

Uniwersytet
Medyczny im. Karola
Marcinkowskiego w Poznaniu



Poznań
University of Medical
Sciences, Poland

STĘŻENIE WYBRANYCH MEDIATORÓW STANU ZAPALNEGO W ŚLINIE OSÓB Z OTYŁOŚCIĄ

ANNA LEHMANN – KALATA

ROZPRAWA DOKTORSKA

PROMOTOR: PROF. DR HAB. ANNA SURDACKA

KLINIKA STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ I PERIODONTOLOGII UM
W POZNANIU

POZNAŃ 2016

*Pragnę serdecznie podziękować Pani prof. dr hab. Annie
Surdackiej, za życzliwą opiekę i nieocenioną pomoc
w przygotowaniu niniejszej rozprawy doktorskiej.*

*Dziękuję Rodzicom za wsparcie i zachętę
oraz Krzysztofowi za pomoc edytorską.*

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	
1.1 Wprowadzenie.....	5
1.2 Przegląd piśmiennictwa.....	7
2. CELE PRACY.....	19
3. MATERIAŁ I METODYKA.....	20
3.1 Badanie kliniczne	22
3.1.1 Ocena stanu zębów.....	22
3.1.2 Ocena stanu higieny jamy ustnej.....	22
3.1.3 Ocena stanu dziąseł	23
3.1.4 Ocena stanu przyzębia.....	24
3.2 Badania śliny.....	26
3.2.1 Metodyka badania ilości śliny.....	26
3.2.2 Metodyka badania mikrobiologicznego śliny..	27
3.2.3 Metodyka badania pH śliny.....	29
3.2.4 Metodyka badania biochemicznego śliny.....	30
3.3 Metody statystyczne.....	32
4. WYNIKI.....	33
4.1 Dane demograficzne.....	33
4.2. Wyniki badań klinicznych.....	34
4.3. Wyniki badań śliny.....	41
4.3.1 Ilość wydzielania.....	41
4.3.2 Odczyn pH.....	42
4.3.3 Wyniki badań mikrobiologicznych.....	43
4.3.4 Wyniki badań biochemicznych.....	44
5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA.....	49
6. WNIOSKI.....	58
7. STRESZCZENIE.....	59
8. SUMMARY.....	61
9. PIŚMIENNICTWO.....	64
10. SPIS FOTOGRAFII.....	83
11. SPIS TABEL.....	84
12. SPIS RYCIN.....	86

SPIS SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY:

API	aproxymalny wskaźnik płytki (ang. <i>Approximal Plaque Index</i>)
BMI	indeks masy ciała (ang. <i>Body Mass Index</i>)
sCD40L	rozpuszczalna forma ligandu receptora CD40 (ang. <i>soluble ligand for the CD40 receptor</i>)
GI	wskaźnik dziąsłowy (ang. <i>Gingival Index</i>)
IL-15	interleukina 15 (ang. <i>Interleukin 15</i>)
LA	<i>Lactobacillus spp.</i>
MCP-1	białko chemotaktyczne dla monocytów (ang. <i>monocyte chemotactic protein-1</i>)
PLI	wskaźnik płytki nazębnej (ang. <i>Plaque Index</i>)
PPD	głębokość kieszonek przyzębnych (ang. <i>probing periodontal depth</i>)
PTX-3	pentraksyna 3 (ang. <i>Pentraxin 3</i>)
PUW-p	suma powierzchni zębów z aktywną próchnicą pierwotną lub wtórną (P) oraz z próchnicą przebytą, gdy zęby zostały usunięte z powodu próchnicy (U) lub wypełnione (W)
PUW-z	suma liczby zębów z aktywną próchnicą pierwotną lub wtórną (P) oraz z próchnicą przebytą, gdy zęby zostały usunięte z powodu próchnicy (U) lub wypełnione (W)
SBI	wskaźnik krwawienia ze szczeliny dziąsłowej (ang. <i>Sulcus Bleeding Index</i>)
SM	<i>Streptococcus mutans</i>
sICAM-1	rozpuszczalna forma międzykomórkowej cząstki adhezyjnej-1 (ang. <i>soluble intercellular cell adhesion molecule-1</i>)
TNF α -R1	receptor 1 dla czynnika martwicy guzów alfa (ang. <i>tumor necrosis factor alpha receptor 1</i>)
TNF α -R2	receptor 2 dla czynnika martwicy guzów alfa (ang. <i>tumor necrosis factor alpha receptor 2</i>)
WHR	stosunek obwodu pasa do obwodu bioder (ang. <i>Waist to Hip Ratio</i>)

1.1 WPROWADZENIE

Otyłość jest chorobą przewlekłą z silną tendencją do rodzinnego występowania. Chorują nie tylko dorośli, lecz również dzieci i młodzież. W ciągu ostatnich lat, według Światowej Organizacji Zdrowia, otyłość osiągnęła rozmiary pandemii. Najczęstszymi przyczynami schorzenia są przyjmowanie nadmiernej ilości pokarmu, zwłaszcza wysoko przetworzonych węglowodanów, oraz brak aktywności fizycznej. Coraz częściej omawia się również kwestię ewolucyjnego podłoża otyłości oraz istnienia tzw. „oszczędnego genotypu”. Badacze wskazują na istnienie dramatycznego rozdźwięku między cechami metabolizmu i fizjologii człowieka a warunkami współczesnego stylu życia.

Pomimo historycznych korzyści jakie przynosiła zdolność magazynowania tłuszczu, obecnie wiadomo, iż istnieje zależność pomiędzy nadwagą i otyłością a zwiększoną umieralnością ogólną oraz z powodu chorób układu krążenia. Wysoka śmiertelność oraz coraz wyższe koszty leczenia chorób, będących następstwem otyłości, skłaniają rządy wielu państw do prowadzenia szeroko zakrojonych badań nad przyczynami, przebiegiem i możliwością leczenia otyłości.

Nowy kierunek w badaniu problematyki otyłości wyznaczyło odkrycie funkcji wydzielniczej komórek tkanki tłuszczowej. Wytwarzane w niej substancje, tzw. adipokiny indukują rozwój insulinooporności a w konsekwencji chorób jej towarzyszących takich jak: miażdżyca, cukrzyca typu II, nadciśnienie tętnicze oraz choroba niedokrwienna serca.

Substancje wydzielane przez tkankę tłuszczową są obecne nie tylko we krwi ale również w ślinie. Wiele doniesień naukowych wskazuje, iż oprócz ogólnoustrojowego oddziaływania, otyłość wpływa również negatywnie na stan jamy ustnej. Wśród badaczy trwa dyskusja nad związkiem nadmiernej masy ciała z próchnicą zębów oraz zapaleniem przyzębia. Coraz więcej doniesień naukowych zwraca uwagę na zmiany w mikroflorze jamy ustnej w przebiegu otyłości.

W dobie ciągłego niedoinwestowania służby zdrowia, konieczne jest poszukiwanie nowych rozwiązań, pozwalających wykonywać badania przesiewowe na szeroką skalę. Wcześniejsze rozpoznanie i szybsze wdrożenie terapii pozwoliłoby uniknąć groźnych powikłań oraz umożliwiłoby ograniczenie kosztów przeznaczonych na leczenie chorób będących następstwem otyłości.

W świetle najnowszych badań, ślina wydaje się być doskonałym materiałem diagnostycznym, który może być z powodzeniem stosowany jako alternatywa dla krwi i moczu. Łatwość uzyskania i transportu próbek, duża trwałość wielu hormonów oraz enzymów stanowią o wysokiej przydatności tego płynu biologicznego. Dokładna analiza śliny może pomóc w zrozumieniu patomechanizmu wielu ciężkich chorób ogólnoustrojowych.

1.2. PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA

1. Otyłość.

Definicja otyłości podaje, iż jest to patologiczne nagromadzenie tkanki tłuszczowej w organizmie, przekraczające jego potrzeby fizjologiczne i zdolności adaptacyjne [1]. Nadmierne zwiększenie masy tkanki tłuszczowej prowadzi do upośledzenia czynności organizmu człowieka w wielu aspektach życia.

Z najnowszych doniesień wynika, iż 61% mężczyzn i 50% kobiet w Polsce cierpi na nadwagę lub otyłość. Co gorsza problem ten dotyka nie tylko dorosłych lecz w coraz większym stopniu – również dzieci i młodzież [2, 3]. Już w 1998 roku Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organization) określiła otyłość mianem światowej epidemii – pandemii, lecz niestety z roku na rok przybywa chorych cierpiących z powodu nadwagi lub otyłości oraz chorób im towarzyszących. Raport WHO z roku 2005 wskazuje, iż problem nadwagi dotyczy 1,6 mld a otyłości - ponad 400 mln ludzi na świecie [4, 5, 6].

Bardzo istotną rolę w powstaniu schorzenia odgrywają predyspozycje genetyczne, osobniczy typ metabolizmu, nawyki żywieniowe, rodzaj aktywności fizycznej a także status socjalno – ekonomiczny [7]. Jednakże najczęstszą przyczyną otyłości jest dysproporcja między ilością przyjmowanego pożywienia a wydatkiem energetycznym. W ciągu ostatnich lat zauważyć można zmiany w sposobie odżywiania. Wszeghobecne reklamy zachęcają do spożywania różnego typu przekąsek – batonów, chipsów, artykułów typu „fast food”; pokarmy te mają znikomą wartość odżywczą, zawierają natomiast ogromne ilości tzw. pustych kalorii, pochodzących z tłuszczu i cukrów prostych .

Zdaniem wielu badaczy współczesne rozpowszechnienie podatności na tycie jest ewolucyjną spuścizną po czasach, gdy nasi paleolityczni przodkowie zmagali się z okresami głodu, przeplatającymi się z krótkimi okresami obfitości pokarmu [8, 9]. Przez tysiące lat ludzie bardzo rzadko najadali się do syta, a zdobywanie żywności wiązało się ze znacznym wysiłkiem fizycznym [10]. Jak wskazuje Konarzewski: „ współczesne problemy z otyłością są w dużej mierze konsekwencją dramatycznego rozziwu między cechami metabolizmu i fizjologii odżywiania współczesnego człowieka, które wciąż są lepiej przystosowane do warunków charakterystycznych

dla środowisk paleolitycznych, niż radykalnie odmiennego, współczesnego stylu życia” [8].

Dotychczas nie wykryto pojedynczego genu odpowiedzialnego za występowanie zwiększonej masy ciała. Badania wskazują, iż dziedziczenie otyłości ma charakter wielogenowy [11, 12, 13]. Dowiedziono, iż choroba wystąpi u 2/3 potomstwa, jeśli oboje rodzice są otyli, u połowy - jeśli otyłe jest jedno z rodziców i tylko u 9% dzieci osób szczupłych [11, 12].

Nie tylko nadmierna podaż pokarmu może doprowadzić do nadwagi i otyłości. O wiele mniejszą grupę otyłych pacjentów stanowią ci, u których przyczyną choroby są zaburzenia hormonalne. Najczęstsze z nich to niedoczynność tarczycy oraz zespół Cushinga. Z kolei nadmierne gromadzenie tkanki tłuszczowej będące konsekwencją wady genetycznej (zespół Prader’a – Willie’go, Lawrence’a-Moona-Biedla, Turnera, Klinefeltera) obserwuje się jeszcze rzadziej [13].

Otyłość stanowi bezsprzecznie potężny czynnik ryzyka najgroźniejszych chorób XXI wieku, zwanych często „chorobami cywilizacyjnymi”. Do tej grupy zalicza się schorzenia sercowo – naczyniowe, zaburzenia gospodarki lipidowej, cukrzycę typu II oraz nowotwory [3, 14, 15]. Wykazano, iż otyłość jest bezpośrednią przyczyną znacznej ilości zachorowań na raka jelita grubego, jajników, prostaty, szyjki macicy, nerek oraz przełyku. Pomimo bardzo negatywnego wpływu otyłości na ludzki organizm potwierdzono, iż u kobiet, nadwaga bądź otyłość, mogą zmniejszać ryzyko zachorowania na osteoporozę oraz raka sutka okresu przedmenopauzalnego [16]. Wykazano również, iż nieco wyższe od normy wartości wskaźnika BMI, przekładają się na bardziej korzystne wskaźniki mineralnej gęstości kości. Dowodzi to istnienia zależności między większym obciążeniem szkieletu a pozytywnymi zmianami w metabolizmie tkanki kostnej [17].

Oprócz wielu chorób somatycznych, powodujących znaczne pogorszenie jakości życia otyłych pacjentów, istnieje jeszcze problem psychologiczny. Otyli często cierpią na depresję spowodowaną społecznym odrzuceniem i napiętnowaniem [18].

Istnieje wiele rodzajów klasyfikacji otyłości jednakże w praktyce klinicznej najczęściej spotyka się podziały oparte na przyczynach powstania oraz pomiarach antropometrycznych [19, 20].

Ze względu na etiopatogenezę wyróżniamy: otyłość prostą (alimentacyjną), spowodowaną dodatnim bilansem energetycznym, oraz otyłość wtórną, występującą w przebiegu endokrynopatii. Na podstawie badań antropometrycznych

wyodrębniono otyłość: typu brzusznego (typ jabłko), zwiększający ryzyko rozwoju powikłań sercowo naczyniowych, zespołu metabolicznego oraz nowotworów, oraz typu pośladowo-udowego (typ gruszka) [14].

W diagnostyce otyłości bardzo istotne jest określenie ilości oraz lokalizacji tkanki tłuszczowej.

W badaniach epidemiologicznych najczęściej stosuje się metody oparte na pomiarach antropometrycznych. Do najczęściej stosowanych należą:

1. BMI (ang. *Body Mass Index*), wskaźnik masy ciała obliczany na podstawie wzoru: masa ciała (kg) / wysokość(m)².
2. WC (ang. *Waist Circumference*), obwód pasa.
3. WHR (ang. *Waist to Hip Ratio*), stosunek obwodu pasa do obwodu bioder.
4. Pomiar grubości fałdu skórniego.
5. WtHR (ang. *Waist to Height Ratio*), stosunek obwodu pasa do wysokości ciała.

W 2011 roku Bergman i wsp. zaproponowali nowy wskaźnik, oceniający ilość tkanki tłuszczowej, BAI (ang. *Body Adiposity Index*), obliczany ze wzoru: obwód bioder(cm) / wysokość ciała(m)^{1,5} [21].

Leczenie otyłości jest procesem długotrwałym i zwykle bardzo trudnym dla pacjenta. Głównym założeniem terapii otyłości jest uzyskanie ujemnego bilansu energetycznego. Dąży się do stanu, w którym ilość energii dostarczonej z pożywieniem będzie mniejsza od ilości zużytej przez organizm. Proces leczniczy przebiega zwykle wielotorowo – najlepsze wyniki przynosi skojarzenie diety, wysiłku fizycznego i zmiany trybu życia [22, 23]. W niektórych przypadkach konieczne jest zastosowanie środków farmakologicznych lub zabiegów chirurgicznych [24, 25, 26].

2. Zmiany w jamie ustnej wywołane otyłością.

Złe nawyki żywieniowe czy wszechobecny cukier dodawany do większości produktów spożywczych to poniekąd wspólny mianownik schorzeń będących plagą XX i XXI wieku. Zarówno otyłość jak i próchnica zębów to choroby wieloprzyczynowe i wielowymiarowe. Potrzebne jest współistnienie wielu nakładających się na siebie czynników, koniecznych do rozwoju choroby. W przypadku zmian próchnicowych, okolicznościami warunkującymi jej powstanie są: płytka nazębna, substrat (węglowodany, głównie sacharoza), podatność zęba oraz czas oddziaływania patogenów [27, 28]. Powyższe zbieżności zdecydowały, iż

badanie korelacji otyłości i próchnicy znalazło się w kręgu zainteresowań wielu naukowców z całego świata [28, 29].

Jednym z pierwszych badań tego typu, w których szukano zależności pomiędzy liczbą utraconych zębów a wskaźnikiem BMI były badania przeprowadzone przez Johanssona i wsp. (1994) na dużej grupie 2202 osób dorosłych [30], które potwierdziły wskazaną korelację. Larsson i wsp. uzupełnili tę teorię rok później na podstawie wyników badań przeprowadzonych na grupie 181 nastolatków. Analizowali wpływ BMI na liczbę powierzchni zębów z próchnicą i zębów wypełnionych a w diagnostyce próchnicy zębów wykorzystali dodatkowo zdjęcia skrzydłowo-zgryzowe [31]. Z kolei inne badania (Chen i wsp., z 1998 roku) prowadzone na ponad pięcioletniej grupie otyłych 3-letnich dzieci nie potwierdziły występowania zależności między próchnicą a BMI [32]. W świetle najnowszych doniesień wciąż jednak nie można wyciągnąć jednoznacznych wniosków. Chakravarthy i wsp. znaleźli pozytywną korelację między BMI a ryzykiem próchnicy, badając pacjentów między 15 a 19 rokiem życia. Te same badania jednakże prowadzone w grupie 12-14 latków już nie potwierdziły wpływu otyłości na ryzyko zachorowania na próchnicę [33], natomiast Honne i wsp. wykazali taką korelację w grupie młodzieży 13-15 letniej [34]. Podobne wyniki uzyskano mierząc BMI i prowadząc badania radiologiczne bocznych zębów 15-latków (*Alm i wsp.* 2011) [35].

Bardzo interesująca wydaje się być praca Modeera i wsp., w której poddano analizie wpływ otyłości na wydzielanie śliny i próchnicę zębów u młodzieży. Badania te jednoznacznie wykazały, iż u otyłych ilość śliny wydzielanej dobowo zmniejsza się, a liczba ubytków próchnicowych ma tendencję zwykłą [36]. W starszych grupach wiekowych również obserwuje się znaczne rozbieżności. Sheiham i wsp. wykazali, iż pacjenci powyżej 65 r. ż., posiadający ponad 20 własnych zębów – z dużym prawdopodobieństwem zachowują BMI w granicach normy [37], jednakże de Andrade nie znalazł potwierdzenia tej tezy. Wyniki jego badań nie wskazały korelacji między BMI a liczbą zębów u seniorów [38].

Kolejnym poważnym schorzeniem jamy ustnej, w świetle badań, skorelowanym z otyłością, jest choroba przyzębia. Jest to przewlekły stan zapalny struktur otaczających ząb (dziąsła, cementu korzeniowego, ozębnej i kości wyrostka zębodołowego) rozwijający się w wyniku zaburzenia równowagi pomiędzy bakteriami płytki nazębnej a układem odpornościowym gospodarza. Drobnoustroje,

wchodzące w skład biofilmu, powodują uszkodzenie wspomnianych struktur przyzębia bezpośrednio lub za pośrednictwem mediatorów. Wywołany w ten sposób proces zapalny aktywuje komórki immunokompetentne do uwalniania szeregu cytokin, wchodzących w skład kaskady zapalenia. Kluczową rolę odgrywają w nim cytokiny prozapalne, takie jak IL-1, IL-6, IL-8 czy TNF- α [39, 40]. Co ciekawe, substancje te wydzielane są nie tylko przez struktury przyzębia objętego stanem zapalnym lecz również przez tkankę tłuszczową [41].

Pierwszymi badaczami, którzy zwrócili uwagę na możliwość pozytywnej korelacji otyłości i zapalenia przyzębia, byli Perlstein i Bissada. Ich przełomowe badania zostały przeprowadzone na szczurach. Próbowano odpowiedzieć na pytanie, czy nadciśnienie lub otyłość są w stanie modyfikować przebieg zapalenia przyzębia. Zostało ono sztucznie wywołane poprzez mechaniczne podrażnienie dziąseł ligaturą. W grupie zwierząt otyłych i z nadciśnieniem zapalenie przyzębia było najbardziej zaawansowane [42]. Dopiero w 1998 roku Saito i wsp. zdołali potwierdzić tezę wysuniętą przez Perlstein i Bissadę analizując wyniki badań prowadzonych u otyłych pacjentów [43]. W ciągu ostatnich lat wzrosła liczba badań naukowych potwierdzających powiązanie otyłości z *periodontitis*. Jeden z większych projektów badawczych (*Al Zahrani i Bissada 2003*), w ramach którego zbadano w sumie ponad 30 tys. osób w wieku od 18 do 90 lat, wykazał powyższą korelację, ale tylko w grupie wiekowej od 18-34 lat. Otyłość mierzono za pomocą wskaźników BMI oraz WC a w przyzębiu wzięto pod uwagę kliniczną utratę przyczepu łącznotkankowego (powyżej 3 mm) oraz kieszenie przyzębne o głębokości ponad 4 mm [44].

Dalla Vecchia znalazł współzależność otyłości i *periodontitis* u pacjentów w wieku między 30 a 65 r. ż. [45]. Wyniki tych badań potwierdził w swojej pracy Kumar i wsp. Oprócz miary BMI do oceny otyłości, zastosował wskaźnik CPITN do określenia skali zapalenia przyzębia [46]. W opozycji do powyższych tez stanęli Saxlin i wsp., którzy w swoich badaniach nie wykazali wyżej wymienionej zależności [47].

Oprócz bardzo powszechnie występujących schorzeń jamy ustnej towarzyszących otyłości takich jak próchnica i *periodontitis*, na szczególną uwagę zasługuje również kserostomia. Niektóre preparaty stosowane w farmakologicznym leczeniu otyłości wykazują działanie uboczne w postaci zahamowania sekrecji śliny [48]. Wykazano związek pomiędzy suchością jamy ustnej a zażywaniem leków zawierających

fenfluraminę, dexfenfluraminę oraz sibutraminę [48, 49]. Preparaty te hamują zwrotny wychwyt noradrenaliny i serotoniny w podwzgórzu i podstawowym ich działaniem jest zwiększenie uczucia sytości [50,51,52].

Zmiany chorobowe w jamie ustnej towarzyszące nadwadze i otyłości, wpływają w znaczący sposób na mikroflorę jamy ustnej. Bardzo interesujące wydają się badania Goodsona i wsp., którzy próbują odpowiedzieć na pytanie, czy bakterie jamy ustnej są w stanie wywołać otyłość [53] ? Z próbek śliny wyizolowano i zidentyfikowano DNA bakterii. Okazało się, iż w ślinie 98,4% otyłych kobiet zidentyfikowano obecność bakterii *Selenomonas noxia*. Autorzy wysunęli hipotezę o indukcji procesów zapalnych prowadzących do wystąpienia otyłości przy udziale tej bakterii. Jednakże nie tylko obecność patogenów w ślinie u otyłych może być wskaźnikiem diagnostycznym. Zaobserwowano, że populacja bakterii pożytecznych (*Bifidobacterium*) również podlega wahaniom u osób otyłych. Shillitoe i wsp. zbadali próbki kału i śliny osób otyłych i cierpiących na cukrzycę typu II. Miano *Bifidobacterium* u chorych okazało się być znacznie niższe niż u zdrowych z grupy kontrolnej. Następnie pacjentów z grupy badanej poddano zabiegowi chirurgicznemu (by-pass żołądka). Po dwóch tygodniach od operacji ilość *Bifidobacterium* wzrosła 10-krotnie [54]. Czy istnieje więc możliwość korelacji poszczególnych gatunków bakterii jamy ustnej ze wskaźnikiem BMI? Wciąż brakuje na to jednoznacznych dowodów, jednakże ciągły rozwój nauk medycznych pozwala mieć nadzieję na rozstrzygnięcie tej kwestii [55, 56].

3. Tkanka tłuszczowa jako gruczoł wydzielniczy.

Już w połowie ubiegłego wieku badacze wysunęli hipotezę, że tkanka tłuszczowa to nie tylko magazyn energii. Próbowano wykazać, iż oddziaływanie między adipocytami a innymi tkankami jest dwukierunkowe [57]. W roku 1987 amerykański badacz Siiteri podkreślił znaczenie i rolę tkanki tłuszczowej w metabolizmie hormonów płciowych [58], jednakże przełom w tych badaniach nastąpił dopiero w 1994 r., gdy Friedman i wsp. odkryli leptynę, hormon produkowany przez adipocyty [59]. Stopniowo odkrywa się i opisuje funkcję nowych adipokin. Do biologicznie czynnych substancji produkowanych przez tkankę tłuszczową należą:

- cytokiny,
- białka związane z układem krzepnięcia,
- białka związane z układem dopełniacza,

- białka związane z układem immunologicznym,
- lipidy i białka związane z metabolizmem i transportem lipidów,
- enzymy związane z metabolizmem hormonów steroidowych,
- angiotensynogen i inne [60, 61, 62].

Tkanka tłuszczowa nie jest organem homogennym. Adipocyty zlokalizowane podskórną gromadzą zapasy tłuszczu w sytuacji nadmiernego dowozu energii i przy jej zbyt małym zużyciu. Gdy zdolność magazynowania tłuszczu w tej tkance się wyczerpie (ze względu na predyspozycje genetyczne lub stres), dochodzi do odkładania się zapasów tłuszczu w obrębie jamy brzusznej, wątroby i mięśni (tzw. ektopowe depozyty tłuszczu) [63]. Bardzo interesujące są różnice w aktywności wydzielniczej adipocytów w poszczególnych obszarach ciała. Adipocyty podskórne charakteryzują się większą wrażliwością na insulinę i większą aktywnością lipogenną. Natomiast komórki tkanki tłuszczowej brzusznej są bardziej aktywne metabolicznie, „skłonne” do lipolizy oraz wydzielania adipokin prozapalnych, które w konsekwencji zmniejszają wrażliwość tkanek na insulinę [57, 64].

Pierwsze doniesienia łączące otyłość z procesem zapalnym pochodzą z końca ubiegłego wieku. Hotamisligil i wsp. dostrzegli zwiększoną aktywację zapalną w tkance tłuszczowej otyłych szczurów. Podobne badania przeprowadzono u ludzi: w tkance tłuszczowej i mięśniach otyłych stwierdzono nadmierną ekspresję TNF α [65, 66, 67]. Mimo braku klinicznie jawnego procesu zapalnego tkanka tłuszczowa okazała się być źródłem cytokin prozapalnych [57, 68].

Jednym z lepiej poznanych mechanizmów powodującym aktywację kaskady zapalnej jest stres oksydacyjny. Jego przyczyną, u osób otyłych, jest zwiększone dostarczanie glukozy do tkanki tłuszczowej, co zwiększa wytwarzanie wolnych rodników tlenu [65].

Obok patomechanizmu stresu oksydacyjnego istnieje wiele hipotez mających na celu potwierdzić i wyjaśnić rolę subklinicznego procesu zapalnego u pacjentów otyłych. Jedna z nich zakłada, iż zwiększona aktywacja zapalna w otyłości jest wynikiem połączenia właściwości adipocytów w i makrofagów oraz ich wzajemnego wpływu na własną aktywność poprzez uwalnianie lipidów i cytokin prozapalnych [65, 69]. Inna hipotez mówi o reakcji zapalnej jako efekcie hipoksji powiększonych adipocytów i makrofagów, oddalonych od naczyń krwionośnych [70]. Kolejna z

hipotez opisanych w literaturze dopuszcza możliwy wpływ infekcji bakteryjnej na aktywację zapalną, jednakże badania te prowadzone były tylko *in vitro*, brak jest dowodów pochodzących z badań klinicznych [71, 72].

W wielu badaniach wykazano związek między aktywacją zapalną u otyłych a wystąpieniem insulinooporności oraz zespołu metabolicznego. Bardzo interesująca jest teoria mówiąca o tym, iż reakcja zapalna w otyłości jest mechanizmem obronnym, chroniącym organizm przed osiągnięciem punktu, w którym nadmiernie zgromadzony tłuszcz uniemożliwi poruszanie [57, 65, 73].

4. Markery stanu zapalnego ślinie.

Ślina jest jednym z najważniejszych płynów ustrojowych. Jej skład i właściwości odgrywają bardzo ważną rolę w homeostazie ustrojowej. Poprzez utrzymywanie w jamie ustnej wilgotnego środowiska o właściwościach buforu, pełni ona nie tylko funkcję ochronną, ale również przeciwbakteryjną i remineralizującą. Bierze udział w odczuwaniu smaku, regulacji gospodarki wodnej oraz tworzeniu płytki nazębnej [74, 75, 76]. Pobieranie śliny jako materiału diagnostycznego wiąże się z niskim kosztem, jest nieinwazyjne i bezstresowe, nie wymaga obecności wykwalifikowanego personelu medycznego. Transport i przechowywanie tego materiału biologicznego nie wymaga specjalnej procedury a związki oznaczane w ślinie zwykle charakteryzują się dużą trwałością [74, 77, 78]. Badania nad wykorzystaniem śliny, jako alternatywy dla krwi i moczu, skupiają się obecnie na poszukiwaniu rozmaitych markerów, które mogłyby być czynnikami prognostycznymi w etiologii chorób ogólnoustrojowych [74]. W chwili obecnej w praktyce klinicznej najczęściej oznaczanymi związkami w ślinie są hormony [79]. Ślinę również analizuje się w celu zdiagnozowania niektórych chorób autoimmunologicznych (np. Zespołu Sjögrena), wykrycia zakażeń bakteryjnych (np. *Helicobacter pylori*) czy wirusowych (HBV, HCV, HIV) [80, 81, 82].

Coraz więcej przesłanek wskazuje na to, że ślina może być także wykorzystywana do prognozowania otyłości, diagnostyki zespołu metabolicznego oraz oceny ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych [65, 74, 83, 84, 85]. Jak już wspomniano tkanka tłuszczowa jest nie tylko magazynem energii lecz również aktywnym organem endokrynnym a produkty jej działalności wydzielniczej znaleźć można nie tylko we krwi lecz również w ślinie [77].

Jednym z lepiej poznanych czynników prozapalnych, wydzielanych przez adipocyty jest czynnik martwicy nowotworu- α (TNF- α). Jest to cytokina składająca się z 157 aminokwasów, wytwarzana głównie przez limfocyty T, makrofagi, monocyty, komórki śródbłonna, fibroblasty oraz mioocyty mięśni gładkich [85]. Istnieją dwa typy receptorów dla TNF- α : TNF- α R1 znajdujący się na większości komórek jądrzastych oraz TNF- α R2 występujący głównie na makrofagach, fibroblastach oraz komórkach śródbłonna [86,87]. Przyłączenie TNF- α do receptora TNF- α R1 indukuje aktywację domeny śmierci komórki co może prowadzić do apoptozy [88]. Natomiast pobudzenie TNF- α R2 prowadzi do aktywacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego kappa B (NF κ B), co zapewnia przeżycie komórki, ale jednocześnie prowadzi do aktywacji stanu zapalnego [86, 88]. Według danych z piśmiennictwa receptor 2 czynnika martwicy nowotworu α może być w przyszłości stosowany w terapii cukrzycy typu I oraz wielu innych chorób o podłożu autoimmunologicznym [89]. Udział TNF- α w procesie zapalnym polega na stymulowaniu i różnicowaniu limfocytów B i T, jak również wzmaganiu cytotoksyczności makrofagów i komórek NK (*natural killer*). TNF-alfa zwiększa także ekspresję wewnątrzkomórkowej cząstki adhezyjnej-1 (ICAM-1) na powierzchni komórek śródbłonna naczyniowego oraz syntezę innych mediatorów stanu zapalnego jak Il-1, Il-6, prostaglandyn oraz leukotrienów [86, 90]. Czynniki martwicy nowotworu- α wykazuje również działanie metaboliczne. Hamuje aktywność lipazy lipoproteinowej oraz zwiększa stężenie leptyny, co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju insulinooporności [65, 86, 91].

Wielu badaczy podejmuje próbę analizy stężenia TNF- α w ślinie. Gamal i wsp. z powodzeniem zastosowali ten biomarker do oceny ryzyka wystąpienia liszaja płaskiego [92]. Z drugiej strony Słotwińska i wsp. badali przydatność oceny obecności TNF- α w ślinie osób cierpiących z powodu *periodontitis*, nie wykazali różnic pomiędzy stężeniem tego biomarkera w ślinie osób zdrowych i cierpiących z powodu choroby przyzębia [93]. Również w przypadku analizy śliny w celu wczesnej diagnostyki raka płaskonabłonkowego jamy ustnej marker TNF- α nie okazał się przydatny [94]. Bardzo interesujące wydają się być szeroko zakrojone badania przesiewowe, prowadzone na ponad ośmiotysięcznej grupie dzieci, które przeprowadzili Goodson i wsp. Badacze wykazali, iż zmiany w stężeniu wybranych cytokin w ślinie mogą być wskaźnikiem podwyższonego ryzyka cukrzycy typu II [95].

Wśród produktów wydzielanych przez tkankę tłuszczową znaleźć można również interleukinę 15 (IL-15). Jest to cytokina o plejotropowym działaniu, oddziałująca na komórki układu immunologicznego oraz szereg innych komórek. Głównym źródłem IL-15 są monocyty i fibroblasty. Związek ten stymuluje proliferację aktywowanych limfocytów T oraz komórek NK. IL-15 wpływa na różnicowanie mioblastów i hamuje apoptozę miocytów, wykazuje działanie angiogenne oraz antyapoptyczne na komórki śródbłonka. Szerokie spektrum aktywności IL-15 powoduje, iż bardzo często umieszcza się ją na szczycie kaskady zapalnej [96, 97, 98]. Powszechnie jest oznaczanie IL-15 w surowicy krwi do diagnostyki wielu chorób ogólnoustrojowych o podłożu zapalnym takich jak toczeń układowy, reumatoidalne zapalenie stawów czy łuszczyca [99, 100]. W chwili obecnej trwają badania nad możliwością wykorzystania IL-15, zawartej w ślinie, do wczesnej diagnostyki astmy u dzieci [101].

Kolejnym, dobrze poznanym produktem wydzielniczej działalności tkanki tłuszczowej, jest czynnik chemotaktyczny monocytów 1 (MCP-1, *monocyte chemoattractant protein 1*). Białko to jest wytwarzane przez zaktywowane makrofagi, komórki śródbłonka i mięśni gładkich [102]. Jest cytokiną chemotaktyczną dla monocytów krwi obwodowej, która zapewnia migrację tych komórek do miejsca stanu zapalnego. MCP-1 hamuje fosforylację kinazy tyrozynowej receptora insuliny i obniża stymulowany insuliną dokomórkowy transport glukozy. Ponadto hamuje wzrost i różnicowanie adipocytów poprzez wpływ na ekspresję genów związanych z adipogenezą [57]. MCP-1 jest także czynnikiem chemotaktycznym dla bazofilów i pobudza je do wydzielania histaminy [103]. We krwi oznacza się stężenie MCP-1 w celu diagnostyki jak i prognozowania wielu chorób, m. in. zapalenia nerek [104, 105, 106], reumatoidalnego zapalenia stawów [107], jak również chorób sercowo naczyniowych [108]. Czynnikiem chemotaktyczny monocytów 1 jest również wykorzystywany jako wskaźnik diagnostyczny nie tylko podczas badania surowicy krwi ale również i śliny. Kurtis i wsp. wykazali przydatność oceny stężenia MCP-1 w ślinie do diagnostyki zapalenia przyzębia [109]. Barczyk i wsp. badali przydatność tego biomarkera do oceny zaawansowania przewlekłej obturacyjnej choroby płuc; nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniu MCP-1 w ślinie zdrowych i chorych na POChP [110].

Kolejną adipokina, biorącą udział w zapaleniu jest pentraksyna-3. Pentraksyny to grupa białek ostrej fazy, odgrywających ważną rolę podczas odpowiedzi immunologicznej. Są to glikoproteiny złożone z pięciu identycznych podjednostek. Wyróżniamy dwie grupy tych białek: krótkie i długie. Krótkie pentraksyny, takie jak białko C-reaktywne (CRP) i osoczowy amyloid P (SAP), są wytwarzane w wątrobie pod wpływem stymulacji przez interleukinę 6. Długa pentraksyna (PTX-3) jest wytwarzana w tkankach przez komórki jednojądrzaste w odpowiedzi na interleukinę 1β i $TNF-\alpha$, jak również lipopolisacharyd (LPS). Główną rolą pentraksyn jest rozpoznawanie patogenów i uszkodzonych komórek własnych oraz aktywacja klasycznej drogi dopełniacza oraz pobudzaniu fagocytozy [111].

Jest to cytokina będąca przydatnym wskaźnikiem uszkodzenia naczyń, jednakże dotychczas marker ten oznaczano jedynie we krwi [112, 113, 114]. Wzrost stężenia pentraksyny-3 w surowicy krwi jest związany z powikłaniami zdarzeń sercowo-naczyniowych jak również z zaawansowaniem procesu miażdżycowego [115]. Najnowsze doniesienia naukowe podają, iż PTX-3 oznaczona w ślinie może być pomocna do wczesnej diagnostyki i prognozowania zapalenia przyzębia [116, 117, 118].

Kolejnym markerem stanu zapalnego, który standardowo oznacza się w surowicy krwi jest kompleks CD40/CD40L. Częsteczka ta została funkcjonalnie rozpoznana na powierzchni limfocyту B. Odkrycie, iż jest również syntetyzowana w płytkach krwi, potwierdziło teorię o ogniwie łączącym hemostazę z reakcją zapalną [119, 120]. Częsteczka CD40 zaliczana jest do I typu transbłonowych białek należących do rodziny TNF. Najczęściej obserwowana jest na powierzchni limfocytów B, ale również wiadomo, że występuje na powierzchni innych komórek immunologicznych, takich jak monocyty i makrofagi oraz na powierzchni komórek nieimmunologicznych, jak fibroblasty i komórki śródbłónka [119, 121]. Częsteczka CD40L stanowi ligand dla CD40 i należy do II typu transbłonowych białek z nadrodziny TNF-podobnych. Znajduje się we wnętrzu płytek krwi, ulegając ekspresji powierzchniowej dopiero w momencie jej aktywacji. Uznawana jest ona za typowy marker aktywacji płytek krwi [119, 122, 123]. Funkcjonowanie przekaźnikowej funkcji CD40/CD40L polega na interakcji receptora i ligandu oraz ich związania na powierzchni płytki krwi. To wiązanie pobudza syntezę chemokin, cytokin, cząstek adhezyjnych i innych mediatorów stanu zapalnego. Obie cząstki szlaku CD40/CD40L samodzielnie nie pełnią określonej funkcji biologicznej, ale wchodząc

w skład kaskady zapalnej umożliwiają komunikację między innymi komórkami [119, 120]. Dotychczas kompleks CD40/CD40L oznaczany był we krwi w celu oceny ryzyka wystąpienia miażdżycy [121], zakażeń wirusem HIV [124], a w ostatnim czasie do diagnostyki chorób autoimmunologicznych takich jak toczeń układowy, reumatoidalne zapalenie stawów, zespół Sjögrena [125]. Trwają również badania nad rozpuszczalnym ligandem receptora CD40 (sCD40L) jako potencjalnym czynnikiem mogącym wpływać na rozwój choroby niedokrwiennej serca. Rozpuszczalny ligand receptora CD40 jest czynnikiem uwalnianym do osocza przez aktywowane płytki krwi. Następnie wiąże się on z receptorami CD40 występującymi na powierzchni limfocytów B, monocytów, makrofagów, komórek śródbłonna i mięśni gładkich w obrębie blaszki miażdżycowej. Stąd możliwy jest jego udział zarówno w procesach powstawania blaszki miażdżycowej, jak i jej destabilizacji. (126) (127) (128) (129). [126, 127, 128, 129].

Kolejnym mediatorem zapalenia, odgrywającym istotną rolę w otyłości i patogenezie chorób jej towarzyszących (zwłaszcza miażdżycy), jest międzykomórkowa molekula adhezyjna 1 (ICAM-1). Proteina ta pojawia się na powierzchni komórek śródbłonna, które oddziałując z antygenami obecnymi na powierzchni leukocytów, umożliwiają ich przyleganie do powierzchni śródbłonna jak również migrację do wnętrza komórki, pełniąc w ten sposób kluczową rolę w powstawaniu blaszki miażdżycowej [130]. Rozpuszczalna forma ICAM-1, sICAM-1, jest uwalniana w procesie proteolizy metabolicznej [131]. Podwyższony poziom sICAM-1 zaobserwowano u pacjentów z udokumentowaną miażdżycą naczyń wieńcowych i mózgowych oraz u pacjentów z cukrzycą. Bardzo interesujące są badania Hwanga i wsp., którzy wykazali, iż wzrost stężenia sICAM-1 w surowicy krwi, wyprzedza wystąpienie klinicznych objawów rozwijającej się miażdżycy [132]. Udowodniono również, iż podwyższone stężenie tej molekuly obserwuje się u pacjentów cierpiących na nowotwory [133]. Piśmiennictwo podaje, iż trwają próby wykorzystania śliny jako źródła tego biomarkera w przypadku ostrych zespołów wieńcowych [128].

Już od wielu lat ślina stanowi doskonały materiał diagnostyczny, którym posługują się lekarze i badacze w celu oceny stanu jamy ustnej. Bogate unaczynienie ślinianek oraz fakt, iż ślina stanowi częściowo przesącz osocza, warunkują zjawisko występowania w tym płynie ustrojowym komponentów pochodzących nie tylko z gruczołów ślinowych lecz wydzielanych w wielu innych tkankach i organach

ludzkiego organizmu. Być może dokładniejsza analiza składu śliny pozwoliłaby w przyszłości na szybsze wykrywanie i leczenie wielu chorób ogólnoustrojowych.

2. CELE PRACY

1. Ocena stanu klinicznego jamy ustnej, właściwości fizyko – chemicznych i mikrobiologicznych śliny u osób otyłych.
2. Ocena stężenia wybranych markerów stanu zapalnego w ślinie osób otyłych: TNF α -R1, TNF α -R2, PTX-3, IL-15, MCP-1, sICAM-1, sCD40L.
3. Próba określenia współzależności pomiędzy stopniem otyłości a stanem klinicznym jamy ustnej, właściwościami fizyko-chemicznymi, mikrobiologicznymi oraz biochemicznymi śliny.

3. MATERIAŁ I METODYKA

Badaniami objęto 125 pacjentów, obojga płci, w wieku od 20 do 65 lat. Grupę badaną stanowiło 59 pacjentów Kliniki Chorób Wewnętrznych, Metabolicznych i Dietetyki UM (BMI>30 kg/m²) a grupę kontrolną – 66 pacjentów Kliniki Stomatologii Zachowawczej i Periodontologii UM w Poznaniu, o prawidłowej masie ciała. Średnia wieku i wagi w grupie badanej wyniosła 34,9 lat i 106,1 kg (BMI 37) a w grupie kontrolnej odpowiednio 30 lat i 68,4 kg (BMI 22,2). Podział pacjentów ze względu na płeć przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Podział pacjentów ze względu na płeć w grupie badanej i kontrolnej.

	Kobiety	Mężczyźni	Razem
Grupa badana	46	13	59
% ogółu	36,80%	10,40%	47,20%
Grupa kontrolna	37	29	66
% ogółu	29,60%	23,20%	52,80%
Ogół	83	42	125

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę nr 189/14 Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Każdy pacjent został poinformowany o celu i rodzaju badania oraz wyraził pisemną zgodę na ich przeprowadzenie. Kryteriami wykluczenia były: cukrzyca jawna, zmiana wagi ± 3 kg w ciągu 3 miesięcy, historia chirurgicznego leczenia otyłości, zażywanie leków wpływających na wydzielanie śliny oraz ciąża. Grupę badaną stanowili pacjenci z nadwagą bądź otyłością, których dodatkowo podzielono na dwie podgrupy. W pierwszej podgrupie (n=24) znaleźli się pacjenci z nadwagą oraz otyłością I stopnia a w drugiej (n=35) – z otyłością II i III stopnia. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano pacjentów, których wartość BMI nie przekraczała 24,9. Wartości wskaźnika, BMI w zależności od stopnia otyłości, przedstawiono w tabeli II.

Tabela II. Klasyfikacja otyłości wg wskaźnika Body Mass Index (BMI).

Niedowaga	<18,50
Wartość prawidłowa	18,5-24,9
Nadwaga	25-29,9
Otyłość I stopnia	30,0-34,9
Otyłość II stopnia	35,0-39,9
Otyłość III stopnia	>40

3.1 BADANIE KLINICZNE

U wszystkich pacjentów przeprowadzono kliniczne badanie stomatologiczne.

Oceniono zachorowalność na próchnicę zębów oraz stan higieny jamy ustnej i dziąseł. Dokonano pomiaru głębokości kieszonek przyzębnych. Badanie przeprowadzono za pomocą lusterka i zgłębnika stomatologicznego oraz sondy periodontologicznej WHO 621 Hu – Friedy - skala do 11,5 mm, w oświetleniu sztucznym.

3.1.1 Ocena stanu zębów

Zachorowalność na próchnicę zębów określono za pomocą liczb PUW – z i PUW – p. Liczba PUW oznacza sumę zębów dotkniętych próchnicą, gdzie P oznacza: liczbę zębów z aktywną próchnicą pierwotną lub wtórną; U oznacza, sumę zębów usuniętych z powodu próchnicy a W – sumę zębów wypełnionych z powodu próchnicy. Wskaźnik ten można zastosować do badania liczby zębów (PUW-z) lub ich powierzchni (PUW – p) [134].

3.1.2 Ocena stanu higieny jamy ustnej

Do oceny stanu higieny jamy ustnej zastosowano wskaźnik płytki - Plaque Index (PLI) według Silness i Løe [135] oraz aproksymalny wskaźnik płytki – Approximal Plaque Index (API). Wskaźnik płytki (PLI) służy do oceny grubości miękkich złogów umiejscowionych w okolicy szyjki zębów. Badanie prowadzono na 4 powierzchniach: bliższej, dalszej, policzkowej i językowej następujących zębów: 14, 11, 26, 34, 31, 46. Kryteria oceny były następujące:

0-brak płytki nazębnej,

1-cienka warstwa płytki przylegająca do brzegu dziąsłowego, niewidoczna gołym okiem,

2-umiarkowane nagromadzenie miękkich złogów w okolicy szyjki zęba i brzegu dziąsła, widoczne gołym okiem,

3-obfite nagromadzenie miękkich złogów nazębnych w okolicy szyjki zęba i brzegu dziąsła.

Wartości uzyskane ze wszystkich powierzchni zęba sumowano i dzielono przez 4 otrzymując wynik. Wartość wskaźnika PLI w granicach 0 - 0,6 świadczy o właściwej higienie jamy ustnej, 0,7 - 1,8 o przeciętnej a 1,9 - 3,0 o złej higienie jamy ustnej [134, 135].

Approximal Plaque Index (API), zaproponowany przez Langego, polega na rejestrowaniu obecności płytki nazębnej w przestrzeniach międzyzębowych [136]. Dla zębów w I i III kwadrancie oceniano obecność płytki bakteryjnej w przestrzeniach międzyzębowych od strony jamy ustnej właściwej, a dla zębów w II i IV kwadrancie od strony przedstonkowej. Wskaźnik obliczano według wzoru:

$$\text{API} = \frac{\text{Suma przestrzeni międzyzębowych z płytką}}{\text{Suma wszystkich badanych przestrzeni międzyzębowych}} \times 100\%$$

Przyjęto następującą interpretację wyników:

API	< 25%	- optymalna higiena jamy ustnej,
API	25% - 39%	- higiena jamy ustnej w miarę dobra,
API	40% - 70%	- higiena przeciętna, konieczna poprawa,
API	> 70%	- niewłaściwa higiena jamy ustnej

3.1.3 Ocena stanu dziąseł

Do oceny stanu dziąseł zastosowano wskaźnik dziąsłowy - Gingival Index (GI). Po raz pierwszy został on zaproponowany w roku 1963 przez szwedzkich badaczy Löe i Silness [137]. Wskaźnik dziąsłowy (GI) pozwala na określenie stanu brzegu dziąsłowego przy czterech powierzchniach zęba. Uwzględnia brak lub obecność objawów zapalenia dziąseł, takich jak obrzęk, zmiana zabarwienia, krwawienie przy zgłębnikowaniu i krwawienie samoistne. Kryteria oceny tego wskaźnika opierają się na zmianach jakościowych w dziąśle:

- 0 - zdrowe dziąsło, kolor blad różowy,
- 1 - łagodne zapalenie dziąsła: niewielka zmiana zabarwienia, lekki obrzęk,

brak krwawienia podczas zgłębnikowania,

2 - umiarkowane zapalenie dziąsła: zaczerwienienie, obrzęk i połysk dziąsła, krwawienie przy ucisku lub zgłębnikowaniu,

3 - ciężkie zapalenie dziąsła: wyraźne zaczerwienienie i obrzęk dziąsła, owrzodzenie, skłonność do samoistnego krwawienia.

Po dodaniu punktów i podzieleniu przez 4 otrzymuje się wartość wskaźnika dla danego zęba. Wartość wskaźnika w zakresie od 0, 1 do 1, 0 świadczy o łagodnym zapaleniu dziąsła, od 1, 1 do 2, 0 – o umiarkowanym a od 2, 1 do 3, 0 - o nasilonym zapaleniu dziąsła [138, 139]. Badanie przeprowadzono przy następujących zębach: 14, 11, 26, 34, 31 i 46.

Oprócz wskaźnika GI do oceny stanu dziąsła zastosowano jeszcze wskaźnik krwawienia ze szczeliny dziąsłowej Sulcus Bleeding Index (SBI) według Mühlemana i Sona [140]. Obliczano go w oparciu o występowanie krwawienia po wprowadzeniu sondy periodontologicznej do szczeliny dziąsłowej bez ucisku na jej dno. Oceniano występowanie krwawienia po 15 sekundach od chwili ucisku. Badanie przeprowadzono sondując wszystkie przestrzenie międzyzębowe w szczęcie i żuchwie. Wskaźnik obliczany był wg następującego wzoru:

$$\text{SBI} = \frac{\text{Suma przestrzeni krwawiących}}{\text{Suma wszystkich badanych przestrzeni międzyzębowych}} \times 100\%$$

Uzyskany wynik pozwalał określić stan dziąsła według następujących kryteriów (141):

1. SBI < 10% - zdrowe przyzębie
2. SBI: 10 – 20% - łagodne zapalenie
3. SBI: 20 – 50 % - umiarkowane zapalenie
4. SBI: 50 – 100% - uogólnione zapalenie

3.1.4 Ocena stanu przyzębia

Do oceny stanu przyzębia zastosowano metodę pomiaru klinicznej głębokości kieszonek przyzębnych - PPD (ang. *probing periodontal depth*). Pomiaru dokonywano na 6 powierzchniach przy wszystkich obecnych w jamie ustnej zębach z zastosowaniem sondy periodontologicznej WHO 621 Hu-Friedy (skala do

11,5mm). Instrument ten posiada wyskalowaną część pomiarową, którego koniec zakończony jest kulką o średnicy 0,5mm. Sonda zawiera strefy pomiarowe, zaznaczone kolorem, rozmieszczone w odległości 3,5, 5,5, 8,5 oraz 11,5mm. Podczas badania periodontometr wprowadzono równolegle do długiej osi zęba przesuując wierzchołek sondy w ciągłym kontakcie z zębem aż do dna uzyskując wartości głębokości szczeliny przy powierzchniach badanych zębów. Pomiaru stanowiły podstawę do obliczenia średnich wartości głębokości szczelin lub kieszonek przyzębnych u poszczególnych pacjentów [141, 142, 143].

W warunkach fizjologicznych głębokość szczeliny dziąsłowej waha się w zakresie 0,5 do 1,5 mm. Zwiększenie jej głębokości może świadczyć o toczącym się w przyzębiu procesie zapalnym [138].

3.2 BADANIE ŚLINY

3.2.1 Metodyka badania ilości śliny

Materiał do badań laboratoryjnych stanowiła niestymulowana ślina mieszana. Zbiórki śliny dokonywano zawsze o jednakowej porze dnia między godziną 10.00 a 13.00. Wszystkie osoby poddane badaniu były przynajmniej 2 h po posiłku.

Badanie przeprowadzono w następujący sposób: pacjent znajdował się w zrelaksowanej siedzącej pozycji, z tułowiem lekko pochylonym w kierunku kolan, tak aby ślina mogła swobodnie spływać do pojemnika przeznaczanego do zbiórki śliny (Fot. 1). Pacjenci zostali poproszeni aby, by w trakcie badania nie połykali śliny.

Ślinę niestymulowaną pobierano przez 20 minut. Ilość jej wydzielania obliczano w ml/min. Od momentu rozpoczęcia zbiórki śliny, aż do jej odwirowania, próbki spoczywały w pojemniku z lodem.



Fot. 1. Probówki wirówkowe typu Falcon o pojemności 50 ml.

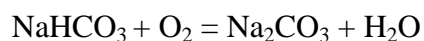
3.2.2 Metodyka badania mikrobiologicznego śliny

Do badania mikrobiologicznego wykorzystano testy „CRT bacteria” firmy Ivoclar Vivadent (Fot. 2), postępując wg instrukcji zamieszczonej w opakowaniu. W celu wykonania posiewu konieczne było pobranie stymulowanej śliny mieszanej. Stymulacja następowała po rozpoczęciu żucia jałowej tabletki parafinowej; ślinę pobierano 15 minut.

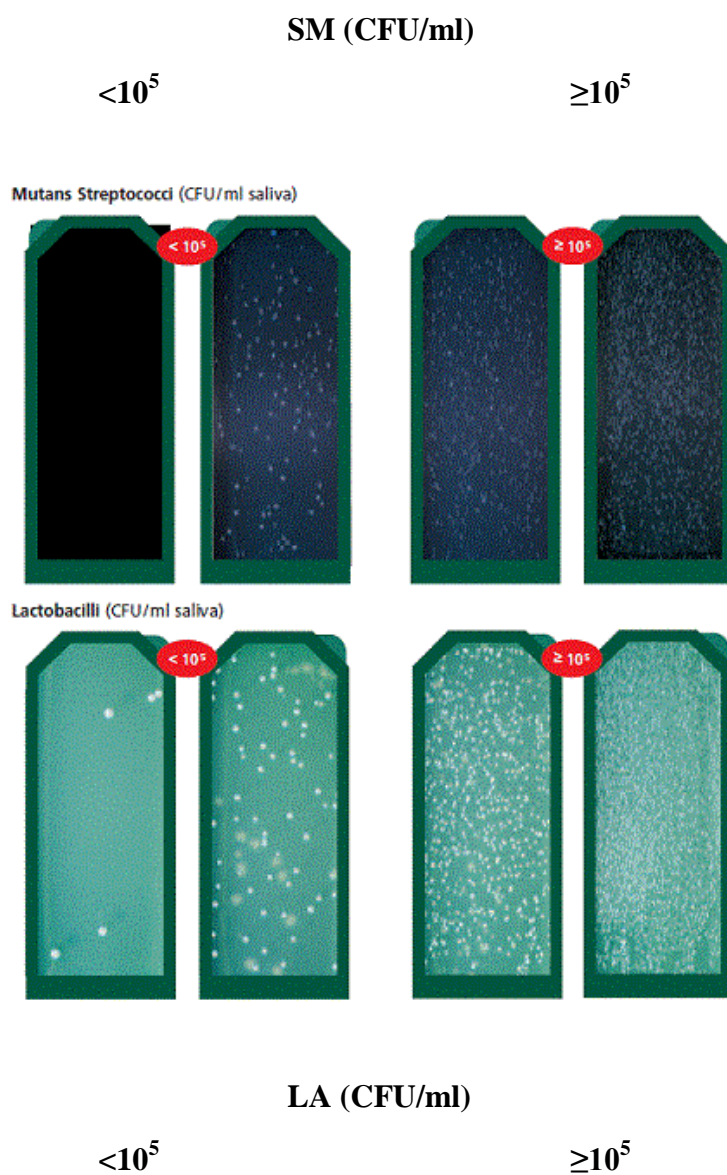


Fot. 2. Parafinowa guma do żucia, pipetka, podłoże selekcyjonujące oraz tabletki NaHCO₃.

Po zakończeniu zbiórki za pomocą jałowej pipetki aplikowano 1 ml śliny na odpowiednie podłoża: podłoże granatowe dla *Streptococcus mutans* oraz zielone dla *Lactobacillus spp.* W probówce z podłożami umieszczano jedną tabletkę NaHCO₃, w celu związania tlenu wg reakcji:



Następnie testy inkubowano w cieplarni, w temp 37 ° C przez 48 h. Wynik odczytywano, oceniając makroskopowo liczbę kolonii na pożywce przez porównanie z kluczem (Fot. 3).



Fot. 3. Klucz do oceny poziomu bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus sp.* w ślinie.

3.2.3 Metodyka badania pH śliny

Analiza pH oraz badania biochemiczne śliny zostały wykonane w Zakładzie Patofizjologii UM w Poznaniu. Pomiaru pH śliny dokonywano bezpośrednio po jej pobraniu przy użyciu pehametru CG840 firmy Schott (Fot. 4). Wyniki odnotowywano w karcie badań.



Fot. 4. Pehametr CG840 firmy Schott.

Następnie próbki śliny wirowano przez 10 min przy 2000 obrotów/min przy użyciu wirówki Centrifuge MPW-223e (Fot. 5).



Fot. 5. Wirówka Centrifuge MPW-223e

Odwirowane próbki śliny rozdzielono do kilku probówek i zamrożono w temp. -80°C do chwili rozpoczęcia oznaczeń.

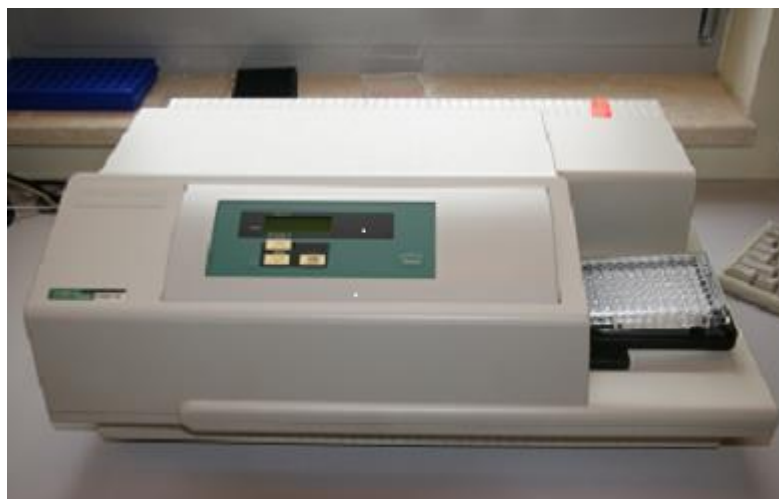
3.2.4 Metodyka badania biochemicznego śliny

Stężenia wybranych markerów zapalenia w ślinie, takich jak: TNF α -R1, TNF α -R2, PTX-3, IL-15, MCP-1, sICAM-1, sCD40L, zbadano przy zastosowaniu metody immunoenzymatycznej ELISA (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*) z wykorzystaniem zestawów DuoSet Immunoassay Development Kits firmy R&D Systems (Mineapolis, Minnesota, USA) (Fot. 6.)



Fot. 6. DuoSet Immunoassay Development Kits firmy R&D Systems.

Polega ona na wiązaniu antygeny z przeciwciałem monoklonalnym, a powstający kompleks reaguje z przeciwciałem detekcyjnym, wyznakowanym biotyną wiążącą się poprzez streptawidynę z peroksydazą chrzanową. Enzym wchodzi w reakcję z substratem (nadtlenek wodoru połączony w proporcji 1:1 v/v z 3,3',5,5' tetrametylbenzydynam) tworzy barwny produkt końcowy, którego intensywność zabarwienia oceniana jest spektrofotometrycznie przy dwóch długościach fali 450nm i 540nm. Odczytu spektrofotometrycznego próbek dokonuje się przy użyciu czytnika mikroplitek - VERSA max firmy Molecular Devices (Fot. 7).



Fot. 7. Czytnik płytek VERSA max firmy Molecular Devices.

Stężenia badanych markerów w ślinie odczytano z krzywej wzorcowej. Czulość metody, zakres pomiarów oraz współczynniki zmienności dla każdego z badanych parametrów przedstawiono w tabeli III.

Tabela III. Czulość metody, zakres pomiarów oraz współczynniki zmienności.

Markery zapalenia	Współczynnik zmienności pomiędzy pomiarami %	Próg detekcji pg/ml	Zakres testu, pg/ml
MCP-1	8,9	5,86	15,62-1 000
sCD40L	7,7	9,85	15,62-1 000
sICAM-1	11,1	17,51	31,25-2 000
TNF R I	6,6	6,95	12,5-800
TNF R II	9,4	4,35	7,80-500
PENTRAKSYNA	8,2	59,83	218,75-14 000
IL-15	9,0	5,70	15,625-1 000

3.3 Metody statystyczne

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej. Parametry statystyki opisowej: wartości średnich, odchyłeń standardowych oraz wartości minimalne i maksymalne dla zmiennych mierzalnych w grupie badanej i kontrolnej (PUW-z, PUW-p, PLI, API, GI, SBI, PPD, pH, szybkość wydzielania śliny, TNF α -R1, TNF α -R2, PTX-3, IL-15, MCP-1, sICAM-1, CD40/CD40L) przedstawiono w tabelach I-X. Testem normalności Shapiro – Wilka zweryfikowano, czy wyniki mają rozkład normalny. Stwierdzono niezgodność rozkładów wyników badań z rozkładem normalnym, stąd analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą metod nieparametrycznych. Porównania między grupą badaną a kontrolną wyżej wymienionych parametrów wykonano za pomocą testu Manna – Withney’a (test nieparametryczny dla porównania dwóch prób niezależnych). Dla zmiennych niemierzalnych (parametry: SM i LA) utworzono tabele liczości, natomiast analizę cech niemierzalnych w grupie kontrolnej i badanej przeprowadzono za pomocą testu Chi – kwadrat. Wyniki przyjęto za statystycznie istotne przy $p < 0,05$. Na wykresach słupkowych oraz na rycinach przedstawiono graficznie wartości średnich. Korelacje wykonano za pomocą korelacji rang Spearmana. Przyjęto następującą skalę w ocenie współczynnika korelacji: $r = 0$ zmienne nie są skorelowane, $r < 0,1$ korelacja nikła, $r < 0,3$ korelacja słaba, $r < 0,5$ korelacja przeciętna, $r < 0,7$ korelacja wysoka, $r < 0,9$ korelacja bardzo wysoka, $r < 1$ korelacja prawie pełna. Badania statystyczne przeprowadzono w Zakładzie Bioinformatyki i Biologii Obliczeniowej Katedry Patomorfologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

4. WYNIKI

4.1 Dane demograficzne

W badaniu wzięło udział 125 pacjentów obu płci, w wieku od 20 do 40 lat. Analizę wybranych danych demograficznych przedstawiono w tabeli IV.

Tabela IV. Wiek, waga, BMI oraz WHR w grupie badanej i kontrolnej.

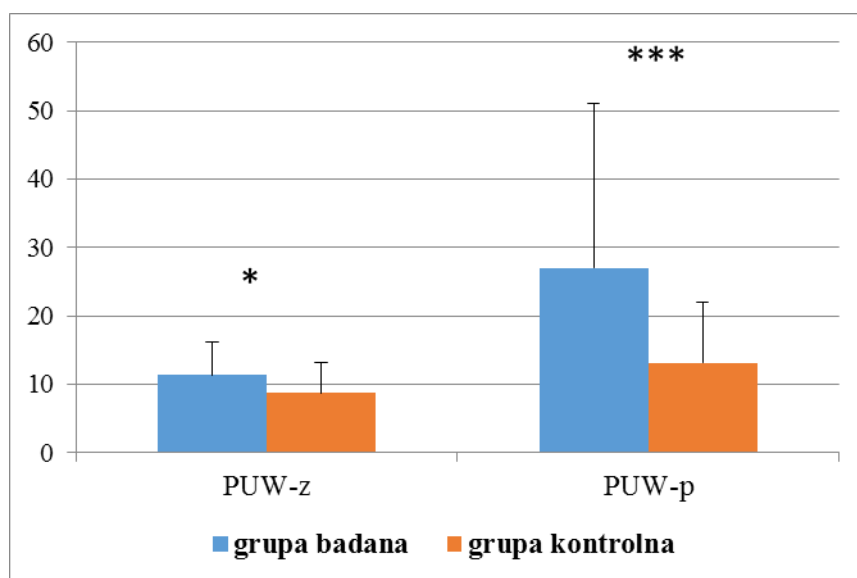
	GRUPA	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch.std	p TESTU
Wiek	badana	59	34,92	34,00	20,00	61,00	9,73	0,0048
	kontrola	66	30,06	30,00	20,00	41,00	6,15	
Waga	badana	59	106,14	107,00	73,10	170,00	19,61	0,0001
	kontrola	66	68,41	67,00	47,00	102,00	14,15	
BMI	badana	59	37,41	37,05	27,73	54,88	6,21	0,0001
	kontrola	66	22,22	21,79	16,98	30,93	3,27	
WHR	badana	59	0,90	0,92	0,66	1,10	0,09	0,0001
	kontrola	66	0,81	0,80	0,66	0,97	0,08	

4.2. Wyniki badań klinicznych

Wyniki badań klinicznych wraz z ich analizą statystyczną przedstawiono w tabelach V – IX i na rycinach 1- 5.

Tabela V. Zachorowalność na próchnicę zębów w grupie badanej i kontrolnej.

	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch.std	P TESTU
PUW-z	badana	59	11,36	11,00	2,00	24,00	4,85	0,0143
	kontrola	66	8,75	9,00	0,00	21,00	4,46	
PUW-p	badana	59	26,98	19,00	2,00	120,00	24,70	0,0001
	kontrola	66	13,15	12,00	0,00	49,00	8,97	



Ryc. 1. Porównanie zachorowalności na próchnicę zębów w grupie badanej i kontrolnej.

* $p < 0,05$

*** $p < 0,001$

Średnie wartości liczb PUW-z i PUW-p w grupie pacjentów otyłych (odpowiednio $10,97 \pm 4,11$ i $22,92 \pm 17,11$) były statystycznie istotnie wyższe w porównaniu z grupą pacjentów o prawidłowej masie ciała (odpowiednio $8,73 \pm 4,43$ i $13,12 \pm 8,9$).

Tabela VI. Stan higieny jamy ustnej w grupie badanej i kontrolnej.

Wskaźnik	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe	p TESTU
API, %	badana	59	69,72	70,00	18,75	100	26,23	0,0041
	kontrola	66	51,5	40,00	0	100	31,8	
PII	badana	59	0,85	0,87	0	2,08	0,52	0,0001
	kontrola	66	0,44	0,30	0	1,89	0,41	

Stwierdzono statystycznie istotne różnice w wartościach wskaźników klinicznych API i PII między pacjentami otyłymi a pacjentami o prawidłowej masie ciała. Średnia wartość wskaźnika API w grupie badanej wynosiła $69,72\% \pm 26,23\%$ a wskaźnika PII – $0,85 \pm 0,52$, natomiast w grupie kontrolnej odpowiednio $51,5\% \pm 31,8\%$ i $0,44 \pm 0,41$.

Tabela VII. Stan dziąseł w grupie badanej i kontrolnej.

Wskaźnik	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe	p TESTU
SBI, %	badana	59	25,91	15,38	0	100	30,86	0,0024
	kontrola	66	10,07	3,84	0	100	17,25	
GI	badana	59	0,55	0,58	0	1,57	0,45	0,0218
	kontrola	66	0,35	0,20	0	2,37	0,43	

Średnia wartość wskaźnika SBI w grupie pacjentów z otyłością wynosiła $25,91\% \pm 30,86\%$ a wskaźnika GI $0,55 \pm 0,45$, natomiast w grupie kontrolnej odpowiednio $10,07\% \pm 17,25\%$ oraz $0,35 \pm 0,43$. Różnice między grupami dla obu wskaźników były statystycznie istotne.

Wyniki badań dotyczące średnich głębokości szczelin przyzębnych (PPD) w grupie badanej i kontrolnej przedstawiono w tabeli VIII.

Tabela VIII. Głębokość szczelin przyzębnych w grupie badanej i kontrolnej.

Wskaźnik	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe	p TESTU
PPD, mm	badana	37	1,11	0,98	0,52	2,19	0,49	0,1372
	kontrola	66	0,9	0,80	0,48	2,01	0,29	

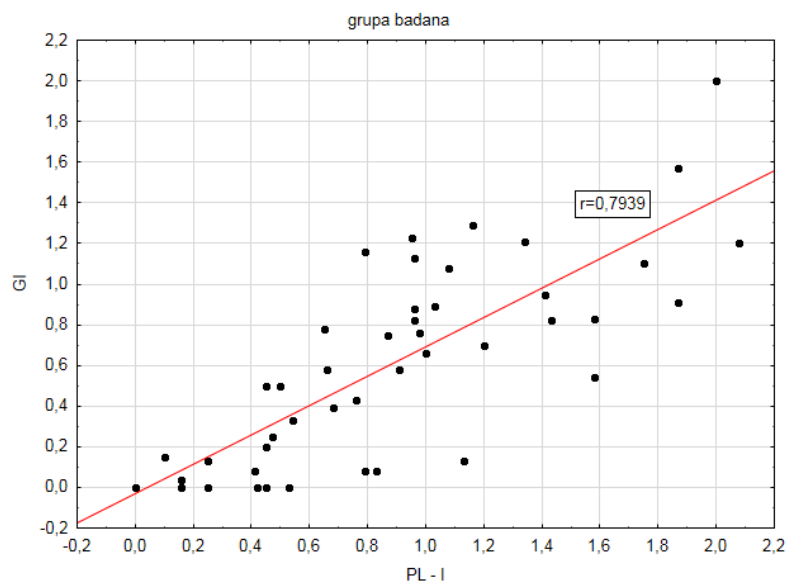
Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w głębokości szczelin przyzębnych pomiędzy grupą badaną i kontrolną.

W tabeli IX przedstawiono wyniki badań klinicznych w grupie badanej z uwzględnieniem podziału na stopień otyłości (tab. I). Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy podgrupą 1 (nadwaga, otyłość I stopnia), a podgrupą 2 (otyłość II i III stopnia) w ocenie stanu klinicznego jamy ustnej.

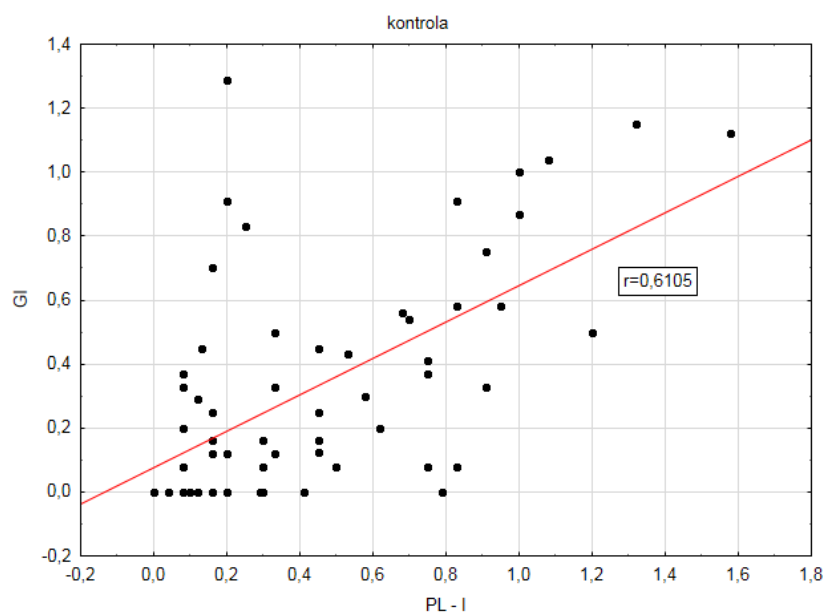
Tabela IX. Porównanie stanu jamy ustnej pacjentów z grupy badanej z podziałem na podgrupę.

Grupa badana		N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe	p TESTU
PUW z	podgrupa 1	11	9,91	11,00	6,00	15,00	2,84	0,3841
	podgrupa 2	26	11,42	10,50	2,00	20,00	4,51	
PUW p	podgrupa 1	11	16,36	14,00	6,00	30,00	8,19	0,2041
	podgrupa 2	26	25,69	19,50	2,00	88,00	19,18	
PL-I	podgrupa 1	11	0,76	0,79	1,43	0,49	0,49	0,7025
	podgrupa 2	27	0,88	0,83	2,08	0,54	0,54	
API, %	podgrupa 1	11	65,34	60,00	100,00	29,30	29,30	0,5226
	podgrupa 2	26	71,57	70,00	100,00	25,21	25,21	
GI	podgrupa 1	11	0,62	0,75	1,29	0,46	0,46	0,5047
	podgrupa 2	27	0,52	0,54	1,57	0,45	0,45	
SBI, %	podgrupa 1	11	26,92	15,38	76,92	22,29	22,29	0,2376
	podgrupa 2	27	25,50	11,53	100,00	34,10	34,10	
PPD, mm	podgrupa 1	11	1,36	1,38	2,19	0,55	0,55	0,0645
	podgrupa 2	26	1,00	0,92	2,18	0,43	0,43	

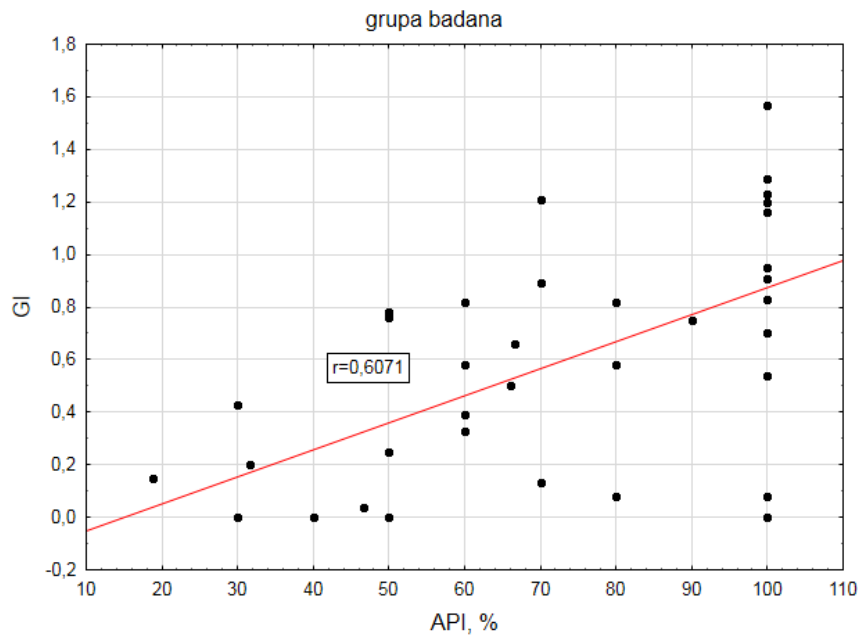
Stwierdzono dodatnie, istotne statystycznie ($p < 0,05$), korelacje pomiędzy wskaźnikami klinicznymi opisującymi stan higieny jamy ustnej oraz stan dziąseł w obu grupach badanej i kontrolnej (Ryc. 2, 3, 4, 5, 6 i 7).



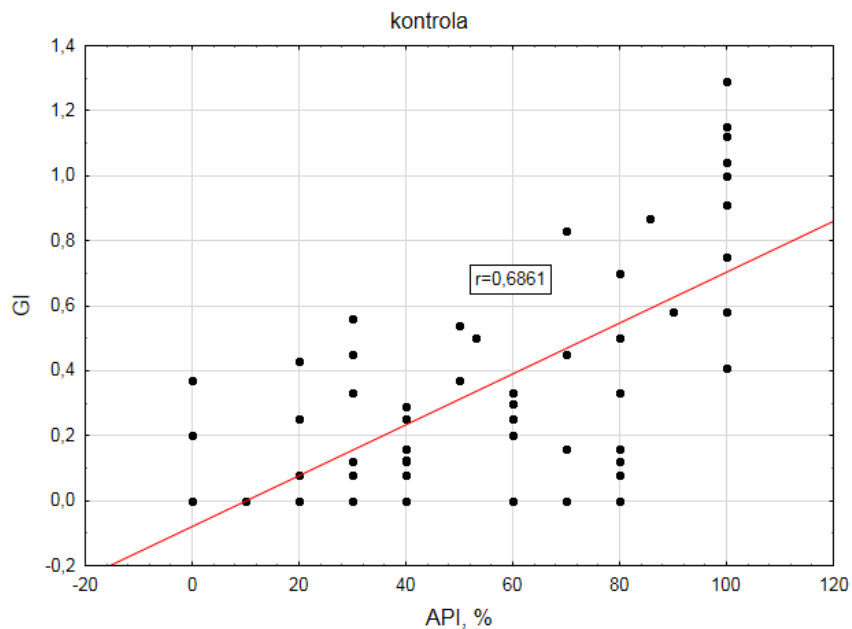
Ryc. 2. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej PII a wskaźnikiem stanu dziąseł GI u pacjentów otyłych. Współczynnik korelacji między PL-I i GI wynosi 0,7939 (przy $p=0,0001$).



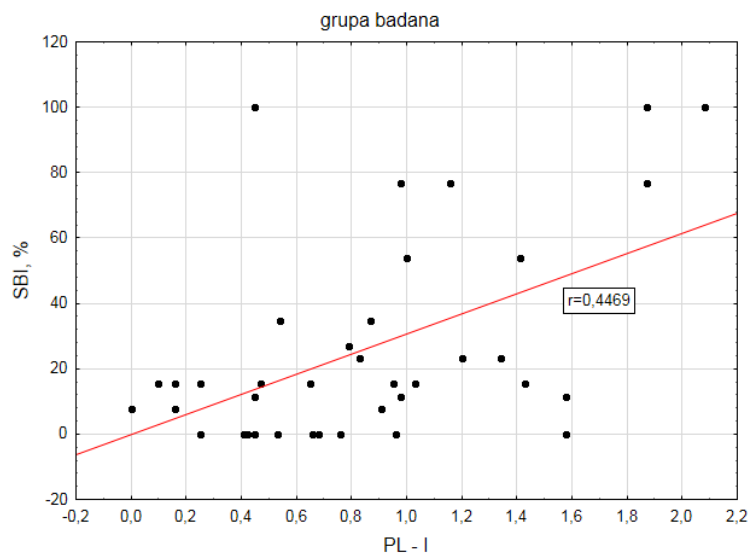
Ryc. 3. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej PII a wskaźnikiem stanu dziąseł GI u pacjentów o prawidłowej masie ciała. Współczynnik korelacji między PII i GI wynosi $r=0,6105$ (przy $p=0,0001$).



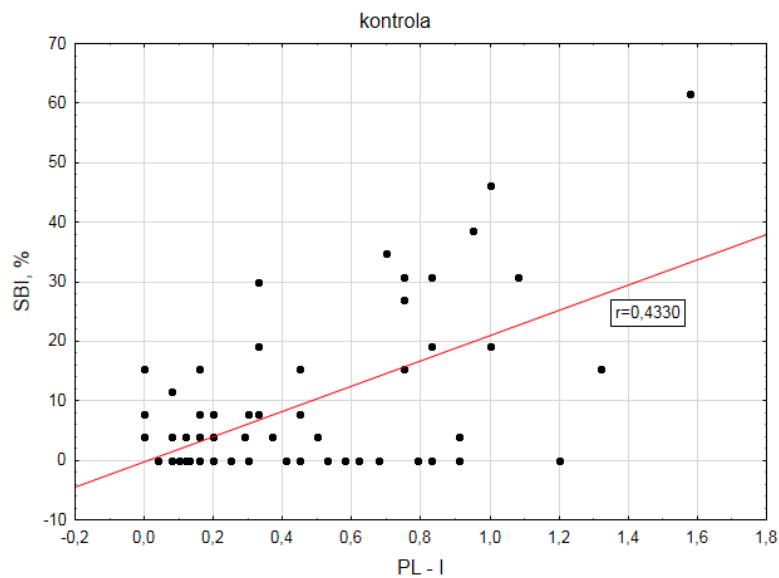
Ryc. 4. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej API a wskaźnikiem stanu dziąseł GI u pacjentów otyłych. Współczynnik korelacji między API i GI wynosi $r=0,6071$ (przy $p=0,0001$).



Ryc. 5. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej API a wskaźnikiem stanu dziąseł GI u pacjentów o prawidłowej masie ciała. Współczynnik korelacji między API i GI wynosi $r=0,6861$ (przy $p=0,0001$).



Ryc. 6. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej PII a wskaźnikiem stanu dziąseł SBI u pacjentów otyłych. Współczynnik korelacji między PII i SBI wynosi $r=0,4469$ (przy $p=0,0001$).



Ryc. 7. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej PII a wskaźnikiem stanu dziąseł SBI u pacjentów o prawidłowej masie ciała. Współczynnik korelacji między PII i SBI wynosi $r=0,433$ (przy $p=0,0001$).

Stwierdzono dodatnie, istotne statystycznie ($p<0,05$), korelacje pomiędzy badanymi parametrami klinicznymi opisującymi stan jamy ustnej oraz wskaźnikiem BMI,

jednakże wartości współczynnika korelacji wskazują na słaby związek. Wyniki przedstawiono w tabeli X.

Tabela X. Korelacje pomiędzy parametrami klinicznymi jamy ustnej a wskaźnikiem BMI.

Korelacja	N	Współczynnik korelacji r	p TESTU
BMI, kg/m ² & DMF-T	103	0,2480	0,0115
BMI, kg/m ² & DMF-S	103	0,4057	0,0000
BMI, kg/m ² & PL - I	104	0,4027	0,0000
BMI, kg/m ² & API, %	103	0,2887	0,0031
BMI, kg/m ² & GI	104	0,2687	0,0058
BMI, kg/m ² & SBI, %	104	0,3246	0,0008
BMI, kg/m ² & PPD , mm	103	0,1573	0,1125

4.3. Wyniki badań śliny

4.3.1 Ilość wydzielania

Średnią ilość wydzielania śliny w grupie pacjentów otyłych i o prawidłowej masie ciała przedstawiono w tabeli XI.

Tabela XI: Ilość wydzielania śliny w grupie badanej i kontrolnej.

Wskaźnik	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch. std.	p TESTU
Ślina spoczynkowa ml/min	badana	59	0,35	0,3	0,05	1,75	0,25	0,0186
	kontrola	66	0,46	0,38	0,18	1,13	0,25	
Ślina stymulowana ml/min	badana	59	1,12	1,03	0,2	2,8	0,6	0,0131
	kontrola	66	1,52	1,5	0,33	5	0,9	

Wykazano statystycznie istotną różnicę w ilości wydzielania śliny spoczynkowej i stymulowanej, która w grupie badanej była niższa i wyniosła odpowiednio $0,35\text{ml/min} \pm 0,25\text{ml/min}$ i $1,12\text{ml/min} \pm 0,6\text{ ml/min}$ a w grupie kontrolnej $0,46\text{ml/min} \pm 0,25\text{ml/min}$ oraz $1,52\text{ml/min} \pm 0,9\text{ml/min}$.

W grupie badanej nie stwierdzono różnic w ilości wydzielania śliny w zależności od klasy otyłości. Wyniki przedstawia tabela XII.

Tabela XII. Ilość wydzielania śliny w grupie badanej z podziałem na podgrupy.

Grupa badana		N	Średnia	Mediana	Minimum	Maximum	Odch. std.	p TESTU
Ślina spoczynkowa ml/min	podgrupa 1	21	0,35	0,35	0,16	0,85	0,16	0,1871
	podgrupa 2	31	0,35	0,28	0,30	1,75	0,30	
Ślina stymulowana ml/min	podgrupa 1	21	1,14	1,20	0,55	2,80	0,55	0,6572
	podgrupa 2	31	1,11	1,03	0,64	2,50	0,64	

4.3.2 Odczyn pH

Średnie wartości pH śliny pacjentów otyłych i o prawidłowej masie ciała przedstawia tabela XIII.

Tabela XIII. Odczyn pH śliny niestymulowanej i stymulowanej w grupie badanej i kontrolnej.

Wskaźnik	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch. std.	p TESTU
pH N	badana	48	6,98	7	5,7	8,5	0,53	0,8371
	kontrola	66	6,97	7	5,4	7,8	0,47	
pH S	badana	48	7,35	7,4	6,3	8,3	0,41	0,5483
	kontrola	66	7,41	7,48	6,5	8,3	0,45	

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w odczynie pH śliny pacjentów z grupy badanej i kontrolnej. Średnie wartości pH śliny niestymulowanej wynosiły w grupie badanej $6,98 \pm 0,53$ a w kontrolnej $6,97 \pm 0,47$ natomiast pH śliny stymulowanej wyniosło odpowiednio $7,35 \pm 0,41$ oraz $7,41 \pm 0,45$.

W grupie badanej nie stwierdzono różnic w pH wydzielanej śliny w zależności od klasy otyłości. Wyniki przedstawiono w tabeli XIV.

Tabela XIV. Odczyn pH śliny niestymulowanej i stymulowanej w grupie badanej z podziałem na podgrupy.

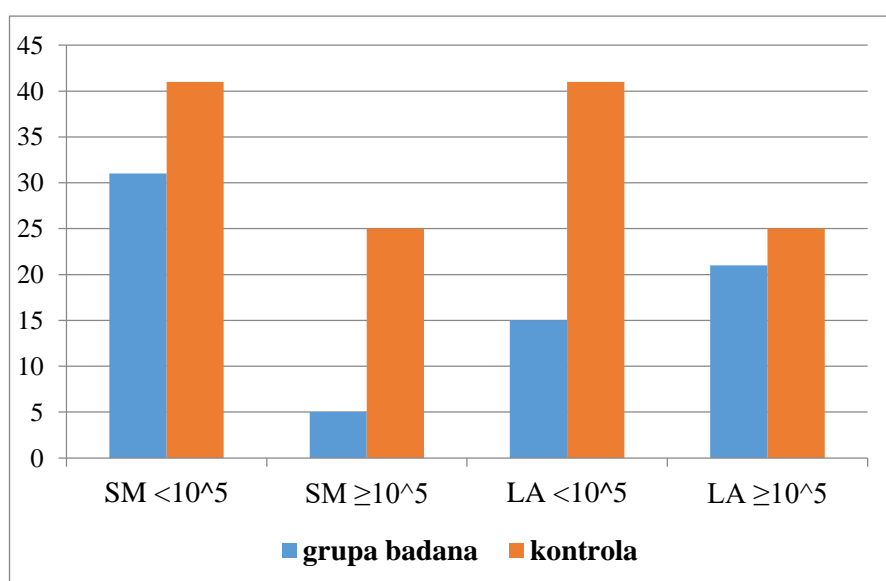
Grupa badana		N	Średnia	Mediana	Minimum	Maximum	Odch. std.	p TESTU
pH N	podgrupa 1	20	7,27	6,95	6,6	7,9	0,34	0,2316
	podgrupa 2	28	7,41	7,1	6,3	8,3	0,46	
pH S	podgrupa 1	20	7,02	7,2	5,7	8,5	0,52	0,9587
	podgrupa 2	28	6,97	7,4	5,8	8,3	0,55	

4.3.3 Wyniki badań mikrobiologicznych

Różnice miana *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus spp* w ślinie pacjentów otyłych i o prawidłowej masie ciała przedstawia tabela XV i rycina 8.

Tabela XV. Miano bakterii SM i LA w ślinie pacjentów z grupy badanej i kontrolnej.

Grupa	SM [CFU/ml]		LA [CFU/ml]	
	$\geq 10^5$	$<10^5$	$\geq 10^5$	$<10^5$
Pacjenci z otyłością	5	31	21	15
Pacjenci o prawidłowej masie ciała	25	41	25	41



Ryc.8. Poziomy bakterii SM i LA w ślinie pacjentów z grupy badanej i kontrolnej.

Stwierdzono statystycznie istotną zależność między poziomem bakterii SM i LA a obiema grupami pacjentów: badaną i kontrolną, co zostało potwierdzone testem Chi-kwadrat. W przypadku poziomu bakterii *Streptococcus mutans* p testu wyniosło 0,0464 natomiast w przypadku poziomu bakterii *Lactobacillus sp.* $p=0,0319$. Statystycznie istotnie częściej, niższe miano w/w bakterii, stwierdzono u pacjentów z grupy kontrolnej.

4.3.4 Wyniki badań biochemicznych

Analizę statystyczną wybranych markerów zapalenia obecnych w ślinie przedstawiono w tabeli XVI.

Tabela XVI. Stężenia wybranych markerów zapalenia w ślinie osób otyłych i o prawidłowej masie ciała.

Wskaźnik	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe	p TESTU
MCP-1, pg/ml	badana	59	124,71	71,42	2,43	500,98	136,21	0,0001
	kontrola	66	51,81	22,59	2,15	253,99	66,09	
sCD40, pg/ml	badana	59	96,61	2,87	1,87	2914,67	458,87	0,0001
	kontrola	66	41,57	5,01	3,1	1390,09	183,1	
sICAM, pg/ml	badana	59	715,72	609,12	32,97	2253,2	510,03	0,0003
	kontrola	66	418,75	395,89	19,28	1533,38	297,02	
TNF-R1, pg/ml	badana	59	307,09	237,38	26,06	901,5	222,92	0,0001
	kontrola	66	148,03	113,11	3,48	816,83	147,46	
TNF-R2, pg/ml	badana	59	102,58	67,87	7,81	475,28	108,13	0,0204
	kontrola	66	66,83	47,91	1,27	262,59	66,87	
PTX-3 pg/ml	badana	58	841,99	420,28	76,46	6337,89	1177,78	0,0081
	kontrola	66	572,56	272,33	13,26	5250,28	855,62	
IL-15, pg/ml	badana	58	13,18	11,71	4,47	33,3	6,45	0,0001
	kontrola	66	8,62	8,60	3,12	21,32	3,81	

Wykazano statystycznie istotne różnice w stężeniu wszystkich badanych w ślinie markerów stanu zapalnego, pomiędzy osobami otyłymi i tymi o prawidłowej masie ciała. Natomiast analizując wartości uzyskane w grupie badanej z uwzględnieniem podziału na podgrupy wykazano statystycznie istotną różnicę jedynie w przypadku sICAM ($p=0,0331$). Stężenie sICAM było zdecydowanie wyższe u osób z otyłością II i III stopnia (podgrupa II) i wynosiło 822,28 pg/ml, podczas gdy w grupie osób z nadwagą i otyłością I stopnia wynosiło ono 560,31 pg/ml. Stężenia pozostałych markerów zapalenia nie różniły się istotnie w obu podgrupach. Analizę statystyczną wybranych markerów zapalenia obecnych w ślinie osób otyłych z uwzględnieniem podziału na stopień otyłości przedstawiono w tabeli XVII.

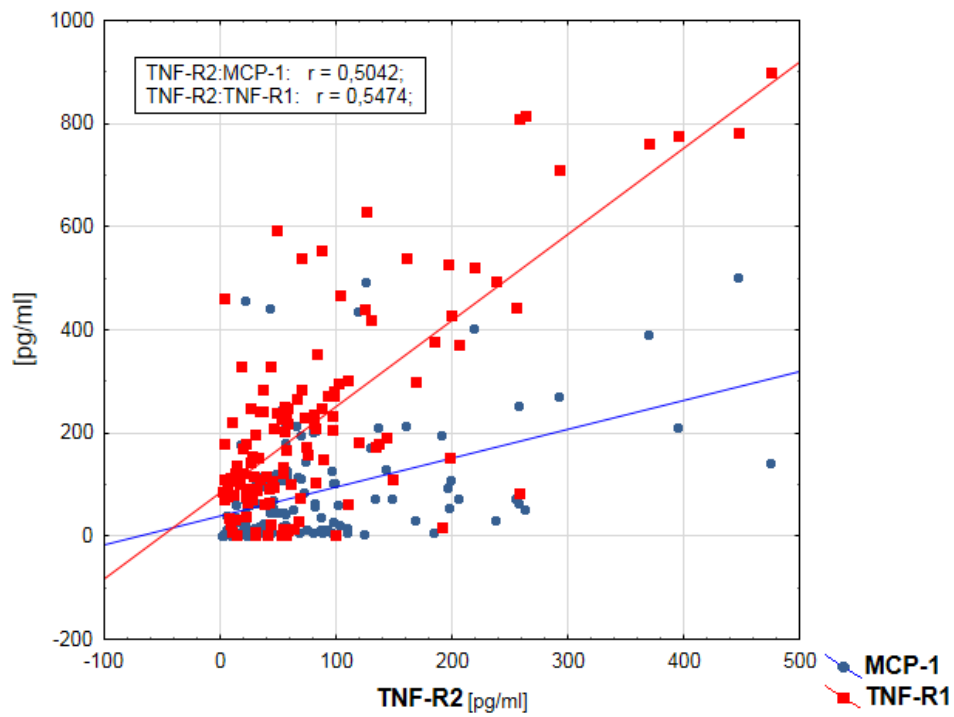
Tabela XVII. Stężenia wybranych markerów zapalenia w ślinie osób otyłych z podziałem na klasy otyłości.

Grupa badana		N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch. std.	p TESTU
MCP-1, pg/ml	podgrupa 1	24	100,66	52,55	3,26	456,6	123,68	0,1734
	podgrupa 2	35	141,2	97,17	2,43	500,98	143,57	
TNF-R1, pg/ml	podgrupa 1	24	257,17	246,23	26,06	594,43	160,43	0,5349
	podgrupa 2	35	341,32	220,83	77,47	901,5	253,77	
TNF-R2, pg/ml	podgrupa 1	24	68,54	55,59	7,81	198,23	53,6	0,1142
	podgrupa 2	35	125,93	73,89	10,18	475,28	128,94	
IL-15, pg/ml	podgrupa 1	24	12,98	12,38	4,47	28,78	6,47	0,9189
	podgrupa 2	34	13,32	11,40	4,8	33,3	6,54	
sCD40, pg/ml	podgrupa 1	24	25,49	2,83	2,23	523,68	106,2	0,5865
	podgrupa 2	35	145,38	2,90	1,87	2914,67	587,83	
sICAM, pg/ml	podgrupa 1	24	560,31	436,56	92,99	1659,77	425,51	0,0331
	podgrupa 2	35	822,28	717,31	32,97	2253,2	540,86	
PTX-3 pg/ml	podgrupa 1	24	699,62	327,41	119,16	6337,89	1247,13	0,1734
	podgrupa 2	34	942,48	542,39	76,46	4185,75	1134,39	

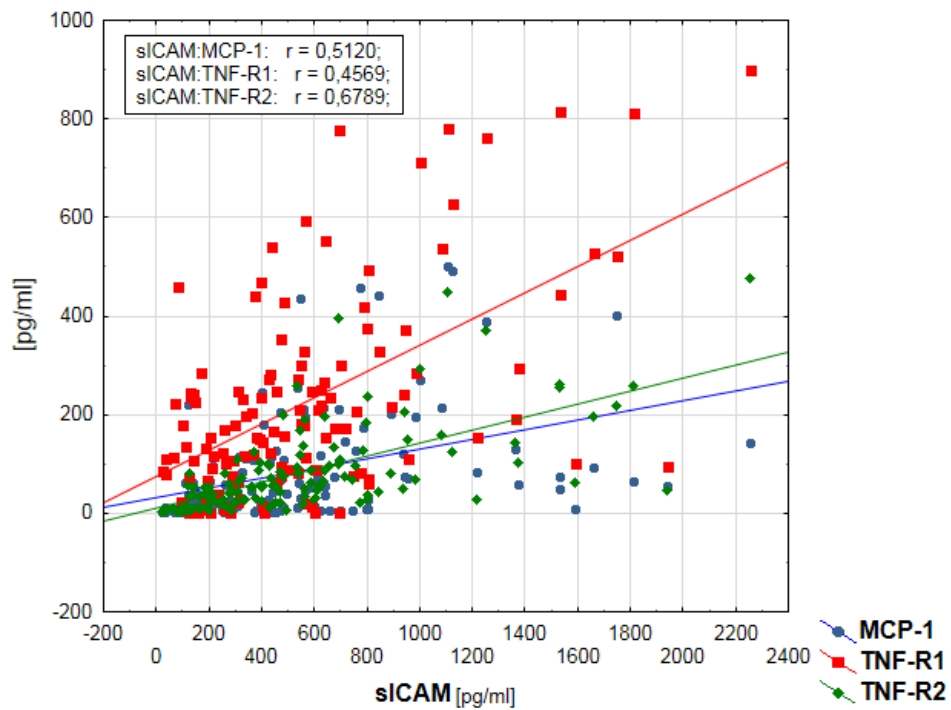
Stwierdzono również obecność licznych statystycznie istotnych korelacji pomiędzy poszczególnymi markerami zapalenia, zarówno w grupie badanej jak i kontrolnej. Współczynniki korelacji w przedstawiono w tabeli XVIII. Wykresy rozrzutu dla wybranych korelacji z grupy badanej przedstawiono na rycinach 9, 10 i 11.

Tabela XVIII. Współczynniki korelacji pomiędzy markerami stanu zapalnego w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej.

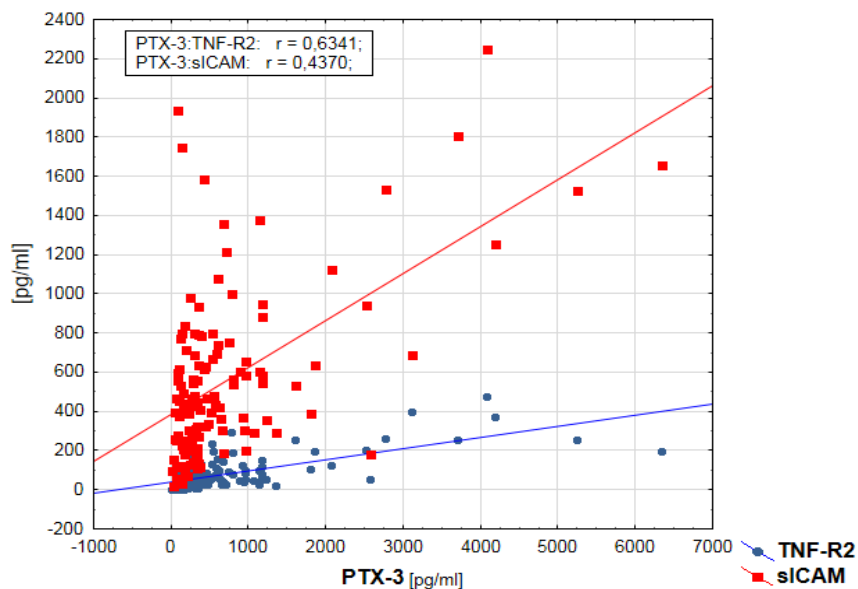
Marker	MCP-1, pg/ml	TNF-R1, pg/ml	TNF-R2, pg/ml	IL-15, pg/ml	sCD40, pg/ml	sICAM, pg/ml	PTX-3 pg/ml
MCP-1, pg/ml		0,3266	0,5042	0,1116	-0,0211	0,5120	0,3373
TNF-R1, pg/ml	0,3266		0,5474	-0,0109	-0,0058	0,4569	0,3910
TNF-R2, pg/ml	0,5042	0,5474		-0,0481	0,1995	0,6789	0,6341
IL-15, pg/ml	0,1116	-0,0109	-0,0481		-0,2433	-0,0079	0,0757
sCD40, pg/ml	-0,0211	-0,0058	0,1995	-0,2433		0,0313	0,0191
sICAM, pg/ml	0,5120	0,4569	0,6789	-0,0079	0,0313		0,4370
PTX-3 pg/ml	0,3373	0,3910	0,6341	0,0757	0,0191	0,4370	



Ryc. 9. Korelacja $\text{TNF}\alpha\text{-R2}$ i $\text{TNF}\alpha\text{-R1}$ oraz MCP-1 w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej (przy $p=0,0001$).



Ryc. 10. Korelacja sICAM i $\text{TNF}\alpha\text{-R1}$, $\text{TNF}\alpha\text{-R2}$ oraz MCP-1 w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej (przy $p=0,0001$).



Ryc. 11. Korelacja PTX-3 i TNF α -R2 oraz sICAM w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej (przy p=0,0001).

Podczas analizy statystycznej wykryto również statystycznie istotne korelacje między markerami zapalenia a wskaźnikami klinicznymi jamy ustnej.

Współczynniki korelacji pomiędzy markerami stanu zapalnego a wskaźnikami klinicznymi w grupie badanej i kontrolnej przedstawiono w tabeli XIX.

Tabela XIX. Współczynniki korelacji pomiędzy markerami zapalenia a wskaźnikami klinicznymi jamy ustnej w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej (n=125).

Wskaźnik	MCP-1, pg/ml	TNF-R1, pg/ml	TNF-R2, pg/ml	IL-15, pg/ml	sCD40, pg/ml	sICAM, pg/ml	PTX-3 pg/ml
PUW-z	0,1491	0,2590	0,1471	0,0334	-0,0241	0,1323	-0,0251
PUW-p	0,1343	0,3510	0,1644	0,0429	-0,0247	0,2195	0,0662
API, %	0,2334	0,1843	0,2288	0,1035	0,0505	0,1897	0,2285
PPD, mm	0,1374	0,1036	0,1006	0,0504	-0,3122	0,1463	0,1731
SBI, %	0,2003	0,1397	0,1610	0,1948	-0,2152	0,0637	0,1248
GI	0,1671	0,2692	0,2597	-0,0676	0,0431	0,2382	0,3009
PL - I	0,3719	0,2534	0,2816	0,1355	-0,1377	0,2464	0,3167
pH stym.	0,0784	-0,0077	-0,0506	0,2176	0,0550	0,1179	0,2243
pH n/stym.	0,1475	0,2120	0,0387	0,1327	0,1606	0,0985	0,2188

Wykazano również statystycznie istotne, aczkolwiek bardzo słabe, korelacje między markerami zapalenia a wskaźnikiem BMI, wyniki przedstawiono w tabeli XX.

Tabela XX. Współczynniki korelacji wybranych markerów zapalenia oraz wskaźnika BMI.

Korelacja	N	współczynnik korelacji r	P TESTU
BMI, kg/m ² & MCP-1, pg/ml	125	0,3075	0,0005
BMI, kg/m ² & TNF-R1, pg/ml	125	0,4156	0,0000
BMI, kg/m ² & TNF-R2, pg/ml	125	0,2324	0,0091
BMI, kg/m ² & sCD40, pg/ml	125	-0,3659	0,0000
BMI, kg/m ² & sICAM, pg/ml	125	0,3873	0,0000
BMI, kg/m ² & PTX-3 pg/ml	124	0,2711	0,0023
BMI, kg/m ² & IL-15, pg/ml	124	0,2853	0,0013

5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę stanu klinicznego jamy ustnej, właściwości fizyko-chemicznych oraz mikrobiologicznych śliny osób otyłych, jak również ocenę stężenia wybranych markerów zapalenia w ślinie pacjentów o nadmiernej i prawidłowej masie ciała.

Coraz więcej wyników badań naukowych wskazuje na związek pomiędzy otyłością a pogorszeniem stanu jamy ustnej. Oczywistym jest, iż u pacjentów cierpiących z powodu otyłości dochodzi do zwiększonej podaży pożywienia, często o znikomej wartości odżywczej a bogatego w cukry proste i tłuszcze. Wielu badaczy opisuje również pogorszenie higieny jamy ustnej oraz zmniejszenie przepływu śliny u pacjentów z otyłością. Wszystkie wspomniane parametry są czynnikami sprzyjającymi wyższej zachorowalności na próchnicę zębów [27, 28, 29, 36, 51, 144]. W kręgu zainteresowań wielu badaczy znajduje się także analiza aktywności wydzielniczej tkanki tłuszczowej, jej wpływ na poszczególne komórki, tkanki i organy ciała człowieka. Udowodniono, iż nadmiar tkanki tłuszczowej, zwłaszcza typu trzewnego, sprzyja i modyfikuje przebieg zapalenia przyzębia [42, 44]. W konsekwencji wyższa zachorowalność na próchnicę zębów, podatność na schorzenia przyzębia, zmniejszona ilość wydzielanej śliny powodują, iż u osób z otyłością dochodzi do zmian w mikroflorze jamy ustnej [53, 72, 145].

Badania miały charakter przesiewowy, w trakcie pracy badawczej analizowano wyniki uzyskane zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Podczas analizy statystycznej nie tworzono odrębnych grup pacjentów zależnych od płci, jednakże w przyszłości planowane jest badanie grup o większej liczebności, z podziałem wg płci.

Przeprowadzone badania własne wykazały statystycznie istotne różnice między wskaźnikami opisującymi stan higieny jamy ustnej u pacjentów otyłych i bez otyłości. Analiza wartości wskaźników PII i API wykazała, iż w obu grupach pacjentów higiena była zadowalająca. Jednakże średnie wartości wskaźnika API wskazywały na gorszy stan higieny w grupie badanej (69,72%) w porównaniu z grupą kontrolną (51,5%). Podobne wartości w zakresie wskaźnika API w grupie badanej uzyskali Konopka i wsp. [146]. Wynosiły one odpowiednio 67,21% (BMI w zakresie 25-29,9) oraz 81,16% (BMI >30) w porównaniu do 67,69% w grupie kontrolnej. Wyniki badań własnych w zakresie wskaźnika API w grupie badanej

korespondują z tymi uzyskanymi przez Cholewę i wsp. Wyniosły one odpowiednio 72,72% w grupie pacjentów otyłych i 68,27% w grupie pacjentów o prawidłowej masie ciała. Brak statystycznie istotnej różnicy między wartościami wskaźnika API we wspomnianych badaniach wynika z faktu, iż zdecydowana większość pacjentów z grupy badanej mieściła się w przedziale nadwagi a nie znacznej otyłości [147]. Średnia wartość wskaźnika PII wynosiła 0,85 w grupie pacjentów z otyłością i 0,44 w grupie pacjentów o prawidłowej masie ciała. Wyniki badań zbliżone są do wartości uzyskanych przez Range i wsp.: 1,23 w grupie badanej i 0,39 w grupie kontrolnej [148].

Oprócz gorszego stanu higieny jamy ustnej u pacjentów otyłych w przeprowadzonych przez mnie badaniach zaobserwowano również mniejszą ilość wydzielanej śliny. Wykazano statystycznie istotną różnicę w ilości wydzielania śliny spoczynkowej i stymulowanej, która w grupie badanej była niższa i wyniosła odpowiednio 0,35ml/min i 1,12ml/min w porównaniu z grupą kontrolną: 0,46ml/min oraz 1,52ml/min. Również inni badacze zaobserwowali spadek ilości wydzielanej śliny u osób z otyłością: wyniki uzyskane przez Baydaa i wsp. korespondują z wynikami obecnych badań w zakresie śliny niestymulowanej i wynoszą odpowiednio 0,43 ml/min w grupie badanej i 0,48 w grupie kontrolnej [149]. Znacznie niższe wartości wydzielania śliny stymulowanej w grupie pacjentów otyłych uzyskali Marsicano i wsp. - średnia ilość wynosiła 0,66 ml/min [150]. Z kolei wyniki Aydina nie potwierdzają powyższej korelacji ponieważ średnia ilość wydzielanej śliny spoczynkowej wynosiła 0,97 ml/min w grupie pacjentów z otyłością i 1,2 ml/min u pacjentów o prawidłowej masie ciała [151]. Piśmiennictwo wskazuje, iż u osób otyłych, w obrębie ślinianek przyusznych obserwuje się stały, umiarkowany stan zapalny, a mediatory stanu zapalnego, wydzielane przez tkankę tłuszczową i działające na osi podwzgórze – przysadka - nadnercza, mogą mieć wpływ na niedoczynność gruczołów ślinowych u osób z otyłością [3, 152]. Modeer i wsp. wysunęli hipotezę o związku otyłości, zmniejszonego przepływu śliny i zwiększonej frekwencji próchnicy w młodym wieku, co w konsekwencji wpływa na pogłębienie negatywnych następstw otyłości manifestujących się w jamie ustnej w przyszłości [36].

W oparciu o dane z piśmiennictwa, uznać można, iż w przypadku osób z otyłością, bogata w cukry dieta, a w konsekwencji bogata w sacharydy płytka nazębna, jest optymalnym podłożem dla rozwoju bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus sp.*

Bakterie te odgrywają kluczową rolę w zwiększaniu ryzyka wystąpienia próchnicy zębów [153, 154, 155]. Jak już wspomniano, obserwowana u osób z otyłością, wyższa intensywność próchnicy, zmiany zapalne w obrębie dziąseł oraz zmniejszenie przepływu śliny nie mogą pozostać obojętne dla mikroflory jamy ustnej. Przeprowadzone badania własne potwierdziły te doniesienia. Wykazały wysoką liczebność bakterii *Lactobacillus spp* u osób z nadmierną masą ciała. Statystycznie istotnie częściej stwierdzono u pacjentów z grupy kontrolnej niższe miano w/w bakterii. Niektórzy badacze są zdania, że duża liczba kolonii *Lactobacillus spp* jest wyznacznikiem hiposalivacji [156]. Wyniki obecnych badań mogą potwierdzać powyższą teorię. Pomimo braku wyraźniejszych różnic pomiędzy grupami badanych pacjentów, można zauważyć tendencję do wyższego miana bakterii próchnicowych u pacjentów z otyłością.

Ślina odgrywa ważną rolę między innymi w oczyszczaniu jamy ustnej z resztek pokarmowych oraz bakterii jak i regulacji pH. Można przypuszczać, iż wraz ze zmniejszeniem przepływu śliny, jej właściwości obronne ulegają znacznej redukcji. Wyniki przeprowadzonych badań własnych nie wykazały różnicy w pH śliny spoczynkowej i stymulowanej między grupami badaną i kontrolną. Piśmiennictwo podaje, iż w warunkach fizjologicznych pH śliny wynosi od 6,5 do 7,4 [157, 158]. Średnie wartości uzyskane w badaniach własnych mieściły się w granicach normy; wartość pH śliny spoczynkowej w grupie badanej wynosiła 6,98 a w kontrolnej 6,97 natomiast wartość pH śliny stymulowanej odpowiednio 7,35 oraz 7,41.

Jak już wspomniano, na rozwój próchnicy u osób z otyłością, duży wpływ wywiera skład i ilość wydzielanej śliny. Spadek jej wydzielania oraz w konsekwencji wzrost akumulacji płytki bakteryjnej i tym samym pogorszenie higieny jamy ustnej to jedne z najważniejszych czynników warunkujących wysoką intensywność tej choroby. Badania własne wskazują, iż u osób z podwyższonymi wartościami BMI (> 25 kg/m²) odnotowano istotnie wyższą intensywność próchnicy w porównaniu z tymi o prawidłowej masie ciała. Średnie wartości liczb PUW-z i PUW-p wyniosły odpowiednio 10,97 i 22,92 w grupie badanej oraz 8,73 i 13,12 w grupie kontrolnej. Bardzo zbliżony wynik w zakresie wartości liczby PUW-p uzyskał Baydaa: podczas badań prowadzonych w latach 2010-2011 stwierdził istotnie statystyczną różnicę w zakresie liczby PUW-p u pacjentów otyłych (23,54) i bez otyłości (18,6) [149]. Znacznie wyższe wartości w zakresie intensywności próchnicy u osób z

podwyższonym BMI uzyskała Malicka: w grupie badanej wartości PUW-z i PUW-p wynosiły odpowiednio 23,53 i 102,20 a w grupie kontrolnej odpowiednio 20,30 i 71,01 [159]. Z kolei Ekuni i wsp. nie stwierdzili statystycznie istotnej różnicy pomiędzy wartościami liczb PUW-z u pacjentów otyłych i o prawidłowej masie ciała [160]. Uzyskane przez nich wyniki wyniosły odpowiednio 4,0 i 4,7. Badania te prowadzone były w grupie młodych dorosłych (18-24 lat), w przedziale wiekowym, w którym zwykle obserwuje się spadek intensywności próchnicy [161].

Do oceny stanu dziąseł zastosowano wskaźnik dziąsłowy (GI) oraz wskaźnik krwawienia ze szczeliny dziąsłowej (SBI). Przeprowadzone analizy statystyczne wymienionych wskaźników potwierdzają występowanie łagodnego zapalenia dziąseł (GI = 0,55, SBI = 25,91) zarówno u pacjentów z otyłością jak i w grupie kontrolnej (GI = 0,33, SBI = 10,07). We wspomnianej już pracy Range i wsp. uzyskali wyniki świadczące o umiarkowanym stanie zapalnym dziąseł u otyłych oraz o łagodnym zapaleniu dziąseł pacjentów o prawidłowej masie ciała; wartości wskaźnika GI wynosiły odpowiednio 1,95 dla grupy badanej i 0,51 dla grupy kontrolnej [148]. Bardzo zbliżone wyniki uzyskał również El-Sayed, wykazując statystycznie istotną różnicę w zakresie wskaźnika GI u pacjentów otyłych (GI = 1,80 u kobiet i 0,70 u mężczyzn) i bez otyłości (GI = 0,30 u kobiet i 0,50 u mężczyzn) [162].

Przewlekłe zapalenie przyzębia jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych chorób o podłożu zapalno – destrukcyjnym i jest zaliczane, podobnie jak otyłość, do chorób społecznych [147]. Podstawowym czynnikiem, który sprzyja rozwojowi tego schorzenia jest obecność bakterii oraz ich interakcja z wieloma markerami procesu zapalnego indukowanego przez gospodarza. Komórki tkanki tłuszczowej wytwarzają wiele cytokin i hormonów, których obecność zwiększa ryzyko wystąpienia choroby przyzębia, bądź też wzmaga jej przebieg [3, 4, 44].

Do oceny stanu przyzębia zastosowano metodę pomiaru klinicznej głębokości kieszonek przyzębnych (ang. PPD). Średnia wartość PPD w grupie badanej wyniosła 1,11 mm a w grupie kontrolnej 0,9 mm. Nie wykazano różnicy statystycznie istotnej pomiędzy wartościami tego wskaźnika w obu grupach pacjentów. Również Konopka i wsp. nie stwierdzili istotnych różnic w stopniu zaawansowania choroby przyzębia między osobami z podwyższonym wskaźnikiem BMI a tymi o prawidłowej masie ciała [146], aczkolwiek wartości PPD uzyskane przez tych badaczy były dwa razy wyższe i wyniosły 2,23 mm (BMI w zakresie 25-29,9) oraz 2,27 mm (BMI >30) w porównaniu do grupy kontrolnej gdzie PPD

wyniósł 2,21 mm. Zbliżone do uzyskanych przez Konopkę i wsp. wartości wskaźnika PPD uzyskali Range i wsp; odpowiednio: 2,68 mm w grupie otyłych oraz 1,95 mm w grupie pacjentów bez otyłości [148]. Jeszcze wyższe wartości PPD, zarówno w grupie pacjentów otyłych jak i bez otyłości, uzyskali Cholewa i wsp: wyniosły one odpowiednio 3,46 mm i 3,44 mm [147].

Podobnie jak w przypadku zapalenia dziąseł, podstawowym czynnikiem, który warunkuje wystąpienie zapalenia przyzębia jest obecność bakterii płytki nazębnej. Pomimo licznych badań, jeszcze nie do końca wyjaśniono mechanizm wpływu otyłości na wystąpienie i nasilenie choroby przyzębia. Jednym z najbardziej przekonujących jest ten mówiący o zaburzeniu odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Już pod koniec ubiegłego wieku badacze wykazali istnienie zależności pomiędzy otyłością a *periodontitis* [42, 44], jednakże w piśmiennictwie brak jest wciąż jednoznacznych dowodów. Badania własne, podobnie jak badania Konopki i wsp. [146], nie potwierdziły zależności pomiędzy podwyższonym BMI a zaawansowaniem choroby przyzębia. Również Ylöstalo i wsp., którzy badali wystąpienie wspomnianej korelacji, podkreślają, że choć ta współzależność istnieje, to nie jest tak mocno wyrażona jak we wcześniejszych obserwacjach [163].

Przeprowadzone badania własne wykazały i potwierdziły zależności pomiędzy wskaźnikami klinicznymi opisującymi stan higieny jamy ustnej oraz stan dziąseł. Stwierdzono dodatnie, istotne statystycznie ($p < 0,05$), korelacje pomiędzy wartościami PII i GI, API i GI oraz PII i SBI w obu grupach badanej i kontrolnej (Ryc. 2, 3, 4, 5, 6 i 7). Bardzo wyraźną zależnością wykazaną we własnym materiale badawczym jest pozytywna korelacja pomiędzy zwiększoną masą ciała, gorszą higieną jamy ustnej oraz wystąpieniem zapalenia dziąseł i zwiększoną liczbą zębów z próchnicą. Obserwowane u pacjentów z otyłością zwiększanie ilości przyjmowanego pożywienia jak również wyższa częstotliwość posiłków, często bez zachowania odpowiednich przerw między nimi, wpływa na ciągłą akumulację biofilmu. W takiej sytuacji oczywistym faktem jest konieczność wzmożenia zabiegów higienicznych. Liczne badania wskazują jednak, że w przypadku pacjentów z otyłością higiena jamy ustnej jest niewystarczająca. Zarówno Hujoel i wsp. oraz Konopka i wsp. zwrócili uwagę na brak nitkowania przestrzeni międzyzębowych u pacjentów z otyłością. O ile obecność złogów nazębnych nie korelowała w żaden sposób z intensywnością próchnicy oraz liczbą zębów, o tyle generowała wystąpienie rozległego stanu zapalnego dziąseł [146, 164].

Czy stopień otyłości ma wpływ na stan kliniczny jamy ustnej, właściwości fizykochemiczne i mikrobiologiczne śliny? Nieliczne badania nie dają w pełni odpowiedzi na te pytania. Dlatego podjęto próbę wyjaśnienia tych problemów. Przeprowadzono analizę statystyczną wskaźników klinicznych i parametrów określających właściwości śliny w zależności od stopnia otyłości. Niestety na podstawie uzyskanych wyników badań nie udało się jednoznacznie odpowiedzieć na postawione pytania (tab. IX, XII, XIV).

Badania własne wykazały, iż możliwym jest oznaczanie, nie tylko we krwi ale również w ślinie, cytokin wytwarzanych między innymi przez komórki tkanki tłuszczowej. Znaczące różnice w stężeniu tych biomarkerów w ślinie osób otyłych i prawidłowej masie ciała potwierdziły hipotezę o możliwym oddziaływaniu metabolitów tkanki tłuszczowej na stan kliniczny jamy ustnej.

Jednym z lepiej poznanych markerów stanu zapalnego jest czynnik chemotaktyczny monocytów 1 (MCP-1, *monocyte chemoattractant protein 1*). Jak już wspomniano, we krwi oznacza się stężenie MCP-1 w celu diagnostyki i prognozowania wielu chorób, m. in. zapalenia nerek [104, 1005, 106], reumatoidalnego zapalenia stawów [107], jak również chorób sercowo naczyniowych [108]. Badacze coraz częściej analizują stężenie tej cytokiny nie tylko w surowicy krwi lecz także w ślinie. Phalane i wsp. oznaczyli MCP-1 w ślinie osób chorujących na gruźlicę [165]. Uzyskany przez nich wynik 124,5 pg/ml jest niemalże identyczny z uzyskanym w obecnym badaniu śliny osób z otyłością - 124,71 pg/ml, u których stężenie MCP-1 ponad dwukrotnie przewyższa to oznaczone w ślinie osób o prawidłowej masie ciała (51,81 pg/ml). Piśmiennictwo nie daje jednoznacznej odpowiedzi na pytanie jakie są przedziały prawidłowych wartości wielu biomarkerów w ślinie. Bardzo interesujące wydają się badania Khan'a, który oznaczył 57 cytokin, chemokin, czynników wzrostu i białek ostrej fazy, oraz dokonał porównania ich stężenia w surowicy krwi, moczu i ślinie dwudziestu zdrowych ochotników [166]. Średnie stężenie MCP-1 w ślinie, uzyskane w jego badaniach, wynosiło 105,0 pg/ml i było dwukrotnie wyższe od średniej wartości MCP-1 w ślinie osób z grupy kontrolnej, uzyskanej w badaniu własnym. Wśród najnowszych doniesień naukowych na szczególną uwagę zasługuje publikacja Godsona i wsp [95]. W kręgu ich zainteresowania znalazły się dzieci w wieku od 10 do 12 lat, cierpiące z powodu otyłości. Badacze stwierdzili jednoznacznie, iż w przypadku małych pacjentów, gdzie pobranie próbki krwi jest traumatyczne bądź trudne, analiza śliny może być z powodzeniem wykorzystana do

stwierdzenia nieprawidłowości metabolicznych wywołanych nadmierną masą ciała. Wśród 20 analizowanych przez Godsona ślinowych biomarkerów otyłości i zaburzeń metabolicznych, znalazł się również czynnik chemotaktyczny monocytów 1. Jego stężenie u dzieci z otyłością wynosiło 174,1 pg/ml i jest to wynik zbliżony do tego uzyskanego w badaniach własnych.

Obecnie trwają prace nad wykorzystaniem MCP-1 zawartej w ślinie, do oceny uszkodzeń tkanek i prognozowania leczenia w przypadku nowotworów głowy i szyi [167].

Kompleks CD40/CD40L bierze udział w powstawaniu kaskady zapalnej w przypadku wielu chorób autoimmunologicznych, m. in. toczenia układowego i reumatoidalnego zapalenia stawów [125]. Wyniki wielu badań dowiodły, iż kompleks CD40, oznaczany zarówno we krwi jak i w ślinie, jest przydatnym biomarkerem w diagnostyce zespołu Sjögrena [129, 168]. Udowodniono, iż we wspomnianym schorzeniu, CD40/CD40L uczestniczy w procesie programowanej śmierci komórkowej zwanej apoptozą [128, 129]. Również Delaeu i wsp. w swoich badaniach, prowadzonych na myszach wykazali, iż CD40/CD40L może odgrywać kluczową rolę w patogenezie w/w zespołu [168]. Badacze podejmują również próby diagnostyki innych chorób na podstawie oceny kompleksu CD40. Phalane i wsp. oznaczyli stężenie tej cytokiny w ślinie chorych na gruźlicę, uzyskując wartość 353,8 pg/ml, która znacznie przewyższała wartości otrzymane u pacjentów z otyłością: 96,61 pg/ml oraz od tych o prawidłowej masie ciała - 41,57 pg/ml [165]. Ponadto badania własne wykazały bardzo silną, ujemną korelację wspomnianej cytokiny oraz interleukiny 15 jak i wskaźnika BMI. Mechanizm tego zjawiska nie jest jednak do końca poznany i wymaga dalszych badań.

W przypadku kolejnego markera, istotna statystycznie różnica pomiędzy stężeniem sICAM-1 w ślinie osób otyłych (715,72pg/ml) oraz u osób bez otyłości (418,75pg/ml), może świadczyć o zwiększonym ryzyku adhezji leukocytów do śródbłonka naczyniowego, zwłaszcza monocytów, co w konsekwencji prowadzi do powstawania komórek piankowatych, tak licznie obecnych w blaszce miażdżycowej [132]. Różnice w stężeniu sICAM zaobserwowane w podgrupach osób z otyłością mogą świadczyć o stopniu zaawansowania choroby miażdżycowej. Według piśmiennictwa, zwiększone stężenie sICAM we krwi można także obserwować w przypadku astmy, zapaleń alergicznych bądź autoimmunologicznych skóry oraz nowotworów [169]. W nielicznych doniesieniach naukowych dotyczących

oznaczenia sICAM-1 ślinie osób z rozpoznaną chorobą przyzębia obserwowano dość wysokie stężenia tego biomarkera. Kubicka-Musiał, u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia, uzyskała wartości sICAM-1 ślinie na poziomie 4800 pg/ml w porównaniu z 1390 pg/ml u osób zdrowych [170].

W badaniach własnych stwierdzono również statystycznie istotną różnicę między stężeniem TNF- α R1 w ślinie osób otyłych i bez otyłości: odpowiednio 307,09 pg/ml i 148,03 pg/ml. Mogą one świadczyć o wzroście stężenia TNF- α u osób z otyłością i związanym z tym stanem zapalnym oraz tendencją do apoptozy komórek [88]. Wyniki badań własnych, dotyczące analizy stężenia TNF α -R2 w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej, również wskazują na istotną statystycznie różnicę między obu grupami. U osób o nadmiernej masie ciała stężenie receptora TNF α -R2 w ślinie wynosiło 102,58 pg/ml a u osób z grupy kontrolnej 66,83 pg/ml. W piśmiennictwie można znaleźć wzmianki dotyczące prób oznaczania TNF α -R2 w ślinie, jednak w większości doniesienia te dotyczą diagnostyki i prognozowania *Lichen planus* [92]. Ghallab i wsp., badając chorych z rozpoznaniem liszaja płaskiego, analizowali zmiany w stężeniu TNF α -R2 w ślinie po leczeniu preparatem prednison. Przed rozpoczęciem stosowania leku, stężenie TNF α -R2 w ślinie tych osób wynosiło średnio 350 pg/ml, natomiast po leczeniu 14,0 pg/ml w porównaniu z wartością 45,0 pg/ml, którą uzyskali w grupie pacjentów zdrowych [171]. Badania własne wykazały zbliżoną wartość w zakresie stężenia tego biomarkera w ślinie osób z grupy kontrolnej: 66,83 pg/ml.

Kolejnym oznaczanym biomarkerem stanu zapalnego w ślinie była pentraksyna 3 (PTX-3), której stężenie od dawna jest oznaczane w surowicy i wykorzystywane do oceny powikłań zdarzeń sercowo-naczyniowych jak również do oceny zaawansowania procesu miażdżycowego [115]. Według najnowszych doniesień naukowych, oznaczanie PTX-3 w ślinie, jest pomocne we wczesnej diagnostyce i prognozowaniu zapalenia przyzębia [116, 117, 118]. Być może wyniki badań własnych pozwolą na częstsze łączenie PTX-3 z otyłością gdyż stężenie tej cytokiny w ślinie było stosunkowo wysokie a różnica pomiędzy grupą badaną i kontrolną, istotna statystycznie: odpowiednio 841,99 pg/ml i 572,56 pg/ml ($p < 0,0081$).

Wyniki badań własnych odnośnie stężeń interleukiny 15 również wykazały statystycznie istotną różnicę pomiędzy obu grupami i wyniosły 13,18 pg/ml u otyłych i 8,62 pg/ml u osób bez otyłości. We wspomnianych już badaniach Phalane i

wsp. wykazali, że stężenie IL-15 w ślinie osób z gruźlicą wyniosło 0,6 pg/ml natomiast w surowicy krwi było nieoznaczalne [165]. Również Khan, we wspomnianej wcześniej pracy poświęconej oznaczeniu kilkudziesięciu biomarkerów we krwi, moczu i ślinie podaje, iż stężenie IL-15 nie było możliwe do oznaczenia w żadnym ze wspomnianych płynów ustrojowych [166].

Mam nadzieję, iż wyniki badań własnych będą pomocne i pozwolą na lepsze zrozumienie zapalnego mechanizmu otyłości. Stworzenie przedziału wartości prawidłowych dotyczących zawartości cytokin prozapalnych w ślinie pozwoliłoby lepiej monitorować stan zdrowia wielu pacjentów oraz dokonywać trafniejszych prognoz na przyszłość. Wykazano szereg pozytywnych korelacji pomiędzy markerami zapalenia, nadmierną masą ciała oraz stanem jamy ustnej. Być może pozwoli to na wdrożenie systemowych rozwiązań, które pozwoliłyby na podjęcie właściwych kroków w celu wzmożenia opieki stomatologicznej nad pacjentami z otyłością.

6. WNIOSKI

1. Stężenie wybranych markerów zapalenia: MCP-1, sCD40, sICAM, TNF-R1, TNF-R2, PTX-3, IL-15 jest wyższe w ślinie osób otyłych w porównaniu ze śliną tych o prawidłowej masie ciała.
2. Stężenie adipocytokiny sICAM w ślinie pacjentów z otyłością I stopnia jest niższe niż u tych z otyłością II i III stopnia
3. Ilość wydzielanej śliny, spoczynkowej i stymulowanej, jest niższa u pacjentów otyłych, w porównaniu do tych, u których wartości wskaźnika BMI są w normie.
4. U chorych otyłych obserwuje się zmianę profilu mikrobiologicznego śliny: wyższe miana bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus sp* niż u osób o prawidłowej masie ciała.
5. Chorzy otyli charakteryzują się gorszym stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz wyższą intensywnością próchnicy zębów, w porównaniu z pacjentami o prawidłowej masie ciała.
6. Nie stwierdzono zależności pomiędzy stopniem otyłości a badanymi wykładnikami stanu klinicznego oraz właściwościami fizyko – chemicznymi śliny.

7. STRESZCZENIE

Rozwój badań dotyczący zapalnego podłoża otyłości, uznanej za chorobę cywilizacyjną XXI wieku, ma szczególne znaczenie bowiem wzrost stężenia cytokin zapalnych a w konsekwencji duże ryzyko rozwoju insulinooporności, będące konsekwencją nadmiernej masy ciała, leżą u podstaw wielu chorób ogólnoustrojowych zaliczanych do zespołu metabolicznego [65]. W dobie ciągłego niedoinwestowania służby zdrowia, konieczne jest poszukiwanie nowych rozwiązań, pozwalających na wykonywanie badań przesiewowych na szeroką skalę. Wczesne rozpoznanie i szybki wdrożenie terapii pozwoliłoby uniknąć groźnych powikłań oraz umożliwiłoby ograniczenie kosztów przeznaczonych na leczenie chorób będących następstwem otyłości.

W świetle najnowszych badań, ślina wydaje się być doskonałym materiałem diagnostycznym, który może być z powodzeniem stosowany jako alternatywa dla krwi i moczu. Łatwość uzyskania i transportu próbek, duża trwałość wielu hormonów oraz enzymów stanowią o wysokiej przydatności tego płynu biologicznego.

Celem badań była kliniczna ocena stanu jamy ustnej, wybranych parametrów fizyko – chemicznych i mikrobiologicznych śliny oraz ocena stężenia wybranych markerów zapalenia w ślinie osób z nadmierną masą ciała.

Badaniami objęto 125 pacjentów, obojga płci, w wieku od 20 do 65 lat. Grupę badaną stanowili pacjenci Kliniki Chorób Wewnętrznych, Metabolicznych i Dietetyki Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu o BMI > 25 kg/m². Dodatkowo zostali oni zakwalifikowani do dwóch podgrup. W pierwszej znaleźli się pacjenci z nadwagą oraz otyłością I stopnia a w drugiej – z otyłością II i III stopnia. Grupę kontrolną stanowili pacjenci Kliniki Stomatologii Zachowawczej i Periodontologii UM w Poznaniu charakteryzujący się prawidłową masą ciała (BMI < 25 kg/m²). Z badania wykluczone zostały osoby cierpiące na cukrzycę.

U wszystkich pacjentów przeprowadzono kliniczne badanie stomatologiczne. Oceniono: zachorowalność na próchnicę zębów, stan higieny jamy ustnej oraz stan dziąseł. Oceny stanu uzębienia dokonano na podstawie liczb PUW – z i PUW – p, higienę jamy ustnej oceniono przy użyciu wskaźników API i PLI, a stan dziąseł za pomocą GI i SBI. Ponadto obliczono głębokość kieszonek przyzębnych (PPD).

Badanie przeprowadzono za pomocą lusterka i zgłębnika stomatologicznego oraz sondy periodontologicznej WHO 621 Hu – Friedy - skala do 11,5 mm, w oświetleniu lampy bezcieniowej. Materiał do badań laboratoryjnych stanowiła niestymulowana ślina mieszana, którą pobierano przez 20 minut. Szybkość jej wydzielania obliczano w ml/min. W próbkach śliny oznaczano pH za pomocą pehametru CG840 firmy Schott. Do oceny poziomu bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus spp.* wykorzystano testy „CRT bacteria” firmy Vivadent. W celu wykonania posiewu konieczne było pobranie stymulowanej śliny mieszanej. Uzyskane próbki śliny zostały przekazane do laboratorium Zakładu Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, w celu zbadania w ślinie poziomu wybranych markerów zapalenia, takich jak: TNF α -R1, TNF α -R2, PTX-3, IL-15, MCP-1, sICAM-1, CD40/CD40L. Zastosowano metodę immunoenzymatyczną ELISA (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*) z wykorzystaniem zestawów DuoSet Immunoassay Development Kits firmy R&D Systems.

Analiza wartości wskaźników PUW-z, PUW-p, API, PLI, SBI oraz GI, uzyskanych podczas badań, wykazała statystycznie istotne różnice pomiędzy grupą osób otyłych a tych o prawidłowej masie ciała. Stwierdzono wyższą zachorowalność na próchnicę zębów, gorszy stan higieny jamy ustnej w powiązaniu ze spadkiem wydzielania śliny oraz wyższą liczebność *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus sp.* u pacjentów z grupy badanej. Nie wykazano różnic w pH śliny między pacjentami cierpiącymi z powodu otyłości a tymi o prawidłowej masie ciała. Wykazano statystycznie istotne różnice stężenia badanych w ślinie markerów zapalenia (TNF α -R1, TNF α -R2, PTX-3, IL-15, MCP-1, sICAM-1, CD40/CD40L) pomiędzy grupą badaną a kontrolną. W ślinie osób cierpiących z powodu otyłości stężenie w/w parametrów było statystycznie istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej.

Analiza wartości uzyskanych w grupie badanej z uwzględnieniem podziału na podgrupy wykazała statystycznie istotną różnicę w przypadku sICAM, której poziom był zdecydowanie wyższy u osób z otyłością II i III stopnia w porównaniu do osób z nadwagą i otyłością I stopnia. Stężenia pozostałych, badanych markerów zapalenia nie różniły się statystycznie istotnie w obu podgrupach.

Wyniki badań własnych wykazały gorszy stan jamy ustnej pacjentów otyłych w porównaniu do tych o prawidłowej masie ciała. W ślinie pacjentów z grupy badanej odnotowano wyższe stężenia wybranych markerów zapalenia. Można przypuszczać, że dalsze badania nad potencjałem diagnostycznym śliny, pozwolą na

częstsze jej wykorzystywanie w diagnostyce wielu groźnych chorób ogólnoustrojowych, w tym schorzeń będących konsekwencją otyłości.

8. SUMMARY

The development of research on inflammatory development of obesity is particular importance because the increased concentration of inflammatory cytokines and consequently high risk of developing insulin resistance, a consequence of excessive body weight, are at the root of many systemic diseases included in the metabolic syndrome [65]. In an era of continuing underinvestment in health care, it is necessary to search for new solutions that allow to perform screening on a large scale. Earlier diagnosis and treatment faster implementation would avoid serious complications and allow reducing costs allocated to the treatment of diseases resulting from obesity.

Recent research show that saliva appears to be an excellent diagnostic material that can be successfully used as an alternative to blood and urine. Ease of obtaining and transporting specimens, a long life of many hormones and enzymes include high usefulness of the biological fluid.

The aim of the study was clinical assessment of oral cavity, selected physics, chemical and microbiological parameters of saliva and assessment of concentrations selected inflammatory markers in the saliva of people with excess body weight.

The study included 125 patients of both sexes, aged from 20 to 65 years. The study group consisted of patients Clinic of Internal Medicine, Metabolic and Nutrition University of Medical Sciences with a BMI > 25 kg / m². In addition, they were admitted to two subgroups. In the first were patients with overweight and class I obesity and in the second - with obesity class II and III. The control group consisted of patients the Department of Conservative Dentistry and Periodontology, University of Medical Sciences and characterized by normal weight (BMI <25 kg / m²). The study excluded diabetics.

All patients underwent clinical dental examination. Rated: incidence of dental caries, oral hygiene and the condition of the gums. Assess the state of the teeth was based on the number of DMF-s and DMF-t, oral hygiene evaluated using indicators API and PLI, and the condition of the gums using the GI and SBI. We also calculated the periodontal pocket depth (PPD). The study was carried out using a mirror and periodontal probe WHO 621 Hu - Friedy - the scale to 11.5 mm, shadow-free lighting lamps. The material for laboratory tests was the unstimulated mixed saliva,

which were collected by 20 minutes. The rate of secretion was calculated as ml / min. Samples of saliva were determined pH with a pH meter from Schott CG840. To assess the level of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.* we used tests "CRT bacteria" from Ivoclar Vivadent. For the inoculation, it was necessary to collect stimulated mixed saliva. The obtained saliva samples were submitted to the laboratory of the Department of Pathophysiology at the Medical University in Poznań. In order to study the saliva levels of markers of inflammation such as TNF-R1, TNF-R2, PTX-3, IL-15, MCP-1, ICAM-1, CD40 / CD40L, we applied immunoenzymatic method (ELISA. Enzyme- linked immunosorbent assay) using a DuoSet kit Immunoassay Development Kits R & D Systems.

Analysis values of DMF-t, DMF-s, API, PLI, SBI and GI obtained during the study showed statistically significant differences between the group of obese people and those with normal weight. It was found a higher incidence of dental caries, worse oral hygiene in conjunction with a decrease in salivation and a higher number of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.* in patients from the study group. There were no differences in the pH of the saliva between patients suffering from obesity and those of normal weight. We found statistically significant differences in concentrations of the salivary markers of inflammation (TNF-R1, TNF-R2, PTX-3, IL-15, MCP-1, ICAM-1, CD40 / CD40L) between patients and controls. In saliva of people suffering from obesity markers concentration were statistically higher than in the control group.

Analysis of the values obtained in the study group broken down into subgroups showed a statistically significant difference in the case of ICAM, the level was significantly higher in patients with obesity II and III degree, compared to overweight and obese I degree. Concentrations of others, studied markers of inflammation did not differ significantly in both groups.

Our results have shown a worse oral health of obese patients compared to those of normal weight. In the saliva of patients in the study reported higher levels of markers of inflammation. It can be assumed that further research on the diagnostic potential of saliva, will allow for more frequent its use in the diagnosis of many serious systemic diseases, including diseases as a consequence of obesity.

9. PIŚMIENNICTWO

1. Suchocka Z.: Otyłość-przyczyny i leczenie. Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego AM w Warszawie. 2003, 1, 1-10.
2. Biela U., Pająk A., Kaczmarek-Chałas K., Głuszek J., Tendera M., Waśkiewicz A., Kurjata P., Wyrzykowski B.: Częstość występowania nadwagi i otyłości u kobiet i mężczyzn w wieku 20-74 lat. Wyniki programu WOBASZ. Kardiol Pol. 2005, 63(Supl IV), 632-636.
3. Deszczyńska K., Górka R.: Wpływ otyłości na stan zdrowia jamy ustnej. Magazyn Stomatologiczny 2012, 10, 44-48.
4. Ostberg A., Bengtsson C., Lissner L., Hakeberg M.: Oral health and obesity indicators. BMC Oral Health. 2012, 12:50.
5. Babińska Z. Hebanowski M.: Otyłość-światowa pandemia. Med Dypł. 2001, 9, 12-21.
6. World Health Organization, Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Geneva, 2005, 894.
7. Karels A. Cooper B.: Obesity and its role in oral health. The internet Journal of Allied Science and Practice. 2007, 5, 1.
8. Konarzewski M.: Ewolucja otyłości. Nauka. 2006, 4, 85-96.
9. Neel VJ.: Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by progress? Am. J. Hum. Genet. 1962, 14, 353-362.

10. Eaton SB.: An evolutionary perspective on human physical activity: implications for health. *Comp. Biochem. Physiol.* 2003, 136, 153-159.
11. Bryl W., Hoffman K., Miczke A., Pupek-Musialik D.: Otyłość w młodym wieku-epidemiologia, konsekwencje zdrowotne, konieczność prewencji. *Przewodnik Lekarski*. 2006, 9, 91-95.
12. Obuchowicz A.: Epidemiologia nadwagi i otyłości-narastającego problemu zdrowotnego w populacji dzieci i młodzieży. *Endokrynologia, Otyłość Zaburzenia Przemiany Materii*. 2005, 1, 9-12.
13. Szatkowska A., Bodalski J.: Otyłość dzieci i młodzieży. *Przewodnik Lekarza*. 2003, 6, 54-58.
14. Przybylska D., Kurowska M., Przybylski P.: Otyłość i nadwaga w populacji rozwojowej. *Hygeia Public Health*. 2012, 1, 28-35.
15. Hasam D., James W.P.: Obesity. *Lancet*. 2005, 366, 1197 – 1209.
16. Wolin K., Carson K., Colditz G.: Obesity and cancer. *The Oncologist*. 2010, 15, 556-565.
17. Reid I.: Relationship between fat and bone. *Osteoporos Int*. 2008, 19, 595-606.
18. Miller G., Freedland K., Carney R., Stetler C., Banks W.: Pathways linking depression, adiposity and inflammatory markers in healthy young adults. *Brain, Behavior and Immunity*. 2003, 17, 276-285.
19. Sweeting H.: Measurement and Definitions of Obesity In Childhood and Adolescence a field guide for uninitiated. *Nutritional J*. 2007, 9, 345-356.
20. Nawarycz T., Ostrowska-Nawarycz L.: Rozkłady centylowe obwodu pasa u dzieci i młodzieży. *Pediatr Pol*. 2007, 5-6, 418-424.

21. Bergmann R., Stefanovski D., Buchanan T., Sumner A., Reynolds J., Sebring N., Xiang A., Watanabe R.: A Better Index of Body Adiposity. *Obes.* 2011, 5, 1083-1089.
22. Jarosz M., Grodowska A.: Leczenie otyłości. *Family Medicine & Primary Care Review.* 2008, 10, 1361-1366.
23. Pawlik M., Rydzewska G.: Metody terapeutyczne leczenia otyłości z uwzględnieniem zastosowania balonów dożołądkowych. *Pol. Merk. Lek.* 2009, 155, 527-531.
24. Jakicic J., Otto A.: Physical activity considerations for the treatment and prevention of obesity. *Am J Clin Nutr.* 2005, 82, 229-239.
25. Pałac M., Siewiec M., Owczarek D., Plucińska A.: Otyłość i jej leczenie z zastosowaniem metod fizjoterapeutycznych. *Piel. Zdr. Pub.* 2001, 4, 367-372.
26. P. Clifton.: Dietary treatment of obesity. *Nature Clinical Practice.* 2008, 12, 672-680.
27. Kierklo A., Ostasiewicz E., Rojek K.: Otyłość dzieci a próchnica zębów – na podstawie piśmiennictwa. *Nowa Stomatologia.* 2008, 3, 112-115.
28. Rodakowska E.: Otyłość a próchnica zębów. *M Stomatol.* 2011, 7-8, 128-138.
29. Kantovitz K., Pascon F., Rontani R., Gaviao M.: Obesity and dental caries – A systematic Review. *Oral Health Prev Dent.* 2006, 4, 137-144.
30. Johansson I., Tidehag P., Lundberg V., Hallmans G.: Dental status, diet and cardiovascular risk factors in middle-aged people in northern Sweden. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1994, 22, 431-436.

31. Larsson B., Johansson I., Hallmans G., Ericson T.: Relationship between dental caries and risk factors for atherosclerosis in Sweden adolescents? *Community Dent Oral Epidemiol.* 1995, 4, 203-210.
32. Chen W., Chen P., Chen S.C., Shih W., Hu H.: Lack of association between obesity and dental caries in three-year-old children. *Zhonghua Min Guo.* 1998, 2, 109-119.
33. Chakravarthy PK., Suresh G., Chenna D., Chenna V.: Relationship between anthropometric measures and dental caries among adolescent National Cadets Corps of Udupi district, south India. *J Nat Sc Biol Med.* 2013, 1, 167-170.
34. Honne T., Pentapati K., Kumar N., Achrya S.: Relationship between obesity/overweight status, sugar consumption and dental caries among adolescents in South India. *Int J Dent Higiene.* 2012, 10, 240-244.
35. Alm A., Fahraeus C., Wendt L., Andersson B., Birkhed D.: Body adiposity status in teenagers and snacking habits in early childhood in relation to approximal caries at 15 years of age. *Int J Paediatr Dent.* 2008, 3, 189-196.
36. Modeer T., Blomberg C., Wondimu B., Julihn A., Marcus C.: Association between obesity, flow rate of whole saliva and dental caries in adolescents. *Obes.* 2010, 12, 2367-2373.
37. Sheiham A. Steele J., Marcenes W., Finch S.: The relationship between oral health status and body mass index among older people: a national survey of older people in Great Britain. *Brit Dent J.* 2012, 12, 703-706.
38. de Andrade F., De Franca A., Kitoko P.: Relationship between oral health, nutrient intake and nutritional status in sample of Brazilian elderly people. *Gerodontol.* 2009, 26, 40-45.
39. Jagannathachary S., Kamaraj D.: Obesity and periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol.* 2010, 2, 96-100.

40. Gałęcka-Wanatowicz D., Chomyszyn-Gajewska M.: Otyłość a stan tkanek przyzębia - przegląd piśmiennictwa. *Czas Stomatol.* 2009, 62, 8, 649-656.
41. Saito T., Shimazaki Y.: Metabolic disorders related to obesity and periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2007, 43, 254-266.
42. Perlstein M., Bissada N.: Influence of obesity and hypertension on the severity of periodontitis in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1977, 5, 707-719.
43. Saito T., Shimazaki Y., Koga T., Tsuzuki M., Ohshima A.: Relationship between upper body obesity and periodontitis. *J Dent Res.* 2001, 7, 1631-1636.
44. Al-Zahrani M., Bissada N., Borawski E.: Obesity and Periodontal Disease in Young, Middle-Aged and Older Adults. *J Periodontol.* 2003, 5, 610-615.
45. Dalla Vecchia C., Susin C., Rosing C., Oppermann R., Albandar J.: Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. *J Periodontol.* 20005, 10, 1721-1728.
46. Kumar S., Dagli R., Dhanni C., Duraiswamy P.: Relationship of Body Mass Index with periodontal health status of green marble mine laborers in Kesariyaji. *Braz Oral Res.* 2009, 4, 365-369.
47. Saxlin T., Ylostalo P., Suominen-Taipale L., Aromaa A., Knuuttila M.: Overweight and obesity weakly predict the development of periodontal infection. *J Clin Periodontol.* 2010, 37, 1059-1067.
48. Paszyńska E.: Wybrane czynniki wpływające na wydzielanie i skład śliny – omówienie aktualnego piśmiennictwa. *Dental Forum.* 2005, 1, 86-90.
49. Scully C.: Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral Diseases.* 2003, 9, 165-176.

50. Bray G., Blackburn G., Ferguson J., Greenway F.: Sibutramine produces dose-related weight loss. *Obes Res.* 1999, 2, 189-198.
51. Boyd L., Dwyer D., Papas A.: Nutritional Implications of Xerostomia and Rampant Caries Caused by Serotonin Reuptake Inhibitors: A Case Study. *Nutr Rev.* 1997, 10, 362-668.
52. Rymaszewska J.: Leki psychotropowe w schorzeniach somatycznych - wskazania, ograniczenia i interakcje. *Psychiatria w Praktyce Ogólnolekarskiej.* 2007, 7, 4, 151-160.
53. Goodson J., Groppo D., Halem S., Carpino E.: Is Obesity an Oral Bacteria Disease? *J Dent Res.* 2009, 6, 519-523.
54. Shillitoe E., Weinstock R., Kim T., Simon H., Planer J., Noonan S., Cooney R.: The oral microflora in obesity and type-2 diabetes. *J of Oral Mikrobiol.* 2012, 4, 190-203.
55. Aggarwl J., Swami G., Kumar M.: Proboitics and their Effects on Metabolic Diseases: An Update. *J of Clin And Diagnosis Res.* 2013, 1, 173-177.
56. Zeigler C., Persson G., Wondimu B., Marcus C., Sobko T., Modeer T.: Mikrobiota in the oral subgingival biofilm is associated with obesity in adolescence. *Obes.* 2012, 1, 157-164.
57. Skowrońska M., Fichna M., Fichna P.: Rola tkanki tłuszczowej w układzie dokrewnym. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii.* 2005, 1, 3, 21-29.
58. Siiteri PK.: Adipose tissue as a source of hormones. *Am J Clin Nutr.* 1987, 45, 277-282.

59. Zhang Y., Prencu R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M.: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994, 372, 425-432.
60. Trayhurn P., Wood I.: Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. 2004, 3, 347-355.
61. Kershaw E., Flier J. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004, 6, 2548-2556.
62. Olszaneicka-Glinianowicz M., Kocęlak P., Orlik B., Handzik G., Juszczyk Ł.: Nowe adipokiny-korzystne czy niekorzystne w aspekcie patogenezy insulinooporności? *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materi*. 2009, 5, 4, 236-244.
63. Ibrahim M.: Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Res*. 2010, 11, 11-18.
64. Artym J.: Złoty środek na otyłość? Udział laktoferyny w metabolizmie glukozy i lipidów. 2012, 66, 937-953.
65. Olszanecka-Glinianowicz M.: Zahorska-Markiewicz B. Otyłość jako choroba zapalna. *Postępy Hig Med Dośw*. 2008, 62, 249-257.
66. Hotamisligil G., Arner P., Caro J., Atkinson R., Spiegelman B.: Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor in human obesity and insulin resistance? *J Clin Invest*. 1995, 95, 2409-2415.
67. Hizadeh M., Ong J., Garvey W., Henry R., Kern P.: The expression of TNF α by human muscle. Relationship to insulin resistance. *J Clin Invest*. 1996, 97, 1111-1116.
68. Esser N., Legrand-Poels S., Piette J., Scheen A., Paquot N.: Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014, 105, 141-150.

69. Wellen K., Hotamisligil G.: Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003, 112, 1785-1788.
70. Trayhurn P., Wang B., Wood I.: Hypoxia in adipose tissue: a basis for the dysregulation of tissue function in obesity? *Br J Nutr.* 2008, 100, 227-235.
71. Bouvman J., Visseren F., Bouter K., Diepersloot R.: Infection-induced inflammatory response of adipocytes in vitro. *Int J Obes.* 2008, 32, 892-901.
72. Marlicz W., Otycz W., Ostrowska L., Łoniweski I.: Flora bakteryjna jelit i jej potencjalny związek z otyłością. *Endokrynol. Otył. Zab. Przem. Mat.* 2013, 9, 1, 20-27.
73. Arbor A.: Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest.* 2011, 121, 6, 2111-2117.
74. Szydłarska D., Grzesiuk A., Kupstas A., Bar-Andziak E.: Ślina jako materiał diagnostyczny. *Wybr. Probl. Klin.* 2008, 2, 6, 454-464.
75. Buczek P., Cylwik D., Stokowska W.: Metabolizm tryptofanu w szlaku kinureninowym. *Postępy Hig Med Dosw.* 2005, 59, 283-289.
76. Mathison R.: Salivary Glands and Adipobiology. *Adipobiol.* 2012, 4, 51-58.
77. Król K., Grocholewicz K.: Wybrane białka śliny jako biomarkery miejscowych i ogólnych procesów chorobowych, przegląd piśmiennictwa. *Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie.* 2007, 53, 1, 78-82.
78. Cyprysiak G., Tadeusiak W.: Zastosowanie śliny w diagnostyce medycznej. *Nowa Stom.* 2001, 16, 33-36.
79. Dziurkowska E., Zarzycki P.: Rola oznaczania hormonów steroidowych w ślinie w nowoczesnej diagnostyce medycznej. *Biomat. Chem. Toksykol.* 2007, 4, 401-409.

90. Fantuzzi G.: Adipose tissue, adipokines and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005, 115, 911-919.
91. Zwiech R., Kacprzyk F.: Stężenie w surowicy i wydalanie z moczem receptorów TNF typu I i II a progresja pierwotnych glomerulopatii. *Nefrol Dializoterapia Pol.* 2008, 12, 1, 25-31.
92. Gamal A., Asma M., El Refaei, El-Latif M.: A Comparison between Serum and Salivary TNF-Alpha in Oral Lichen Planus. *Egypt J Med Microbiol.* 2009, 18, 1, 151-162.
93. Słotwińska S.M., Słotwiński R., Zaleska M.: Stężenie w ślinie antagonisty receptora interleukiny 1 (IL-1 Ra) i rozpuszczalnego receptora czynnika martwicy nowotworu (sTNF RI) w przewlekłym zapaleniu przyzębia. *Nowa Stomatologia.* 2011, 1, 31-33.
94. Jamee M., Estani M., Sarafnejad A.: Salivary concentration of TNF alpha, IL-1, IL-6, IL-8 in oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Cir Buccal.* 2008, 13, 5, 292-295.
95. Goodson J.M., Kantarci A., Hartman M., Denis G., Stephens D. i inni: Metabolic Disease Risk in Children by Salivary Biomarker Analysis. *Plos One.* 2014, 9, e98799 (on line).
96. Żyżyńska-Granica B., Zegrocka-Stendel O., Dutkiewicz M., Niewieczyrzał S., Trzaskowski B., Filipek S., Krzeczyński P., Winiarska M., Koziak K.: Hamowanie aktywności biologicznej interleukiny 15-nowe perspektywy. *Post Pol Med. Farm.* 2013, 3, 45-55.
97. Żyżyńska-Granica B.: Interleukina 15-co już wiemy? Budowa, receptory, inhibitory. *Post Biol Kom.* 2011, 38, 3, 435-452.

98. Angioglio A., Kanegane H., Sagadari C., Reaman H., Tosato G.: Interleukin 15 promotes angiogenesis in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997, 233, 231-237.
99. McInnes B., Gracie J.: Interleukin-15: a new cytokine target for the treatment of inflammatory diseases. *Current Opinion Pharmacol.* 2004, 4, 392-397.
100. Aringer M., Stummvoll G., Steiner G., Koeler M., Steiner C., Hofler E., Hiesberger H., Smolen J., Graninger W.: Serum interleukin-15 is elevated in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol.* 2001, 40, 8, 876-881.
101. Jachnik M., Szczepankiewicz A., Bręborowicz A.: Wpływ polimorfizmu genu IL15 na przebieg astmy oskrzelowej u dzieci. *Alerg Astma Immunol.* 2011, 16, 4, 200-204.
102. Bryk D., Olejarz W., Zapolska-Downar D.: Kinazy aktywowane mitogenami i ich znaczenie w patogenezie miażdżycy. *Post. Hig. Med. Dosw.* 2014, 68, 10-22.
103. Grzywacz Z., Kuna P.: Cytokiny i bazofile-ich wzajemne interakcje i rola w astmie oskrzelowej. *Alerg Astma Immunol.* 1998, 3, 3, 155-159.
104. Mori T., Fujita H., Narita T., Shimotomai T., Yoshioka N., Imai H., Kakei M., Ito S.: Association of monocyte chemoattractant protein-1 with renal tubular damage in diabetic nephropathy. *J Diab Compl.* 2003, 17, 11-15.
105. Mori T., Fujita H., Narita T., Shimotomai T., Yoshioka N., Imai H., Kakei M., Ito S.: Increased urinary excretion of monocyte chemoattractant protein-1 in proteinuric renal diseases. *Ren Fail.* 2003, 25, 439-444.
106. Eardley K.S., Zehnder D., Quinkler M., Lepenies J., Bates R., Savage C., Howie A., Adu D., Cocwell P.: The relationship between albuminuria, MCP-1/CCL2, and interstitial macrophages in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2006, 69, 1189-1197.

107. Pavkova Goldbergova M., Lipkova I., Pavek N., Gatterova J., Vasku A., Soucek M., Nemecek P.: RANTES, MCP-1 chemokines and factors describing rheumatoid arthritis. *Mol Immunol* . 2012, 52, 3-4, 273-278.
108. Buraczynska M., Bednarek-Skublewska A., Buraczynska K., Ksiazek A.: Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene polymorphism as a potential risk factor for cardiovascular disease in hemodialyzed patients. *Cytokine*. 2008, 44, 3, 361-365.
109. Kurtis B.: Gingival Crevicular Fluid Levels of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Tumor Necrosis Factor-Alpha in Patients With Chronic and Aggressive Periodontitis. *J Periodontol*. 2005, 76, 11, 1849-1855.
110. Pierzchała A., Barczyk W., Sozała E.: Stężenia CC chemokin (MCP-1, MCP-1alpha, MCP-1 beta) w indukowanej płucinie u chorych na POChP i u chorych na przewlekłe zapalenie oskrzeli. *Pneumonol Alergol Pol*. 2001, 69, 1-2, 40-49.
111. Jakuszko K., Krajewska M., Weyde W., Grzegorzczak K., Klinger M.: Pentaksyny-znaczenie w patogenezie toczenia rumieniowatego układu. *Postepy Hig Med Dosw*. 2011, 65, 597-605.
112. Duran S., Duran I., Kaptanogasi F., Nartop F., Ciftci H., Korkmaz G.: The role of pentraxin 3 as diagnostic value in classification of patients with heart failure. *Clin Biochem*. 46, 12, 983-987.
113. Mantovani A., Garlanda C., Bottazzi B., Peri P., Doni A., de la Torre Y., Latini R.: The long pentraxin PTX3 in vascular pathology. *Vasc Pharmacol*. 2006, 45, 5, 326-330.
114. Kai M., Eggers P., Armstrong R., Califf, N., Johnson M., Simoons, Per Venge, S.: Clinical and prognostic implications of circulating pentraxin 3 levels in non ST-elevation acute coronary syndrome. *Clin Biochem*. 2013, 46, 16-17, 1655-1659.

115. Danikiewicz A., Błażelonis A., Piętka-Rzycka A., Zubeleicz-Szkodzińska B.: Pentraksyna 3-nowy wskaźnik zapalenia. *Ann Acad Med Siles.* 2012, 66, 5, 62-66.
116. Gümüş P., Nizam N., Nalbantsoy A., Özçaka Ö., Buduneli N.: Saliva and serum levels of pentraxin-3 and interleukin-1 β in generalized aggressive or chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2014, 3, 40-46.
117. Gümüş P., Nizam N., Nalbantsoy A., Ozacaka O., Boduneli N.: Saliva, Saliva and serum Levels of Pentraxin-3 and Interleukin-1beta in Generalised Aggressive or Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2015, 85, 40-46.
118. Fujita Y., Ito H., Sekino S., Numabe Y.: Correlations between pentraxin 3 or cytokine levels in gingival crevicular fluid and clinical parameters of chronic periodontitis. *Odontol.* 2012, 100, 2, 215-221.
119. Saluk-Juszczak J., Królewska K.: Rola szlaku CD40/CD40L w biologicznej aktywności płytek krwi. Część I. *Przegląd Menopauzalny.* 2010, 5, 305-308.
120. Saluk-Juszczak J., Królewska K.: Rola szlaku CD40/CD40L w biologicznej aktywności płytek krwi. Część II. *Przegląd Menopauzalny.* 2010, 6, 371-375.
121. Wasilewski J., Poloński L.: Rola układu CD40/CD40L w patogenezie procesu miażdżycowego. *Folia Cardiol Excerpta.* 2006, 1, 1, 10-19.
122. Schonbeck U., Libby P.: The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci.* 2001, 58, 4-43.
123. Villard J., Solanill A., Gauthier B.: Increased soluble and platelet-associated CD40 ligand in essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. *Blood.* 2002, 99, 2612-2614.
124. Sipsas N., Sfrikakis P., Kontos A., Kordossis T.: Levels of Soluble CD40 Ligand (CD154) in Serum Are Increased in Human Immunodeficiency Virus Type 1-

Infected Patients and Correlate with CD4+ T-Cell Counts. *Clin Vaccine Immunol* . 2002, 9, 2, 558-561.

125. Goules A., Tzioufas A., Manousakis M., Kirou K., Crow M., Routsias J.: Elevated levels of soluble CD40 ligand (sCD40L) in serum of patients with systemic autoimmune diseases. *J Autoimmunol*. 2006, 26, 3, 165-171.

126. Yan J., Wu Z., Kong X., Zong R., Zhan L.: Relation between upregulation of CD40 system and complex stenosis morphology in patients with acute coronary syndrome. *Acta Pharmacol Sin*. 2004, 25, 251-256.

127. Andre P., Niannizzi-Alaimo L., Prasad S., Phillips D.: Platelet-derived CD40L: the switch-hitting player of cardiovascular disease. *Circulation*. 2002, 106, strony 896-899.

128. Floriano P., Christodoulides N., Miller C., Ebersole J., Spertus J., Rose B., Kinane D., Novak J., Steinhubl S., Acosta A., Mohanty S., Dharshann P., Yeh C., Redding S., Furmaga W., McDevitt J.: Use of Saliva-based Nano-Biochip Tests for Acute Myocardial Infarction at the Point of care: A Feasibility Study. *Clin Chem*. 55, 8, 1530-1538.

129. Ping L., Ogawa N., Sugai S.: Novel Role of CD40 in Fas-Dependent Apoptosis of Cultured Salivary Epithelial Cells From Patients With Sjogren's Syndrome. *Arthritis Rheumatism*. 2005, 52, 2, 573-581.

130. Zubkiewicz-Kucharska A., Chrzanowska J., Nocoń-Bohusz J., Noczyńska A.: Badania zaburzeń czynności śródbłonna i procesów zapalnych u otyłych nastolatków z zespołem metabolicznym. *Endokrynol Pediatr*. 2012, 1, 53-59.

131. Madej A., Reich A., Szepietowski J.: Naczyniowa proteina adhezyjna 1-unikatowa cząsteczka adhezyjna. *Post Hig Med Dosw*. 2005, 59, 172-179.

132. Hwang S., Ballantyne C., Sharrett A.: Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary disease cases. *Circulation*. 1997, 96, 4219-4225.

133. Roland C., Harken A. Sarr M., Barnett C.: ICAM-1 ekspresion determines malignant potential of cancer. *Surg.* 2007, 141, 6, 705-707.
134. Jańczuk Z., Kaczmarek U., Lipski M., Arabska-Przedpeńska B.: *Stomatologia Zachowawcza*, Warszawa, PZWL, 2014, wydanie IV, 184-185.
135. Silness J., Löe H.: Periodontal disease in pregnancy. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. . *Acta Odont Scand.* 1964, 22, 121-134.
136. Lange D.: Die gezielte Vorbehandlung vor der systematischen Parodontalbehandlung. *Zahärztl Welt/Reform.* 1975, 8, 44-47.
137. Löe H., Silness J.: Periodontal disease in pregnancy.I.Prevalence and severity. . *Acta Odont Scand.* 1963, 21, 533-535.
138. Jańczuk Z., Banach J.: *Choroby błony śluzowej jamy ustnej i przyzębia*. Warszawa, PZWL, 1998, wydanie II, 45.
139. Muller H., Rateitschak K.: *Periodontologia*. Lublin, Czelej, 2004, wydanie I, 50-51.
140. Muhlemann H., Son S.: Gingival sulcus bleeding - a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta.* 1971, 15, 2, 107-113.
141. Z. Jańczuk.: *Praktyczna periodontologia kliniczna*. Warszawa, Wydawnictwo Kwintesencja, 2004, wydanie I, 37-52.
142. Borowicz-Andrzejewska E., Borysewicz-Lewicka M.: Kliniczna ocena głębokości szczeliny dziąsłowej-porównanie dwóch metod badawczych. *Czas Stom.* 1994, 47, 531-534.
143. Listgarten M., Mao R., Robertson P.: Periodontal probing and the relationship of the probe tip to periodontal tissues. *J Periodontol.* 1976, 47, 511-512.

144. Albright J., Wo P., Ji S., Sun B., Lang K.: Synergism between obesity and poor oral health associated with diabetes in a elderly human population. *South Asian J Trop Med Public Health*. 2013, 44, 2, 318-331.
145. Ritchie C., Kinane D.: Nutrition, inflammation and periodontal disease. *Nutrition*. 2003, 19, 5, 475-476.
146. Konopka T., Matuszewska A., Chrzęszczyk D., Zawada D.: Wskaźnik masy ciała a wybrane periodontologiczne parametry kliniczne. *Dent Med Probl*. 2011, 48, 2, 189-197.
147. 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.
148. Range H., Leger T., Ciangura C., Diallo D., Poitou C., Meilhac O., Bouchard P., Chaussain C.: Salivary proteome modifications associated with periodontitis in obese patients. *J Clin Periodontol*. 2012, 39, 799-806.
149. Baydaa A.: The relation of salivary antioxidants to dental caries among overweight and obese adult aged 30-40 year-old at textile factory in Mosul city. *J Bagh College Dentistry*. 2011, 23, 141-145.
150. Marsicano J., Sales-Peres A., Ceneviva R., Sales-Peres S.: Evaluation of oral health status and salivary flow rate in obese patients after bariatric surgery. *European J Dent*. 2012, 6, 191-197.
151. Aydin S.: A Comparison of Ghrelin, Glucose, Alpha-amylase and Protein Levels in Saliva from Diabetes. *J Biochem Molecular Biol*. 2007, 40, 1, 29-35.
152. Amar S., Zhou O., Shaik-Dasthagirsah Y., Leeman S.: Diet-induced obesity in mice causes changes in immune responses and bone manifested by bacterial challenge. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007, 104, 51, 466-471.

153. Kruszyńska – Rosada M., Borysewicz – Lewicka M.: Oznaczenie liczebności bakterii w ślinie stymulowanej przy użyciu testów Dentocult SM Strip mutans i Dentocult LB. *Stomat Współczesna*. 1995, 2, 1, 23-26.
154. Kruszyńska – Rosada M. Borysewicz – Lewicka M., Śniatała R. Występowanie *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* sp. w ślinie stymulowanej u dzieci szkolnych wolnych od próchnicy zębów. . *Przeł Stom Wiek Rozw*. 1994, 6-7, strony 60-61.
155. Barańska – Gachowska M., Grygier K., Jakuba J., Tyczyńska U., Tyrkiel A.: Wpływ sanacji jamy ustnej na liczebność bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* oraz na odczynowość śliny. *Czas Stomat*. 1996, 64, 6, 384-388.
156. Nederfors T.: Xerostomia and hyposalivation. *Adv Dent Res*. 2000, 12, 48-56.
157. Baliga S., Muglikar, R., Kale.: Salivary pH: a diagnostic biomarker. *J Indian Soc Periodontol*. 2013, 17, 4, 461-465.
158. de Almeida P., Gregio A., M. Machado, A. Soares de Lima, L. Azevedo. Saliva Composition and Functions: A Comprehensive Review. *J Contemp Dent Pract*. 2008, 9, 3, 72-80.
159. Malicka B., Kaczmarek U., Ziętek M.: Próchnica zębów u dorosłych pacjentów z cukrzycę typu 1 i 2. *J Stoma*. 2011, 64, 1-2, 9-24.
160. Ekuni D., Yamamoto Y., Koyama R., Tsuneishi M., Naito K., Tobe K.: Relationship between body mass index and periodontitis in young japanese adults. *J periodont res*. 2008, 43, 417-421.
161. Jańczuk Z., Kaczmarek U., Lipski M., Arabska-Przedpeńska B.: *Stomatologia Zachowawcza*, Warszawa, PZWL, 2014, wydanie IV, 184-185.
162. H. El-Sayed Amin. Relationship between overall and abdominal obesity and periodontal disease among young adults. *Eastern Mediterr Health J*. 2010, 16, 4, 429-433.

163. Ylostalo P., Suominen-Taipale L., Reunanen A., Knuuttila M.: Association between body weight and periodontal infection. *J Clin Periodontol.* 2008, 35, 297-304.
164. Hujoel P., Cruhna-Cruz J., Kressin N.: Spurious associations in oral epidemiological research: the case of dental flossing and obesity. *J Clin Periodontol.* 2006, 33, 520-523.
165. Phalane K., Kriel M., Loxton A., Menezes A., Stanley K., van der Spuy G., Walzl G., Chegou N.: Differential Expression of Host Biomarkers in Saliva and Serum Samples from Individuals with Suspected Pulmonary Tuberculosis. *Mediators Inflamm.* 2013, on line 2013:981984.
166. Khan A.: Detection and quantitation of forty eight cytokines, chemokines, growth factors and nine acute phase proteins in healthy human plasma, saliva and urine. *J Proteomics.* 2012, 75, 4802-4819.
167. Citrin D., Hitchcoc Y., Chung E., Frandsen J., Urick M., Shield W., Gaffney D.: Determination of cytokine protein levels in oral secretions in patients undergoing radiotherapy for head and neck malignances. *Radiation Oncology.* 2012, 7, 1, 64.
168. Delaeu N., Immervoll H., Cornelius J., Jonsson R.: Biomarker profiles in serum and saliva of experomental Sjogren's syndrome: associations with specific autoimmune manifestations. *Arthritis Res.Ther.* 2008, on line 10 (1): R22.
169. Fotis L., Giannakopoulos D., Stamogiannou L., Xatzipsalti M.: Intercellular cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in children. Do they play a role in the progression of atherosclerosis? *Hormones.* 2012, 11, 2, 140-146.
170. Kubicka-Musiał M., Skucha-Nowak M., Hupsch-Marzec H., Młynarczyk-Wierucka B., Książek-Bąk H.: Ocena srężenia sICAM-1 w ślinie i surowicy pacjentów z zapaleniami przyzębia. *Dent Med Probl.* 2005, 42, 2, 223-226.

171. Ghallab N., El-Wakeel N., Shaker O.: Levels of salivary IFN-gamma, TNF-alfa and TNF Receptor-2 As Prognostic Markers in (Erosive) Oral Lichen Planus. Mediators. Inflamm. 2010, on line: 2010:847632

172. Flink H., Bergdahl M., Tegelberg A., Rosenblad A., Lagerlof F.: Prevalence of hyposalivation in relation to general health, body mass index and remaining teeth in different age groups of adults. Community Dent Oral Epidemiol. 2008, 36, 523-531.

173. Benamghar L., Penaud J., Kaminsky P., Abt F., Martin J.: Comparison of gingival index and sulcus bleeding index as indicators of periodontal status. Bull World Health Organ. 1982, 60, 1, 147-151

10. SPIS FOTOGRAFII

Fot. 1. Probówki wirówkowe typu Falcon o pojemności 50 ml.

Fot. 2. Parafinowa guma do żucia, pipetka, podłoże selekcyjonujące oraz tabletki NaHCO_3 .

Fot. 3. Klucz do oceny poziomu bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus sp.* w ślinie.

Fot. 4. Pehametr CG840 firmy Schott.

Fot. 5. Wirówka Centrifuge MPW-223e.

Fot. 6. DuoSet Immunoassay Development Kits firmy R&D Systems.

Fot. 7. Czytnik płytek VERSA max firmy Molecular Devices.

11. SPIS TABEL

Tabela I. Podział pacjentów ze względu na płeć w grupie badanej i kontrolnej.

Tabela II. Klasyfikacja otyłości wg wskaźnika Body Mass Index (BMI).

Tabela III Czułość metody, zakres pomiarów oraz współczynniki zmienności.

Tabela IV. Wiek, waga, BMI oraz WHR w grupie badanej i kontrolnej.

Tabela V. Zachorowalność na próchnicę zębów w grupie badanej i kontrolnej.

Tabela VI. Stan higieny jamy ustnej w grupie badanej i kontrolnej.

Tabela VII. Stan dziąseł w grupie badanej i kontrolnej.

Tabela VIII. Głębokość szczelin przyzębnych w grupie badanej i kontrolnej.

Tabela IX. Porównanie stanu jamy ustnej pacjentów z grupy badanej z podziałem na podgrupy.

Tabela X. Korelacje pomiędzy parametrami klinicznymi jamy ustnej a wskaźnikiem BMI.

Tabela XI. Ilość wydzielania śliny w grupie badanej i kontrolnej.

Tabela XII. Ilość wydzielania śliny w grupie badanej z podziałem na podgrupy.

Tabela XIII. Odczyn pH śliny niestymulowanej i stymulowanej w grupie badanej i kontrolnej.

Tabela XIV. Odczyn pH śliny niestymulowanej i stymulowanej w grupie badanej z podziałem na podgrupy.

Tabela XV. Miano bakterii SM i LA w ślinie pacjentów z grupy badanej i kontrolnej.

Tabela XVI. Stężenia wybranych markerów zapalenia w ślinie osób otyłych i o prawidłowej masie ciała.

Tabela XVII. Stężenia wybranych markerów zapalenia w ślinie osób otyłych z podziałem na klasy otyłości.

Tabela XVIII. Współczynniki korelacji pomiędzy markerami stanu zapalnego w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej.

Tabela XIX. Współczynniki korelacji pomiędzy markerami zapalenia a wskaźnikami klinicznymi jamy ustnej w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej.

Tabela XX. Współczynniki korelacji wybranych markerów zapalenia oraz wskaźnika BMI.

12. SPIS RYCIN

Ryc. 1. Porównanie zachorowalności na próchnicę zębów w grupie badanej i kontrolnej.

Ryc. 2. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej PII a wskaźnikiem stanu dziąseł GI u pacjentów otyłych. Współczynnik korelacji między PL-I i GI wynosi 0,7939 (przy $p=0,0001$).

Ryc. 3. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej PII a wskaźnikiem stanu dziąseł GI u pacjentów o prawidłowej masie ciała. Współczynnik korelacji między PII i GI wynosi $r=0,6105$ (przy $p=0,0001$).

Ryc. 4. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej API a wskaźnikiem stanu dziąseł GI u pacjentów otyłych. Współczynnik korelacji między API i GI wynosi $r=0,6071$ (przy $p=0,0001$).

Ryc. 5. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej API a wskaźnikiem stanu dziąseł GI u pacjentów o prawidłowej masie ciała. Współczynnik korelacji między API i GI wynosi $r=0,6861$ (przy $p=0,0001$).

Ryc. 6. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej PII a wskaźnikiem stanu dziąseł SBI u pacjentów otyłych. Współczynnik korelacji między PII i SBI wynosi $r=0,4469$ (przy $p=0,0001$).

Ryc. 7. Korelacja między wskaźnikiem stanu higieny jamy ustnej PII a wskaźnikiem stanu dziąseł SBI u pacjentów o prawidłowej masie ciała. Współczynnik korelacji między PII i SBI wynosi $r=0,433$ (przy $p=0,0001$).

Ryc.8. Poziomy bakterii SM i LA w ślinie pacjentów z grupy badanej i kontrolnej.

Ryc. 9. Ryc. 9. Korelacja TNF α -R2 i TNF α -R1 oraz MCP-1 w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej (przy p=0,0001).

Ryc. 10. Korelacja sICAM i TNF α -R1, TNF α -R2 oraz MCP-1 w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej (przy p=0,0001).

Ryc. 11. . Korelacja PTX-3 i TNF α -R2 oraz sICAM w ślinie osób z grupy badanej i kontrolnej (przy p=0,0001).

