

lek. dent. Jakub Dyba

# Ocena parametrów funkcji śródbłonna naczyniowego w ślinie osób z otyłością

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: prof. dr hab. Anna Surdacka



Kolegium Nauk Medycznych  
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2021

*Pragnę złożyć najszczerze podziękowania  
promotor niniejszej pracy Pani prof. dr hab. Annie Surdackiej  
za opiekę naukową, wyrozumiałość, cierpliwość  
oraz za wszelką pomoc okazaną w realizacji tej pracy*

*Dziękuję Pani prof. dr hab. Katarzynie Korybalskiej  
za poświęcony czas oraz cenne rady związane z niniejszą pracą*

Praca finansowana z grantu naukowego z programu  
„Młodzi Naukowcy” nr 502-14-02209324-10403

# Spis treści

Wykaz skrótów . . . . .	5
1. Wstęp. . . . .	8
1.1. Otyłość . . . . .	8
1.1.1. Historia otyłości. . . . .	8
1.1.2. Problem otyłości w Polsce i na świecie . . . . .	9
1.1.3. Etiologia otyłości . . . . .	10
1.1.4. Klasyfikacja otyłości . . . . .	12
1.1.5. Powikłania otyłości . . . . .	13
1.1.6. Diagnostyka otyłości. . . . .	14
1.2. Tkanka tłuszczowa . . . . .	15
1.2.1. Tkanka tłuszczowa — budowa histologiczna . . . . .	15
1.2.2. Klasyfikacja tkanki tłuszczowej . . . . .	16
1.2.3. Tkanka tłuszczowa jako gruczoł endokrynnny . . . . .	17
1.3. Śródbłonek naczyniowy . . . . .	19
1.3.1. Śródbłonek — budowa histologiczna oraz funkcja . . . . .	19
1.3.2. Markery śródbłonka naczyniowego . . . . .	21
1.4. Ślina jako materiał diagnostyczny . . . . .	26
1.5. Wpływ otyłości na śródbłonek naczyniowy. . . . .	27
1.6. Wpływ otyłości na środowisko jamy ustnej . . . . .	29
2. Cele pracy. . . . .	32
3. Materiał i metodyka . . . . .	33
3.1. Kliniczne badanie jamy ustnej . . . . .	34
3.2. Badania biochemiczne śliny . . . . .	37
3.3. Zastosowane metody statystyczne . . . . .	39
4. Wyniki . . . . .	40
4.1. Struktura demograficzna grupy pacjentów . . . . .	40

4.2. Dane antropometryczne . . . . .	41
4.3. Wyniki badań klinicznych . . . . .	43
4.4. Wyniki badań biochemicznych śliny. . . . .	48
5. Omówienie wyników i dyskusja . . . . .	54
6. Wnioski. . . . .	71
7. Streszczenie . . . . .	72
Wstęp . . . . .	72
Cel badania . . . . .	72
Materiał i metodyka . . . . .	72
Wyniki . . . . .	73
Wnioski . . . . .	74
8. Abstract. . . . .	75
Aim of the study . . . . .	75
Material and methods . . . . .	75
Results . . . . .	76
Conclusions . . . . .	77
9. Piśmiennictwo. . . . .	78
10. Spis tabel . . . . .	92
11. Załączniki . . . . .	94
11.1. Karta badań. . . . .	94
11.2. Zgoda na udział w badaniu . . . . .	96
11.3. Informacja dla pacjenta. . . . .	97
11.2. Zgoda komisji bioetycznej . . . . .	98

## Wykaz skrótów

API	(ang. approximal plaque index) — wskaźnik płytki nazębnej w przestrzeniach międzyzębowych wg Langego
AT-II	angiotensyna II
BAT	(ang. brown adipose tissue) — tkanka tłuszczowa brunatna
BIA	(ang. bioelectrical impedance analysis) — analiza impedancji bioelektrycznej
BMI	(ang. body mass index) — wskaźnik masy ciała
CAL	(ang. clinical attachment loss) — wskaźnik utraty przyczepu łącznotkankowego
CAM	(ang. cell adhesion molecules) — cząsteczki adhezji komórkowej
ChP	(ang. chronic periodontitis) — przewlekłe zapalenie przyzębia
CR	(ang. complement receptor) — receptor dopełniacza
CRP	(ang. C Reactive Protein) — białko C-reaktywne, białko ostrej fazy
CV	(ang. coefficient of variation) — współczynnik zmienności
DEXA	(ang. dual-energy X-ray absorptiometry) — absorpcjometria podwójnej energii promieniowania rentgenowskiego
EC	(ang. endothelial cells) — komórki śródbłónka naczyniowego.
EDHF	(ang. endothelium-derived hyperpolarizing factor) — śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący
EGF	(ang. epidermal growth factor) — naskórkowy czynnik wzrostu
EHIS	(ang. european health interview survey) — Europejskie Ankietowe Badanie Zdrowia
ELISA	(ang. enzyme-linked immunosorbent assay) — test immunoenzymatyczny
ET-1	endotelina 1
FTO	(ang. fat mass and obesity associated gene) — gen podatności na otyłość
GBI	(ang. gingival bleeding index) — wskaźnik krwawienia ze szczeliny dziąsłowej
GI	(ang. gingival index) — wskaźnik dziąsłowy
HRP	(ang. horseradish peroxidase) — peroksydaza chrzanowa
IgSF	(ang. immunoglobulin superfamily) — nadrodzina immunoglobulin

IL-1Ra	(ang. interleukin-1 receptor antagonist) — antagonist receptora interleukiny 1
IL-6	interleukina 6
LPS	(ang. lipopolysaccharide) — lipopolisacharyd
MIF	(ang. macrophage migration inhibitory factor) — czynnik hamujący migrację makrofagów
MCP-1	(ang. monocyte chemoattractant protein-1) — białko chemotaktyczne monocytów
NF-κB	(ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) — jądrowy czynnik transkrypcyjny
PD	(ang. probing depth) — głębokość sondowania
PGI <sub>2</sub>	prostacyklina I <sub>2</sub>
PI	(ang. plaque index) — wskaźnik płytki nazębnej
PPAR <sub>γ</sub>	(ang. Peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ ) — Receptory aktywowane przez proliferatory peroksyosomów
PUW-z	liczba określająca stan uzębienia (zachorowalność na próchnicę)
PAI-1	(ang. plasminogen activator inhibitor) — Inhibitor aktywatora plazminogenu
PlGF	(ang. placental growth factor) — łożyskowy czynnik wzrostu.
RAA	(ang. ang. renin –angiotensin–aldosterone system) — układ renina–angiotensyna–aldosteron
RZS	reumatoidalne zapalenie stawów
sICAM-1	(ang. soluble intercellular cell adhesion molecule-1) — rozpuszczalna forma międzykomórkowej cząstki adhezyjnej-1
sVCAM	(ang. soluble vascular cell adhesion molecule-1) — rozpuszczalna forma naczyniowej cząstki adhezyjnej-1
SVF	(ang. stromal vascular fraction) — komórki frakcji zrębu naczyniowego, komórki macierzyste
TAFI	(ang. thrombin-activatable fibrinolysis Inhibitor) — aktywowoany trombiną inhibitor fibrynolizy
TF	(ang. tissue factor) — czynnik tkankowy
TGF- $\beta$	(ang. transforming growth factor $\beta$ ) — transformujący czynnik wzrostu beta
TM	(ang. thrombomodulin) — trombomodulina
TNF- $\alpha$	(ang. tumor necrosis factor $\alpha$ ) — czynnik martwicy nowotworów
tPA	(ang. tissue plasminogen activator) — tkankowy aktywator plazminogenu
TXA-2	(ang. thromboxane A <sub>2</sub> ) — tromboksan A <sub>2</sub>

uPA	(ang. urokinase-type plasminogen activator) — Urokinaza
UCP-1	(ang. uncoupling protein 1) — białko rozprzegające 1, Termogenina 1.
VEGF	(ang. vascular endothelial growth factor) — naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu
WAT	(ang. white adipose tissue) — tkanka tłuszczowa biała.
WC	(ang. waist circumference) — wartość obwodu talii
WHO	(ang. World Health Organization) — Światowa Organizacja Zdrowia
WHR	(ang. waist-hip ratio) — stosunek obwodu talii do obwodu bioder

# 1. Wstęp

## 1.1. Otyłość

### 1.1.1. Historia otyłości

Otyłość postrzegana jako nadmierna masa ciała jest zjawiskiem biologicznym towarzyszącym człowiekowi od czasów prehistorycznych. Najstarsze dowody potwierdzające tę tezę pochodzą z epoki kamienia, czyli sprzed około 10 000–40 000 lat. To z tego okresu pochodzą statuetki, wydobyte podczas prac archeologicznych prowadzonych na terenie całej Europy. Wykonane z kości słoniowej, wapienia lub terakoty figurki przedstawiają ludzkie postacie z okresu górnego paleolitu, noszące wyraźne znamiona otyłości. Najbardziej znanym przykładem jest „Venus z Willendorf”, odnaleziona w Austrii 11-centymetrowa rzeźba z wapienia, która podobnie do wielu innych prehistorycznych figurek charakteryzuje się wyraźną otyłością brzusznią i obwisłymi piersiami [Bray, 2009].

Zanim otyłość stała się tematem badań, była głównie zjawiskiem z zakresu obyczajów i kultury. Zainteresowanie tym zagadnieniem wybiegało daleko poza dziedzinę medycyny, stąd historyczne dowody jego występowania znaleźć można nie tylko w przykładach piśmiennictwa lekarskiego, ale także w dziełach pisanych przez socjologów, historyków i filozofów, w wierszach oraz w dziełach malarskich i kronikach [Tatoń, Czech i Bernas, 2007].

Liczniesze publikacje naukowe poświęcone tematyce otyłości zaczęły się pojawiać dopiero na początku XVIII wieku. Do najbardziej znanych należą anglojęzyczne monografie opublikowane w 1727 roku przez lekarza i obserwatora społecznego Thomasa Shorta oraz 25 lat później przez szkockiego lekarza Malcolma Flemynga. Short rozpoczął swoją pracę słowami „Wierzę, iż żadna z poprzednich epok nie obfitowała w większą ilość przypadków otyłości niż obecna”. Jak widać twierdzenie to przetrwało próbę czasu, można nawet powiedzieć, iż dziś jest jeszcze bardziej aktualne. Ponadto autor zwracał szczególną uwagę na znaczenie ćwiczeń oraz diety w kontroli otyłości. Twierdził także, iż warunkiem sine qua non w leczeniu otyłości jest przywrócenie naturalnej równowagi



organizmu. Podobne poglądy w swojej monografii przedstawiał Flemming, podając jako główną przyczynę otyłości „przyjmowanie zbyt dużej ilości żywności, zwłaszcza bogato-kalorycznej i tłustej” [Bray, 2009].

### 1.1.2. Problem otyłości w Polsce i na świecie

Obecnie otyłość określana jest jako przewlekła choroba niezakaźna, która rozwija się w wyniku zaburzeń bilansu energetycznego, czyli długotrwałego dostarczania do organizmu energii w postaci pożywiania, przekraczającej jego zapotrzebowanie [Białkowska, 2011].

Według Światowej Organizacji Zdrowia WHO (ang. World Health Organization) nadwaga i otyłość definiowane są jako nieprawidłowe lub nadmierne nagromadzenie tkanki tłuszczowej prowadzące do pogorszenia stanu zdrowia, odpowiednio powyżej 25% masy ciała u mężczyzn oraz powyżej 30% u kobiet [WHO, 2017].

Ta sama organizacja w raporcie ze spotkania z 1997 roku w Genewie, określiła otyłość mianem światowej epidemii oraz jednym z najpoważniejszych wyzwań stawianych zdrowiu publicznemu w dwudziestym pierwszym wieku [WHO, 2007]. Mimo świadomości, iż otyłość stanowi nie tylko ogromny problem medyczny ale także ekonomiczny, gdyż koszty związane leczeniem otyłości stanowią od 2 do 7% nakładów na ochronę zdrowia w całej Europie, raporty z kolejnych lat przynoszą coraz gorsze wyniki. Według danych z 2016 roku ponad 1,9 miliarda dorosłych powyżej 18. roku życia ma nadwagę z czego ponad 650 milionów to osoby otyłe. Niepokojący jest również fakt, iż wartości te są trzykrotnie większe w porównaniu do roku 1975 [WHO, 2017].

Problem nadwagi w znacznym stopniu dotyczy także Polski. Według Europejskiego Ankietowego Badania Zdrowia — EHIS (ang. European Health Interview Survey) z 2014 roku, ponad 53% Polaków w wieku 18 lat i więcej, cierpiało z powodu nadwagi (36,6%) lub otyłości (16,7%) [GUS, 2014]. Wyniki te były powyżej średniej dla krajów Unii Europejskiej wynoszącej 51,6% (odpowiednio 35,7% osób z nadwagą i 15,9% otyłych). Badanie EHIS wykazało również istotne różnice w występowaniu nadmiernej masy ciała w poszczególnych krajach Unii Europejskiej. W przypadku otyłości skala wahała od 9,4% w Rumunii do 26% na Malcie [Eurostat, 2016]. W Polsce podobnie do pozostałych krajów UE problem ten dotyka częściej mężczyzn, których aż 44% ma nadwagę a 18,1% jest otyłych, niż kobiet u których nadwaga dotyczy 30,1% a otyłość 15,6% populacji. Nadwaga i otyłość występują również u dzieci i młodzieży. Ciągły wzrost problemu obserwowany jest nie tylko w krajach rozwiniętych ale także w tych rozwijających się. Wyniki między-

narodowych badań wykazały prawie 7% wzrost odsetka dzieci otyłych pomiędzy 1980 a 2013 rokiem [Ng i wsp., 2014]. Zgodnie z wynikami badań przeprowadzonych w 2014 r. w Polsce, w grupie młodzieży od 11 do 15 lat nadwagę i otyłość obserwowano u 14,8% co stanowiło wynik lepszy o 2,2 punktu procentowego w stosunku do roku 2010 [Mazur, 2015]. Niestety odsetek osób dorosłych z nadwagą i otyłością w Polsce stale rośnie. Według danych z 1996 r. wynosił 27,7% w 2004 r. wzrósł do 29,6% a w 2009 osiągnął już 53%.

### 1.1.3. Etiologia otyłości

Zgodnie z definicją, bezpośrednią przyczyną nadwagi i otyłości jest zachwianie bilansu energetycznego w wyniku dysproporcji między ilością przyjmowanego pożywienia a wydatkiem energetycznym, nawet niewielka różnica ( $< 0,5\%$ ) między energią dostarczaną z pożywienia a zużyta powoduje przyrost masy ciała [Dyba, Surdacka, 2019]. W patogenezie tych schorzeń znaczącą rolę odgrywa także szereg innych czynników.

Ogromne znaczenie mają tutaj uwarunkowania środowiskowe, można je podzielić na czynniki makro (dotyczące całej populacji) oraz mikro (dotyczące jednostki) [Shaw, O'Rourke, Del Mar, 2005]. Siedzący tryb życia, przemiany technologiczne redukujące wysiłek fizyczny, popularność wysokokalorycznych produktów spożywczych, oraz dieta bogato-tłuszczowa zwiększają prawdopodobieństwo wystąpienia otyłości [NHLBI, 2019]. Brak regulacji reklam produktów o dużej zawartości cukru takich jak płatki śniadaniowe czy słodzone napoje oraz propagowanie „niezdrowej żywności” typu „fast-food” wpływa na zmniejszenie świadomości oraz zwiększa ryzyko nadwagi u najmłodszych.

Nadwaga jest także silnie związana z niskim statusem socjoekonomicznym. Występowanie otyłości obserwuje się relatywnie częściej u osób mieszkających na wsi w stosunku do zamieszkujących miasta. Wyraźne różnice widać także w odniesieniu do poziomu wykształcenia, gdzie obserwuje się ponad 20% różnicę między osobami z wyższym wykształceniem (43,8%) a tymi z wykształceniem zawodowym (64,6%) lub podstawowym.

Prawdopodobieństwo wystąpienia nadwagi zwiększa się także wraz z gorszym stanem zdrowia. Tendencję do tycia obserwuje się głównie w przebiegu chorób układu hormonalnego takich jak niedoczynność tarczycy, zespół policystycznych jajników czy zespół Cushinga. Przyczyną nadmiernego przyrostu wagi może być również przyjmowanie niektórych leków, należy wymienić tutaj leki antydepresyjne, przeciwpadaczkowe, przeciwcukrzycowe oraz niektóre kortykosteroidy [NHLBI, 2019].

Powodem nadmiernej konsumpcji, przez wielu badaczy uważanym za najważniejszy, jest stres oraz nieumiejętność radzenia sobie z problemami. Osoby szczególnie narażo-

ne na stres traktują jedzenie jako formę zmagania się z kłopotami oraz odwracanie uwagi od negatywnych bodźców. Łatwy dostęp do pożywienia sprawia, że dla wielu osób staje się ono najlepszą strategią radzenia sobie ze stresem [Pietrzykowska i Wierusz-Wysocka, 2008].

Osobną niezwykle ważną grupę stanowią czynniki genetyczne. Obserwacje kliniczne wykazujące, iż dzieci otyłych rodziców częściej są otyłe skłoniły badaczy do poszukiwania genów otyłości. Badania wykazują 4–5-krotnie większe ryzyko wystąpienia otyłości u dzieci w przypadku gdy zaburzenie to dotyczyło jednego rodzica i aż 13-krotne kiedy oboje rodzice byli otyli [Lobstein i Frelut, 2003; Semmler, Ashcroft i Jaarsveld, 2009]. Genetycznie uwarunkowaną otyłość można podzielić na 3 zasadnicze typy: jednogenową, wchodzącą w skład zespołu genetycznego oraz wielogenową.

Otyłość uwarunkowana jednogenowo występuje stosunkowo rzadko, ma jednak kluczowe znaczenie ze względu na możliwość dogłębnego poznania mechanizmów kontroli apetytu, a w niektórych przypadkach także zastosowania wysoce skutecznego leczenia [Męczekalski, Czyżyk, Warenik-Szymankiewicz, 2008]. Przyczyną tego typu otyłości są mutacje pojedynczych genów, najczęściej dotyczą one genu leptyny oraz genu dla receptora 4. melanokortyny mających udział w kontroli homeostazy energetycznej [Farooqi, O’Rahilly. 2005].

Do zespołów genetycznych bezpośrednio związanych z otyłością, aczkolwiek występujących bardzo rzadko zaliczamy zespół Pradera-Williego, zespół Cohena, zespół Bardeta-Biedla i zespół Alströma. Wysokie predyspozycje do nadwagi i otyłości obserwuje się także u osób z zespołem Downa, Turnera oraz Klinefeltera.

Najczęściej jednak otyłość jest uwarunkowana wielogenowo i jest wynikiem interakcji geny-środowisko. W odróżnieniu od wyżej wymienionych typów nie jest ona wynikiem mutacji genów czy aberracji chromosomów, lecz polimorfizmów, czyli subtelnych różnic w DNA występujących u powyżej 2% populacji, które przekładają się na niewielkie zmiany w funkcji białek [Męczekalski, Czyżyk, Warenik-Szymankiewicz, 2008]. Jak już wspomniano realizacja genetycznie uwarunkowanej skłonności do tycia w znacznym stopniu zależy od wpływów środowiska. W sytuacji łatwego dostępu do pożywienia i ograniczonego wysiłku fizycznego ekspresja genów warunkujących przyrost masy ciała doprowadza do otyłości. Ze względu na skalę zjawiska oraz udział wielu czynników genetycznych i środowiskowych, dokładne poznanie tego typu otyłości wydają się kluczowe dla współczesnej medycyny.

#### 1.1.4. Klasyfikacja otyłości

Biorąc pod uwagę wyżej wymienione przyczyny nadmiernej masy ciała, otyłość możemy podzielić na dwa typy. Najczęściej występującą, diagnozowaną w ponad 90% przypadków jest otyłość pierwotna, czyli prosta [Czerwińska, Walicka i Marcinowska-Suchowierska, 2013]. Główną przyczyną otyłości pierwotnej (odpowiedzialną za około 70% przypadków) jest nieprawidłowe żywienie ilościowe i jakościowe oraz brak aktywności fizycznej. Zdecydowanie rzadziej w etiologii tego typu otyłości rolę odgrywają czynniki genetyczne, do których możemy zaliczyć polimorfizmy genu adiponektyny, rezystyny, genu podatności na otyłość FTO (ang. fat mass and obesity-associated gene) oraz genu receptorów aktywowanych proliferatorami peroksysomów  $\gamma$  PPAR $\gamma$  (ang. peroxisome proliferator-activated receptors  $\gamma$ ) mających udział w regulacji metabolizmu węglowodanów i lipidów oraz adipogenezy [Szczeklik 2012]. Drugi typ, określany mianem otyłości wtórnej występuje m.in. w przebiegu endokrynopatii, w wyniku zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego, zwłaszcza podwzgórza, w którym znajdują się ośrodki odpowiedzialne za kontrolę łaknienia. Wtórna otyłość rozwija się także w efekcie przewlekłego przyjmowania leków sprzyjających gromadzeniu się tkanki tłuszczowej oraz jako objaw rzadkich zespołów genetycznych wymienionych powyżej [Lewiński, Zygmunt, 2011].

Ze względu na rozmieszczenie podskórnej tkanki tłuszczowej rozróżnia się dwa typy otyłości. Typ androidalny, w którym tłuszcz lokalizuje się głównie w okolicy brzucha, jest diagnozowany w przypadku gdy wartości wskaźnika talia-biodra WHR (ang. Waist to Hip Ratio) przekracza 0,9 u mężczyzn i 0,8 u kobiet [Alberti, Zimmet, Shaw, 2005]. Mówimy wtedy o otyłości centralnej, brzusznej, trzewnej lub o otyłości typu „jabłko”. Jest to rodzaj otyłości charakterystyczny dla płci męskiej i stanowi szczególne zagrożenie dla zdrowia ze względu na wysokie ryzyko wystąpienia zaburzeń metabolicznych, nadciśnienia tętniczego i chorób układu krążenia. Stanowi także jeden z głównych czynników odpowiedzialnych za wystąpienie insulinooporności prowadzącej do zespołu metabolicznego, istotnie zwiększającego ryzyko rozwoju cukrzycy typu II i miażdżycy [Bergmann, Olender i Odrowąż-Sypniewska, 2012]. Typ drugi to otyłość gynoidalna, zwana także otyłością typu „gruszka” lub udowo-pośladkową. Występuje zdecydowanie częściej u kobiet, u których tkanka tłuszczowa lokalizuje się głównie w okolicy bioder, na udach i pośladkach. Wykazano, iż ten typ otyłości ma znacznie mniej szkodliwy wpływ na zdrowie od otyłości trzewnej ze względu na różnice metaboliczne związane z niższą wrażliwością na działanie hormonów zwiększających stężenie lipoprotein we krwi. Po-

wyższe fakty potwierdzają badania, wykazujące, iż nie tylko ilość tkanki tłuszczowej ale także jej rozmieszczenie wpływa na zwiększone ryzyko powikłań [Yusuf i wsp. 2005].

### 1.1.5. Powikłania otyłości

Nadwaga i otyłość stanowią czynnik ryzyka wielu chorób ogólnoustrojowych. Wyniki kilku dużych projektów badawczych wykazały także zwiększoną śmiertelność powyżej pewnego progu BMI. Amerykańskie badanie z Framingham rozpoczęte w 1948 roku wykazało, iż z powodu otyłości przewidywany czas życia wśród 40 letnich niepalących mężczyzn uległ skróceniu o 5,8 lata a w przypadku kobiet o 7,1 [Peeters i wsp. 2003]. Dostępne są także dane świadczące o silnej dwustronnej zależności pomiędzy otyłością a nadciśnieniem. Wskazują one, iż ryzyko wystąpienia nadciśnienia rośnie wraz z przybieraniem na wadze i maleje wraz z jej redukcją [Wilson i wsp. 2002]. Istnieją również jednoznaczne dowody na to, że otyłość zwiększa ryzyko choroby wieńcowej oraz niewydolności serca [Kenchiah i wsp. 2002]. Otyłość przyczynia się ponadto do rosnącej liczby udarów niedokrwiennych oraz krwotocznych mózgu [Song i wsp. 2004].

Kolejnym schorzeniem, którego etiologia może być związana z nadmierną masą ciała jest Astma. Mechanizm wiążący otyłość i astmę obejmuje zwiększoną nadreaktywność dróg oddechowych, zmniejszoną czynnościową objętość oddechową oraz przewlekły podostry stan zapalny [Castro-Rodriguez i wsp. 2001]. Wszystko to wiąże się z wysokim ryzykiem wystąpienia astmy u osób otyłych. Do zaburzeń związanych z układem oddechowym pojawiających się często w przebiegu otyłości zaliczamy również obturacyjny bezdech senny, którego bezpośrednią przyczyną jest zwiększona ilość tkanki tłuszczowej wzdłuż dróg oddechowych zmniejszająca ich światło, oraz związana z tym większa podatność na ich zapadnięcie [Schwartz i wsp. 1991; Young i wsp. 1993; Young, Skatrud i Peppard, 2004].

Wraz ze wzrostem współczynnika BMI powyżej 25 rośnie także ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe, w szczególności raka pęcherzyka żółciowego, przełyku (gruczolakorak), tarczycy, nerek, macicy, okrężnicy i piersi [Renehan i wsp. 2008].

Poza wieloma chorobami ogólnoustrojowymi znacząco pogarszającymi jakość życia, u osób otyłych pojawiają się często zaburzenia emocjonalne związane ze stygmatyzacją oraz brakiem akceptacji ze strony społeczeństwa. Ma to także swoje komplikacje psychospołeczne, wykazano np. że otyłe kobiety częściej przerywały edukację, mają o 20% mniejsze szanse na zawarcie małżeństwa oraz zarabiają mniej w porównaniu do kobiet bez nadwagi.

### 1.1.6. Diagnostyka otyłości

Diagnostyka otyłości opiera się głównie na badaniu stosunku wagi ciała do jego wymiarów oraz określeniu ilości tkanki tłuszczowej i jej lokalizacji. Do najpowszechniej stosowanych mierników używanych zarówno w codziennej praktyce lekarskiej jak i w badaniach epidemiologicznych należy wskaźnik masy ciała BMI (ang. body mass index). Zaproponowany po raz pierwszy przez belgijskiego matematyka i statystyka Adolphe'a Queteleta w 1832 r. stąd niektórych krajach nadal nazywany wskaźnikiem Queteleta QI (ang. Quetelet index). Oblicza się go dzieląc masę ciała w kilogramach przez wzrost do kwadratu podawany w metrach:

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

Interpretację wyników wraz z klasyfikacją jednostek chorobowych wg Światowej Organizacji Zdrowia WHO (ang. World Health Organization) przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Klasyfikacja wagi wg. BMI

Klasyfikacja	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
Niedowaga	< 18,50
Ciężka niedowaga	< 16,00
Umiarkowana niedowaga	16,00–16,99
Łagodna niedowaga	17,00–18,49
Wartość prawidłowa	18,50–24,99
Nadwaga	25,00–29,99
Otyłość	≥ 30,00
Otyłość I stopnia	30,00–34,99
Otyłość II stopnia	35,00–39,99
Otyłość III stopnia	≥ 40,00

Kolejnym szeroko wykorzystywanym wskaźnikiem antropometrycznym jest stosunek talia-biodra WHR (ang. Waist-Hip Ratio). Jest to prosty miernik stosowany do określenia dystrybucji tkanki tłuszczowej oraz typu otyłości. Pomiaru dokonuje się w dowolnej jednostce mierząc największe miejsce w talii i najszersze miejsce w biodrach a następnie dzielimy pierwszy wynik przez drugi:

$$\text{WHR} = \text{obwód talii} / \text{obwód bioder}$$

Jak już wspomniano jeśli uzyskany wynik przekracza 0,8 u kobiet lub 0,9 u mężczyzn mamy do czynienia z otyłością androidalną (otyłość udowo-pośladkową określa się innymi metodami).

W praktyce wykorzystuje się również pomiar obwodu pasa WC (ang. Waist Circumference), pomiar grubości fałdu skórno-tłuszczowego za pomocą kalipera (fałdomierza) oraz analizę bioimpedancji elektrycznej (BIA — ang. bioelectric impedance analysis) [Major-Gołuch i wsp. 2010]. Do bardziej zaawansowanych metod diagnostycznych wykorzystywanych głównie w badaniach naukowych i specjalistycznych zaliczamy: absorpcjometrię wiązek promieniowania o dwóch różnych energiach (DEXA — dual-energy X-ray absorptiometry), tomografię komputerową, metody izotopowe, ultrasonografię oraz rezonans magnetyczny [Fulcher i wsp. 1991; Bolanowski, Zadrozna-Śliwka i Zatońska, 2005].

## 1.2. Tkanka tłuszczowa

### 1.2.1. Tkanka tłuszczowa — budowa histologiczna

Tkanka tłuszczowa rozwija się z mezenchymy i jest zaliczana do tkanki łącznej. U człowieka jej główne depozyty stanowiące około 70% zlokalizowane są w warstwie podskórnej, pozostałe 30% rozmieszczone jest w okolicach trzewi, w rejonie narządów płciowych, gruczołów piersiowych oraz w obrębie trzustki, wątroby i mięśni szkieletowych [Siemińska, 2007]. Jest to tkanka heterogenna zarówno pod względem morfologicznym jak i funkcjonalnym, a jej podstawową masę stanowią komórki zwane adipocytami rozproszone w obrębie szkieletu utworzonego przez włókna kolagenowe. Jest bogato unaczyniona o czym świadczą fakt, iż każdy adipocyt kontaktuje się przynajmniej z jednym naczyniem włosowatym. W jej strukturze obecne są również fibroblasty, leukocyty, monocyty, makrofagi, komórki endotelium oraz subpopulacje komórek macierzystych określanymi jako komórki SVF (stromal vascular fraction) będących źródłem preadipocytów, mezenchymalnych komórek macierzystych, komórek progenitorowych śródbłonna, limfocytów T i B oraz makrofagów [Wronska, 2012]. Podstawowe trzy funkcje tkanki to izolacja termiczna, amortyzacja (chroni narządy wewnętrzne przed urazami mechanicznymi) oraz magazynowanie energii. Rozrost tkanki tłuszczowej następuje w wyniku dwóch procesów: hipertrofii, czyli zwiększenia rozmiaru komórek oraz hiperplazji prowadzącej do zwiększenia ich liczby. Oba procesy występują naprzemiennie w zależności od okresu rozwojowego [Prins i O’Rahilly, 1997].

### 1.2.2. Klasyfikacja tkanki tłuszczowej

Tkankę tłuszczową dzieli się na dwa główne typy: białą WAT (ang. white adipose tissue) oraz brunatną BAT (ang. brown adipose tissue), których wzajemne proporcje zależne są od wieku, czynników środowiskowych (głównie temperatury), dziedzicznych oraz metabolizmu. U dorosłego człowieka, o prawidłowej masie ciała stosunek ten wynosi 1/100–200 na korzyść WAT [Cinti, 2005; Oberkofler i wsp. 1997]. Jest to prawdopodobnie wynik związanej z wiekiem involucji BAT, względnie transformacji do białej tkanki tłuszczowej [Cinti, 2006].

Niedawno odkryto także występowanie adipocytów beżowych uznawanych za formę przejściową pomiędzy komórkami białej i brunatnej tkanki oraz adipocytów różowych odpowiedzialnych za produkcję mleka, które powstają w wyniku transformacji z podskórnej tkanki tłuszczowej u kobiet w ciąży oraz w okresie laktacji [Giordano i wsp. 2014]. Badania wykazały także niezwykłą zdolność adipocytów do różnicowania w kierunku komórek pełniących odmienne funkcje fizjologiczne pod wpływem czynników genetycznych i klimatycznych. Znaczący jest również fakt, iż proces ten jest odwracalny [Cousin i wsp. 1996; Rosenwald i wsp. 2013].

BAT jest wyspecjalizowanym rodzajem tkanki tłuszczowej obecnej tylko u ssaków. Składa się z adipocytów silnie rozproszonych w obrębie podłoża, zawierających dużą liczbę mitochondriów, którym zawdzięcza swoje zabarwienie. Rozmiar tych komórek jest zdecydowanie mniejszy w porównaniu do tk. tłuszczowej białej [Murawska-Ciałowicz, 2017]. Lipidy zmagazynowane w cytoplazmie w postaci wielokątnych kropelek tłuszczu stanowią tutaj jedynie 30–50% objętości komórki cechuje ją natomiast wysoka zawartość glikogenu oraz bogaty skład enzymatyczny. W zestawieniu z tkanką białą zawiera też więcej nienasyconych kwasów tłuszczowych, fosfolipidów, cholesterolu oraz witamin. W dojrzałej postaci występuje w okresie noworodkowym. U dorosłych największe skupiska znajdują się w okolicy nadobojczykowej i karku, ponadto występuje także wzdłuż naczyń szyjnych i rdzenia kręgowego oraz dookoła serca i nadnerczy [Nedergaard, Bengtsson i Cannon, 2007]. Główną funkcją brunatnej tkanki tłuszczowej jest wytwarzanie ciepła oraz rozpraszanie nadmiarów energii dostarczanej z pożywieniem. Dzieje się to pod wpływem białka rozpręgającego — UCP-1 (ang. uncoupling protein-1) zwanego termogeniną produkowanego przez adipocyty BAT. Pod wpływem działania tego białka większość energii wytwarzana przy spalaniu glukozy lub kwasów tłuszczowych przeznaczana jest na bezpośrednie wytwarzanie ciepła, a znacznie mniej magazynowane jest pod postacią ATP w mitochondriach [Harms, Seale, 2013].



Aktywację oraz przyrost brązowej tkanki tłuszczowej obserwuje się w odpowiedzi na przewlekłą ekspozycję na zimno [Cannon, Nedergaard, 2004]. Natomiast upośledzone funkcjonowanie BAT związane głównie ze zmniejszeniem produkcji UCP-1 oraz obniżeniem wrażliwości receptorów  $\beta$ -adrenergicznych w świetle najnowszych badań odgrywa znaczącą rolę w rozwoju otyłości brzusznej i cukrzycy typu 2 [Brondani i wsp. 2012].

Biała tkanka tłuszczowa stanowi zasadniczy magazyn lipidów u człowieka. Złożona jest z dużych, kulistych adipocytów, których średnica osiąga od 20 do 200  $\mu\text{m}$ . Prawie całą objętość komórki wypełnia centralnie położona duża kropla tłuszczu a cytoplazma zawierająca jądro oraz niewielką ilość mitochondriów występuje peryferyjnie tworząc formę cienkiego pierścienia. Takie rozmieszczenie pozwala najbardziej efektywnie wykorzystać obszar zajmowany przez komórki. Przestrzeń międzykomórkowa wypełniona jest substancją podstawową zawierającą włókna siateczkowate oraz różnego rodzaju komórki, w tym: fibroblasty, limfocyty, mastocyty, makrofagi oraz preadipocyty.

Około 80% masy WAT stanowi tłuszcz z czego prawie 99% to trójglicerydy. Pozostałą część stanowią kwasy tłuszczowe, mono- i diglicerydy, fosfolipidy oraz cholesterol [Fantuzzi, Braunschweig, 2014]. Biała tkanka tłuszczowa jest słabiej unaczyniona od brązowej, jednakże i tutaj każdemu z adipocytów odpowiada przynajmniej jedna kapilara. Za unerwienie tej tkanki odpowiedzialne są włókna adrenergiczne przebiegające wzdłuż naczyń krwionośnych.

Główną rolą białej tkanki tłuszczowej jest magazynowanie energii w postaci trójglicerydów i estrów cholesterolu oraz uwalnianie substratów energetycznych w formie wolnych kwasów tłuszczowych. Niemniej jednak tradycyjny pogląd traktujący WAT wyłącznie jako bierny rezerwuuar energetyczny już dawno stracił na znaczeniu. Obecnie wiadomo, że białe adipocyty pełnią istotne funkcje endokrynne poprzez produkcję i wydzielanie do krwiobiegu substancji o charakterze hormonów zwanych adipokinami a dzięki ekspresji na ich powierzchni licznych receptorów, komórki te są także w stanie odbierać sygnały od innych tkanek.

### **1.2.3. Tkanka tłuszczowa jako gruczoł endokryny**

Endokrynną rolę tkanki tłuszczowej zaczęto dostrzegać już w latach osiemdziesiątych ubiegłego stulecia kiedy to odkryto, iż jest ona głównym miejscem metabolizmu steroidów płciowych oraz organem produkującym adiposynę — cząsteczkę wpływającą na przemianę lipidów i glukozy [Flier i wsp. 1987; Siiteri, 1987]. Późniejsze doniesienia, z 1944 roku na temat wytwarzania przez WAT leptyny oraz ustalenia jej wpływu na ośrodek

łaknienia na zawsze umocniły pozycję tkanki tłuszczowej na liście aktywnych gruczołów wydzielania wewnętrznego [Zhang i wsp. 1994]. Przykłady biologicznie czynnych białek produkowanych przez białe adipocyty oraz receptorów obecnych na powierzchni tych komórek zamieszczono w tabeli 2.

**Tabela 2.** Czynniki produkowane przez adipocyty oraz receptory obecne na ich powierzchni (Skowrońska, Fichna M i Fichna P, 2005; Waki i Tontonoz, 2007]

Cytokiny i białka związane z cytokinami	<ul style="list-style-type: none"> <li>- TNF-<math>\alpha</math> — czynnik martwicy nowotworu alfa (ang. tumor necrosis factor-<math>\alpha</math>)</li> <li>- IL-6 — interleukina-6 (ang. interleukin-6)</li> <li>- MIF — czynnik hamowania migracji makrofagów (ang. macrophage migration inhibitory factor)</li> <li>- IL-1Ra — antagonist receptoru interleukiny-1 (ang. interleukin-1 receptor antagonist)</li> </ul>
Białka związane z układem krzepnięcia	<ul style="list-style-type: none"> <li>- PAI-1 — inhibitor aktywatora plazminogenu (ang. plasminogen activator inhibitor)</li> <li>- Czynniki tkankowe</li> </ul>
Składowe dopełniacza i białka związane z układem dopełniacza	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Adipsyna</li> <li>- Adiponektyna</li> </ul>
Inne białka związane z układem odpornościowym	<ul style="list-style-type: none"> <li>- MCP-1 — białko chemotaktyczne monocytów (ang. monocyte chemoattractant protein-1)</li> </ul>
Lipidy i białka związane z metabolizmem i transportem lipidów	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lipaza lipoproteinowa</li> <li>- Białko transportujące estry cholesterolu</li> <li>- Apolipoproteina E</li> </ul>
Enzymy związane z metabolizmem hormonów steroidowych	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aromataza zależna od cytochromu P450</li> <li>- Dehydrogenaza 17<math>\beta</math>-hydroksysteroidowa</li> <li>- Dehydrogenaza 11<math>\beta</math>-hydroksysteroidowa typu 1</li> </ul>
Białka układu renina–angiotensyna	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Angiotensynogen</li> </ul>
Inne białka hormonalnie czynne	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rezystyna</li> <li>- Apelina</li> <li>- Wisfatyna</li> </ul>
Receptory hormonów	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Receptro insuliny</li> <li>- Receptor glukagonu</li> <li>- Receptor hormonu wzrostu</li> <li>- Receptor tyreotropiny</li> <li>- Receptor angiotensyny typu 1. i 2.</li> </ul>
Receptory jądrowe	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Receptor glikokortykoidów</li> <li>- Receptor witaminy D</li> <li>- Receptor tyroksyny</li> <li>- Receptory androgenów</li> <li>- Receptor estrogenów</li> <li>- Receptor progesteronu</li> </ul>
Receptory cytokin	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Receptor leptyny</li> <li>- Receptor IL-6</li> <li>- Receptor TNF<math>\alpha</math></li> </ul>
Receptory katecholamin	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Receptory <math>\beta</math>1, <math>\beta</math>2, <math>\beta</math>3</li> <li>- Receptory <math>\alpha</math>1, <math>\alpha</math>2</li> </ul>

Informacje zawarte w tabeli pozwalają z łatwością dostrzec szerokie powiązania tkanki tłuszczowej z pozostałymi układami ludzkiego organizmu. Produkowane przez tkankę tłuszczową substancje biorą udział w licznych procesach związanych z metabolizmem glukozy i lipidów, kontrolą ciśnienia tętniczego oraz odpowiedzią immunologiczną ustroju. Ponadto adipokiny uczestniczą w procesach zakrzepowych, angiogenezie, wpływają na płodność oraz regulują uczucie łaknienia. Działanie endokrynne WAT obserwuje się w obrębie wątroby, mięśni szkieletowych, komórek  $\beta$  trzustki, mózgu, układu naczyniowego i rozrodczego [Siemińska, 2007].

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż poza białkami o działaniu endokrynnym tkanka tłuszczowa biała uwalnia także szereg substancji wykazujących aktywność prozapalną. Te niezwykle istotne (w kontekście powikłań nadwagi) właściwości WAT są zależne od jej lokalizacji w organizmie. Udowodniono, iż aktywność zapalna tkanki tłuszczowej trzewnej jest znacznie wyższa od tej zlokalizowanej podskórnio [Wajchenberg 2000]. Wyniki badań wskazują także na ścisły związek otyłości brzusznej z występowaniem insulinooporności, hiperglikemii, dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego oraz stanów prozakrzepowych i prozapalnych, które nieleczone mogą doprowadzić do rozwoju cukrzycy typu 2 oraz miażdżycy [Srikanthan i wsp. 2016]. Co ciekawe, zarówno u ludzi jak i u gryzoni z niedoborem tkanki tłuszczowej lub lipodystrofią obserwuje się cechy zespołu metabolicznego w tym insulinooporność i dyslipidemię. Jak widać zarówno nadmiar, jak i niedobór tkanki tłuszczowej mają szkodliwe konsekwencje metaboliczne i stanowią znaczące obciążenie medyczne i społeczno-ekonomiczne w dzisiejszym świecie. Normalna masa tkanki tłuszczowej jest zatem niezbędna do utrzymania układowej homeostazy glukozy i lipidów [Waki i Tontonoz, 2007].

### **1.3. Śródbłonek naczyniowy**

#### **1.3.1. Śródbłonek — budowa histologiczna oraz funkcja**

Komórki śródbłonka naczyniowego EC (ang. endothelial cells) wyściełają pojedynczą warstwą cały układ krążenia, od serca po najmniejsze naczynia włosowate, tworząc w ten sposób pierwszą barierę oddzielającą krew od ściany naczyniowej. Przez wiele lat śródbłonek naczyniowy postrzegany był jako cienka ściana wyściełająca drzewo naczyniowe, niewykazująca żadnych specyficznych funkcji poza wybiórczą przepuszczalnością dla wody i elektrolitów [Behrendt i Ganz, 2002]. Obecnie wiadomo, iż komórki te

przy łącznej liczbie dochodzącej do dziesięciu bilionów tworzą tkankę o masie około 1 kg i powierzchni nawet 7 m<sup>2</sup>. Tkanka ta jest odpowiedzialna za wiele procesów kluczowych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu [Tomczyk, Nowak i Jaźwa 2013]. Do najważniejszych zalicza się regulację napięcia ścian naczyń krwionośnych, kontrolowanie hemodynamiki przepływu krwi, utrzymywanie równowagi pomiędzy procesami krzepnięcia i fibrynolizy, angiogenezę oraz udział w modulowaniu odpowiedzi zapalnej i immunologicznej [Rajendran, i wsp. 2013].

Śródbłonek jest strukturą łatwo ulegającą pobudzeniu i szybko reagującą na bodźce, w wyniku których dochodzi do aktywacji i zmiany jego funkcji. Jest to możliwe dzięki obecności na jego powierzchni receptorów błonowych dla wielu cząsteczek, takich jak białka, cząsteczki transportujące lipidy, metabolity i hormony, a także dzięki specyficznym białkom i receptorom łączącym, które regulują interakcje międzykomórkowe oraz między komórkami a macierzą pozakomórkową. Ponadto EC reagują na bodźce zewnętrzne poprzez produkcję parakrynnych hormonów i czynników wzrostu, które działają na sąsiadujące komórki mięśni gładkich, monocyty, makrofagi, fibroblasty oraz komórki specyficzne dla danej tkanki. Dlatego też śródbłonek każdego narządu można uznać za gruczoł dokrewny sam w sobie. Erik E Anggård w swojej pracy z 1990 wysunął nawet stwierdzenie, iż jest to największy gruczoł endokrynnny ludzkiego organizmu [Anggård, 1990].

Bogatą listę czynników produkowanych i uwalnianych przez endotelium w odpowiedzi na bodźce mechaniczne jak i chemiczne przedstawiono w tabeli 3.

Śródbłonek nazywany często „narządem rozproszonym” pełni szereg funkcji istotnych dla zachowania homeostazy organizmu. Zaburzenie którejkolwiek z nich może prowadzić do rozwoju wielu groźnych dla życia chorób takich jak nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca, miażdżycy tętnic obwodowych, insulinooporność oraz przewlekła niewydolność nerek. Badania dowodzą także, iż komórki endotelium odgrywają szczególną rolę w rozwoju powikłań cukrzycy oraz w procesie waskularyzacji guzów nowotworowych [Wideł i Wideł, 2006]. Istotne wydaje się zatem określenie kondycji śródbłonka naczyniowego *in vivo*, umożliwiające ocenę potrzeb leczniczych jeszcze w fazie profilaktyki pierwotnej.

Obecnie w tym celu wykorzystuje się pomiar osoczowego stężenia markerów świadczących o toczącym się procesie patologicznym. Do najbardziej reprezentatywnych zalicza się między innymi cząsteczki adhezyjne (sICAM-1 ang. soluble intercellular adhesive molecule-1, sVCAM-1 ang. vascular cell adhesion molecule-1, E-selektynę),

**Tabela 3.** Czynniki wydzielane przez śródbłonek naczyniowy (Paulus, Jennewein i Zacharowski, 2011; Fonseca i Izar, 2018]

<b>Czynniki o działaniu wazodylatacyjnym</b>	<b>Czynniki o działaniu wazokonstrykcyjnym</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- NO — tlenek azotu</li> <li>- Prostacyklina</li> <li>- EDHF — Śródbłonkowo-pochodny czynnik hiperpolaryzujący (ang. endothelium-derived hyperpolarizing factor)</li> <li>- Bradykinina</li> <li>- Adrenomedullina</li> <li>- Natriuretyczny peptyd C</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ET-1 — Endotelina 1 (ang. endothelin-1)</li> <li>- AT II — Angiotensyna II (ang. angiotensine II)</li> <li>- TXA2 — Tromboksan A2 (ang. thromboxane A2)</li> <li>- Prostaglandyna H2</li> <li>- Rodniki tlenowe</li> </ul>
<b>Czynniki aktywujące procesy rozrostowe</b>	<b>Czynniki hamujące procesy rozrostowe</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- ET-1 — Endotelina 1</li> <li>- AT II — Angiotensyna II</li> <li>- Rodniki tlenowe</li> <li>- TGF-<math>\beta</math> — Transformujący czynnik wzrostu <math>\beta</math> (ang. transforming growth factor <math>\beta</math>)</li> <li>- IGF-1 — Insulinopodobny czynnik wzrostu (ang. insulin-like growth factor) Interleukiny</li> <li>- Adenozyna</li> <li>- VEGF — Śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń (ang. vascular endothelial growth factor)</li> <li>- Proteiny ułatwiające migrację komórek śródbłonka</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- NO — Tlenek azotu</li> <li>- PGI<sub>2</sub> — Prostaglandyna I2 (ang. prostaglandine I2)</li> <li>- Siarczany heparanu</li> <li>- Inhibitory proteinaz zewnątrzkomórkowych</li> </ul>
<b>Czynniki o działaniu prokoagulacyjnym</b>	<b>Czynniki o działaniu antykoagulacyjnym</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- ET-1 — Endotelina 1</li> <li>- Rodniki tlenowe</li> <li>- PAI-1 — inhibitor aktywatora plazminogenu (ang. plasminogen activator inhibitor)</li> <li>- TXA2 — Tromboksan A2 (ang. thromboxane A2)</li> <li>- Fibrynogen</li> <li>- TF — Czynnik tkankowy (ang. Tissue Factor)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- NO — Tlenek azotu</li> <li>- PGI<sub>2</sub> — Prostaglandyna I2</li> <li>- t-PA — tkankowy aktywator plazminogenu (ang. tissue plasminogen activator)</li> <li>- Białko C</li> <li>- Czynnik von Willebranda</li> </ul>
<b>Cząsteczki adhezyjne</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- ICAM-1 — Międzycząsteczkowa cząsteczka adhezyjna-1 (ang. Intercellular Adhesion Molecule 1)</li> <li>- VCAM-1 — Naczyniowa cząsteczka adhezyjna-1 (ang. Vascular Cell Adhesion Molecule 1)</li> <li>- Selektyna E</li> <li>- Selektyna P</li> </ul>	

trombomodulinę (TM), śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF ang. soluble vascular endothelial growth factor) oraz inhibitor aktywatora plazminogenu (PAI-1 ang. plasminogen activator inhibitor-1).

### 1.3.2. Markery śródbłonka naczyniowego

Pierwszą grupę stanowią cząsteczki adhezyjne zwane także adhezynami. Jest to grupa powierzchniowych glikoprotein o zróżnicowanej budowie, umożliwiających oddziaływanie komórek między sobą jak i między macierzą pozakomórkową. W ich struktu-

rze wyróżnia się trzy domeny: wewnątrzkomórkową, przezbłonową oraz zewnątrzkomórkową, z których ta ostatnia posiada właściwości receptorowe. W organizmie mogą występować w dwóch postaciach, jako białka związane ze strukturami komórkowymi lub w postaci rozpuszczalnej obecnej w płynach ustrojowych. W warunkach fizjologicznych adhezyny zapewniają utrzymanie integralności tkankowej oraz biorą udział w szeregu istotnych procesów takich jak morfogeneza, embriogeneza, organogeneza i procesy odpornościowe. Szczególnie podkreśla się ich rolę w odpowiedzi komórkowej gdzie uczestniczą w interakcji leukocytów i trombocytów z komórkami śródbłonka naczyniowego. To dzięki nim możliwa jest diapedeza białych krwinek poza łożysko naczyniowe oraz rekrutacja do ogniska zapalnego [Constans i Conri, 2006; Makrilia i wsp. 2009].

Nie bez znaczenia jest także rola jaką CAM (od ang. cell adhesion molecule) odgrywa w procesach patologicznych. Zwiększoną ekspresję tych białek, zaobserwowano w przebiegu wielu chorób ogólnoustrojowych wliczając nadciśnienie tętnicze, miażdżycę oraz insulinooporność. Ponadto wykazano, iż zaburzenia funkcjonowania CAM są ściśle związane z inicjacją procesu przerzutowania nowotworów złośliwych co wiąże się z gorszym przebiegiem choroby i złym rokowaniem [Hillis i Flapan, 1998; Kwiatkowski i wsp. 2009].

Biorąc pod uwagę różnice w budowie oraz pełnionej funkcji cząsteczki adhezyjne można podzielić na trzy główne grupy: Integryny, selektyny oraz białka immunoglobulinopodobne (ang. Immunoglobulin superfamily, IgSF). Wśród nich najbardziej istotne z punktu oceny aktywności śródbłonka to E-selektyna, P-selektyna, ICAM-1 oraz VCAM-1 [Ley i wsp. 2007].

ICAM-1 — 1 jest glikoproteiną należącą do grupy białek immunoglobulinopodobnych, umożliwiającą adhezję oraz przechodzenie leukocytów do macierzy zewnątrz-naczyniowej. W warunkach prawidłowych niewielkie ilości tej cząsteczki obecne są na powierzchni wielu komórek, uwzględniając komórki śródbłonka, leukocyty, fibroblasty oraz komórki mięśni gładkich. Znaczny wzrost ekspresji genu kodującego ICAM-1 obserwuje się w następstwie aktywacji zapalnej. Czynnikiem transkrypcyjnym, który odpowiada za ten wzrost jest NF- $\kappa$ B (jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B), który z kolei aktywowany jest m.in. przez cytokiny prozapalne (np. TNF- $\alpha$  ang. tumor necrosis factor  $\alpha$ ), lipopolisacharyd (LPS), interferon- $\gamma$  czy wolne rodniki tlenowe [Pigott i wsp. 1992]. ICAM-1 jest jednym z najczęściej wykorzystywanych markerów do oceny uszkodzenia komórek śródbłonka u osób z ostrymi zespołami wieńcowymi. Wzrost ekspresji ICAM jest także obserwowany w przebiegu zapaleń przyzębia, które wtórnie stanowią czynnik ryzyka wystąpienia choroby niedokrwiennej serca [Lei i Yongjiang 2016].

VCAM-1 jest drugim przedstawicielem rodziny IgSF. Razem z ICAM-1 stanowi około 50% wszystkich glikoprotein błonowych leukocytów lecz mimo znacznego strukturalnego podobieństwa cząsteczka ta wykazuje odmienny typ regulacji. Objawia się to brakiem ekspresji na kom. śródbłonna w warunkach fizjologicznych [Fotis i wsp. 2012]. Dopiero w wyniku aktywacji czynnikami prozapalnymi (np. IL-4 lub oxy-LDL ang. oxidized low-density lipoprotein) VCAM-1 pojawia się na powierzchni endotelium, gdzie działa jako receptor dla integryny  $\alpha 4\beta 1$  stale obecnej na limfocytach, monocytach i granulocytach kwasochłonnych pośrednicząc zarówno w procesie toczenia jak i silnej adhezji leukocytów [Galkina i Ley, 2007]. Wyniki badań wykazały, iż VCAM-1 jest jedną z głównych adhezyn zaangażowanych w powstawanie zmian miażdżycowych a wysokie stężenia jej rozpuszczalnej formy (sVCAM-1) znacznie podnoszą ryzyko incydentów sercowo naczyniowych [Yamagishi i Iso, 2017].

Selektyny to grupa glikoprotein wykazujących charakterystyczny wspólny plan budowy. Każda z nich posiada pięć domen: lektynową, EGF-podobną (ang. epidermal growth factor, EGF) wykazująca podobieństwo do czynnika wzrostu naskórka, fragment homologiczny z białkami regulującymi układ dopełniacz (CR), fragment trans-membranowy, fragment wewnątrzkomórkowy. Elementem, który różni poszczególnych przedstawicieli tej grupy jest liczba fragmentów CR. Na tej podstawie wyróżnia się: leukocytarną L-selektynę, śródbłonkową E-selektynę oraz płytkową P-selektynę, których rola w przeciwieństwie do pozostałych CAM jest ściśle ograniczona do interakcji między leukocytami a komórkami śródbłonna. Cząsteczki te pośredniczą w początkowym oddziaływaniu tych komórek, którego efektem jest toczenie zarówno neutrofilii, jak i monocytów oraz limfocytów po ścianie naczyń krwionośnych. To przejściowe wiązanie, pomimo niskiego powinowactwa, powoduje zwiększenie rekrutacji leukocytów, a następnie silną adhezję i przezbłonową migrację tych komórek do ogniska zapalnego [Muller, 2002; Ulbrich, Eriksson i Lindbom, 2003].

Kluczową rolę w przejściu z etapu toczenia do fazy adhezji odgrywa E-selektyna. Jest to glikoproteina posiadająca sześć fragmentów CR, której ekspresja na powierzchni komórek endotelium jest możliwa tylko w wyniku aktywacji mediatorami zapalnymi takimi jak czynnik martwicy nowotworów alfa- TNF- $\alpha$  (ang. tumor necrosis factor  $\alpha$ ) czy IL-1 $\beta$ . Podobnie do pozostałych adhezyn, selektyny występują zarówno w postaci związanej z błonami komórek jak i w formie rozpuszczalnej, obecnej w osoczu oraz płynach ustrojowych. Krążąca postać E-selektyny (sE-selektyna) może zostać uwolniona na skutek enzymatycznego cięcia lub w wyniku złuszczenia uszkodzonych lub aktywo-

wanych komórek śródbłonna. Stąd wyższe stężenia krążącej sE-selektyny obserwuje się u pacjentów z z niestabilną dławicą piersiową lub ostrym zawałem mięśnia sercowego w porównaniu ze osobami zdrowymi [Suefui i wsp. 2000; Nasuno i wsp. 2002]. Badania wykazały także wzrost stężenia tej cząsteczki u palaczy, chorych na cukrzycę czy nadciśnienie tętnicze [Bermudez i wsp. 2002; Knudsen i wsp. 2003; Srivastava i wsp. 2018].

Jako markery funkcji śródbłonna naczyniowego wykorzystuje się także inne, nienależące do grupy adhezyn białka. Podobnie do nich cząsteczki te biorą bezpośredni udział w przemianach zachodzących w obrębie naczyń a ich stężenie w osoczu odzwierciedla faktyczny stan endotelium. Do najczęściej oznaczanych zalicza się PAI-1, VEGF oraz Trombomodulinę.

PAI-1 jest glikoproteiną o masie cząsteczkowej około 52kDa, należąca do rodziny serpin czyli inhibitorów proteaz serynowych [Marin-Garcia 2007]. Jej główną rolą jest hamowanie powstawania plazminy poprzez oddziaływanie na aktywator plazminogenu typu tkankowego (tPA ang. tissue plasminogen activator) oraz urokinazę (uPA ang. urokinase-type plasminogen activator). Poza regulacją systemów proteolitycznych cząsteczka ta wpływa na migrację oraz adhezję komórek, co przekłada się na jej udział w licznych procesach biologicznych, takich jak angiogeneza, owulacja, embriogeneza, gojenie ran czy przebudowa kości. PAI-1 wytwarzany jest głównie przez komórki wątroby oraz endotelium a w mniejszym stopniu także przez fibroblasty, monocyty, makrofagi, adipocyty i komórki mięśni gładkich [Mutch, N. J, 2013]. Jego synteza regulowana jest przez cytokiny (w tym endotoksynę i interleukinę-1), hormony oraz liczne czynniki wzrostowe, z których najistotniejszy jest transformujący czynnik wzrostu beta, TGF- $\beta$  (ang. transforming growth factor  $\beta$ ) [Wyrzykowska i Kasza, 2009].

Stężenie PAI-1 w osoczu osób zdrowych waha się od 1–70 ng/ml. Wyniki badań wykazały, iż znaczny wzrost tych wartości obserwuje się w wyniku uszkodzenia ściany naczyń krwionośnych, po przebyciu ostrego zawału mięśnia sercowego oraz w przebiegu licznych chorób w tym choroby niedokrwiennej serca, DIC (zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego ang. disseminated intravascular coagulation) i cukrzycy typu 2 [Bujak i wsp., 2002; Lyon i Hsueh, 2003; Yarmolinsky i wsp., 2016].

Kolejną cząsteczką markerową jest VEGF (ang. vasculo endothelial growth factor) czyli czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego. VEGF stanowi de facto rodzinę spokrewnionych strukturalnie lecz różniących się pod względem metabolicznym białek, do których zalicza się VEGF-A, -B, -C, -D i E oraz łożyskowy czynnik wzrostu (PlGF ang. placental growth factor). Opisanym jako pierwszy a także najlepiej poznanym przed-



stawicielem tej grupy jest VEGF-A. Jest to stymulator, który poprzez indukowanie proliferacji, migracji oraz przepuszczalności komórek śródbłonna odgrywa kluczową rolę w procesach waskulogeny i angiogenezy [Hoeben, 2004]. Ponadto VEGF uczestniczy w utrzymaniu prawidłowej morfologii już wykształconych naczyń a także wpływa na wzrost stężenia niektórych adhezyn (VCAM-1 oraz ICAM-1).

Niezwykle istotna jest także rola jaką VEGF pełni w wielu stanach patologicznych. Podwyższone stężenie tej cząsteczki w osoczu obserwuje się przebiegu większości chorób nowotworowych, retinopatii cukrzycowej czy RZS (reumatoidalne zapalenie stawów). Badania dowodzą także o wpływie wysokiego stężenia VEGF na rozmiar oraz szybkość tworzenia się blaszek miażdżycowych [Celletti i wsp. 2001].

Jednym z głównych czynników indukujących ekspresję tego białka, zarówno w warunkach fizjologicznych jak i patologicznych, jest obniżone ciśnienie parcjalne tlenu. Poza miejscową hipoksją, podobny efekt wywołują niektóre cytokiny (TGF- $\beta$ , Il-1 $\beta$ , Il-6, PGE<sub>2</sub>) oraz onkogeny.

Trombomodulina (TM ang. Thrombomodulin) jest integralną glikoproteiną błonową typu I, związaną głównie z komórkami śródbłonna naczyń. Niewielkie ilości tego białka występują także na powierzchni trombocytów, megakariocytów, osteoblastów, komórek mezotelialnych oraz komórek mięśni gładkich. Zbudowana z 577 aminokwasów jednołańcuchowa cząsteczka TM podzielona jest na pięć domen. Pierwsze trzy stanowią część zewnątrzkomórkową, czwarta to część transbłonowa a ostatnia piąta tworzy tak zwany wewnątrzkomórkowy „ogon” cytoplazmatyczny [Okamoto i wsp. 2012].

Głównym fizjologicznym zadaniem TM jest przekształcenie trombiny z białka koagulującego w antykoagulant, co czyni ją jedną z najważniejszych molekuł o właściwościach wazoprotekcyjnych. Trombina połączona z trombomoduliną traci powinowactwo do fibrynogenu, staje się natomiast aktywatorem białka C, co w efekcie doprowadza do degradacji aktywnych czynników krzepnięcia Va i VIIa [Wojtkielewicz i wsp. 2006]. Jednocześnie kompleks trombina-trombomodulina wykazuje działanie przeciwzapalne oraz antyfibrynolityczne poprzez indukowanie przejścia aktywowanego trombiną inhibitora fibrynolizy (TAFI ang. thrombin activatable fibrinolysis inhibitor) w jego formę aktywną [Carter, Standeven i Grant, 2013].

Fracja rozpuszczalna TM (sTM ang. soluble TM) wykrywalna w osoczu powstaje na skutek odłączenia się zewnątrzłonowego fragmentu od domeny transbłonowej pod wpływem różnego rodzaju czynników aterogennych. Dokładna rola jaką pełni sTM zarówno w warunkach fizjologicznych jak i patologicznych nie została jeszcze poznana.

Wiadomo natomiast, iż wysokie stężenia sTM korelują z różnymi stanami klinicznymi takimi jak choroba niedokrwienna serca, cukrzyca, oraz niedokrwienne i/lub zapalne uszkodzenia śródbłonna dzięki czemu sTM może być wykorzystywana jako marker uszkodzenia komórek śródbłonna [Califano i wsp. 2000].

#### 1.4. Ślina jako materiał diagnostyczny

Ślina jest płynną wydzieliną gruczołów ślinowych zapewniającą stabilność środowiska jamy ustnej [Pink i wsp. 2009].

Jej główną część stanowi mieszanina produktów trzech par dużych gruczołów zwanych śliniankami (przyuszne, podżuchwowe i podjęzykowe) oraz licznych (około 200–400) drobnych gruczołów rozmieszczonych na błonie śluzowej warg, policzków, podniebienia oraz dna jamy ustnej. Głównym składnikiem śliny jest woda, stanowi ona około 94–99,5% jej objętości. Wśród składników części stałej, stanowiącej od 0,5% objętości w przypadku śliny stymulowanej do 6% objętości śliny niestymulowanej wymienić należy: enzymy, immunoglobuliny, białka surowicy krwi, mucyny, czynniki wzrostu, hormony a także witaminy [Dyba, Lenkowski, Surdacka, 2017].

Poza właściwą wydzieliną gruczołów ślina zawiera także składniki nieistotne w aspekcie objętości a znacząco wpływające na jej skład; wymieniamy tutaj płyn dziąsłowy, odkrzeszoną wydzielinę oskrzelową, przesięk surowiczy, komórki krwi jak również bakterie oraz ich metabolity, wirusy i grzyby, złuszczone komórki nabłonka oraz resztki pokarmowe [Giannobile i wsp. 2009].

Bogaty skład oraz łatwość i szybkość pozyskania materiału sprawiają, że wykorzystanie śliny do celów diagnostycznych cieszy się coraz większą popularnością wśród diagnostów medycznych i lekarzy. Brak konieczności angażowania personelu pielęgniarstwa oraz stosowania specjalistycznego sprzętu pozwala pobrać ślinę bezinwazyjnie także w warunkach domowych co ma szczególne znaczenie w przypadku dzieci, osób w podeszłym wieku oraz niepełnosprawnych. Niski koszt oraz wysoka trwałość związków oznaczanych w ślinie (7 dni w temperaturze 4st i 24 h w temperaturze pokojowej) niewątpliwie przyczyniają się do rosnącego zainteresowania tym tematem [Klichowska-Paltonka i Bachanek, 2011].

Praktyczne wykorzystanie tej wydzieliny do badań biochemicznych stało się możliwe dzięki określeniu zakresów norm dla licznych substancji występujących w ślinie,

Potwierdzają to liczne doniesienia naukowe z zakresu stomatologii, medycyny sądowej, onkologii oraz endokrynologii klinicznej [Szydłarska i wsp. 2008; Nijakowski, Surdacka, 2018]. Wysoce czułe testy pozwalają dokładnie ocenić stężenie takich parametrów jak przeciwciała, hormony, niektóre leki i narkotyki a dzięki możliwości oznaczania stężenia kreatyniny w ślinie próbuje się nawet monitorować wydolność nerek w warunkach domowych [Tomás i wsp. 2008].

Ważnym kryterium decydującym o przydatności diagnostycznej danej substancji zawartej w ślinie jest miejsce jej wytwarzania. Za wartościowe pod względem diagnostycznym uważa się te związki, które są produkowane poza gruczołem i przedostają się do śliny na zasadzie dyfuzji. Stężenie tych związków w ślinie ściśle koreluje z ich stężeniem w surowicy. Mniej istotne w tym kontekście są związki syntetyzowane bezpośrednio w śliniankach oraz przedostające się do śliny w wyniku uszkodzenia naturalnych przegród (tyroksyna i trijodotyronina) [Sachan, Naresh, Bitla, 2018].

Do celów badawczych najczęściej wykorzystuje się niestymulowaną ślinę mieszaną wykazującą większą przydatność diagnostyczną w porównaniu do śliny stymulowanej, której skład oraz pH zmieniają się pod wpływem bodźców stymulujących [Miller, Foley, Bailey i wsp. 2010]. Obecnie przyjęte metody pobierania śliny to: drenaż, wypluwanie, odsysanie i absorpcja [Jach i wsp. 2008]. W większości przypadków ze względu na wygodę pacjenta stosuje się metodę wypluwania do opatrzonego w lejek sjalometru.

## **1.5. Wpływ otyłości na śródbłonek naczyniowy**

Dysfunkcja endotelium definiowana jako częściowa lub całkowita utrata zdolności do utrzymania homeostazy naczyniowej, jest zjawiskiem występującym w przebiegu otyłości i chorób jej towarzyszących. Charakteryzują ją stres oksydacyjny, zmniejszona biodostępność tlenku azotu — NO (będącego głównym wazodylatatorem), podwyższona ekspresja czynników prozapalnych i prozakrzepowych oraz nieprawidłowa reakcja naczyń na czynniki wazoaktywne [Deaneld, Halcox i Rabelink, 2007]. Wyniki wielu badań wskazują, iż pośród dużej liczby patologii obserwowanych u pacjentów otyłych takich jak: zwiększona aktywność układu RAA (renina angiotensyna aldosteron), zaburzenia gospodarki cholesterolu LDL oraz zwiększone osoczowe stężenie wolnych kwasów tłuszczowych, kluczową rolę w rozwoju tej dysfunkcji odgrywają insulinooporność i towarzyszący otyłości chroniczny stan zapalny [Singhal 2005; Prieto, Contreras i Sanchez, 2014].

Insulina jest hormonem o działaniu ogólnoustrojowym, który poza zasadniczą rolą w metabolizmie węglowodanów, jest też substancją mającą istotne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania naczyń krwionośnych. Cząsteczka ta stymuluje uwalnianie tlenku azotu (NO), prowadząc do ich rozszerzenia i zwiększenia przepływu krwi a także reguluje uwalnianie białka o działaniu wazokonstrykcyjnym jakim jest endotelina (ET-1).

Czynniki takie jak otyłość trzewna, brak aktywności fizycznej oraz czynniki genetyczne, przyczyniają się do rozwoju insulinooporności. Jak wykazały badania, insulinooporność rozwijająca się w przebiegu otyłości przyczynia się do szeregu zmian metabolicznych i sercowo-naczyniowych, które sprzyjają rozwojowi nadciśnienia tętniczego. Według Razani i wsp. wrażliwość na insulinę jest odwrotnie proporcjonalna do ryzyka rozwoju miażdżycy a badania Petrie i wsp. wykazały ścisłą korelację pomiędzy wrażliwością na insulinę a produkcją śródbłonkowego NO [Petrie i wsp. 1996; Razani, Chakravarthy i Semenkovich, 2008].

W otyłości obserwuje się także spadek osoczowego stężenia adiponektyny, która poza swoją rolą w metabolizmie glukozy zwiększa także wrażliwość na insulinę, stymuluje wytwarzanie NO oraz hamuje ekspresję cząsteczek adhezyjnych w komórkach śródbłonka naczyniowego [Lihn, Pedersen i Richelsen 2005; Kadowaki, 2006].

Towarzyszący otyłości przewlekły, podostry stan zapalny, objawiający się wysokim stężeniem markerów takich jak: TNF- $\alpha$ , leptyna i IL-6, wpływa również na dysfunkcję naczyń. Badania Nieto-Vazquez i wsp. ujawniły, że prozapalna cytokina TNF- $\alpha$  wydzielana przez tkankę tłuszczową nie tylko pośredniczy w odpowiedzi immunologicznej jako wielofunkcyjny regulator zapalenia ale także odgrywa rolę w rozwoju oporności na insulinę [Nieto-Vazquez i wsp. 2008]. Wykazano również, że TNF- $\alpha$  poprzez zwiększanie stresu oksydacyjnego oraz zmniejszanie uwalniania NO przyczynia się do upośledzenia mechanizmu wazodylatacji. Badania mówiące o znacznym zwiększeniu stężenia krążącej TNF- $\alpha$  u osób otyłych potwierdzają negatywny wpływ nadmiaru tkanki tłuszczowej na funkcjonowanie endotelium [Winkler i wsp. 1999; Lehmann AP, Nijakowski K, Swora-Cwynar E. i wsp. 2020].

Leptyna to białko wykazujące wieloukładową aktywność, którego rolą jest regulacja gospodarki energetycznej, termogenezy, hematopoezy oraz wpływ na funkcję trzustkowych komórek  $\beta$ . Cząsteczka ta produkowana głównie w WAT działa również na receptory komórek śródbłonka i mięśni gładkich naczyń, wpływając na ich napięcie oraz sprzyjając ich proliferacji. Wykazano, że długotrzymujące się wysokie stężenia tej adipokiny powodują spadek ilości biodostępnego NO, upośledzając zależną od śródbłonka

wazodylatację [Korda i wsp.2008]. Schinzari i wsp. dowiedli ponadto, że wysokie stężenia leptyny korelują z niekorzystnymi wynikami sercowo-naczyniowymi u pacjentów otyłych [Schinzari i wsp. 2013]. Do podobnych wniosków doszli także Soderberg i wsp. stwierdzając, że hiperleptynemia jest niezależnym czynnikiem ryzyka choroby wieńcowej i ostrego zawału mięśnia sercowego [Soderberg i wsp. 1999].

IL-6 jest cytokiną prozapalną, która stymuluje wytwarzanie białek ostrej fazy, w tym CRP. Cząsteczka ta przyczynia się do aktywacji zapalnej śródbłonna poprzez zwiększenie ekspresji molekuł adhezyjnych ICAM-1, VCAM-1 oraz E-selektyny na jego powierzchni. Za produkcję IL-6 odpowiedzialne jest wiele typów komórek takich jak komórki limfoidalne, komórki śródbłonna, fibroblasty, komórki mięśni szkieletowych oraz adipocyty, przy czym około 30% całkowitej produkcji inicjowane jest właśnie w tkance tłuszczowej. Wraz ze wzrostem ilości tej tkanki wzrasta też produkcja IL-6 a jak dowiodły badania, stężenie krążącej IL-6 jest silnie skorelowane z opornością na insulinę [Kim, Bachmann i Chen, 2009]. Udowodniono także, że IL-6 jest ściśle związana z patogenezą miażdżycy. Dowodem potwierdzającym tę tezę są wyniki badań wykazujące wzrost rozmiaru zmiany miażdżycowej wraz ze wzrostem stężenia IL-6 oraz korelację stężenie tej cytokiny z z niekorzystnym rokowaniem u pacjentów cierpiących na chorobę wieńcową [Huber i wsp. 1999; Ridker i wsp. 2000].

Otyłość a zwłaszcza nadmiar tkanki tłuszczowej trzewnej są niezależnymi czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych oraz zespołu metabolicznego. Rola jaką śródbłonek naczyniowy odgrywa w patomechizmie tych schorzeń nie jest do końca poznana, jednakże przytoczone wcześniej wyniki wskazują, iż krytyczna w tym kontekście jest indukowana otyłością insulinooporność, przewlekły stan zapalny oraz spadek dostępności tlenu azotu. Zdaniem autorów dokładne poznanie tych zależności może być niezbędne do wdrożenia skutecznego leczenia. Obecnie materiałem diagnostycznym wykorzystywanym do oceny tej zależności jest najczęściej krew żylna co z jednej strony pozwala uzyskać dokładne i powtarzalne rezultaty, z drugiej zaś ze względu na inwazyjność badania stanowi dość duże ograniczenie. Użycie do tego celu śliny spoczynkowej może okazać się rozwiązaniem przełomowym, zwielokrotniającym zakres oraz częstość badań przesiewowych.

## **1.6. Wpływ otyłości na środowisko jamy ustnej**

W obecnych czasach nadwaga i otyłość stanowią jedne z głównych wyzwań dla lekarzy ogólnych, epidemiologów i dietetyków. Dla lekarzy-dentystów takim problemem

jest właśnie próchnica. Jest to choroba zakaźna o wieloczynnikowej etiologii, dotykająca ludzi na całym świecie, niezależnie od płci i wieku. Występowaniu próchnicy sprzyja wysoka podaż węglowodanów oraz niska świadomość prozdrowotna przejawiająca się w postaci niedostatecznej higieny. Nie trudno zauważyć podobieństwo przyczyn próchnicy i otyłości dlatego już w latach osiemdziesiątych ubiegłego wieku zaczęto badać zależności i pomiędzy tymi chorobami [Kantovitz i wsp. 2006]. Z przeglądu najnowszego piśmiennictwa wynika, iż większość badaczy wskazuje na zwiększone ryzyko wystąpienia próchnicy u otyłych w porównaniu z osobami o prawidłowej masie ciała [Shivakumar, Srivastava i Shivakumar 2018; Manohar i wsp. 2019]. W meta analizie opublikowanej przez Manohar i wsp. potwierdziło to sześć na dziewięć analizowanych badań. Problem ten dotyczy zarówno dzieci jak i osób dorosłych [Elger i wsp. 2019]. Warto także podkreślić, że w przypadku obu chorób nawyki wykształcone w dzieciństwie mają swoje konsekwencje w życiu dorosłym. Wykazano bowiem wyższe ryzyko rozwoju próchnicy zębów stałych u osób z wysokim wskaźnikiem PUW zębów mlecznych [Li i Wang, 2002]. Udowodniono także, że nadwaga i otyłość u dzieci zwiększa ryzyko wystąpienia otyłości oraz wszystkich powikłań związanych z tą chorobą w życiu dorosłym [Parsons i wsp. 1999].

Poza zwiększoną ilością przyjmowanych cukrów i nieprzestrzeganiem higieny, przyczyną zwiększonego ryzyka próchnicy mogą być również zmiany ilościowe oraz jakościowe wydzielanej śliny. Jak wynika z badań Pannunzio i wsp. w przebiegu otyłość dochodzi do spadku ilości wydzielanej śliny oraz obniżenia aktywności peroksydazy [Pannunzio i wsp. 2010; Choromańska i wsp. 2015].

Wielu autorów wskazuje także na związek otyłości z chorobami przyzębia [Lehmann-Kalata, Surdacka, Ciężka-Hsiao, 2013]. Jak wykazały badania Chaffee i wsp. w przebiegu otyłości dochodzi do wzrostu produkcji cytokin prozapalnych ((IL-1, IL-6, IL-8 and TNF-a), adipokin (leptyna, adiponektyna, rezystyna) oraz innych substancji przyczyniających się do rozwoju przewlekłego podostrego stanu zapalnego organizmu, obserwowanego także w tkankach przyzębia [Chaffee i Weston, 2010]. Inni natomiast opierając się na modelu znanej już zależności cukrzycy i choroby przyzębia, dopatrują się przyczyn pogorszenia stanu periodontium w indukowanej otyłością insulinooporności [Genco, 2005; Saito i wsp. 2005].

Kolejną z możliwych przyczyn takiego stanu jest osłabiona reakcja układu odpornościowego spowodowana nadmiarem adipokin produkowanych przez tkankę tłuszczową. Odzwierciedlają to wyniki badań wykazujące wyższe (do 6 razy) miano periopatogenów w płynie dziąsłowym otyłych w porównaniu do osób o prawidłowej masie

ciała [Zeigler i wsp. 2011]. Tezę tę potwierdzają badania Maciel i wsp. którzy w nieco odmienny sposób doszli do podobnych wniosków. Porównali bowiem dwie grupy pacjentów chorujących na przewlekłe zapalenie przyzębie ChP (ang. chronic periodontitis). W próbkach poddziąsłowej płytki bateryjnej pacjentów otyłych z ChP stwierdzili więcej chorobotwórczych drobnoustrojów niż u pacjentów z ChP o prawidłowej masie ciała [Maciel i wsp. 2016].

W opozycji do wcześniej cytowanych, stoją natomiast naukowcy wykazujący brak różnicy w kontekście ryzyka próchnicy, przebiegu periodontitis czy ilości wydzielanej śliny stymulowanej pomiędzy otyłymi a osobami o prawidłowej masie ciała. de Jong-Lenters i wsp. w swoim badaniu wykazali niemal równy odsetek pacjentów z aktywną próchnicą w grupie dzieci otyłych oraz normowagowych (de Jong-Lenters i wsp. 2015]. Podobne wyniki w przypadku dorosłych otrzymali Ehizele i Sede w badaniu przeprowadzonym na 156 pacjentach Uniwersytetu w Beninie [Sede M A i Ehizele, 2014]. Badacze ci wykazali ponadto brak korelacji pomiędzy otyłością a zapaleniem przyzębia co jest zgodny z wynikami otrzymanymi przez Konopkę i wsp. [Konopka i wsp. 2011]. Brak wpływu otyłości na jakość oraz ilość wydzielanej śliny wykazali w 2004 roku Fenoll-Palomares i wsp. [Fenoll-Palomares i wsp. 2004].

W całościowym spojrzeniu na najnowsze piśmiennictwo widać jednak że głosy sceptyków są mniej liczne w porównaniu do naukowców potwierdzających niekorzystny wpływ otyłości na środowisko jamy ustnej [Chaffee i Weston S, 2010; Moura-Grec i wsp. 2014; Nascimento i wsp. 2016; Suvan i wsp. 2011].

Mimo to nadal nie odkryto dokładnych mechanizmów tej relacji a zdecydowana większość badaczy zgodnie wskazywała na konieczność dalszych badań w tym kierunku.

## 2. Cele pracy

Otyłość jest chorobą mającą negatywny wpływ na funkcjonowanie całego organizmu. Nadmiar tkanki tłuszczowej znacząco zwiększa ryzyko zapadalności na schorzenia sercowo-naczyniowe, cukrzycę typu II oraz choroby nowotworowe. Coraz częściej podkreśla się także znaczenie otyłości w patogenezie schorzeń jamy ustnej. Biorąc pod uwagę ilość możliwych powikłań tej choroby, niezwykle istotne wydaje się opracowanie szybkich i nieinwazyjnych metod diagnostycznych.

Celem pracy była ocena wpływu otyłości na stan jamy ustnej oraz na funkcjonowanie układu naczyniowego na podstawie wybranych markerów śródbłonna naczyniowego.

Analizowano następujące szczegółowe problemy:

- Stężenie wybranych markerów funkcji śródbłonna w ślinie, uwzględniając wartości BMI.
- Wybrane stomatologiczne parametry kliniczne (zachorowalność na próchnicę zębów, stan higieny jamy ustnej i przyzębia), uwzględniając wartości BMI.
- Ilość wydzielanej śliny spoczynkowej u pacjentów, uwzględniając wartości BMI.



### 3. Materiał i metodyka

Realizację projektu rozpoczęto na początku 2016 roku po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu zgodnie z uchwałą nr 961/15 z dnia 16.01.2016 roku. Pierwszy etap badań zakładał przeprowadzenie badania klinicznego jamy ustnej oraz pobranie próbki śliny od wszystkich zakwalifikowanych pacjentów. W kolejnym etapie zebrany materiał biologiczny w formie zbiorczej poddawano szczegółowej analizie biochemicznej.

Udział w badaniu wzięło 107 pacjentów, obojga płci w wieku od 20 do 60 lat. Badania były prowadzone jednocześnie wśród pacjentów zgłaszających się do Kliniki Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji oraz pacjentów Kliniki Chorób Wewnętrznych, Metabolicznych i Dietetyki Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, hospitalizowanych z powodu otyłości. U wszystkich pacjentów wykonano pomiary antropometryczne a na ich podstawie obliczono wskaźnik masy ciała BMI (ang. Body Mass Index). W oparciu o wartości wskaźnika BMI pacjenci zostali podzieleni na trzy grupy. W skład grupy pierwszej, kontrolnej weszło 39 osób o prawidłowej masie ciała — BMI < 24,9 (średnia wieku  $30,1 \pm 5,4$ ). W grupie drugiej znalazły się 33 osoby z nadwagą i otyłością I stopnia — BMI 25–34,9 (średnia wieku —  $33,9 \pm 6,7$ ). Grupę trzecią stanowiło 35 pacjentów, u których stwierdzono otyłość II i III stopnia — BMI > 35 (średnia wieku —  $34,1 \pm 10,1$ ).

Z badania wykluczeni zostali pacjenci: biorący udział w innym badaniu klinicznym, chorzy na cukrzycę, uzależnieni od alkoholu, palący tytoń, cierpiący z powodu choroby nowotworowej, pacjentki w ciąży oraz stosujące antykoncepcję hormonalną, pacjenci wykazujący zmianę wagi  $\pm 3$  kg w ciągu ostatnich 3 miesięcy oraz pacjenci z historią chirurgicznego leczenia otyłości.

Wszyscy pacjenci otrzymali szczegółowe informacje celach i przebiegu badań oraz wyrazili na nie pisemną zgodę.

Aby zminimalizować niedogodności związane z badaniem, czynności wymagające obecności pacjenta wykonywano w trakcie jednego spotkania. Wizyta rozpoczynała się (krótkim wywiadem) krótkim badaniem ankietowym, mającym na celu ustalenie nawyków higienicznych oraz częstotliwość wizyt u stomatologa. Pytania dotyczyły także występowa-

nia współistniejących chorób ogólnych, nałogów oraz wykonywanego zawodu. Następnie po zebraniu wywiadu od każdego z pacjentów pobierano próbkę śliny spoczynkowej.

Ślina zbierana była przynajmniej 2 godziny po posiłku i zawsze o tej samej porze dnia, między godziną 10:00 a 12:00, tak aby zminimalizować dobowe wahania jej składu i objętości. Pacjenci zostali poinstruowani aby co najmniej godzinę przed rozpoczęciem wizyty powstrzymali się, mycia zębów oraz palenia tytoniu. Zbiórki dokonywano metodą swobodnego wypływu śliny niestymulowanej z ust, w której pacjent przyjmuje wygodną pozycję siedzącą z głową pochyloną do przodu tak aby ślina mogła swobodnie spływać do kalibrowanej próbki umieszczonej w lodzie. Materiał pobierano przez 20 minut po czym w izotermicznych warunkach transportowano do Zakładu Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu gdzie odwirowywano próbki (12000 x g/15 minut/4°C), dzielono na porcje i zamrażano w temperaturze -80°C do czasu badania.

Ostatnim etapem wizyty było przeprowadzenie dokładnego badania stomatologicznego, w którym oceniano stan uzębienia i przyzębia oraz higienę jamy ustnej.

Pacjentów badano w oświetleniu sztucznym z wykorzystaniem jednorazowych zestawów diagnostycznych. Zestaw składał się z lusterka, pęsety oraz uniwersalnego zgłębnika stomatologicznego a w celu oceny stanu przyzębia został uzupełniony o sondę periodontologiczną WHO-621. Sonda WHO zbudowana jest z rękojeści oraz części pomiarowej skalowanej do 11,5 mm, posiada ona odcinkową kalibrację w odstępach 3 — 2 — 3 — 3 mm, a na jej końcu znajduje się 0,5 mm kulka.

Zarówno badanie podmiotowe jak i przedmiotowe dokumentowane było w karcie badania opracowanej specjalnie na potrzeby realizacji niniejszego projektu badawczego. Karta ta składała się z trzech segmentów. Pierwszy zawierał dane personalne oraz wyniki badania antropometrycznego. Część druga przeznaczona była na badanie podmiotowe obejmujące wywiad ogólnolekarski oraz stomatologiczny. W segmencie trzecim znajdowały się diagramy zębowe oraz tabele wykorzystywane w badaniu stomatologicznym.

### **3.1. Kliniczne badanie jamy ustnej**

Badanie stomatologiczne jamy ustnej przeprowadzono zgodnie z harmonogramem ustalonym w karcie badania.

Do oceny zachorowalności na próchnicę wykorzystano liczbę PUW-z, będącą podstawowym i dobrze znanym wskaźnikiem w epidemiologii chorób jamy ustnej. Wartość

ta będąca sumą zębów dotkniętych próchnicą pozwala ocenić dotychczasowy przebieg choroby oraz jej intensywność. Składowa P — oznacza liczbę zębów z jednym lub kilkoma ogniskami próchnicy pierwotnej i (lub) wtórnej oraz zęby z czasowym opatrunkiem. U - oznacza liczbę zębów utraconych lub usuniętych z powodu próchnicy, natomiast W - to suma zębów posiadających jedno lub więcej wypełnień lub zaopatrzonych koroną protetyczną z powodu próchnicy. W literaturze anglojęzycznej liczbie PUW-z odpowiada wskaźnik DMF (ang. decayed — z próchnicą, missing — usunięte i filled -wypełnione) zastosowany po raz pierwszy przez Bödeckera już w 1931 r. [Bödecker i wsp., 1931].

Do oceny higieny jamy ustnej posłużyły wskaźnik płytki nazębnej wg Silness i Løe (1964 r.) PI — (ang. Plaque Index) oraz wskaźnik płytki nazębnej w przestrzeniach międzyzębowych API — (ang. Approximal Plaque Index) zaproponowany po raz pierwszy przez Langego w 1977 r. [Silness i Loe, 1964; Løe, 1967; Lange i wsp. 1977].

Wskaźnik PI służy do oceny grubości płytki bakteryjnej w okolicy brzegu dziąsłowego. Badanie nie wymaga zastosowania substancji wybarwiających, przed przystąpieniem do czynności należy jedynie lekko osuszyć powierzchnię zębów. Posługując się sondą oraz lusterkiem dokonuje się analizy na czterech powierzchniach zęba: policzkowej lub wargowej, językowej i dwóch powierzchniach stycznych: bliższej i dalszej.

Stan higieny jamy ustnej zbadano przy 6 zębach, wybierając po jednym zębie siecznym, przedtrzonowym i trzonowym w żuchwie oraz szczęce. W przypadku pacjentów posiadających pełne łuki zębowe oceny dokonywano przy tzw. „zębach Ramfjorda” 16, 12, 24, 36, 32 i 44 [Ramfjord, 1959].

Kryteria Oceny:

- 0 — brak płytki bakteryjnej,
- 1 — cienka warstwa płytki przylegająca do brzegu dziąsłowego i szyjki zęba stwierdzona zgłębnikiem ale niewidoczna gołym okiem,
- 2 — umiarkowane nagromadzenie płytki na brzegu dziąsła i/lub na powierzchni zęba oraz w kieszonce widoczne już gołym okiem,
- 3 — obfite nagromadzenie płytki w kieszonce i/lub na brzegu dziąsła i powierzchni zęba.

Wartości uzyskane za wszystkich powierzchni zęba zsumowano i podzielono przez 4, otrzymując średnią wartość dla każdego zęba. W celu obliczenia wartości wskaźnika PI dla całej jamy ustnej, zsumowano wartości przy poszczególnych zębach i podzielono przez liczbę zębów badanych. Wartość wskaźnika PI w granicach 0–0,6 świadczyły o dobrej higienie, 0,7–1,8 o przeciętnej a 1,9–3,0 o złej higienie jamy ustnej.

Badając wskaźnik API według Langego, za pomocą zgłębnika oceniano obecność płytki bakteryjnej na powierzchniach aproksymalnych wszystkich zębów. W kwadrancie I i III badano obecność biofilmu na powierzchniach stycznych od strony jamy ustnej właściwej, zaś w kwadrancie II i IV od strony przedsionkowej. Podstawą oceny było występowanie płytki oznaczane jako (+) lub jej brak zapisywany znakiem (-). W przypadku braku jednego zęba, oceny dokonywano na powierzchni bliższej i dalszej zębów sąsiadujących z luką, zatem liczba badanych miejsc nie ulegała zmianie. Natomiast w przypadku braku dwóch lub trzech sąsiadujących ze sobą zębów ilość ta zmniejszała się kolejno o jedno lub dwa miejsca. Wartość wskaźnika API jest sumą przestrzeni międzyzębowych, w których stwierdzono obecność płytki pomnożoną przez 100 i podzieloną przez liczbę miejsc badanych [Lange i wsp., 1977].

Wyniki badania zinterpretowano w następujący sposób:

- API 100–70%: zła higiena jamy ustnej;
- API 69–40%: higiena przeciętna, konieczna poprawa;
- API 39–25%: higiena w miarę dobra;
- API < 25%: higiena optymalna.

Stan przyzębia u pacjentów oceniano według wskaźnika dziąsłowego GI (ang. Gingival Index) wg Silness i Løe oraz wskaźnika krwawienia ze szczeliny dziąsłowej GBI (ang. Gingival Bleeding Index) wg Ainamo i Bay [Løe i Silness, 1963; Ainamo i Bay, 1975].

Dokonano również pomiaru klinicznej utraty przyczepu łącznotkankowego CAL (ang. Clinical Attachment Loss) oraz głębokości szczeliny/kieszonki dziąsłowej i/lub przyzębnej PD (ang. Probing Depth).

Głębokość sondowania oraz pomiar klinicznej utraty przyczepu łącznotkankowego oceniano w 6 punktach (mezjalnym policzkowym, policzkowym, dystalnym policzkowym, dystalnym, językowym, językowym, mezjalnym językowym) dookoła każdego zęba za pomocą sondy periodontologicznej WHO 621. Badanie polegało na wprowadzeniu sondy do szczeliny/kieszonki, równolegle do długiej osi zęba aż do momentu, gdy sonda zostanie zastopowana. Siła nacisku podczas sondowania wynosiła około 0,2–0,25 Newtona. Odczytu dokonywano na wyskalowanej części pracującej sondy przy czym PD mierzono od „dna” szczeliny/kieszonki do krawędzi dziąsła natomiast CAL do granicy szkliwno-cementowej.

Wskaźnik GI analogicznie do wskaźnika PI zbadano przy 6 zębach, wybierając po jednym zębie siecznym, przedtrzonowym i trzonowym w żuchwie oraz szczęce („zęby Ramfjorda” 16, 12, 24, 36, 32 i 44). Pomiarów dokonywano przy czterech powierzchniach każdego zęba: przedsionkowej, językowej, mezjalnej i dystalnej, oceniając stan

dziąsła pod kątem zabarwienia, obrzęku i skłonności do krwawienia. Stosując wskaźnik GI można podzielić stan zapalny dziąseł na trzy stopnie:

- 0 — brak objawów zapalenia, brak patologicznej zmiany zabarwienia dziąsła,
- 1 — łagodne zapalenie z niewielką zmianą zabarwienia dziąsła, brak krwawienia,
- 2 — umiarkowane zapalenie z zaczerwienieniem, obrzękiem i krwawieniem podczas sondowania,
- 3 — ciężkie zapalenie wyrażające się zaczerwienieniem, obrzękiem i skłonnością do samoistnego krwawienia, a także występowaniem owrzodzeń dziąseł.

Wartości uzyskane za wszystkich powierzchni zęba zsumowano i podzielono przez 4, otrzymując średnią wartość dla każdego zęba. W celu obliczenia wartości wskaźnika GI dla całej jamy ustnej, zsumowano wartości przy poszczególnych zębach i podzielono przez liczbę zębów badanych.

Wartość wskaźnika GI dla całej jamy ustnej w granicach 0,1–1 świadczyły o łagodnym zapaleniu dziąseł, 1,1–2 o umiarkowanym a 2,1–3 o ciężkim zapaleniu dziąseł.

Stan dziąseł oceniano również na podstawie wskaźnika krwawienia ze szczeliny dziąsłowej GBI. Wskaźnik ten podobnie do wskaźnika API pozwala na ocenę procentową ponieważ pod uwagę bierze się jedynie występowanie lub brak krwawienia, oznaczając odpowiednio „+” lub „-”. Badania dokonano w sześciu miejscach dookoła każdego zęba, obserwując krwawienie lub jego brak 10–30 sekund po ocenie PD/CAL. Wskaźnik GBI dla całej jamy ustnej obliczono według wzoru:

$$\text{GBI} = \text{Suma miejsc krwawiących} \times 100\% / \text{Suma wszystkich badanych miejsc}$$

Stan dziąseł oceniano według podanych poniżej zakresów wartości wskaźnika:

- GBI 100–50%: ciężkie uogólnione zapalenie dziąseł,
- GBI 50–20%: umiarkowane zapalenie dziąseł wymagające intensywnego leczenia,
- GBI 20–10%: łagodne zapalenie dziąseł, stan wymagający poprawy,
- GBI < 10%: dziąsła klinicznie zdrowe.

### 3.2. Badania biochemiczne śliny

Badania biochemiczne śliny przeprowadzono w Zakładzie Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Za pomocą testów immunoenzymatycznych ELISA (ang. En-

zyme-Linked Immunosorbent Assay) oceniano stężenie wybranych markerów funkcji śródbłonna naczyniowego: PAI-1, sICAM-1, sVCAM-1, TM, E-selektyna i VEGF. Próbki poddano analizie wykorzystując zestawy DuoSet® ELISA Development Systems firmy R&D Systems(USA) zgodnie z protokołami wytwórcy.

Procedura testu immunoenzymatycznego polegała na pokryciu 96-dołkowej płytki Nunc-Immuno™, Microwell™, Sigma Aldrich (USA) przeciwciałem wychwytyjącym oraz pozostawieniu w temperaturze pokojowej przez okres 24 h. Kolejnym etapem było trzykrotne płukanie płytki fosforanowym buforem płuczącym oraz zablokowanie płytki 10% niebiałkowym buforem blokującym Roti®-Block firmy Carl-Roth (Niemcy). Tak przygotowane płytki po dwóch godzinach ponownie przepłukano, a następnie wypełniono roztworami standardowymi i próbkami badanymi oraz poddano 24 godzinnej inkubacji w temperaturze 4°C. Po upływie doby na wypłukaną płytkę podawano przeciwciało wychwytyjące łączące się z kompleksem antygen-przeciwciało monoklonalne. Kolejne dwa etapy poprzedzone płukaniem to dodanie roztworu streptawidyny skoniugowanej z peroksydazą chrzanową (HRP — ang. Horseradish Peroxidase) oraz roztworu nadtlenu wodoru. Do wywołania barwnego produktu, płytki inkubowano bez dostępu światła a następnie reakcję blokowano przez dodanie 2N kwasu siarkowego (2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Absorbancję płytek odczytano przy dwóch długościach fali: 450 nm i 540 nm wykorzystując czytnik VersaMax™ ELISA Microplate Reader firmy Molecular Devices (USA). Stężenie oznaczanego markera wyznaczano z krzywej wzorcowej. Czułość metod oraz współczynnik zmienności (CV ang. Coefficient of variation) uzyskanych wyników przedstawiono w tabeli 4.

**Tabela 4.** Czułość testu ELISA oraz wartość współczynnika zmienności CV (ang. Coefficient of Variation) wyrażona w procentach

Marker	% CV	Czułość
E-selektyna	10,9	39,05 pg/ml
PAI-1	9,4	0,14 ng/ml
sICAM-1	11,1	17,51 pg/ml
sVCAM-1	8,2	10,76 pg/ml
TM	9,1	28,53 pg/ml
VEGF	13,7	12,18 pg/ml

### 3.3. Zastosowane metody statystyczne

Dla opracowania danych zastosowano metody opisowe i metody wnioskowania statystycznego. W opisie badanych grup, dla zmiennej jakościowej, płeć, obliczono wskaźniki struktury, a dla cech mierzalnych obliczono średnią arytmetyczną ( $\bar{x}$ ) i medianę (Me) jako miary przeciętne oraz miarę rozrzutu — odchylenie standardowe (SD).

Przed dokonaniem porównania średnich w badanych podgrupach, wyodrębnionych w zależności od wskaźnika BMI, sprawdzano zgodność rozkładów analizowanych zmiennych mierzalnych z rozkładem normalnym przy pomocy testu Shapiro-Wilka.

Ponieważ rozkłady wielu analizowanych w badaniu cech, odbiegały istotnie od rozkładu normalnego, do porównania średnich wartości tych zmiennych nie stosowano testów parametrycznych lecz posłużono się testami nieparametrycznymi. W przypadku porównań kilku grup niezależnych (3 grupy), zastosowano test ANOVA Kruskala-Wallisa, nieparametryczny odpowiednik analizy wariancji dla klasyfikacji pojedynczej. W przypadku istotnych statystycznie różnic, jako test post hoc, zastosowano test wielokrotnych porównań parami Dunnetta.

Do badania zależności pomiędzy zmiennymi zastosowano współczynnik korelacji rang, a jego istotność oceniano testem t-Studenta.

Za istotne statystycznie uznano te różnice pomiędzy średnimi (lub częstościami) oraz te zależności pomiędzy zmiennymi, dla których obliczona wartość testu była równa lub większa od wartości krytycznej odczytanej z odpowiednich tablic, przy właściwej liczbie stopni swobody i prawdopodobieństwie błędu  $p \leq 0,05$ .

## 4. Wyniki

### 4.1. Struktura demograficzna grupy pacjentów

W badaniach wzięło udział 107 osób, 68 kobiet i 39 mężczyzn w wieku od 20 do 60 lat. Na podstawie wskaźnika BMI pacjenci zostali podzieleni na trzy grupy. W tabeli 5 przedstawiono dane odnośnie wieku badanych w poszczególnych grupach.

Pacjenci z trzech wyodrębnionych grup nie różnili się istotnie pod względem wieku ( $p > 0,05$ ) (tabela 5).

**Tabela 5.** Porównanie wieku pacjentów z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35)

Grupa	Obliczone parametry wieku (lata)					
	min	max	x	Me	SD	v (%)
I (BMI < 24,9)	23	41	30,1	30	5,4	18,0
II (BMI 25–34,9)	20	48	33,9	36	6,7	19,6
III (BMI > 35)	20	60	34,1	33	10,1	29,5
Porównanie	p = 0,054					

W tabeli 6. przedstawiono porównanie płci pacjentów w poszczególnych grupach.

**Tabela 6.** Porównanie płci pacjentów z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35)

Płeć	Grupa						Razem
	I (BMI < 24,9)		II (BMI 25–34,9)		III (BMI > 35)		
	n	%	n	%	n	%	
Mężczyźni	19	48,7	15	45,5	5	14,3	39
Kobiety	20	51,3	18	54,5	30	85,7	68
Razem	39	100,0	33	100,0	35	100,0	107
I vs III — p = 0,007 II vs III — p = 0,02							



W grupie 107 badanych przeważały kobiety, stanowiły 63,6%. Porównanie analizowanych grup pod względem płci wykazało istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,01$ ). Okazało się, że w grupie I i II mężczyźni stanowili nieco mniej niż połowę badanych. Odpowiednie odsetki wynoszą 45,5% i 48,7%. Natomiast w grupie III zdecydowanie przeważały kobiety, stanowiły aż 85,7% (tabela 6). W grupie III wykazano prawie cztery razy mniej mężczyzn oraz o 1/3 więcej kobiet niż w grupie kontrolnej. Porównując grupy badane wykazano prawie trzy razy mniej mężczyzn z otyłością niż z nadwagą.

## 4.2. Dane antropometryczne

Ze względu na to, że masa ciała, wzrost i WHR kształtują się inaczej u osób płci męskiej i żeńskiej, oceny tych zmiennych w porównywanych grupach dokonano oddzielnie dla kobiet i mężczyzn. Wyniki porównania przedstawiono w tabeli 7.

**Tabela 7.** Porównanie danych antropometrycznych kobiet i mężczyzn z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35)

Grupa	Mężczyźni			Kobiety		
	Obliczone parametry			Obliczone parametry		
	x	Me	SD	x	Me	SD
<b>Masa ciała</b>						
I (BMI < 24,9)	77,4	77,0	9,0	63,6	52,0	8,9
II (BMI 25–34,9)	99,6	100,0	13,4	85,1	83,8	6,8
III (BMI > 35)	118,5	115,2	23,0	114,5	112,2	17,4
Porównanie	I z II: <b>p = 0,0002</b> I z III: <b>p = 0,0003</b>			II z III: <b>p = 0,0002</b> I z II: <b>p = 0,015</b> I z III: <b>p = 0,0000</b>		
<b>Wzrost (m)</b>						
I (BMI < 24,9)	1,84	1,83	0,06	1,69	1,70	0,07
II (BMI 25–34,9)	1,82	1,81	0,05	1,65	1,64	0,06
III (BMI > 35)	1,72	1,68	0,08	1,65	1,65	0,06
Porównanie	I z III: <b>p = 0,022</b>			p = 0,114		
<b>WHR</b>						
I (BMI < 24,9)	0,88	0,87	0,04	0,78	0,77	0,05
II (BMI 25–34,9)	0,96	0,94	0,07	0,85	0,86	0,07
III (BMI > 35)	0,99	1,00	0,05	0,88	0,89	0,07
Porównanie	I z II: <b>p = 0,001</b> I z III: <b>p = 0,002</b>			I z III: <b>p = 0,010</b> I z III: <b>p = 0,0000</b>		

Wśród mężczyzn stwierdzono istotną statystycznie różnicę masy ciała we wszystkich grupach ( $p < 0,001$ ). Największą masę ciała miały osoby z grupy III (otyłość II i III stopnia), następnie badani z grupy II, a osoby z prawidłową masą ciała charakteryzowały się najmniejszą średnią masą ciała. Porównanie średnich z poszczególnych grup parami wykazało istotną statystycznie różnicę pomiędzy masą ciała osób z grupy I i II ( $p < 0,001$ ) oraz pomiędzy grupą I i III ( $p < 0,001$ ). Nie stwierdzono natomiast istotnej statystycznie różnicy w tym względzie pomiędzy grupą II i III ( $p > 0,05$ ), choć różnica masy ciała była pomiędzy tymi grupami była znaczna.

Wśród kobiet także stwierdzono istotną statystycznie różnicę masy ciała we wszystkich grupach ( $p < 0,001$ ). Największą masę ciała miały osoby z grupy III (otyłość II i III stopnia), następnie badane z grupy II, a najmniejszą średnią masę ciała miały kobiety z prawidłową masą ciała. Porównanie średnich z poszczególnych grup parami wykazało istotne statystycznie różnice pomiędzy każdą z trzech par. I tak obserwowano istotną statystycznie różnicę pomiędzy średnimi masy ciała osób z grupy II i III ( $p < 0,001$ ), pomiędzy grupą I i II ( $p < 0,05$ ) oraz pomiędzy grupą I i III ( $p < 0,001$ ). Jak widać, różnice średniej masy ciała pomiędzy analizowanymi grupami były bardzo duże.

Analiza wzrostu mężczyzn z grup I, II i III wykazała istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,05$ ). Okazało się, że największa średnia wzrostu mężczyzn była w grupie I i była istotnie większa niż w grupie III ( $p < 0,05$ ). Natomiast nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy wzrostu mężczyzn pomiędzy grupami I i II a także pomiędzy grupą II i III ( $p > 0,05$ ).

Porównanie wzrostu kobiet z trzech analizowanych grup nie wykazało istotnej statystycznie różnicy ( $p > 0,05$ ). Okazało się, że w grupach I, II i III średnie wzrostu kobiet były bardzo zbliżone.

W grupie mężczyzn stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy badanymi z grup: I, II i III w zakresie zmiennej WHR ( $p < 0,001$ ). Największy wskaźnik WHR odnotowano u mężczyzn z grupy III, następnie w grupie II, a najmniejszy w grupie osób z prawidłową masą ciała. Porównanie grup parami wskazało na istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupą I i II ( $p = 0,001$ ) oraz pomiędzy grupą I i III ( $p < 0,01$ ). Natomiast nie okazała się istotna różnica pomiędzy grupą II i III ( $p > 0,05$ ).

Także w grupie kobiet wystąpiła istotna statystycznie różnica pomiędzy badanymi z grup: I, II i III w zakresie zmiennej WHR ( $p < 0,001$ ). Podobnie jak u mężczyzn największy wskaźnik WHR odnotowano u kobiet z grupy III, następnie w grupie II, a najmniejszy w grupie osób płci żeńskiej mających prawidłową masę ciała. Porównanie grup

parami wskazało analogicznie na istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupą I i II ( $p < 0,001$ ) oraz pomiędzy grupą I i III ( $p < 0,01$ ). Również podobnie jak u mężczyzn, nie okazała się istotna różnica pomiędzy grupą II i III ( $p > 0,05$ ).

### 4.3. Wyniki badań klinicznych

Wyniki stomatologicznych badań klinicznych przedstawiono w tabeli 8.

**Tabela 8.** Porównanie stomatologicznych parametrów klinicznych pacjentów z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35)

Parametr	PUW-z			API			PI		
	x	Me	SD	x	Me	SD	x	Me	SD
I (BMI < 24,9)	7,70	8,00	4,07	48,70	40,00	33,20	0,44	0,30	0,38
II (BMI 25–34,9)	11,10	11,00	3,18	65,37	60,00	25,30	0,64	0,66	0,43
III (BMI > 35)	11,40	10,50	4,51	71,57	70,00	25,20	0,88	0,76	0,55
Porównanie	I z II: <b>p = 0,0134</b> I z III: <b>p = 0,0048</b>			I z III: <b>p = 0,0114</b>			I z III: <b>p = 0,0013</b>		

Parametr	GI			GBI			CAL		
	x	Me	SD	x	Me	SD	x	Me	SD
I (BMI < 24,9)	0,29	0,13	0,34	8,48	3,84	13,60	0,39	0,0	1,63
II (BMI 25–34,9)	0,58	0,52	0,37	23,00	17,30	19,90	0,50	0,50	0,44
III (BMI > 35)	0,54	0,56	0,45	23,50	11,50	33,20	0,82	0,74	0,64
Porównanie	I z II: <b>p = 0,0130</b> I z III: <b>p = 0,0459</b>			I z II: <b>p = 0,0070</b>			I z III: <b>p = 0,0055</b>		

Parametr	PD		
	x	Me	SD
I (BMI < 24,9)	0,90	0,80	0,28
II (BMI 25–34,9)	1,16	1,07	0,52
III (BMI > 35)	0,99	0,92	0,43
Porównanie	p = 0,315		

Porównanie zachorowalności na próchnicę zębów w trzech badanych grupach wykazało istotną statystycznie różnicę w tym względzie ( $p < 0,01$ ). Okazało się, że w grupie II oraz w grupie III średnie PUW-z są bardzo zbliżone. W grupie II połowa badanych uzyskała wynik 11 lub więcej, a w grupie III u połowy pacjentów obserwowano wyniki przekraczające 10,5. Natomiast w grupie pacjentów z prawidłową masą ciała uzyskano

średni wynik istotnie mniejszy niż w grupach II i III. I tak, różnica pomiędzy grupą z prawidłową masą ciała a grupą I okazała się istotna statystycznie na poziomie błędu  $p < 0,05$ , a pomiędzy grupą z prawidłową masą ciała a grupą III na poziomie  $p < 0,01$ .

Porównanie stanu higieny jamy ustnej w analizowanych grupach, mierzonej wskaźnikiem płytki nazębnej API, wykazało istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,01$ ). Porównanie grup parami wykazało, że w grupie II średnia API była mniejsza niż w grupie III, ale różnica nie okazała się istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ). W grupie II połowa badanych uzyskała wynik 60% lub mniej, a w grupie III u połowy pacjentów obserwowano wyniki 70% lub więcej. W grupie pacjentów z prawidłową masą ciała średnia wartość wskaźnika API była istotnie mniejsza w porównaniu z grupą pacjentów z otyłością II i III stopnia ( $p < 0,05$ ). U połowy pacjentów z prawidłową masą ciała wskaźnik API nie przekraczał 40%. Średnia wartość wskaźnika API u osób z prawidłową masą ciała była także znacznie mniejsza niż w grupie II, jednakże bez istotnej różnicy ( $p > 0,05$ ).

Także porównanie stanu higieny jamy ustnej pacjentów z analizowanych grup, mierzonej wskaźnikiem płytki nazębnej PI, wykazało istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,01$ ). Porównanie grup parami wykazało, że w grupie II średnia wartość wskaźnika PI była mniejsza niż w grupie III, ale różnica nie okazała się istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ). W grupie II połowa badanych uzyskała wynik 0,66 lub mniej, a w grupie III u połowy pacjentów obserwowano wyniki 0,75 lub więcej. Natomiast w grupie pacjentów z prawidłową masą ciała uzyskano średnią wartość wskaźnika PI znacznie mniejszą ( $0,438 \pm 0,38$ ) w porównaniu z grupą III a różnica była statystycznie istotna ( $p < 0,001$ ). U połowy pacjentów z prawidłową masą ciała średnia wartość wskaźnika PI nie przekraczał 0,30. Średnia wartość wskaźnika PI u osób z prawidłową masą ciała była także znacznie mniejsza niż w grupie II, ale ta różnica nie okazała się istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ).

Porównanie stanu dziąseł pacjentów z analizowanych grup, mierzonego wskaźnikiem dziąsłowym (GI), wykazało istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,01$ ). Okazało się, że w grupie II oraz w grupie III, średnie wartości GI są zbliżone. W grupie II połowa badanych uzyskała wynik 0,52 lub więcej, a w grupie III u połowy pacjentów obserwowano wartości przekraczające 0,56. Natomiast w grupie pacjentów z prawidłową masą ciała uzyskano niższe średnie wartości tego wskaźnika niż w grupach I i II:  $0,288 \pm 0,34$ . Różnica była istotna statystycznie na poziomie błędu  $p < 0,05$ .

Porównanie wskaźnika krwawienia ze szczeliny dziąsłowej w analizowanych grupach, mierzonego GBI, wykazało istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,01$ ). Okazało się, że w grupie II oraz w III, średnie wartości GBI są bardzo zbliżone a różnica nie jest istotna

statystycznie ( $p > 0,05$ ). Natomiast obserwuje się istotną statystycznie różnicę pomiędzy pacjentami z grupy I i II ( $p < 0,01$ ). W grupie II połowa badanych uzyskała wynik 17,3% lub więcej, w grupie III u połowy pacjentów obserwowano wyniki przekraczające 11,5%, a w grupie I połowa badanych uzyskała średnie wartości GBI nie przekraczające 3,84%. Porównanie pacjentów z grupy III z grupą I wskazuje na dużą różnicę pomiędzy średnimi, jednakże przy braku statystycznej istotności ( $p > 0,05$ ). W obu tych grupach współczynniki zmienności znacznie przekraczają 100%, wynoszą odpowiednio 141% i 160,6%.

Porównanie stanu przyzębia w analizowanych grupach, mierzonego głębokością sondowania (PD), nie wykazało istotnej statystycznie różnicy ( $p > 0,05$ ). Średnie wartości nie były zróżnicowane: najmniejszą wartość uzyskano w grupie I, następną co do wielkości była średnia wartość PD w grupie III, a największa w grupie II.

Porównanie stanu przyzębia pacjentów z analizowanych grup, mierzonego wskaźnikiem CAL, wykazało istotną statystycznie różnicę w tym względzie ( $p < 0,01$ ). Średnie wartości w poszczególnych grupach były zróżnicowane: najmniejszą uzyskano w grupie osób z prawidłową masą ciała, następną co do wielkości była średnia wartość CAL w grupie II, a największa w grupie III. Różnicę istotną statystycznie odnotowano w przypadku porównania pacjentów z grupy III z osobami z prawidłową masą ciała.

W tabelach 9, 10 i 11 zawarto wyniki korelacji pomiędzy zmiennymi klinicznymi.

W grupie pacjentów z BMI  $> 35$  stwierdzono istotne statystycznie zależności pomiędzy wszystkimi parametrami klinicznymi. Analizowane zależności okazały się dodatnie, czyli wzrostowi wartości jednej zmiennej towarzyszył wzrost wartości drugiej zmiennej. Współczynnik korelacji rang pozwolił także na ocenę siły zależności. I tak w grupie III stwierdzono bardzo silną zależność pomiędzy wskaźnikami PI i GI ( $p < 0,001$ ), zależność średniej mocy pomiędzy wskaźnikami API i GI, PI i GBI ( $p < 0,01$ ) oraz PPD i GBI ( $p < 0,05$ ). Natomiast zależność pomiędzy API i GBI była umiarkowanie silna.

W grupie II bardzo silne okazały się zależności wskaźników PI i GI oraz API i GI ( $p < 0,001$ ), a zależność pomiędzy PI i GBI była średniej mocy ( $p < 0,05$ ). W tej samej grupie, natomiast zależności pomiędzy wskaźnikami API i GBI oraz PPD i GBI nie okazały się istotne statystycznie ( $p > 0,05$ ), choć były bliskie istotności, co wynika z poziomu błędów, niewiele przekraczającego wartość 0,05.

Z kolei w grupie osób z prawidłową masą ciała istotne statystycznie zależności, średniej mocy, odnotowano pomiędzy wskaźnikami PI i GI oraz API i GI ( $p < 0,001$ ). Niezbyt silne, ale także istotne okazały się zależności pomiędzy wskaźnikami API i GBI oraz PPD i GBI ( $p < 0,05$ ) (tabela 9).

**Tabela 9.** Korelacje pomiędzy zmiennymi klinicznymi w grupach: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35)

Zależność pomiędzy	Grupa								
	I (BMI < 24,9)			II (BMI 25–34,9)			III (BMI > 35)		
	Wsp. korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p	Wsp. korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p	Wsp. korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p
PI vs GI	0,58	4,33	0,0001	0,81	5,75	0,0000	0,82	7,11	0,0000
API vs GI	0,58	4,32	0,0001	0,83	6,28	0,0000	0,52	3,01	0,0061
PI v GBI	0,29	1,82	0,077	0,55	2,76	0,0130	0,46	2,55	0,0176
API vs GBI	0,32	2,07	0,0452	0,43	2,03	0,058	0,42	2,25	0,0339
PPD vs GBI	0,35	2,24	0,0310	0,44	2,09	0,051	0,55	3,21	0,0038

W całej grupie wszystkich pacjentów zbadano także zależność pomiędzy poszczególnymi zmiennymi klinicznymi, zatem analizę przeprowadzono dla wszystkich 21 par zmiennych. Okazało się, że wiele spośród zmiennych klinicznych jest ze sobą skorelowanych. I tak, stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy DMF-T a CAL (współczynnik korelacji rang wynosi 0,251;  $p < 0,05$ ), jest to słaba zależność, także słabą zależność odnotowano pomiędzy DFM- T i GI (współczynnik wynosi 0,272;  $p < 0,05$ ). Umiarkowanie silną zależność odnotowano pomiędzy współczynnikiem API i GBI (0,424;  $p < 0,001$ ), a silną pomiędzy API i GI (0,644;  $p < 0,001$ ). Podobnie jak w przypadku zmiennej API, także PD była w sposób istotny statystycznie związana ze zmiennymi GBI, GI i PI. Warto tu zauważyć, że zależność pomiędzy PD i GBI jest umiarkowanie silna, współczynnik wynosi 0,0,470;  $p < 0,001$ , podobnie pomiędzy PD i GI (współczynnik wynosi 0,383;  $p < 0,001$ ). Natomiast słabą, ale także istotną statystycznie zależność stwierdzono pomiędzy PPD i PI (współczynnik wynosi 0,224;  $p < 0,05$ ). Także słabą zależność odnotowano pomiędzy CAL i GI (współczynnik wynosi 0,2702;  $p < 0,05$ ). Zmienna GBI jest ponadto skorelowana z PI, zależność ta jest średniej mocy, współczynnik wynosi 0,470;  $p < 0,001$ . Najsilniejszą zależność odnotowano pomiędzy GI i PI, jest to zależność silna, bowiem współczynnik wynosi 0,720;  $p < 0,001$ . Wszystkie te zależności pomiędzy zmiennymi są dodatnie, co oznacza, że wzrostowi wartości jednej zmiennej towarzyszy także wzrost wartości drugiej zmiennej. Pozostałe zmienne nie są ze sobą skorelowane w sposób istotny statystycznie ( $p > 0,05$ ) (tabela 10).

**Tabela 10.** Zależność pomiędzy zmiennymi klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów

Zależność pomiędzy zmiennymi klinicznymi	Współczynnik korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p
DMF-T z API	0,18	1,69	0,094
DMF-T z PPD	0,11	0,96	0,339
DMF-T z CAL	0,25	2,04	0,045
DMF-T z GBI	0,18	1,69	0,093
DMF-T z GI	0,27	2,58	0,012
DMF-T z PI	0,19	1,75	0,085
API z PPD	0,20	1,88	0,064
API z CAL	0,06	0,51	0,615
API z GBI	0,42	4,27	0,0000
API z GI	0,64	7,68	0,0000
PPD z CAL	0,01	0,09	0,923
PPD z GBI	0,47	4,85	0,0000
PPD z GI	0,38	3,78	0,0003
PPD z PI	0,22	2,09	0,0397
CAL z GBI	-0,14	1,11	0,272
CAL z GI	0,27	2,20	0,0312
CAL z PI	-0,01	0,11	0,915
GBI z PI	0,47	4,86	0,0000
GI z PI	0,72	9,44	0,0000

Nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności pomiędzy BMI a PPD ( $p > 0,05$ ). Natomiast wszystkie pozostałe zmienne kliniczne zależały w sposób istotny statystycznie od wielkości wskaźnika BMI badanych. Zależność umiarkowanie silną odnotowano pomiędzy BMI a PI, współczynnik korelacji rang wynosi 0,395;  $p = 0,0002$ . Im większa wartość wskaźnika BMI u pacjenta, tym większy był wskaźnik płytki nazębnej PI. Także przy zwiększającym się BMI pacjenta, zwiększały się istotnie: DMF-T ( $p < 0,01$ ), API ( $p < 0,01$ ), GI ( $p < 0,01$ ) oraz GBI i CAL ( $p < 0,05$ ). Są to zależności o niebyt dużej sile, ale istotne statystycznie (tabela 11).

W tabeli 12 przedstawiono porównanie prędkości wydzielania śliny spoczynkowej w poszczególnych grupach.

Porównanie prędkości wydzielania śliny niestymulowanej u pacjentów z analizowanych grup, wykazało istotną statystycznie różnicę w tym względzie ( $p < 0,05$ ). Porównanie grup parami wykazało, że w grupie II średnia prędkość wydzielania śliny była większa niż w grupie III, ale różnica nie okazała się istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ). W grupie II połowa badanych uzyskała wynik 0,368 ml/min lub więcej, a w grupie III u połowy

**Tabela 11.** Zależność pomiędzy BMI a parametrami klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów

Zależność pomiędzy BMI a:	Współczynnik korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p
DMF-T	0,30	2,87	0,0052
API	0,30	2,87	0,0052
PPD	0,16	1,45	0,152
CAL	0,31	2,61	0,0114
GBI	0,26	2,48	0,0154
GI	0,29	2,83	0,0060
PI	0,39	3,92	0,0002

pacjentów obserwowano wyniki 0,275 lub mniej. Natomiast w grupie pacjentów z prawidłową masą ciała pacjenci uzyskali średni wynik prędkości wydzielania śliny niestymulowanej znacznie większy ( $0,482 \pm 0,262$  ml/min) i okazało się, że jest to wynik istotnie większy niż w grupie III ( $p < 0,05$ ). U połowy pacjentów z prawidłową masą ciała prędkość wydzielania śliny przekraczała 0,262 ml/min. Średnia prędkość wydzielania śliny niestymulowanej u osób z prawidłową masą ciała okazała się także znacznie większa niż w grupie II, ale ta różnica nie jest istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ) (tabela 12).

**Tabela 12.** Porównanie prędkości wydzielania śliny niestymulowanej w grupach: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35)

Grupa	Obliczone parametry prędkości wydzielania śliny ml/min					
	min	max	x	Me	SD	v (%)
I (BMI < 24,9)	0,18	1,16	0,48	0,50	0,27	54,4
II (BMI 25–34,9)	0,07	1,00	0,40	0,37	0,21	52,7
III (BMI > 35)	0,05	1,75	0,35	0,28	0,29	85,8
Porównanie	II z III: <b>p = 0,0166</b>					

#### 4.4. Wyniki badań biochemicznych śliny

Poniżej przedstawiono wyniki analizy statystycznej badań biochemicznych śliny w poszczególnych grupach (tabela 13).

Porównanie stężenia markera sICAM w poszczególnych grupach wykazało, że istnieje istotna statystycznie różnica pomiędzy grupami ( $p < 0,001$ ). W przypadku tej zmien-



**Tabela 13.** Porównanie stężenia wybranych markerów śródbłonka w ślinie osób z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35)

Parametr	sICAM (pg/ml)			VCAM-1 (pg/ml)			E- selektyna (pg/ml)		
	x	Me	SD	x	Me	SD	x	Me	SD
I (BMI < 24,9)	377,6	315,1	243,0	65,7	17,2	121,0	48,5	32,7	44,3
II (BMI 25–34,9)	599,5	479,5	447,9	78,7	20,5	124,0	47,3	39,3	33,6
III (BMI > 35)	822,3	717,3	540,9	144,8	27,9	252,0	61,6	37,9	101,7
Porównanie	I z III: <b>p = 0,0002</b>			p = 0,084			p = 0,609		

Parametr	PAI-1 (pg/ml)			Stężenie VEGF (pg/ml)			Stężenie trombomoduliny (pg/ml)		
	x	Me	SD	x	Me	SD	x	Me	SD
I (BMI < 24,9)	244,6	141,8	326,2	680,4	596,9	545,8	71,7	52,5	79,9
II (BMI 25–34,9)	193,6	119,39	254,5	744,9	549,0	501,1	125,0	91,4	110,8
III (BMI > 35)	492,2	331,0	507,0	1103,4	27,9	252,0	146,7	72,8	180,5
Porównanie	I z III: <b>p = 0,0196</b> II z III: <b>p = 0,0015</b>			I z III: <b>p = 0,0059</b>			I z II: <b>p = 0,0398</b> I z III: <b>p = 0,0495</b>		

nej, największą średnią wartość uzyskano w grupie pacjentów z BMI > 35, która okazała się istotnie większa niż wśród osób z prawidłową masą ciała ( $p < 0,001$ ). Natomiast nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupą III, a grupą II, ale średnia dla chorych z BMI > 35 była znacznie większa niż dla osób z BMI 25–34,9 ( $p > 0,05$ ). Także nie różniły się istotnie średnie sICAM dla osób z prawidłową masą ciała i pacjentów z grupy II:  $377,6 \pm 243,0$  i  $599,5 \pm 447,9$  pg/ml ( $p > 0,05$ ).

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy średnimi stężeniami sVCAM-1 w analizowanych grupach ( $p > 0,05$ ). Jednak warto zauważyć, że i w przypadku tego markera średnie znacznie różniły się między sobą. Największa średnia dotyczyła pacjentów z grupy III, następnie z grupy II, a najmniejszą średnią obserwuje się w grupie osób z prawidłową masą ciała.

Podobnie jak w przypadku sVCAM-1, także i dla sE-selektyny nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy średnimi w analizowanych grupach ( $p > 0,05$ ). Warto tu jednak zauważyć, że w przypadku tego markera średnie okazały się zbliżone. I tym razem największa średnia dotyczyła pacjentów z BMI > 35, następnie z w grupie osób z prawidłową masą ciała oraz w grupie z BMI 25–34,9. Jak widać, w grupie I i II średnie są niemal takie same.

Porównanie markera PAI-1 w poszczególnych grupach wykazało, że istnieje istotna statystycznie różnica pomiędzy grupami ( $p < 0,05$ ). Największą średnią wartość tej

zmiennej uzyskano w grupie III, istotnie większą niż wśród osób z prawidłową masą ciała ( $p < 0,05$ ), a także istotnie większą niż w grupie II ( $p < 0,01$ ).

Porównanie markera VEGF w poszczególnych grupach wykazało, że istnieje istotna statystycznie różnica pomiędzy grupami ( $p < 0,01$ ). W przypadku tej zmiennej, największą średnią wartość uzyskano w grupie III, która okazała się istotnie większa niż wśród osób z prawidłową masą ciała ( $p < 0,05$ ). Natomiast nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupą pacjentów z BMI  $> 35$ , a grupą II, choć także średnia dla tych z dużą otyłością była znacznie większa niż dla osób z BMI 25–34,9 ( $p > 0,05$ ). Nie różniły się też w sposób istotny statystycznie średnie VEGF dla osób z prawidłową masą ciała i pacjentów z grupy II ( $p > 0,05$ ).

Porównanie stężenia Trombomoduliny w poszczególnych grupach wykazało, że istnieje istotna statystycznie różnica pomiędzy grupami ( $p < 0,05$ ). Także i w przypadku tej zmiennej, największą średnią wartość uzyskano w grupie III, istotnie większą niż wśród osób z prawidłową masą ciała ( $p < 0,05$ ) oraz istotnie większą niż w grupie II ( $p < 0,01$ ).

W tabeli 14 przedstawiono korelację wybranych markerów funkcji śródbłonka naczyniowego badanych w ślinie ze wskaźnikiem masy ciała (BMI) u wszystkich pacjentów biorących udział w badaniu.

**Tabela 14.** Zależność pomiędzy wskaźnikiem masy ciała (BMI) a markerami śródbłonka w ślinie w całej badanej grupie pacjentów

Zależność pomiędzy BMI a:	Współczynnik korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p
PAI-1	0,25	2,64	0,0096
VCAM-1	0,28	2,92	0,0044
E- selektyną	0,15	1,53	0,130
Trombomoduliną	0,23	2,37	0,0198
VEGF	0,26	2,81	0,0059
sICAM	0,39	4,37	0,0000

Badanie zależności pomiędzy wskaźnikiem BMI a poszczególnymi markerami śródbłonka wykazało, że jedynie w przypadku E-selektyny zależność nie jest istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ). W przypadku każdego z pozostałych markerów wykazano ich związek z wielkością wskaźnika BMI. Zależność umiarkowanie silną odnotowano pomiędzy BMI a sICAM, współczynnik korelacji rang wynosi 0,393;  $p = 0,0000$ . Im większa wartość wskaźnika BMI u pacjenta, tym większe wartości sICAM występowały u pacjen-

tów. Także wraz ze wzrostem wskaźnika BMI, zwiększały się istotnie PAI-1 ( $p < 0,01$ ), VCAM-1 ( $p < 0,01$ ), Trombomodulina ( $p < 0,05$ ) oraz VEGF ( $p < 0,01$ ). Wszystkie te zależności nie są zbyt silne, ale istotne statystycznie.

W tabeli 15. przedstawiono zależność pomiędzy wiekiem a parametrami klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności pomiędzy wiekiem a API, SBI i PI ( $p > 0,05$ ). Natomiast wszystkie pozostałe zmienne kliniczne zależały w sposób istotny statystycznie od wieku badanych. Zależność umiarkowanie silną odnotowano pomiędzy wiekiem a PD, współczynnik korelacji rang wynosi 0,390;  $p = 0,0002$ . Im starszy pacjent, tym większy był wskaźnik PD. Także przy zwiększającym się wieku pacjenta, zwiększały się istotnie CAL, współczynnik korelacji rang wynosi 0,394;  $p = 0,0013$ . Dość słabe, ale istotne statystycznie zależności odnotowano pomiędzy wiekiem a DMFT (współczynnik korelacji rang wynosi 0,235;  $p = 0,0303$ ] oraz pomiędzy wiekiem a GI (współczynnik korelacji rang wynosi 0,225;  $p = 0,0380$ ]. Im starszy pacjent tym większe DMFT i GI.

W tabeli 16 przedstawiono zależność pomiędzy wiekiem a markerami śródbłonna w całej badanej grupie pacjentów.

**Tabela 15.** Zależność pomiędzy wiekiem a parametrami klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów

Zależność pomiędzy wiekiem a:	Współczynnik korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p
DMFT	0,24	2,20	0,0303
API	0,09	0,81	0,418
PD	0,39	3,86	0,0002
CAL	0,39	3,37	0,0013
SBI	0,21	1,94	0,056
GI	0,23	2,11	0,0380
PI	0,05	0,49	0,628

**Tabela 16.** Zależność pomiędzy wiekiem a markerami śródbłonna w całej badanej grupie pacjentów

Zależność pomiędzy wiekiem a:	Współczynnik korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p
PAI-1	-0,06	0,60	0,548
VCAM-1	-0,02	0,21	0,837
E- selektyną	-0,01	0,09	0,926
Trombomoduliną	0,07	0,67	0,502
VEGF	0,01	0,10	0,919
sICAM	0,14	1,43	0,157

Badanie zależności pomiędzy wiekiem pacjentów a poszczególnymi markerami śródbłonna nie wykazało istotności statystycznej w żadnym przypadku ( $p > 0,05$ ). W przypadku każdego z markerów współczynniki korelacji rang były bardzo bliskie zera.

W tabeli 17 przedstawiono zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a parametrami klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów.

Badanie zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny u pacjentów a poszczególnymi zmiennymi klinicznymi nie wykazało istotności statystycznej w żadnym przypadku ( $p > 0,05$ ). W przypadku każdej z tych zmiennych współczynniki korelacji rang były bardzo bliskie zera.

W tabeli 18. przedstawiono zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a markerami śródbłonna w całej badanej grupie pacjentów.

Badanie zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a poszczególnymi markerami śródbłonna wykazało, że zależność jest istotna statystycznie w przypadku PAI-1 ( $p < 0,05$ ). Zależność jest słaba, współczynnik korelacji rang wynosi  $-0,23$ ;  $p = 0,0232$ . Im większa szybkość wydzielania śliny u pacjenta, tym mniejsze wartości PAI-1. Także istotną statystycznie zależność wykazano pomiędzy szybkością wydzielania śliny a VEGF, współczynnik korelacji rang wynosi  $-0,323$ ;  $p = 0,0010$ . Zależność jest słaba, a im większa szybkość wydzielania śliny u pacjenta, tym mniejsze są wartości VEGF. Pozostałe zależności nie okazały się istotne statystycznie ( $p > 0,05$ ), współczynniki korelacji rang były bardzo bliskie zera.

**Tabela 17.** Zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a parametrami klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów

Zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a:	Współczynnik korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p
DMFT	-0,20	1,86	0,066
API	-0,12	1,14	0,258
PPD	0,06	0,56	0,579
CAL	-0,18	1,01	0,317
SBI	0,02	0,14	0,887
GI	0,18	1,67	0,099
PI	0,02	0,18	0,856

**Tabela 18.** Zależność pomiędzy szybkością wydzielenia śliny a markerami śródbłonna w całej badanej grupie pacjentów

Zależność pomiędzy szybkością wydzielenia śliny a:	Współczynnik korelacji rang	Wartość testu t	Istotność p
PAI-1	-0,23	2,31	0,0232
VCAM-1	-0,01	0,09	0,922
E- selektyną	-0,07	0,68	0,498
Trombomoduliną	-0,08	0,80	0,423
VEGF	-0,33	3,38	0,0010
sICAM	-0,06	0,59	0,559

## 5. Omówienie wyników i dyskusja

Globalna epidemia otyłości określana jest przez WHO jako jeden ze szczególnie widocznych a jednocześnie najbardziej zaniedbanych problemów zdrowia publicznego w XXI wieku. Choroba ta dotyka ludzi obojga płci, tak samo dzieci jak i dorosłych, zarówno w krajach rozwiniętych jak i rozwijających się. Jak już wielokrotnie podkreślano, poza niewątpliwym problemem kosmetycznym jakim jest nadmierne nagromadzenie tkanki tłuszczowej, otyłość stanowi również czynnik ryzyka wielu chorób ogólnoustrojowych, z których najważniejsze to: cukrzyca typu 2, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemia, choroba wieńcowa oraz choroby nowotworowe. Ponadto według wielu autorów, nadwaga i otyłość to także problemy stomatologiczne, wiążą się bowiem z częstym występowaniem przewlekłego zapalenia przyzębia, wysokimi wskaźnikami próchnicy oraz niską ilością wydzielanej śliny spoczynkowej. Niestety pomimo stale rosnącej świadomości społecznej oraz wiedzy medycznej na temat etiologii, powikłań oraz leczenia tej choroby, wskaźniki otyłości w wielu krajach podwoiły się w ciągu ostatnich 20 lat. Świadczy to z jednej strony o porażce światowych systemów ochrony zdrowia, z drugiej zaś motywuje do dalszego zgłębiania tematu, udoskonalania metod wczesnego wykrywania oraz zapobiegania zarówno samej otyłości jak i jej powikłaniom. Niezwykle założona natura tej choroby czyni ją jednym z głównych tematów prowadzonych ówczesznie badań.

Głównym celem przeprowadzonych badań własnych była ocena wpływu otyłości na stan jamy ustnej oraz na funkcjonowanie układu naczyniowego na podstawie wybranych markerów funkcji śródbłonna. Pośrednio, na podstawie uzyskanych wyników podjęto również próbę określenia potencjału diagnostycznego śliny jako nośnika informacji o endotelium.

Badania przeprowadzono u 108 osób obojga płci podzielonych na trzy grupy w zależności od wartości wskaźnika BMI. Grupę pierwszą tworzyli pacjenci o prawidłowej masie ciała ( $BMI < 24,9$ ). Grupę drugą pacjenci z nadwagą i otyłością I stopnia ( $BMI 25-34,9$ ) Zaś w grupie trzeciej, znalazły się osoby u których stwierdzono otyłość II i III stopnia ( $BMI > 35$ ).

Wyniki stomatologicznych badań klinicznych w niemalże wszystkich aspektach wykazywały statystycznie istotne różnice pomiędzy grupami.

Oceny higieny jamy ustnej dokonywano na podstawie wskaźników płytki nazębnej API wg Langego oraz PI wg Silness i Loe. Porównanie grup parami wykazało, że w grupie badanych z nadwagą i otyłością I stopnia średnie API (65,37%) oraz PI (0,642) były mniejsze niż w grupie z otyłością II i III stopnia, które wynosiły odpowiednio 71,57% oraz 0,880. Podobne różnice zauważono pomiędzy grupą o prawidłowej masie ciała a grupą III (API — 48,7% vs 65,37%; PI — 0,438 vs 0,642) jednakże i tutaj pomimo widocznych różnic nie były one statystycznie istotne ( $p > 0,05$ ). Znaczące różnice dla obu badanych parametrów wykazano natomiast zestawiając wyniki pacjentów z BMI powyżej 35 z grupą kontrolną i były one statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ). Odpowiednie średnie wynosiły dla API — 71,57% vs 48,7% a dla PI — 0,88 vs 0,438. Analiza wskaźników w poszczególnych grupach uwidoczniła tendencję do pogorszenia higieny jamy ustnej wraz ze wzrostem BMI. Potwierdzeniem wiarygodności badania higieny jest fakt, że zależność ta była jednakowa dla obu badanych wskaźników.

Podobne wyniki uzyskali Konopka i wsp. oceniający zależność między wskaźnikiem masy ciała (BMI) a wybranymi parametrami klinicznymi. W grupie 200 pacjentów, podzielonych na 3 grupy względem BMI (I  $< 25$ ; II 25–29,9; III  $> 30$ ) średnie wartości wskaźnika API wynosiły odpowiednio: I — 67,69%; II — 67,21%; III — 81,16% a różnica pomiędzy grupami była istotna statystycznie ( $p = 0,022$ ) [Konopka i wsp. 2011]. Również badania Deszczyńskiej przeprowadzone na grupie 240 pacjentów (120 dzieci i 120 dorosłych) potwierdziły pozytywną korelację wskaźników BMI i API [Deszczyńska i wsp. 2018]. Odmiennie wyniki w swoich badaniach uzyskali Cholewa i wsp. oraz Kaczmarek i wsp., u których różnice średnich API w stosunku do BMI były nieistotne statystycznie [Cholewa) lub też w ogóle ich nie stwierdzono [Kaczmarek) [Cholewa i wsp. 2013, Kaczmarek i wsp. 2014]. Przyczyn rozbieżności uzyskanych rezultatów można doszukiwać się w odmiennie dobranej grupie badanej. W odróżnieniu od Konopki i wsp., autorzy ww prac nie włączyli do badania osób ze znaczną nadwagą (BMI  $> 30$ ) a to właśnie w tej grupie wartości API były najwyższe.

W najnowszym piśmiennictwie, niewiele jest prac opisujących wzajemną relację wskaźników BMI i PI. Jedynie badania przeprowadzone przez Nayak i wsp. na grupie 100 osób w wieku od 22 do 38 lat wykazały istotną statystycznie różnicę średnich wskaźnika PI porównując grupę osób z nadwagą i otyłością do grupy kontrolnej o prawidłowej masie ciała [Nayak i wsp. 2015]. Wyniki te wynosiły odpowiednio 1,25 vs 0,91 ( $p = 0,01$ ).

W przeciwieństwie do Nayak, Abdullah Al-Abdaly uzyskał bardzo zbliżone wartości średnich PI w trzech badanych grupach, odpowiednio 1,4 dla BMI < 25; 1,5 dla BMI 25–29,9 oraz 1,5 dla BMI > 30 [Abdullah Al-Abdaly, 2017].

Zarówno wyniki badań własnych jak i znaczna większość wyników uzyskanych przez innych autorów, wskazują na gorszą higienę jamy ustnej u osób ze znaczną otyłością w porównaniu do grupy kontrolnej o BMI < 25. [Lehmann-Kalata i wsp. 2015]. Zależność ta wydaje się potwierdzać tezę o niższej świadomości zdrowotnej oraz niezdrowym stylu życia tej części społeczeństwa.

Niewątpliwy wpływ na nagromadzenie płytki bakteryjnej ma także ilość oraz skład dostarczanej śliny. Ze względu na swoje właściwości buforujące, oczyszczające oraz antybakteryjne wydzielina ta pełni kluczową rolę w utrzymaniu równowagi środowiska jamy ustnej. Liczne badania jednoznacznie wskazują na zależność pomiędzy spadkiem sekrecji śliny a gorszymi wynikami wskaźników higieny [Almstahl i Wikstrom, 1999; Humphrey i Williamson, 2001; Shimazaki i wsp. 2017].

Analiza wyników badań własnych wykazała znaczne różnice w szybkości wydzielania śliny spoczynkowej w poszczególnych grupach a rozkład tych rozbieżności był analogiczny do wskaźników higieny. Średnia szybkość wydzielania śliny w grupie z nadwagą i otyłością I stopnia wynosiła 0,403 ml/min i była większa niż w grupie z otyłością II i III stopnia odpowiednio 0,348 ml/min, jednakże różnica ta nie okazała się istotna statystycznie. Podobny stosunek uzyskano porównując pacjentów o prawidłowej masie ciała z grupą II. Także i tu pomimo odmiennych wyników 0,403 ml/min vs 0,482 ml/min nie wykazano istotnej statystycznie różnicy ( $p > 0,05$ ). Średnia prędkość na poziomie 0,482 ml/min (grupa I) okazała się natomiast istotnie wyższa ( $p < 0,05$ ) niż ta uzyskana przez pacjentów o BMI > 35 (grupa III), odpowiednio 0,348 ml/min. Przyglądając się powyższym wynikom nie trudno zauważyć tendencję do spadku ilości wydzielanej śliny wraz ze wzrostem wartości wskaźnika BMI. Do podobnych wniosków doszli także Rabiei i wsp. [Rabiei, Maddah i Ghamgosar, 2016], którzy badali związek szybkości wydzielania śliny niestymulowanej z różnymi parametrami antropometrycznymi. Analizując grupę 331 pacjentów podzielonych na 3 grupy względem BMI, autorzy Ci wykazali istotne statystycznie różnice pomiędzy wszystkimi badanymi grupami. Odpowiednie średnie przepływu śliny wynosiły 0,35 ml/min u osób o prawidłowej masie ciała, 0,34 ml/min u pacjentów z nadwagą oraz 0,31 ml/min u osób otyłych ( $P = 0,034$ ). Także Yamamoto i wsp. kiedy ocenili tą samą zależność w całej badanej populacji (200 osób), zauważyli odwrotną korelację pomiędzy wskaźnikiem BMI a szybkością wydzielania śliny [Yamamoto i wsp. 2009]. Staty-



stycznie istotną różnicę w tym względzie pomiędzy grupą badanych o prawidłowej masie ciała a osobami otyłymi wykazali również Idrees i wsp. [Idrees i wsp. 2018].

Równie często, zamiast śliny niestymulowanej wykorzystuje w tym samym celu pełną ślinę stymulowaną. Wydaje się zasadne użycie jej do oceny wyżej opisanej zależności, jednakże ze względu na znaczne różnice w składzie obu wydzielin nie zdecydowałem się na włączenie jej do badań własnych. Niemniej jednak wyniki uzyskane przez Modéer i wsp., Ain i wsp. oraz innych badaczy, jednoznacznie wskazują na spadek szybkości wydzielania śliny stymulowanej wraz ze wzrostem BMI [Modéer i wsp. 2010; Ain i wsp. 2016; Štimjanin i wsp. 2016].

Przyczyny tej zależności nadal nie są do końca poznane. Coraz więcej dowodów przemawia jednak za negatywnym wpływem cytokin zapalnych wytwarzanych przez adipocyty na komórki wydzielnicze gruczołów ślinowych. Wysokie stężenia czynników takich jak TNF- $\alpha$ , IL-1 oraz IL-8 występujące u osób otyłych odpowiadają za utrzymujący się przewlekły podostry stan zapalny ślinianek prowadzący do upośledzenia ich funkcji. Inoue i wsp. oraz Bozzato i wsp. przedstawili ponadto wyniki świadczące o znacznym powiększeniu ślinianek przyusznych na drodze nadmiernej akumulacji komórek tłuszczowych w mięszu tych gruczołów, co również negatywnie wpływa na ich wydolność [Inoue i wsp. 2006; Bozzato i wsp. 2008]. Oba opisane mechanizmy wydają się równie prawdopodobnymi czynnikami etiologicznymi stojącymi za tym problemem.

Istnieją również badania dowodzące o braku takiej zależności [Pannunzio i wsp. 2010]. Fenoll-Palomare i wsp. w badaniach przeprowadzonych na grupie 159 dorosłych w wieku od 18 do 75 lat nie stwierdzili związku pomiędzy BMI a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Warto jednak zwrócić uwagę na niewielką liczebność oraz znacznie niższy wiek grupy pacjentów otyłych [Fenoll-Palomaresi i wsp. 2004]. Mazuchi de Campos i wsp. badający dzieci w wieku od 5 do 12 lat również nie stwierdzili korelacji pomiędzy przepływem śliny stymulowanej i niestymulowanej a BMI w porównywanych grupach (prawidłowa waga, nadwaga oraz otyłość). Interesujący jest jednak fakt, iż autorzy ci zaobserwowali brak wzrostu szybkości wydzielania śliny w wyniku stymulacji w grupie pacjentów otyłych. Pomimo braku różnic pomiędzy grupami może to świadczyć o mniejszej sprawności gruczołów ślinowych w tej grupie [De Campos i wsp. 2013].

Spadek ilości wydzielanej śliny oraz mniejsza dbałość o codzienną higienę to czynniki, które mogą przyczynić się do rozwoju poważnych, infekcyjnych chorób jamy ustnej takich jak próchnica czy zapalenie przyzębia. W badaniach własnych do oceny intensywności próchnicy wykorzystałem wskaźnik PUW-z, określający sumę zębów dotkniętych

tą chorobą oraz leczonych lub usuniętych z jej powodu. Najniższe wartości tego wskaźnika świadczące o niewielkiej intensywności próchnicy uzyskano w grupie pacjentów o prawidłowej masie ciała -średnia 7,7. Zdecydowanie wyższy poziom PUW-z prezentowali natomiast pacjenci o BMI powyżej 25. W obu grupach średnie wartości były o ponad 3 punkty wyższe i wynosiły odpowiednio 11,1 dla osób z nadwagą i otyłością I stopnia i 11,4 dla pacjentów z otyłością II i III stopnia. Porównując zarówno grupę II jak i III z osobami o prawidłowej masie ciała wykazano istotne statystycznie różnice na poziomie  $p < 0,05$ . Wzrost intensywności próchnicy wraz ze zwiększającymi się wartościami BMI zaobserwowali także inni autorzy [Forslund i wsp. 2002]. Alswat i wsp, badający tą samą zależność na grupie 385 pacjentów dorosłych o średniej wieku wynoszącej 28,39 lat, wykazali istotną korelację pomiędzy BMI a wskaźnikiem PUW-z (DMFt). Istotny jest fakt, że rezultat ten nie zmienił się nawet po wykluczeniu innych czynników ryzyka takich jak palenie tytoniu, czy spożywanie napojów wysokocukrowych [Alswat i wsp. 2016]. Analogiczne wyniki można także znaleźć w publikacjach poświęconych wpływowi otyłości na stan jamy ustnej u dzieci i młodzieży [Willershausen i wsp. 2004; Kaczmarek i wsp. 2014; Paisi i wsp. 2018;]. Elger i wsp. w 2018 r. przeprowadzili badanie na grupie 1628 dzieci w wieku od 6 miesięcy do 9 lat. Wartości BMI ze względu na ich zmienność w tej grupie wiekowej zostały przekształcone w wyniki odchylenia standardowego odpowiadające percentylom (BMI SDS — ang standard deviation score). Wyniki przeprowadzonego badania wykazały silną korelację pomiędzy nadmierną masą ciała a częstością występowania próchnicy ( $p < 0,001$ ) [Elger i wsp. 2019]. Do jednakowych wniosków doszli także Halder i wsp., którzy w tym samym roku zbadali 1227 dzieci w wieku od 6 do 12 lat [Halder i wsp. 2018].

Związek otyłości z próchnicą zębów może wynikać także z podobnej etiologii tych chorób. Zwiększone spożycie napojów gazowanych, fast foodów i cukrów prostych w jednakowy sposób sprzyja nagromadzeniu tkanki tłuszczowej jak i akumulacji płytki bakteryjnej. Ich występowanie jest też silnie uzależnione od czynników socjoekonomicznych przez co zdecydowanie częściej obserwuje się je w mniej zamożnych oraz gorzej wykształconych grupach społecznych [Modéer i wsp. 2010].

Próchnica to jednak nie jedyny problem stomatologiczny obserwowany u pacjentów otyłych. Długo utrzymujące się, obfite złogi biofilmu będące skutkiem niewystarczającej higieny prowadzą także do zmian w tkankach przyzębia. Zapalenie dziąseł oraz o wiele poważniejsze zapalenie przyzębia to kolejne często występujące schorzenia jamy ustnej. Zgodnie z wieloma doniesieniami, czynnikiem ryzyka tychże chorób może być również nadmierne nagromadzenie tkanki tłuszczowej.

Do oceny stanu przyzębia w badaniach własnych wykorzystano dwa powszechnie znane wskaźniki: wskaźnik dziąsłowy GI wg Silness i Løe i zmodyfikowany wskaźnik krwawienia ze szczeliny dziąsłowej mSBI oraz dwa standardowe badania periodontologiczne: pomiar klinicznej utraty przyczepu łącznotkankowego CAL oraz głębokości sondowania PD.

Analiza wyników wskaźnika dziąsłowego GI wykazała niewielkie, lecz istotne statystycznie różnice pomiędzy grupami. Pomimo faktu, iż we wszystkich badanych grupach stwierdzono jedynie łagodne zapalenie dziąseł, gdyż średnie wyniki GI nie przekraczały wartości 1, to jednak pacjenci z BMI powyżej 25 przedstawiali istotnie wyższe wartości niż grupa pacjentów o prawidłowej masie ciała. Odpowiednie wyniki wynosiły 0,288 dla grupy I oraz 0,58 dla grupy z nadwagą i otyłością I stopnia i 0,54 dla grupy z otyłością II i III stopnia ( $p < 0,05$ ). Podobne różnice w swoim badaniu wykazali Deshpande i Amrutiva [Deshpande i Amrutiva. 2017] porównujący ten parametr pomiędzy grupą 50 pacjentów o wadze prawidłowej (średnia GI — 1,29) z równoliczną grupą pacjentów otyłych (średnia GI — 1,95)  $p < 0,05$ . Statystycznie istotne różnice wskaźnika dziąsłowego wykazali także Dursun i wsp., u których średnie wartości GI wśród pacjentów grupy kontrolnej wynosiły aż 1,47 co pozwalało stwierdzić umiarkowane zapalenie dziąseł. Grupa pacjentek otyłych prezentowała jednak znacznie wyższe średnie GI (2,04) na granicy ciężkiego zapalenia dziąseł ( $p < 0,001$ ) [Dursun i wsp. 2016].

Mniej jednolite dane uzyskano natomiast w przypadku wskaźnika krwawienia GBI. Pomimo wyraźnej różnicy średnich między grupą kontrolną a grupami BMI 25+, jedynie porównanie grupy I i II wykazało istotne statystycznie różnice. Odpowiednie wartości wynosiły 8,48 i 23,0. Średnie wartości GBI wśród pacjentów z otyłością II i III stopnia wynosiły 23,5 i były wyraźnie wyższe niż u pacjentów o prawidłowej masie ciała, jednakże ze względu na wysoki współczynnik zmienności znacznie przekraczają 100%, różnice te nie okazały się statystycznie istotne. Wspomniane już badania Dursun i wsp. także i w tym względzie wskazują na istotne różnice pomiędzy badanymi grupami. W grupie kontrolnej średni wskaźnik krwawienia wynosił 1,02 a w grupie badanej 1,64 ( $p < 0,001$ ) [Dursun i wsp. 2016]. Kongstad i wsp., którzy w tym samym celu wykorzystali podobny wskaźnik BOP (ang. Bleeding on Probing) stwierdzili również istotne różnice pomiędzy badanymi grupami [Kongstad i wsp. 2009]. Ten sam wskaźnik w swoich badaniach wykorzystali także Konopka i wsp., jednakże pomimo widocznych różnic wartości BOP pomiędzy trzema badanymi grupami nie były one istotne statystycznie [Konopka i wsp. 2011].

Przedstawione wartości wskaźników GI i GBI w poszczególnych grupach wskazują na związek otyłości ze stanem zapalnym dziąseł. Trudno jednak na tej podstawie ocenić jak duży wpływ na dziąsła ma sam nadmiar tkani tłuszczowej a jak duży zaniedbania higieniczne. Oba wskaźniki wykazują pozytywną korelację ze wskaźnikami API i PI co może świadczyć o decydującej roli higieny w tym aspekcie.

W odróżnieniu od zapalenia dziąseł, do rozwoju zapalenia przyzębia nie wystarczy sama obecność płytki bakteryjnej. Możliwe jest bowiem wieloletnie utrzymywanie się gingivitis bez utraty przyczepu łącznotkankowego. Dlatego w celu obiektywnej oceny tkanek przyzębia dokonano pomiaru PD oraz CAL w sześciu miejscach dookoła każdego zęba. Porównanie wyników PD w poszczególnych grupach, nie wykazało istotnej statystycznie różnicy ( $p > 0,05$ ). Średnie były do siebie zbliżone i wynosiły odpowiednio: 0,900 a w grupie pacjentów z prawidłową masą ciała, następna co do wielkości 0,998 w grupie z otyłością II i III stopnia, a największa w grupie pacjentów z nadwagą i otyłością I stopnia 1,164. Pomimo wyższych wartości PD u pacjentów z nadmierną masą ciała w stosunku do grupy kontrolnej, trudno doszukać się pozytywnej korelacji tego pomiaru z BMI. Zależność ta występuje natomiast w przypadku wskaźnika CAL. Analiza średnich wykazała istotną statystycznie różnicę w przypadku porównania pacjentów z otyłością II i III stopnia z osobami z prawidłową masą ciała ( $p < 0,01$ ). Ponadto wartości CAL rosły wraz ze wzrostem wskaźnika BMI i wynosiły kolejno: 0,389 w I, 0,504 w grupie II i 0,821 w grupie III.

Postawienie jednoznacznej diagnozy zapalenia przyzębia na podstawie średnich PD i CAL jest możliwe, jednakże tylko w przypadku gdy wartości te wynoszą 4 lub więcej dla PD i/lub występuje utrata przyczepu łącznotkankowego na skutek procesu zapalnego. Trudno jest natomiast definitywnie wykluczyć periodontitis posługując się jedynie tymi danymi, ponieważ średnie PD poniżej 4 mogą świadczyć zarówno o zdrowym przyzębiu jak i o postaci zlokalizowanej tej choroby. Warto zauważyć, iż pomiar CAL jest dodatni także w przypadku pourazowej recesji dziąsła, próchnicy w okolicy szyjki zęba, zamian endo-perio z przetoką wewnątrzczeszkową oraz pionowego pęknięcia korzenia. Patologie te, występujące zarówno pojedynczo jak i w kombinacji znacząco wpływają na średnią wartość tego wskaźnika uzyskaną dla wszystkich badanych zębów. Można zatem stwierdzić, że użycie średnich PD i CAL do oceny stanu przyzębia jest obarczone dużym błędem, niemniej jednak pozwala ustalić relację tych wskaźników względem BMI dlatego wykorzystano je w niniejszym badaniu.

Powszechnie wiadomo, że zapalenie przyzębia jest wieloczynnikową chorobą zapalną związaną z obecnością dysbiotycznego biofilmu. Mediatorem zapalenia jest w tym przypadku organizm gospodarza a jego skutkiem — niszczenie aparatu zawieszeniowego zęba. Ze względu na fakt, iż kluczową rolę w tym procesie odgrywa układ odpornościowy, wszelkie patologie wpływające na jego funkcjonowanie mogą także modulować przebieg samego periodontitis. Do tego grona zalicza się z reguły otyłość i zespół metaboliczny, co znajduje swoje odzwierciedlenie w wynikach prezentowanych w najnowszym piśmiennictwie. Zarówno meta-analiza przeprowadzona przez Moura-Grec i wsp., której kryterium włączenia był wiek powyżej 18 r.ż. jak i ta dotycząca dzieci i młodzieży poniżej tej granicy, autorstwa Martens i wsp. konsekwentnie potwierdzają związek tych dwóch chorób [Moura-Grec i wsp. 2014; Martens i wsp. 2017]. Prace oryginalne z ostatnich trzech lat w większości przychylają się do tej tezy. Deshpande i Amrutiya obserwowali istotne statystycznie różnice wskaźników PD i CAL pomiędzy pacjentami o prawidłowej masie ciała a pacjentami BMI > 30. Dla PD było to odpowiednio 3,62 vs 5,07 ( $P < 0,05$ ) natomiast dla CAL 4,53 vs 5,75 ( $P < 0,031$ ) [Deshpande i Amrutiya. 2017]. Podobne rezultaty uzyskali Thao Phuong Thi Tran i wsp. badający grupę 679 pacjentów w wieku od 18 do 83 lat. W grupie kontrolnej (BMI 18,5 — 24,9) średnia PD wynosiła — 2,32 a CAL — 2,34 i były istotnie niższe niż w grupie badanej (BMI > 25) odpowiednio 2,61 i 2,60 [Thao, Trung i Thuy, 2018]. Istnieją również dowody wskazujące, iż zależność ta jest dwukierunkowa. Morita i wsp. w badaniu prospektywnym wykazali, że pacjenci u których stwierdzono obecność kieszonek przyzębnych mieli istotnie wyższe prawdopodobieństwo rozwoju zespołu metabolicznego w ciągu 4 lat [Morita i wsp. 2010]. Natomiast Pejcić i wsp. porównując grupę pacjentów ze zdrowym przyzębiem (grupa kontrolna — 100 osób) i z zapaleniem przyzębia (grupa badana — 300 osób) zaobserwowali istotnie wyższy poziom wskaźnika BMI w grupie badanej (22,08 vs 26,04;  $p < 0,05$ ) [Pejcić i wsp. 2016].

Niemniej liczne są także doniesienia o braku zależności pomiędzy wysokim BMI a utratą przyczepu łącznotkankowego czy głębokością kieszonek. Do tej grupy można zaliczyć przytaczane już publikacje Konopki i wsp. oraz Dursun i wsp. Co ciekawe obaj autorzy w swoich pracach wykazali istotne statystycznie różnice w aspekcie higieny oraz stanu dziąseł [Konopka i wsp. 2011, Dursun i wsp. 2016].

Wyniki uzyskane w badaniach własnych umiejscawiają je pomiędzy zwolennikami a sceptykami zależności otyłość — periodontitis. Z jednej strony stwierdzono istotnie wyższe wskaźniki higieny, krwawienia oraz stanu dziąseł w grupie pacjentów otyłych, co

wyda się potwierdzać lekceważące podejście do zdrowia jamy ustnej wśród pacjentów tej grupy. Zaobserwowano również wyższe wartości CAL w grupach BMI 25+ mogące świadczyć o utracie przyczepu łącznotkankowego w wyniku procesu zapalnego. Z drugiej jednak strony nie wykazano różnicy w głębokości sondowania PD, czyli najważniejszego pomiaru pozwalającego stwierdzić aktywne periodontitis. Ponadto, zarówno w grupie kontrolnej jak i w grupach badanych nie stwierdzono ani jednego przypadku uogólnionego zapalenia przyzębia.

Bez wątplenia nadmierna ilość tkanki tłuszczowej wpływa negatywnie na cały organizm, w tym na jamę ustną. Potwierdzają to wszyscy badacze opisujący ten problem, niezależnie od uzyskanych rezultatów. Stwierdzają jednak zgodnie, iż mechanizmy tej zależności nie są do końca poznane i należy dążyć do ich wyjaśnienia. Wniosek ten choć niezbyt odkrywczy, najlepiej obrazuje obecny stan wiedzy w tej kwestii.

Znaczną część niniejszej pracy poświęcono badaniu składu śliny w poszczególnych grupach. Wykorzystując w tym celu wysoce czułe metody (test ELISA) udało się określić stężenie sześciu cząsteczek, powszechnie uznawanych za markery funkcji śródbłonna naczyniowego.

Jednym z nich jest Inhibitor aktywatora plazminogenu-1 (PAI-1), będący głównym inhibitorem aktywatorów plazminogenu typu tkankowego i typu urokinazy. U osób zdrowych białko to produkowane jest głównie przez komórki endotelium, jednakże jego ekspresje obserwuje się także w hepatocytach, fibroblastach, monocytach, makrofagach oraz adipocytach. Czynnikiem regulującymi jego syntezę są m.in. cytokiny prozapalne (IL-1, TNF-alfa), TGF- $\beta$ , stres oksydacyjny tlenek azotu oraz insulina. Oprócz fizjologicznej roli jaką PAI-1 odgrywa w regulacji układu krzepnięcia, jest także związany z licznymi procesami patologicznymi. Wysokie stężenie tej cząsteczki w surowicy krwi notuje się u osób otyłych z zespołem metabolicznym oraz chorych na cukrzycę typu 2 [Bilgili i wsp. 2008]. Następstwem takiego stanu mogą być zaburzenia fibrynolizy, co z kolei wiąże się z wysokim ryzykiem rozwoju chorób sercowo naczyniowych z zawałem mięśnia sercowego włącznie [Alessi i Juhan-Vague, 2004; Nikolopoulos i wsp. 2014; Tofler i wsp. 2016,).

Porównanie stężenia PAI-1 w ślinie pomiędzy badanymi grupami wykazało statystycznie istotne różnice. Najwyższą średnią wartość uzyskano w grupie pacjentów z otyłością II i III stopnia 492,2 pg/ml i była ona istotnie większa niż w grupie pacjentów z nadwagą i otyłością I stopnia 193,6 pg/ml ( $p < 0,01$ ). Średnia w grupie II była także istotnie większa od wartości wśród pacjentów grupy kontrolnej: 492,2 vs 244,6 pg/ml ( $p < 0,05$ ).

Wyniki przedstawione powyżej wyraźnie wskazują na związek nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej z nadprodukcją PAI-1. Obserwacje te znajdują również potwierdzenie w licznych doniesieniach krajowych i międzynarodowych [Mertens i Van Gaal, 2002; Skurk i Hauner, 2004]. Istotny jest natomiast fakt, iż zdecydowana większość badaczy wykorzystwała w tym celu surowicę krwi zamiast śliny. Opublikowane w 2018 roku wyniki badań Sodom i wsp. wskazują na istotnie wyższe stężenie PAI-1 w surowicy pacjentów otyłych w porównaniu z grupą kontrolną o prawidłowej masie ciała. Według tych samych autorów szczególnie znacznie w tej kwestii ma nie tylko masa tkanki tłuszczowej ale jej rozmieszczenie. Dowodzi temu silniejsza korelacja stężenia PAI-1 ze wskaźnikiem WHR niż BMI [Somodi i wsp. 2018]. Do podobnych wniosków doszli także Bogdański i wsp. porównując grupę 88 osób otyłych z 25 osobami o prawidłowej masie ciała. W badaniu polskich autorów średnie stężenie PAI-1 w surowicy pacjentów otyłych wyniosło 22,6 ng/ml i było istotnie wyższe od grupy kontrolnej 16,9 ng/mL ( $p < 0,05$ ). Wykazali oni także silną korelację PAI-1 z WHR ( $r = 0,35$ ;  $p < 0,001$ ) podkreślając duże znaczenie tkanki tłuszczowej trzewnej w produkcji tego czynnika [Bogdański i wsp. 2012]. Niewątpliwym potwierdzeniem roli tkanki tłuszczowej w regulacji układu krzepnięcia są wyniki badań wskazujące na znaczną redukcję stężenia PAI-1 we krwi w wyniku utraty masy ciała spowodowanej dietą, wysiłkiem fizycznym jak i leczeniem chirurgicznym [Ferguson i wsp. 1999; Estelles i wsp. 2001].

Nieliczne prace na temat obecności PAI-1 w ślinie skupiają się głównie na ocenie wpływu czasu pobierania próbek na ich skład a także porównują stężenie PAI-1 w ślinie i surowicy [Virtanen i wsp. 2006; Zhang i wsp. 2014]. Najbardziej zbliżone badania przeprowadzili w 2018 roku Lehmann-Kalata i wsp., którzy podjęli próbę ustalenia, czy biomarkery śliny mogą zidentyfikować otyłość jako taką [Lehmann-Kalata i wsp. 2018].

Markerami funkcji śródbłonna naczyniowego są również cząsteczki adhezyjne CAMs (ang. Cell Adhesion Molecules) zwane także adhezynami. Jest to duża grupa czynników o zróżnicowanej aktywności, odpowiedzialnych m. in. za adhezję oraz migrację leukocytów przez ścianę naczyń. Mechanizm ten niezwykle istotny z punktu widzenia odpowiadzi odpornościowej organizmu jest także obserwowany w przebiegu wielu procesów patologicznych. Podwyższoną ekspresję tych molekuł obserwuje się w przebiegu chorób nowotworowych, cukrzycy, chorób sercowo naczyniowych czy zaplenia przyzębia [Mole i wsp. 1998; Blankenberg, Barbaux i Tiret. 2003; Torer i wsp. 2007; Pankow i wsp. 2016].

Adhezyny występują w postaci związanej z powierzchnią endotelium oraz w formie rozpuszczalnej, krążącej w płynach ustrojowych. To właśnie forma rozpuszczalna uzna-

wana jest za marker funkcji śródbłónka. W ślinie badanych pacjentów określono stężenia trzech przedstawicieli tej grupy, są to: sICAM-1, sVCAM-1 oraz sE-selektyna.

Pomimo przynależności do jednej dużej grupy, wyniki uzyskane dla poszczególnych CAMs nie były jednakowe. Statystycznie istotne różnice stężeń pomiędzy grupami wykazano jedynie w przypadku sICAM-1. Największą średnią wartość uzyskano w grupie pacjentów z otyłością II i III stopnia, która okazała się istotnie większa niż u osób z prawidłową masą ciała: 822,3 vs 377,6 pg/ml ( $p < 0,001$ ). Średnie stężenie w grupie III było także znacznie wyższe od uzyskanego w grupie osób z nadwagą i otyłością I stopnia — 822,3 vs 599,5 pg/ml, jednakże różnica ta nie była statystycznie istotna. Podobny rezultat uzyskano porównując grupę I i II 377,6 vs 599,5 pg/ml ( $p > 0,05$ ).

Analiza stężeń dwóch pozostałych adhezyn nie wykazała statystycznie istotnych różnic. O ile w przypadku cząsteczki sVCAM-1 średnie znacznie różniły się pomiędzy grupami III vs I - 148,8 vs 65,7 pg/ml; III vs II — 148,8 vs 78,7 a brak istotności statystycznej wynikał ze współczynnika zmienności przekraczającego 150%, o tyle w przypadku E-selektyny średnie z poszczególnych grup były do siebie zbliżone I vs II vs III — 48,5 vs 47,3 vs 61,6.

W piśmiennictwie krajowym oraz międzynarodowym nie trudno znaleźć pracę opisującą zależność stężenia CAMs w odniesieniu do wskaźnika BMI. Porównań tych dokonuje się zarówno u dzieci jak i dorosłych, jednakże w odróżnieniu od badań własnych jako materiał diagnostyczny najczęściej wykorzystuje się surowicę krwi. Głowińska i wsp. w badaniach opublikowanych w 2005 roku, przeprowadzonych na grupie 150 dzieci (średnia wieku 15,1) wykazali pozytywną korelację sICAM-1 ( $r = 0,19$ ,  $P = .019$ ) oraz E-selektyny ( $r = 0,18$ ,  $P = .03$ ) ze wskaźnikiem BMI. Stwierdzono także istotnie wyższe stężenie sVCAM-1 w surowicy pacjentów otyłych w porównaniu do grupy kontrolnej (546,5 vs 407,9 ng/mL;  $p < 0,01$ ) [Głowińska i wsp. 2005]. Nieco odmienne wyniki uzyskali Bośńska i wsp. którzy porównywali stężenie ww. cząsteczek adhezyjnych w surowicy oraz ich ekspresję w tkance tłuszczowej podskórnej i trzewnej. W badaniu czeskich autorów udział wzięło 39 kobiet podzielonych na trzy grupy wg wskaźnika BMI: 1. otyłość I i II stopnia, 2. otyłość III stopnia oraz C. kontrolna. Wykazali oni istotnie wyższe stężenia E-selektyny (25,1 vs 14,7 ng/ml) oraz sICAM-1 (194,4 vs 147,1 ng/ml) w grupie drugiej w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenie sVCAM-1 natomiast nie różniło się pomiędzy badanymi grupami (891,2 vs 908,1 vs 965,5 ng/ml). Ciekawe rezultaty uzyskano także w kontekście ekspresji adhezyn w tkance tłuszczowej podskórnej i trzewnej. Brak różnic w przypadku pierwszej z nich oraz istotne różnice w ekspresji



ICAM-1 i VCAM-1 (E-selektyna — także wyższa ale nie istotna statystycznie) w przypadku tkanki tłuszczowej trzewnej potwierdzają szczególnie negatywny wpływ otyłości androidalnej na funkcjonowanie endothelium [Bośńska i wsp. 2010]. Porównaniem stężeń tych samych cząsteczek w surowicy krwi zajęli się również Matsumoto i wsp. Autorzy ci mając świadomość podwyższonego stężenia CAMs w przebiegu cukrzycy typu 2 starali się ustalić jak dużą rolę odgrywa w tym przypadku nadmiar tkanki tłuszczowej. Wyniki badań opublikowane w 2002 roku wskazywały na istotnie wyższe wartości E-selektyny u osób otyłych (z cukrzycą typu 2) w porównaniu do osób o prawidłowej masie ciała (z cukrzycą typu 2) 90 vs 56 ng/mL,  $p < 0,01$ . W przypadku cząsteczek VCAM-1 oraz ICAM-1 nie wykazano statystycznie istotnych różnic choć stężenie ICAM-1 było znacznie wyższe u osób otyłych (241 vs 206 ng/ml) [Matsumoto i wsp. 2002]. Podobne badania przeprowadzili także Strączkowski i wsp. opisujący pozytywną korelację stężenia sICAM-1 ze wskaźnikami BMI i WHR oraz Trøseid i wsp. potwierdzający tą samą zależność w przypadku E-selektyny [Strączkowski i wsp. 2002, Trøseid i wsp. 2005].

Z wyjątkiem jednego zespołu, autorzy zaprezentowanych doniesień byli zgodni co do istotnie wyższego stężenia międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej-1 w surowicy krwi pacjentów otyłych w porównaniu do grup kontrolnych. Potwierdziły to również wyniki badań własnych. Wspólnym mianownikiem przytoczonych publikacji było także szczególne znaczenie tkanki tłuszczowej trzewnej w nadprodukcji tych cząsteczek. Trudno natomiast ustalić konkretną przyczynę rozbieżności wyników w przypadku E-selektyny oraz sVCAM-1. Odmiennie dobrane grupy pacjentów — tylko dzieci, tylko kobiety, pacjenci chorujący na cukrzycę typu 2 oraz zróżnicowana pod względem płci i wieku grupa dorosłych — mogły przyczynić się do ich powstania.

Pomimo faktu, iż od ponad trzech dekad naukowcy badają wpływ otyłości na zwiększoną produkcję adhezyn, dokładny mechanizm tej zależności nie został dotąd poznany. Według niektórych autorów bezpośrednią przyczyną takiego stanu może być wysoka aktywność TNF- $\alpha$  oraz indukowana otyłością insulinooporność. Do takich wniosków doszli m.in. Couffinhal, Chen, Targher i Strączkowski [Couffinha i wsp. 1993; Chen i wsp. 1999; Targher i wsp. 2001; Strączkowski i wsp. 2002]. Inni natomiast wskazują na towarzyszący otyłości spadek produkcji adiponektyny — hormonu hamującego ekspresję CAMs [Ouchi i wsp. 1999].

Wykorzystanie śliny jako materiału diagnostycznego do pomiaru ekspresji adhezyn nie należy natomiast do powszechnych metod. Przekłada się to na niewielką liczbę prac o tematyce zbliżonej do niniejszej rozprawy. Spośród ogólnie dostępnych publikacji,

większość skupia się na cząsteczce ICAM-1 i jej przydatności w diagnostyce chorób sercowo naczyniowych oraz we wczesnym wykrywaniu ostrego zawału mięśnia sercowego [Miller i wsp. 2010; Miller i wsp. 2014, Malathi, Mythili i Vasanth 2014]. W badaniu autorstwa Foley i wsp. ten sam biomarker posłużył także do monitorowania postępów leczenia chorób naczyniowych. Autorzy ci dokonali istotnego odkrycia stwierdzając, iż stężenie ICAM-1 w surowicy odpowiada stężeniu tej molekuly w ślinie [Foley i wsp. 2012].

W ślinie badanych pacjentów określono także stężenie czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF). Cząsteczka ta wraz z innymi czynnikami o działaniu pro- i anty-angiogennym, tworzy złożony system regulujący proces powstawania nowych naczyń krwionośnych (angiogenezę). Prawidłowe funkcjonowanie tego układu pozwala zachować równowagę pomiędzy architekturą naczyniową, perfuzją tanek i wzrostem komórek. Zakłócenie tej równowagi może prowadzić do powstania nieprawidłowej sieci naczyń, co obserwuje się m. in. we wczesnych fazach powstawania zmian miażdżycowych oraz w procesach nowotworowych [Inoue i wsp. 1998; Carmeliet, 2005]. Jednym z głównych czynników indukujących syntezę oraz uwalnianie VEGF zarówno w warunkach patologicznych jak i fizjologicznych jest niedotlenienie. W mniejszym stopniu wpływa na nie także hiper- i hipoglikemia. Tkanka tłuszczowa jako istotny narząd wydzielania wewnętrznego jest odpowiedzialna za produkcję znacznej ilości tego czynnika. Oprócz wszelkich lokalnych efektów jakie VEGF wywiera na komórki tej tkanki, uwalniane do krwiobiegu cząsteczki mogą oddziaływać na całe łożysko naczyniowe przyczyniając się do rozwoju chorób układu krążenia [Zafar i wsp. 2018].

Porównanie stężenia VEGF w poszczególnych grupach wykazało statystycznie istotne różnice. Najwyższe średnie stężeń uzyskano w grupie pacjentów z BMI > 35 i były one istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej — odpowiednio 1103,4 vs 680,4 pg/ml ( $p < 0,05$ ). Średnia w grupie z nadwagą i otyłością I stopnia była także znacznie niższa w porównaniu z grupą kontrolną, jednakże nie stwierdzono pomiędzy nimi statystycznie istotnej różnicy — 744,9 vs 1103,4 pg/ml ( $p > 0,05$ ). Nie różniły się też w sposób istotny statystycznie średnie VEGF dla osób z prawidłową masą ciała i pacjentów mających nadwagę bądź otyłość I stopnia: 680,4 i 744,9 pg/ml ( $p > 0,05$ ).

Podobnie do wcześniej opisywanych markerów, tak i w przypadku VEGF trudno znaleźć publikacje opisujące jego stężenie w ślinie w stosunku do wskaźnika BMI. Większość autorów badających tę zależność jako materiał diagnostyczny wybiera surowicę krwi. Przykładem z najnowszego piśmiennictwa jest praca Novikovej i wsp. opublikowana w 2019 roku na łamach czasopisma Archives of Disease in Childhood. Badacze

oceniali stężenie VEGF we krwi u 44 nastolatków (w wieku od 13 do 18 lat) podzielonych na 2 równe pod względem liczebności grupy. W grupie badanej, w skład której wchodziłi pacjenci otyli stężenie tego czynnika w surowicy był ponad 12 razy wyższy niż grupie kontrolnej o prawidłowej masie ciała. Odpowiednio 75,89 vs 6,22 pg/ml ( $p < 0,0001$ ). W badaniu tym oceniano również stężenie adhezyny sVCAM-1. Różnica pomiędzy grupami była ponad dwukrotna — odpowiednio 1395,23 ng/ml w grupie badanej do 847,44 ng/ml w grupie kontrolnej ( $p < 0,0001$ ) [Novikova i wsp. 2019]. W przypadku obu markerów wyniki prezentowane przez Novikową i wsp. zbliżone są do uzyskanych w badaniach własnych. Podobne rezultaty uzyskali Siervo M. i wsp, którzy także skupili się na badaniu tej zależności u dzieci i młodzieży.

Oceniając grupę 151 pacjentów w wieku od 5 do 17 lat stwierdzili silną korelację stężenia krążącego VEGF ze wskaźnikiem BMI ( $r = 0,22$ ,  $P = 0,007$ ) [Siervo i wsp. 2012]. Niemniej liczne są doniesienia wskazujące na wysokie stężenia VEGF u dorosłych otyłych pacjentów. Loebig M. i wsp. badając 45 ogólnie zdrowych pacjentów w wieku od 18 do 30 lat, podzielonych na trzy grupy: I — BMI  $< 20$ , II — BMI 20–25, III BMI  $> 30$ , wykazali dodatnią korelację stężenia osoczowego VEGF ze wskaźnikiem BMI w przedziale od 17,6 kg/m<sup>2</sup> do 43,6 kg/m<sup>2</sup> ( $r = 0,363$ ;  $P = 0,017$ ) [Loebig i wsp. 2010]. Do podobnych wniosków doszli także inni badacze prezentujący swoje wyniki na przełomie ostatnich 20 lat [Miyazawa-Hoshimoto i wsp. 2003; Silha i wsp. 2005; Wieczór i wsp. 2016]. Ciekawych obserwacji w tym względzie dokonali hiszpańscy naukowcy, którzy stwierdzili, że utrata nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej na skutek operacji bariatrycznej powoduje statystycznie istotne zmniejszenie stężenia krążącego VEGF [Gómez-Ambrosi i wsp. 2010]. Odkrycie to istotnie potwierdza dwukierunkową zależność stężenia VEGF względem wskaźnika BMI.

Niestety pomimo tak wielu badań skupionych wokół tej zależności, jej dokładna przyczyna nie została jednoznacznie ustalona. Istnieje wiele dowodów wskazujących, iż stan ten jest spowodowany tworzeniem nowej sieci naczyń, które towarzyszy nadmiernemu rozrostowi tkanki tłuszczowej [Hausman i Richardson, 2004; Cao, 2007; Brakenhielm i Cao, 2008]. Hipoteza ta wysnuwana jest przez wielu badaczy i wydaje się być najbardziej prawdopodobną. Alternatywną przyczyną proponowaną przez niektórych autorów jest indukowany otyłością przewlekły stan zapalny [Siervo i wsp. 2012].

Ocena stężenia VEGF w ślinie jest również przedmiotem wielu badań, jednakże ich tematyka jest zgoła inna od prezentowanej w niniejszej rozprawie. Pomiaru tego dokonuje się najczęściej w kontekście chorób jamy ustnej lub narządów bezpośrednio z nią

związanych. Wyniki jednego z takich badań opublikowano w 2018 roku w czasopiśmie *Journal of Periodontology*. Autorzy niniejszej pracy mierzyli stężenia trzech markerów w tym VEGF i TNF- $\alpha$  u osób zdrowych oraz cierpiących z powodu zapalenia dziąseł, przewlekłego i agresywnego zapalenia przyzębia. Co ciekawe najwyższe wartości obu markerów notowano nie w przypadku zapalenia przyzębia a *gigivitis* [Afacan i wsp. 2018]. Innym przykładem jest badanie przeprowadzone przez Polz-Dacewicz M. i wsp., w którym oceniono stężenie VEGF w ślinie i surowicy u pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej. Wyniki potwierdziły istotnie wyższe wartości VEGF w ślinie i surowicy u pacjentów z OSCC (ang. Oral Squamous Cell Carcinoma) w porównaniu do grupy kontrolnej [Polz-Dacewicz i wsp. 2016]. Do interesujących wniosków doszli także Błochowiak K. i wsp., którzy skupili się na pomiarze stężeniu EGF — czynnika wzrostu naskórka (ang. Epidermal Growth Factor) i VEGF w ślinie i surowicy pacjentów z pierwotnym i wtórnym zespołem Sjögrena. Co prawda nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy względem osób zdrowych ale wykazano, iż ślina jest bardziej wrażliwa na wykrywanie EGF i VEGF niż surowica krwi [Błochowiak i wsp. 2018].

Szóstym i ostatnim markerem analizowanym w niniejszym badaniu była trombomodulina (TM) a właściwie jej postać rozpuszczalna sTM krążąca w płynach ustrojowych. TM jest białkiem błonowym stale obecnym na powierzchni komórek śródbłonka naczyniowego, którego głównym zadaniem jest zmiana właściwości trombiny z pro- na przeciwzkrzepową. Dochodzi do tego w wyniku połączenia TM z trombiną, czego efektem jest aktywacja białka C. Częsteczki o działaniu przeciwzkrzepowym, antykoagulacyjnym i przeciwzapalnym [Wenzel, Assmann i Schwaninger, 2014]. Frakcja rozpuszczalna sTM, której stężenie w ślinie oceniano u badanych pacjentów to zewnątrzłonowy fragment TM oddzielający się od niej w efekcie działania czynników aterogennych. Podwyższony stężenie tej cząsteczki jest wskaźnikiem uszkodzenia lub dysfunkcji endotelium [Tohda i wsp. 1998; Bolt i wsp. 1995]. Analiza wyników badań własnych w przypadku tego markera wykazała statystycznie istotną różnicę pomiędzy grupami. Podobnie do wcześniej opisywanych cząsteczek także i w przypadku TM najwyższa średnia stężeń w ślinie występowała u pacjentów z otyłością II i III stopnia i była istotnie wyższa niż u pacjentów z grupy pierwszej oraz grupy kontrolnej. Odpowiednio 146,7 vs 125,0 vs 71,7 ( $p < 0,05$ ).

Ze względu na brak ogólnodostępnych publikacji o metodyce zbliżonej do badań własnych, uzyskane wyniki można odnieść jedynie do analiz bazujących na surowicy krwi. Jedną z najnowszych jest praca opublikowana w 2018 roku autorstwa Iwan-Ziętek

i wsp. opisująca niniejszy problem u pacjentów z otyłością olbrzymią BMI > 40 kg/m<sup>2</sup>. Uzyskane rezultaty wykazały istotnie wyższe stężenia TM w surowicy krwi pacjentów otyłych w porównaniu do grupy kontrolnej o prawidłowym BMI, odpowiednio 2,48 vs 1,9 ng/ml (p < 0,05). Świadczy to o uszkodzeniu śródbłonna do którego dochodzi w przebiegu otyłości olbrzymiej, zwiększając ryzyko ewentualnych powikłań zakrzepowo-zatorowych [Iwan-Ziętek i wsp. 2018]. Analogiczne wyniki uzyskali Porreca i wsp. porównując parametry krwi 35 otyłych kobiet (BMI > 30 kg/m<sup>2</sup>) i 25 kobiet o prawidłowej masie ciała. Zarówno w przypadku sTM jak i sVCAM-1 autorzy stwierdzili istotne różnice pomiędzy grupami. Wykazali również pozytywną korelację obu markerów ze wskaźnikiem BMI czym także potwierdzili obserwację, iż otyłość jest związana ze zwiększonym poziomem markerów miażdżycy [Porreca i wsp. 2004]. Nie inaczej przedstawiają się wyniki badań przeprowadzone wśród dzieci i młodzieży. Urban M. i wsp. również zanotowali wyższe stężenie sTM w surowicy młodych (w wieku od 8,5–17,8 lat) otyłych pacjentów w porównaniu do grupy kontrolnej o prawidłowej masie ciała. Stężenie sTM korelowało ze wskaźnikiem BMI co pozwoliło badaczom stwierdzić, że nawet u dzieci ekspozycja komórek śródbłonna na działanie czynników aterogennych przyczynia się do ich wyraźnego uszkodzenia [Urban i wsp. 2005]. Porównywalne wyniki uzyskali także inni badacze [Hammam i wsp. 2009]. Do ciekawych wniosków doszli także Wojtkielewicz i Urban, którzy badali tę zależność u otyłych dzieci z nadciśnieniem i cukrzycą. Po podziale grupy badanej na trzy podgrupy stwierdzono, iż stężenia sTM wśród dzieci otyłych były wyższe niż w grupie dzieci z nadciśnieniem i grupie z cukrzycą. Obserwacja ta wyraźnie wskazuje na negatywny wpływ samej otyłości na endotelium [Wojtkielewicz i Urban, 2007]. Podobnie do wcześniej opisywanych markerów w przypadku sTM zależność względem BMI utrzymuje się także w trakcie utraty wagi. Potwierdzają to badania Rega-Kaun i wsp. w których wykazano spadek stężenia krążącej sTM u pacjentów otyłych po zabiegach bariatrycznych [Rega-Kaun i wsp. 2019].

Zaprezentowane wyniki badań własnych niemal jednoznacznie wskazują na negatywny wpływ otyłości na funkcjonowanie śródbłonna naczyniowego. Z wyjątkiem E-selektyny stężenie wszystkich badanych biomarkerów, świadczących o jego dysfunkcji, korelowało ze wskaźnikiem BMI. Brak korelacji uzyskanych wyników biochemicznych śliny z wiekiem jak i znikoma korelacja z szybkością wydzielania śliny, dodatkowo potwierdzają wpływ nadmiernej masy ciała jako głównej przyczyny zmian zachodzących w śródbłonku. Z badań własnych oraz innych autorów wynika, iż nadaktywność wewnątrzwydzielnicza tkanki tłuszczowej, w szczególności części trzewnej przyczynia się

do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego oraz insulinooporności jak również zwiększa ryzyko powikłań metabolicznych, w tym chorób naczyniowych.

Nadrzędnym celem wszystkich naukowców oraz lekarzy praktyków powinna być całkowita eradykacja otyłości. Zanim to jednak nastąpi konieczne jest dokładne poznanie wszystkich mechanizmów wpływu otyłości na funkcjonowanie ludzkiego organizmu w celu określenia skutecznej terapii. Wykorzystanie w tym celu śliny mogłoby w znacznym stopniu ułatwić i przyspieszyć ten proces ze względu na prosty dostęp do materiału diagnostycznego. Możliwe, że dzięki badaniom takim jak opisane w niniejszej rozprawie w przyszłości będzie to możliwe a oddawanie do laboratorium krwi i moczu odejdzie w niepamięć.

## 6. Wnioski

1. Wyższe stężenie markerów sICAM-1, sVCAM-1, PAI-1, VEGF i sTM w ślinie osób otyłych w porównaniu do tych o prawidłowej masie ciała oraz dodatnia korelacja tych czynników ze wskaźnikiem masy ciała — BMI, może świadczyć o negatywnym wpływie otyłości na funkcjonowanie śródbłonna naczyniowego.
2. Dysfunkcja śródbłonna naczyniowego objawiająca się wysokim stężeniem markerów sICAM-1, sVCAM-1, PAI-1, VEGF i sTM w ślinie może także przyczyniać się do rozwoju patologii w obrębie tkanek przyzębia. Wskazują na to istotnie wyższe wartości wskaźników przyzębia (CAL, GBI i GI) u pacjentów otyłych w porównaniu do tych prawidłowej masy ciała.
3. Pacjenci otyli charakteryzowali się wyższą intensywnością próchnicy zębów oraz gorszą higieną jamy ustnej w porównaniu z tymi o prawidłowej masie ciała.
4. Szybkość wydzielanej śliny spoczynkowej była istotnie niższa u pacjentów otyłych w porównaniu do tych o prawidłowej masie ciała. Najniższe wartości zanotowano w grupie pacjentów z otyłością II i III stopnia.
5. Uzyskane wyniki biochemicznego badania śliny są zbliżone do analogicznych wyników badań krwi przedstawianych w najnowszym piśmiennictwie. Pozwala to przypuszczać, iż ślina może stanowić dobry materiał diagnostyczny.

## 7. Streszczenie

### Wstęp

Współczesna wiedza na temat tkanki tłuszczowej pozwala uznać ją za jeden z największych gruczołów endokrynych. Nadmierny rozrost tej tkanki prowadzący do nadwagi i otyłości, jest przyczyną wielu powikłań zagrażających zdrowiu i życiu. Szereg czynników produkowanych przez adipocyty prowadzi do rozwoju uogólnionego, przewlekłego podostrego stanu zapalnego, którego negatywne skutki mogą prowadzić do zaburzeń naczyniowych, insulinooporności, zaburzeń oddychania a także zaburzeń homeostazy jamy ustnej.

Ponieważ otyłość to problem globalny, przez WHO określany nawet mianem pandemii, niezwykle istotne wydaje się ustalenie skutecznych i łatwych metod wczesnego wykrywania powikłań tej choroby. Najnowsze badania pokazują że alternatywą do badań krwi i moczu może być analiza próbek śliny. Ze względu na łatwość uzyskania takiej próbki oraz całkowicie bezinwazyjny przebieg badania, w przyszłości ślina może okazać się materiałem diagnostycznym z wyboru.

### Cel badania

Celem przedstawionej pracy była ocena wpływu otyłości na stan jamy ustnej oraz na funkcjonowanie układu naczyniowego. Jednocześnie badano potencjał diagnostyczny śliny jako nośnika informacji o endotelium na podstawie wybranych markerów funkcji śródbłonna.

### Materiał i metodyka

Badaniem objęto 107 pacjentów, obojga płci w wieku od 20 do 60 lat zgłaszających się do Kliniki Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji oraz Kliniki Chorób Wewnętrznych, Metabolicznych i Dietetyki Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

W skład grupy pierwszej (kontrolnej) weszło 39 osób o prawidłowej masie ciała – BMI < 24,9 (średnia wieku  $30,1 \pm 5,4$ ). W grupie drugiej znalazły się 33 osoby z nadwagą



i otyłością I stopnia – BMI 25–34,9 (średnia wieku  $33,9 \pm 6,7$ ). Grupę trzecią stanowiło 35 pacjentów, u których stwierdzono otyłość II i III stopnia – BMI > 35 (średnia wieku  $34,1 \pm 10,1$ ).

Od wszystkich pacjentów pobrano próbkę śliny niestymulowanej. Pobrania dokonywano przez 20 min metodą swobodnego wypływu śliny z ust. Uzyskane próbki przekazywano do Zakładu Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu gdzie za pomocą testów DuoSet® ELISA Development Systems firmy R&D Systems oceniano stężenie cząsteczek: PAI-1, sICAM-1, sVCAM-1, TM, E-selektyna i VEGF. Prędkość wydzielanej śliny określano w ml na minutę.

Po uzyskaniu próbki śliny każdy z pacjentów był poddany dokładnemu badaniu stomatologicznemu. Oceniano stan uzębienia i przyzębia oraz higienę jamy ustnej. Badanie przeprowadzano w oświetleniu sztucznym z wykorzystaniem lusterka oraz sondy periodontologicznej WHO-621. Oceny uzębienia dokonywano na podstawie wskaźnika PUWz. Stan przyzębia wykorzystując wskaźniki GI, GBI oraz pomiary PD i CAL. Poziom higieny określano przy pomocy wskaźników PI oraz API.

## Wyniki

Analiza wyników uzyskanych w trakcie badania stomatologicznego wykazała statystycznie istotne różnice pomiędzy grupami. Pacjentów z grupy III cechowała istotnie wyższa zachorowalność na próchnicę (PUWz), gorszy stan dziąseł (GI, GBI), przyzębia (CAL) oraz higieny (API i PI) w porównaniu do osób o prawidłowej masie ciała. Ponadto wartości wskaźników PUWz oraz GI u pacjentów z otyłością II i III stopnia były istotnie wyższe niż u osób z nadwagą i otyłością I stopnia. Jedynym parametrem stomatologicznym w przypadku którego nie wykazano statystycznie istotnej różnicy była wartość PD. PD to także jedyny marker stomatologiczny, który nie wykazał pozytywnej korelacji ze wskaźnikiem BMI. U pacjentów z grupy III zanotowano także najniższą szybkość wydzielania śliny spoczynkowej i była to wartość istotnie niższa niż u pacjentów o prawidłowej masie ciała.

Podobne wyniki uzyskano w przypadku badania biochemicznego śliny. Także i tutaj najwyższe miano markerów świadczących o dysfunkcji śródbłonna naczyniowego wykryto w ślinie osób z otyłością II i III stopnia. Stężenia czterech spośród sześciu badanych czynników istotnie różniły się pomiędzy badanymi grupami. Dotyczy to molekuł PAI-1, Trombomoduliny, VEGF oraz sICAM-1, których stężenie w ślinie osób z grupy III było istotnie wyższe niż w grupie osób o prawidłowej masie ciała. W przypadku PAI-1 oraz

Trombomoduliny istotne różnice wykazano także pomiędzy grupą II i III. Stężenie rozpuszczalnej formy cząsteczki VCAM-1 także różniło się pomiędzy grupami. Najwyższe stwierdzono w grupie III a najniższe w grupie I (kontrolnej), jednakże ze względu na wysoki współczynnik zmienności różnice te nie były statystycznie istotne. Jedynie badanie rozpuszczalnej formy E-selektyny wykazało podobne wartości u wszystkich badanych osób. Podobne stężenia przesądziły także o braku korelacji sE-selektyny ze wskaźnikiem BMI. Zależność tą stwierdzono natomiast w przypadku wszystkich (pięciu) pozostałych markerów.

## **Wnioski**

Wyższe stężenie markerów sICAM-1, sVCAM-1, PAI-1, VEGF i sTM w ślinie osób otyłych w porównaniu do tych prawidłowej masy ciała oraz dodatnia korelacja tych czynników ze wskaźnikiem masy ciała — BMI, może świadczyć o negatywnym wpływie otyłości na funkcjonowanie śródbłonna naczyniowego.

Pacjenci otyli charakteryzowali się wyższą intensywnością próchnicy zębów, gorszym stanem przyzębia, gorszą higieną jamy ustnej oraz niższą szybkością wydzielania śliny spoczynkowej w porównaniu z tymi o prawidłowej masie ciała.

Uzyskane wyniki biochemicznego badania śliny są zbliżone do analogicznych wyników badań krwi przedstawianych w najnowszym piśmiennictwie. Pozwala to przypuszczać, iż ślina może stanowić dobry materiał diagnostyczny.

## 8. Abstract

Modern knowledge about adipose tissue allows us consider it to be one of the largest endocrine glands. Its excessive and uncontrollable growth could lead to obesity, and in effect lead to many health and life threatening complications. A number of growth factors produced by adipocytes lead to the development of generalized, chronic subacute inflammation, whose negative effects may lead to vascular disorders, insulin resistance, respiratory disorders and disturbance of oral homeostasis.

Obesity poses a global problem and has been described by WHO as a pandemic. Therefore, it is imperative to establish an effective and easy method for early detection of potential complications of this disease. Recent studies show, saliva analysis could serve as an alternative to blood and urine tests. The ease of acquisition and a non-invasive course of the examination, may deem saliva a diagnostic material of choice.

### **Aim of the study**

The aim of the presented work was an assessment of the impact of the obesity on oral cavity status and its influence on the vascular system. Simultaneously, the diagnostic potential of saliva as a carrier of information of the endothelium was studied based on selected markers of endothelial function.

### **Material and methods**

The study included 107 patients, both sexes aged 20 to 60 years, reporting to the Conservative Dentistry and Endodontics Clinic and the Clinic of Internal, Metabolic and Dietary Diseases of the Poznan University of Medical Sciences in Poland.

Based on the BMI index value, patients were divided into three groups. Group I (control) – 39 people with normal body weight (BMI < 24,9). Group II – 33 people with overweight and obesity, 1<sup>st</sup> degree (BMI 25–34,9). Group III – 35 people with 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> degree of obesity (BMI > 35).

An unstimulated saliva sample was taken from all patients. Collection was carried out for 20 minutes by the method of free flow of saliva from the mouth. The obtained samples were transferred to the Department of Pathophysiology of the Poznan University of Medical Sciences, where the R&D Systems DuoSet® ELISA Development Systems tests evaluated the levels of PAI-1, sICAM-1, sVCAM-1, TM, E-selectin and VEGF. The rate of saliva secretion was determined in ml per minute.

After obtaining a saliva sample, each patient underwent a thorough dental examination. The current state of dentition periodontium as well as oral hygiene were assessed. The study was conducted in artificial lighting with the use of a mirror and WHO-621 periodontal probe. Teeth were evaluated on the basis of the PUWz index. Periodontal status was analyzed using GI, mSBI, PD and CAL indexes. The level of hygiene was determined using PI and API indicators.

## Results

Analysis of the results obtained during the dental examination showed statistically significant differences between the groups. Group III patients had significantly higher incidence of caries (PUWz), worse periodontal condition (GI, mSBI), periodontium (CAL) and hygiene (API and PI) compared to people with normal body weight. In addition, the values of PUWz and GI indicators in patients with II and III degree obesity were significantly higher than in people with overweight and I degree obesity.

The only dental parameter for which exhibited no statistically significant difference was PD. PD is also the only dental marker that did not show a positive correlation with BMI. Group III patients also had the lowest resting saliva secretion rate, which was significantly lower than in patients with normal body weight

Similar results were obtained with the biochemical examination of saliva. The highest titers of markers indicating vascular endothelial dysfunction were detected in the saliva of people with II and III degree obesity. Concentrations of four out of six examined factors significantly differed between the examined groups. The levels of Molecules PAI-1, Thrombomodulin, VEGF and sICAM-1, from group III was significantly higher than in the group of people with normal body weight.

In the case of PAI-1 and Thrombomodulin, significant differences were also shown between groups II and III. The concentration of the soluble form of the VCAM-1 molecule also differed between groups. The highest levels were in group II and the lowest in group I (control), however, due to the high coefficient of variation, these differences were

not statistically significant. Only the study of the soluble form of E-selectin showed similar values in all subjects. Similar concentrations also determined the lack of correlation of the sE-selectin level with the BMI index. However, this relationship was found for all (five) other markers.

## **Conclusions**

Higher saliva levels of sICAM-1, sVCAM-1, PAI-1, VEGF and sTM in obese people compared to those of normal body weight and a positive correlation of these factors with the body mass index — BMI, may indicate a negative effect of obesity on the functioning of the vascular endothelium.

Obese patients were characterized by a higher intensity of tooth decay, worse periodontal condition, worse oral hygiene and a lower saliva flow rate compared to those of normal body weight.

The biochemical saliva results are similar to the analogous results of blood tests presented in the latest literature. This suggests that saliva may be a valuable diagnostic material.

## 9. Piśmiennictwo

1. Abdullah Al-Abdaly MMAA Periodontal pocket depth and salivary calcium and phosphorous levels among obese yemenis patients International Journal Of Current Medical And Pharmaceutical Research. 2017;3(5)1684–1688.
2. Afacan B, Öztürk VÖ, Paşali Ç, Bozkurt i wsp. Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1 $\alpha$  VEGF, and TNF- $\alpha$  levels in periodontal health and disease. J Periodontol. 2018;0:1–10.
3. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. International Dental Journal. 1975;25(4)229–235.
4. Ain TS, Sultan S, Gowhar O, Ravishankar TL i wsp. Obesity and Salivary Parameters (Flow Rate, Buffer Capacity, and Salivary pH) In Children of Moradabad, India. Int J Sci Stud. 2016;4(3):25–29.
5. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome — a new world-wide definition. Lancet. 2005;366:1059–1062.
6. Alessi MC, Juhan-Vague I. Contribution of PAI-1 in cardiovascular pathology. Arch Mal Coeur Vaiss. 2004;97:673–678.
7. Almstahl A, Wikstrom M. Oral Microflora in Subjects with Reduced Salivary Secretion. Journal of Dental Research. 1999;78(8):1410–1416.
8. Alswat K, Mohamed WS, Wahab MA, Aboelil AA. The Association Between Body Mass Index and Dental Caries: Cross-Sectional study. Journal of Clinical Medicine Research. 2016;8(2):147–152.
9. Anggård EE. The endothelium—the body’s largest endocrine gland? J Endocrinol. 1990;127:371–375.
10. Białkowska M. Etiopatogeneza otyłości. Postępy Nauk Medycznych. 2011;9:765–769.
11. Behrendt D, Ganz P. Endothelial function. The American Journal of Cardiology. 2002;90(10):40–48.
12. Bergmann K, Olender K, Odrowąż-Sypniewska G. Rola otyłości i stanu zapalnego w cukrzycy typu 2 — znane fakty, nowe kontrowersje. Diagn Lab. 2012;48(3):313–322.
13. Bermudez EA, Rifai N, Buring JE i wsp. Relation between markers of systemic vascular inflammation and smoking in women. Am J Cardiol. 2002;89:1117–1119.
14. Bilgili S, Celebiler AC, Dogan A, Karaca B. Inverse relationship between adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 in metabolic syndrome patients. Endocrine Regulations. 2008;42:63–68.

15. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L: Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2003;170:191–203.
16. Błochowiak KJ, Trzybulska D, Olewicz-Gawlik A, Sikora JJ i wsp. Levels of EGF and VEGF in patients with primary and secondary Sjögren's syndrome. *Adv Clin Exp Med*. 2018;27(4):455–461.
17. Bogdański P, Szulińska M, Dytfeld J, Pupek-Musialik D. Ocena stężenia inhibitora aktywatora plazminogenu 1 u pacjentów z otyłością prostą. *Endokrynol. Otył. Zab. Przem. Mat.* 2012;8(1):1–7.
18. Bolanowski M, Zadrożna-Śliwka B, Zatońska K. Badanie składu ciała — metody i możliwości zastosowania w zaburzeniach hormonalnych. *Endokr Otył Zab Przem Mat.* 2005;1(1):20–25.
19. Boldt J, Schindler E, Knothe CH, Welters I i wsp. Endothelial-related coagulation in cardiac surgery. *Br J Anaesth.* 1995;75:174–179.
20. Bošanská L, Michalský D, Lacinová Z, Dostálová I i wsp. The influence of obesity and different fat depots on adipose tissue gene expression and protein levels of cell adhesion molecules. *Physiol Res*. 2010;59:79–88.
21. Bozzato A, Burger P, Zenk J, Uter W i wsp. Salivary gland biometry in female patients with eating disorders. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2008;265(9):1095–1102.
22. Bödecker CF, Bödecker HWC. A practical index of the varying susceptibility to dental caries in man. *Dent Cosmos*. 1931;77:707–716.
23. Bray G.A. History of obesity. W: Williams G, Frühbeck G. (red.). *Obesity: science to practice*. Wiley-Blackwell, Chichester. 2009;3:17.
24. Brakenhielm E, Cao Y. Angiogenesis in adipose tissue. *Methods Mol Biol*. 2008;456:65–81.
25. Brondani, Letícia de Almeida et al. The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2012;56:215–225.
26. Bujak R, Sinkiewicz W, Błażejowski J, i wsp. Tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA) i jego inhibitor typu 1 (PAI-1) u chorych z ostrym zawałem serca. *Folia Cardiol*. 2002;9:311–318.
27. Califano F, Giovanniello T, Pantone P, Campana E i wsp. Clinical importance of thrombomodulin serum levels. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2000;4:59–66.
28. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev*. 2004;84:277–359.
29. Cao Y. Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. *J Clin Invest*. 2007;117:2362–2368.
30. Carmeliet P. VEGF as a Key Mediator of Angiogenesis in Cancer. *Oncology*. 2005;69(3):4–10.
31. Carter AM, Standeven KF, Grant P. J. Common Genetic Determinants of Coagulation and Fibrinolysis. *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics*, Academic Press, 2013.

32. Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Morgan WJ i wsp. Increased incidence of asthma like symptoms in girls who become overweight or obese during the school years. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001;163:1344–1348.
33. Celletti FL, Waugh JM, Amabile PG i wsp. Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression. *Nature Medicine.* 2001;7:425–429.
34. Chaffee BW, Weston S. J. The association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review with meta-analysis. *Journal of Periodontology.* 2010;81:1708–1724.
35. Chen NG, Holmes M, Reaven GM: Relationship between insulin resistance, soluble adhesion molecules, and mononuclear cell binding in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3485–3489.
36. Cholewa M, Ignasiak W, Radwan-Oczko M.: Stan przyzębia a wskaźnik BMI u chorych dializowanych — badania pilotażowe. *Dent Med Probl.* 2013;50(4):424–431.
37. Choromańska K, Choromańska B, Dąbrowska E, Bączek W i wsp. Saliva of obese patients — is it different? *Postepy Hig Med Dosw.* 2015;2:1190–1195.
38. Cinti S. The adipose organ. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2005;73:9–15.
39. Cinti S. The role of brown adipose tissue in human obesity. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 2006;16:569–574.
40. Constans J, Conri C. Circulating markers of endothelial function in cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta.* 2006;368(1–2):33–47.
41. Couffinhal T, Duplaa C, Labat L, i wsp. Tumor necrosis factor-alpha stimulates ICAM-1 expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb.* 1993;13:407–414.
42. Cousin B, Bascands-Viguerie N, Kassis N i wsp. Cellular changes during cold acclimation in adipose tissues. *Journal of Cellular Physiology.* 1996;167:285–289.
43. Czerwińska E, Walicka M, Marcinowska-Suchowierska E. Otyłość — czy zawsze prosta? *Post N Med.* 2013;4:307–310.
44. Deane JD, Halcox JP, Havelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115:1285–1295.
45. De Campos MM, Kobayashi FY, Barbosa T. de S, Costa S i wsp. Characteristics of salivary secretion in normal-weight, overweight and obese children: a preliminary study. *Odontology.* 2013;102(2):318–324.
46. de Jong-Lenters M, van Dommelen P, Schuller AA, Verrips EH. Body mass index and dental caries in children aged 5 to 8 years attending a dental paediatric referral practice in the Netherlands. *BMC Res Notes.* 2015;8:738.
47. Deshpande NC, Amrutiya MR. Obesity and oral health — Is there a link? An observational study. *J Indian Soc Periodontol.* 2017;21:229–233.
48. Deszczyńska K, Górka R. Ocena wybranych parametrów tkanek przyzębia i higieny jamy ustnej u pacjentów z nadwagą i otyłością *Magazyn Stomatologiczny.* 2018;10:70–73.
49. Dursun E, Akalin FA, Genc T, Cinar, N i wsp. Oxidative Stress and Periodontal Disease in Obesity. *Medicine.* 2016;95(12):3136–3137.



50. Dyba J, Lenkowski M, Surdacka A. Evaluating the diagnostic potential of saliva in respect of periodontal disease as well as changes occurring within the endothelium. *Dent Forum*. 2017;45(1):21–25.
51. Dyba J, Surdacka A, Otyłość – epidemia XXI wieku. *Dent Forum*. 2019;47(1):29–35.
52. Elger W, Kiess W, Körner A, Schrock A i wsp. Influence of overweight/obesity, socio-economic status, and oral hygiene on caries in primary dentition. *J Invest Clin Dent*. 2019;10:12394.
53. Estelles A, Dalmau J, Falco C, Berbel O i wsp. Plasma PAI-1 levels in obese children—effect of weight loss and influence of PAI-1 promoter 4G/5G genotype. *Thromb Haemost*. 2001;86:647–652.
54. Eurostat. Almost 1 adult in 6 in the EU is considered obese. European Health Interview Survey. 2016. Dostęp: <https://ec.europa.eu/eurostat/documents/2995521/7700898/3-20102016-BP-EN.pdf/c26b037b-d5f3-4c05-89c1-00bf0b98d646> [01.03.2019]
55. Fantuzzi G, Braunschweig C. Adipose Tissue and Adipokines in Health and Disease. *Nutrition and Health*. Humana Press, Totowa NJ, 2014.
56. Farooqi IS, O’Rahilly S. Monogenic obesity in humans. *Annu Rev Med*. 2005;56:443–458.
57. Fenoll-Palomares C, Muñoz-Montagud JV, Sanchiz V, Herreros B, i wsp. Unstimulated salivary flow rate, pH, and buffer capacity of saliva in healthy volunteers. *Rev Esp Enferm Dig*. 2004;96:773–783.
58. Ferguson MA, Gutin B, Owens S, Barbeau P i wsp. Effects of physical training and its cessation on the hemostatic system of obese children. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1999;69(6):1130–1134.
59. Flier JS, Cook KS, Usher P i wsp. Severely impaired adiponin expression in genetic and acquired obesity. *Science*. 1987;237:405–408.
60. Foley JD, Sneed JD, Steinhubl SR, Kolasa J i wsp. Oral fluids that detect cardiovascular disease biomarkers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2012;114(2):207–214.
61. Fonseca F. A. H. i Izar M. C. O. Endothelial Biomarkers. *Endothelium and Cardiovascular Diseases*. 2018;229–233.
62. Forslund HB, Lindroos AK, Blomkvist K, Hakeberg M i.wsp. Number of teeth, body mass index, and dental anxiety in middle-aged Swedish women. *Acta Odontol Scand*. 2002;60(6):346–352.
63. Fotis L, Agrogiannis G, Vlachos IS, i wsp. Intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 and vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1 at the early stages of atherosclerosis in a rat model. *In Vivo*. 2012;26:243–50.
64. Fulcher GR, Farrer M, Walker M i wsp. A comparison of measurements of lean body mass derived by bioelectrical impedance, skinfold thickness and total body potassium. A study in obese and non-obese normal subjects. *Scand J Clin Lab Invest*. 1991;51:245–253.

65. Galkina E, & Ley K. Vascular Adhesion Molecules in Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2007;27(11):2292–2301.
66. Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F i wsp. A Proposed Model Linking Inflammation to Obesity, Diabetes, and Periodontal Infections. *Journal of Periodontology*. 2005;76(11):2075–2084.
67. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA i wsp. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease:current state and future directions. *Periodontol 2000* 2009;50:52–64.
68. Giordano A, Smorlesi A, Frontini A i wsp. White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. *Eur J Endocrinol*. 2014;10;170(5):159–71.
69. Glowinska B, Urban M, Peczynska J, Florys B. (2005]. Soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and selectins (sE selectin, sP selectin, sL selectin) levels in children and adolescents with obesity, hypertension, and diabetes. *Metabolism*. 2005;54(8):1020–1026.
70. Gómez-Ambrosi J, Catalán V, Rodríguez A, Ramírez B i wsp. Involvement of serum vascular endothelial growth factor family members in the development of obesity in mice and humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2010;21(8):774–780.
71. Hamam MA, El-Agamy OM, Nosair NA, Hamdoun M. Sh.Study of Soluble Thrombomodulin as an Early Marker of Endothelial Cell Injury in Obese Children. *Annals of Pediatric Surgery*. 2009;5(2)126–131.
72. Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat. Med.*, 2013;19:1252–1263.
73. Haslam D. Obesity: a medical history. *Obesity Reviews*. 2007;8(1):31–6.
74. Hausman GJ, Richardson RL. Adipose tissue angiogenesis. *J Anim Sci*. 2004;82:925–34.
75. Hoeben A. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. *Pharmacological Reviews*. 2004;56(4):549–580.
76. Holder S, Kaul R, Angrish P, Saha S i wsp. Association between Obesity and Oral Health Status in Schoolchildren: A Survey in Five Districts of West Bengal, India. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2018;11(3):233–237.
77. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2001;85(2):162–169.
78. Idrees M, Nassani M, Kujan O. Assessing the association between unstimulated whole salivary flow rate (UWSFR) and oral health status among healthy adult subjects: A cross-sectional study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2018;23(4):384–390.
79. Inoue M, Itoh H, Ueda M, Naruko T i wsp. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Expression in Human Coronary Atherosclerotic Lesions : Possible Pathophysiological Significance of VEGF in Progression of Atherosclerosis. *Circulation*. 1998;98(20):2108–2116.
80. Inoue H, Ono K, Masuda W, Morimoto Y, i wsp. Gender difference in unstimulated whole saliva flow rate and salivary gland sizes. *Arch Oral Biol*. 2006;51(12):1055–1060.

81. Iwan-Ziętek I, Szot K, Michalska M, Adamczyk P i wsp. Coexistence of endothelial dysfunction, fibrinolysis activation and diminished interleukin 6 level in morbid obesity. *Pomeranian J Life Sci.* 2018;64(1):16–21.
82. Jach M, Gońda M, Lisiecka K, Bober J i wsp. Wykorzystanie wybranych badań fizykochemicznych śliny w diagnostyce stomatologicznej na podstawie piśmiennictwa *Czas. Stomatol.*, 2008;61(5):353–358.
83. Kaczmarek U, Szymonajtis A, Kłaniecka B. Próchnica zębów i higiena jamy ustnej u dzieci szkolnych z prawidłową i nadmierną masą ciała *Nowa Stomatologia.* 2014;19(1):15–19.
84. Kadowaki T. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation.* 2006;116(7):1784–1792.
85. Kantovitz KR, Pascon FM, Rontani RM, Gavião MB Obesity and dental caries-A systematic review. *Oral Health Prev Dent.* 2006;4(2):137–144.
86. Kenchaiah S, Evans J, Levy D i wsp. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med.* 2002;347:305–13.
87. Kim J, Bachmann RA, Chen J. Interleukin-6 and Insulin Resistance. *Vitam Horm.* 2009;80:613–33.
88. Klichowska-Palonka M, Bachanek T. Possible use of saliva in the diagnostics and treatment review of the literature. *Przegl Lek.* 2011;68(2):114–117.
89. Kongstad J, Hvidtfeldt UA, Grønbaek M, Stoltze K i wsp. The Relationship Between Body Mass Index and Periodontitis in the Copenhagen City Heart Study. *Journal of Periodontology.* 2009;80(8):1246–1253.
90. Konopka T, Matuszewska A, Chrzęszczyk D, Zawada D.: Wskaźnik masy ciała a wybrane periodontologiczne parametry kliniczne. *Dent Med Probl.* 2011;48(2):189–197.
91. Knudsen ST, Foss CH, Poulsen P. L i wsp. E-selectin-inducing activity in plasma from type 2 diabetic patients with maculopathy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;284(1):1–6.
92. Lange DE, Plagmann HC, Eenboom A. Promesberger A. Clinical methods for the objective evaluation of oral hygiene. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift.* 1977;32:44–47.
93. Lehmann-Kalata A, Miechowicz I, Korybalska K, Swora-Cwynar E, Czepulis N, Łuczak J, Orzechowska Z, Grzymisławski M, Surdacka A, Witowski J. Salivary fingerprint of simple obesity. *Cytokine.* 2018;110:174–180.
94. Lehmann AP, Nijakowski K, Swora-Cwynar E, Łuczak J, Czepulis N, Surdacka A. Characteristics of salivary inflammation in obesity. *Pol Arch Intern Med.* 2020;130:297–303.
95. Lehmann-Kalata A, Surdacka A, Ciężka-Hsiao E. Otyłość i jej wykładniki w jamie ustnej – przegląd piśmiennictwa. *Dent Forum.* 2013;41(2):57–61
96. Lehmann-Kalata A, Surdacka A, Ciężka-Hsiao E, Swora-Cwynar E, Grzymisławski M. Kliniczna ocena stanu jamy ustnej oraz właściwości fizycznych i mikrobiologicznych śliny u otyłych pacjentów. *Dent Med Probl.* 2015;52(4):415–423.
97. Lei Y, Yongjiang X, Up-regulation of ICAM-1/VCAM-1 promotes the progression of periodontitis by activating the NF-κB pathway. *Int J Clin Exp Pathol.* 2016;9(6):6238–6244.

98. Lewiński A, Zygmunt A. Diagnostyka czynnościowa zaburzeń hormonalnych z elementami diagnostyki różnicowej. Wydawnictwo Czelej, Lublin 2011.
99. Ley K, Laudanna C, Cybulsky M. I i wsp. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nature Reviews Immunology*. 2007;7:678–689.
100. Lihn AS, Pedersen SB, Richelsen B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes*. 2005;6:13–21.
101. Lobstein T, Frelut M.L. Prevalence of overweight among children in Europe. *Obesity Rev*. 2003;4:195–200.
102. Loebig M, Klement J, Schmoller A, Betz i wsp. Evidence for a Relationship between VEGF and BMI Independent of Insulin Sensitivity by Glucose Clamp Procedure in a Homogeneous Group Healthy Young Men. *PLoS ONE*, 2010;5(9):12610. Dostęp: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0012610> [13.10.2019].
103. Løe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta odont. scand*. 1963;21:533–551.
104. Løe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *Journal of Periodontology*. 1967;38(6):610–616.
105. Lyon CJ, Hsueh W. A. Effect of plasminogen activator inhibitor-1 in diabetes mellitus and cardiovascular disease. *The American Journal of Medicine*. 2003;115(8):62–68.
106. Maciel SS, Feres M, Gonçalves T. ED, Zimmermann G. S i wsp. Does obesity influence the subgingival microbiota composition in periodontal health and disease? *Journal of Clinical Periodontology*. 2016;43(12):1003–1012.
107. Major-Gołuch A, Miazgowski T, Krzyżanowska-Świniarska B i wsp. Porównanie pomiarów masy tłuszczu u młodych zdrowych kobiet z prawidłową masą ciała za pomocą impedancji bioelektrycznej i densytometrii. *Endokr Otył Zab Przem Mat*. 2010;6(4):189–195.
108. Makrilia N, Kollias A, Manolopoulos, L i wsp. Cell Adhesion Molecules: Role and Clinical Significance in Cancer. *Cancer Investigation*. 2009;27(10):1023–1037.
109. Malathi N, Mythili S. Vasanthi H. R. Salivary Diagnostics: A Brief Review. *ISRN Dentistry*, 2014,1:1–8.
110. Manohar N, Hayen A, Fahey P, Arora A. Obesity and dental caries in early childhood: A systematic review and meta-analyses. *Obesity Reviews*. 2019;1–15.
111. Marin-Garcia J. Molecular Basis of Lipoprotein Disorders, Atherogenesis, and Thrombosis. *Post-Genomic Cardiology*. 2007;1:211–260.
112. Martens L, De Smet S, Yusof M. Y. PM, Rajasekharan S. Association between overweight/obesity and periodontal disease in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *European Archives of Paediatric Dentistry*. 2017;18(2):69–82.
113. Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Tominaga T i wsp. High serum concentrations of soluble E-selectin correlate with obesity but not fat distribution in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2002;51(7):932–934.

114. Mazur J. (red.). Zdrowie i zachowania zdrowotne młodzieży szkolnej w Polsce na tle wybranych uwarunkowań socjodemograficznych. Wyniki badań HBSC 2014. Instytut Matki i Dziecka, Warszawa 2015.
115. Mertens I, Van Gaal LF. Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system. *Obes Rev.* 2002;3:85–101.
116. Męczekalski B, Czyżyk A, Warenik-Szymankiewicz A. Rola genów w powstawaniu otyłości. Współczesne poglądy, patogenezą, aspekty kliniczne. *Endokrynol. Otył. Zab. Przem. Mat.* 2008;4(1):27–37.
117. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL i wsp. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med.* 2010;4:171–189.
118. Miller CS, Foley JD, Floriano PN, Christodoulides N i wsp. Utility of Salivary Biomarkers for Demonstrating Acute Myocardial Infarction. *Journal of Dental Research.* 2014;93(7):72–79.
119. Miyazawa-Hoshimoto S, Takahashi K, Bujo H i wsp. Elevated serum vascular endothelial growth factor is associated with visceral fat accumulation in human obese subjects. *Diabetologia.* 2003;46(11):1483–1488.
120. Modéer T, Blomberg CC, Wondimu B, Julihn A i wsp. (2010). Association Between Obesity, Flow Rate of Whole Saliva, and Dental Caries in Adolescents. *Obesity.* 2010;18(12):2367–2373.
121. Mole N, Kennel-de March A, Martin G i wsp. High levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in crevicular fluid of periodontitis patients with plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25:754–758.
122. Morita T, Yamazaki Y, Mita A, Takada K i wsp. (2010). A Cohort Study on the Association Between Periodontal Disease and the Development of Metabolic Syndrome. *Journal of Periodontology.* 2010;81(4):512–519.
123. Moura-Grec PG, Marsicano JA, Carvalho C. AP, Sales-Peres S. H. C. Obesity and periodontitis: systematic review and meta-analysis. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2014;19(6):1763–1772.
124. Muller W.A. Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Lab. Invest.* 2002;82:521–533.
125. Murawska-Ciałowicz E. Tkanka tłuszczowa — charakterystyka morfologiczna i biochemiczna różnych depozytów. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine / Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczałnej.* 2017;71:466–484.
126. Mutch N. J. The Role of Platelets in Fibrinolysis. *Platelets.* 2013;3:469–485.
127. Nascimento GG, Leite F. RM, Conceição DA, Ferrúa C. P. i wsp. Is there a relationship between obesity and tooth loss and edentulism? A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews.* 2016;17(7):587–598.

128. Nasuno A, Matsubara T, Hori T i wsp. Levels of soluble E-selectin and ICAM-1 in the coronary circulation of patients with stable coronary artery disease: association with the severity of coronary atherosclerosis. *Jpn Heart J* 2002;43:93–101.
129. National Heart, Lung, and Blood Institute, 2019 Dostęp: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/overweight-and-obesity> [01.03.2019]
130. Nayak R, D'souza B, Kotrashetti VS, Somannavar P. Correlation and comparison of body mass index and oral health status among urban South Indian population: A pilot study. *International Journal of Medicine and Public Health*. 2015;5(2):184–188.
131. Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B.: Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2007;293:444–452.
132. Ng M, Fleming T, Robinson M, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384(9945):766–781.
133. Nieto-Vazquez I, Fernández-Veledo S, Krämer DK, Vila-Bedmar, R i wsp. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2008;114(3):183–194.
134. Nijakowski K, Surdacka A. Ślina jako płyn biologiczny w diagnostyce chorób ogólnoustrojowych – przegląd piśmiennictwa. *Dent Forum*. 2018;46(2):96–104.
135. Nikolopoulos GK, Bagos PG, Tsangaris I, Tsiara C. G i wsp. The association between plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) levels, PAI-1 4G/5G polymorphism, and myocardial infarction: a Mendelian randomization meta-analysis. *Clin Chem Lab Med*. 2014;52(7):937–950.
136. Novikova V, Gurova M, Gurina O, i wsp. GP217 Markers of endothelial dysfunction sVCAM-1, VEGF and metabolic status in obese adolescents *Archives of Disease in Childhood*. 2019;104:118–119.
137. Oberkofler H, Dallinger G, Liu YM i wsp. Uncoupling protein gene: quantification of expression levels in adipose tissues of obese and nonobese humans. *Journal of Lipid Research*. 1997;38:2125–2133.
138. Okamoto T, Tanigami H, Suzuki K, i Shimaoka M. Thrombomodulin: A Bifunctional Modulator of Inflammation and Coagulation in Sepsis. *Critical Care Research and Practice*, 2012,1–10.
139. Ouchi N, Kihara S, Arita Y i wsp. Novel modulator for endothelial adhesion molecules. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 1999;100:2473–2476.
140. Paisi M, Kay E, Kaimi I, Witton R i wsp. Obesity and caries in four-to-six year old English children: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2018;18(1):267.
141. Pankow JS, Decker PA, Berardi C, Hanson N. Q i wsp. Circulating cellular adhesion molecules and risk of diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetic Medicine*. 2016;33(7):985–991.

142. Pannunzio E, Amancio OM, Vitale MS, Souza DN i wsp. Analysis of the stimulated whole saliva in overweight and obese school children. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 2010;56:32–36.
143. Parsons TJ, Power C, Logan S, Summerbell CD. Childhood predictors of adult obesity: a systematic review. *Int J Obes.* 1999;23 (8):1–107.
144. Paulus P, Jennewein C. i Zacharowski K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers.* 2011;16(1):11–21.
145. Peeters A, Barendregt JJ, Willekens F, Mackenbach JP, Al Mamun A, Bonneux L. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Ann Intern Med.* 2003;138:24–32.
146. Pejcic A, Mirkovic D, Minic I, Stojanovic M The Association between Periodontal Disease and Obesity among Middle-aged Adults Periodontitis and Obesity. *J Metabolic Syndr.* 2016;5(3):208.
147. Petrie JR, Ueda S, Webb DJ, Elliott HL i wsp. Endothelial nitric oxide production and insulin sensitivity. A physiological link with implications for pathogenesis of cardiovascular disease. *Circulation.* 1996;93:1331–1333.
148. Pietrzykowska E, Wierusz-Wysocka B: Psychologiczne aspekty nadwagi, otyłości i odchudzania się. *Pol Merk Lek.* 2008;24(143):472.
149. Pigott R, Dillon LP, Hemingway IH i wsp. Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;187:584–589.
150. Pink R, Simek J, Vondrakova J i wsp. Saliva as a diagnostic medium. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czrch Repub.* 2009;153:103–110.
151. Polz-Dacewicz M, Strycharz-Dudziak M, Dworzański J, Stec A i wsp. Salivary and serum IL-10, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , VEGF levels in oropharyngeal squamous cell carcinoma and correlation with HPV and EBV infections. *Infectious Agents and Cancer.* 2016;11(1):45.
152. Porreca E, Di Febbo C, Fusco L, Moretta V i wsp. Soluble thrombomodulin and vascular adhesion molecule-1 are associated to leptin plasma levels in obese women. *Atherosclerosis.* 2004;172(1):175–180.
153. Prieto D, Contreras C, Sanchez A Endothelial Dysfunction, Obesity and Insulin Resistance. *Current Vascular Pharmacology.* 2014;12:412.
154. Prins JB, O’Rahilly S. Regulation of adipose cell number in man. *Clinical Sciences.* 1997;92:3–11.
155. Rabiei M, Maddah M, Ghamgosar M. Correlation Assessment of unstimulated whole saliva flow rate with anthropometric indices. *J Islam Dent Assoc Iran.* 2016;28(4):134–141.
156. Rega-Kaun G, Kaun C, Ebenbauer B, Jaegersberger G i wsp.. Bariatric surgery in morbidly obese individuals affects plasma levels of protein C and thrombomodulin. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis. J Thromb Thrombolysis.* 2019;47:51–56.
157. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel i wsp. The Vascular Endothelium and Human Diseases. *International Journal of Biological Sciences.* 2013;9(10):1057–1069.

158. Ramfjord SP. Indices for Prevalence and Incidence of Periodontal Disease. *J Periodont.* 1959;30:5.
159. Razani B, Chakravarthy MV, Semenkovich C. F. Insulin Resistance and Atherosclerosis. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America.* 2008;37(3):603–621.
160. Renehan AG, Tyson M, Egger, M i wsp. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *The Lancet.* 2008;371(9612]:569–578.
161. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation.* 2000;101:1767–1772.
162. Rosenwald M, Perdikari A, Rulicke T i wsp. Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. *Nature Cell Biology.* 2013;15:659–667.
163. Sachan A, Naresh S, Bitla AR. Utility of Saliva for Measurement of Thyroid Hormones. *Indian journal of Medical Biochemistry.* 2018;22(1):36–40.
164. Schinzari F, Tesouro M, Rovella V i wsp. Leptin stimulates both endothelin-1 and nitric oxide activity in lean subjects but not in patients with obesity-related metabolic syndrome. *J Clin Endocr Metab.* 2013;98:1235–1241.
165. Schwartz AR, Gold AR, Schubert N i wsp. Effect of weight loss on upper airway collapsibility in obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis.* 1991;144:494–8.
166. Sede M A, Ehizele A O. Relationship between obesity and oral diseases. *Niger J Clin Pract.* 2014;17:683–690.
167. Semmler C, Ashcroft J, Jaarsveld CH, i wsp. Development of overweight in children in relation to parental weight and socioeconomic status. *Obesity.* 2009;17:814–820.
168. Shaw K, O'Rourke P, Del Mar C i wsp: Psychological interventions for overweight or obesity. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2005;2:CD003818.
169. Shimazaki Y, Fu B, Yonemoto K, Akifusa S, i wsp.. Stimulated salivary flow rate and oral health status. *Journal of Oral Science.* 2017;59(1):55–62.
170. Shivakumar S, Srivastava A, Shivakumar G. C. Body Mass Index and Dental Caries: A Systematic Review. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry.* 2018;11(3):228–232.
171. Siemińska L, Tkanka tłuszczowa. Patofizjologia, rozmieszczenie, różnice płciowe oraz znaczenie w procesach zapalnych i nowotworowych, *Polish Journal of Endocrinology.* 2007;58:330–342.
172. Siervo M, Ruggiero D, Sorice R, Nutile T i wsp. Body mass index is directly associated with biomarkers of angiogenesis and inflammation in children and adolescents. *Nutrition.* 2012;28(3):262–266.
173. Siiteri PK. Adipose tissue as a source of hormones. *Am J Clin Nutr.* 1987;45:277–282.
174. Silha JV, Krsek M, Sucharda P, Murphy LJ. Angiogenic factors are elevated in overweight and obese individuals. *International Journal of Obesity.* 2005;29(11):1308–1314.



175. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 1964;22:121–35.
176. Singhal A. Endothelial dysfunction: role in obesity-related disorders and the early origins of CVD. *Proceedings of the Nutrition Society.* 2005;64(1):15–22.
177. Skowrońska B, Fichna M, Fichna P. Rola tkanki tłuszczowej w układzie dokrewnym. *Endokrynol. Otył Zab Przem Mat.* 2005;1(3):21–29.
178. Skurk T, Hauner H. Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. *Int J Obes.* 2004;28:1357–1364.
179. Soderberg S, Ahren B, Jansson JH, Johnson O i wsp. Leptin is associated with increased risk of myocardial infarction. *J Int Med.* 1999;246:409–418.
180. Somodi S, Seres I, Lőrincz H, Harangi M i wsp. Plasminogen Activator Inhibitor-1 Level Correlates with Lipoprotein Subfractions in Obese Nondiabetic Subjects. *International Journal of Endocrinology.* 2018;1:1–9.
181. Srikanthan A, Feyh H, Visweshwar J i wsp. Systematic review of metabolic syndrome biomarkers: a panel for early detection, management, and risk stratification in the West Virginian population, *International Journal of Medical Sciences.* 2016;13:25–38.
182. Srivastava K, Chandra S, Narang, R i wsp. E-selectin gene in essential hypertension: a case-control study. *Eur J Clin Invest.* 2018;48(1).
183. Strączkowski M, Lewczuk P, Dzienis-Strączkowska S, Kowalska I i wsp. Elevated soluble intercellular adhesion molecule-1 levels in obesity: Relationship to insulin resistance and tumor necrosis factor-[alpha ] system activity. *Metabolism.* 2002;51(1):75–78.
184. Suefui H, Ogawa H, Yasue H i wsp. Increased plasma level of soluble E-selectin in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2000;140:243–248.
185. Suvan J, D’Aiuto F, Moles DR, Petrie, A i wsp. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obesity Reviews.* 2011;12(5):381–404.
186. Szczeklik A. *Interna Szczeklika. Podręcznik chorób wewnętrznych 2012.* Medycyna Praktyczna, Kraków 2012.
187. Szydłarska D, Grzesiuk W, Kupstas A, Barandziak E: Ślina jako materiał diagnostyczny. *Forum Med Rodz.* 2008;2(6):454–464.
188. Štimjanin E, Babić N, Štimjanin-Koldžo D, Štimjanin H i wsp. The influence of various stimuli on the salivary flow rate *Folia Med. Fac. Med. Univ. Saraeviensis.* 2016;51(1):10–15.
189. Targher G, Bonadonna RC, Alberiche M, Zenere MB i wsp. Relation between soluble adhesion molecules and insulin sensitivity in type 2 diabetic individuals: role of adipose tissue. *Diabetes Care.* 2001;24:1961–1966.
190. Tatoń J, Czech A, Bernas M. *Otyłość — zespół metaboliczny.* Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007.
191. Thao Phuong Thi Tran, Trung Huynh Tran, Thuy Anh Vu Pham. Correlation Between Obesity And Periodontitis In Vietnamese Patients. 2018. Dostęp:<https://www.atlantispress.com/proceedings/idsm-17/25896079>.

192. Tofler GH, Massaro J, O'Donnell CJ, Wilson PWF i wsp. Plasminogen activator inhibitor and the risk of cardiovascular disease: The Framingham Heart Study. *Thrombosis Research*. 2016;140:30–35.
193. Tohda G, Oida K, Okada Y i wsp. Expression of thrombomodulin in atherosclerotic lesions and mitogenic activity of recombinant thrombomodulin in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:1861–1869.
194. Tomczyk M, Nowak W, Jaźwa A. Śródbłonek w fizjologii i patogenezie chorób. *Postepy Biochem*. 2013;59:357–365.
195. Torer N, Kayaselcuk F, Nursal TZ i wsp. Adhesion molecules as prognostic markers in pancreatic adenocarcinoma. *J Surg Oncol*. 2007;96:419–423.
196. Trøseid M, Lappegård KT, Mollnes TE, Arnesen H i wsp. Changes in serum levels of E-selectin correlate to improved glycaemic control and reduced obesity in subjects with the metabolic syndrome. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2005;65(4):283–290.
197. Ulbrich H, Eriksson EE, i Lindbom L. Leukocyte and endothelial cell adhesion molecules as targets for therapeutic interventions in inflammatory disease. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2003;24(12):640–647.
198. Urban M, Wojtkielewicz K, Głowińska B, Peczyńska J. Soluble thrombomodulin—a molecular marker of endothelial cell injury in children and adolescents with obesity. *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw*. 2005;11(2):73–7.
199. Virtanen OJ, Siren V, Multanen J, Farkkila M i wsp. Plasminogen activators and their inhibitors in human saliva and salivary gland tissue. *European Journal of Oral Sciences*. 2006;114(1):22–26.
200. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2000;21:697–738.
201. Waki H, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue. *Annu Rev Pathol*. 2007;2:31–56.
202. Wenzel J, Assmann JC, Schwaninger M. Thrombomodulin— a new target for treating stroke at the crossroad of coagulation and inflammation. *Curr Med Chem*. 2014;21:2025–2034.
203. WHO, Body Mass Index — BMI. Dostęp: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi> [18.08.2019].
204. WHO. The challenge of obesity in the WHO European Region and the strategies for response. 2007:1.
205. WHO. Obesity and overweight — Fact sheet. Dostęp: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> [22.10.2017].
206. Wideł MS, Wideł M. Mechanizmy przerzutowania i molekularne markery progresji nowotworów złośliwych. I. Rak jelita grubego, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 2006;60:453–470.

207. Wieczór R, Wieczór AM, Gadomska G, Stankowska K i wsp. Overweight and obesity versus concentrations of VEGF-A, sVEGFR-1, and sVEGFR-2 in plasma of patients with lower limb chronic ischemia. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*. 2016;17(11):842–849.
208. Willershausen B, Haas G, Krummenauer F, Hohenfellner K. Relationship between high weight and caries frequency in German elementary school children. *Eur J Med Res*. 2004;9:400–404.
209. Wilson PW, D'Agostino RB, Sullivan L i wsp. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk; the Framingham experience. *Arch Intern Med*. 2002;162:1867–72.
210. Winkler G, Lakatos P, Salomon F, Nagy Z i wsp. Elevated Serum TNF-alpha as a Link Between Endothelial Dysfunction and Insulin Resistance in Normotensive Obese Patients. *Diab Med*. 1999;16(3):207–211.
211. Wojtkielewicz K, Urban M. Wpływ zaburzeń lipidowych na stężenie trombomoduliny u dzieci z otyłością prostą, cukrzycą typu 1 i nadciśnieniem tętniczym samoistnym. *Endokrynol Ped*. 2007;1(18):19–26.
212. Wojtkielewicz K, Urban M, Peczyńska J, Głowińska B. Czy rozpuszczalna trombomodulina (STM) jest markerem uszkodzenia śródbłonna naczyń u dzieci i młodzieży z nadciśnieniem tętniczym? *Med. Wieku Rozw*. 2006;10(3):893–902.
213. Wojtkielewicz K, Urban M. Wpływ zaburzeń lipidowych na stężenie trombomoduliny u dzieci z otyłością prostą, cukrzycą typu 1 i nadciśnieniem tętniczym samoistnym. *Endokrynol Ped*. 2007;1(18):19–26.
214. Wronska A, Kmieć Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. *Acta Physiol (Oxf)* 2012;205:194–208.
215. Wyrzykowska P, Kasza A. Regulacja ekspresji genu PAI-1. *Postępy Biochem*. 2009;55(1):46–53.
216. Yamagishi K, Iso H. Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule and Cardiovascular Disease: An Epidemiological View. *J Atheroscler Thromb*. 2017;24:791–792.
217. Yamamoto K, Kurihara M, Matsusue Y, Imanishi i wsp. Whole saliva flow rate and body profile in healthy young adults. *Archives of Oral Biology*. 2009;54(5):464–469.
218. Yarmolinsky J, Bordin Barbieri N, Weinmann T i wsp. Plasminogen activator inhibitor-1 and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Scientific Reports*. 2016;6(1):17714.
219. Young T, Palta M, Dempsey J i wsp. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med*. 1993;328:1230–5.
220. Young T, Skatrud J, Peppard PE. Risk factors for obstructive sleep apnea in adults. *JAMA*. 2004;291:2013–2016.
221. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, i wsp. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet*. 2005;366:1640–1649.
222. Zafar MI, Mills K, Ye X i wsp. Association between the expression of vascular endothelial growth factors and metabolic syndrome or its components: a systematic review and meta-

## 10. Spis tabel

Tabela 1.	Klasyfikacja wagi wg. BMI . . . . .	14
Tabela 2.	Czynniki produkowane przez adipocyty oraz receptory obecne na ich powierzchni (Skowrońska, Fichna M i Fichna P, 2005; Waki i Tontonoz, 2007] . . . . .	18
Tabela 3.	Czynniki wydzielane przez śródbłonek naczyniowy (Paulus, Jennewein i Zacharowski, 2011; Fonseca i Izar, 2018] . . . . .	21
Tabela 4.	Czułość testu ELISA oraz wartość współczynnika zmienności CV (ang. Coefficient of Variation) wyrażona w procentach . . . . .	38
Tabela 5.	Porównanie wieku pacjentów z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35) . . . . .	40
Tabela 6.	Porównanie płci pacjentów z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35) . . . . .	40
Tabela 7.	Porównanie danych antropometrycznych kobiet i mężczyzn z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35). . . . .	41
Tabela 8.	Porównanie stomatologicznych parametrów klinicznych pacjentów z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35). . . . .	43
Tabela 9.	Korelacje pomiędzy zmiennymi klinicznymi w grupach: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35). . . . .	46
Tabela 10.	Zależność pomiędzy zmiennymi klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów . . . . .	47
Tabela 11.	Zależność pomiędzy BMI a parametrami klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów . . . . .	48
Tabela 12.	Porównanie prędkości wydzielania śliny niestymulowanej w grupach: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35). . . . .	48
Tabela 13.	Porównanie stężenia wybranych markerów śródbłonka w ślinie osób z grup: I (BMI < 24,9), II (BMI 25–34,9) i III (BMI > 35) . . . . .	49
Tabela 14.	Zależność pomiędzy wskaźnikiem masy ciała (BMI) a markerami śródbłonka w ślinie w całej badanej grupie pacjentów. . . . .	50

Tabela 15. Zależność pomiędzy wiekiem a parametrami klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów . . . . .	51
Tabela 16. Zależność pomiędzy wiekiem a markerami śródbłonka w całej badanej grupie pacjentów . . . . .	51
Tabela 17. Zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a parametrami klinicznymi w całej badanej grupie pacjentów . . . . .	52
Tabela 18. Zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a markerami śródbłonka w całej badanej grupie pacjentów . . . . .	53



Numer zęba									
<b>API</b>	17/16	16/15	15/14				24/25	25/26	26/27
	47/46	46/45	45/44	42/41	41/31	31/32	34/35	35/36	36/37

Numer zęba									
<b>GI</b>	14	11	26				14	11	26
	46	31	34				46	31	34

**Ocena stanu przyzębia i higieny jamy ustnej**  
Zęby szczęki (PD, CAL, GBI)


Zęby żuchwy (PD, CAL, GBI)


## 11.2. Zgoda na udział w badaniu

### ŚWIADOMA ZGODA NA UDZIAŁ W BADANIU KLINICZNYM

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
Klinika Chorób Wewnętrznych, Metabolicznych i Dietetyki  
Klinika Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji  
Katedra i Zakład Patofizjologii

#### „Ocena parametrów funkcji śródbrłnka naczyniowego w ślinie osób z otyłością”

Ja niżej podpisany(a) ..... oświadczam, że przeczytałem/am i zrozumiałem/am powyższe informacje dotyczące opisanego badania klinicznego oraz otrzymałem/am wyczerpujące, satysfakcjonujące mnie odpowiedzi na zadane pytania. Wyrażam dobrowolnie zgodę na udział w tym badaniu klinicznym i jestem świadomy/świadoma faktu, iż w każdej chwili mogę wycofać zgodę na udział w dalszej części badania klinicznego bez podania przyczyny. Przez podpisanie zgody na udział w badaniu nie zrzekam się żadnych należnych mi praw. Otrzymam kopię niniejszego formularza opatrzoną podpisem i datą.

Wyrażam zgodę, by dla kontroli poprawności wykonania badania klinicznego przedstawiciele krajowych, zagranicznych lub międzynarodowych instytucji nadzorujących badanie, mieli wgląd w moje dane osobowe oraz dokumentację medyczną (dane dotyczące mego stanu zdrowia) pod warunkiem, że są oni związani z badaniem. Zostałem/zostałam poinformowany/poinformowana, że administratorem danych będzie placówka, w której prowadzone jest badanie o tym, że mam prawo wglądu do moich danych i ich poprawiania oraz o tym, że są one podawane dobrowolnie. Przez podpisanie tego dokumentu potwierdzam również, że zostałem / zostałam poinformowany/poinformowana o sposobie przetwarzania danych z badania i że dane te będą weryfikowane przez ich porównanie z moją dokumentacją medyczną oraz, że dane te są zbierane jedynie w celu naukowej analizy badania.

Wyrażam zgodę na przetwarzanie danych w tym badaniu zgodnie z obowiązującym w Polsce prawem (Ustawa o Ochronie Danych Osobowych z 29.08.1997]. Zgadzam się na przekazanie moich anonimowych danych do innych krajów, zarówno w obrębie Europy jak i poza nią.

Dane analizowane przez odnośnie władze, reprezentantów Ministerstwa Zdrowia, agencje rządowe oraz Komisje Bioetyczne dostępne będą jedynie w postaci anonimowej. Zostałem/zostałam poinformowany/poinformowana, iż w przypadku wycofania zgody na udział w badaniu zgromadzone do tej pory dane mogą zostać wykorzystane i przetwarzane jako część bazy danych badania.

#### Pacjent:

.....  
Imię i nazwisko (drukowanymi literami)

.....  
Podpis

.....  
data złożenia podpisu

Oświadczam, że omówiłem/omówiłam przedstawione badanie z pacjentem/pacjentką używając zrozumiałych, możliwie prostych sformułowań oraz udzieliłem/udzieliłam informacji dotyczących natury i znaczenia badania.

#### Osoba uzyskująca zgodę na badanie

.....  
Imię i nazwisko (drukowanymi literami)

.....  
Podpis

.....  
data złożenia podpisu

Opracowano w oparciu o treści zawarte na stronie internetowej Komisji Bioetycznej przy WUM ([www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl](http://www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl))



### 11.3. Informacja dla pacjenta

#### „Ocena parametrów funkcji śródbłonna naczyniowego w ślinie osób z otyłością”

Szanowni Państwo,

Projekt badawczy skierowany jest do pacjentów cierpiących na otyłość prostą. Choroba ta z powodu nagromadzenia nadmiaru tkanki tłuszczowej, predestynuje do rozwoju wielu chorób, w tym zaburzeń układu krążenia, zespołu metabolicznego, cukrzycy, miażdżycy, nadciśnienia, zmian stawowych oraz bezdechu sennego. Nadmierna masa ciała stanowi także udokumentowany czynnik zwiększający ryzyko wystąpienia chorób jamy ustnej w tym chorób przyzębia oraz tkanek twardych zęba. Niekorzystny wpływ otyłości na ludzki organizm ma także swoje odzwierciedlenie we właściwościach biochemicznych śliny, która jako łatwo dostępny materiał biologiczny jest obecnie tematem badań wielu ośrodków naukowych.

Celem projektu jest ocena parametrów biochemicznych śliny oraz korelacja uzyskanych wyników z parametrami stanu jamy ustnej. Obliczenia pozwolą ocenić przydatność diagnostyczną śliny będącej materiałem biologicznym, zdecydowanie łatwiej dostępnym od krwi.

Plan badania zakłada przeprowadzenie profesjonalnego przeglądu stomatologicznego wzbogaconego o dokładną ocenę tkanek przyzębia. Pomiary parametrów przyzębia odbywają się za pomocą tępo zakończonych sondy periodontologicznej dzięki czemu są bezbolesne. Ponadto pacjent zostanie poproszony o wypluwanie śliny do wykalibrowanego zbiornika przez okres 20 minut w celu uzyskania próbki do badań biochemicznych.

Zabiegi wykonywane podczas badania nie wykraczają poza standardowe postępowanie a wszystkie czynności przeprowadzane będą przez wykwalifikowany personel medyczny.

Udział w badaniu jest dobrowolny, istnieje możliwość wycofania się z badania na każdym etapie jego trwania z prawem dalszego leczenia w tej samej klinice lub poradni.

Jeżeli powyższe informacje wydają się Pani/Panu niepełne lub ma Pani/Pan inne wątpliwości i pytania, zostaną one wyjaśnione przez przeprowadzającego badanie.

Wszystkie uzyskane informacje od Państwa przetwarzane będą wyłącznie na potrzeby prowadzonego badania i nie będą udostępniane osobom trzecim. Dane osobowe mają charakter poufny (zgodnie z Ustawą z dn. 29. 08. 97 roku o Ochronie Danych Osobowych Dz. Ust. nr. 133 poz. 883).

## 11.4. Zgoda komisji bioetycznej



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius  
ul. Fredry 10  
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60  
fax. (+48 61) 854 61 07  
www.bioetyka.ump.edu.pl

### Uchwała nr 961/15

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz.480); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. 2008 Nr 45, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie wzorów wniosków przedkładanych w związku z badaniem klinicznym, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 107 poz. 679, 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. 2010, Nr 194 poz. 1290); Ustawa z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz. U. 2011 nr 82 poz. 451); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 8 poz. 491); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznym z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

**Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 14 stycznia 2016r.**  
rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

**Kierownik projektu: dr hab. Anna Surdacka prof. UM**

**Miejsce prowadzenia badań:**

**Klinika Stomatologii Zachowawczej i Periodontologii, Wielkopolskie  
Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii, Katedra i Zakład Patofizjologii  
UM w Poznaniu**

**Główny badacz: lek. dent. Jakub Dyba**

**Członkowie zespołu  
badawczego:**

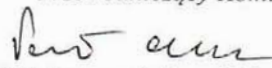
**dr hab. Katarzyna Korybalska, lek. dent. Marzena Dąbrowska, dr Ewelina  
Swora- Cwynar, prof. dr hab. Janusz Witowski, dr Agnieszka Zawada,  
mgr Małgorzata Włochal, prof. dr hab. Aleksander Barinow- Wojewódzki**

**Temat badań:**















**„Ocena zmian parametrów funkcji śródbłonna naczyniowego w ślinie  
osób otyłych w aspekcie rozwoju chorób przyzębia”.**

**Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku**

Przewodniczący Komisji

  
prof. dr hab. med. Paweł Chęciński

*Podpisy członków Komisji Bioetycznej podejmujących Uchwałę nr 961115 z dnia 14.01.2016r.*

Lp.	Imię i Nazwisko	Specjalność	Miejsce Pracy	Podpis
1.	Przewodniczący Komisji <b>prof. dr hab. Paweł Chęciński</b>	chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia	Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UMP, ZOZ MSWiA, ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań.	
2.	Z-ca Przewodniczącego Komisji <b>prof. dr hab. Janusz Wiśniewski</b>	filozof	Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, 61-614 Poznań.	
3.	prof. dr hab. Zygmunt Adamski	dermatologia i wenerologia	Katedra i Klinika Dermatologii UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań	
4.	dr Krystyna Babiak	prawnik	Kancelaria Rady Prawnego, dr Krystyna Babiak, ul. Czartoria 1/2, 61-102 Poznań.	
5.	prof. dr hab. Maciej Krawczyński	genetyka kliniczna, okulistyka	Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
6.	mgr Jolanta Lojko-Kolodziejczak	pielęgniarka	Pielęgniarka Oddziałowa Izby Przyjęć Pediatrii Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
7.	mgr Krystyna Malinger	farmaceuta	Apteka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
8.	prof. dr hab. Andrzej Marszałek	patomorfologia	Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów UMP, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań.	
9.	prof. dr hab. Maciej Owecki	choroby wewnętrzne, endokrynologia	Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.	
10.	prof. dr hab. Wojciech Służewski	pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne	Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
11.	prof. dr hab. Robert Spaczyński	ginekologia i położnictwo	Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
12.	dr med. Piotr Tomczak	onkologia kliniczna, radioterapia	Klinika Onkologii UMP, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań.	
13.	prof. dr hab. Joanna Twarowska-Hauser	psychiatria	Klinika Psychiatrii Dorosłych, Zakład Genetyki w Psychiatrii UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
14.	ks. prof. dr hab. Jerzy Troska	teologia, etyka	Wydział Teologiczny UAM, ul. Wieżowa 2/4, 61-111 Poznań.	
15.	prof. dr hab. Henryk Wysocki	choroby wewnętrzne, kardiologia	Wyższa Szkoła Pedagogiki i Administracji im. Mieszka I w Poznaniu, ul. Bułgarska 55, 60-320 Poznań.	