

ارزیابی سطوح سرمی و بزاقی ویتامین دی در بیماران مبتلا به لیکن پلان دهانی

نفسیه شیخ‌بهایی (DDs, MSc)*، نرگس قلی‌زاده (DDs, MSc)*

گروه بیماری‌های دهان و فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۱۶

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱ ۴۲۷۹۴۱۵۱ n.gholizadeh88@gmail.com

چکیده

هدف: ویتامین دی دارای اثرات ضد التهابی و تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی می‌باشد. نقش کمبود این ویتامین در بروز بسیاری از سرطان‌ها و بیماری‌های اتوایمیون اثبات شده است. لیکن پلان دهانی (Oral lichen planus, OLP) یک بیماری اتوایمیون مزمن و شایع در حفره دهان می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی سطوح سرمی و بزاقی ویتامین دی (Total ۲۵ (OH) D₃) در مبتلایان به OLP و ارزیابی ارتباط سطح این ویتامین با جریان بزاق بود.

مواد و روش‌ها: نمونه خون، بزاق غیرتحریکی و تحریکی ۶۴ بیمار OLP و ۴۵ فرد سالم جمع‌آوری گردید. سپس سطح ۲۵ (OH) D₃ با روش ELISA اندازه‌گیری شد. جریان بزاق تحریکی و غیر تحریکی نیز بر حسب میلی‌لیتر بر دقیقه محاسبه شد. یافته‌ها: سطح ویتامین D₃ در بزاق غیر تحریکی و تحریکی بیماران مبتلا به OLP به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد (به ترتیب $P < ۰/۰۰۱$ و $P = ۰/۰۱$). ارتباط معنی‌داری بین سطح سرمی ویتامین D₃ در بیماران OLP و گروه کنترل یافت نشد ($P = ۰/۱۱$). ما ارتباط معنی‌داری بین سطوح ویتامین D بزاقی و سرمی با میزان جریان بزاق نیافتیم. هم‌بستگی معنی‌داری بین سطوح بزاقی و سرمی ویتامین D یافت نشد ولی شدت ضایعات و درد در بیماران OLP با سطوح ویتامین دی به طور منفی هم‌بستگی داشت.

نتیجه‌گیری: سطوح پایین‌تر ۲۵ (OH) D₃ بزاقی در بیماران OLP نسبت به افراد سالم می‌تواند عامل موثری در بروز این بیماری باشد. به نظر می‌رسد بزاق نسبت به سرم ابزار دقیق‌تری جهت سنجش ویتامین D باشد.

واژه‌های کلیدی: لیکن پلان دهانی، ویتامین دی، کمبود ویتامین دی، بزاق

مقدمه

افراد بسیاری در تمام نقاط جهان از کمبود ویتامین D رنج می‌برند [۱، ۲]. کشف‌گیرنده ویتامین D (VDR) و آنزیم‌های فعال‌کننده آن در بافت‌های هدف به غیر از کلیه، کبد، استخوان و روده قویاً نشان‌دهنده تنوع عملکردهای ویتامین D به غیر از افزایش سطح کلسیم خون می‌باشد [۳]. کمبود ویتامین D بدن را به سمت بیماری‌هایی چون سرطان، بیماری‌های عفونی، دیابت و چاقی هدایت می‌کند [۴-۷].

ویتامین D سلول‌های اپیتلیالی را به سمت تمایز پیش برده و از تکثیر بی‌رویه، القای آپتوز نا به جا و تولید سایتوکاین‌های التهابی در این سلول‌ها جلوگیری نمایند [۳]. این ویتامین از طریق اثرات ایمنوساپرسیو و ایمنومودولیتوری بر سیستم ایمنی ذاتی و اختصاصی بروز بیماری‌های اتوایمیون را مهار می‌کند. ویتامین D در مونوسیت‌ها و ماکروفاژهای درگیر در بیماری‌های التهابی و ایمنولوژیک تولید و آزاد شده و به صورت موضعی سبب مهار بیان سایتوکاین‌های التهابی از قبیل IL-12، IL-6، TNF-alpha، IL-8، کاهش تمایز سلول‌های

دندرتیکی (DC)، مهار بیان مارکرهای القایی در سطح DC، و مهار تکثیر و تمایز پلاسماسل‌ها و تولید آنتی‌بادی می‌شود. همچنین ویتامین D منجر به مهار تولید و تکثیر سلول‌های TH-1، TH-17 و سایتوکاین‌های وابسته به آنها، مهار سایتوتوکسیسیته وابسته به T cells-CD8+، تحریک سلول‌های TH-2 و سایتوکاین‌های ضد التهابی از قبیل IL-10 می‌شود. بنابراین ممکن است لنفوسیت‌های T که نقش مهمی در پیشرفت بیماری‌های خودایمنی دارند مهار شوند [۸، ۹].

لیکن پلان دهانی یک بیماری ایمنولوژیک مزمن نسبتاً شایع در اپیتلیوم حفره دهان است. وجود ارتشاح لنفوسیت‌ها به صورت وسیع به ناحیه‌ی سطحی بافت همبند دخالت سیستم ایمنی به ویژه بازوی وابسته به سلول آن را در این بیماری تأیید می‌کند. با توجه به عملکردهای ویتامین D، اختلال این هورمون در اتیولوژی OLP در نظر گرفته می‌شود [۱۰]. ماهیت پیش بدخیم این بیماری اهمیت توجه به اتیوپاتوزن آن را نشان می‌دهد [۱۱، ۱۲]. لیکن پلان دهانی با علائم و نشانه‌های مختلفی از جمله خشکی دهان همراه می‌باشد. ماهیت التهابی

موقعیت جغرافیایی با هم مطابقت داشتند (جدول ۱). از افراد گروه مورد و کنترل پس از امضای رضایت‌نامه‌ی آگاهانه، نمونه‌ی خون و بزاق تحریکی و غیر تحریکی گرفته شد. افراد مبتلا به هر گونه بیماری سیستمیک، اتوایمون، اختلال در متابولیسم استخوان و ویتامین D، ضایعات دهانی مرتبط با ترمیم‌های آمالگام و مصرف داروهای خاص، زنان باردار و شیرده و افرادی که حداقل در ۲ ماه گذشته داروهایی که روی سطح سرمی ویتامین D موثر هستند مانند مکمل‌های غذایی، استروئیدها، الکل، کلشی سین و سیگار مصرف کرده بودند از مطالعه خارج شدند.

ارزیابی شدت ضایعات و فعالیت بیماری: جهت ارزیابی شدت ضایعات لیکن پلان دهانی (Severity Score) از سیستم نمره‌دهی Thongprasom استفاده شد. در این سیستم ۰ نشان‌دهنده عدم وجود ضایعه، ۱ ضایعات سفید خفیف بدون نواحی اریتماتوز، ۲ استریاهای سفید با ضایعات آتروفیک کوچک‌تر از یک سانتی‌متر، ۳ استریاهای سفید با ضایعات آتروفیک بزرگ‌تر از یک سانتی‌متر، ۴ ضایعات سفید با نواحی زخمی زیر یک سانتی‌متر و ۵ ضایعات سفید با نواحی زخمی بالای یک سانتی‌متر می‌باشد. شدت درد (Pain Score) بیماران نیز بر اساس معیار VAS (Visual Analogue Scale) از ۰ تا ۱۰ اندازه‌گیری شد.

جمع‌آوری بزاق: جهت جلوگیری از تغییرات سیکل‌های شبانه‌روزی بر روی بزاق، نمونه‌ها بین ساعت ۱۰-۱۲ صبح گرفته شد. نمونه‌ی بزاقی غیر تحریکی در شرایطی که فرد از ۹۰-۶۰ دقیقه قبل از خوردن و آشامیدن اجتناب نموده و در حالت استراحت قرار گرفته بودند جمع‌آوری شد. بزاق غیر تحریکی در ویال‌های پلاستیکی به روش Spitting (تف کردن) جمع‌آوری شد؛ بدین صورت که ابتدا بزاق موجود در دهان را فرو برده و با خم کردن سر به جلو، بزاق جمع شده در دهان را در ویال مدرج ۱۰cc و استریل می‌ریختند. حجم هر نمونه بزاق جمع‌آوری شده ۵cc بود. برای جمع‌آوری بزاق تحریکی، افراد، قطعه‌های یکسانی از لحاظ شکل و اندازه از سقر را برای مدت ۱ دقیقه جویدند و بعد از بیرون ریختن سقر و فرو بردن بزاق موجود در دهان، از آن پس بزاق خود را در ویال ریختند. جریان بزاق (flow rate) با تقسیم میزان بزاق (بر حسب میلی‌لیتر) بر زمان (بر حسب دقیقه) محاسبه شد. همچنین خروجی ویتامین دی بزاقی (output) نیز از حاصل ضرب جریان براق در غلظت ویتامین دی بزاق به‌دست آمد.

گرفتن نمونه خون: نمونه خون وریدی از ورید آنتکوبیتال به میزان ۵cc توسط سرنگ جمع‌آوری شده و سپس توسط لوله‌های آزمایشگاهی مخصوص حاوی ماده ضد انعقاد ظرف

این بیماری با اثر منفی بر ساختارهای آسینار سبب کاهش جریان بزاق در این بیماران می‌شود. کمبود ویتامین D می‌تواند سبب اختلال در عملکرد غده‌ی پاروتید شود چراکه ترشح مایع و الکترولیت‌ها به طور مستقیم به سطح ویتامین D ارتباط دارد [۱۳].

در میان انواع متابولیت‌های ویتامین D، $25(OH)D_3$ بهترین شاخص بررسی وضعیت ویتامین D در نظر گرفته می‌شود $25(OH)D_3$ می‌تواند به سه فرم، آزاد، باند به آلبومین و باند به Vitamin D Binding Protein یافت می‌شود. تنها فرم آزاد این ویتامین در بدن انسان فانکشنال می‌باشد [۱۴، ۱۵]. با در نظر گرفتن نقش مهم ویتامین D در تنظیم سلول‌های ایمنی و تاثیرات بالقوه آن بر سلامت سلول‌های اپی‌تلیالی و نیز غدد بزاقی، این مطالعه با هدف بررسی سطح سرمی و بزاقی ویتامین $25(OH)D_3$ در مبتلایان به لیکن پلان دهانی و ارزیابی رابطه سطح این ویتامین با جریان بزاق طراحی و اجرا می‌شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه کنترل - شاهد روی دو گروه افراد سالم ($n=45$) و بیماران مبتلا به OLP ($n=64$) انجام شد. جهت به دست آوردن حجم نمونه‌ی نهایی ابتدا یک مطالعه‌ی Pilot انجام شد؛ به این صورت که ۱۲ نفر بیمار مبتلا به لیکن پلان دهانی که بیماری آن‌ها با شواهد هیستوپاتولوژیک و بالینی مورد تایید قرار گرفته بود انتخاب شدند. سطح ویتامین D در این بیماران بین ۸ تا ۴۲ نانوگرم بر میکرولیتر و میانگین آن $22/97$ نانوگرم بر میکرولیتر بود. در نهایت بر اساس فرمول ذیل حجم نمونه‌ی ما 63 نفر به دست آمد که در آن $\alpha=0/05$ ، $\beta=20\%$ ، $\sigma=0/01$ و $SD=0/05$ است:

$$n = \frac{(z_1 - \frac{\alpha}{2} + z_1 - \beta)2(SD_{12} + SD_{22})}{D_2} = 63$$

پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران با کد IR.TUMS.DENTISTRY.REC.1397.059 مورد تایید قرار گرفته است. بیماران مبتلا به لیکن پلان دهانی که بر اساس شواهد بالینی و هیستوپاتولوژیک بیماری آن‌ها (مطابق با معیارهای WHO) در بخش بیماری‌های دهان و فک و صورت دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه تهران مورد تایید قرار گرفته بودند و حداقل ۲ ماه هیچ درمان موضعی و سیستمیکی دریافت نکرده بودند به صورت (Conventional) به عنوان گروه مورد وارد مطالعه شدند. همچنین افراد سالم نیز به عنوان گروه کنترل از میان همراهان بیماران وارد مطالعه شدند. (گروه کنترل و گروه مورد از نظر سن، جنس، وضعیت فرهنگی، تغذیه و

سطح ویتامین D₃ در بزاق غیرتحریکی مبتلایان به لیکن پلان دهانی به طور معناداری پایین‌تر از افراد سالم بود ($P < 0.001$). میانه سطح ویتامین D در بزاق غیرتحریکی افراد سالم (IQR=0/61) 0/88 نانوگرم بر میکرولیتر و در افراد بیمار (IQR=0/71) 0/45 نانوگرم بر میکرولیتر بود. (جدول ۱) علاوه بر این جریان بزاق و خروجی بزاقی ویتامین دی به طور معنی‌داری در بیماران OLP از گروه کنترل سالم پایین‌تر بود. (جدول ۱)

سطح ویتامین D₃ در بزاق تحریکی مبتلایان به لیکن پلان دهانی به طور معناداری پایین‌تر از افراد سالم به دست آمد ($P = 0.01$). این متغیر در افراد سالم (IQR=0/58) 0/63 نانوگرم بر میکرولیتر و در افراد بیمار (IQR=0/58) 0/43 نانوگرم بر میکرولیتر بود. میزان جریان بزاق (Flow rate) غیر تحریکی و تحریکی در مبتلایان به لیکن پلان دهانی به طور معناداری پایین‌تر از افراد سالم به دست آمد (به ترتیب $P = 0.03$ و $P = 0.01$). اگرچه ارتباط معنی‌داری بین سطح ویتامین D سرمی و بزاقی با میزان جریان بزاق تحریکی و غیرتحریکی یافت نشد. ضریب هم‌بستگی Spearman's نیز هم‌بستگی سطح سرمی و بزاقی ویتامین D با میزان جریان بزاق غیرتحریکی و تحریکی را ضعیف نشان داد (جدول ۲) این در حالی است که شدت ضایعات بالینی و شدت درد با سطوح سرمی و بزاقی ویتامین D و جریان بزاق تحریکی و غیرتحریکی هم‌بستگی معکوس نشان دادند. (جدول ۳)

حد اکثر ۲ ساعت سانتریفیوژ شد و به میکروتیوب‌های جداگانه منتقل شد. نمونه‌های خون و بزاق بلافاصله با دور ۲۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند؛ در دمای ۲۳- نگهداری و به آزمایشگاه ارسال شدند و سپس با استفاده از کیت اندازه‌گیری سطح ویتامین D₃(OH)۲۵ به روش ELISA با مشخصات 96 Tests-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit for Vitamin D₃, Padtan Gostar Isar Co مقدار GMP Certificate, (PGI/IRAN) ISO 13485:2003 کمی آن بر حسب واحد نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری. اطلاعات حاصل از مطالعه به وسیله‌ی نرم‌افزار آماری SPSS (Version 25.0) بررسی و تحلیل گردید. داده‌ها به صورت میانه و فاصله‌ی میان چارکی (IQR) ارائه شده و به وسیله‌ی آنالیز غیرپارامتریک (Mann-Whitney U test) مقایسه شدند. ارتباط سطح ویتامین D با خشکی دهان نیز توسط correlation coefficient Spearman's rho تحلیل شد. حد معناداری $P < 0.05$ معنادار فرض شد.

نتایج

در مطالعه‌ی حاضر اختلاف معناداری بین سطح سرمی ویتامین D₃ در افراد سالم و بیمار یافت نشد ($P = 0.11$) میانه سطح سرمی ویتامین D در افراد سالم (IQR=40/09) ۲۲/۰۶ نانوگرم بر میکرولیتر و در افراد بیمار (IQR=38/68) ۲۹/۷۱ نانوگرم بر میکرولیتر بود. (جدول ۱)

جدول ۱. مقایسه جریان بزاق، سطوح سرمی و بزاقی D₃(OH)25 و خروجی بزاقی D₃(OH)25 بین افراد سالم و بیماران لیکن پلان دهانی

قدرت	معنی داری	بیماران لیکن پلان دهانی		افراد سالم		متغیرها
		انحراف از معیار	میانگین	انحراف از معیار	میانگین	
0/92	*0/007	0/05	0/43	0/06	0/63	جریان بزاق غیر تحریکی (میلی لیتر/دقیقه)
0/93	0/006	0/08	0/66	0/09	1/01	جریان بزاق تحریکی (میلی لیتر/دقیقه)
0/72	0/267	3/18	36/18	3/79	36/69	سطح سرمی D ₃ (OH)25 (نانوگرم/میلی لیتر)
0/94	0/001	0/05	0/45	0/07	0/62	سطح D ₃ (OH)25 در بزاق غیر تحریکی (نانوگرم/میلی لیتر)
0/85	0/026	0/05	0/43	0/07	0/63	سطح D ₃ (OH)25 در بزاق تحریکی (نانوگرم/میلی لیتر)
0/96	0/003	0/04	0/21	0/06	0/43	خروجی D ₃ (OH)25 در بزاق غیر تحریکی (نانوگرم/دقیقه)
0/97	0/004	0/04	0/25	0/11	0/60	خروجی D ₃ (OH)25 در بزاق تحریکی (نانوگرم/دقیقه)

جدول ۲. همبستگی بین سطوح بزاق تحریکی، غیر تحریکی با سرمی D₃(OH)25 و سطوح بزاقی و سرمی D₃(OH)25 با جریان بزاق

متغیرها	D ₃ (OH)25 در بزاق غیر تحریکی	D ₃ (OH)25 در بزاق غیر تحریکی	جریان بزاق غیر تحریکی	جریان بزاق تحریکی
D ₃ (OH)25 در سرم	$r = 0.148$ $p = 0.152$	$r = 0.114$ $p = 0.895$	$r = 0.113$ $p = 0.911$	$r = 0.009$ $p = 0.935$
D ₃ (OH)25 در بزاق غیر تحریکی		$r = 0.695$; $p = 0.000*$	$r = -0.114$ $p = 0.892$	$r = 0.24$ $p = 0.821$
D ₃ (OH)25 در بزاق غیر تحریکی			$r = 0.002$ $p = 0.988$	$r = 0.005$ $p = 0.960$
جریان بزاق غیر تحریکی				$r = 0.904$ $p = 0.000*$

داده‌ها با آزمون Pearson correlation آنالیز شد. * نشانگر $p < 0.05$

جدول ۳. همبستگی بین سطوح بزاق تحریکی، غیر تحریکی و سرمی 25(OH)D₃ و جریان بزاق با شدت ضایعات بالینی و میزان درد ضایعات OLP

متغیرها	میزان درد	در سرم 25(OH)D ₃	در بزاق 25(OH)D ₃ غیر تحریکی	در بزاق 25(OH)D ₃ بزاق تحریکی	جریان بزاق غیر تحریکی	جریان بزاق تحریکی
شدت ضایعات	r = ۰/۸۷۲ P = ۰/۰۰۰	r = -۰/۲۸۸ P = ۰/۰۳۳	r = -۰/۴۷۹ P = ۰/۰۰۰	r = -۰/۳۱۰ P = ۰/۰۰۲	r = -۰/۲۲۲ P = ۰/۰۴۵	r = -۰/۲۷۵ P = ۰/۰۱۳
میزان درد		r = -۰/۲۹۷ P = ۰/۰۲۷	r = -۰/۴۰۸ P = ۰/۰۰۰	r = -۰/۲۴۲ P = ۰/۰۱۷	r = -۰/۲۵۲ P = ۰/۰۴۵	r = -۰/۲۲۷ P = ۰/۰۴۱

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر سطح بزاقی Vit-D به طور معنی داری در بیماران مبتلا به OLP نسبت به گروه کنترل سالم کم تر بود. علاوه بر این ارتباط معناداری بین سطح سرمی ویتامین D در مبتلایان به لیکن پلان دهانی در مقایسه با افراد سالم یافت نشد اگرچه این مقدار در بیماران OLP بیش تر از افراد سالم بود. با توجه به تحقیقات انجام شده تا کنون پژوهشی در زمینه بررسی سطح بزاقی ویتامین D در بیماری لیکن پلان دهانی صورت نپذیرفته است.

امروزه بزاق به عنوان یک ابزار جدید در بررسی های بالینی و ارزیابی شرایط درمان به علت روش غیر تهاجمی و آسان جمع آوری آن مورد توجه قرار گرفته است. اگرچه مهم ترین مشکل استفاده از بزاق غلظت پایین متابولیت ها می باشد [۱۶]. سطح ویتامین D در بزاق به عواملی مختلفی از جمله ریتم شبانه روزی بستگی دارد. تعداد زیادی از هورمون های استروئیدی در گردش در پلاسما به صورت باند شده با گلوبولین های ویژه و آلبومین یافت می شوند. تعدادی از این استروئیدها در بزاق نیز یافت می شوند. سطح این استروئیدها در بزاق می تواند منعکس کننده سطح آزاد (غیر متصل به گلوبولین ها) این مولکول ها در سرم باشد [۱۷]. رابطه خطی مثبت بین سطح سرمی و بزاقی 25(OH)D₃ آزاد در افراد نرمال نشان داده شده است که تایید می کند شایع ترین فرم ویتامین D موجود در بزاق از نوع آزاد می باشد [۱۶]. در شیر مادر نیز مشابه با بزاق ویتامین D آزاد شایع ترین فرم موجود می باشد [۱۸].

احتمالاً بزرگی مولکول ویتامین D متصل به Vitamin D binding protein و نیاز به صرف انرژی جهت ورود از طریق انتقال فعال سطح پایین این فرم از ویتامین D را در بزاق می تواند توجیه کند [۱۹]. در سال ۲۰۱۸ در مطالعه ای مشابه با نتایج مطالعه ما رابطه معنی داری در سطح سرمی ویتامین D بیماران مبتلا به OLP یافت نشد اگر چه بر خلاف نتایج مطالعه ما سطح ویتامین در بیماران از گروه کنترل کم تر بود [۲۰]. در بیماران مبتلا به آفت نیز نشان داده شده است که سطح سرمی این ویتامین به طور معناداری و در بزاق به طور غیر معنی داری نسبت به افراد سالم پایین تر بود [۲۱]. در مطالعه دیگری نیز

رابطه معنی داری در سطح ویتامین D در سرم و بزاق تحریکی زنان یائسه مبتلا به خشکی دهان در مقایسه با گروه کنترل یافت نشد [۲۲]. در مطالعه ی کوهورت در بیماران مبتلا به MS گزارش شد که سطح سرمی ویتامین OHvitamin D ۲۵- ارتباط معنی داری با ابتلا به بیماری MS ندارد در حالی که شاخص توده ی بدنی (BMI) بالا ارتباط قوی با بیماری MS دارد. آن ها پیشنهاد کردند که در شرایط حاد و التهاب بیش تر، کمبود ویتامین D شدیدتر از شرایط مزمن و کم تر ملتهب بیماری است [۲۳]. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۷ نیز ارتباط معناداری بین سطح آزاد سرمی ویتامین D و فعالیت بیماری SLE یافت نشد [۲۴]. در توجیه تشابه سطح سرمی ویتامین D در بیماران و افراد سالم می توان از دو جنبه به بررسی موضوع پرداخت. به نظر می رسد در جوامع مختلف به دلایلی نظیر تغذیه و نوع پوشش، کمبود ویتامین D به وفور یافت می شود که این مساله می تواند منجر به کاهش سطح این ویتامین در افراد سالم جامعه گردد.

از طرف دیگر در بیماری های التهابی افزایش سطح DBP به عنوان یک فاکتور التهابی می تواند در افزایش سطح Total ویتامین D در بیماری های خودایمنی و التهابی موثر باشد. DBP یک پروتئین چندعملکردی است که علاوه بر انتقال ویتامین D سرم در تنظیم پاسخ های ایمنی نقش دارد. زمانی که DBP تحت روندهای آنزیماتیک قرار گیرد می تواند به Macrophage Activating Factor (MAF) بدل گردد. که سبب فعال شدن ماکروفاژها طی پاسخ های دفاعی میزبان در بیماری های التهابی، عفونی و تومورها می شود. صرف نظر از نقش DBP به عنوان پیش ساز MAF، DBP می تواند به عنوان یک Cofactor کموتاکسی را در ماکروفاژها و نوتروفیل ها افزایش می دهد که ارتشاح سلول های ایمنی را به بافت ملتهب تشدید می کند [۲۵]. در Rat های مبتلا به MS، DBP به طور معناداری افزایش یافته و سطوح بالاتر آن با احتمال بهبودی کم تر بیماری همراه است [۲۶]. این یافته در بیماران مبتلا به MS نیز اثبات شده است [۲۷]. علاوه بر این بین پلی مورفیسم DBP و بیماری های خودایمنی ارتباط وجود دارد. پلی مورفیسم های مختلف منجر به تمایل کم تر یا بیش تر ایزوفرم های DBP به متابولیت های ویتامین D و متعاقباً افزایش یا کاهش سطح آزاد سرمی ویتامین

پروتئین بزاق تغییر چندانی نشان نمی‌دهد [۱۳]. مکانیسم سریع غیرژنومیک عملکرد ویتامین D در افزایش سطح Ca^{2+} داخل سلولی به واسطه افزایش سنتز IP3 و PCL، فعال کردن PKA و DAG که مکانیسم‌های آگروسیتوز و خروج مواد از سلول را تسریع و تنظیم می‌کند در سلول‌های ترشحی بتای پانکراس اثبات شده است [۳۴،۳۵]. علاوه بر این افزایش سطح IP3 و کلسیم داخل سلولی به واسطه عملکرد ویتامین D و گیرنده‌ی آن در سطح سلول‌های کراتینوسیت نیز به اثبات رسیده است. در آسینی‌های غدد بزاقی نیز تنظیم ترشح آب و الکترولیت‌ها با مکانیسمی کاملاً مشابه با واسطه‌گری IP3، PCL، PKC، PKA، DAG و آزاد شدن ذخایر Ca^{2+} داخل سلولی انجام می‌شود. علاوه بر این در چند مطالعه نیز نقش تجویز مکمل ویتامین D در افزایش Flow Rate بزاقی اثبات شده است. پس به نظر می‌رسد که اتصال ویتامین D آزاد به گیرنده‌های آن در سطح سلول‌های مختلف غدد بزاقی اثرات مختلفی را در ترشح بزاق ایفا کند. سلول‌های میوایپیتلیال سبب تراوش بزاق از آسینی‌ها و مجاری Intercalated به سمت مجاری بزرگ‌تر می‌شوند، سلول‌های مخطط در تنظیم الکترولیت‌های بزاق نقش دارند، سلول‌های مجاری intercalated به همراه آسینی‌ها حجم عمده‌ی آب بزاق را فراهم می‌آورند و در تامین سلول‌های بنیادی غدد بزاقی نقش ایفا می‌کنند و در نهایت افزایش سطح کلسیم داخل سلولی به واسطه‌ی ویتامین D در سلول‌های آسینی در ترشح آب، الکترولیت‌ها و پروتئین‌های بزاق نقش ایفا می‌کنند [۳۶].

بزاق نسبت به سرم ابزار دقیق‌تری جهت بررسی سطح ویتامین D خصوصاً فرم آزاد آن می‌باشد. کاهش سطح ویتامین D بزاق در بیماران مبتلا به OLP می‌تواند ناشی از کاهش سطح ویتامین D آزاد در سرم باشد که این پدیده می‌تواند در کاهش تراوش بزاق، تغییرات الکترولیتی و کاهش جریان بزاق در این بیماران موثر باشد.

تشکر و قدردانی

با سپاس از تمامی بیمارانی که در انجام مطالعه حاضر مشارکت نمودند.

منابع

[1] Berardi S, Giardullo L, Corrado A, Cantatore FP. Vitamin D and connective tissue diseases. *Inflamm Res* 2020; 69(5):453-462.

<https://doi.org/10.1007/s00011-020-01337-x>

PMid:32172354
[2] Zarei M, Javanbakht MH, Chams-Davatchi C, Daneshpazhooh M, Eshraghian MR, DE-RAKHSANIAN H, et al. Evaluation of vitamin D status in newly diagnosed pemphigus vulgaris patients. *Iranian journal of public health* 2014; 43:1544.

D شود [۱۹،۲۵،۲۸-۳۰]. حدود ۸۵٪ تا ۹۰٪ ویتامین D در گردش خون به صورت متصل به DBP، ۱۰٪ تا ۱۵٪ متصل به آلبومین و کم‌تر از ۱٪ آن به صورت آزاد در سرم وجود دارد. شایع‌ترین فرم ویتامین D در بزاق، فرم آزاد آن است بنابراین سطح ویتامین D بزاقی می‌تواند به صورت غیرمستقیم بیانگر سطح آزاد این ویتامین در سرم باشد [۱۹]. از آن‌جا که در تعدادی از بیماری‌های خودایمنی افزایش سطح DBP گزارش شده است این روند می‌تواند در مبتلایان به لیکن پلان دهانی نیز رخ دهد. افزایش سطح این پروتئین در بیماران سبب می‌شود سطح کلی ویتامین در سرم افزایش یافته و میزان بیش‌تری از ویتامین D به صورت متصل به DBP باقی بماند پس نسبت سطح آزاد ویتامین به سطح متصل به DBP در سرم کاهش می‌یابد. در نتیجه ویتامین D آزاد کم‌تری در سرم بیماران وجود دارد که بتواند به بزاق وارد شود. از این رو سطح پایین‌تر ویتامین D در نمونه‌ی بزاق افراد بیمار نسبت به افراد سالم توجیه‌پذیر است.

برخلاف مطالعاتی که تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی ویتامین مطرح نکردند، برخی از مطالعات سطح این ویتامین را به طور معنی‌داری در سرم بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، بهجت، پمفیگوس، شوگرن پایین‌تر یافتند [۲،۳۱،۳۲].

در توجیه نتایج مختلف می‌توان به متفاوت بودن حجم نمونه، جوامع مختلف با سطح ویتامین D متفاوت، اشاره کرد علاوه بر این سیگار، الکل و دریافت برخی داروها از قبیل کلشی‌سین و یا استروئیدها می‌تواند سطح ویتامین D را متاثر کند [۳۱].

در این مطالعه هم‌راستا با سایر مطالعات پیشین کاهش جریان بزاق تحریکی و غیرتحریکی به طور معناداری در بیماران لیکن پلان دهانی مشاهده شد که با توجه به تاثیر آتروفیک این بیماری‌های التهابی و مزمن بر ساختارهای آسینار قابل توجیه است [۳۳]. اگر چه رابطه معنی‌داری بین سطوح ویتامین D و جریان بزاق یافت نشد ولی می‌توان گفت کاهش سطح آزاد این ویتامین در سرم و بزاق لیگاند کم‌تری جهت اتصال به گیرنده‌های ویتامین D در غدد بزاقی را فراهم می‌کند که احتمالاً در کاهش جریان بزاق موثر است.

به ترتیب بیش‌ترین محل گیرنده‌های ویتامین D در غدد بزاقی در محل مجاری مخطط، سلول‌های میوایپیتلیال، مجاری Intercalated، مجاری ترشحی و آسینی‌های سروزی و موکوسی گزارش شده است. در مطالعه‌ی نشان داده شده است که کاهش $25(OH)D_3$ و نه $1/25(OH)2D_3$ بدون وابستگی به کاهش کلسیم سرم و افزایش PTH منجر به اختلال الکترولیتی و ترشح مایعات به بزاق می‌شود؛ در حالی که ترشح

<https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.01.007>

PMid:29549958

[19] Garg M, Lubel JS, Sparrow M, Holt S, Gibson P. vitamin D and inflammatory bowel disease-established concepts and future directions. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36:324-44.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2012.05181.x>

PMid:22686333

[20] Bahramian A, Bahramian M, Mehdipour M, Falsafi P, Khodadadi S, Tabrizi FD, et al. Comparing Vitamin D Serum Levels in Patients with Oral Lichen Planus and Healthy Subjects. *J Dent* 2018; 19:212.

[21] Bahramian A, Falsafi P, Abbasi T, Ghanizadeh M, Abedini M, Kavooosi F, et al. Comparing Serum and Salivary Levels of Vitamin D in Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis and Healthy Individuals. *J Dent* 2018; 19:295.

[22] Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I, Mirjalili N. Serum and stimulated saliva 25-hydroxy vitamin D in menopausal women with xerostomia. *Materia Socio-Medica* 2011; 23:4.

[23] Mowry EM, Azevedo CJ, McCulloch CE, Okuda DT, Lincoln RR, Waubant E, et al. Body mass index, but not vitamin D status, is associated with brain volume change in MS. *Neurology* 2018; 91:e2256-e64.

<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006644>

PMid:30429274 PMCID:PMC6329329

[24] Eloi M, Horvath DV, Ortega JC, Prado MS, Andrade LEC, Szejnfeld VL, et al. 25-Hydroxyvitamin D serum concentration, not free and bioavailable vitamin D, is associated with disease activity in systemic lupus erythematosus patients. *PLoS One* 2017; 12:e0170323.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170323>

PMid:28085957 PMCID:PMC5234837

[25] Eloranta JJ, Wenger C, Mwinyi J, Hiller C, Gubler C, Vavricka SR, et al. Association of a common vitamin D-binding protein polymorphism with inflammatory bowel disease. *Pharmacogenet Genomics* 2011; 21:559-64.

<https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328348f70c>

PMid:21832969

[26] Yang M, Qin Z, Zhu Y, Li Y, Qin Y, Jing Y, et al. Vitamin D-binding protein in cerebrospinal fluid is associated with multiple sclerosis progression. *Mol Neurobiol* 2013; 47:946-56.

<https://doi.org/10.1007/s12035-012-8387-1>

PMid:23339019

[27] Perga S, Albo AG, Lis K, Minari N, Falvo S, Marnetto F, et al. Vitamin D binding protein isoforms and apolipoprotein E in cerebrospinal fluid as prognostic biomarkers of multiple sclerosis. *PLoS One* 2015; 10:e0129291.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129291>

PMid:26046356 PMCID:PMC4457896

[28] Newton DA, Baatz JE, Kindy MS, Gattioni-Celli S, Shary JR, Hollis BW, et al. Vitamin D binding protein polymorphisms significantly impact vitamin D status in children. *Pediatr Res* 2019; 86(5):662-669.

<https://doi.org/10.1038/s41390-019-0476-7>

<https://doi.org/10.1038/s41390-019-0322-y>

PMid:30712059 PMCID:PMC6677641

[29] Thrailkill KM, Jo C-H, Cockrell GE, Moreau CS, Fowlkes JL. Enhanced excretion of vitamin D binding protein in type 1 diabetes: a role in vitamin D deficiency? *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:142-9.

<https://doi.org/10.1210/jc.2010-0980>

PMid:20943786 PMCID:PMC3038488

[30] Santos BR, Costa NC, Silva TR, et al. Prevalence of vitamin D deficiency in women from southern Brazil and association with vitamin D-binding protein levels and GC-DBP gene polymorphisms. *PLoS One* 2019; 14(12):e0226215.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226215>

PMid:31830090 PMCID:PMC6907813

[31] Lee YH, Bae SC. Vitamin D level in rheumatoid arthritis and its correlation with the disease activity: a meta-analysis. *Clin Exp Rheumatol* 2016; 34:827-33.

[32] Ramagopalan SV, Goldacre R, Disanto G, Giovannoni G, Goldacre MJ. Hospital admissions for vitamin D related conditions and subsequent immune-mediated disease: record-linkage studies. *BMC Med* 2013; 11:171.

[3] Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol* 2014; 21:319-29.

<https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.12.016>

PMid:24529992 PMCID:PMC3968073

[4] Shi YY, Liu TJ, Fu JH, Xu W, Wu LL, Hou AN, et al. Vitamin D/VDR signaling attenuates

lipopolysaccharide-induced acute lung injury by maintaining the integrity of the pulmonary epithelial barrier. *Mol Med Report* 2016; 13:1186-94.

<https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4685>

PMid:26675943 PMCID:PMC4732862

[5] Tabrizi R, Moosazadeh M, Akbari M, Dabbaghmanesh MH, Mohamadkhani M, Asemi Z, et al. High prevalence of vitamin D deficiency among Iranian population: a systematic review and meta-analysis. *Iran J Med Sci* 2018; 43:125.

[6] Pludowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, et al. Vitamin D supplementation guidelines. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2018; 175:125-35.

<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.01.021>

PMid:28216084

[7] bahnam B, semnani V, hadadnia F, Mirmohammadkhani M. Vitamin D serum levels in nurses in Semnan educational hospitals and its association with depression. *Koomesh* 2016; 17(2) :313-3224.

[8] Carvalho LSF, Sposito AC. Vitamin D for the prevention of cardiovascular disease: are we ready for that? *Atherosclerosis* 2015; 241:729-40.

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.06.034>

PMid:26135478

[9] Gholizadeh N, Sheykhbahaei N. Micronutrients Profile in Oral Lichen Planus: a Review Literature. *Biol Trace Elem Res* 2020; 12.

<https://doi.org/10.1007/s12011-020-02221-9>

PMid:32533293

[10] Agha-Hosseini F, Sheykhbahaei N, SadrZadeh-Afshar M. Evaluation of potential risk factors that contribute to malignant transformation of oral lichen planus: a literature review. *J Contemp Dent Pract* 2016; 17:692-701.

<https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1914>

PMid:27659090

[11] Kotab M, Jalili sadrabad M, Ebrahimi S. Treatment of lichen planus-induced desquamative gingivitis. *Koomesh* 2020; 22 (1) :198-201.

<https://doi.org/10.29252/koomesh.22.1.198>

[12] Gholizadeh N, Poorfar HK, TaghaviZenouz A, Vatandoost M, Mehdipour M. Comparison of serum autoantibodies to desmogleins I, III in patients with oral lichen planus and healthy controls. *Iran J Pathol* 2015; 10(2):136-140.

[13] Stumpf WE, Hayakawa N. Salivary glands epithelial and myoepithelial cells are major vitamin D targets. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2007; 32(3):123-129

<https://doi.org/10.1007/BF03190474>

PMid:18062404

[14] Wei R, Christakos S. Mechanisms underlying the regulation of innate and adaptive immunity by vitamin D. *Nutrients* 2015; 7:8251-60.

<https://doi.org/10.3390/nu7105392>

PMid:26404359 PMCID:PMC4632412

[15] Bikle DD. The vitamin D receptor: a tumor suppressor in skin. *Adv Exp Med Biol* 2014; 810:282-302.

https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0437-2_16

<https://doi.org/10.21236/ADA614241>

PMid:25207372

[16] Halfon M, Phan O, Teta D. Vitamin D: a review on its effects on muscle strength, the risk of fall, and frailty. *Biomed Res Int* 2015; 2015:953241.

<https://doi.org/10.1155/2015/953241>

PMid:26000306 PMCID:PMC4427016

[17] Uberti F, Bardelli C, Morsanuto V, Ghirlanda S, Molinari C. Role of vitamin D 3 combined to alginates in preventing acid and oxidative injury in cultured gastric epithelial cells. *BMC Gastroenterol* 2016; 16:127.

<https://doi.org/10.1186/s12876-016-0543-z>

PMid:27717330 PMCID:PMC5054561

[18] Bae YJ, Kratzsch J. Vitamin D and calcium in the human breast milk. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2018; 32(1):39-45.

[35] Bikle DD, Oda Y, Tu C-L, Jiang Y. Novel mechanisms for the vitamin D receptor (VDR) in the skin and in skin cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015; 148:47-51.

<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2014.10.017>

PMid:25445917 PMCID:PMC4361259

[36] DeSantis KA, Robilotto SL, Matson M, Kotb NM, Lapierre CM, Minhas Z, et al. VDR in salivary gland homeostasis and cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2020; 199:105600.

<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2020.105600>

PMid:31958633

<https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-171>

PMid:23885887 PMCID:PMC3729414

[33] Mansourian A, Najafi S, Nojourni N, Parhami P, Moosavi M-S. Salivary cortisol and salivary flow rate in clinical types of oral lichen planus. *Skinmed* 2018; 16:19-22.

[34] Szymczak-Pajor I, Śliwińska A. Analysis of association between vitamin D deficiency and insulin resistance. *Nutrients* 2019; 11:794.

<https://doi.org/10.3390/nu11040794>

PMid:30959886 PMCID:PMC6520736

Serum and salivary levels of vitamin D in oral lichen planus patients

Nafiseh Sheykhbahaei (DDs, MSc), Narges Gholizadeh (DDs, MSc)*

Oral & Maxillofacial Medicine, School of Dentistry, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 21 42794151 n.gholizadeh88@gmail.com

Received: 13 Jun 2020; Accepted: 7 Oct 2020

Introduction: Vitamin D has anti-inflammatory and immunomodulatory function. The role of vitamin D deficiency has been established in the development of many types of cancers and autoimmune diseases. Oral lichen planus (OLP) is a common chronic autoimmune in oral cavity. This study aimed to evaluate the serum and salivary levels of total vitamin 25 (OH) D3 in patients with the OLP and to assess the relationship between vitamin levels and salivary flow rate.

Materials and Methods: The blood samples, unstimulated and stimulated saliva were collected from 64 patients with the OLP and 45 healthy subjects. The 25(OH) D3 levels measured by ELISA technique. The salivary flow rate was also measured in milliliters per minute.

Results: The level of vitamin D3 in unstimulated and stimulated saliva of the OLP patients significantly decreased compared to the control group ($p < 0.001$, $p = 0.01$ respectively). There was no significant relationship between the serum level of vitamin D3 in the OLP and control groups ($p = 0.11$). No significant relationship was found between serum and salivary vitamin D levels with salivary flow rate. No significant correlation was found between salivary and serum levels of vitamin D, but the severity and pain score were negatively correlated with vitamin D levels.

Conclusion: Lower levels of salivary 25 (OH) D3 in the OLP patients than the healthy subjects can be an effective factor in the development of this disease. Conspicuously, saliva seems to be a more accurate tool for measuring vitamin D than serum.

Keywords: Oral Lichen Planus, Saliva, Vitamin D, Vitamin D Deficiency