS. Diabetic neuropathy masquerading as glossodynia. *J Am Dent Assoc* 2001; 132:1549–1551.
18. Grushka M, Sessle BJ. Burning mouth syndrome. *Dent Clin North Am* 1991; 35:171–184.
19. Bartoshuk LM, Duffy VB, Reed D, Williams A . Supertasting, earaches and head injury: genetics and pathology alter our taste worlds. *Neurosci Biobehav Rev* 1996; 20:79–87.

20. Paterson AJ, Lamb AB, Clifford TJ, Lamey PJ. Burning mouth syndrome: the relationship between the HAD scale and parafunctional habits. *J Oral Pathol Med* 1995; 24:289–292.
21. Kydd W, Daly C. Duration of nocturnal tooth contacts during bruxing. *J Prosthet Dent* 1985; 53:717–721 .
22. Deems DA, Doty RL, Settle RG, Moore-Gillon V, Shaman P, Mester AF, Kimmelman CP, Brightman VJ, Snow JB Jr. Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste Center. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1991 May;117(5):519-28.
23. Grushka M, Epstein JB, Gorsky M. Burning Mouth Syndrome. *A Fam Physician*. 2002; 65 (4)
24. Niedermeier W, Huber M, Fischer D, Beier K, Muller N, Schuler R, et al. Significance of saliva for the denture-wearing population. *Gerodontology* 2000; 17:104–118.
25. Jensen JL, Barkvoll P (1998). Clinical implications of the dry mouth. *Oral mucosal diseases. Ann NY Acad Sci* 842:156–162.
26. Zakrzewska JM, Forsell H, Glenny AM. Interventions for the treatment of burning mouth syndrome. *J Orofac Pain* 2003 Fall; 17 (4):293-300.
27. Forabosco A, Criscuolo M, Coukos G, Uccelli E, Weinstein R, Spinato S, et al. Efficacy of hormone replacement therapy in postmenopausal women with oral discomfort. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 73:570–574.
28. Hugoson A, Thorstensson B. Vitamin B status and response to replacement therapy in patients with burning mouth syndrome. *Acta Odontol Scand* 1991; 49:367–37533.

29. Vučićević-Boras V, Topić B, Cekić-Arambasin A, Zadro R, Stavljenić-Rukavina A. Lack of association between burning mouth syndrome and hematinic deficiencies. *Eur J Med Res* 2001; 6:409–412.
30. Lamey PJ, Hammond A, Allam BF, McIntosh WB. Vitamin status of patients with burning mouth syndrome and the response to replacement therapy. *Br Dent J* 1986;160:81–84.
31. Lamey PJ, Lamb AB. Lip component of burning mouth syndrome. *Oral Surg Oral* 1994; *Med Oral Pathol* 78:590–593.
32. Petavy-Catala C, Fontes V, Gironet N, Huttenberger B, Lorette G, Vaillant L. Clinical manifestations of the mouth revealing Vitamin B12 deficiency before the onset of anemia. *Ann Dermatol Venereol.* 2003;130:191-4.
33. Bogduk N. An anatomical basis for neck-tongue syndrome. *J of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 1981; 44: 202-8.
34. Mravak M. Severity of glossopyrosis depending on the duration of cervical syndrome. *Acta Stomatol Croat* 1983; 17: 305.
35. Kramp B, Graumuller S. Glossopyrosis--diagnosis and therapy. *Laryngorhinootologie.* 2004 Apr; 83(4):249-62.
36. Gao S, Wang Y, Wang Z. Assessment of trigeminal somatosensory evoked potentials in burning mouth syndrome. *Chin J Dent Res* 2000; 3:40–46.
37. Heckmann SM, Heckmann JG, Hilz MJ, Popp M, Marthol H, Neundorfer B, et al. Oral mucosal blood flow in patients with burning mouth syndrome. *Pain* 2001; 90:281–286.

38. Jaaskelainen SK, Rinne JO, Forssell H, Tenovuo O, Kaasinen V, Sonninen P, et al. Role of the dopaminergic system in chronic pain—a fluorodopa-PET study. *Pain* 2001; 90:257–260.
39. Forssell H, Jaaskelainen S, Tenovuo O, Hinkka S. Sensory dysfunction in burning mouth syndrome. *Pain* 2002; 99:41–47.
40. Macfarlane TV, Kincey J, Worthington HV. The association between psychological factors and oro-facial pain: a community-based study. *Eur J Pain*. 2002;6:427-34.
41. Friedlander AH, Marder SR, Sung EC, Child JS. Panic disorder: psychopathology, medical management and dental implications. *J Am Dent Assoc*. 2004 Jun;135(6):771-8.
42. Friedlander AH, Friedlander IK, Marder SR. Posttraumatic stress disorder: psychopathology, medical management, and dental implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004 Jan;97(1):5-11.
43. Carlson CR, Miller CS, Reid KI . Psychosocial profiles of patients with burning mouth syndrome. *J Orofac Pain* 2000; 14:59–64.
44. Grushka M, Ching V, Epstein J. Burning mouth syndrome. *Adv Otorhinolaryngol*. 2006;63:278-87
45. Al Quran FA. Psychological profile in burning mouth syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004 Mar;97(3):339-44.
46. Nicholson M, Wilkinson G, Field E, Longman L, Fitzgerald B. A pilot study: stability of psychiatric diagnoses over 6 months in burning mouth syndrome. *J Psychosom* 2000; Res 49:1–2.

47. Rojo L, Silvestre FJ, Bagan JV, De Vicente T. Prevalence of psychopathology in burning mouth syndrome. A comparative study among patients with and without psychiatric disorders and controls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78:312–316.
48. Lamey PJ, Lewis T. Aetiological factors in burning mouth syndrome: A prospective study. *Br Med J* 1988; 296: 1243-6.
49. Grushka M. Clinical features of burning mouth syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987; 42: 7-9.
50. Buchanan J, Zakrzewska J. Burning mouth syndrome. *Clin Evid.* 2004;12:1899-905.
51. van der Waal I. *The Burning Mouth Syndrome.* 1990; Copenhagen: Munksgaard.
52. Hershkovich O, Nagler RM. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth syndrome, xerostomia and/or gustatory disturbances. *Arch Oral Biol.* 2004 Jul;49(7):515-22.
53. Culhane NS, Hodle AD. Burning mouth syndrome after taking clonazepam. *Ann Pharmacother* 2001; 35:874–876.
54. Triantos D, Kanakis P. Stomatodynia (burning mouth) as a complication of enalapril therapy. *Oral Dis.* 2004 Jul;10:244-5.
55. Sardella A, Lodi G, Demarosi F, Bez C, Cassano S, Carrassi A. Burning mouth syndrome: a retrospective study investigating spontaneous remission and response to treatments. *Oral Dis.* 2006 Mar;12(2):152-5.

56. A. Scala L, Checchi M, Montevercchi I, Marini: Update on Burning Mouth Syndrome: Overview and Patient Management. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14 (4):275-291.
57. Lamey PJ, Freeman R, Eddie SA, Pankhurst C, Rees T. Vulnerability and presenting symptoms in burning mouth syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005 Jan; 99(1):48-54.
58. Slavkin HC. Toward molecularly based diagnostics for the oral cavity. *JADA* 1998; 8:1138-43.
59. Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *2000 Int Dent J* 50:140-161.
60. Andreis I, Batinić D, Čulo F, Grčević D, Marušić M, Tardi M, Višnjić D. *Imunologija. Medicinska naklada Zagreb; 2004.*
61. Durum SK, Oppenheim JJ. Macrophage derived mediators: Interleukin 1, tumor necrosis factor, interleukin 6, interferon, and related cytokines. *Fundamental Immunology* 2 nd ed. 1989: New York: Raven Press, 639-661.
62. Yoshie O et al Chemokines in immunity. *Advances in Immunology* 2001; 78: 57-110.
63. Baccala R, Kono DH, Theofilopoulos AN. Interferons as pathogenic effectors in autoimmunity. *Immunol Rev.* 2005 Apr;204:9-26.
64. Vainstein V, Ginosar Y, Shoham M, Ranmar DO, Ianovski A, Agur Z. The complex effect of granulocyte colony-stimulating factor on human granulopoiesis analyzed by a new physiologically-based mathematical model. *J Theor Biol.* 2005 Jun 7; 234(3):311-27.

65. Soede-Bobok AA. et al. Molecular understanding of hematopoietin/cytokine receptor signaling defects in hematopoietic disorders. 1997; *Journal of Molecular Medicine* 75(7): 470-7.
66. Paul WE Pleiotropy and redundancy: T cell-derived lymphokines in the immune response. 1989; *Cell* 57: 521-4.
67. Ward AC, Loeb DM, Soede-Bobok AA, Touw IP, Friedman AD. Regulation of granulopoiesis by transcription factors and cytokine signals. *Leukemia*. 2000 Jun;14(6):973-90.
68. Pantel K and Nakeff A The role of lymphoid cells in hematopoietic regulation. *Experimental Hematology* 1993; 21: 738-42.
69. Gharaee-Kermani M and Phan SH Role of cytokines and cytokine therapy in wound healing and fibrotic diseases. *Current Pharmaceutical Design* 2001; 7(11): 1083-103.
70. Ribatti D et al Angiogenesis under normal and pathological conditions. *Haematologica* 1991; 76: 311-320.
71. Martin P Mechanisms of Wound healing in the embryo and fetus. *Current Topics in Developmental Biology* 1996; 32: 175-203.
72. Williams TM et al Interleukin 2: Basic biology and therapeutic use. *Hematology Pathol.* 1991; 5: 45-55.
73. Ferlazzo G, Thomas D, Lin SL, Goodman K, Morandi B, Muller WA, Moretta A, Munz C. The abundant NK cells in human secondary lymphoid tissues require activation to express killer cell Ig-like receptors and become cytolytic. *J Immunol.* 2004 Feb 1;172 (3):1455-62.

74. Smith KA. Interleukin-2: inception, impact, and implications. *Science*. 1988 May 27;240(4856):1169-76.
75. Setoguchi R, Hori S, Takahashi T, Sakaguchi S. Homeostatic maintenance of natural Foxp3(+) CD25(+) CD4(+) regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J Exp Med*. 2005 Mar 7;201(5):723-35.
76. Hulan E, Heinzer H, Hulan H, Yung R. Overview of interleukin-2 inhalation therapy. *Cancer J Sci Am*. 2000 Feb;6 Suppl 1:S104-12.
77. Hirano T Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease. *Clin. Immunology Immunopathol*. 1990; 62: S60-S65 (1992).
78. Helle M et al Differential induction of interleukin-6 production by monocytes, endothelial cells and smooth muscle cells. *Progress in Clinical and Biological Research* 1991, 367: 61-71.
79. Hirano T.,A. Shizuo, T. Taga, T. Kishimoto. Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol. Today* 11, 443-449.
80. Kim HD, Lee HJ, Choi HS, Ju JS, Jung CY, Bae YC, Ahn DK Interleukin-1 beta injected intracisternally inhibited NMDA-evoked behavioral response in the orofacial area of freely moving rats. *Neurosci Lett*. 2004 Apr 22;360(1-2):37-40.
81. Chichorro JG, Berenice B. Lorenzetti ,Aleksander R. Zampronio. Involvement of bradykinin, cytokines, sympathetic amines and prostaglandins in formalin-induced orofacial nociception in rats. *British Journal of Pharmacology* 2004; 141, 1175–1184.
82. Christian S. Stohler, D.D.S. Chronic Orofacial Pain: Is the Puzzle Unraveling? *J Dent Edu*. 2001 Dec; 65 (12): 1383-1392.

83. Woolf, C.J. & Salter, M.W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Neuroscience* (2000). 288, 1765–1768.
84. Streckfus CF, Bigler L, Navazesh M, Al-Hashimi I. Cytokine concentrations in stimulated whole saliva among patients with primary Sjögren's, secondary Sjögren's syndrome, and primary Sjögren's syndrome receiving varying doses of interferon for symptomatic treatment of the condition: a preliminary study. *J Clin Oral Invest* 2001; 5: 133-135
85. Xia J, Lin M, Jin Z. Correlations among mood disorder, serum interleukin-2 and interleukin-6 in patients with burning mouth syndrome. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2003 Oct;21(5):377-8.
86. Woda A, Pionchon P. Orofacial idiopathic pain: clinical signs, causes and mechanisms. *Rev Neurol (Paris)*. 2001 Mar;157(3):265-83.
87. Yamano S, Atkinson JC, Baum BJ, Fox PC. Salivary gland cytokine expression in NOD and normal BALB/c mice. *Clin Immunol*. 1999;92:265-75.
88. Choi HS, Ju JS, Lee HJ, Kim BC, Park JS, Ahn DK. Effects of intracisternal injection of interleukin-6 on nociceptive jaw opening reflex and orofacial formalin test in freely moving rats. *Brain Res Bull*. 2003 Jan; 30;59(5):365-70.
89. Emshoff R, Puffer P, Rudisch A, Gassner R Temporomandibular joint pain: relationship to internal derangement type, osteoarthritis, and synovial fluid mediator level of tumor necrosis factor-alpha. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000 Oct;90(4):442-9.
90. Kopp S. Neuroendocrine, immune, and local responses related to temporomandibular disorders. *J Orofac Pain*. 2001 Winter;15(1):9-28.

91. Kardel R, Ulfgren AK, Reinholt FP, Holmlund A. Inflammatory cell and cytokine patterns in patients with painful clicking and osteoarthritis in the temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003 Aug;32(4):390-6.
92. Hung J, McQuillan BM, Chapman CM, Thompson PL, Beilby JP. Elevated Interleukin-18 Levels Are Associated With the Metabolic Syndrome Independent of Obesity and Insulin Resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Mar 24.
93. Santangelo C, Scipioni A, Marselli L, Marchetti P, Dotta F. Suppressor of cytokine signaling gene expression in human pancreatic islets: modulation by cytokines. *Eur J Endocrinol.* 2005 Mar;152(3):485-9.
94. O'Connor JC, Satpathy A, Hartman ME, Horvath EM, Kelley KW, Dantzer R, Johnson RW, Freund GG. IL-1beta-mediated innate immunity is amplified in the db/db mouse model of type 2 diabetes. *J Immunol.* 2005 Apr 15;174(8):4991-7.
95. Giulietti A, Stoffels K, Decallonne B, Overbergh L, Mathieu C. Monocytic expression behavior of cytokines in diabetic patients upon inflammatory stimulation. *Endocrinology.* 2005 Mar 31.
96. Anisman H, Merali Z, Poulter MO, Hayley S. Cytokines as a precipitant of depressive illness: animal and human studies. *Curr Pharm Des.* 2005;11(8):963-72.
97. O'Brien SM, Scott LV, Dinan TG. Cytokines: abnormalities in major depression and implications for pharmacological treatment. *Hum Psychopharmacol.* 2004 Aug;19(6):397-403.
98. Thomas AJ, Davis S, Morris C, Jackson E, Harrison R, O'Brien JT. Increase in interleukin-1beta in late-life depression. *Am J Psychiatry.* 2005 Jan;162(1):175-7.

99. Sun A, Wang JT, Chia JS, Chiang CP. Serum interleukin-8 level is a more sensitive marker than serum interleukin-6 level in monitoring the disease activity of oral lichen planus. *Br J Dermatol.* 2005 Jun;152(6):1187-92.
100. Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Ho V, Ondrey F. NFkappaB dependent cytokines in different oral fluids from patients with oral lichen planus. *J. Clin. Immunology*, 2005; 97:231-237.
101. Streckfus CF, Bigler LR. Saliva as diagnostic fluid. *Oral Diseases* 2002; 8,69-76.

10. ŽIVOTOPIS

Daria Simčić rođena je u Puli 06. 02. 1974. godine.

Osnovnu školu završava na Rijeci gdje upisuje Srednju medicinsku školu, smjer zubni tehničar. Studij stomatologije na Medicinskom fakultetu u Rijeci upisuje 1992. Diplomirala je 1999. godine. Obvezni pripravnički staž obavila je u Domu zdravlja Rijeka, a državni ispit položila je u lipnju 2000. godine.

Po položenom državnom ispitu radi kao liječnik stomatolog u Domu zdravlja Gospić gdje od 2000. godine obavlja polivalentnu stomatološku zaštitu u stomatološkoj ordinaciji u Karlobagu.

Od 2000. do 2006. godine sudjeluje na brojnim radnim i demonstracijskim tečajevima za trajno usavršavanje stomatologa.

Poslije diplomski studij upisala je 2000/01. godine na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Članica je Hrvatske stomatološke komore, Hrvatskog liječničkog zbora, te Hrvatskog društva za Medicinsku hipnozu.

Članci proizašli iz istraživanja razine salivarnih citokina kod bolesnika s atipičnim bolnim stanjima objavljeni su joj u časopisu indeksiranom u CC (Mediators of Inflammation. 2006; 1–4), te u časopisu Medicina.

S prezentacijom postera sudjelovala je na II Međunarodnom simpoziju medicinske hipnoze i hipnoterapije u Opatiji 2005.

Aktivno govori engleski i talijanski jezik.