

lek. dent. Amadeusz Hernik

Biodostępność proenkefalinowych i prozapalnych polipeptydów śliny w aspekcie zdrowia jamy ustnej u osób z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego

(Bioavailability of proenkephalin and proinflammatory salivary polypeptides in the aspect of oral health in persons diagnosed with anorexia nervosa)

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: dr hab. n. med. Elżbieta Paszyńska, prof. UMP

Promotor: prof. dr hab. n. med. Monika Dmitrzak-Węglarz

Zakład Stomatologii Zintegrowanej,

Katedra i Klinika Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji

Zakład Genetyki w Psychiatrii, Katedra Psychiatrii



Kolegium Nauk Medycznych

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2021

Pragnę serdecznie podziękować

dr hab. n. med. Elżbiecie Paszyńskiej, prof. UMP,

prof. dr hab. n. med. Monice Dmitrzak-Węglarz

za życzliwość, inspirację, cenne wskazówki i pomoc.

Dziękuję wszystkim tym, którzy wspierali mnie w tworzeniu niniejszej pracy.

SPIS TREŚCI

1. Wykaz skrótów	5
2. Wprowadzenie	7
2.1. Charakterystyka jadłowstrętu psychicznego (opis, przyczyny, demografia, przebieg i rokowania, leczenie)	7
2.2. Powikłania stomatologiczne jadłowstrętu psychicznego (tkanki twarde i miękkie jamy ustnej)	14
2.3. Metody izolacji śliny jako materiału diagnostycznego (jak pobieramy ślinę niestymulowaną, stymulowaną, testy Schirmera, Saxona, pobieranie z ujść przewodów dużych ślinianek).	20
2.4. Opiorfina	23
2.5. Immunoglobuliny IgA, IgG i IgM	26
3. Cel pracy	27
4. Materiały i metody	28
4.1. Charakterystyka badanej grupy	28
4.2. Badanie i ocena stanu zdrowia jamy ustnej	31
4.3. Pobranie śliny całkowitej	34
4.4. Testy laboratoryjne	35
4.5. Analiza statystyczna	37
5. Wyniki badań	38
5.1. Charakterystyka poszczególnych grup	38
5.2. Badania kliniczne	42
5.3. Analizy biomarkerów białkowych śliny	50

6. Dyskusja	57
6.1. Badanie kliniczne jamy ustnej	57
6.2. Wykorzystanie stężeń opiorfyny i immunoglobulin w ocenie stanu psychicznego oraz zdrowia jamy ustnej pacjentek z jadłowstrętem psychicznym.....	61
6.3. Ograniczenia przeprowadzonych badań	65
7. Podsumowanie	66
8. Wnioski	67
9. Streszczenie	68
10. Summary	70
11. Piśmiennictwo	72
12. Spis tabel, rycin i wykresów	88
13. Załączniki	90
Załącznik nr 1 UCHWAŁA KOMISJI BIOETYCZNEJ	90
Załącznik nr 2 KARTA BADANIA STOMATOLOGICZNEGO	91

1. WYKAZ SKRÓTÓW

AN	jadłowstręt psychiczny (ang. <i>anorexia nervosa</i>)
BEWE	wskaźnik podstawowego badania erozji (ang. <i>Basic Erosive Wear Examination</i>)
BMI	wskaźnik masy ciała (ang. <i>body mass index</i>)
BMS	zespół pieczenia jamy ustnej (ang. <i>burning mouth syndrome</i>)
BN	żarłoczność psychiczna (ang. <i>bulimia nervosa</i>)
BOP	wskaźnik krwawienia podczas zgłębnikowania kieszonki przyzębnej (ang. <i>bleeding on probing</i>)
CUN	centralny/ośrodkowy układ nerwowy (ang. <i>central nervous system</i>)
DHEA	hormon dehydroepiandrosteron
DNA	kwasy deoksyrybonukleinowe (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DSM-5	Klasyfikacja zaburzeń psychicznych Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego uaktualniona w 2013 roku (ang. <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>)
ELISA	test immunoenzymatyczny (ang. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
GBI	wskaźnik krwawienia dziąseł (ang. <i>gingival bleeding index</i>)
GCP	dobra praktyka kliniczna (ang. <i>good clinical practice</i>)
IBW	wskaźnik idealnej/należnej masy ciała (ang. <i>ideal body weight</i>)
IgA/G/M	immunoglobuliny klasy A, G lub M
ICD10	10 wersja Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób (ang. <i>International Classification of Diseases</i>)
K	grupa kontrolna (ang. <i>control group</i>)
ns	brak istotności statystycznej (ang. <i>not significant</i>)

P	wskaźnik określający liczbę stałych zębów z próchnicą (ang. <i>D – decayed</i>)
PCR	wskaźnik kontroli płytki nazębnej (ang. <i>plaque control record</i>)
PUWZ	wskaźnik określający sumę zębów stałych dotkniętych próchnicą, utraconych z jej powodu oraz z wypełnieniami (ang. <i>DMFT - decayed, missing, and filled teeth</i>)
puwz	wskaźnik określający sumę zębów mlecznych dotkniętych próchnicą, utraconych z jej powodu oraz z wypełnieniami (ang. <i>dmft - decayed, missing, and filled teeth</i>)
SD	odchylenie standardowe (ang. <i>standard deviation</i>)
TMB	3,30,5,50-tetrametylobenzydyna
TTI	całkowity czas trwania choroby (ang. <i>total duration of illness</i>)
U	wskaźnik określający liczbę zębów stałych utraconych z powodu próchnicy (ang. <i>M - missing</i>)
u	wskaźnik określający liczbę zębów mlecznych utraconych z powodu próchnicy (ang. <i>m - missing</i>)
VPI	wskaźnik widocznej płytki nazębnej (ang. <i>visible plaque index</i>)
W	wskaźnik określający liczbę zębów stałych z wypełnieniami (ang. <i>F – filled</i>)
w	wskaźnik określający liczbę zębów mlecznych z wypełnieniami (ang. <i>f – filled</i>)

WPROWADZENIE

2.1. Charakterystyka jadłowstrętu psychicznego (opis, przyczyny, demografia, przebieg i rokowania, leczenie)

Zaburzenia odżywiania należą do zaburzeń psychicznych [DSM-5]. Charakteryzują się specyficznymi objawami psychopatologicznymi związanymi z przyjmowaniem pokarmu, prowadzącymi do nieprawidłowego funkcjonowania organizmu oraz wielu powikłań somatycznych. Na podstawie kryteriów diagnostycznych zawartych w DSM-5 (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fifth edition, 2013*), Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne (APA) wyróżnia następujące zaburzenia odżywiania:

- jadłowstręt psychiczny (*anorexia nervosa*, AN),
- żarłoczność psychiczna (*bulimia nervosa*, BN),
- zespół napadowego objadania się,
- inne specyficzne zaburzenia żywienia i odżywiania się oraz
- niespecyficzne zaburzenia żywienia i odżywiania się.

Jadłowstręt psychiczny charakteryzuje się zachowaniami, które prowadzą do drastycznego zmniejszenia masy ciała przy jednoczesnym lęku przed jej zwiększeniem. Pojawia się także zaburzone postrzeganie własnego ciała.

Termin *anorexia* wywodzi się z języka greckiego z połączenia słów *an* - pozbawienie, brak i *oreksis* – apetyt. Przejawy zachowań sugerujących zaburzenia odżywiania obserwowano już w starożytności i wczesnym średniowieczu (asceza ze względów religijnych), a zachowania odpowiadające dzisiejszym kryteriom jadłowstrętu psychicznego, opisywano w Anglii i Francji już w 2. połowie XVII wieku [Namysłowska, 2012].

W najbardziej aktualnej klasyfikacji DSM-5 zawarte są trzy główne kryteria diagnostyczne jadłowstrętu psychicznego:

- 1) Ograniczenie podaży energii w stosunku do wymagań, prowadzące do wystąpienia niedostatecznej masy ciała (poniżej minimalnej prawidłowej masy ciała lub w przypadku dzieci i osób dorastających, poniżej minimalnej oczekiwanej masy ciała), określonej w odniesieniu do wieku, płci, krzywej rozwoju i stanu zdrowia.

2) Silna obawa o zwiększenie masy ciała lub przytycie albo utrzymujące się zachowania wpływające na zmniejszenie masy ciała, nawet w przypadku występowania niedostatecznej masy ciała.

3) Zakłócenie w zakresie postrzegania masy ciała lub kształtu własnego ciała, nadmierny wpływ masy ciała lub kształtu ciała na samoocenę albo uporczywy brak postrzegania występującej niedostatecznej masy ciała jako problemu.

Powyższe kryteria z 2013 roku, zmniejszyły liczbę pacjentów, u których wcześniej rozpoznawano niespecyficzne zaburzenia żywienia i odżywiania, przyczyniając się do diagnozowania u większej liczby osób jadłowstrętu psychicznego [Mustelin i wsp. 2016]. Wykluczono wcześniejsze kryterium braku miesiączki w ostatnich 3 miesiącach. Do oceny ciężkości zaburzenia zaczęto wykorzystywać wartość wskaźnika masy ciała, *body mass index* (BMI) oraz ustalono, że strach przed zwiększeniem masy nie musi być zgłaszany ustnie, tylko stwierdzany na podstawie zachowań [Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne 2013; Attia i wsp. 2013].

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) w międzynarodowej klasyfikacji chorób w klasyfikacji ICD-10 zwraca uwagę na podobne kryteria diagnostyczne AN:

- 1) Masa ciała utrzymuje się na poziomie co najmniej 15% poniżej oczekiwanej.
- 2) Utrata masy ciała jest wywoływana przez unikanie „tuczących pokarmów”, a ponadto za pomocą jednej z wymienionych czynności: prowokowanie wymiotów, przeczyszczanie się, wyczerpując ćwiczenia fizyczne, stosowanie leków tłumiących łaknienie i/lub środków moczopędnych.
- 3) Zaburzone wyobrażenie własnego ciała, obawa przed otyłością występuje w formie natrętnej myśli nadwartościowej.
- 4) Zaburzenia hormonalne.

Amerykańskie Stowarzyszenie Psychiatryczne oraz Światowa Organizacja Zdrowia wyróżniają postać ograniczającą jadłowstrętu oraz z napadami objadania się/prieczyszczaniem. Tę pierwszą diagnozuje się w sytuacji, gdy w ciągu ostatnich 3 miesięcy dana osoba stosowała diety odchudzające, głodówki, przesadnie intensywne ćwiczenia, ale nie podejmowała regularnie takich zachowań jak objadanie się lub przeczyszczanie, a drugą, gdy w tym czasie chory regularnie prowokował wymioty, nadużywał substancji przeczyszczających, środków moczopędnych lub wlewów przeczyszczających. Dodatkowe objawy potwierdzające rozpoznanie są najczęściej związane z efektami niedożywienia. Dotyczą one całego organizmu i zakłócają wiele funkcji fizjologicznych. Do oceny ciężkości zaburzenia stosuje się wskaźnik BMI,

przy czym w przypadku dzieci i osób w okresie adolescencji należy korzystać z odpowiednich siatek centylowych. Dla osoby dorosłej wartości prawidłowe wskaźnika mieszczą się w przedziale (18,5-24,99 kg/m²). Postać łagodną jadłowstrętu psychicznego stwierdza się, gdy BMI \geq 17 kg/m², umiarkowaną 16-16,99 kg/m², ciężką BMI 15-15,99 i bardzo ciężką (ekstremalną), gdy BMI $<$ 15 kg/m² [DSM-5]. Anoreksję należy różnicować z żarłocznością psychiczną (*bulimia nervosa*, BN), którą stwierdza się na podstawie poniższych kryteriów DSM-5:

1) Nawracające napady objadania się. Epizod objadania się charakteryzuje się obiema z następujących cech:

- jedzenie w wyodrębnionym okresie (np. w ciągu dwóch godzin) takiej ilości pożywienia, która zdecydowanie przekracza to, co większość ludzi zjadłaby w podobnym czasie w podobnych okolicznościach;

- poczucie braku kontroli nad jedzeniem w czasie takiego epizodu (np. poczucie, że nie można zaprzestać jedzenia lub zapanować na tym, ile się zjada).

2) Nawracające, nieodpowiednie zachowania kompensacyjne podejmowane w celu zapobieżenia przyrostowi masy ciała, takie jak: prowokowanie wymiotów, nadużywanie leków przeczyszczających, moczopędnych, wlewów przeczyszczających lub innych leków, głodowanie lub nadmierne ćwiczenia fizyczne.

3) Napady objadania się i następujące po nich zachowania kompensacyjne pojawiają się minimum raz w tygodniu przez co najmniej 3 miesiące.

4) Samoocena pozostaje pod nadmiernym wpływem kształtu i masy ciała.

5) Zaburzenie nie występuje podczas epizodów jadłowstrętu psychicznego.

Etiologia AN

Jadłowstręt psychiczny rozpoznaje się najczęściej w okresie dojrzewania i wczesnej dorosłości. W tym okresie organizm podlega dojrzewaniu biologicznemu (zmiany w wyglądzie i budowie ciała), psychicznemu (kształtowanie się osobowości) czy też społecznemu (podejmowanie ról społecznych). Jest to okres w którym młoda osoba jest szczególnie wrażliwa na działanie czynników stresogennych takich jak np.: brak akceptacji ze strony rówieśników, wymagania szkolne, wyprowadzka z domu rodzinnego czy podjęcie pierwszej pracy. Pewne grupy społeczne są bardziej narażone na wystąpienie jadłowstrętu [Garner, 1980 i 2002]. Dotyczy to osób z zaburzeniami lękowymi, obsesjami, podatnych na oddziaływanie czynników kulturowych,

stawiających wizerunek szczupłej sylwetki jako ideał. Podwyższone ryzyko występuje również wśród pewnych grup zawodowych, gdzie masa ciała ma duże znaczenie np. modelki, tancerze, sportowcy.

Etiologia zaburzeń odżywiania jest wieloprzyczynowa i nie w pełni poznana. Stwierdzono wpływ czynników biologicznych na wystąpienie AN. Potwierdzają to badania genetyczne nad osobami blisko spokrewnionymi (szczególnie w pierwszym stopniu pokrewieństwa), wśród których częściej występują takie zaburzenia [Strober i wsp. 2000]. Badania wykonywane metodami biologii molekularnej pozwalają na identyfikację markerów genetycznych chorób, poszczególnych ich objawów czy cech. W swojej metaanalizie Baker i wsp. [2018] wskazują, że z ryzykiem AN związane są głównie geny układu serotoninergecznego, ponieważ ten system neuroprzekaźnikowy jest znaczący dla kontroli odżywiania się i nastroju. Szczególne znaczenie przypisuje się genom kodującym receptory serotoniny oraz transportery, w szczególności HTR2A i 5-HTT. Berner i wsp. [2019] zwracają uwagę na rolę czynników neuroendokrynych (m.in. peptyd YY, insulina, hormony płciowe, oreksyny), które są związane z homeostazą oraz masą ciała i odgrywają integralną rolę w układzie nagrody związanej z przyjmowaniem pokarmu, poprzez interakcje z mezolimbicznym układem dopaminowym. Wagner i wsp. [2008] przy pomocy rezonansu magnetycznego określali u 16 pacjentek, u których doszło do normalizacji masy ciała, leczonych wcześniej z powodu AN typu restrykcyjnego, aktywność neuronalną wyspy (*insula*). Temu rejonowi mózgu przypisuje się regulację stanów głodu i sytości. Badana grupa wykazała istotnie mniejszą aktywność neuronalną tej części kory w porównaniu z kontrolną, którą tworzyły osoby zdrowe. Kułakowska i wsp. [2014] zwraca również uwagę na to, że połączenie wyspy z korą somatosensoryczną usprawnia procesy związane z kontrolą stanu organizmu jak również z jego subiektywną percepcją, mającą istotne znaczenie w AN. Inni badacze przy użyciu rezonansu magnetycznego zaobserwowali u chorych na AN większą objętość niektórych struktur mózgu odpowiedzialnych za odczuwanie smaków i kontrolę jedzenia w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami [Frank i wsp. 2013]. Stwierdzili również, że zwiększona objętość istoty szarej w korze oczodołowo-czołowej wiązała się z mniejszą przyjemnością z odczuwania słodkiego smaku.

Czynników etiologicznych AN poszukuje się również w środowisku rodzinnym [Treasure i Nazar, 2016]. Model rodziny o zatartych granicach międzypokoleniowych, w której unika się bezpośredniego wyrażenia negatywnych emocji, gdzie jednocześnie

roztacza się nadmierną ochronę nad dziećmi utrzymując przy tym sztywne relacje między jej członkami, predysponuje do występowania zaburzeń odżywiania. Ponad jedna trzecia pacjentów z anoreksją uważa, że jednym z czynników sprzyjających rozwinięciu się u nich choroby była jakaś dysfunkcja dotycząca rodziny [Tozzi i wsp. 2003].

Duże znaczenie mają też czynniki społeczno – kulturowe [Zipfel i wsp. 2015]. Kreowanie ideału szczupłego, kobiecego ciała oraz pewnych trendów dietetycznych ma istotny wpływ na zachowania i postrzeganie siebie, w szczególności w trudnym okresie adolescencji. Różne media promują wizerunek kobiet, w którym eksponują wysportowane sylwetki i sugerują, że tylko takie są gwarancją zdrowia i ułatwiają osiągnięcie życiowego sukcesu. Nie wszystkie młode dziewczyny są w stanie dopasować się do takich wzorców. Te obrazy pozostają też często w konflikcie z pewnymi ideałami, głęboko zakorzenionymi w niektórych kulturach, gdzie z jednej strony ma być zachowany tradycyjny model kobiecości, a z drugiej istnieje potrzeba, aby kobiety były samodzielne i w pełni realizowały swoje ambicje zawodowe czy życiowe [Namysłowska, 2012]. Becker i wsp. [2002] na podstawie badań młodych mieszkanek wyspy Fidżi, przeprowadzonych przed a następnie po wprowadzeniu telewizji, zaobserwowali, że po kontakcie z przedstawianymi tam treściami, kobiety zaczęły inaczej postrzegać swoje ciała, a objawy zaburzeń odżywiania nasiliły się.

Do pozabiologicznych modeli rozwoju jadłowstrętu psychicznego zalicza się również czynniki poznawcze, takie jak deficyt umiejętności zmiany w nastawieniu poznawczym. Wiele osób nie jest w stanie znieść pewnych stanów emocjonalnych takich jak na przykład lęk czy samotność. Dlatego chcąc je w pewien sposób regulować i unikać emocji, stosują strategie związane z wymiotami lub restrykcjami [Jarema, 2016].

Rozpowszechnienie

Rozpowszechnienie AN wśród młodych kobiet wynosi około 0,5% [DSM-5]. W populacjach klinicznych proporcja kobiet do mężczyzn z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego wynosi około 10:1 [Treasure, 2012; Petkova i wsp. 2019]. Dane dotyczące zapadalności w różnych krajach mogą być odmienne w zależności od grupy wiekowej objętej badaniem oraz użytych kryteriów diagnostycznych [Smink i wsp. 2012]. Wyniki badań Petkovej i wsp. [2019] prowadzone na przestrzeni 10 lat wśród chorych na AN z Wielkiej Brytanii, potwierdziły znaczący wzrost zachorowań,

szczególnie u dzieci poniżej 12 r.ż. Obserwacja ta może wynikać zarówno z realnego wzrostu zachorowań na skutek coraz silniej i wcześniej działających stresorów, jak również z większej świadomości i lepiej rozwiniętych metod diagnostycznych.

Przebieg

Jadłowstręt psychiczny pojawia się najwcześniej i jest najczęściej występującym zaburzeniem odżywiania [Nagl i wsp. 2016]. Początkowo osoby chore starają się ukryć fakt ograniczenia jedzenia, argumentując je stosowaniem diet, zdrowym żywieniem bez słodyczy, mięsa i „fast foodów” [Namysłowska, 2012]. Bardone-Cone i wsp. [2012] obserwowali, że pacjentki ponad czterokrotnie częściej deklarowały się jako wegetarianki, niż osoby zdrowe. Większość przyznała się, że było to związane z zaburzeniami odżywiania. Przebieg choroby zależy od wielu czynników i dotyczy całego organizmu. W efekcie głodzenia dochodzi do zaburzeń układu krążenia, gastroenterologicznych, nefrologicznych, hematologicznych, endokrynologicznych czy neurologicznych [American Academy of Pediatrics, 2003].

Fichter i wsp. [2017] obserwując grupę 112 pacjentów przez 20 lat od zdiagnozowania AN, stwierdzili remisję u 40% chorych. Errichiello i wsp. [2016] stwierdził wyzdrowienie u 34% leczonych. Tasaka i wsp. [2017] na podstawie wieloletnich badań pacjentek, u których stwierdzono chorobę przed 15 r.ż., stwierdzili całkowitą remisję u 71% badanych, a częściową u 16%. Badacze określili, że pierwsze 5-6 lat choroby, to czas w którym najczęściej dochodzi do wyzdrowienia. Lepiej rokuje młodsi pacjenci [Fichter, 2017; Errichiello, 2016], choć zdaniem Jenkins [2020], w przypadku, gdy choroba występuje przed 14 rokiem życia, jej przebieg jest bardziej nasilony. Przewlekły charakter choroby, gorsze wyniki testów psychologicznych, długi pobyt w szpitalu czy niższe BMI przy diagnozie mają negatywny wpływ na przebieg choroby. Czynnikiem istotnie przyczyniającym się do wyzdrowienia były przede wszystkim: wsparcie innych osób spoza rodziny, zastosowana terapia oraz dojrzewanie [Tozzi, 2003]. 12. letnie obserwacje Fichter i wsp. [2006] wykazały, że połowa chorych zgłaszała problemy psychologiczne związane z nadal występującymi zaburzeniami odżywiania, przewlekłymi zaburzeniami obsesyjno-kompulsyjnymi lub trudnościami w interakcji społecznej. Rzadko występuje przejście choroby w żarłoczność psychiczną (bulimia nervosa) czy otyłość [Fichter i wsp. 2017]. Wśród osób z jadłowstrętem psychicznym obserwuje się większą śmiertelność niż w populacji zdrowej, która jest

związana z wyniszczającym charakterem choroby oraz większym ryzykiem podejmowania prób samobójczych [Arcelus i wsp. 2011, Franko i wsp. 2013].

Leczenie

Według Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego (*American Psychiatric Association*) celami terapii AN jest:

- powrót do prawidłowej masy ciała rozumianej jako umożliwiającą prawidłowy rozwój i wzrost organizmu,
- leczenie powikłań choroby,
- zwiększenie motywacji pacjentów do współpracy,
- zapewnienie odpowiedniej edukacji żywieniowej,
- zmiana stosunku do zaburzenia odżywiania,
- terapia współwystępujących problemów emocjonalnych,
- uzyskanie wsparcia rodziny,
- zapobieganie nawrotom.

W związku z powyższym, ważne jest, aby leczenie odbywało się w specjalistycznych ośrodkach, posiadających wielodyscyplinarne kompetencje i doświadczenie. W zależności od ogólnego stanu i współpracy pacjenta, może być ono prowadzone w szpitalu lub ambulatoryjnie. W terapii jadłowstrętu bardzo istotna jest realimentacja, czyli powrót do odżywiania doustnego i stopniowe zwiększanie ilości przyjmowanego pokarmu, w celu zwiększenia masy ciała [Garber i wsp. 2016]. Kluczowa jest zmiana nastawienia pacjenta do spożywania posiłków. Stąd bardzo duże znaczenie w leczeniu ma psychoterapia. Jest to złożony proces, który powinien być spersonalizowany dla każdego pacjenta. Początkowo zalecana jest terapia poznawczo-behawioralna. Należy zmienić złe wzorce postrzegania, poznać czynniki, które mogły się przyczynić do wystąpienia zaburzeń [Sansone i wsp. 2005]. Analiza badań wykazała, że włączenie rodziny do terapii, ma pozytywny wpływ na proces leczenia [Alckmin-Carvalho i wsp. 2018].

Zippfel i wsp. [2015] na podstawie przeglądu piśmiennictwa stwierdzili, że nie ma wystarczających dowodów na to, aby stosowanie leków przeciwdepresyjnych przyczyniało się do zwiększenia masy ciała czy zmniejszenia nasilenia objawów zaburzeń odżywiania. Marvanova i Gramith [2018] uważają, że ta grupa leków może być stosowana pomocniczo przy współwystępujących objawach depresji czy lęku.

Brewerton i D'Agostino [2017] zaobserwowali pozytywny wpływ krótkotrwałego podawania niskich dawek benzodiazepin, na obniżenie poziomu lęku przed jedzeniem. Badania dowodzą również, że suplementacja cynku przyspiesza wzrost BMI, co może być związane z tym, że bierze on m.in. udział w mechanizmach odbierania bodźców smaku i zapachu [Lock i Fitzpatrick 2007]. Regiony centralnego układu nerwowego i receptory zmysłowe, które odbierają i interpretują przyjemność jedzenia są bardzo bogate w cynk [Bourre 2006].

2.2. Powikłania stomatologiczne jadłowstrętu psychicznego (tkanki twarde i miękkie jamy ustnej)

Skutkiem zaburzeń odżywiania są specyficzne objawy i powikłania w obrębie jamy ustnej. Istotne jest, aby lekarz dentysta potrafił je rozpoznać i odpowiednio ustalić ich przyczynę. Johansson i wsp. [2015] badali świadomość i wiedzę norweskich stomatologów w tej dziedzinie. 1726 dentystów wypełniło ankietę, z której wynika, że dzięki wiedzy zdobytej w ramach odbytych studiów oraz doniesieniom medialnym, posiadają oni dobrą/bardzo dobrą wiedzę na temat zaburzeń odżywiania. Pośród ankietowanych lepszą znajomość w tej kwestii miały kobiety. Średnio każdy z lekarzy w swojej karierze przyjmował w gabinecie dwóch pacjentów z zaburzeniami odżywiania, a 91% spośród nich leczyło taką osobę w ostatnim roku.

Powikłania stomatologiczne jadłowstrętu psychicznego dotyczą zarówno tkanek twardych jak i miękkich jamy ustnej. Ze względu na różne zachowania związane z zaburzeniami odżywiania, chorzy na AN przejawiają odmienne objawy w jamie ustnej [Pallier i wsp. 2019]. Wiele publikacji zwraca uwagę na częstość występowania próchnicy u osób z zaburzeniami odżywiania, najczęściej badając zarówno AN jak i BN w porównaniu do osób zdrowych. Pallier i wsp. [2019] stwierdzili zwiększoną wartość PUWZ (wskaźnik określający sumę zębów stałych dotkniętych próchnicą, utraconych z jej powodu oraz z wypełnieniami) u chorych na AN ($8,2 \pm 7,3$) w odniesieniu do grupy kontrolnej ($4,7 \pm 4,8$, $p < 0,01$), przy czym dodatkowo obserwowano znacznie większe nagromadzenie płytki zębowej. Laurencio i wsp. [2017] uzyskali zbliżone wyniki współczynnika PUWZ wśród pacjentek z AN, przy czym podobnie jak Pallier i wsp. badali oni jedynie osoby pełnoletnie. Frydrych i wsp. [2005] oraz Aranha [2008] zestawiają badania z drugiej połowy dwudziestego wieku, gdzie zdania na ten temat są podzielone. Jedni autorzy wykazywali większą częstotliwość próchnicy oraz podwyższone poziomy kariogennych bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus*,

a drudzy nie obserwowali takich zmian. W badaniach Johansson [2012] pacjenci z zaburzeniami odżywiania znacząco częściej mieli wysoki poziom wspomnianych bakterii. Zwraca się uwagę na to, że występujące obniżone pH śliny, epizody objadania się wysokokalorycznymi, bogatymi w węglowodany pokarmami, może predysponować do rozwoju choroby próchnicowej szkliwa i zębiny.

Kisely i wsp. [2015] w przeprowadzonej meta analizie wykazali, że u pacjentów z zaburzeniami odżywiania częściej obserwuje się erozję zębów. Pallier [2019] i Lourenco [2017] wykazali większą częstotliwość i ciężkość erozyjnej utraty tkanek twardych zębów u pacjentów z BN niż z AN, zwracając uwagę na to, że częstsze wymioty są związane z zwiększoną erozją zębów. W sytuacji, gdy chorzy prowokują wymioty, erozja zębów występuje nawet 7 razy częściej niż u osób zdrowych, a wśród osób nieprzejawiających takich zachowań trzykrotnie [Kisely i wsp. 2015; Johansson, 2012]. Rusyan i wsp. [2010] obserwowali takie zmiany u 25% pacjentek z AN, a Paszyńska i wsp. [2015] u 24% chorych na BN (próba kontrolna – 9%). Erozja dotyczy głównie szkliwa, choć w niektórych przypadkach, gdy choroba trwa dłużej nawet zębiny. Pierwszym objawem klinicznym może być efekt wypolerowanego szkliwa oraz widoczne płytkie i szerokie zagłębienia na powierzchni zęba. W przypadku przewlekłego cofania się treści pokarmowej, kliniczne zmiany są charakterystycznie umiejscowione i określane mianem *perimolysis* [Daniel i wsp. 2015]. Największą erozję obserwuje się na powierzchniach podniebiennych zębów w szczęce, policzkowych w żuchwie oraz żujących, gdzie kwaśna treść żołądkowa dłużej oddziałuje na zęby, które są w mniejszym stopniu chronione przez język oraz ślinę wydostającą się z ujść gruczołów ślinowych [Robb i wsp. 1995]. Back-Brito i wsp. [2012] obserwowali *perimolysis* u 6,8% chorych z zaburzeniami odżywiania. Erozyjna utrata tkanek twardych zębów może być czynnikiem predysponującym do nadwrażliwości zębiny [West i wsp. 2013], co może tłumaczyć dlaczego osoby z zaburzeniami odżywiania częściej zgłaszały większe dolegliwości związane z nadwrażliwością zębów [Lourenco i wsp. 2017; Johansson i wsp. 2012; Emodi-Perlman i wsp. 2008].

Zaawansowane choroby przyzębia najczęściej dotyczą osób w starszej grupie wiekowej i ich występowanie u młodych osób jest nietypowe. Wiele czynników ma wpływ na stan przyzębia. U osób z jądłowstrętem psychicznym zwraca się uwagę na niedobory mikroelementów czy witamin, m.in. witaminy C odpowiedzialnej za syntezę kolagenu [Lourenco i wsp. 2017]. Pacjenci, w szczególności z BN, częściej niż osoby zdrowe palą wyroby tytoniowe, co ma negatywny wpływ na ich status

periodontologiczny. Wśród badanych z rozpoznaną AN procent palaczy nie był znacząco większy niż w grupie kontrolnej [Solmi i wsp. 2016; Anzengruber, 2006]. W badaniach Pallier i wsp. [2019] chorzy na AN prezentowali gorszy stan tkanek przyzębia niż na BN, z większą akumulacją płytki nazębnej, zapaleniem dziąseł i utratą przyczepu łącznotkankowego. Lourenco wsp. [2017] również obserwowali u chorych istotnie częstsze zapalenie przyzębia, ale nie zapalenie dziąseł. Johansson i wsp. [2012] wyznaczyli mniejszą wartość wskaźników krwawienia dziąseł, *gingival bleeding index* (GBI) oraz widocznej płytki nazębnej, *visual plaque index* (VPI) w grupie badanej, podczas gdy Touyz i wsp. [1992] w grupie badanej obserwowali większą ilość płytki. W porównaniu do grupy kontrolnej, osoby z AN wykazywały gorszy stan zdrowia jamy ustnej, choć intensywniej dbały o higienę jamy ustnej. Badania wykazały, że chorzy znacznie częściej szczotkują zęby niż osoby zdrowe [Dynesen i wsp. 2018, Pallier i wsp. 2019] Sugeruje się, że może to być związane z chęcią usunięcia nieprzyjemnego smaku w jamie ustnej, spowodowanego głodzeniem i wymiotami. Zwiększona, w granicach norm, dbałość o higienę jamy ustnej jest pozytywnym zjawiskiem, ale nieodpowiednia technika zabiegów może przyczyniać się do częstszego powstawania recesji dziąseł [Chrysanthakopoulos, 2014]. Touyz i wsp.[1992] obserwowali recesję u 10% chorych na AN oraz u 3% na BN, podczas gdy Back-Brito i wsp. [2012] aż u 25,4% z AN lub BN, a Shaughnessy i wsp. [2008] aż u 43% badanych z rozpoznanym jadłowstrętem psychicznym typu restrykcyjnego. Pallier i wsp.[2019] stwierdzili recesję na 3% powierzchni zębów pacjentów z jadłowstrętem psychicznym.

Osoby z zaburzeniami odżywiania częściej zgłaszają epizody pieczenia jamy ustnej [Lourenco i wsp. 2017; Johansson i wsp. 2012]. Zespół pieczenia jamy ustnej, *Burning Mouth Syndrome* (BMS), to jednostka chorobowa, którą lekarz może stwierdzić na podstawie subiektywnych objawów zgłaszanych przez pacjenta, gdyż najczęściej nie towarzyszą jej obiektywne, miejscowe zmiany na błonie śluzowej jamy ustnej. Johansson i wsp. [2012] wykazali, że szansa na wystąpienie epizodów pieczenia jamy ustnej jest w grupie pacjentów z zaburzeniami odżywiania 14,2 razy większa niż u zdrowych osób. W badaniach Back-Brito i wsp. [2012] 27,1% badanych z zaburzeniami odżywiania doświadczyło objawów pieczenia jamy ustnej, a Paszyńskiej i wsp. [2014] 12,9%. Etiologia tego zjawiska jest wieloczynnikowa i może mieć związek z kserostomią (zjawisko suchości błony śluzowej jamy ustnej), niedoborami makro- i mikropierwiastków, nieregularnym spożywaniem posiłków, posiłkami w nocy, wymiotami, dużymi dobowymi wahaniami pH w jamie ustnej,

mechanicznym i chemicznym drażnieniem błony śluzowej jamy ustnej, wahaniami hormonalnymi, działaniem ubocznym leków (antydepresyjnych, diuretycznych, przeczyszczających), stanami lękowymi i stresem towarzyszącym chorobie podstawowej, co ściśle wiąże się z objawami zaburzeń odżywiania [Cerchiari i wsp. 2006].

Panico i wsp. [2017] w swoich badaniach wykazali, że u osób z zaburzeniami odżywiania znacznie częściej występują zmiany na błonie śluzowej jamy ustnej niż w zdrowej populacji. W grupie badanej, którą w większości stanowiły pacjentki z rozpoznaną bulimią (71%), aż u 94% stwierdzono obecność zmian w jamie ustnej (dla porównania w grupie kontrolnej tylko u 18,5% badanych). Badacze najczęściej diagnozowali rumień wargi (labialerythema) i złuszczone zapalenie kąć ust (43%), pomarańczowo-żółte zabarwienie podniebienia związane z stosowaniem suplementów z karotenami (35%), zmiany krwotoczne (26%) oraz przygryzanie warg i policzków (18%). Rumień wargi był jedyną zmianą, która istotnie częściej występowała u pacjentek z BN niż z AN, co autorzy wiążą z czynnikami chemicznymi (prowokowane wymioty) oraz mechanicznymi (przygryzanie). Podobne zmiany na błonie śluzowej zaobserwowali Paszyńska i wsp. [2014], z tym, że badali oni wyłącznie pacjentki z AN. Poza ww. objawami, diagnozowali oni błądność błony śluzowej (29,0%), zanikowe zapalenie języka (25,8%), plamy rumieniowe na podniebieniu (12,9%) oraz nadżerki o etiologii urazowej (12,9%). Sugerują oni, że częstsze zmiany na błonie śluzowej u osób z zaburzeniami odżywiania są efektem odwodnienia i zmniejszonego wydzielania śliny, niedoboru mikrośladników odżywczych oraz wyższego poziomu stresu, który m.in. przyczynia się do wystąpienia parafunkcji.

U osób z zaburzeniami odżywiania badano również funkcjonowanie gruczołów ślinowych oraz ślinę. W literaturze opisywane są przypadki powiększenia gruczołów ślinowych u osób z BN i AN [Mignogna i wsp. 2004; Johansson i wsp. 2012; Metzger i wsp. 1999; Hasler, 1982]. Metzger i wsp. przy wykorzystaniu ultrasonografii zaobserwowali powiększenie ślinianki przyusznej u 36% pacjentów z BN, podczas gdy w innych badaniach, z zastosowaniem bardziej subiektywnej metody palpacyjnej, badacze nie stwierdzili obrzęku gruczołów ślinowych [Panico i wsp., 2017; Rusyan i wsp. 2010; Lourenco i wsp. 2017]. Wykazano statystycznie mniejszą prędkość wydzielania śliny spoczynkowej u pacjentów z zaburzeniami odżywiania w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej [Johansson i wsp. 2012; Rusyan i wsp. 2010; Lourenco i wsp. 2017]. Ślina tych pacjentów ma niższe pH (Touyz i wsp. 1992; Paszyńska i wsp.

2014], co tłumaczy się spadkiem jej zdolności buforowej, wynikającej ze zmniejszenia ilości wydzielania śliny, korelującej z poziomem jonów wodorowęglanowych odpowiedzialnych za równowagę kwasowo-zasadową.

Back-Brito i wsp. [2012] badali florę grzybiczą w jamie ustnej w grupie 59 osób z zaburzeniami odżywiania. Wśród chorych na jadłowstręt psychiczny i żarłoczność psychiczną zaobserwowano częstszą (74,6%) niż w grupie kontrolnej (50,8%) obecność grzybów w jamie ustnej. Istotne jest, że wykryto większe ich zróżnicowanie gatunkowe, co wskazuje na słabszą obronę organizmu przed patogenami. W badaniach Paszyńskiej i wsp. [2014] częstość występowania szczepów *Candida* u chorych na AN była jednak podobna do grupy kontrolnej. Nie stwierdzono znaczących różnic w ilości grzybów pomiędzy pacjentami z BN i AN [Back-Brito i wsp. 2012]. Badacze sugerują, że zwiększona ilość *Candida* w ich badaniu może być efektem upośledzenia funkcjonowania układu odpornościowego w skutek niedoboru składników odżywczych, nieodpowiedniej diety, zmniejszonej ilości wydzielanej śliny, stresu oraz wymuszonych wymiotów, które przyczyniają się obniżenia pH w jamie ustnej sprzyjającego kolonizacji szczepów *Candida*.

Osoby z zaburzeniami odżywiania częściej zgłaszają dolegliwości związane ze stawem skroniowo-żuchwowym [Emodi-Perlman i wsp. 2008; Johansson i wsp. 2010; Aroucha i wsp. 2014]. Badane kobiety z rozpoznaniem BN i AN, wykazywały większą tkliwość mięśni żucia podczas badania palpacyjnego, bardziej nasiloną wśród tych, które prowokowały wymioty [Emodi-Perlman i wsp. 2008]. Nie zaobserwowano występowania częstszych parafunkcji, ale chorzy mieli mniejszy zakres otwierania jamy ustnej [Johansson i wsp. 2010]. Ponad to pacjentki z zaburzeniami odżywiania znacznie częściej stosowały gumę do żucia. Aż 68,8% z nich żuło gumę ponad 3 godziny na dobę, podczas gdy w zdrowej grupie kontrolnej przejawiało takie zachowanie tylko 17,9% badanych [Emodi-Perlman i wsp. 2008]. Może to wynikać, podobnie jak częstsze mycie zębów z chęci usunięcia nieprzyjemnego zapachu ust, ale efektem ubocznym jest negatywny wpływ na układ stomatognatyczny. Niewiele badań porusza kwestię występowania bruksizmu u osób z zaburzeniami odżywiania [Swain i wsp. 2006]. Barbosa da Costa Riberio i wsp. [2015] stwierdzili częstsze występowanie bruksizmu u dorosłych z AN i BN, jednak wyniki te nie były istotne statystycznie. Pacjentki z AN, w szczególności w stanie zaostrzenia choroby, mają wyższy poziom stresu niż zdrowe osoby [Solmi i wsp. 2016], co powinno predysponować je do nasilania się objawów bruksizmu [Okeson i wsp. 2005]. Swain i wsp. [2006]

przypuszczają, że objawy patologicznej atrycji zębów mogą być przez niektórych badaczy błędnie opisywane jako efekt erozji.

Schebendach i wsp. [2014] wiedząc, że osoby chore na jadłowstręt psychiczny unikają pokarmów zawierających tłuszcze, przeprowadzili badanie, którego celem była weryfikacja hipotezy sugerującej, że to zachowanie może być efektem zaburzeń odczuwania szóstego smaku *oleogustus* – smaku związanego z wykrywaniem kwasów tłuszczowych. Przebadano grupę 25 kobiet z jadłowstrętem psychicznym. Doświadczenie polegające na spożywaniu sera o różnej zawartości tłuszczu wykazało, że pacjentki rozpoznawały tłustość próbek podobnie jak kobiety z grupy kontrolnej. Autorzy sugerują, że na redukcję lub eliminację tłuszczu z diety mają czynniki poznawcze.

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa na temat zaburzeń odżywiania należy stwierdzić, że większość badań klinicznych dotyczących jamy ustnej obejmuje starsze pacjentki (powyżej dwudziestego roku życia), z dłuższym okresem trwania jadłowstrętu psychicznego. Zauważalny jest brak analiz stomatologicznych opartych na młodszej populacji chorych. Wsparcie lekarza dentysty mogłoby przeciwdziałać efektom ubocznym i zapobiegać trwałym zmianom homeostazy jamy ustnej. W przypadku zaburzeń psychicznych, które rozpoczynają się wcześnie, rokowanie jest niepewne i zmniejsza szanse na powodzenie terapii psychiatrycznej. Z punktu widzenia stomatologii, o ile w przypadku atrycji (fizjologiczne, postępujące z wiekiem zużycie tkanek zęba w efekcie kontaktu zęba z zębem), abrazji (starcie w następstwie procesów mechanicznych np. złego szczotkowania zębów) i demastykacji (starcie zębów spowodowane przeżuwaniem pokarmów) można wdrożyć szereg zmian w nawykach pacjenta i zatrzymać niefizjologiczną destrukcję zębów, o tyle ochrona zębów przed nieodwracalnym rozpuszczaniem chemicznym szkliwa i zębiny, czyli erozji, jest zdecydowanie trudniejsza. Często nie sprzyja temu stan ogólny pacjenta. Wsparcie chorej osoby w jej trudnej sytuacji psychosomatycznej ma wymiar nie tylko empatyczno-etyczny, lecz zdecydowanie terapeutyczny [Paszyńska i wsp. 2016]. Lekarz dentysta bywa często pierwszym lekarzem obserwującym objawy zaburzeń odżywiania. Ma to istotne znaczenie dla chorych, którzy wymagają szybkiego skierowania do specjalistycznej diagnostyki i leczenia. Wczesne rozpoznanie daje większe szanse na trwałe wyleczenie i ogranicza nieodwracalne skutki wywołane chorobą przewlekłą.

2.3. Metody izolacji śliny jako materiału diagnostycznego (jak pobieramy ślinę niestymulowaną, stymulowaną, testy Schirmera, Saxona, pobieranie z ujęć przewodów dużych ślinianek)

Ślina jest łatwo dostępnym materiałem biologicznym, niestety rzadko wykorzystywanym w diagnostyce laboratoryjnej. Bardzo duże znaczenie dla jej wartości diagnostycznej ma etap przedlaboratoryjnego pobrania próbek. Skład śliny nie jest stały i chcąc uzyskać miarodajne wyniki należy odnieść się do różnic wynikających z typu gruczołu ślinowego, diety, płci, wieku czy rytmu dobowego [Yoshizawa i wsp. 2013].

Ilość śliny wytwarzanej w ciągu doby wynosi 0,5-1 litr u osoby dorosłej, ale tylko 2-10% jest wydzielane w nocy. Szybkość sekrecji jest różna, podczas snu zmniejsza się poniżej 0,25 ml/minutę, a podczas żucia i mówienia może osiągać wartość 10 ml/minutę. Główną rolę wytwarzaniu śliny odgrywają trzy parzyste gruczoły ślinowe, a dodatkowo obecne jest 200-400 małych gruczołów, które poza dziąsłami i przednią częścią podniebienia twardego, występują we wszystkich częściach błony śluzowej [Jańczuk i wsp. 2014]. Uwzględniając typ wydzieliny, gruczoły ślinowe dzieli się na czysto surowicze (ślinianki przyuszne i gruczoły tylne języka), czysto śluzowe (wiele małych gruczołów ślinowych, w tym podniebienne) oraz mieszane z większą (ślinianka podjęzykowa) lub mniejszą (ślinianka podżuchwowa) ilością komórek śluzowych [Kmieć i wsp. 2007].

Do badań pozyskuje się dwa rodzaje śliny, niestymulowaną i stymulowaną. Pobieranie śliny stymulowanej jest znacznie szybsze i bardziej komfortowe dla pacjenta niż niestymulowanej [Belstrøm i wsp. 2016]. Ślina niestymulowana jest preferowana do badań jej składu białkowego – proteomu śliny [Yakob i wsp. 2014]. Jednak do określania profilu bakteryjnego, ze względu na łatwiejsze uzyskanie próbek o podobnej wartości badawczej, Belstrøm i wsp.[2016] oraz Gomar-Vercher i wsp.[2018] sugerują użycie śliny stymulowanej. Na hormony sterydowe w ślinie nie mają wpływu różnice w ilości wydzielanej śliny, gdyż są one transportowane z krwi na zasadzie pasywnej dyfuzji, choć Dabbs i wsp. [1991] wykazali, że stymulacja wydzielania śliny powodowała przemijający wzrost stężenia testosteronu w trakcie pobierania próbek.

Choć nie ma powszechnie zaakceptowanej techniki pobierania śliny, to w literaturze popularne są dwie metody [Papcosta i wsp. 2011]. Pierwsza z nich to użycie bawełnianych walczków absorbujących ślinę, których zaletą jest komfort

użycia oraz akceptowalność przez badanych, a drugą zbieranie śliny poprzez jej pasywne wypływanie do fiolki. Pasywne wypływanie śliny do fiolki jest według Strazdins i wsp. [2005] oraz Granger i wsp. [2012] bardziej wiarygodną metodą niż stosowanie wałeczków, gdyż mniej wpływa na stężenie wybranych składników śliny i pozwala na uzyskanie próbki będącej mieszaniną wydzieliny wszystkich gruczołów ślinowych, czego nie uzyskuje się w przypadku umieszczenia wałeczka w danym rejonie jamy ustnej. Obie metody nie są technicznie skomplikowane, choć ostatnie badania wskazują, że skuteczniejsze są nieinwazyjne instrumenty takie jak na przykład kapsuła Lashley'a (Lashleycup), które dają bardziej obiektywne wyniki, a przy tym są niewielkich rozmiarów i umożliwiają pobranie śliny z ujścia przewodu określonego gruczołu ślinowego [Yoshizawa i wsp. 2013]. Niezależnie od zastosowanej metody, przed pobieraniem próbek śliny, badany powinien stosować się do pewnych zasad. Pacjent nie powinien palić, jeść, pić oraz ingerować w higienę jamy ustnej do 2 godzin przed testem. Nie wolno spożywać alkoholu dobę przed badaniem, gdyż może to spowodować zwiększone wydzielanie śliny [Martin i Pangborn, 1971]. Nie powinno się pobierać próbek do czasu wygojenia ran po zabiegach chirurgii stomatologicznej oraz bez odczekania 45 minut po myciu zębów, gdyż obecność krwi, nabłonka błony śluzowej, rozdrobnionych resztek płytki nazębnej w ślinie, może mieć znaczący wpływ na zaburzenie wyników [Papacosta i Nassis, 2011]. Według Schwartz i Granger (2004) takie zanieczyszczenia śliny przyczyniają się do zwiększonego stężenia steroidów, gdyż ich stężenie we krwi jest wielokrotnie wyższe.

Istotne jest odpowiednie przechowywanie próbek. Hansen i wsp. [2008] zaproponowali dwie metody przechowywania próbek śliny, w -20°C oraz -80°C . Ta pierwsza umożliwia przechowywanie śliny do 12 miesięcy, a druga nawet do kilku lat. Zdaniem Schwarza i Granger [2004] próbki powinny być zamrożone niezwłocznie po pobraniu. Przechowywanie w temperaturze wyższej niż -5°C może przyczynić się do bakteryjnej degradacji składników śliny oraz mieć wpływ na wiązanie się przeciwciał, dlatego zaleca się, aby próbki nie pozostawały w temperaturze pokojowej dłużej niż 6 godzin. Granger i wsp. [2012] zwracają uwagę na negatywny wpływ cykli rozmrażania i ponownego zamrażania próbek śliny. Na podstawie przeprowadzonych badań twierdzą, że dehydroepiandrosteron (DHEA), estradiol i progesteron są bardzo wrażliwe na wspomniane zmiany temperatury, podczas gdy kwas deoksyrybonukleinowy, deoxyribonucleic acid (DNA), kortyzol, testosteron i alfa amylaza są trwałe aż do 3 cykli.

Do pomiaru ilości wydzielanej śliny można wykorzystać test Schirmera [Falcao i wsp. 2014; Khader i wsp. 2015]. Podobnie jak w okulistyce, gdzie badanie ma na celu określenie ilości wydzielanych łez, wykorzystuje się standaryzowany pasek bibuły. W tym przypadku jest on umieszczany w osuszonej jamie ustnej przy ujściach gruczołów ślinowych. Istotna jest bardzo duża ostrożność, aby uniknąć dodatkowej stymulacji wydzielania śliny. Pasek umieszcza się na minutę lub przez dłuższy czas w jamie ustnej polecając badanemu oddychać przez nos. W pomiarach uwzględnia się powierzchnię przylegania bibuły do błony śluzowej oraz różnicę jej masy przed i po badaniu lub w prostszej wersji odległość paska, która została nasączona śliną w jednostce czasu [Kumar i wsp. 2014].

Inną z metod do pomiaru ilości wydzielanej śliny jest metoda Saxona [Kohler i Winter, 1985] stosowana w diagnostyce kserostomii. Polega ona na umieszczeniu w jamie ustnej sterylnej gąbki z gazy o wymiarach 5x5 cm, którą badana osoba ma przez 2 minuty energicznie żuć. Na podstawie wartości różnicy wagi gąbki po i przed doświadczeniem, można określić ilość wydzielonej śliny. Autorzy wskazują uwagę na prostotę, krótki czas oraz większy komfort badania Saxona w porównaniu do testu Schirmera.

Navazesh i Christensen [1982] proponują jeszcze prostszą metodę, która może być przeprowadzona w każdym gabinecie stomatologicznym. Polega ona na tym, że pacjent odpluwa ślinę do kubeczka, który następnie jest ważony. W przypadku śliny niestymulowanej badanie trwa 15 minut w spokojnej atmosferze, gdzie pacjent powinien zminimalizować ruchy jamy ustnej, a stymulowanej 5 minut żując 1g parafiny [Fejerskov i Kidd, 2008]. W ślinie poszukuje się również markerów biologicznych badając proteom śliny.

2.4. Opiorfina

W 2006 roku zespół badaczy z Instytutu Pasteura we Francji odkrył i opisał naturalne białko występujące w ślinie całkowitej – opiorfinę. Jest to związek będący antynocyceptywnym modulatorem szlaków opioidozależnych. Polipeptyd ten hamuje dwa ektoenzymy – ludzką ektoendopeptydazę i ektoaminopeptydazę. Wymienione ektopeptydazy, katabolizując enkefalinę, są odpowiedzialne za kontrolę metabolizmu neuropeptydów i peptydów regulujących homeostazę organizmu [Thanawala i wsp. 2008]. Wcześniejsze badania wskazywały na obecność substancji o niskiej masie cząsteczkowej, które miałyby mieć wpływ na hydrolizę enkefalin [Marini i Roda, 2000]. Istotne było odkrycie sialorfiny u szczurów [Rougeot i wsp. 2003], które sugerowało obecność peptydu o zbliżonym działaniu u ludzi. Dzięki zastosowaniu wysokociśnieniowej płynnej chromatografii i modelowaniu funkcjonalnemu udało się wykryć ludzką opiorfinę [Wisner i wsp. 2006]. Prekursorem opiorfiny jest polipeptyd PRL1, kodowany przez gen *PROL-1*, który został odkryty przez Dicksona i wsp. w 1996 roku w gruczołach śluzowych i łzowych człowieka. Duże zainteresowanie wzbudziły właściwości przeciwbólne tej substancji poprzez jej działanie na opioidozależne szlaki enkefalinowe. Opiorfina jest stosunkowo mało poznanym związkiem u człowieka. Większość dotychczasowych badań pochodzi z modeli zwierzęcych.

Opiorfina została wykryta u ludzi w surowicy krwi, moczu, mleku, nasieniu, łzach i ślinie. Jej stężenie w surowicy wynosi średnio 0,97 ng/ml u mężczyzn i 0,55 ng/ml u kobiet. Znacznie wyższy poziom tej substancji wykazano w ślinie i łzach [Dufour i wsp. 2013]. Mediana stężeń opiorfiny w ślinie niestymulowanej wynosiła 53 ng/ml u mężczyzn i 30 ng/ml u kobiet. Boucher i wsp. [2017] oznaczyli jej stężenie w ślinie niestymulowanej na $67,6 \pm 188,9$ ng/ml i $31,1 \pm 29,1$ ng/ml w stymulowanej. Brkljačić i wsp. [2011] wykorzystując własną metodę określili poziom opiorfiny w ślinie w zakresie 2,8-25,9 ng/ml.

Wykazano, że opiorfina ma działanie przeciwbólne. Zdaniem niektórych badaczy jest ono nawet dwukrotnie silniejsze w porównaniu z powszechnie stosowaną od wielu lat morfiną [Tian i wsp. 2009; Van Elstraete i wsp. 2018]. Zdaniem Rougeot i wsp. [2010] opiorfina w odróżnieniu od leków opioidowych, powoduje mniej efektów ubocznych, nie wywołuje tolerancji lekowej oraz działania uzależniającego [Popik i wsp. 2010; Sitbon i wsp. 2016]. Singh i wsp. [2018] wskazują na mniejsze niż morfina

działanie przeciwbólne opiorfiny na poziomie nadrdzeniowym, które polega na pobudzaniu noradrenergicznego i serotonergicznego układu zstępującego hamowania bólu. Zasugerowano, że może być to związane z jej szybką degradacją lub trudnością w przekraczaniu bariery krew-mózg, którą Bocsik i wsp.[2015] wyznaczyli dla tej substancji na poziomie 3%. Brak jednak doniesień o stopniu przenikania przez naturalne bariery w organizmie jej syntetycznych analogów. Aktualne zainteresowania naukowców skłaniają się w kierunku opracowania pochodnych opiorfiny, które ulegałyby wolniejszej degradacji, przez co można by używać mniejszą ich dawkę do uzyskania takiego samego lub silniejszego efektu [Benyhe i wsp. 2014]. Jednym z proponowanych rozwiązań jest liposomalna postać opiorfiny, która pozwala przedłużyć jej działanie przeciwbólne nawet o 50% [Mennini i wsp. 2015]. Mura i wsp. [2018] opracowali wersję liposomalną w postaci donosowego hydrożelu, który w doświadczeniach *ex-vivo* powodował 6-krotne zwiększenie współczynnika przepuszczalności i szybkości przenikania przez śluzówkę, przez co możliwa była kontrolowana, efektywna dystrybucja opiorfiny przez ponad 5 godzin.

Reugot i wsp. [2010], Popik i wsp. [2010], Javelot i wsp. [2010], Yang i wsp.[2011] Maraschin [2016] w badaniach na szczurach zaobserwowali przeciwdepresyjne działanie opiorfiny. Jest ono związane z receptorami opioidowymi, wpływającymi na wydzielanie enkefalin w odpowiedzi na bodźce fizyczne i psychiczne. Yang i wsp. zastosowali do badania test wymuszonego pływania opisanego przez Porsolta [Porsolt, 1978] do oceny zmian zachowań depresyjnych na mysim modelu depresji po podaniu opiorfiny do komór mózgowych. Wykazali oni, że opiorfina wykazuje działanie przeciwdepresyjne poprzez pośrednią aktywację opioidowych receptorów δ jak i μ . Uzyskane wyniki wskazały, że najprawdopodobniej istnieje graniczna dawka opiorfiny, której przekroczenie nie powoduje dalszych efektów.

Chen i wsp. [2017] badali wpływ opiorfiny na przyjmowanie pokarmu przez myszy. Po podaniu substancja powodowała zmniejszenie ilości spożywanego pokarmu przez zwierzęta, które wcześniej nie były karmione, ale nie miała wpływu na gryzonie, które były karmione normalnie. Podanie naloksonu, który jest nieselektywnym antagonistą receptorów opioidowych blokowało efekt zmniejszonej ilości przyjmowanego pokarmu, co sugeruje związek tych zmian z układem opioidowym. Wyniki tych badań były wskazówką do badania poziomu opiorfiny u pacjentek z rozpoznaniem AN.

Sugeruje się, że opiorfina poprzez działanie na zwoje współczulne i rdzeń nadnerczy niezależnie od układu opioidowego ma wpływ na zwiększenie poziomu angiotensyny II. Efektem tego jest wzrost ciśnienia krwi i przyspieszenie pracy serca [Tian i wsp. 2015; Fang i wsp. 2014]. Potwierdzono to w doświadczeniu Chen i wsp. [2017], w którym badane szczury, po podaniu opiorfiny, spożywały istotnie większą ilość wody. Tian i wsp. [2015], wykazali, że zastosowanie walsartanu, będącego antagonistą receptorów angiotensyny II zmniejszało efekty działania opiorfiny na pracę układu krążenia, czego nie uzyskano po użyciu naloksonu będącego antagonistą receptorów opioidowych.

Wyniki badań Kamysz i wsp. [2016] oraz Mukherjee i wsp. [2017] wskazują, że opiorfina ma właściwości przeciwnowotworowe. Kamysz i wsp. [2016] na podstawie doświadczeń in-vitro i in-vivo na myszach, wykazali, że koniugacja opiorfiny lub sialorfiny z proapoptycznym peptydem klak (opio-klak, sialo-klak), prowadzi do powstania związku, który zmniejsza żywotność komórek nowotworowych. Mukherjee i wsp. [2017] zaobserwowali zwiększoną ekspresję genu *ProL-1* kodującego prekursor opiorfiny, w komórkach nowotworowych raka prostaty. Badacze sugerują, że opiorfina reguluje modulatory odpowiedzi na niedotlenienie komórek.

Wysokie stężenie opiorfiny występujące w ślinie w porównaniu do innych wydzielin, zainspirowało badaczy do poszukiwań zależności pomiędzy jej poziomem a stanem zdrowia jamy ustnej. Ślina, podobnie jak inne wydzieliny człowieka może być cennym źródłem informacji na temat zdrowia człowieka. Salaric i wsp. [2017] stwierdzili istotnie wyższe stężenie opiorfiny w ślinie niestymulowanej, i nieznacznie podwyższone w stymulowanej u osób z rozpoznaniem BMS niż w grupie kontrolnej. Boucher i wsp. [2017] nie zaobserwowali zwiększonego poziomu opiorfiny w ślinie u osób z rozpoznaniem BMS, ale wykazali jej istotne statystycznie większe stężenie w krwi chorych ($4,6 \pm 5,4$ vs $1,9 \pm 1,4$ ng/ml). Sugeruje się, że może być to konsekwencja przewlekłego bólu, choć nie wyklucza się też przyczyn związanych z zaburzeniami równowagi emocjonalnej i/lub behawioralnej.

2.5. Immunoglobuliny IgA, IgG i IgM

Istotnymi elementami układu immunologicznego w jamie ustnej są zewnętrzne węzły chłonne oraz wewnętrzna tkanka limfoidalna. Wyróżnia się cztery rodzaje tkanki limfoidalnej: migdałki podniebienne i językowe, tkankę limfoidalną ślinianek (biorącą udział w wytwarzaniu S-IgA), tkankę limfoidalną dziąseł oraz rozproszone podśluzowe komórki limfoidalne. Główną immunoglobuliną w ślinie jest S-IgA, która poprzez wiązanie i aglutynację zapobiega adhezji drobnoustrojów do komórek nabłonka śluzówki przez co powoduje ich usuwanie, ponad to obecne są immunoglobuliny IgM, IgG i IgA [Samaranayake, 2012].

Wiele czynników ma wpływ na funkcjonowanie układu odpornościowego człowieka. Przeprowadzono liczne badania, w których określano poziom immunoglobulin w ślinie. Kluczową rolę w ilości wydzielanych przeciwciał odgrywa aktywacja układu współczulnego lub przywspółczulnego [Bishop i Gleeson, 2009]. Według badaczy poziom immunoglobulin IgA i IgE w ślinie nie różni się statystycznie w zależności od płci [Corega i wsp. 2014; Jafarzadeh i wsp. 2010]. Stwierdzono jednak istotne zmiany w zależności od grupy wiekowej. Poziomy IgA rosły wraz z wiekiem do 60 r.ż, po czym malały, a IgE zwiększały się do 31-40 r.ż. i dalej nie ulegały istotnym wahaniom [Jafarzadeh i wsp. 2010].

CEL PRACY

Celem pracy była ocena i pomiar stężenia polipeptydu opiorfiny (OPI), immunoglobulin A, G, i M w ślinie pacjentów z jadłowstrętem psychicznym oraz ustalenie współzależności badanych biomarkerów w ostrej fazie choroby w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej.

W oparciu o analizy kliniczno-biochemiczne przedmiotem naukowych dociekań była próba odpowiedzi na następujące pytania:

1. Czy u chorych w ostrym przebiegu jadłowstrętu psychicznego stężenie opiorfiny w ślinie różni się od poziomu występującego u osób zdrowych?
2. Czy u chorych w ostrym przebiegu jadłowstrętu psychicznego stężenie immunoglobulin IgA, IgG i IgM obecnych w ślinie różni się od poziomu występującego u osób zdrowych?
3. Czy występują zależności pomiędzy opiorfiną a wybranymi powyżej elementami układu obronnego śliny?
4. Jaki jest stan zdrowia jamy ustnej, rozumiany jako zachorowalność na próchnicę zębów, zapalenie dziąseł, częstotliwość występowania starcia zębów (ubytki erozyjne) oraz poziom higieny, w ostrym stadium jadłowstrętu psychicznego?
5. Czy pacjentki w ostrej fazie AN wymagają szczególnej opieki stomatologicznej?

Analiza uzyskanych rezultatów oznaczeń molekularnych i porównanie ich z wynikami badania klinicznego jamy ustnej u osób chorych na AN mogą być podstawą do ustalenia algorytmu postępowania w leczeniu stomatologicznym tych chorych, a także mogą wnieść nowe informacje przydatne w trakcie podstawowej terapii psychiatrycznej.

Postawiono następujące hipotezy:

Hipoteza 1 zakładała, że pacjentki z AN charakteryzują się gorszym stanem zdrowia jamy ustnej niż osoby zdrowe, bez zaburzeń odżywiania.

Hipoteza 2 zakładała, że istnieją różnice w stężeniach badanych biomarkerów śliny pomiędzy pacjentami z AN a zdrowymi kontrolami.

Hipoteza 3 zakładała, że istnieją wzorce zależności badanych biomarkerów odmienne dla pacjentów z AN i zdrowej kontroli.

Hipoteza 4 zakładała, że istnieją istotne korelacje pomiędzy badanymi biomarkerami a ocenianymi zmiennymi jamy ustnej specyficzne dla AN.

MATERIAŁY I METODY

Metodyka badań zakładała stosowanie nieinwazyjnych metod badania pacjentów (badanie kliniczne zębów po względem zmian próchnicowych, erozji, higieny jamy ustnej i stanu zapalnego dziąseł) oraz badania śliny. Nieinwazyjność zastosowanych metod ma istotne znaczenie w aspekcie podstawowej terapii psychiatrycznej badanych. Na podstawie wartości wzrostu i wagi u wszystkich dziewcząt włączonych do badań obliczono indeks BMI oraz wskaźnik idealnej/należnej masy ciała, *ideal body weight* (IBW) [World Health Organization 2000; Caregaro i wsp. 1998].

Współczynnik BMI wyznacza się dzieląc masę ciała podaną w kilogramach przez kwadrat wzrostu wyrażonego w metrach. Zakres wartości wskaźnika został opracowany dla osób dorosłych, dlatego chcąc ocenić rozwój dziecka wykorzystuje się siatki centylowe, które powinny być dostosowane do danej populacji.

$$\text{BMI} = \frac{\text{masa [kg]}}{(\text{wzrost})^2 \text{ [m]}}$$

IBW% określa stosunek aktualnej do idealnej/odpowiedniej masy ciała wyrażony w procentach. Idealną/odpowiednią masę ciała oblicza się zgodnie z formułą Lorentz'a: $\text{IBW [kg]} = \text{wzrost [cm]} - 100 - ((\text{wzrost [cm]} - 150)/2)$ [Caregaro i wsp. 1998].

Analiza śliny miała na celu określenie różnic w poziomie stężenia przeciwbólowego białka opiorfiny oraz immunoglobulin IgA, IgG i IgM śliny, między dwoma grupami; grupą chorych z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego typu restrykcyjnego oraz grupą porównawczą zdrowych osób dobranych co do wieku i płci.

4.1. Charakterystyka badanej grupy

Protokół badań został opracowany zgodnie z zasadami dobrej praktyki klinicznej *Good Clinical Practice* (GCP) (WHO, Genewa 2000 r.) i zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (nr opinii 489/19; załącznik nr 1). Wszystkie dziewczęta biorące udział w projekcie, zostały poinformowane o celach i rodzajach badań, a ich opiekunowie prawni/przedstawiciele ustawowi wyrazili pisemną zgodę na ich przeprowadzenie.

Badanie zostało przeprowadzone na Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu w okresie pomiędzy 2018 a 2020 rokiem. Ogólnie w projekcie wzięło udział 162 dziewcząt.

Grupa badana [AN]

Grupa chorych na jadłowstręt psychiczny oznaczona literami AN liczyła 83 dziewczęta w wieku od 12 do 18 lat ($15,0 \pm 1,7$ lat). Do badań zakwalifikowano pacjentki z rozpoznaniem AN diagnozowanych według kryteriów Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego DSM-5 oraz Światowej Organizacji Zdrowia ICD-10, hospitalizowanych w Klinice Psychiatrii Dzieci i Młodzieży Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Objęte badaniami pacjentki stosowały nieprawidłowe zachowania ograniczania jedzenia minimum 2 miesiące przed hospitalizacją. Średni indeks BMI chorych wynosił $14,2 \pm 1,4$. 11 dziewcząt z grupy AN przyznało, że prowokowały wymioty. Ta podgrupa pacjentek została również uwzględniona w analizie statystycznej.

Grupa kontrolna [K]

Dla uzyskania odpowiedzi jakie zmiany wiążą się z chorobą, oceniono grupę porównawczą, złożoną z osób tej samej płci i w podobnym wieku, oznaczoną symbolem K, obejmującą zdrowe dziewczęta w wieku od 12 do 18 lat ($15,0 \pm 1,9$ lat). W grupie kontrolnej K znalazło się 79 zdrowych dziewcząt nie będących w ciąży, niepalących, nie pobierających żadnych leków ani środków hormonalnych. Uczestniczki projektu pochodziły z aglomeracji poznańskiej i były leczone stomatologicznie ambulatoryjnie w Poradniach Stomatologicznych Uniwersyteckiego Centrum Stomatologii i Medycyny Specjalistycznej UMP w Poznaniu.

Rekrutacja dziewcząt odbywała się podczas wizyt kontrolnych lub planowych. Po przedstawieniu rodzicom celu projektu i warunków uczestnictwa proponowano udział w badaniu podczas kolejnej, bezpłatnej wizyty. Nie przewidywano wynagrodzenia finansowego za udział w badaniu, natomiast w razie potrzeby oferowano bezpłatną opiekę stomatologiczną. Wszystkie osoby były włączone do badań po wyrażeniu pisemnej zgody opiekunów prawnych i współzgody osób badanych.

Dziewczęta umawiano na wizyty w godzinach przedpołudniowych. Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów obu grup opisano w tabeli nr 1.

Tabela nr 1. Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów obu grup.

Kryteria włączenia do grupy badanej AN	Kryteria włączenia do grupy kontrolnej K	Kryteria wyłączenia z badania dla grupy badanej i kontrolnej (AN i K)
płeć żeńska, wiek 12-18 lat	płeć żeńska, wiek 12-18 lat	występowanie zaburzeń centralnego układu nerwowego (np. epilepsja, urazy i infekcje CUN)
rozpoznanie AN na podstawie kryteriów ICD-10 oraz DSM-5 (diagnoza potwierdzona przez dwóch niezależnych psychiatrów)	brak objawów zaburzeń odżywiania	współistniejące: schizofrenia zaburzenie dwubiegunowe Inne poważne choroby somatyczne
istotne klinicznie symptomy AN trwające ponad 6 miesięcy	brak zdiagnozowanych zaburzeń psychicznych	przewlekłe choroby somatyczne
brak zaburzeń psychicznych u krewnych pierwszego stopnia	dobre zdrowie jamy ustnej bez aktywnych ognisk próchnicy i zaawansowanego zapalenia dziąseł/przyzębia z utratą prawidłowego poziomu przyczepu łącznotkankowego >1mm	stała farmakoterapia, hormonoterapia, ciąża, palenie tytoniu
zgoda przedstawiciela ustawowego i pacjenta	zgoda przedstawiciela ustawowego i pacjenta	brak zgody przedstawiciela ustawowego i/lub pacjenta

ICD-10 - 10 wersja Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób, DSM-5 - Klasyfikacja zaburzeń psychicznych Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego, CUN – centralny/ośrodkowy układ nerwowy

4.2. Badanie i ocena stanu zdrowia jamy ustnej

Metodyka badań obejmowała stomatologiczne badanie przedmiotowe, oceniające występowanie zmian w obrębie tkanek twardych zębów w wymiarze próchnicy i starcia zębów niepróchnicowego pochodzenia jako erozji zębów, ilość płytki bakteryjnej, stan dziąseł. Wyniki nanoszono na kartę badań (załącznik nr 2).

Stan jamy ustnej oceniano zgodnie z kryteriami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, Oral Status/Euro, Oral Health Surveys, Basic Data, Geneva 1997), z zastosowaniem wskaźników takich jak:

wskaźnik kontroli płytki nazębnej, *Plaque Control Record (PCR)*,

wskaźnik określający sumę zębów stałych dotkniętych próchnicą, utraconych z jej powodu oraz z wypełnieniami (PUWZ),

wskaźnik podstawowego badania erozji, *Basic Erosive Wear Examination (BEWE)*,

wskaźnik krwawienia podczas zgłębnikowania kieszonki przyzbnej, *Bleeding on Probing (BOP)* – szczegółowo opisanych poniżej.

Badania przeprowadzono w jednolitych warunkach oświetlenia sztucznego z użyciem lusterka stomatologicznego i sondy WHO 3,5/5,5/8,5/11,5 z zachowaniem zasad aseptyki, stosując sterylne pakiety diagnostycznych narzędzi stomatologicznych w świetle lampy unitu stomatologicznego. Pakiety zawierały: końcówkę strzykawko-dmuchałki, lusterko stomatologiczne, zgłębnik, jałowe gaziki. W trakcie badania używano jednorazowych rękawiczek i maseczek ochronnych. Dla dokładnego obliczenia wartości wskaźników określających stan higieny jamy ustnej (PCR) zastosowano wybarwienie płytki nazębnej przez płukanie 30 sekund jamy ustnej wodnym roztworem fuksyny zasadowej (Plaque Agent, Miradent). Następnie po oczyszczeniu pastą polerską (ChemaPolish I, Chema) powierzchni wszystkich zębów oceniano je pod kątem próchnicy według wskaźnika PUWZ, erozji BEWE, następnie oceniono stan dziąseł według wskaźnika krwawienia BOP.

Opis wskaźnika PCR (O'Leary, 1972)

Do oceny higieny jamy ustnej można zastosować wskaźnik PCR. Obecność płytki bakteryjnej obserwuje się po jej wybarwieniu na 4 powierzchniach zęba: mezialnej, dystalnej, językowej i policzkowej/wargowej. Występowanie płytki na danej powierzchni oznacza się jako „+”, jej brak jako „-”. Wartość wskaźnika, którą wyraża

się w procentach, oblicza się dzieląc liczbę powierzchni z płytką przez liczbę wszystkich ocenionych powierzchni.

$$PCR [\%] = \frac{\text{liczba powierzchni z płytką (+)}}{\text{liczba wszystkich ocenianych powierzchni}} \times 100\%$$

Opis wskaźnika PUWZ (Klein, Palmer, Knutson, 1940)

Stan twardych tkanek zębów pod kątem zmian próchnicowych oceniono na podstawie intensywności próchnicy zębów mlecznych i stałych puwz/PUWZ (DMFT; Klein, Palmer, Knutson; cyt. za Jańczuk, Kaczmarek, Lipski [2014]). Wartość (liczba) PUWZ jest sumą składowych (P + U + W dla zębów stałych; p + u + w dla zębów mlecznych). Symbole „P/p” wyrażają liczbę zębów z pierwotnym jak i wtórnym ubytkiem/ubytkami, „U/u” zęby utracone/usunięte na skutek próchnicy, a „W/w” zęby z jednym lub większą ilością wypełnień. Wskaźnik PUWZ/puwz jest pomocny w ocenie dotychczasowej historii próchnicy i jej aktualnej intensywności, nie wskazując jednak na jej aktywność. Może być wyrażany dla jednej lub więcej osób.

Do obliczenia intensywności próchnicy dla grupy osób należy zsumować wartości PUW/puw według wzoru:

$$\text{Intensywność próchnicy} = \frac{\text{PUW}}{x}$$

x – liczba osób z PUW/puw > 0 i PUW/puw = 0

PUW/ puw gdzie:

P/p– ząb stały/mleczny z jednym lub kilkoma ubytkami próchnicy pierwotnej i/lub wtórnej na powierzchni żującej lub gładkiej zęba, do próchnicy nie kwalifikuje się zębów z plamami i przebarwieniami innego pochodzenia oraz niedorozwojem szkliwa.

U/u – ząb stały/mleczny usunięty z powodu próchnicy

W/w – ząb stały/mleczny z jednym lub więcej wypełnieniami, bez próchnicy wtórnej.

Chcąc porównać nie tylko stan uzębienia, ale również skuteczność leczenia, zastosowano wskaźnik leczenia uzębienia WHO, obliczanego według wzoru:

$$\text{wskaźnik leczenia} = \frac{W}{P + W}$$

Otrzymane wyniki wahają się od 0 do 1. „0” oznacza, że żaden ubytek próchnicowy nie został wyleczony, zaś „1”, że wszystkie zmiany próchnicowe zostały wypełnione. Uzyskane pośrednie wartości wyrażają intensywność leczenia uzębienia.

Opis wskaźnika BEWE (Barlett i wsp. 2008)

Długoczasowe, patologiczne działanie wewnątrzpochodnych kwasów w jamie ustnej takich jak kwaśna treść żołądkowa, prowadzi do stopniowej chemicznej destrukcji tkanek twardych zęba. We wczesnym stadium zmiany erozyjne zębów są trudne do wykrycia, uwagę mogą jedynie zwracać utrata konturu szkliwa, jego błyszcząca lub matowa powierzchnia, czy też większa przezierność krawędzi brzegów siecznych zębów. W dalszym stadium objawy stają się wydatniejsze. Wskaźnik BEWE zastosowano do oceny stopnia zaawansowania erozji zębów. W zależności od stopnia zaawansowania zmiany wyróżnia się kody: „0” – brak erozji, „1” – początkowa niewielka utrata struktury powierzchni szkliwa, „2” – wyraźna zmiana, utrata twardych tkanek obejmująca poniżej 50% powierzchni szkliwa i „3” – zmiana z utratą twardych tkanek obejmująca powyżej 50% powierzchni zęba. Ocenie podlegają wszystkie powierzchnie zębów z wyjątkiem trzecich trzonowych. Uwzględnia się najwyższą wartość oceny w każdym z sześciu sekstantów uzębienia. Liczby następnie się sumuje uzyskując skumulowany wskaźnik, który pozwala określić ciężkość i ryzyko erozji. Wartości wskaźnika <2, świadczą o braku ryzyka, 3-8 wskazują na niskie ryzyko, 9-13 na umiarkowane, a ≥ 14 na wysokie.

Tabela 2. Kryteria indeksu BEWE i ocena poziomu ryzyka erozji zębów (na podstawie Bartlett i wsp. 2008 i Aránguiz V i wsp. 2020).

stopień erozji	ocena sumacyjna stopni	poziom ryzyka erozji	opis
0	0-2	brak	zdrowe szkliwo
1	3-8	niskie	początkowa utrata struktury powierzchni szkliwa
2	9-13	średnie	utrata szkliwa i zębiny < 50% powierzchni zęba
3	≥ 14	wysokie	zaawansowana utrata szkliwa i zębiny > 50% powierzchni zęba

*Opis wskaźnika **BOP** (Ainamo i Bay, 1975)*

Bleeding on Probing (BOP) to dychotomiczny wskaźnik, który podobnie jak wskaźnik PCR określa jedynie obecność lub brak, w tym przypadku krwawienia dziąsła podczas zgłębnikowania szczeliny dziąsłowej lub kieszonki. W badaniu istotne jest odpowiednie posługiwanie się periodontometrem, który należy wprowadzić do rowka lub kieszonki na głębokość wyczuwalnego oporu stawianego przez dno szczeliny lub kieszonki. Sonda pomiarowa powinna zostać wprowadzona pod niewielkim kątem lub najlepiej równolegle do długiej osi zęba. Wskaźnik BOP umożliwia ocenę stopnia zaawansowania reakcji zapalnej przyzębia. Wyraża się go w procentach jako iloraz liczby powierzchni krwawiących do liczby wszystkich ocenianych powierzchni.

$$BOP[\%] = \frac{\text{liczba powierzchni krwawiących}}{\text{liczba wszystkich ocenianych powierzchni}} \times 100\%$$

4.3. Pobranie śliny całkowitej.

Zbieranie próbek śliny przeprowadzono o podobnej porze dnia, w godzinach porannych pomiędzy godziną 8:00 a 10:00, po upływie minimum 60 minut od ostatniego posiłku i wykonywania zabiegów higienicznych w jamie ustnej. Podczas każdej próby pacjentka znajdowała się w oddzielnym pomieszczeniu. Czas zbierania śliny niestymulowanej odbywał się w okresie 15 minut i był on mierzony przy pomocy stopera elektronicznego. Podczas zbierania próbek śliny, pacjentka zajmowała pozycję siedzącą w kierunku lekkiego pochylenia tułowia do przodu, unikając stymulacji bodźcami zewnętrznymi. Pacjentów poinstruowano uprzednio, aby po rozpoczęciu badania, nie przełykały śliny i pozwalały jej spływać do kalibrowanych, cylindrycznych probówek. Zgodnie z zaleceniami, ślinę podczas pierwszej minuty zbierano do oddzielnej probówki i wyłączono z badań. Po zebraniu kolejno około 3 ml śliny, probówki odbierano pacjentom, zamykano i umieszczano w wirówce, gdzie odwirowywano stałe elementy śliny w celu ich homogenizacji (czas wirowania 15 minut, 4500 obrotów na minutę, nazwa wirówki: Eppendorf 5430). Następnie pobierano 1,5 ml płynu do probówek typu Eppendorf przy użyciu pipety automatycznej Eppendorf i bezpośrednio zamrażano w temperaturze do -20°C, a następnie w temperaturze -80°C do czasu wykonywania oznaczeń biochemicznych.

4.4. Testy laboratoryjne

Analizy wybranych składników śliny dokonano w Zakładzie Genetyki Psychiatrii, Katedry Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Analiza biochemiczna śliny grupy badanej obejmowała:

- stężenie opiorfiny w ślinie całkowitej
- stężenie immunoglobuliny IgA w ślinie całkowitej
- stężenie immunoglobuliny IgG w ślinie całkowitej
- stężenie immunoglobuliny IgM w ślinie całkowitej

Test immunoenzymatyczny, *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)

Test ELISA, to ilościowy test immunoenzymatyczny oparty o fazę stałą, który służy do oznaczenia stężenia metabolitu w badanej próbce z wykorzystaniem odczynników znakowanych enzymami.

Określenia poziomu opiorfiny, immunoglobulin typu A (IgA), G (IgG) i M (IgM) w ślinie dokonano przy użyciu odpowiednio dedykowanych testów immunoenzymatycznych zgodnie z instrukcjami producenta. Odczytu absorbancji dokonano przy użyciu czytnika spektrofotometrycznego (*BiochromAsys UVM 340 Microplate Reader*), dla długości fali 450 nm +/-10 nm niezwłocznie po zastopowaniu reakcji barwnej. Do oceny statystycznej wykorzystano średnią z dwóch pomiarów. Stężenia w próbkach badanych wyznaczono w oparciu o krzywą wzorcową wyznaczoną w oparciu o 4-parametryczny logistyczny (4PL) matematyczny model dopasowania (*4 parameter logistic curve*).

Test kompetycyjny - Opiorphin in Saliva ELISA Kit, firma FineTest, nr kat. EH1927

Wykonano ilościowe oznaczenie opiorfiny przy użyciu komercyjnego testu immunoenzymatycznego (test Elisa do pomiaru ludzkiej opiorfiny nr kat. EH1927, wyprodukowany przez FineTest, Wuchan, Hubei, Chiny). Zestaw obejmował płytki z naniesionymi przeciwciałami swoistymi dla opiorfiny. Podczas przygotowań materiału do analizy, normy i testowane próbki umieszczono na płytce razem ze sprzężonymi biotyną przeciwciałami poliklonalnymi. Są to specyficzne białka awidyny,

sprężone z peroksydazą chrzanową. Po inkubacji substrat 3,30,5,50-tetrametylobenzydyna (TMB) został dodany do dołków, wywołując reakcję barwną w próbkach zawierających przeciwciała sprężone z biotyną i enzymem sprężonym z poszukiwanym białkiem. Reakcję barwną zahamowano przez dodanie roztworu kwasu siarkowego. Zakres pomiarowy zestawu wynosił 0,156 – 10 ng/ml, czułość 0,094 ng/ml. Wewnątrzpłytkowy współczynnik zmienności wynosił <8%, przy czym współczynnik zmienności między płytkami wynosił <10%.

Test podwójnego wiązania - *Secretory IgA in human biological fluids* ELISA Kit, DEMEDITEC, nr kat. DEXK276; *IgG in human biological fluids* ELISA Kit, AMSBIO nr kat. E0544h; Test podwójnego wiązania - *IgM in human biological fluids* ELISA Kit, AMSBIO, nr kat. E0543h

Podczas prowadzonych badań zastosowano testy podwójnego wiązania (kanapkowe): *Secretory IgA in human biological fluids* ELISA Kit, DEMEDITEC, nr kat. DEXK276, *IgG in human biological fluids* ELISA Kit, EIAAB nr kat. E0544h oraz *IgM in human biological fluids* ELISA Kit, EIAAB, nr kat. E0543h.

W przeprowadzonych testach studzienki płytki zostały opłaszczone mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko ludzkiej immunoglobulinie klasy IgA, IgG lub IgM. Badane antygeny zostały związane z przeciwciałami, którymi była opłaszczona płytka. Niezwiązane antygeny usunięto w trakcie płukania. Następnie dodano drugie przeciwciało (mysie przeciwciało monoklonale przeciwko łańcuchom alfa ludzkiej immunoglobuliny sekrecyjnej IgA, IgG lub IgM) wyznakowane przez enzym peroksydazę. Później na płytkę dodano roztwór substrat/chromofor. Enzym katalizował reakcję i zaobserwowano jej barwny produkt, który odczytano spektrofotometrycznie, tak samo jak w przypadku opiorfiny.

Czułość metody oznaczania IgA wynosiła 0,6 µg/ml, a IgG <0,051 pg/ml. Zakres pomiarowy zestawu wynosił dla IgA od 57 do 260 µg/ml, IgG 78-5000 pg/ml, a dla IgM 7,8-500 ng/ml.

Wewnątrzpłytkowy współczynnik zmienności wynosił dla IgG <4,4% i <4,2% dla IgM, przy czym współczynnik zmienności między płytkami wynosił w przypadku IgG <7,8%, a IgM <8,9%.

4.5. Analiza statystyczna

W pracy uzyskane dane są przedstawiane za pomocą średniej arytmetycznej z odchyleniem standardowym, mediany, wartości minimalnej i maksymalnej a w niektórych przypadkach w procentach. W celu określenia zgodności z rozkładem normalnym danych ilościowych stosowano test Shapiro-Wilka. Dla porównania dwóch grup zastosowano test t studenta (w przypadku zgodności z rozkładem normalnym) lub test U Manna-Whitneya, gdy dane były na skali porządkowej lub nie spełniały założenia zgodności z rozkładem normalnym. Zależności pomiędzy zmiennymi były analizowane przy pomocy współczynnika korelacji Spearmana (dla danych porządkowych lub ilościowych bez spełnionego założenia o normalności rozkładu). W przedstawianych wykresach ramka-wąsy uwzględniono zakres wartości nieodstających, wartości odstające i ekstremalne uwzględniono w formie punktów. Analizę przeprowadzono za pomocą dwustronnych testów statystycznych na poziomie istotności $\alpha=0,05$ w pakiecie statystycznym Statistica 13 (StatSoft Inc.) [Stanisz, 2006]

W analizie statystycznej podjęto jednocześnie próbę wyznaczenia modelu, na podstawie którego można by wskazać znamiennej wartości dla wybranych parametrów charakteryzujących badaną grupę. W tym celu dogłębniej zanalizowano zebrane dane i przeprowadzono regresję logistyczną dla wybranej grupy w celu wyznaczenia czynników ryzyka istotnie wpływających na wystąpienie choroby (bycie w grupie AN). Wyznaczono również ilorazy szans, 95% przedziały ufności dla wskazanych zmiennych. Obliczenia dla regresji logistycznej wykonano w pakiecie statystycznym MedCalc v. 19.5.1 (MedCalc Software). Szukano w ten sposób odpowiedzi na pytanie, które ze zmiennych niezależnych (wskazanych za czynniki ryzyka) wpływają istotnie na wystąpienie choroby (zmienna zależna typu dychotomicznego). Badano zatem powiązania pomiędzy prawdopodobieństwem wystąpienia choroby a grupą zmiennych niezależnych.

Parametry wzięte do analizy zostały wybrane zgodnie z wiedzą jaka znajduje się w literaturze (z wcześniejszymi badaniami i obserwacjami) oraz ze względu na analizowany w pracy materiał badawczy. W skład grupy zmiennych weszły: BMI, PUWZ, PCR%, IgM, opiorfina, masa ciała, IgA, P, BOP%.

WYNIKI BADAŃ

5.1. Charakterystyka poszczególnych grup

Grupa AN

Wiek 83 pacjentek grupy AN wynosił od 12 do 18 lat ($15,0 \pm 1,7$). Czas trwania choroby w grupie AN wahał się od 2 do 36 miesięcy ($10,8 \pm 6,4$). 11 chorych na jadłowstręt psychiczny zgłaszało w wywiadzie prowokowanie wymiotów. U wszystkich pacjentek wykonano badania w pierwszym okresie hospitalizacji, kiedy nie włączano jeszcze farmakoterapii i pacjentki nie przyjmowały leków.

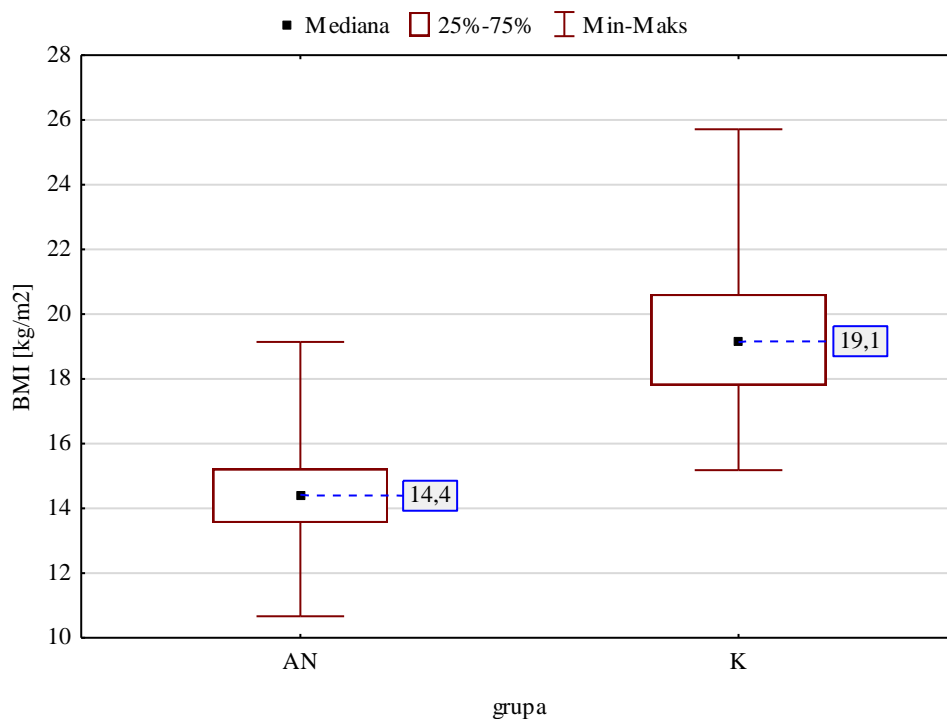
Grupa K

Wiek 79 pacjentek grupy K wynosił od 12 do 18 lat ($15,0 \pm 1,9$). Na grupę składały się dziewczęta uczące się w szkołach średnich, które nie miały nigdy zaburzeń odżywiania, jak również nikt z ich bliskiej rodziny nie przedstawiał tego typu zachowań. W przeciągu ostatnich 3 miesięcy nie były w ciąży, nie paliły oraz nie przyjmowały przewlekłe leków przeciwzapalnych, przeciwbólowych, antybiotyków ani środków hormonalnych. Uczestniczki projektu posiadały stałe uzębienie i były pod stałą opieką w ramach świadczeń stomatologicznych Narodowego Funduszu Zdrowia w Poradniach Stomatologicznych Uniwersyteckiego Centrum Stomatologii i Medycyny Specjalistycznej UMP w Poznaniu. W ostatnich 3 miesiącach nie były poddane żadnym zabiegom chirurgicznym, periodontologicznym ani ortodontycznym łącznie z brakiem aparatów utrzymujących efekt ew. leczenia ortodontycznego typu „retainer”.

Aktualna ocena biologiczna rozwoju fizycznego dzieci.

Aktualna ocena rozwoju biologicznego dzieci została przeprowadzona na podstawie pomiarów, które wykazały istotne różnice w masie ciała ($p < 0,001$), wzroście ($p = 0,037$), indeksie BMI ($p < 0,001$) i wskaźniku IBW% ($p < 0,001$). Dobór pacjentek sprawił, że nie stwierdzono istotnych różnic wieku ($p = 0,944$). Zgodnie z charakterem omawianego zaburzenia, średnia wartość BMI w grupie AN ($14,2 \pm 1,4$), była istotnie niższa niż w grupie K ($19,5 \pm 2,4$), ($p < 0,001$), co widoczne jest na rycinie 1. Badane pacjentki z jadłowstrętem psychicznym miały więc średnio o 27,2% niższe BMI niż zdrowe dziewczęta.

Porównano również otrzymane wyniki w podgrupach AN ze względu na obecność wymiotów w wywiadzie. W grupie, która zgłaszała takie objawy, stwierdzono istotnie statystycznie wyższe BMI 14,8 (13,7-16,6), w porównaniu do chorych nie zgłaszających takich dolegliwości 14,2 (10,7-19,1), ($p=0,050$), rycina 2. Ponadto pacjentki, które prowokowały wymioty miały za sobą średnio dłuższy czas choroby 12 (6-36) mies. vs 8 (2-36) mies. ($p=0,003$) co przedstawia rycina 3.

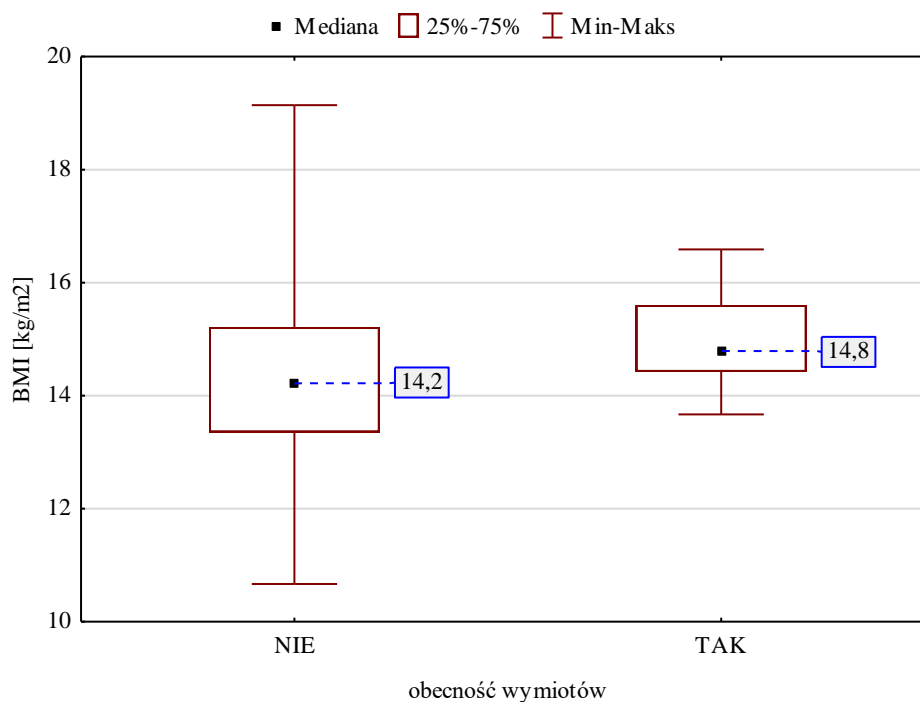


Rycina 1. Zróźnicowanie grup AN i K pod względem zmiennej BMI ($p<0,001$).

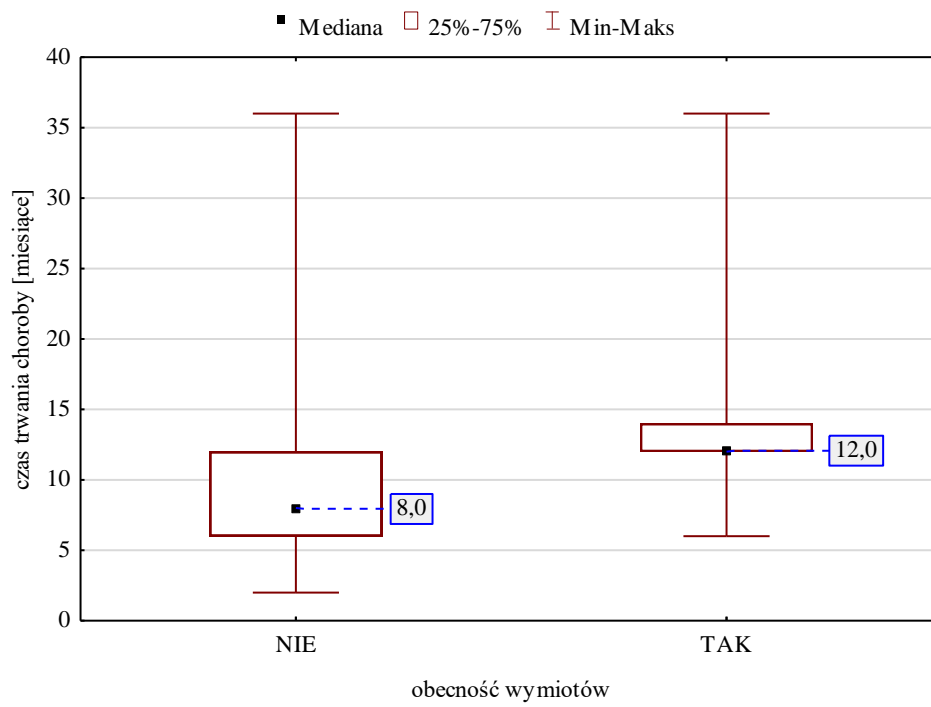
Tabela 3. Zestawienie wieku i parametrów ciała w grupach AN i K oraz czasu trwania choroby w grupie AN.

grupa / zmienna	AN n=83	K n=79	wartość p
wiek [lata]	15,0±1,7 15,0 (12,0-18,0)	15,0±1,9 15,0 (12,0-18,0)	0,945
masa ciała [kg]	37,6±5,5 37,0 (24,0-49,0)	52,8±8,7 52,0 (35,0-75,0)	<0,001
wzrost [cm]	162,1±7,7 162,0 (136,0-180,0)	164,1±6,9 165,0 (143,0-177,0)	0,037
BMI [kg/m ²]	14,2±1,4 14,4 (10,7-19,1)	19,6±2,4 19,1 (15,2-25,7)	<0,001
IBW [%]	55,9±7,2 55,7 (38,6-94,1)	74,8±9,6 73,1 (57,1-98,5)	<0,001
czas trwania choroby [miesiące]	10,8±6,4 10,0 (3,0-36,0)	-	
PCR [%]	42,6±24,5 40,0 (10,0-100,0)	10,5±14,3 0 (0-54,0)	<0,001

Opis wyników jako: średnia ± odchylenie standardowe; **mediana** (min-max),
n – liczba badanych



Rycina 2. Zróźnicowanie podgrup AN z wymiotami i bez względem zmiennej BMI
($p=0,050$).



Rycina 3. Zróźnicowanie podgrup AN bez wymiotów i z wymiotami względem zmiennej czas trwania choroby ($p=0,003$).

5.2. Badania kliniczne

Wyniki badania podmiotowego jamy ustnej z porównaniem wybranych wskaźników stomatologicznych

W badaniu stomatologicznym wykorzystano dane dotyczące ilości zębów mlecznych, ilości zębów stałych. 3 pacjentki miały uzębienie mieszane. Obliczono wskaźnik puwz dla zębów mlecznych, PUWZ dla zębów stałych wraz z poszczególnymi składowymi, wskaźniki ilości płytki bakteryjnej PCR oraz oceniono stan dziąseł przy pomocy wskaźnika BOP.

Ocena zachorowalności na próchnicę na podstawie wskaźników epidemiologicznych PUWZ i poszczególnych składowych

Wyniki badań części klinicznej przedstawiono w postaci tabeli nr 4 oraz rycin nr 4 i 5. Na podstawie przeprowadzonego badania jamy ustnej stwierdzono, że w grupie chorych na jądłowstręt psychiczny AN frekwencja próchnicy wynosiła średnio 61,4%. Niższe wartości odnotowano w grupie kontrolnej, gdzie wynosiła ona 58,2%.

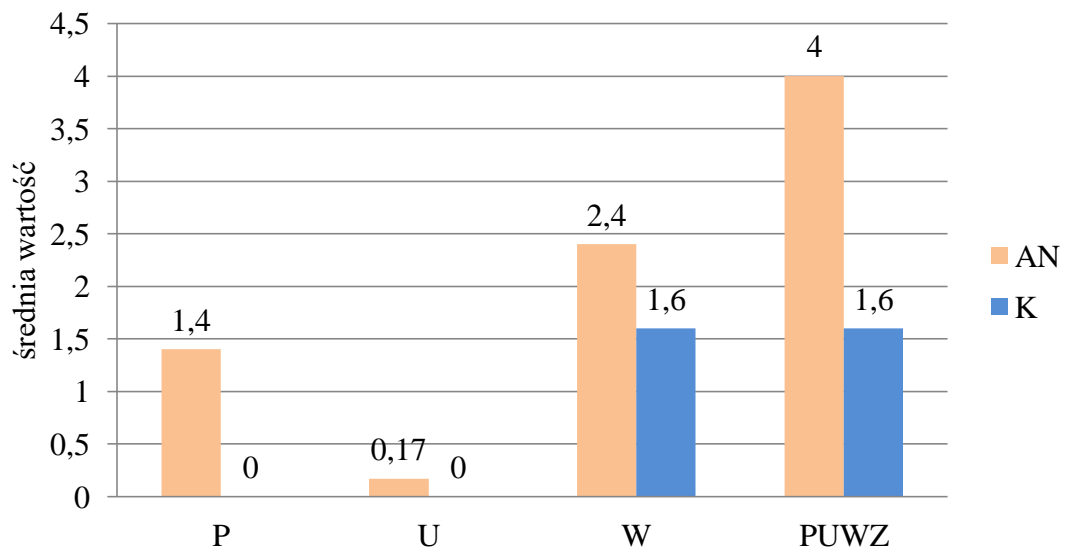
Wskaźnik intensywności próchnicy PUWZ wynosił dla grupy badanej AN 3,8 , a dla grupy osób zdrowych 1,6. Stwierdzono istotną statystycznie różnicę między grupami i analiza poszczególnych składowych wskaźnika intensywności PUWZ wykazała, że największą liczbę zębów z aktywną próchnicą (P) stwierdzono u pacjentek w grupie badanej AN (P=1,4). W grupie porównawczej K (P=0) wskaźnik ten był istotnie niższy od grupy badanej. Wskaźnik zębów usuniętych (U) był wyższy u pacjentów z grupy badanej AN (U=0,2), różnił się istotnie od wskaźników w grupie K, gdzie U=0. Liczba zębów z wypełnieniami (W) była największa w grupie AN (W=2,4), dla K wynosiła (W=1,6). Ogółem, na podstawie analizy wyników wskaźnika PUWZ lepszy stan uzębienia stwierdzono u pacjentów z grupy zdrowej. Wskaźnik leczenia uzębienia WHO obliczono dla grupy AN na średnim poziomie $0,7 \pm 0,4$, a w grupie K, wynosił on 1. Szczegółowe dane zostały zawarte w przedstawionych poniżej rycinach 4 i 5. oraz tabeli 4.

Tabela 4. Liczba zębów stałych i mlecznych; indeksy próchnicy: puwz (dla zębów mlecznych), PUWZ (dla zębów stałych), ogólny wskaźnik płytki PCR [%], indeks stanu dziąseł BOP [%] w grupie badanej AN i kontrolnej K.

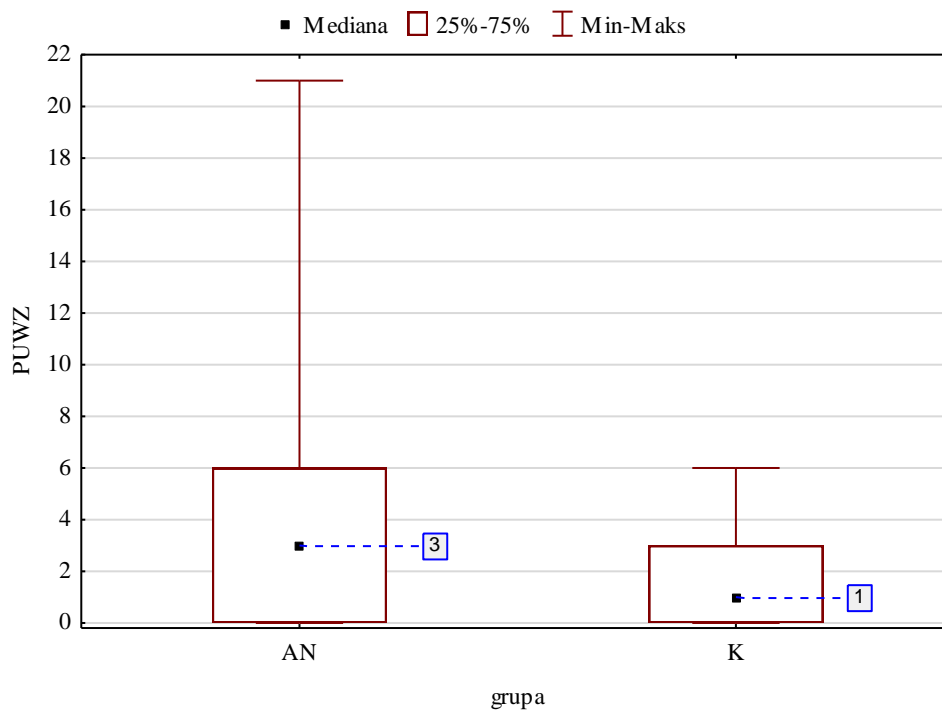
grupa zmienna	AN n=83	K n=79	wartość p
liczba zębów mlecznych	0,2±1,0	0	0,089
liczba zębów stałych	27,7±1,5	27,9±0,3	0,444
P	1,4±3,0 0 (0-21)	0	<0,001
U	0,2±0,5	0	0,003
W	2,4±3,6	1,6±1,7	0,658
PUWZ	4,0±4,7 3 (0-21)	1,6±1,7 1 (0-6)	0,002
p	0,08±0,8 0 (0-7)	0	0,329
u	0	0	-
w	0,02±0,2 0 (0-2)	0	0,329
puwz	0,1±0,8	0	0,166
PCR [%]	42,6±24,5 40 (10-100)	10,5±14,3 0 (0-54)	<0,001
BOP [%]	18,7±21,7 10 (0-90)	0,8±3,6 0 (0-18)	<0,001

Opis wyników jako: średnia ± odchylenie standardowe; **mediana** (min-max),

n - liczba badanych



Rycina 4. Wartości średnich PUWZ i składowych P, U, W w grupach AN i K.



Rycina 5. Porównanie wartości wskaźnika PUWZ w grupach AN i K ($p=0,002$).

Tabela 5. Porównanie zmiennych: BMI, czasu trwania choroby, PCR[%], BOP[%] i BEWE w podgrupach AN.

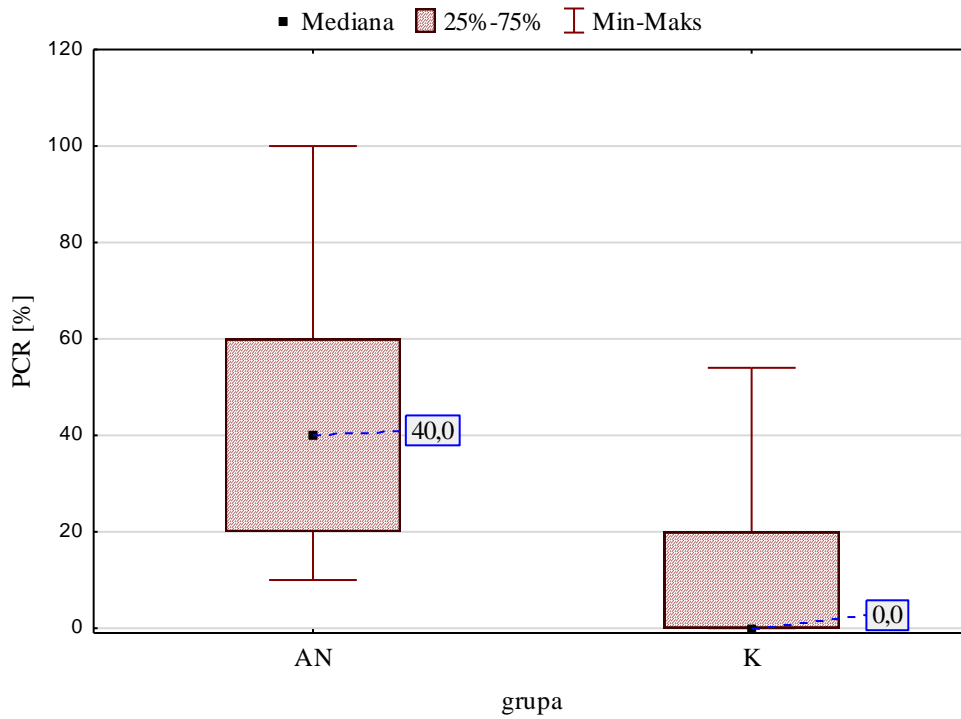
grupa zmienna	AN bez wymiotów n=72	AN z wymiotami n=11	wartość p
BMI [kg/m ²]	14,1±1,5 14,2 (10,7-19,1)	15,0±0,9 14,8 (13,7-16,6)	0,050
czas trwania choroby [miesiące]	10,1±5,9 8 (2-36)	15,1±8,1 12 (6-36)	0,003
PCR [%]	40,0±22,2 37,5 (10-90)	59,8±32,4 50 (15-100)	0,050
BOP [%]	15,3±18,0 10 (0-60)	41,1±30,6 35 (0-90)	0,005
BEWE	0,3±1,3 0 (0-8)	5,6±2,5 5 (3-12)	<0,001

Opis wyników jako: średnia ± odchylenie standardowe; **mediana** (min-max)

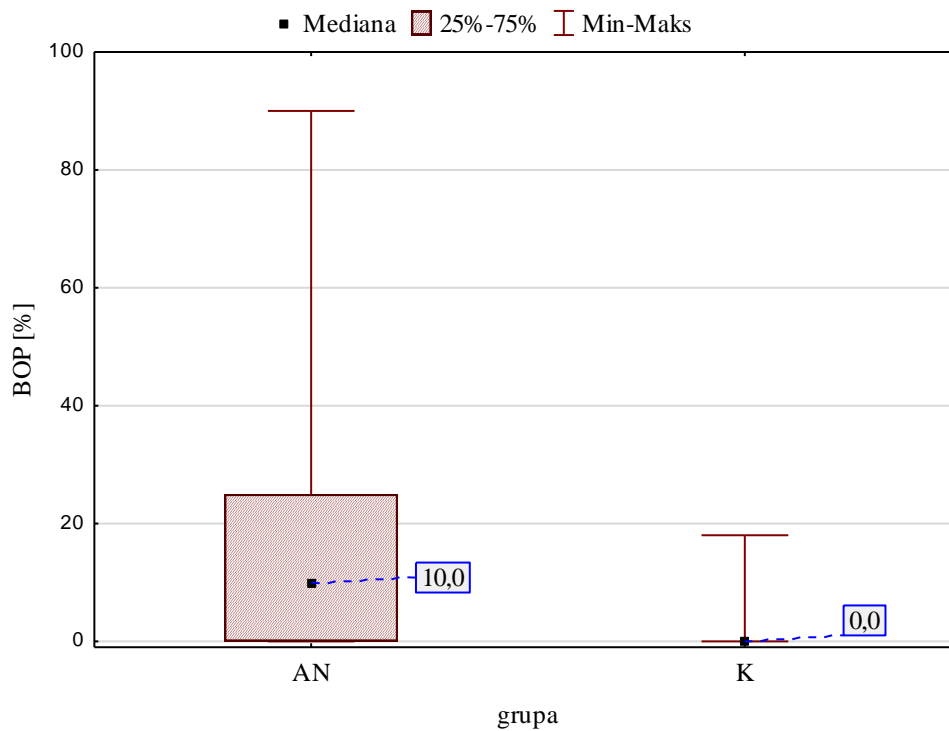
n - liczba badanych

Ocena higieny jamy ustnej na podstawie wskaźników PCR i BOP

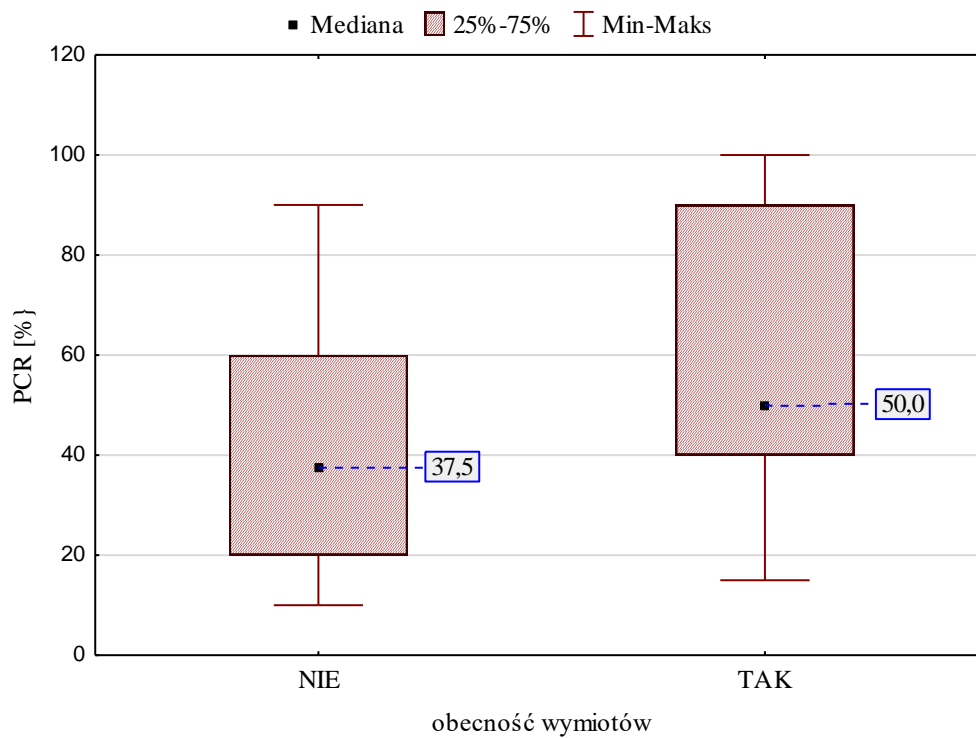
Średnie wartości uzyskanych wyników zawierają ryciny nr 6 i 7 oraz tabela nr 4. Wskaźnik higieny jamy ustnej PCR wypadł niekorzystnie w grupie badanej AN i różnił się znacząco od grupy kontrolnej (42,6±24,5 vs 10,5±14,3), czego przejawem był również stan zapalny dziąseł wyrażony wskaźnikiem BOP na poziomie 18,7±21,7 vs 0,8±3,6 (p<0,001), przedstawiony w tabeli 4 i rycinie 7. W podgrupach AN, wśród pacjentek podających prowokowanie wymiotów w wywiadzie stwierdzono istotnie statystycznie większe wartości wskaźników niż u tych, które nie zgłaszały takich zachowań PCR: 59,8±32,4 vs 40,0±22,2 (p=0,050) i BOP: 15,3±18,0 vs 5,6±2,5 (p=0,005) (tabela 5 i rycina 8 i 9).



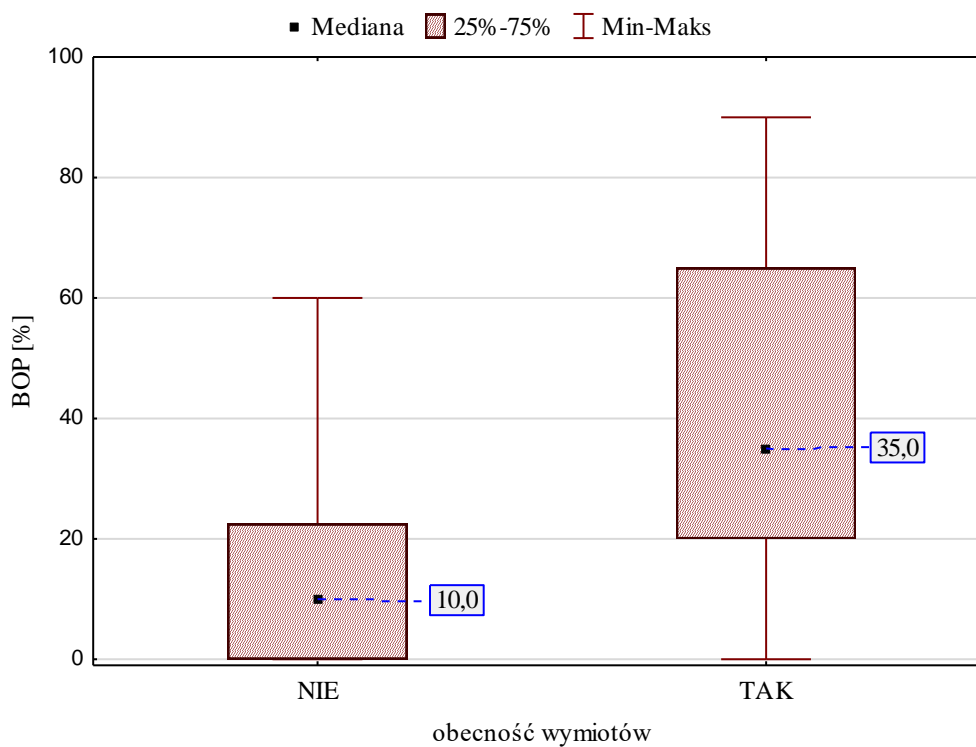
Rycina 6. Porównanie wartości wskaźnika PCR w grupach AN i K ($p < 0,001$).



Rycina 7. Porównanie wartości wskaźnika BOP w grupach AN i K ($p = 0,005$).



Rycina 8. Porównanie wartości PCR w podgrupach AN z wymiotami i bez ($p=0,050$).



Rycina 9. Porównanie wartości BOP w podgrupach AN z wymiotami i bez ($p=0,005$).

Ocena starcia zębowego na podstawie wskaźnika BEWE

W oparciu o dane z badania podmiotowego, 11 pacjentek z grupy AN potwierdziło występowanie okresowo wymiotów w okresie trwania choroby.

W oparciu o kryteria indeksu starcia zębowego BEWE stwierdzono znamienne statystyczne różnice w starciu szkliwa i zębiny pomiędzy grupą badaną AN a grupą kontrolną ($p=0,003$).

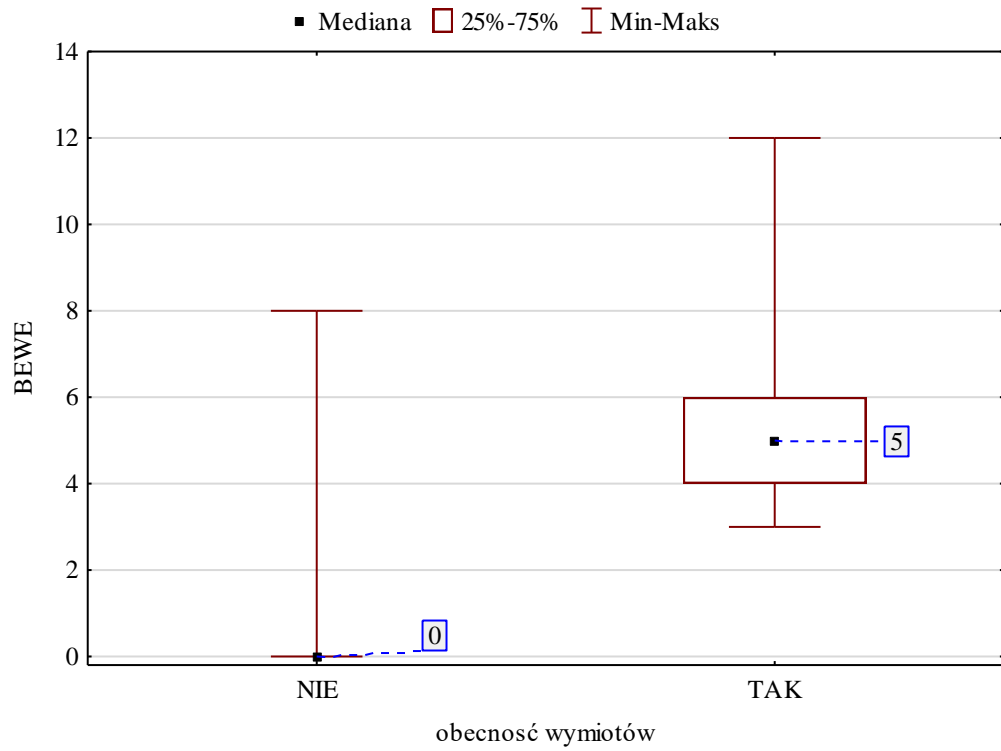
Analiza oceny klinicznej, przeprowadzona w grupie AN, wykazała, iż najintensywniejsze starcie tkanek twardych występowało na powierzchniach podniebiennych górnych siekaczy, czego nie obserwowano w grupie K. Ponadto istotne różnice w utracie tkanek twardych zęba występowały w grupie AN pomiędzy podgrupą zgłaszającą wymioty i tą, która nie przejawiała takich zachowań ($p<0,001$).

Szczegółowe wartości całkowitego wskaźnika BEWE wraz z podziałem na poszczególne wartości dla wszystkich ocenianych grup zawiera tabela nr 6.

Tabela 6. Wartości wskaźnika BEWE dla poszczególnych grup K, AN, AN bez wymiotów, AN z wymiotami.

grupa zmienna	K	AN	AN bez wymiotów	AN z wymiotami
BEWE	0,04±0,2 0 (0-1)	1,0±2,4 0 (0-12)	0,3±1,3 0 (0-8)	5,6±2,5 5 (3-12)

Opis wyników jako: średnia ± odchylenie standardowe; **mediana** (min-max)



Rycina 10. Porównanie wartości wskaźnika BEWE w podgrupach pacjentek z AN z wymiotami i bez ($p < 0,001$).

5.3. Analizy biomarkerów białkowych śliny

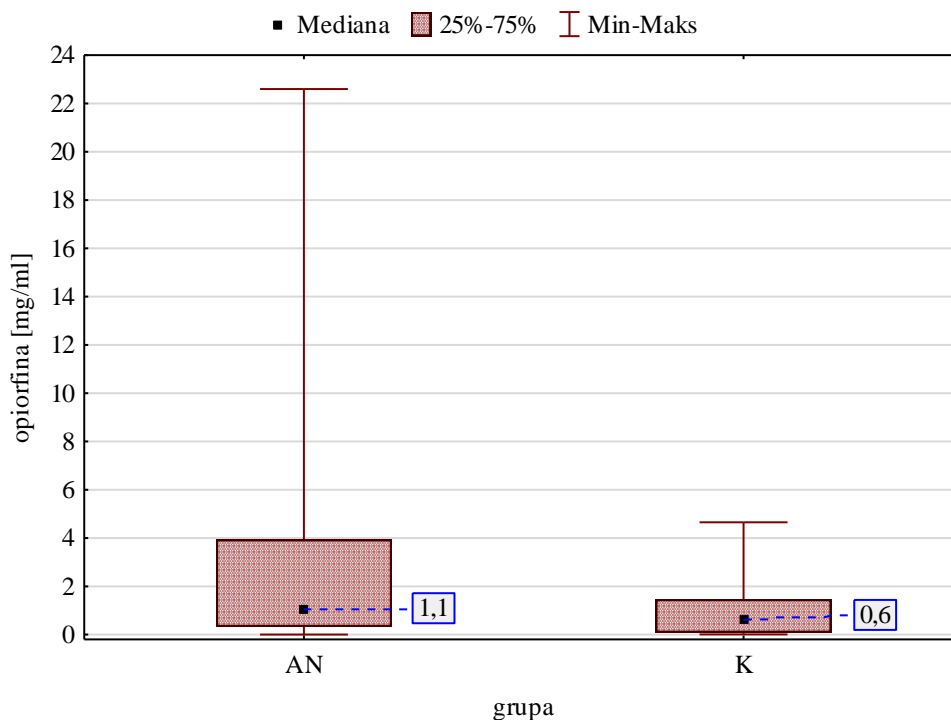
W kontekście badanych zmiennych związanych z parametrami biochemicznymi, będącymi głównym przedmiotem zainteresowania niniejszej pracy, odnotowano różnice międzygrupowe, a także związki korelacyjne. Wyniki analiz statystycznych dotyczących zmian biochemicznych zaprezentowano w tabelach 7, 8 i 9, 10, 11 i 12 oraz rycinach 11,12 i 13.

Tabela 7. Wyniki oznaczeń molekularnych ELISA dla opiorfiny oraz immunoglobulin IgA, IgG i IgM w ślinie całkowitej dla obu grup.

grupa zmienna	AN n=83	K n=79	wartość P
IgA [µg/ml]	167,6±124,1 159,2 (12,6-866,5)	166,0±173,5 94,3 (10,3-885,8)	0,144
IgG [pg/ml]	5612,9±2736,4 5134,5 (1025,2-12177,3)	5885,0±2261,0 5839,1 (1155,7-11921,2)	0,344
IgM [ng/ml]	311,0±185,3 381,3 (10,6-705,4)	421,2±168,1 492,4 (12,0-561,0)	<0,001
Opiorfina [ng/ml]	3,1±4,4 1,1 (0,001-22,6)	1,1±1,2 0,6 (0,005-4,7)	0,001

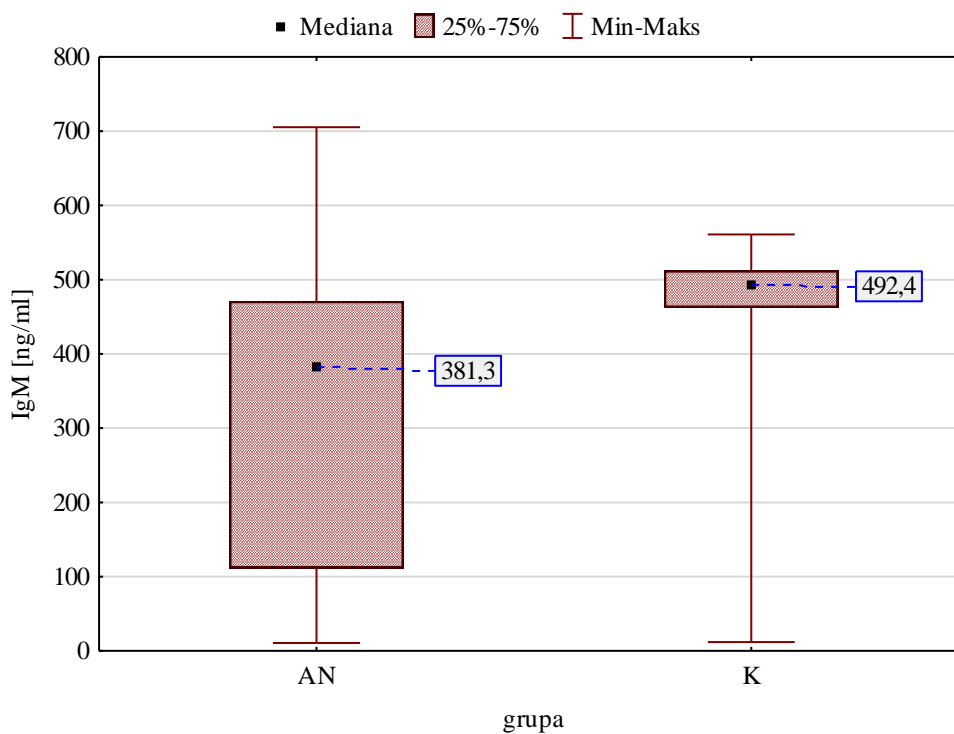
Opis wyników jako: średnia ± odchylenie standardowe; **mediana** (min-max), n - liczba dziewcząt w grupie,

Wartości stężeń opiorfiny ślinowej były istotnie wyższe w grupie chorych AN niż w grupie kontrolnej (p=0,001), co przedstawiono w tabeli 7 oraz na rycinie 11.



Rycina 11. Porównanie stężeń opiorfiny w grupie AN i K ($p=0,001$).

Poziomy immunoglobuliny IgM w ślinie były istotnie niższe w grupie chorych (AN) niż w grupie kontrolnej (K) ($p<0,001$). Mediany stężeń wynosiły odpowiednio 381,3 (10,6-705,4) ng/ml dla AN i 492,4 (12,0-561,0) ng/ml dla K.



Rycina 12. Porównanie stężeń IgM w grupach AN i K ($p<0,001$).

W obu grupach stężenie IgA w ślinie zostało określone laboratoryjnie na poziomie $167,6 \pm 124,1$ $\mu\text{g/ml}$ (AN) i $166,0 \pm 173,5$ $\mu\text{g/ml}$ (K) z medianą 159,2 (12,6-866,5) $\mu\text{g/ml}$ (AN) i 94,3 (10,3-885,8) $\mu\text{g/ml}$ (K), bez istotności statystycznej w stosunku do obu grup ($p=0,144$). Analiza statystyczna nie ujawniła istotnych różnic w uzyskanym poziomie IgA, jednakże wyniki były na granicy istotności statystycznej, może zatem zachodzić tendencja w kierunku podatności zwiększania różnicy przy obecności dodatkowych czynników ryzyka (co powinno stać się przedmiotem dalszych obserwacji i badań).

Stężenie IgG w ślinie zostało określone laboratoryjnie na poziomie $5612,9 \pm 2736,4$ ng/ml (AN) i $5885,0 \pm 2261,0$ ng/ml (K) z medianą 5134,5 (1025,2-12177,3) ng/ml (AN) i 5839,1 (1155,7-11921,2) ng/ml (K), bez istotności statystycznej w stosunku do obu grup ($p=0,344$).

Analizując uzyskane wyniki wszystkich uczestniczek badania (AN i K), opiorfina wykazała słabą ujemną korelację z masą ciała ($r_s=-0,20$; $p=0,013$), wskaźnikiem BMI ($r_s=-0,24$; $p=0,002$) i IBW ($r_s=-0,29$; $p<0,001$) oraz dodatnią z ilością płytki bakteryjnej w jamie ustnej według wartości wskaźnika PCR ($r_s=0,24$; $p=0,003$).

Immunoglobulina A podobnie jak opiorfina przedstawiała słabą zależność z wskaźnikiem PCR ($r_s=0,21$; $p=0,007$).

Immunoglobulina G tak jak powyższe związki oznaczane ślinie wykazała związek z wskaźnikami PCR ($r_s=0,19$; $p=0,017$), a także z BOP ($r_s=0,21$; $p=0,009$).

Immunoglobulina M przedstawiała ujemną korelację ze wskaźnikami PCR ($r_s=-0,45$; $p<0,001$) i BOP ($r_s=-0,28$; $p<0,001$) oraz z dodatnią z masą ciała ($r_s=0,30$; $p<0,001$), BMI ($r_s=0,30$; $p<0,001$) i IBW ($r_s=0,28$; $p<0,001$). Spośród związków oznaczanych w ślinie jedynie IgG wykazała słabą zależność z wiekiem ($-0,21$, $p=0,007$).

W grupie 162 badanych stwierdzono również ujemną korelację ze wskaźnikiem PCR masy ciała ($r_s=-0,56$; $p<0,001$), BMI ($r_s=-0,57$; $p<0,001$) oraz IBW ($r_s=-0,52$; $p<0,001$).

W grupie AN opiorfina wykazała jedynie słabą zależność z wiekiem ($r_s=0,22$; $p=0,047$). Immunoglobulina klasy A korelowała z masą ciała ($r_s=0,28$; $p=0,011$), BMI ($r_s=0,34$; $p=0,002$), IBW ($r_s=0,28$; $p=0,014$) oraz wskaźnikiem PCR ($r_s=0,24$; $p=0,028$).

IgG przedstawiła słabą zależność z wiekiem ($r_s=-0,25$; $p=0,023$), PCR ($r_s=0,43$; $p<0,001$) oraz BOP ($r_s=0,41$; $p<0,001$).

IgM wykazała związek z masą ciała ($r_s=-0,26$; $p=0,020$) i BMI ($r_s=-0,28$; $p=0,011$)

W grupie AN stwierdzono również, że czas trwania choroby korelował ze wskaźnikiem BEWE ($r_s=0,29$; $p=0,008$) (tabela 8 i 9).

Tabela 8. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy masą ciała, wskaźnikiem BMI, IBW, wiekiem, czasem trwania choroby, a związkami oznaczanymi w ślinie i wskaźnikiem PCR w całej badanej grupie (AN i K) oraz osobno dla AN i K.

zmienne	Korelacja porządku rang Spearmana					
	AN+K n=162		AN n=83		K n=79	
	r_s	wartość p	r_s	wartość p	r_s	wartość p
masa ciała vs opiorfina	-0,20	0,013	ns	0,141	ns	0,076
masa ciała vs IgA	ns	0,327	0,28	0,011	ns	0,077
masa ciała vs IgG	ns	0,749	ns	0,333	ns	0,198
masa ciała vs IgM	0,30	<0,001	-0,26	0,020	ns	0,555
masa ciała vs PCR	-0,56	<0,001	ns	0,155	-0,30	0,007
BMI vs opiorfina	-0,24	0,002	ns	0,865	ns	0,234
BMI vs IgA	ns	0,564	0,34	0,002	ns	0,222
BMI vs IgG	ns	0,488	ns	0,981	ns	0,476
BMI vs IgM	0,30	<0,001	-0,28	0,011	ns	0,657
BMI vs PCR	-0,57	<0,001	ns	0,453	ns	0,236
IBW vs opiorfina	-0,29	<0,001	ns	0,113	ns	0,411
IBW vs IgA	ns	0,683	0,27	0,014	ns	0,991
IBW vs IgG	ns	0,051	ns	0,098	ns	0,340
IBW vs IgM	0,28	<0,001	ns	0,104	ns	0,886
IBW vs PCR	-0,52	<0,001	ns	0,847	ns	0,269
wiek vs opiorfina	ns	0,830	0,22	0,047	ns	0,091
wiek vs IgA	ns	0,530	ns	0,209	ns	0,069
wiek vs IgG	-0,21	0,007	-0,25	0,023	ns	0,050
wiek vs IgM	ns	0,110	ns	0,287	0,30	0,008
wiek vs PCR	ns	0,141	ns	0,918	-0,33	0,003
TTI vs BEWE	-	-	0,29	0,008	-	-
TTI vs BMI	-	-	ns	0,476	-	-

n- liczba badanych, ns- brak istotności statystycznej, vs – versus, r_s - współczynnik korelacji Spearmana, TTI - całkowity czas trwania choroby (*ang. total time of illness*)

Tabela 9. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy wskaźnikami PCR [%] i BOP [%], a związkami oznaczanymi w ślinie (opiorfina [ng/ml], IgA [ug/ml], IgG [pg/ml], IgM [ng/ml]) w całej badanej grupie (AN i K) oraz osobno dla AN i K.

zmienne	Korelacja porządku rang Spearmana					
	AN+K n=162		AN n=83		K n=79	
	r_s	wartość p	r_s	wartość p	r_s	wartość p
PCR vs opiorfina	0,24	0,003	ns	0,509	0,34	0,003
PCR vs IgA	0,21	0,007	0,24	0,028	ns	0,229
PCR vs IgG	0,19	0,017	0,43	<0,001	0,25	0,024
PCR vs IgM	-0,45	<0,001	ns	0,379	-0,42	<0,001
BOP vs opiorfina	ns	0,168	ns	0,455	ns	0,278
BOP vs IgA	ns	0,088	ns	0,082	ns	0,608
BOP vs IgG	0,21	0,009	0,41	<0,001	ns	0,171
BOP vs IgM	-0,28	<0,001	ns	0,330	ns	0,465

n- liczba badanych, ns- brak istotności statystycznej, vs – versus, r_s - współczynnik korelacji Spearmana

Korelacje zaobserwowano również pomiędzy samymi zmiennymi oznaczanymi w ślinie. Wśród 162 zbadanych dziewcząt, opiorfina korelowała ujemnie z IgM ($r_s=-0,53$; $p<0,001$) oraz IgG ($r_s=-0,39$; $p<0,001$). IgA i IgM wykazały między sobą dodatkowo słabą, istotną zależność ($r_s= -0,28$; $p<0,001$).

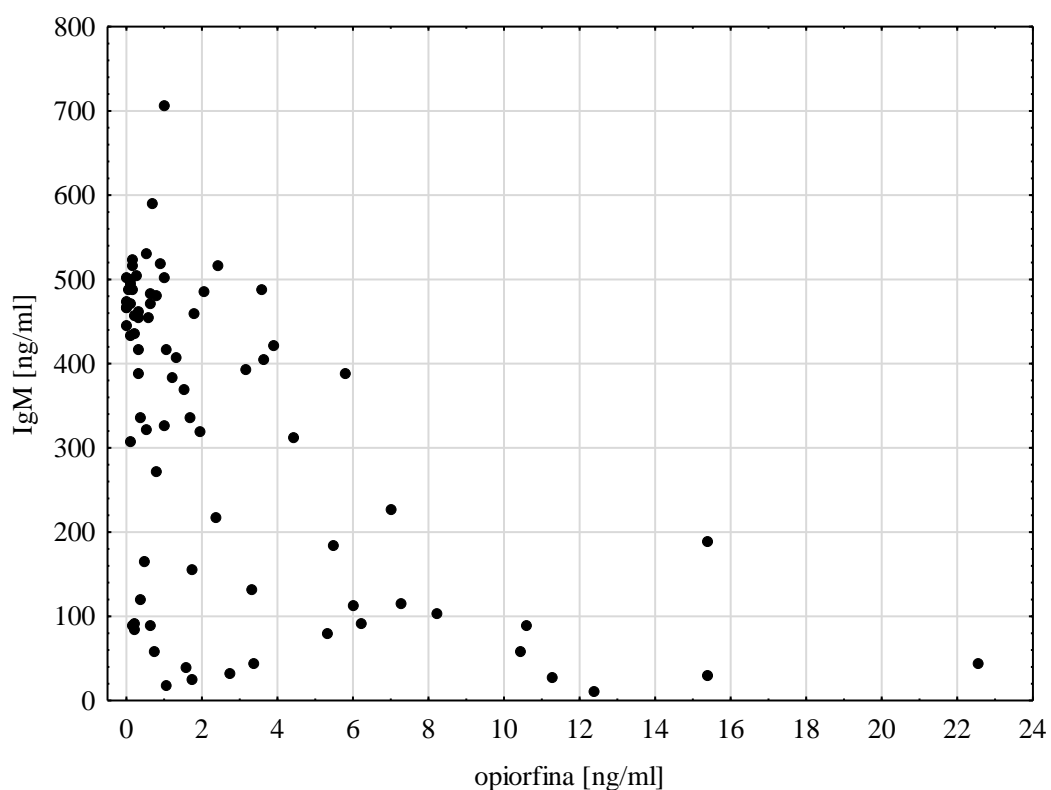
W grupie AN z opiorfiną korelowały wszystkie immunoglobuliny: IgA($r_s=0,30$; $p=0,006$), IgG ($r_s=-0,54$; $p<0,001$) i IgM ($r_s=-0,54$; $p<0,001$).

Dodatkowo wyznaczono zależność pomiędzy IgA i IgM ($r_s=-0,48$; $p<0,001$) (tabela 10).

Tabela 10. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy związkami oznaczanymi w ślinie (opiorfina [ng/ml], IgA [ug/ml], IgG [pg/ml], IgM [ng/ml]) w całej badanej grupie (AN i K) oraz osobno dla AN i K.

zmiennie	Korelacja porządku rang Spearmana					
	AN+K n=162		AN n=83		K n=79	
	r_s	wartość p	r_s	wartość p	r_s	wartość p
opiorfina vs IgA	ns	0,316	0,30	0,006	ns	0,080
opiorfina vs IgG	-0,39	<0,001	-0,54	<0,001	ns	0,294
opiorfina vs IgM	-0,53	<0,001	-0,54	<0,001	-0,44	<0,001
IgA vs IgG	ns	0,336	ns	0,089	ns	0,560
IgA vs IgM	-0,28	<0,001	-0,48	<0,001	ns	0,529

n- liczba badanych, ns- brak istotności statystycznej, vs – versus, r_s - współczynnik korelacji Spearmana



Rycina 13. Wykres rozrzutu zmiennych IgM i opiorfiny w grupie AN.

Wyznaczony model (istotny statystycznie: $p < 0,001$) wskazuje na 3 zmienne: BMI, PUWZ i IgM. Okazały się one istotne statystycznie na poziomie $p < 0,05$, czyli są to parametry istotnie prognozujące wystąpienie choroby w analizowanej grupie 162 badanych. Iloraz szans (OR) parametru BMI wynosi 0,03 oraz 0,99 dla IgM, co oznacza, że wraz ze wzrostem BMI i IgM maleje szansa na chorobę. $OR < 1$ to zmniejszenie o jednostkę BMI, IgM powoduje większe prawdopodobieństwo bycia w grupie AN, im mniejsze wartości tych parametrów tym większa szansa na bycie w grupie AN. Dla PUWZ iloraz szans wynosi 3,6 czyli zwiększenie o jednostkę PUWZ powoduje 3,6 razy większą szansę na bycie w grupie AN. (Tabela 10 i 11)

Tabela 11. Współczynniki, błędy standardowe.

zmienna	współczynnik	błąd standardowy	Chi-kwadrat Walda	poziom p
IgM	-0,01	0,004	5,09	0,020
PUWZ	1,27	0,45	7,84	0,010
BMI	-3,55	1,08	10,77	0,001
stała	59,28	18,22	10,59	0,001

Tabela 12. Ilorazy szans oraz przedziały ufności.

zmienna	iloraz szans	95% przedział ufności
IgM	0,99	0,98 to 1,00
PUWZ	3,55	1,46 to 8,62
BMI	0,03	0,003 to 0,24

DYSKUSJA

6.1. Badanie kliniczne jamy ustnej

PUWZ

Średnia wartość wskaźnika PUWZ wśród pacjentek z grupy AN wynosiła w przedstawionych badaniach $4,0 \pm 4,7$ i była istotnie wyższa od tej w grupie kontrolnej $1,6 \pm 1,7$. Francuski zespół Pallier i wsp. [2019] również zaobserwował większą wartość PUWZ wśród 36 kobiet chorych na jadłowstręt psychiczny niż u osób zdrowych ($8,2 \pm 7,3$ vs $4,7 \pm 4,8$; $p=0,02$). Badali oni jednak starsze pacjentki (średnia wieku $31,1 \pm 7,3$ lat), najczęściej przyjmujące leki psychotropowe, u których choroba została zdiagnozowana minimum 5 lat wcześniej i miała charakter przewlekły. Podobne wyniki uzyskali Lourenzo i wsp. [2017], badając 18 pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym. Aranha i wsp. [2008] przedstawiają rezultaty badań z XX wieku, które są bardzo zróżnicowane w kwestii nasilenia próchnicy u osób ze zdiagnozowanym jadłowstrętem. Analizując własne wyniki, można je zestawić z tymi uzyskanymi przez Ministerstwo Zdrowia w ramach programów monitorowania stanu zdrowia jamy ustnej populacji polskiej. Średni wskaźnik PUWZ w badanej grupie 2 tysięcy 15-latków z różnych części kraju, wynosił w 2015 roku wśród dziewcząt 5,9. Składowe wskaźnika wynosiły $P=2,2$, $U=0,1$ i $W=3,5$, tym samym za wyjątkiem U, były one wyższe od uzyskanych wyników ($P=1,4$; $U=0,2$; $W=2,4$). Wskaźnik leczenia zachowawczego zębów był jednak na niższym poziomie ($0,6$ vs $0,7$). Mielnik-Błaszczak i wsp. [2013] badając stu dwudziestu 15-latków z Podkarpacia określili PUWZ na poziomie 6,6. W 2014 roku intensywność próchnicy wyznaczono na poziomie 2,8 dla 12-latek oraz 6,9 a dla 18-latek. Na wartość wskaźnika PUWZ mogły mieć wpływ takie czynniki jak ilość, skład mineralny i zdolność buforowa wydzielanej śliny, częstotliwość szczotkowania zębów i liczba spożywanych posiłków, która według większości badaczy znacząco różni się od osób zdrowych [Jańczuk i wsp. 2014].

PCR

Wskaźnikiem, który dobrze odzwierciedla aktualny stan higieny jamy ustnej jest PCR. Pallier i wsp. [2019] określili wskaźnik płytki bakteryjnej u chorych na anorexia nervosa na bardzo wysokim poziomie wynoszącym $78,8 \pm 19,7\%$. Dla porównania, Pietrzak i wsp. [2014] wyznaczili średnią wartość wskaźnika płytki wśród zdrowej młodzieży w wieku 16-18 lat wynoszącą $22,3 \pm 10,7\%$. Własne obserwacje wykazały, że

średnia wartość PCR wśród pacjentek z jądłowstrętem psychicznym wynosiła $42,6 \pm 24,5\%$. Na gorszy stan higieny jamy ustnej badanych chorych, może mieć wpływ to, że badania przeprowadzono w pierwszym tygodniu po przyjęciu pacjentek na oddział. Jest to dla nich bardzo trudny czas, gdyż są one w większości osłabione, a przy tym poddane dużemu stresowi związanemu z pobytem w szpitalu. Pacjentki z zaburzeniami odżywiania spożywają posiłki pod kontrolą personelu, który następnie obserwuje je przez godzinę. Tym samym nie mają możliwości wykonania zabiegów higienizacyjnych bezpośrednio po jedzeniu, które dodatkowo, ze względu na charakter terapii, zawiera dużo cukrów prostych (np. dżemy, słodzona herbata, białe pieczywo). Na podstawie własnych obserwacji wydaje się, że na słabą motywację do utrzymywania dobrej higieny jamy ustnej ma też wpływ trudna sytuacja życiowa i związane z nią osłabienie oraz apatia. Dla porównania, w warunkach pozaszpitalnych stwierdzono, że niektóre osoby przewlekle chore szczotkują zęby znacznie częściej, ale źródłem ich działania jest głównie chęć usunięcia nieprzyjemnego zapachu z ust, związanego z ograniczaniem ilości przyjmowanego pokarmu [Johansson i wsp. 2012].

BOP

Zaburzenia w odżywianiu mają wpływ na stan przyzębia. Wieloletnie obserwacje klinicystów i badania naukowe wskazują, że dieta uboga w białko, witaminy oraz nienasycone kwasy tłuszczowe, przyczynia się do pogorszenia zdrowia tkanek jamy ustnej. Jest to związane z zaburzeniami metabolicznymi prowadzącymi do zakłóceń biochemicznych, które powodują problemy w utrzymaniu równowagi pomiędzy oksydantami (utleniaczami) a antyoksydantami (przeciwutleniaczami) [Górska i Konopka, 2013]. W badanej grupie chorych zaobserwowano objawy zapalenia dziąseł i wyznaczono średnią wartość wskaźnika BOP na poziomie $18,7 \pm 21,7\%$. Uzyskano więc wynik zbliżony do Touyz i wsp. [1992] (16,9%), jednak znacznie niższy niż Pallier i wsp. [2019] ($41,3 \pm 27,2\%$). Dla porównania w badaniach Pietrzaka i wsp. [2014], wskaźnik krwawienia z kieszonek przyzębia wynosił wśród licealistek w wieku 16-18 lat $10,4 \pm 10,8\%$.

BEWE

Sumaryczna ocena wskaźnika BEWE wskazuje, że w przeprowadzonych badaniach tylko u jednej pacjentki stwierdzono średnie ryzyko erozji zębów (BEWE=12), a u pozostałych uczestniczek badania było ono niskie lub nie

występowało. W grupie AN, zmiany erozyjne obserwowano znacznie częściej niż w grupie kontrolnej (BEWE: $1,0 \pm 2,4$ vs $0,04 \pm 0,2$), w szczególności w podgrupie, która w wywiadzie podawała epizody wymiotów (BEWE= $5,6 \pm 2,5$). Warto jednak zwrócić tutaj uwagę na parę istotnych kwestii. Badane pacjentki z AN, które zgłaszały występowanie wymiotów, przedstawiały takie zachowanie zdecydowanie rzadziej niż chorzy na BN. Jak duży wpływ na erozję zębów mają regularne wymioty u chorych na BN w porównaniu do osób z AN zbadali Lourenco i wsp. [2017], którzy zaobserwowali duże różnice pomiędzy osobami z zaburzeniami odżywiania, które wykazywały takie zachowanie i tymi, które tego nie robiły (BEWE= $1,3 \pm 0,9$ vs $0,1 \pm 0,5$). Po drugie, badana grupa obejmowała młode osoby, u których objawy zaburzeń odżywiania obserwowano średnio od 10,8 miesiąca. Pallier i wsp. [2019] stwierdzili duże ryzyko erozji aż u 16,7% chorych na AN, jednak badali oni znacznie starsze, dorosłe pacjentki, u których choroba miała wieloletni, przewlekły charakter. Po trzecie, poza wymiotami, istnieje więcej czynników, które mają wpływ na wartość wskaźnika BEWE. Istotna jest dieta, a w szczególności pokarmy i napoje sprzyjające obniżaniu pH w jamie ustnej. Osoby z zaburzeniami odżywiania wydzielają mniej śliny niestymulowanej niż osoby zdrowe [Johanson i wsp. 2012], co zdaniem Atalay i wsp. [2018] predysponuje do zwiększenia ryzyka erozji zębów. Problemem może być również odpowiednie rozróżnienie zmian erozyjnych od utraty tkanek twardych na skutek atrycji lub abrazji [Wetselaar i Lobbezo, 2016]. Shellis i Addy [2014] zwracają uwagę, że te procesy współwystępują i są pomiędzy nimi silne zależności. We własnych badaniach zmiany erozyjne stwierdzono u 18,1% chorych AN. Dla porównania Kaczmarek i wsp. [2012] zaobserwowali występowanie zmian erozyjnych u 16,6% badanych 15-latków z województwa opolskiego, jednak u wszystkich charakteryzowały się one jedynie początkowym uszkodzeniem szkliwa. Średnia wartość BEWE w tej 181 osobowej grupie wynosiła $0,6 \pm 1,5$. Zmiany erozyjne wśród polskiej młodzieży częściej obserwowano u chłopców niż dziewczynek [Kaczmarek i wsp. 2012, Nijakowski i wsp. 2020]. Nijakowski i wsp. [2020] stwierdzili, że bardziej podatni na erozję zębów mogą być młodzi sportowcy, sugerując, że duży wpływ mają w tym przypadku wysokokaloryczna dieta, częstsze spożywanie napojów o niskim pH, a także zmiany w składzie śliny wywołane dużą aktywnością fizyczną. Pacjentki z AN wykazują zwiększoną aktywność fizyczną, jednak ograniczają one ilość przyjmowanego pokarmu [Johansson i wsp. 2012]. W badaniach zleconych przez Ministerstwo Zdrowia, erozję szkliwa obserwowano u 6,3% 15-latków i 16,5% 18-latków, a zębiny odpowiednio

u 0,5% i 1%. Strużycka i wsp. [2014] stwierdzili w grupie 956 18-letnich kobiet niskie ryzyko erozji u 28,6% badanych, średnie u 9,3%, a wysokie u 1%. Powyższe dane pokazują różnicę stopnia zaawansowania zmian tego typu względem wieku. Ważne, aby hipotezę o potencjalnej zachorowalności na erozję przyjąć już przy diagnozowaniu jej wśród dzieci. Z badań przeprowadzonych w naszym kraju wynika, że wśród młodych pacjentów może występować erozja zębów oraz potwierdza się założenie, iż zęby mleczne są bardziej na nią narażone niż zęby stałe [Bartlett i wsp. 2013]. We wszystkich publikacjach podkreśla się, że wysoki potencjał erozyjny pożywienia i napojów owocowych dla dzieci jest główną zewnątrzpochodną przyczyną niepróchnicowej utraty tkanek. Postuluje się konieczność większej kontroli przemysłu spożywczego komponującego smak, zapach, a przede wszystkim skład swoich produktów przeznaczonych dla osób nieletnich. Częste spożywanie słodzonych napojów przyczynia się do erozji zębów, ale sprzyja również wzrostowi otyłości wśród młodzieży. Właśnie dlatego Światowa Organizacja Zdrowia, obserwując coraz większe spożycie cukrów, zaleca, aby rządzący wprowadzali programy mające na celu ograniczenie tego zjawiska jak na przykład nakładanie podatku cukrowego [WHO, 2015]. Wielu autorów zwraca uwagę na pozytywny wpływ takich działań, obserwując, że podwyższone ceny przyczyniają się do zmniejszenia spożywania słodzonych napojów, a producentów do ograniczania zawartości cukru w produktach. Ma to m. in. pozytywny wpływ na zdrowie jamy ustnej [Hashem i wsp. 2019, Schwendicke i wsp. 2016]. Polska, idąc śladem innych krajów od stycznia 2021 roku, nałożyła dodatkową opłatę od sprzedaży słodzonych napojów.

Porównując otrzymane wartości wskaźników zdrowia jamy ustnej z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy, należy zwrócić uwagę na charakterystykę badanej grupy AN. W prowadzonych badaniach średnia wieku pacjentek wynosiła 15 lat w przedziale 12-18 lat. Istotny jest również fakt, że przeprowadzane były one w Polsce. W państwach o wysokim poziomie świadomości zdrowia jamy ustnej, gdzie system profilaktyki i leczenia stomatologicznego jest rozwinięty od wielu lat, obserwuje się mniejsze problemy z chorobą próchnicową [Wierzbicka i wsp. 2009]. W naszym kraju osoby niepełnoletnie są objęte bezpłatną opieką stomatologiczną w ramach świadczeń Narodowego Funduszu Zdrowia, ale występuje jednocześnie szereg ograniczeń wynikających z dostępności i możliwości ich realizacji, takich jak odległość od miejsca zamieszkania, dyspozycyjność rodziców lub opiekunów dziecka w czasie pracy gabinetu stomatologicznego, liczba lekarzy stomatologów specjalistów w zakresie

stomatologii dziecięcej oraz gabinetów nastawionych na realizację kontraktów NFZ. Od lat obserwuje się też brak synchronizacji między różnymi sektorami zobowiązanymi do organizacji ochrony zdrowia, takimi jak samorzady, urzędy gminne, kuratoria oświaty oraz placówki służby zdrowia. W skrajnych przypadkach, jedynym miejscem, gdzie realizuje się bezpłatną opiekę stomatologiczną, są mobilne dentobusy. Zlokalizowanie gabinetu w pojeździe wymusza krótki czas kontaktu z pacjentem, jednorazowość i z założenia nastawienie na wykonywanie tylko ogólnych zabiegów stomatologicznych. Porównując dane statystyczne z Europy, stan zębów polskich dzieci wypada gorzej na tle krajów bardziej rozwiniętych. Przykładem mogą być państwa skandynawskie, gdzie próchnica zębów mlecznych i stałych występuje znacznie rzadziej [Gaszyńska i wsp. 2014, Nishi i wsp. 2002]. Na tym tle, moje badania obejmujące grupę pacjentek na wczesnym etapie rozwoju choroby i skupiające się na analizie ich zdrowia jamy ustnej, wnoszą szereg nowych, dotychczas nierozpatrywanych obserwacji. W niewielu publikacjach opisano aspekt stomatologiczny zaburzeń odżywiania u tak młodych osób.

6.2. Wykorzystanie stężeń opiorfiny i immunoglobulin w ocenie stanu psychicznego oraz zdrowia jamy ustnej pacjentek z jadłowstrętem psychicznym

Ślina jest cennym materiałem diagnostycznym ze względu na możliwość oznaczania w niej wielu związków oraz jej nieinwazyjne i proste pobranie. W przeprowadzonych badaniach własnych uzyskano istotnie wyższe stężenie opiorfiny w ślinie pacjentek z grupy AN niż w grupie osób zdrowych. Wyniki te są zbieżne z obserwacjami Chen i wsp. [2017], którzy badając szczury, stwierdzili, że przy zwiększonym stężeniu opiorfiny w wcześniej głodzonym organizmie, następuje ograniczenie ilości spożywanego przez nie pokarmu. Kliniczne badania Ozdogana i wsp. [2017 i 2020] Salirica i wsp. [2017] oraz Paridy i wsp. [2018] wykazały, że stres wpływa na zwiększenie wydzielenia opiorfiny. Liczne badania dowodzą, że u chorych z jadłowstrętem psychicznym, uruchamia się oś stresu [Solmi i wsp. 2016], więc tym samym można przypuszczać, że wydzielają oni więcej omawianej proteiny. Ozdogan i wsp. [2017] badali stężenie tej substancji w ślinie dorosłych pacjentów zgłaszających się do stomatologa z bólem zębów stałych różnego pochodzenia, kwalifikując ich do leczenia endodontycznego i endodontyczno-periodontologicznego wraz z badaniem śliny w 1 dniu oraz po 7 i 30 dniach od pierwszej wizyty. Badacze stwierdzili wyższy poziom w stanie ostrym ($31,3 \pm 7,1$ ng/ml) niż tydzień po leczeniu [$20,4 \pm 2,7$ ng/ml).

Znamiennie wyższe stężenie opiorfiny występowało u pacjentów w trakcie zapalenia miazgi niż zapalenia tkanek okołowierzchołkowych. Autorzy tej pracy sądzą, że poziom opiorfiny w ślinie koreluje z poziomem bólu. Potwierdzają to wyniki badań Parida i wsp. [2018], którzy zaobserwowali zmniejszone stężenie opiorfiny w ślinie pacjentów po podaniu znieczulenia wewnątrzustnego. Lekarze stomatolodzy realizujący te eksperymenty stwierdzili brak wpływu techniki podania znieczulenia oraz rodzaju anestetyka na rezultat doświadczenia. Podobnie jak Salaric i wsp. [2017] i Boucher i wsp. [2017], w tej pracy wskazuje się, że wahaniach stężenia opiorfiny są wynikiem obniżenia poziomu stresu u pacjentów po podaniu znieczulenia przeciwbólowego. Najnowsze badania Ozdogana i wsp. [2020], w których stwierdzono istotnie wyższe stężenia opiorfiny w łzach pacjentów, którzy zgłosili się na oddział okulistyki z ciałem obcym (opiłki metalu) w rogówce, niż u osób zdrowych, potwierdzają wcześniejsze obserwacje.

Opiorfina, ze względu na swoje przeciwbólowe i przeciwdepresyjne właściwości, nadal budzi zainteresowanie, czego efektem są nowe publikacje z różnych dziedzin nauki. Bardzo ciekawy jest aspekt użycia opiorfiny jako potencjalnego, silnego środka przeciwbólowego [Wisner i wsp. 2006, Tian i wsp. 2009; Van Elstraete i wsp. 2018]. Istnieją już bardzo obiecujące badania *in vivo*, w których stosowano liposomalne postaci opiorfiny, jednak jak na razie badania prowadzone są tylko na modelach zwierzęcych [Sitbon i wsp. 2016; Mennini i wsp. 2015]. Ważną kwestią dla badaczy będzie z pewnością ustalenie, w jakiej postaci związek miałby być podawany jako potencjalny lek, miejsce jego aplikacji, zdolność przenikania do różnych tkanek oraz to, jak długo będzie działał [Sujatha i wsp., 2018]. Istotne są również obserwacje Tian i wsp. [2015], Fang i wsp. [2014] oraz Chen i wsp. [2017], którzy sugerują, że opiorfina poza działaniem na układ opioidowy może mieć wpływ na układ renina–angiotensyna–aldosteron (RAA), przyspieszając tętno i zwiększając ciśnienie krwi, co jest niepożądanym efektem w przypadku chęci uzyskania jedynie efektu przeciwbólowego. Omawiana proteina jest nadal mało poznanym związkiem i choć ma wiele zalet, to jednak jej potencjalne użycie w medycynie musiałoby być poprzedzone dokładniejszymi doświadczeniami. Zastosowanie opiorfiny jako markera chorób przebiegających z objawami bólowymi może się okazać przydatne w celu oceny stanu pacjenta, jednak dysponując obecną wiedzą, możemy ją jedynie traktować jako wskaźnik pomocniczy. Podobnie w chorobach psychicznych, jak na przykład w zaburzeniach odżywiania, określenie wpływu opiorfiny na stan pacjenta byłoby cenną

wskazówką diagnostyczną lub mogłoby mieć nawet wpływ na sposób terapii. Jedynie Paszyńska i wsp. [2019] badali wcześniej poziom opiorfiny u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym. Nie zaobserwowali oni istotnej różnicy pomiędzy grupą z AN, a kontrolną. Stwierdzili jednak znacząco wyższy poziom kortyzolu, u pacjentek z rozpoznanym jadłowstrętem psychicznym niż u zdrowych dziewczynek, który jest uznawany za marker stresu [Hellhammer i wsp. 2009].

W przeprowadzonych badaniach własnych z pośród oznaczanych w ślinie przeciwciał klasy A, G i M, jedynie stężenie IgM było istotnie niższe w grupie z jadłowstrętem psychicznym niż w zdrowej. Ujemna korelacja stężenia opiorfiny zarówno z IgG jak i IgM, sugerowałaby, że stres i zaburzenia w organizmie chorych osób wpływają na układ immunologiczny między innymi przez zmniejszenie wydzielania przeciwciał w ślinie. Większość badaczy obserwowała niższe poziomy IgA w ślinie u osób z wysoką wartością PUWZ [Wu i wsp. 2020]. Sugerują, że przeciwciała chronią zęby przed próchnicą, reagując z bakteriami kariogennymi [Pandey i wsp. 2018]. Z drugiej strony Al-ani i wsp. [2020] oraz Rashkova i wsp. [2009] nie zaobserwowali istotnych różnic w stężeniach IgA u pacjentów z różnym nasileniem próchnicy, co jest zbieżne z własnymi badaniami, gdzie nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem badanych immunoglobulin i wartością wskaźnika PUWZ.

W wielu publikacjach zwraca się uwagę na nieprawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego u osób z jadłowstrętem psychicznym [Gibson i Mehler, 2019]. Hedman i wsp. [2018] analizowali występowanie zaburzeń odżywiania i chorób o podłożu autoimmunologicznym w populacji 2,5 miliona Szwedów. Wśród kobiet ryzyko zachorowania na jadłowstręt psychiczny wzrastał o 50% w przypadku celiakii, o 89% w chorobie Crohna oraz o 71% w cukrzycy typu pierwszego. Te wyniki są zbieżne z wcześniejszymi obserwacjami przeprowadzonymi na mniejszych grupach [Wotton i wsp. 2016; Raevuori i wsp. 2014]. Autorzy zwracają uwagę, że te zależności mogą wskazywać na wspólny mechanizm przyczyniający się do występowania tych chorób. Sugeruje się, że wpływ zaburzeń układu immunologicznego, czynniki genetyczne, zmiany zachowań żywieniowych, poziom insuliny, czy stosowane leki mogą przyczyniać się do zaburzeń regulacji apetytu [Hedman i wsp. 2019]. Zdaniem wielu badaczy autoprzeciwciała, których wytwarzanie może być zależne od flory bakteryjnej przewodu pokarmowego, reagują z peptydowymi hormonami i neuropeptydami regulującymi apetyt [Fetissov i wsp. 2008; Carbone i wsp. 2020; Breton i wsp. 2020]. W badaniach z 2019 Fetissov i Hokfelt oraz Lucas i wsp. dowodzą,

że przeciwciała, reagując z hormonem stymulującym melanocyty (α -MSH), neuropeptydem odpowiedzialnym za uczucie sytości, pełnią istotną rolę w etiologii zaburzeń odżywiania.

Pacjentki z AN wykonują bardzo częste, ponadnormatywne treningi, których celem jest zmniejszenie masy ciała [własne obserwacje, Nagata i wsp. 2017]. Wiele uwagi poświęcono efektom wysiłku fizycznego na stężenie przeciwciał w ślinie. Z badań Papacosta i Nassis [2011] wynika, że krótkie, intensywne treningi powodują wzrost IgA, podczas gdy bardzo silne wysiłki, trwające ponad dwie godziny przyczyniały się do spadku IgA. Nehlsen-Cannarell i wsp. [2000] badając wioślarki przygotowujące się do zawodów stwierdzili u nich wyższy poziom IgA w ślinie niż w grupie kontrolnej. We własnych badaniach, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w poziomie IgA z grupą kontrolną, jednak warto zwrócić uwagę, że pacjentki trafiały na oddział w fazie choroby, która ze względu na wycieńczenie, najczęściej znacznie uniemożliwia im aktywność fizyczną.

Bardzo duże znaczenie na układ immunologiczny ma stres. Hospitalizacja i trudna sytuacja życiowa znacząco go nasila. W badaniach osób, u których zastosowano 3 tygodniowe terapie relaksacyjne, obserwowano zwiększony poziom IgA [Green i wsp. 1988]. Niestety nasze obserwacje nie obejmują dalszego etapu leczenia i jego wpływu na poziom immunoglobulin.

W ślinie osób palących Giuca i wsp. [2014] stwierdzili istotnie statystycznie niższy poziom przeciwciał klas A, G i M w porównaniu do osób niepalących (IgA $20,0 \pm 1,2$ mg/dl vs $234,1 \pm 65,2$ mg/dl; IgG $8,1 \pm 1,4$ vs $1049,4 \pm 102$ mg/dl; IgM $19,5 \pm 1,6$ mg/dl vs $121,0 \pm 31,7$ mg/dl). Dodatkowo w badanej grupie zaobserwowali znacznie gorszy stan przyzębia, co badacze wiązali z mniejszą reakcją obronną organizmu, wywołaną szkodliwym działaniem wyrobów tytoniowych. Zdaniem Solmi i wsp. [2016] oraz Anzengruber i wsp. [2006] odsetek palaczy wśród pacjentek z AN jest zbliżony do zdrowej populacji, więc raczej ten aspekt nie powinien to mieć wpływu na uzyskane wyniki.

6.3. Ograniczenia przeprowadzonych badań

Przeprowadzone badanie dostarczają istotnych choć wstępnych danych o stanie zdrowia jamy ustnej pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego. Badana grupa była ograniczona do 83 niepełnoletnich pacjentek. Próbkę śliny pozyskiwano w fazie ostrej choroby, bez informacji o wcześniejszych wartościach określanych parametrów, co stanowiłoby punkt odniesienia. Dla dziewcząt był to pierwszy pobyt na oddziale psychiatrii z powodu zaburzeń odżywiania i związanym z tym dużym spadkiem masy ciała.

Badanie warto uzupełnić o długoterminową obserwację pacjentek, zarówno tych, u których choroba ulega remisji, zaostrzeniu, przejściu w fazę przewlekłą lub zmianę typu zaburzeń odżywiania. Badania należy rozszerzyć m.in. o oznaczenie w ślinie markerów stresu, hormonów, neuroprzekazników i cytokin wydzielanych w rytmie okołodobowym (np. kortyzol, TNF- α , amylazę ślinową). Prowadzenie dalszych badań porównawczych wymaga opracowania ustrukturyzowanych kwestionariuszy do oceny rodzaju spożywanych pokarmów, zachowań i higieny jamy ustnej. Należy podkreślić, że badane pacjentki w pierwszym okresie hospitalizacji są trudne we współpracy oraz wzajemnej komunikacji. Jadłowstręt psychiczny częściej dotyka płci żeńskiej, niemniej celowe jest uzupełnienie obserwacji w grupie męskiej.

Przeprowadzone badania, dostarczają wartościowej analizy czynników klinicznych w ujęciu biochemicznym niedawno odkrytego składnika śliny jakim jest opiorfina. Dowodzą też, że ślina pozostaje nadal niewystarczająco zbadanym materiałem diagnostycznym. Wyniki niniejszego opracowania należy traktować jako badanie pilotażowe, które uzasadnia wartość dalszego pogłębiania wiedzy o proteomie śliny w celu poszukiwania użytecznych biomarkerów diagnostycznych zarówno w stomatologii jak i psychiatrii. Powyższa praca może przyczynić się do rozwoju dalszych kierunków badawczych wykraczających poza ww. specjalizacje.

PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki oceny zdrowia jamy ustnej, dowodzą, że pacjentki z AN powinny być objęte interdyscyplinarnym leczeniem obejmującym lekarza dentystę. Istotne jest, aby chorzy, mimo wielu trudności, regularnie dbali o higienę jamy ustnej. Przeprowadzone badanie dowodzi, że w ślinie osób z AN występuje wyższe stężenie opiorfiny niż w zdrowej populacji. Uzyskane wyniki wskazują, że badany związek może być markerem stresu. Spośród badanych immunoglobulin, jedynie stężenie IgM było istotnie niższe w grupie AN, wartości IgA i IgG nie różniły się statystycznie od grupy kontrolnej. Uzyskane wyniki sugerują, że pod wpływem głodzenia i stresu układ immunologiczny ulega osłabieniu.

WNIOSKI

W aspekcie wybranych składników śliny występują różnice w zapadalności na podstawowe choroby jamy ustnej okresu wczesnej adolescencji, a także w aspekcie wybranych składników śliny. Na podstawie uzyskanych wyników badań, przeprowadzonych wśród dziewcząt w trakcie ostrej fazy rozwoju zaburzeń odżywiania AN sformułowano następujące wnioski.

1. W ostrym przebiegu jadłowstrętu psychicznego obserwuje się zwiększone stężenie w ślinie proenkefalinowego polipeptydu – opiorfiny niż u osób zdrowych, co może sugerować wykorzystanie jej jako nowego markera neurobiologicznego śliny.
2. W ostrym przebiegu jadłowstrętu psychicznego dochodzi do istotnego obniżenia poziomu stężenia immunoglobulin klasy M oraz wahań stężeń IgA w ślinie. Zaobserwowane różnice mogą świadczyć, iż u chorych na AN odgrywają one ważną rolę regulacyjną w obrębie jamy ustnej.
3. Związek pomiędzy opiorfiną a elementami systemu obronnego śliny może dotyczyć przeciwciał klasy IgA, IgG i IgM.
4. Jadłowstręt psychiczny to choroba, która ma negatywny wpływ na zdrowie jamy ustnej. Pod wpływem zaburzeń odżywiania, osoby mogą być bardziej narażone na pogorszenie stanu higieny, stan zapalny dziąseł i próchnicę zębów. W przypadku pacjentek z wymiotami w wywiadzie występuje większe narażenie na erozję zębów niż u tych, które nie zgłaszały takich zachowań.
5. Niższy poziom nawyków higienicznych, manifestujący się większym depozytem płytki bakteryjnej w jamie ustnej w porównaniu do grupy kontrolnej, sugeruje potrzebę regularnej opieki stomatologicznej i odpowiedniej edukacji prozdrowotnej u osób z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.

STRESZCZENIE

Wstęp: Badacze nie są zgodni co do różnic pomiędzy stanem zdrowia jamy ustnej pacjentek z jądłowstrętem psychicznym AN w porównaniu do osób zdrowych. Niewiele publikacji porusza stan zdrowia jamy ustnej osób chorujących krócej niż 5 lat czyli w pierwszym okresie zaburzeń odżywiania, rozwijającym się po 12 roku życia. W tym czasie w jamie ustnej dochodzi do ukończenia procesu wyrzynania i mineralizacji zębów stałych oraz formowania tkanek przyzębia. Wydaje się, że w przypadku jądłowstrętu psychicznego, zaburzenie homeostazy organizmu zachodzi na wielu poziomach. Z punktu widzenia ogólnego stanu pacjenta z AN charakteryzującego się niską masą ciała, niedoborami mikro i makroelementów, połączonymi z niższym wydzielaniem śliny i zaniedbaniami higienizacyjnymi, ochrona tkanek twardych zęba stanowi duże wyzwanie. Zmiany wywołane chorobą AN mogą dotyczyć także składników przeciwbólowych i przeciwzapalnych śliny, do których należą m. in. opiorfina i system immunoglobulin A, G, M. Poprzez związki z układem nerwowym, ich poziom może dostarczać wielu informacji, ważnych dla zdrowia ogólnego i jamy ustnej.

Cel pracy: Porównanie stanu zdrowia jamy ustnej oraz stężeń opiorfiny i immunoglobulin A, G, M w ślinie całkowitej dziewcząt z diagnozą AN oraz zdrowych dobranych co do płci, wieku i bez zaburzeń odżywiania w okresie wczesnej adolescencji.

Materiały i metody: Przekrojowe badania kliniczne przeprowadzono wśród 83 pacjentek z AN (grupa AN) i 79 dobranych zdrowych ochotniczek (grupa K). Badania jamy ustnej oraz pobranie próbek śliny w celu ustalenia poziomu opiorfiny i przeciwciał przeprowadzono w trakcie zaostrzenia AN ($BMI < 16 \text{ kg/m}^2$). Stomatologiczne badanie kliniczne obejmowało wyznaczenie wskaźników próchnicy PUWZ (DMFT - decayed, missing, and filled teeth), ilości płytki nazębnej PCR (Plaque Control Record), kondycji dziąseł BOP (Bleeding on Probing) oraz starcia erozyjnego zębów BEWE (Basic Erosive Wear Examination). Stężenia opiorfiny i przeciwciał zmierzono za pomocą testów molekularnych techniką ELISA.

Wyniki: Zachorowalność na próchnicę, kontrola płytki nazębnej, stan zapalny dziąseł wykazywały gorsze wyniki w grupie AN, (wskaźnik PUWZ wynosił dla grupy AN średnio $4,0 \pm 4,7$, PCR $40,0 \pm 22,2\%$, BOP $15,3 \pm 18,0\%$ a BEWE $0,3 \pm 1,3$).

W przypadku pacjentek zgłaszających wymioty w wywiadzie zaobserwowano początek zmian erozyjnych zębów. Badania śliny wykazały, że stężenie opiorfiny było istotnie wyższe w grupie AN ($3,1 \pm 4,1$ ng/ml), niż kontrolnej ($1,1 \pm 1,2$ ng/ml) ($p=0,001$), zaś stężenie IgM było istotnie niższe w grupie AN ($311,0 \pm 185,3$ ng/ml) niż w K ($421,2 \pm 168,1$ ng/ml) ($p<0,001$). Nie stwierdzono istotnych różnic w poziomach IgA i IgG pomiędzy badanymi grupami, chociaż IgA wykazywało tendencję do podwyższonych poziomów ślinie grupy AN ($p=0,144$). Analiza Spearmana wykazała wyraźną korelację między opiorfiną a wiekiem ($p<0,05$), wszystkimi immunoglobulinami IgA, IgG, IgM ($p=0,006$, $p<0,001$, $p<0,001$), podobnie indeks PCR i IgG, IgM (odpowiednio $p=0,028$, $p<0,001$), masa ciała, BMI, IBW% i IgA, IgM ($p<0,05$).

Wnioski: W ostrym przebiegu jadłowstrętu psychicznego, w stosunku do zdrowych dziewcząt, obserwuje się zwiększone stężenie w ślinie proenkefalinowego polipeptydu – opiorfiny, co może sugerować wykorzystanie jej jako nowego markera neurobiologicznego śliny. Różnice w poziomach immunoglobulin mogą być efektem deregulacji układu odpornościowego. Zaobserwowano negatywny wpływ choroby na zdrowie jamy ustnej. Zaburzenia odżywiania powodują, że chorzy mogą być bardziej narażeni na pogorszenie stanu higieny, stan zapalny dziąseł, próchnicę czy erozję zębów.

SUMMARY

Introduction: Researchers do not agree on the differences between the oral health status of AN patients compared to healthy controls. Few publications discuss the oral health of people suffering for less than 5 years, i.e. in the first period of eating disorders developing after the age of 12. During this time, the process of eruption and mineralization of permanent teeth and the formation of periodontal tissues are completed in the mouth. It seems that in the case of anorexia nervosa, disruption of the body's homeostasis occurs at many levels. From the point of view of the general condition of a patient with AN, characterized by low body weight, micronutrient and macronutrient deficiencies, combined with lower salivation and neglect of hygiene, the protection of tooth hard tissues is a major challenge. Changes related to the disease of AN may also affect the analgesic and anti-inflammatory components of saliva, the section of which opiorphine and the immunoglobulin system A, G, M. belong to. Through the connections with the nervous system, their level can provide a lot of information important for the general health and oral cavity.

Objective: Comparison of the health of the oral cavity and the concentrations of opiorphine and immunoglobulins A, G, M in the total saliva of girls with the diagnosis of AN and healthy, the same gender, age and without eating disorders in early adolescence.

Materials and methods: Cross-sectional clinical studies on 83 patients with AN (group AN) and 79 selected healthy volunteers (group K). Oral examination and saliva collection to determine the level of opiorphine and antibodies were conducted during an exacerbation of AN (BMI <16 kg / m²). Clinical dental examination included the determination of the caries indicators DMFT (DMFT - decayed, missing and filled teeth), the amount of plaque PCR (Plaque Control Record), the condition of the gums BOP (Bleeding on Probing) and erosive wear of teeth BEWE (Basic Erosive Wear Examination). The concentrations of opiorphine and antibodies were measured by molecular assays by ELISA technique.

Results: Caries incidence, plaque control, gingivitis showed worse results in the AN group (mean DMFT index was 4.0 ± 4.7 , PCR $40.0 \pm 22.2\%$, BOP $15.3 \pm 18.0\%$ and BEWE 0.3 ± 1.3). The onset of tooth erosive changes was observed in patients reporting vomiting. Saliva tests showed that the concentration of opiorphine

was significantly higher in the AN group (3.1 ± 4.1 ng / ml) than in the control group (1.1 ± 1.2 ng / ml) ($p = 0,001$), and the concentration IgM was significantly lower in the AN group (311.0 ± 185.3 ng / ml) than in the K group (421.2 ± 168.1 ng / ml) ($p < 0,001$). There were no significant differences in the levels of IgA and IgG between the study groups, although IgA showed a trend towards increased saliva levels of the AN group ($p = 0,144$). Relationships between the compounds measured in saliva were shown, the concentration of opiorphine negatively correlated with IgM (-0.53) and IgG (-0.39).

Conclusions: In the acute course of anorexia nervosa, compared to healthy girls, an increased concentration of the proenkephalin polypeptide - opiorphine in saliva is observed, which may suggest its use as a new neurobiological marker of saliva. Differences in immunoglobulin levels may be the result of deregulation of the immune system. A negative impact of the disease on oral health has been observed. Eating disorders cause that patients may be at greater risk of deteriorating hygiene, gingivitis, caries and erosion.

PIŚMIENNICTWO

Abdul Khader NF, Dyasanoor S. Assessment of Salivary Flow Rate and pH Among Areca Nut Chewers and Oral Submucous Fibrosis Subjects: A Comparative Study *Journal of Cancer Prevention* 2015;20(3): 208–221

Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975;25(4):229-35

Al-Ani A, MacDonald DA, Ahmad M. Salivary sIgA and PRAP-1 Protein in Relation to Dental Caries: A Comparative Study. *Journal of Advanced Oral Research* 2020;11(1):71-76

Alckmin-Carvalho F, Bergamo Vega J, Weisz Cobelo A, Donzelli Fabbri A, Dentzien Pinzon V, da Silva Melo MH. Evidence-based psychotherapy for treatment of anorexia nervosa in children and adolescents: systematic review. *Arch Clin Psychiatry* 2018;45(2):41-48

American Academy of Pediatrics. Identifying and Treating Eating Disorders. *Pediatrics* January 2003;111:204-211

Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne. Kryteria diagnostyczne zaburzeń psychicznych DSM-5. Edra Urban & Partner 2013;399-430

Anzengruber D, Klump KL, Thornton L i wsp. Smoking in eating disorders. *Eat Behav* 2006;7(4):291-9

Aranha AC, Eduardo CP, Cordás A. Eating disorders. Part I: Psychiatric diagnosis and dental implications. *J Contemp Dent Pract* 2008;9(6):73-81

Aránguiz V, Lara JS, Marró MJ, O'Toole S, Ramírez V, David Bartlett D. Recommendations and guidelines for dentists using the basic erosive wear examination index (BEWE). *Br Dent J* 2020;228(3):153-7

Arcelus J, Mitchell A, Wales J, Nielsen S. Mortality Rates in Patients With Anorexia Nervosa and Other Eating Disorders. *Arch Gen Psychiatry* 2011;68(7):724-31

- Aroucha J, Ximenes R, Vasconcelos F, Nery M, Sougey E. Temporomandibular disorders and eating disorders: a literature review. *Trends Psychiatry Psychother.* 2014;36(1):11-15
- Atalay C, Ozgunaltay G. Evaluation of Tooth Wear and Associated Risk Factors: A Matched Case–Control Study. *Niger J Clin Pract* 2018;21:1607-14
- Attia E, Becker AE, Bryant-Waugh R i wsp. Wonderlich S. Feeding and Eating Disorders in DSM-5. *American Journal of Psychiatry* 2013;170:11
- Back-Brito GN, da Mota AJ, de Souza Bernardes LÂ i wsp. Effects of eating disorders on oral fungal diversity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012;11:512-7
- Baker JH, Schaumberg K, Munn-Chernoff MA. Genetics of Anorexia Nervosa. *Current Psychiatry Reports* 2018;19(11):84
- Barbosa da Costa Ribeiro CS, Gonçalves Ferreira de Pinho JC, Fernandez Esteves MA. Oral manifestations and psychosomatic profile changes in anorexia and bulimia patients. *Oral Health Dent Manag* 2015;14:2
- Bardone-Cone AM, Fitzsimmons-Craft EE, Harney MBi wsp. The Inter-Relationships between Vegetarianism and Eating Disorders among Females. *J Acad Nutr Diet* 2012;112(8):1247-52
- Bartlett D, Ganss C, Lussi A. Basic Erosive Wear Examination (BEWE): a new scoring system for scientific and clinical needs. *Clin Oral Investig* 2008;12(Suppl 1):S65-8
- Bartlett DW, Lussi A, West NX, Bourgeois D. Prevalence of tooth wear on buccal and lingual surface and possible risk factors in young European adult. *J Dent* 2013; 41(11):1007-13
- Becker AE, Burwell RA, Gilman SE, Herzog DB, Hamburg P. Eating behaviours and attitudes following prolonged exposure to television among ethnic Fijian adolescent girls. *British Journal of Psychiatry* 2002;180:509-14
- Belstrøm D, Holmstrup P, Bardow A, Kokaras A, Fiehn NE, Paster BJ. Comparative analysis of bacterial profiles in unstimulated and stimulated saliva samples. *Journal of Oral Microbiology* 2016;8:10

- Benyhe Z, Toth G, Wollemann M i wsp. Effects of synthetic analogues of human opiorphin on rat brain opioid receptors. *J Physiol Pharmacol* 2014;65(4):525-30
- Berner LA, Brown TA, Lavender JM, Lopez E, Wierenga CE, Kaye WH. Neuroendocrinology of reward in anorexia nervosa and bulimia nervosa: Beyond leptin and ghrelin. *Mol Cell Endocrinol.* 2019;497:110320
- Bishop NC, Gleeson N. Acute and chronic effects of exercise on markers of mucosal immunity. *Frontiers in Bioscience* 2009;14:4444-56
- Brkljačić L, Sabalić M, Salarić I, Jerić I, Alajbeg I, Nemet I. Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantification of opiorphin in human saliva. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2011;879(32):3920-6
- Bocsik A, Darula Z, Toth G, Deli MA, Wollemann M. Transfer of Opiorphin Through a Blood-Brain Barrier Culture Model. *Archives of Medical Research* 46 2015;502-506
- Boucher Y, Braud A, Dufour E i wsp. Opiorphin levels in fluids of burning mouth syndrome patients: a case-control study. *Clin Oral Invest* 2017;21:2157–2164
- Bourre JM. Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: update on dietary requirements for brain. Part 1: micronutrients. *J Nutr Health Aging.* 2006;10:377-85
- Breton J, Jacquemot J, Yaker L i wsp. Host Starvation and Female Sex Influence Enterobacterial ClpB Production: A Possible Link to the Etiology of Eating Disorders. *Microorganisms* 2020;8(4):530
- Brewerton TD, D'Agostino M. Adjunctive Use of Olanzapine in the Treatment of Avoidant Restrictive Food Intake Disorder in Children and Adolescents in an Eating Disorders Program. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2017;27(10):920-922
- Carbone EA, D'Amato P, Vicchio G, De Fazio P, Segura-Garcia C. A systematic review on the role of microbiota in the pathogenesis and treatment of eating disorders. *European Psychiatry* 2020;64(1), e2:1–14
- Caregaro L, Alberino F, Angeli P, Gatta A. Insulin like growth factor 1 (IGF-1) in liver cirrhosis: a marker of hepatocellular dysfunction? *J Hepatol* 1998;29: 342-351

- Cerchiari DP, de Moricz RD, Alves Sanjar F, Bogar Rapoport P, Moretti G, Guerra MM. Burning mouth syndrome: etiology. *Braz J Otorhinolaryngol* 2006;72(3):419-23
- Chambers P. Comparison of electroencephalographic changes in response to acute electrical and thermal stimuli with the tail flick and hotplate test in rats administered with opiorphin. *BMC Neurology* 2018;18:43
- Chen Y, Tian XZ, Bai L i wsp. Effects of human opiorphin on food intake and water intake in mice following central administration. *Neuroscience Letters* 2017;641:62–69
- Chrysanthakopoulos NA. Gingival recession: prevalence and risk indicators among young greek adults. *J Clin Exp Dent* 2014;6(3):243-9
- Committee on Adolescence. Identifying and Treating Eating Disorders. *Pediatrics* 2003; 111(1):204-211
- Corega C, Vaida L, Festila DG i wsp. Salivary levels of IgA in healthy subjects undergoing active orthodontic treatment. *Minerva Stomatol* 2014;62:11–6
- Dabbs JM, Jurkovic GJ, Frady RL. Salivary testosterone and cortisol among late adolescent male offenders. *Journal of Abnormal Child Psychology* 1991;19:469–478
- Daniel C, Ricci HA, Boeck EM, Bevilacqua FM, Cerqueira-Leite JBB. Perimolysis: case report. *Rev Gaúch Odontol, Porto Alegre* 2015;63:213-218
- Dufour E, Villard-Saussine S, Mellon V, Leandri R, Jouannet P, Ungeheuer MN. Opiorphin Secretion Pattern in Healthy Volunteers: Gender Difference and Organ Specificity. *Analytical Biochemistry* 2013;2:3
- Dynesen AW, Gehrt CA, Klinker SE, Christensen LB. Eating disorders: experiences of and attitudes toward oral health and oral health behaviour. *Eur J Oral Sci* 2018 Dec;126(6):500-506
- Emodi-Perlman A, Yoffe T, Rosenberg N, Eli I, Alter Z, Winocur E. Prevalence of psychologic, dental, and temporomandibular signs and symptoms among chronic eating disorders patients: a comparative control study. *J Orofac Pain* 2008;22(3):201-8

- Errichiello L, Iodice D, Bruzzese D, Gherghi M, Senatore I. Prognostic factors and outcome in anorexia nervosa: a follow-up study. *Eat Weight Disord* 2016;21(1):73-82
- Falcão DP, Coelho Leal S, Novaes Vieira C i wsp. Sialometry of Upper Labial Minor Glands: A Clinical Approach by the Use of Weighing Method Schirmer's Test Strips Paper. *Scientific World Journal* 2014; 9
- Fang Y, Li S, Zhou H, Tian X, Lv S, Chen Q. Opiorphin increases blood pressure of conscious rats through renin-angiotensin system (RAS). *Peptides* 2014;55:47–51
- Fejerskov O, Kidd E. *Dental Caries: the disease and its clinical management*. Blackwell Munksgard 2008;190-207
- Fetissov SO, Hamze Sinno M, Coëffier M i wsp. Autoantibodies against appetite-regulating peptide hormones and neuropeptides: Putative modulation by gut microflora. *Nutrition* 2008;24:348–359
- Fetissov SO, Hokfelt T. On the origin of eating disorders: altered signaling between gut microbiota, adaptive immunity and the brain melanocortin system regulating feeding behaviour. *Current Opinion in Pharmacology* 2019; 48:82–91
- Fichter MM, Quadflieg N, Hedlund S. Twelve-year course and outcome predictors of anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 2006;39(2):87-100
- Fichter MM, Quadflieg N, Crosby RD, Koch S. Long-term outcome of anorexia nervosa: Results from a large clinical longitudinal study. *Int J Eat Disord* 2017;50(9):1018-30
- Frank G, Shott ME, Hagman JO, Yang TT. Localized Brain Volume and White Matter Integrity Alterations in Adolescent Anorexia Nervosa. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2013;52(10):1066–1075
- Franko DL, Keshaviah A, Eddy KT i wsp. A longitudinal investigation of mortality in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *m J Psychiatry* 2013;170(8):917-25
- Frydrych AM, Davies GR, McDermott BM. Eating disorders and oral health: A review of the literature. *Australian Dental Journal* 2005;50:6-15

- Garber AK, Sawyer SM, Golden NG i wsp.: A systematic review of approaches to refeeding in patients with anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 2016;49(3): 293–310
- Garner DM, Garfinkel PE. Socio-cultural factors in the development of anorexia nervosa. *Psychol Med.* 1980;10(4):647-56
- Garner DM. Body image and anorexia nervosa. *Body image: A handbook of theory research and clinical practice* Guilford Press 2002;34:295-303
- Gibson D, Mehler PS. Anorexia Nervosa and the Immune System – A Narrative Review. *J Clin Med* 2019;8:1915
- Giuca MR, Pasini M, Tecco S, Giuca G, Marzo G. Levels of salivary immunoglobulins and periodontal evaluation in smoking patients. *BMC Immunology* 2014;15:5
- Gomar-Vercher S, SimoÂn-Soro A, MarõÂa J, Almerich-Silla JM, Mira A. Stimulated and unstimulated saliva samples have significantly different bacterial profiles. *PLoS One* 2018;13
- Górska R, Konopka T i wsp. Periodontologia współczesna. *Med Tour Press International* 2013;100-120
- Granger DA, Fortunato CK, Beltzer EK, Virag M, Bright MA, Out D. Focus on Methodology: Salivary bioscience and research on adolescence: An integrated perspective. *Journal of Adolescence* 2012;35:1081–1095
- Green ML, Green RG, Santoro W. Daily Relaxation Modifies Serum and Salivary Immunoglobulins and Psychophysiologic Symptom Severity. *Biofeedback and Self-Regulation* 1988;13(3):187-198
- Hansen AA, Garde AH, Persson R. Sources of biological and methodological variation in salivary cortisol and their impact on measurement among healthy adults: a review. *Scand J Clin Lab Invest* 2008;68(6):448-58
- Hashem KM, He FE, MacGregor GA. Labelling changes in response to a tax on sugar-sweetened beverages, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland. *Bull World Health Organ* 2019;97(12):818-827

- Hasler JF. Parotid enlargement: a presenting sign in anorexia nervosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;53(6):567-73
- Hedman A, Breithaupt L, Hübel C i wsp. Bidirectional relationship between eating disorders and autoimmune diseases. *J Child Psychol Psychiatry* 2019;60:803-12
- Hellhammer DH, Wüst S, Kudielka BM. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* 2009;34(2):163-171
- Jafarzadeh A, Sadeghi M, Karam GA, Vazirinejad R. Salivary IgA and IgE levels in healthy subjects: relation to age and gender. *Braz Oral Res* 2010;24(1):21-7
- Jager Y, Devlin MJ, Halmi KA, Herzog DB, Mitchell JE, Powers P, Zerbe KJ. Practice guideline for the treatment of patients with eating disorders third edition. *American Journal of sychiatry* 2006;163(7):1-128
- Jarema M, Kucharska K, Wilkos E. *Psychiatria. PZWL* 2016;417-435
- Javelot H, Messaoudi M, Garnier S, Rougeot C. Human opiorphin is a naturally occurring antidepressant acting selectively on enkephalin-dependent delta-opioid pathways. *J Physiol Pharmacol* 2010;61(3):355-62
- Jenkins ZM, Chait LM, Cistullo L, Castle DJ. A comparison of eating disorder symptomatology, psychological distress and psychosocial function between early, typical and later onset anorexia nervosa. *J Eat Disord* 2020;8(1):56
- Johansson A-K, Johansson A, Nohlert E, et al. Eating disorders – knowledge, attitudes, management and clinical experience of Norwegian dentists. *BMC Oral Health* 2015;15:124
- Johansson AK, Johansson A, Unell L, Norring L, Carlsson G. Eating disorders and signs and symptoms of temporomandibular disorders: A matched case-control study. *Swedish dental journal* 2010;34:139-147
- Johansson AK, Norring C, Unell L, Johansson A. Eating disorders and oral health: a matched case–control study. *European Journal of Oral Sciences* 2012;120:61–68

Johansson AK, Johansson A, Nohlert E, Norring C, Åström AN, Tegelberg A. Eating disorders - knowledge, attitudes, management and clinical experience of Norwegian dentists. *BMC Oral Health* 2015;15(1):124

Kaczmarek U, Kobińska-Brzoza J, Fita K. Występowanie erozji zębów u 15-letniej młodzieży z województwa opolskiego. *Dent. Med. Probl.* 2012;49:189–194

Kisely S, Baghaie H, Lalloo R, Johnson N. Association between poor oral health and eating disorders: systematic review and meta-analysis. *The British Journal of Psychiatry* 2015;207: 299–305

Klein H, Palmer CE, Knutson JW. Studies on Dental Caries: A Procedure for Recording and Statistical Proceeding of Dental Examinations Findings. *Journal Dentistry Restorative* 1940;19:243-252

Kmieć Z. *Histologia i Cytofizjologia Zęba i Jamy Ustnej*. Elviesier Urban & Partner 2007; 127-142

Kohler PF, Winter ME. A quantitative test for xerostomia. The Saxon test, an oral equivalent of the Schirmer test. *Arthritis Rheum* 1985;28(10):1128-32

Kułąkowska D, Biernacka K, Wilkos E, Rybakowski F, Kucharska-Pietura K. Deficyty neuropoznawcze i społecznego poznania u pacjentów z jadłowstrętem psychicznym. *Psychiatr Pol* 2014;48(3):465–475

Kumar NN, Panchaksharappa MG, Annigeri RG. Modified Schirmer test – A screening tool for xerostomia among subjects on antidepressants. *Archives of Oral Biology* 2014;59:829 – 834

Lock JD, Fitzpatrick KK. Anorexia nervosa. *Clinical Evidence* 2009;3:1011

Lourenço M, Azevedo A, Brandão I, Gomes P. Orofacial manifestations in outpatients with anorexia nervosa and bulimia nervosa focusing on the vomiting behaviour. *Clin Oral Invest* 2017;22(5):1915-1922

Lucas N, Legrand R, Bôle-Feysot C i wsp. Immunoglobulin G modulation of the melanocortin 4 receptor signaling in obesity and eating disorders. *Translational Psychiatry* 2019;9:87

- Marini M, Roda LG. Enkephalin-degrading enzymes and their inhibitors in human saliva. *Peptides* 2000;21(1):125-35
- Martin S, Pangborn RM. Human Parotid Secretion in Response to Ethyl Alcohol. *J Dent Res* 1971;50(2):485-90
- Marvanova M, Gramith K. Role of antidepressants in the treatment of adults with anorexia nervosa. *Ment Health Clin [Internet]* 2018;8(3):127-37
- Mennini N, Mura F, Nativi C, Richichi B, Di Cesare Mannelli L, Ghelardini C. Injectable liposomal formulations of opiorphin as a new therapeutic strategy in pain management. *Future Science OA* 2015;1(3):1-10
- Metzger ED, Levine JM, McArdle CR, Wolfe BE, Jimerson DC. Salivary gland enlargement and elevated serum amylase in bulimia nervosa. *Biol Psychiatry* 1999;45(11):1520-2
- Mielnik-Błaszczak M, Krawczyk D, Stachurski P. Ocena stanu uzębienia u pacjentów w wieku 15 i 18 lat z regionu Polski południowo-wschodniej (województwo podkarpackie). *Nowa Stomatologia* 2013;1:26-30
- Mignogna MD, Fedele S, Russo LL. Anorexia/bulimia-related sialadenosis of palatal minor salivary glands. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 2004;33(7):441-2
- Ministerstwo zdrowia. Stan zdrowia jamy ustnej dzieci w wieku 12 lat i młodzieży w wieku 18 lat w 2014 roku. Monitorowanie stanu zdrowia jamy ustnej populacji polskiej; serwis gov.pl
- Ministerstwo Zdrowia. Stan zdrowia jamy ustnej dzieci w wieku 3 lat i młodzieży w wieku 15 lat w 2015 roku. Monitorowanie stanu zdrowia jamy ustnej populacji polskiej; serwis gov.pl
- Mukherjee A, Wang L, Schoenberg M, Davies K. MP87-05 upregulation of opiorphin is associated with prostate cancer; a potential novel therapeutic target. *Journal of Urology* 2007;197:1167- 68
- Mura P, Mennini N, Nativi C, Richichi B. In situ mucoadhesive-thermosensitive liposomal gel as a novel vehicle for nasal extended delivery of opiorphin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2018;122:54–61

- Mustelin L, Sileen Y, Raevuori A, Hoek HW, Kaprio J, Keski-Rahkonen A. The DSM-5 diagnostic criteria for anorexia nervosa may change its population prevalence and prognostic value. *Journal of Psychiatric Research* 2016;77:85-91
- Nagata JM, Carlson JL, Kao JM, Golden NH, Murray SB, Peebles R. Characterization and correlates of exercise among adolescents with anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Int J Eat Disord* 2017;50(12):1394-1403
- Nagl M, Jacobi C, Paul M, Beesdo-Baum K, Höfler M, Lieb R, Wittchen HU. Prevalence, incidence, and natural course of anorexia and bulimia nervosa among adolescents and young adults. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2016;25(8):903-18
- Namysłowska I. *Psychiatria dzieci i młodzieży*. PZWL 2012; 21
- Navazesh M, Christensen CM. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. *J Dent Res* 1982;61(10):1158-62
- Nehlsen-Cannarella SL, Nieman DC, Fagoaga OR, Kelln WJ, Henson DA, Shannon M. Saliva immunoglobulins in elite women rowers. *Eur J Appl Physiol* 2000;81: 222-228
- Nijakowski K, Walerczyk-Sas A, Surdacka A. Regular Physical Activity as a Potential Risk Factor for Erosive Lesions in Adolescents. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020;17, 3002
- Nishi M, Stjernswärd J, Carlsson P, Bratthall D. Caries experience of some countries and areas expressed by the Significant Caries Index. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002;30(4):296-301
- Okeson JP. *Leczenie dysfunkcji Skroniowo-Żuchwowych i Zaburzeń Zwarcia*. Czelej 2018
- O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972;43(1):38
- Ozdogan MS, Gungormus M, Yusufoglu SI, Ertem SY, Sonmez C, Orhan M. Salivary opiorphin in dental pain: A potential biomarker for dental disease. *Archives of Oral Biology* 2019;99:15–21

- Ozdogan S, Sonmez C, Yolcu D, Gungormus M. Tear Opiorphin Levels in Ocular Pain Caused by Corneal Foreign Body. *Cornea* 2020;39(11):1377-1380
- Pallier A, Karimovaa A, Boillota A, Colon P, Ringuenete D, Bouchard P. Dental and periodontal health in adults with eating disorders: A case-control study. *Journal of Dentistry* 2019;84:55-59
- Pandey S, Goel M, Nagpal R, Kar A, Rapsang E, Matani P. Evaluation of Total Salivary Secretory Immunoglobulin A and Mi/fans-specific SIgA among Children having Dissimilar Caries Status. *J Contemp Dent Pract* 2018;19(6):651-655
- Panico R, Piemonte E, Lazos J, Gilligan G, Zampini A, Lanfranchi H. Oral mucosal lesions in Anorexia Nervosa, Bulimia Nervosa and EDNOS. *Journal of Psychiatric Research* 2018;96:178-182
- Papacosta E, Nassis GP. Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science. *Journal of Science and Medicine in Sport* 2011; 14: 424–434
- Parida SK, Guruprasad T, Krishnakumar VB, Ravi RP. A study of salivary opiorphin levels using different anesthetic drugs and techniques – A randomized controlled clinical study. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2018;119:169–171
- Paszyńska E, Słopeń A, Ślebioda Z, Dyszkiewicz-Konwińska M, Węglarz M, Rajewski A. Ocena makroskopowa błony śluzowej jamy ustnej i analiza pH śliny u pacjentów z jadłowstrętem psychicznym. *Psychiatr Pol* 2014;48(3):453–464
- Paszyńska EM, Słopeń A, Osińska A i wsp. Zmiany w jamie ustnej w przebiegu intensywnych wymiotów u pacjentki z zaburzeniem wegetatywnym występującym pod postacią somatyczną – opis przypadku. *Psychiatr Pol* 2016; 50(3):521-31
- Petkova H, Simic M, Nicholls D i wsp. Incidence of anorexia nervosa in young people in the UK and Ireland: a national surveillance study. *BMJ Open* 2019;9(10)
- Pietrzak M, Pieniżek A, Bołtacz-Rzepkowska E. Ocena higieny jamy ustnej młodzieży licealnej. *Probl Hig Epidemiol* 2014;95(3):748-753

- Popik P, Kamysz E, Kreczko J, Wróbel M. Human opiorphin: the lack of physiological dependence, tolerance to antinociceptive effects and abuse liability in laboratory mice. *Behav Brain Res* 2010;213(1):88-93
- Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978;47:379–91
- Raeuori A, Haukka J, Vaarala O, Suvisaari JM, Gissler M. The Increased Risk for Autoimmune Diseases in Patients with Eating Disorders. *PLOS ONE* 2014;9(8)
- Rashkova M, Baleva M, Peneva M, Toneva N, Jegova G. Secretory immunoglobulin A(siga) and dental caries of children with different diseases and conditions influencing oral medium. *Journal of IMAB* 2009.
- Robb ND, Smith BG, Geidrys-Leeper E. The distribution of erosion in the dentitions of patients with eating disorders. *BDJ* 1995;178:171–175
- Rougeot C, Messaoudi M, Hermitte V i wsp. Sialorphin, a natural inhibitor of rat membrane-bound neutral endopeptidase that displays analgesic activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(14):8549-54
- Rougeot C, Robert F, Menz L, Bisson JF, Messaoudi M. Systemically active human opiorphin is a potent yet non-addictive analgesic without drug tolerance effects. *J Physiol Pharmacol* 2010;61(4):483-90
- Rusyan E, Słotwińska S, Tadeusiak W, Jodkowska E. Występowanie erozji zębów a wybrane parametry śliny u chorych z zaburzeniami odżywiania. *Nowa Stomatologia* 2010;4:147-151
- Salarić I, Sabalić M, Alajbeg I. Opiorphin in burning mouth syndrome patients: a case-control study. *Clin Oral Invest* 2017;21:2363–2370
- Samaranayake L. The immune system and the oral cavity. *Essential microbiology for dentistry*, Elsevier 2012;109-110
- Sansone RA, Levitt JL, Sansone LA. A Primer on Psychotherapy Treatment of Anorexia Nervosa in Adolescents. *Psychiatry (Edgmont)* 2005;2(2): 40–46

- Shaughnessy BF, Feldman HA, Cleveland R, Sonis A, Brown JN, Gordon CM. Oral Health and Bone Density in Adolescents and Young Women with Anorexia Nervosa. *J Clin Pediatr Dent*. 2008;33(2): 87–92
- Schebendach J, Klein D, Mayer L, Devlin M, Attia E, Walsh T. Assessment of Fat Taste in Individuals With and Without Anorexia Nervosa. *Int J Eat Disord* 2014;47(2):215–218
- Schwartz EB, Granger DA. Transferrin enzyme immunoassay for quantitative monitoring of blood contamination in saliva. *Clin Chem* 2004;50(3):654-6
- Schwendicke F, Thomson WM, Broadbent JM, Stolpe M. Effects of Taxing Sugar-Sweetened Beverages on Caries and Treatment Costs. *J Dent Res* 2016;95(12):1327-32
- Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci* 2014;25:32-45
- Singh P, Kongara K, Harding K, Ward N, Sayoji Rao Dukkupati V. Comparison of electroencephalographic changes in response to acute electrical and thermal stimuli with the tail flick and hot plate test in rats administered with opiorphin. *BMC Neurol* 2018;18(1):43
- Sitbon P, Van Elstraete A, Hamdi L, Juarez-Perez V, Mazoit JX, Benhamou D. STR-324, a Stable Analog of Opiorphin, Causes Analgesia in Postoperative Pain by Activating Endogenous Opioid Receptor-dependent Pathways. *Anesthesiology* 2016;125:1017-29
- Smink FRE, van Hoeken D, Hoek HW. Epidemiology of Eating Disorders: Incidence, Prevalence and Mortality Rates. *Curr Psychiatry Rep* 2012;14:406–414
- Solmi M, Veronese N, Luchini C i wsp. Oxidative Stress and Antioxidant Levels in Patients with Anorexia Nervosa after Oral Re-alimentation: A Systematic Review and Exploratory Meta-analysis. *Eur Eat Disord Rev* 2016;24(2):101-5
- Stanisz A. Przystępny kurs statystyki w parciu o program „Statistica PL” na przykładach z medycyny – tom I : Statystyki Podstawowe, StatSoft Polska 2006

- Strazdins L, Meyerkort S, Brent V, D'Souza RM, Broom DH, Kyd JM. Impact of saliva collection methods on sIgA and cortisol assays and acceptability to participants. *J Immunol Methods* 2005;307(1-2):167-71
- Strober M, Freeman R, Lampert C, Diamond J, Kaye W. Controlled Family Study of Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa: Evidence of Shared Liability and Transmission of Partial Syndromes. *American Journal of Psychiatry* 2000;157:393–401
- Strużycka I, Rusyan E, Bogusławska-Kapała A. Prevalance of dental erosion in young adults aged 18 years in Poland. *Przegląd Epidemiologiczny* 2014;68:689 – 693
- Sujatha S, Priyadharshini R, Khansari Nejad N, Yashoda Devi B. K., Shwetha V, Pavan Kumar T. An analgesic to bridge the gap between Narcotics and NSAIDs: opiorphin. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology* 2018;7(7):1432
- Swain PI i wsp. *New Developments in Eating Disorders Research*. Nova Science publishers 2006;62-63
- Tasaka K, Matsubara K, Takamiya S, Ishikawa S, Iwata A, Nigami H. Long-term follow up of hospitalized pediatric anorexia nervosa restricting type. *Pediatr Int* 2017;59(4):482-489
- Thanawala V, Kadam VJ, Ghosh R. Enkephalinase inhibitors: potential agents for the management of pain. *Curr Drug Targets* 2008;9(10):887-94
- Tian X, Chen J, Xiong W, He T, Chen Q. Effects and underlying mechanisms of human opiorphin on colonic motility and nociception in mice. *Peptides* 2009;30:1348–1354
- Touyz S, Liew V, Tseng P, Frisken K, Williams H, Beumont P. Oral and Dental Complications in Dieting Disorders. *International Journal of Eating Disorders* 1992;14:341-348
- Tozzi F, Sullivan PF, Fear JL, McKenzie J, Bulik CM. Causes and recovery in anorexia nervosa: the patient's perspective. *Int J Eat Disord* 2003;33(2):143-54
- Treasure J. Eating disorders. *Psychiatric Disorders* 2012;40(11):607-612

- Treasure J, Nazar BP. Interventions for the Carers of Patients With Eating Disorders. *Curr Psychiatry Rep* 2016;18:16
- Van Elstraete A, Sitbon P, Hamdi L i wsp. The Opiorphin Analog STR-324 Decreases Sensory Hypersensitivity in a Rat Model of Neuropathic Pain. *Anesth Analg* 2018;126(6):2102-2111
- Wagner A, Aizenstein H, Mazurkewicz L i wsp. Altered Insula Response to Taste Stimuli in Individuals Recovered from Restricting-Type Anorexia Nervosa. *Neuropsychopharmacology* 2008;33(3):513-23
- West NX, Sanz M, Lussi A, Bartlett D, Bouchard P, Bourgeois D. Prevalence of dentine hypersensitivity and study of associated factors: a European population-based cross-sectional study. *J Dent* 2013;41(10):841-51
- Wetselaar P, Lobbezoo F. The tooth wear evaluation system: a modular clinical guideline for the diagnosis and management planning of worn dentitions. *J Oral Rehabil* 2016;43(1):69-80
- Wierzbicka U, Kaczmarek U. Trend choroby próchnicowej u 12-letnich dzieci na podstawie badań monitoringowych stanu zdrowia jamy ustnej. Czy polskie dzieci mają szansę na osiągnięcie narodowego i europejskiego celu zdrowia jamy ustnej? *Dent Med Probl* 2009;46:149–156
- Wisner A, Dufour E, Messaoudi M i wsp. Human Opiorphin, a natural antinociceptive modulator of opioid-dependent pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(47):17979–17984
- World Health Organization. Fiscal Policies for Diet and Prevention of Noncommunicable Diseases Technical Meeting Report 2015;5
- World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva 2000;8-9
- Wotton CJ, James A, Goldacre MJ. Coexistence of eating disorders and autoimmune diseases: Record linkage cohort study, UK. *International Journal of Eating Disorders* 2016;49, 663–672

- Wu Z, Gong Y, Wang C, Lin J, Zhao J. Association between salivary s-IgA concentration and dental caries: an updated meta-analysis. *Bioscience Reports* 2020;40
- Wu Q, Cao R, Chen J, Xie X. Screening and identification of biomarkers associated with clinicopathological parameters and prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2019;18:3579-3587
- Yakob M, Fuentes L, Wang MB, Abemayor E, Wong DTW. Salivary biomarkers for detection of oral squamous cell carcinoma – current state and recent advances. *Curr Oral Health Rep.* 2014;1(2):133–141
- Yang QZ, Lu SS, Tian XZ, Yang AM, Ge WW, Chen Q. The antidepressant-like effect of human opiorphin via opioid-dependent pathways in mice. *Neuroscience Letters* 2011;489:131–135
- Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DT. Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities. *Clinical Microbiology Reviews* 2013;26(4):781-91
- Zipfel S, Giel KE, Bulik CM, Hay P, Schmidt U. Anorexia nervosa: aetiology, assessment, and treatment. *Lancet Psychiatry* 2015;2:1099–1111

SPIS TABEL, RYCIN I WYKRESÓW

Tabela 1. Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów obu grup.

Tabela 2. Tabela 2. Kryteria indeksu BEWE i ocena poziomu ryzyka erozji zębów.

Tabela 3. Zestawienie wieku i parametrów ciała w grupach AN i K oraz czasu trwania choroby w grupie AN.

Tabela 4. Liczba zębów stałych i mlecznych; indeksy próchnicy: puwz (dla zębów mlecznych), PUWZ (dla zębów stałych), ogólny wskaźnik płytki PCR%, indeks stanu dziąseł BOP% w grupie badanej AN i kontrolnej K.

Tabela 5. Porównanie zmiennych: BMI, czasu trwania choroby, PCR%, BOP%, BEWE w podgrupach AN.

Tabela 6. Wartości wskaźnika BEWE dla poszczególnych grup K, AN, AN bez wymiotów, AN z wymiotami.

Tabela 7. Wyniki oznaczeń molekularnych ELISA dla opiorfiny oraz immunoglobulin A, G, M w ślinie całkowitej dla obu grup.

Tabela 8. Tabela 8. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy masą ciała, wskaźnikiem BMI, IBW, wiekiem, czasem trwania choroby, a związkami oznaczanymi w ślinie i wskaźnikiem PCR w całej badanej grupie (AN i K) oraz osobno dla AN i K.

Tabela 9. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy wskaźnikami PCR [%] i BOP [%], a związkami oznaczanymi w ślinie (opiorfina [ng/ml], IgA [ug/ml], IgG [pg/ml], IgM [ng/ml]) w całej badanej grupie (AN i K) oraz osobno dla AN i K.

Tabela 10. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy związkami oznaczanymi w ślinie (opiorfina [ng/ml], IgA [ug/ml], IgG [pg/ml], IgM [ng/ml]) w całej badanej grupie (AN i K) oraz osobno dla AN i K.


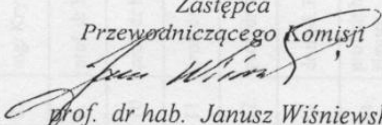
Tabela 11. Tabela 10. Współczynniki, błędy standardowe.

Tabela 12. Ilorazy szans oraz przedziały ufności.

- Rycina 1. Zróźnicowanie grup AN i K pod względem zmiennej BMI ($p < 0,001$).
- Rycina 2. Zróźnicowanie podgrup AN z wymiotami i bez względem zmiennej BMI ($p = 0,050$).
- Rycina 3. Zróźnicowanie podgrup AN z wymiotami i bez wymiotów względem zmiennej czas trwania choroby ($p = 0,003$).
- Rycina 4. Wartości PUWZ i składowych P, U, W w grupach AN i K.
- Rycina 5. Porównanie wartości wskaźnika PUWZ w grupach AN i K ($p = 0,002$).
- Rycina 6. Porównanie wartości wskaźnika PCR w grupach AN i K ($p < 0,001$).
- Rycina 7. Porównanie wartości wskaźnika BOP w grupach AN i K ($p = 0,005$).
- Rycina 8. Porównanie wartości PCR w podgrupach AN z wymiotami i bez ($p = 0,050$).
- Rycina 9. Porównanie wartości BOP w podgrupach AN z wymiotami i bez ($p = 0,050$).
- Rycina 10. Porównanie wartości wskaźnika BEWE w podgrupach pacjentek z AN z wymiotami i bez ($p < 0,001$).
- Rycina 11. Porównanie stężeń opiorfiny w grupach AN i K ($p = 0,001$).
- Rycina 12. Porównanie stężeń IgM w grupach AN i K ($p < 0,001$).
- Rycina 13. Wykres rozrzutu zmiennych IgM i opiorfiny w grupie AN.

ZAŁĄCZNIKI

Załącznik 1. Zgoda Komisji Bioetycznej

	UNIwersYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU
	KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIwersYTECIE MEDYCZNYM IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU
Collegium Stomatologicum ul. Bukowska 70 60-812 Poznań	tel. (+48 61) 854 73 36 www.bioetyka.ump.edu.pl
Uchwała nr 489/19	
<small>Ustawa z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarzy i lekarzy dentyści (t.j. Dz. U. z 2018 r., poz. 617 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. z 1999 r., Nr 47, poz. 480); Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 2211 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2004 r., Nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005 r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2005 r., Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. z 2004 r., Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. z 2004 r., Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. w sprawie wzorów wniosków związanych z badaniem klinicznym wyrobu medycznego lub aktywnego wyrobu medycznego do implantacji oraz wysokości opłat za złożenie tych wniosków (Dz. U. z 2016 r., poz. 208); Ustawa z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 211, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. z 2010 r., Nr 194, poz. 1296); Ustawa z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Medycznych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (t.j. Dz. U. z 2016 r., poz. 1718 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. z 2012 r., poz. 489); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 12 października 2018 r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. z 2018 r., poz. 1994); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznych z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.</small>	
Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 11 kwietnia 2019 r.	
rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.	
Kierownicy projektu:	dr hab. n. med. Elżbieta Paszyńska dr hab. n. med. Monika Dmitrzak-Węglarz
Miejsce prowadzenia badań: Zakład Stomatologii Zintegrowanej Katedry Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji; Klinika Psychiatrii Dzieci i Młodzieży; Zakład Genetyki w Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu	
Główny badacz:	lek. dent. Amadeusz Hernik
Członkowie zespołu badawczego:	dr hab. n. med. Agnieszka Słopeń
Temat badań: „Biodostępność proenkefalinowych i prozapalnych polipeptydów śliny w aspekcie zdrowia jamy ustnej u osób z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego”.	
Okres prowadzenia badań: kwiecień 2019 r. – grudzień 2021 r.	
Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku	
Zastępca Przewodniczącego Komisji  prof. dr hab. Janusz Wiśniewski	

Załącznik 2. Karta badania stomatologicznego



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
 KLINIKA PSYCHIATRII DZIECI I MŁODZIEŻY
 ZAKŁAD STOMATOLOGII ZINTEGROWANEJ

KARTA PACJENTA nr

Imię i nazwisko: data:

adres: telefon:

e-mail: data urodzenia:

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

P= U= W= PUWZ= LICZBA zębów stałych = LICZBA Z.ENDO=

PCR (Plaque Control Record) WSKAŹNIK PŁYTKI bezskalowy +|-

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

BOP (Bleeding on Probing) WSKAŹNIK KRWAWIENIA bezskalowy +|-

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

BEWE skala 0-3

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38