

## Badanie stężenia rozpuszczalnego urokinazowego receptora aktywatora plazminogenu (suPAR) we krwi u pacjentów z uzupełnieniami protetycznymi w jamie ustnej

### The analysis of the soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) concentrations in the patients with dental restorations

Rafał Mastalerz<sup>1</sup>, Marek Paradowski<sup>2</sup>, Urszula Rychlik<sup>3</sup>, Rafał Nikodem Wlazeł<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Poradnia Protetyki Stomatologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego – Centralnego Szpitala Weteranów w Łodzi

<sup>2</sup>Zespół Laboratoriów Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego – Centralnego Szpitala Weteranów UM w Łodzi

<sup>3</sup>Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej, Centrum Onkologii, Oddział w Krakowie

<sup>4</sup>Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

#### Streszczenie

Jedyną refundowaną przez NFZ metodą odtworzenia braków zębowych jest akrylowa proteza częściowa, będąca jednak często przyczyną wystąpienia stomatopatii protetycznej, obejmującej zarówno uzębienie, jak i błonę śluzową.

Do oceny tego rodzaju przewlekłej odpowiedzi zapalnej, będącej jednocześnie czynnikiem nasilającym rozwój miażdżycy i jej konsekwencji klinicznych, wykorzystano rozpuszczalny receptor urokinazowego receptora aktywatora plazminogenu (suPAR; *soluble urokinase plasminogen activator receptor*).

Dokonano analizy porównawczej stężeń suPAR (ELISA suPARNostic, Virogates) w grupach osób stosujących protezy akrylowe w okresie do 5 lat w stosunku do grupy osób noszących je dłużej oraz w grupie porównawczej u osób nieużytkujących protez, a także w stosunku do innych parametrów laboratoryjnych związanych z odczynem zapalnym.

Wyniki badań przeprowadzonych w grupie 117 osób, z których 77 nosiło protezy akrylowe wykazały, że u pacjentów długotrwale (>5 lat) użytkujących akrylowe protezy częściowe obserwowano większe nasilenie zmian w jamie ustnej oraz wyższe stężenia suPAR (Me=3,95 ng/mL) w porównaniu do osób nieużytkujących protez (Me=3,12 ng/mL), a także pacjentów noszących je krócej, niż 5 lat (Me=3,43 ng/mL); p=0,00002. Stężenie suPAR istotnie dodatnio korelowało ze stężeniem cholesterolu frakcji LDL, triglicerydów, białka C-reaktywnego (CRP; *C-reactive protein*) oraz liczbą krwinek białych i neutrofilów w badanej populacji pacjentów (R>0,2; p<0,05), a także było istotnie wyższe u osób palących (3,84 vs 3,24 ng/mL; p=0,04). Żaden inny poddawany ocenie parametr laboratoryjny, ilustrujący odpowiedź zapalną, nie wykazał analogicznych właściwości dyskryminujących.

Wykazane wzrosty stężeń suPAR były związane z istniejącym miejscowym stanem zapalnym u pacjentów noszących protezy akrylowe. Proces zapalny o większym nasileniu występował u pacjentów stosujących protezy ponad 5 lat i u których występowały patologiczne zmiany w jamie ustnej.

#### Abstract

The only method to restore missing teeth, refunded by the Polish National Health Found, is acrylic partial denture, which is often the cause of prosthetic stomatopathy, that affects both the dentition and the mucous membrane.

The soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) was used to assess this type of chronic inflammatory response, which is also a factor that accelerates the development of atherosclerosis and its clinical outcomes.

Comparative analysis of suPAR concentrations (ELISA suPARNostic, Virogates) was performed in group of people using acrylic dentures for up to 5 years in relation to the group of people using them longer and against the group of the people who do not use prostheses, also in relation to other laboratory parameters related to inflammatory response.

The results of the study conducted in the total group of 117 people, of which 77 were using acrylic dentures, showed that in patients who used them longer (> 5years), greater intensity of changes in the oral cavity and higher suPAR levels (Me=3.95 ng/mL) were observed, in comparison to patients who do not use prostheses (Me=3.12 ng/mL), as well as patients who used them less than 5 years (Me=3.43 ng/mL); p = 0.00002. The concentration of suPAR significantly positively correlated with the concentration of LDL cholesterol, triglycerides, C-reactive protein and the number of white blood cells and neutrophils in the studied population (R>0.2; p<0.05), and

was significantly higher in smokers (3.84 vs 3.24 ng/mL,  $p=0.04$ ). No other laboratory marker of inflammatory response showed similar discriminatory properties.

The demonstrated increases in suPAR concentrations were associated with existing local inflammation in patients using acrylic dentures. More intense inflammatory process occurred in patients using prostheses over 5 years and who have pathological changes in the oral cavity.

**Słowa kluczowe:** protezy akrylowe, suPAR, stomatopatia protetyczna  
**Keywords:** acrylic dentures, suPAR, prosthetic stomatopathy

## Wstęp

Braki zębowe, a szczególnie występujące w stopniu rozległym, stanowią bezwzględne wskazanie do podjęcia leczenia protezy. Najczęściej stosowane są częściowe protezy osiadające, wykonywane z akrylowej płytki, w której umieszczone są akrylowe zęby oraz doginane klamry retencyjne, ze względu na możliwość ich refundacji przez system opieki medycznej w Polsce. Tego rodzaju protezy pozwalają, oprócz odtworzenia utraconych tkanek, na przywrócenie czynności żucia i prawidłowej wymowy, a również na poprawę estetyki twarzy, ochronę podłoża protetycznego pozostałych zębów, przyzębia i struktury kostnej wyrostków zębodołowych [1, 2]. Niestety, resztkowy monomer, pozostający w wyniku polimeryzacji akrylowych protez częściowych, może wywoływać reakcje termiczno-toksyczne, występujące w postaci rumienia na błonie śluzowej, świądu, obrzęku tkanek miękkich. Pary lotnego monomeru u pacjentów z astmą mogą powodować napady zaostrzenia choroby [3, 4]. Ponadto zwraca się uwagę, że metakrylan metylu jest materiałem dość porowatym, co stanowi dogodną niszę rozwoju dla mikroorganizmów bytujących w jamie ustnej – biofilm mikroorganiczny pokrywający głównie powierzchnię protezy stanowią przede wszystkim mikroorganizmy z rodzaju *Candida*, *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonadaceae* [5, 6].

Używane przez pacjentów protezy akrylowe mogą być przyczyną wystąpienia stomatopatii protetycznej. Jest to proces chorobowy obejmujący błonę śluzową jamy ustnej, wywołany przez uraz mechaniczny, infekcję grzybami drożdżopodobnymi oraz oddziaływaniem samej płytki protezy: brakiem stabilizacji protezy na podłożu, porowatością dośluzowej strony protezy, czy niewłaściwym ukształtowaniem jej pobrzeża. Nie tylko błona śluzowa, lecz także zachowane zęby pacjenta są narażone na niekorzystne działanie protez akrylowych. Płytką bakteryjną osadzającą się na powierzchni akrylu stanowi rezerwuar bakterii, będący źródłem drażniących toksyn przyzębia. Płyta protezy natomiast, pokrywając dziąsło brzeżne, utrudnia naturalne mechanizmy oczyszczania przez ślinę oraz ruch policzków, warg i języka. Ponadto należy zwrócić uwagę na podwyższoną temperaturę miejscową, wilgoć, obniżone pH, obecność złuszczonego nabłonka i resztek pokarmowych pod płytą protez [7].

Proces chorobowy, wywołany użytkowaniem protez częściowych można zaliczyć do stanów zapalnych o niewielkim nasileniu. Jednak nawet słabo nasilony proces zapalny może wpływać nie tylko na stan układu stomatognatycznego, lecz również na zdrowie pacjentów i przebieg różnych chorób uogólnionych, takich jak np. choroby sercowo-naczyniowe, cukrzyca. Stomatopatia

protetyczna, jak każdy inny proces zapalny, wiąże się z podwyższonym stężeniem we krwi białek ostrej fazy, spośród których zwraca się szczególną uwagę na wykorzystywane powszechnie w diagnostyce laboratoryjnej białko C-reaktywne (CRP; *C-reactive protein*). Wśród białek, których synteza w organizmie ludzkim narasta w związku z odpowiedzią zapalną i aktywacją układu immunologicznego, szczególne miejsce zajmuje od 2009 roku rozpuszczalna postać urokinazowego receptora aktywatora plazminogenu (suPAR; *soluble urokinase plasminogen activator receptor*). Jest to rozpuszczalna forma związanego z błoną komórkową urokinazowego aktywatora plazminogenu, który ulega ekspresji głównie na komórkach układu odpornościowego, śródbłonku i mięśniówce gładkiej. Uwalniane jest z błony komórkowej wskutek odpowiedzi zapalnej i aktywacji układu immunologicznego, przez co uważa się, że stężenie suPAR odzwierciedla stopień nasilenia odpowiedzi immunologicznej [8].

Obserwuje się tendencje do wzrostu stężenia suPAR w szeregu sytuacji związanych ze stylem życia jak i czynnikami ryzyka, spośród których istotnie ważnym wydaje się być palenie papierosów. Podwyższone stężenia suPAR wiąże się z rozwojem chorób nowotworowych, szeregu chorób sercowo-naczyniowych, cukrzycy typu 2, czy niewydolności nerek [9, 10, 11]. Przy czym ryzyko śmiertelności w korelacji z suPAR pozostaje niezależne od innych czynników, powodujących wzrost stężenia tego biomarkera. Liczne badania dokumentują, że podwyższone stężenia suPAR korelują również z zachorowalnością i śmiertelnością u osób z ostrymi i przewlekłymi procesami chorobowymi [12-17]. Dynamika zmian stężeń tego białka koreluje z pogorszeniem i poprawą stanu zdrowia, jednak zmiany następują o wiele wolniej, niż w przypadku białek ostrej fazy, np. CRP.

Długotrwałe, niewłaściwe noszenie protez zębowych jamy ustnej oraz nieefektywna higiena powoduje szereg niekorzystnych następstw, w tym wytworzenie biofilmu mikrobiologicznego na płycie protezy. Przewlekłe stany zapalne w obrębie jamy ustnej (dotyczące uzębienia i błony śluzowej), w tym rozwijająca się stomatopatia protetyczna należą do jednego z wielu czynników nasilających rozwój miażdżycy i jej konsekwencji (cukrzyca, choroba wieńcowa, ostre zespoły wieńcowe, udary mózgu, zakrzepice). Stąd wskazanym jest prowadzenie kontroli stanu ogólnego pacjenta pod kątem toczących się procesów zapalnych.

Do oceny przewlekłego stanu zapalnego można wykorzystywać różne testy laboratoryjne, m.in. liczbę krwinek białych, liczbę neutrofilów, wskaźnik ESR (OB), stężenie cytokin prozapalnych czy białek ostrej fazy, głównie CRP. Rekomenduje się, aby pacjenci użytkujący protezy akrylowe dokonywali ich wymiany co 5 lat.

Niestety faktem jest, że pewien odsetek pacjentów używa tych protez niewłaściwie – z jednej strony nie przykładając należytej uwagi do higieny, z drugiej zaś użytkując je w czasie o wiele dłuższym niż sugerowany. Ma to niewątpliwie wpływ na rozwój zmian chorobowych w obrębie jamy ustnej, powiązanych z odpowiedzią zapalną o charakterze przewlekłym.

Zakładając, że stopień nasilenia procesu zapalnego u pacjentów stosujących protezy zębowe nie jest na tyle wysoki, że wymienione testy laboratoryjne będą pomocne w ilościowym jego określeniu, postanowiono wykorzystać do jego oceny biomarker, związany z odpowiedzią zapalną, jakim jest suPAR. Celem pracy było przeprowadzenie, u pacjentów stosujących refundowane przez NFZ akrylowe protezy częściowe, analizy stężeń suPAR, z uwzględnieniem grupy osób stosujących protezy w czasie do 5 lat w stosunku do grupy osób noszących je dłużej oraz w grupie porównawczej osób nieużytkujących protez. Analizie poddano również rozkład stężeń suPAR w badanych grupach i w grupie porównawczej w stosunku do innych parametrów laboratoryjnych, szczególnie parametrów związanych z odczynem zapalnym, wraz z ich wzajemnymi współzależnościami oraz podjęto próbę wstępnego oszacowania potencjalnej użyteczności suPAR jako markera pomocnego w ocenie stopnia nasilenia stanu zapalnego u pacjentów stosujących protezy refundowane przez NFZ.

### Materiał i metody

Na udział w badaniu wyraziło zgodę 142 pacjentów Poradni Protetyki Stomatologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. Wojskowej Akademii Medycznej – Centralnego Szpitala Weteranów, zgłaszających się indywidualnie, bądź kierowanych z innych poradni stomatologicznych celem wykonania nowych protez zębowych częściowych, refundowanych przez NFZ. W wyniku przeprowadzonych lekarskich badań – przedmiotowych i podmiotowych – spośród 142 kandydatów do badań nie zakwalifikowano 25 osób. Byli to pacjenci z opisanymi w piśmiennictwie czynnikami niezależnie związanymi z podwyższonym stężeniem suPAR, w tym osoby z ostrymi i przewlekłymi stanami zapalnymi. Do badań zakwalifikowano ostatecznie 117 pacjentów (38% mężczyzn i 62% kobiet) w wieku 28–67 lat, rekrutowanych w okresie od października 2013 r. do czerwca 2016 r. Badania przeprowadzono w oparciu o zgodę Komisji Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Wszystkie osoby wyraziły pisemną zgodę na udział w badaniach. Spośród badanych osób wyselekcjonowano 3 grupy:

- I grupa (A) – 40 pacjentów, noszących protezy zębowe w czasie do 5 lat, (wiek: 37–66 lat, 52% kobiet i 48% mężczyzn).
- II grupa (B) – 37 pacjentów, noszących protezy zębowe przez okres 5–8 lat z medianą 6,5 roku, (wiek 39–67 lat, w tym 60% kobiet i 40% mężczyzn).
- III grupa odniesienia (K) – 40 osób zdrowych (wiek 28 – 66 lat, w tym 63% kobiet i 37% mężczyzn), nieużywających protez zębowych, z uzębieniem i błoną śluzową bez istotnych zmian patologicznych.

Charakterystykę badanych grup pacjentów, dotyczącą liczebności oraz nasilenia zmian w obrębie jamy ustnej przedstawiono na rycinie 1.

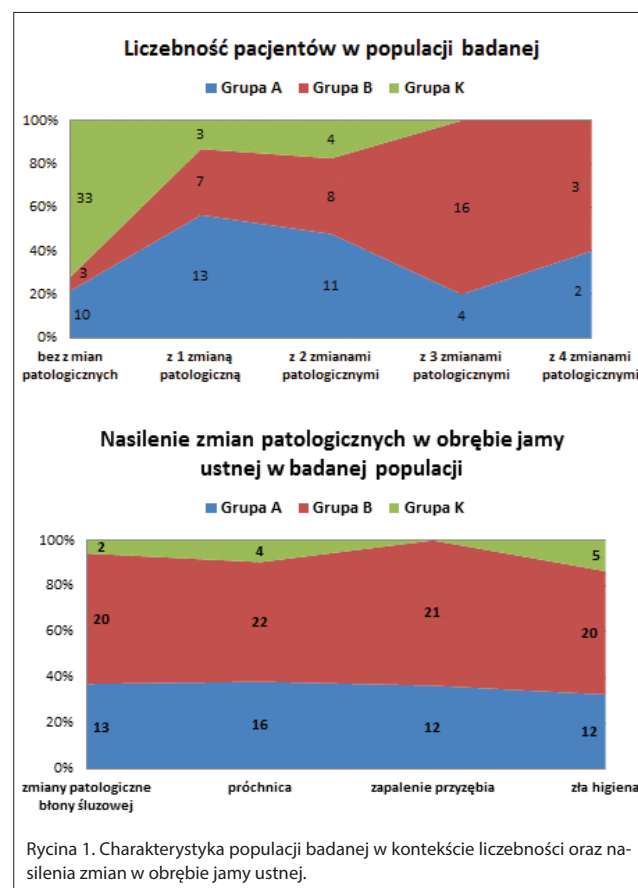
We krwi pełnej pobranej od pacjentów wykonywano ocenę morfologii krwi z różnicowaniem krwinek białych na 5 subpopulacji (analyzer XN Sysmex), z czego w badaniu wykorzystano informację o całkowitej liczbie krwinek białych (WBC) oraz liczbie neutrofilów (NEU).

W surowicy oznaczano stężenia: CRP metodą o wysokiej czułości (hsCRP), kreatyniny (CREA), mocznika (UREA), glukozy (GLU), triglicerydów (TG), cholesterolu całkowitego (CH) oraz frakcji HDL i LDL (analyzer AU680, Beckman Coulter). Dodatkowo u każdego pacjenta wyliczono wskaźnik: eGFR CKD-EPI.

Część surowicy została zamrożona w temperaturze  $-70^{\circ}\text{C}$  i przechowywana przez okres do 1 roku w celu oznaczenia stężenia suPAR (ELISA, suPARNostic, Virogates).

Badania wykonano w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej i Biochemii Klinicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. Wojskowa Akademia Medycznej – Centralnego Szpitala Weteranów w Łodzi.

Analizy statystyczne wyników oznaczeń laboratoryjnych w całej populacji pacjentów jak i w poszczególnych podgrupach, zostały zweryfikowane pod względem zgodności cech z rozkładem normalnym (test Kołmogorowa-Smirnowa z poprawką Lillieforsa). Ponieważ większość rozkładów wyników oznaczeń badanych parametrów nie wykazywała cech rozkładu normalnego, w dalszej analizie statystycznej wykorzystano testy nieparametryczne (z wyłączeniem analizy cech o rozkładzie zgodnym z normalnym): test U Manna-Whitneya, test Wilcozona oraz test Kruskala-Wallis. W obliczeniach statystycznych korzystano z programu MedCalc Statistical Software version 18.2.1 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <http://www.medcalc.org>; 2018). Dla wykazania



istotności różnic pomiędzy testowanymi hipotezami przyjęto wartość  $p < 0,05$ .

## Wyniki

Szczegółowe badania stomatologiczne wykazały w obu grupach pacjentów noszących uzupełnienia protetyczne znaczne nasilenie zmian patologicznych w porównaniu do grupy referencyjnej (porównawczej). Odsetek poszczególnych zmian w grupie B tj. osób użytkujących protezy dłużej niż 5 lat był blisko dwukrotnie wyższy w stosunku do grupy A.

Równocześnie istotnie mniejsze nasilenie zmian patologicznych (pojedyncze przypadki) obserwowano w grupie porównawczej, przy czym większość z tych zmian związana była ze złą higieną jamy ustnej. W tej grupie nie wykazano żadnego przypadku zapalenia przyzębia oraz obserwowano najwięcej osób bez zmian patologicznych.

W grupie osób użytkujących protezy powyżej 5 lat stwierdzano istotnie wyższą liczbę przypadków dotyczących zapalenia przyzębia (ryc. 1). Wykazano istotnie wyższe odsetki pacjentów ze zmianami w jamie ustnej w grupie B w porównaniu do grupy A oraz grupy porównawczej a także istotnie wyższe odsetki w grupie A w porównaniu do grupy porównawczej; różnice w liczebności zmian w jamie ustnej pomiędzy poszczególnymi grupami okazały się istotne statystycznie ( $p < 0,0001$ ) (test chi-kwadrat).

Pomimo, że do badania nie zakwalifikowano osób z chorobami o charakterze ostrym i przewlekłym, w stosunku do których udokumentowano w piśmiennictwie podwyższone stężenie suPAR w związku z ich przebiegiem, to w badanych grupach obserwowano jednak współistnienie innych, nieopisywanych dotychczas w kontekście stężenia suPAR chorób o charakterze przewlekłym. Ponieważ stężenie suPAR wzrasta wraz z aktywacją układu odpornościowego i odzwierciedla subkliniczne uszkodzenie narządowe w populacji, przeanalizowano, czy osoby zakwalifikowane do badania, które zgłosiły w wywiadzie obecność innych chorób o charakterze przewlekłym ( $n=25$ ), miały istotnie statystycznie wyższe stężenie suPAR. Wykazano brak istotnych statystycznie różnic w stężeniu biomarkera pomiędzy osobami z towarzyszącymi chorobami przewlekłymi i bez chorób. Średnie stężenia wynosiły w tych grupach odpowiednio: 3,59 ng/mL i 3,46 ng/mL;

$p=0,56$  (test-T). Wnioskować zatem można, że współistnienie chorób o charakterze przewlekłym w badanej populacji nie miało wpływu na różnice w stężeniu suPAR.

Do niemodyfikowalnych czynników ryzyka związanych ze stężeniem suPAR w populacji ogólnej należy wiek i płeć. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami suPAR u kobiet i mężczyzn w badanej grupie – średnie stężenia wynosiły odpowiednio: 3,60 ng/mL oraz 3,30 ng/mL;  $p=0,81$ , (test-T), aczkolwiek obserwowano opisywaną w piśmiennictwie tendencję to wyższych stężeń biomarkera u kobiet. Analiza korelacji wg Spearmana nie wykazała również istotnych statystycznie zależności pomiędzy stężeniem suPAR, a wiekiem osoby badanej. Współczynnik korelacji wynosił 0,05 na poziomie istotności  $p=0,59$ . Również próba podziału badanej populacji na dwie grupy wiekowe, na podstawie kryterium mediany wieku (56 lat), nie skutkowało uzyskaniem istotności statystycznych pomiędzy stężeniami suPAR obserwowanymi w tych grupach. Średnie stężenia wynosiły odpowiednio 3,47 ng/mL w grupie osób młodszych oraz 3,51 ng/mL w grupie osób starszych;  $p=0,26$ .

W odniesieniu do modyfikowalnych czynników ryzyka związanych ze stylem życia potwierdzono istotne statystycznie różnice w stężeniu suPAR w populacji badanej w związku z paleniem papierosów. Średnie stężenia u osób niepalących ( $n=74$ ) i palących ( $n=35$ ) papierosy wynosiły odpowiednio 3,29 ng/mL i 3,84 ng/mL  $p=0,04$  (test-T). Uzyskana istotność statystyczna była graniczna, prawdopodobnie w związku z relatywną liczebnością całej grupy badanej, ale wskazuje ona na tendencję do wzrostu stężenia suPAR w związku z paleniem papierosów. Uznano jednak, że czynnik ten również nie powinien mieć wpływu na dalsze wyniki analiz niniejszej pracy, gdyż osoby palące wchodziły w skład każdej z grup badanych, odpowiednio: w grupie A – 10 osób, w grupie B – 12 osób, w grupie C – 11 osób. Reasumując: znane z piśmiennictwa czynniki ryzyka, wpływające na wzrost stężenia suPAR, nie wykazały w sposób istotny statystycznie wpływu na porównania statystyczne w stężeniu biomarkera pomiędzy grupami w badanej populacji.

W dalszym etapie przeprowadzono analizę zależności pomiędzy stężeniami parametrów laboratoryjnych oznaczanych w niniejszej pracy. Tabela I przedstawia charakterystykę badanej populacji

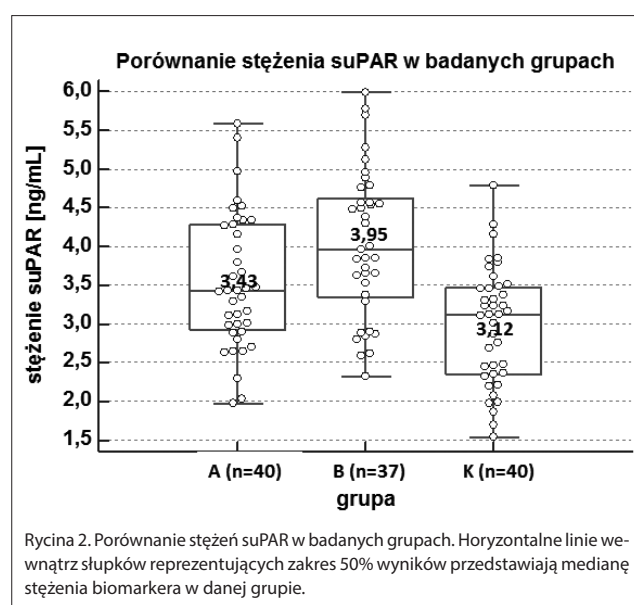
Tabela I. Charakterystyka całej populacji badanej wraz z analizą rozkładu cech – zgodność z rozkładem normalnym zaznaczono poprzez pogrubienie. Wykorzystane skróty zgodne z rozwinięciem w tekście.

Parametr	N =	Mediana	Min	Max	Średnia	SD	5-95 Percentyl	p =
<b>hsCRP</b> [mg/L]	117	1,4	0,1	12,4	2,2	2,458	3,4-7,8	<0,0001
<b>WBC</b> [ $\times 10^3/\mu\text{L}$ ]	117	6,8	4,3	13,7	7,0	1,867	6,2-7,3	<0,0001
<b>NEU</b> [ $\times 10^3/\mu\text{L}$ ]	117	4,0	1,4	9,2	4,1	1,600	2,1-6,7	<0,0001
<b>suPAR</b> [ng/mL]	117	3,43	1,54	5,99	3,51	0,9528	2,00-5,23	<b>0,2558</b>
<b>CH</b> [mmol/L]	116	5,74	1,34	8,93	5,64	1,2951	3,41-7,84	<b>0,957</b>
<b>LDL</b> [mmol/L]	116	3,6	1,5	7,2	3,7	1,145	1,9-5,6	<b>0,24</b>
<b>HDL</b> [mmol/L]	116	1,4	0,6	2,6	1,5	0,342	1,0-2,2	<b>0,19</b>
<b>TG</b> [mmol/L]	116	1,4	0,6	7,9	1,6	0,974	0,7-3,0	<0,001
<b>GLU</b> [mmol/L]	115	5,7	4,5	10,5	5,8	0,933	4,7-6,9	<0,0001
<b>CREA</b> [ $\mu\text{mol/L}$ ]	116	85	43	130	84	15,96	56-110	<b>&gt;0,1</b>
<b>eGFR</b> [mL/min/1,72m <sup>2</sup> ]	116	76	53	161	81	16,74	59-107	<0,001
<b>Wiek</b> [lata]	117	55	28	67	52	10	34-65	0,0083



w kontekście parametrów laboratoryjnych wykorzystanych w badaniu, tabela II natomiast szczegółową analizę korelacji stężenia suPAR z innymi badanymi wskaźnikami laboratoryjnymi. Analiza wykazała dodatnią korelację pomiędzy stężeniem suPAR i laboratoryjnymi parametrami związanymi bezpośrednio z odpowiedzią zapalną: CRP, WBC oraz NEU. Na uwagę wskazuje również fakt, że obserwowano graniczną istotność statystyczną korelacji stężenia suPAR ze stężeniem LDL-CH oraz stężeniem TG, a więc opisanymi niezależnymi czynnikami ryzyka rozwoju i powikłań chorób sercowo-naczyniowych. Nie obserwowano natomiast opisywanej w piśmiennictwie korelacji suPAR z wydajnością przesączania kłębuszkowego w populacji badanych pacjentów. Zarówno stężenie CREA, jak i wartość wyliczonego wskaźnik eGFR nie korelowały ze stężeniem suPAR. Zaznaczyć jednak trzeba, że do badania nie byli włączeni pacjenci z upośledzeniem czynności nerek.

W celu oszacowania, czy długotrwały i nieprawidłowy sposób noszenia protezy częściowej ma swoje odzwierciedlenie w nasileniu procesu zapalnego mierzonego stężeniem białka suPAR, przeprowadzono porównanie stężeń tego białka w badanych grupach. Wyniki analizy przeprowadzonej testem Kruskala-Wallis (tab. III) wskazują na występowanie istotnych statystycznie niższych stężeń suPAR u pacjentów, którzy nosili protezy nie dłużej niż 5 lat (A) w stosunku do pacjentów, którzy użytkowali je długotrwale (B). Dodatkowo różnice te były istotne w stosunku do osób z grupy porównawczej (K). Ilustracja graficzna wyników została przedstawiona na rycinie 2. Ponieważ stężenie suPAR wykazało istotną statystycznie korelację z innymi laboratoryjnymi wskaźnikami procesu zapalnego w badanej populacji, analogiczne wnioskowanie statystyczne (analizę istotności różnic stężeń między badanymi grupami) przeprowadzono również dla CRP, WBC, NEU. Spośród analizowanych 4 markerów zapalenia, jedynie stężenia suPAR wykazywały istotne statystycznie



różnice w badanych grupach, zarówno w stosunku do siebie, (w Grupie A w stosunku do Grupy B) jak i w odniesieniu do grupy porównawczej K. W przypadku CRP, WBC i NEU nie obserwowano żadnych istotnych statystycznie różnic. Najwyższą medianę stężenia suPAR (3,95 ng/mL) obserwowano w grupie B pacjentów, którzy nosili uzupełnienie protetyczne dłużej niż 5 lat i u których obserwowano najwięcej zmian patologicznych w obrębie jamy ustnej. Istotnie statystycznie niższe stężenia suPAR obserwowano w grupie badanej A (3,43 ng/mL) pacjentów, którzy nosili uzupełnienie protetyczne nie dłużej niż 5 lat. Jednocześnie natężenie zmian patologicznych w tej grupie pacjentów było średnio dwukrotnie niższe niż w grupie B. Jednak zarówno pacjenci z grupy badanej A jak i B mieli wyższe stężenia suPAR niż osoby z grupy porównawczej K (3,12 ng/mL), co świadczy o aktywacji przewlekłego procesu zapalnego w związku z użytkowaniem akrylowych protez zębowych.

Spośród parametrów laboratoryjnych, odzwierciedlających stan zapalny, jedynie suPAR wykazywał istotne statystycznie zróżnicowanie stężeń, co wskazuje na jego niezależny udział w charakteryzowaniu stopnia odpowiedzi zapalnej w analizowanej populacji pacjentów. Jakkolwiek stężenia wszystkich parametrów stanu zapalnego korelowały między sobą, to jedynie stężenie suPAR może wykazywać właściwości dyskryminujące.

W dalszej analizie podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy istnieją istotne statystycznie różnice pomiędzy wartościami liczbowymi opisanymi w dotychczasowych doniesieniach czynników fizjologicznych związanych ze stężeniem suPAR, w grupach pacjentów poddanych niniejszemu badaniu. Analiza wydaje się być o tyle istotna, że wykazano wcześniej istotną dodatnią korelację

pomiędzy stężeniem suPAR i stężeniem CH, LDL-CH oraz TG (tab. II). Spośród wszystkich analizowanych parametrów, mających związek ze stężeniem suPAR w badanej populacji pacjentów, jedynie stężenie glukozy oraz wiek wykazywały

Tabela II. Analiza korelacji stężenia suPAR ze stężeniem innych ocenianych w badaniu wskaźników laboratoryjnych. Korelacje istotne statystycznie zaznaczono poprzez pogrubienie. Wykorzystane skróty zgodne z rozwinięciem w tekście.

Parametr	Współczynnik korelacji (R)	P =
<b>CRP</b>	0,249	<b>0,0085</b>
<b>WBC</b>	0,352	<b>0,0001</b>
<b>NEU</b>	0,306	<b>0,0009</b>
<b>CH</b>	0,162	0,0843
<b>LDL</b>	0,188	<b>0,0487</b>
<b>HDL</b>	-0,017	0,8557
<b>TG</b>	0,191	<b>0,0418</b>
<b>GLU</b>	0,036	0,7071
<b>KREA</b>	-0,049	0,6031
<b>eGFR</b>	-0,118	0,2585

Tabela III. Analiza istotności różnic w stężeniach suPAR [ng/mL] pomiędzy badanymi grupami. Kolumna „istotność różnic” odzwierciedla istotność statystyczną różnic pomiędzy daną grupą badaną (kolumna „Grupa”) oraz pozostałymi dwiema grupami. Kolumna „Istotność testu” odzwierciedla całkowitą istotność statystyczną przeprowadzonej analizy.

Grupa	N	Mediana	Minimum	Maximum	Istotność różnic	Istotność testu
<b>A</b>	40	<b>3,43</b>	1,97	5,58	gr B i gr K; p<0,05	<b>P=0,000021</b>
<b>B</b>	37	<b>3,95</b>	2,32	5,99	gr A i gr K; p<0,05	
<b>K</b>	40	<b>3,12</b>	1,54	4,79	gr A i gr B; p<0,05	

różnice pomiędzy badanymi grupami. Wykazano, że grupa porównawcza ma istotnie niższą medianę wieku (46 lat), w stosunku do grup badanych A i B (obie: 59 lat),  $p=0,0032$ . Spowodowane to jednak było trudnościami w doborze jednorodnej z grupami badanymi, pod względem wieku, grupy odniesienia osób nie noszących uzupełnień protetycznych. Niemniej jednak grupa K była zróżnicowana wiekowo i reprezentowana przez osoby do 66 roku życia. Ponadto we wcześniejszej analizie wykazano brak korelacji pomiędzy stężeniem suPAR i wiekiem w populacji pacjentów biorących udział w niniejszym badaniu, co jednoznacznie wskazuje, iż czynnik wieku nie miał wpływu na obserwowane niższe stężenia suPAR w grupie porównawczej w stosunku do grup badanych A i B.

Drugą zmienną różnicę pomiędzy grupami badanymi zaobserwowano dla stężenia glukozy. W tym przypadku w grupie badanej A odnotowano najwyższą medianę stężenia (6,1 mmol/L) w stosunku do pozostałych grup B i K (odpowiednio: 5,7 mmol/L oraz 5,5 mmol/L);  $p=0,006$ . Analizując rozkłady stężeń glukozy w badanej populacji można wysnuć wnioski, iż nie wszyscy pacjenci przystąpili do badań laboratoryjnych będąc na czczo, pomimo takich założeń metodycznych badania. Nie można również wykluczyć faktu, że nie wszyscy pacjenci mieli świadomość istnienia u nich któregoś ze stanu hiperglikemii (do udziału w badaniu nie kwalifikowano pacjentów ze zdiagnozowaną cukrzycą). Występowanie najwyższych stężeń glukozy we krwi w grupie badanej A nie wiązało się jednak z obecnością u tych osób jednocześnie najwyższego stężenia suPAR – stąd wniosek, że wartość stężeń glikemii w badanej populacji nie miała wpływu na wyniki analizy różnic stężeń suPAR w badanych grupach.

## Dyskusja

Protezy częściowe mogą być wykorzystywane jako protezy natychmiastowe, wykonane jeszcze przed ekstrakcją zębów, a wprowadzone do jamy ustnej po zabiegu. Szczególnie brak przednich zębów stanowi poważny problem, nie tylko estetyczny, ale i psychiczny [4, 18]. Proteza natychmiastowa ułatwia gojenie, zmniejsza dolegliwości bólowe, wpływa pozytywnie na psychikę pacjenta. Tego rodzaju protezy pozwalają utrzymać prawidłowe napięcie mięśniowe, rozmiar języka oraz prawidłową wymowę, a także umożliwiają odpowiednie wygojenie wyrostka przedopatrzenia jamy ustnej w uzupełnienie ostateczne – np. protezę szkieletową. Proteza częściowa może służyć wtedy jako „proteza awaryjna” lub być częścią adaptacji do bezzębia podczas usuwania zębów nieprzydatnych w planie leczenia [19]. Należy jednak liczyć się z tym, że użytkowanie refundowanej przez NFZ akrylowej protezy częściowej może wiązać się z licznymi, negatywnymi konsekwencjami, wynikającymi głównie z ich podparcia słuzówkowego. Protezy częściowe mogą być przyczynami wystąpienia stomatopatii protetycznej, zaliczanej do stanów zapalnych o niewielkim stopniu nasilenia. Jednak nawet słabo nasilony proces zapalny może wpływać nie tylko na stan układu stomatognatycznego, lecz również na zdrowie pacjentów i przebieg różnych chorób o charakterze ogólnym. Szereg autorów wskazuje na związki pomiędzy stanem zapalnym błony śluzowej jamy ustnej i przyzębia a m.in. rozwojem miażdżycy i jej powikłań [20, 21, 22].

Wśród białek, których synteza w organizmie ludzkim narasta w związku z odpowiedzią zapalną i aktywacją układu immunologicznego, szczególne miejsce zajmuje rozpuszczalna postać urokinazowego receptora aktywatora plazminogenu – suPAR. Wykazano wzrost stężenia suPAR w populacji ogólnej w przebiegu odpowiedzi zapalnej zarówno ostrej, jak i przewlekłej, różnego pochodzenia. W odróżnieniu od powszechnie uznanych markerów zapalenia – białek ostrej fazy, charakterystyka syntezy i aktywacji uwalniania suPAR bardziej wskazuje na komórkowe niżeli czysto biochemiczne źródło wzrostu stężenia tego białka w płynach ustrojowych. Szereg prac wskazuje na istotną prognostyczną wartość tego biomarkera.

W prezentowanych badaniach wykazano, że pacjenci noszący akrylowe protezy częściowe mają tendencję do wyższych stężeń suPAR, w porównaniu do osób nieużytkujących protez. Wykazano ponadto wyższe mediany stężeń suPAR u pacjentów użytkujących uzupełnienia protetyczne dłużej niż 5 lat i u których jednocześnie obserwowano najbardziej nasilone zmiany w obrębie jamy ustnej (3,95 ng/mL) w porównaniu do grupy pacjentów użytkujących protezy akrylowe do 5 lat (3,53 ng/mL), a także grupy porównawczej osób nieużytkujących protez (3,12 ng/mL). Na uwagę zasługuje fakt, że pomimo obserwowanych dodatknych korelacji pomiędzy stężeniami biomarkerów stanu zapalnego (suPAR, hsCRP, WBC, NEU) jedynie w przypadku suPAR można było obserwować istotne statystycznie różnice stężeń pomiędzy badanymi grupami jak i w stosunku do grupy odniesienia. Oznacza to, że wzrost stężenia suPAR jest niezależnym, czułym wskaźnikiem wielkości nasilenia procesów zapalnych, związanych z długotrwałym, często też nieprawidłowym noszeniem protez i skutkującym rozwojem zmian zapalnych w obrębie jamy ustnej.

Wykazano istotne zależności stężenia suPAR z niektórymi laboratoryjnymi czynnikami ryzyka rozwoju i powikłań miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych (stężenie cholesterolu frakcji LDL oraz triglicerydów) a także tendencję do wzrostu stężenia tego białka wraz z wiekiem. Obserwacje te pozostają w zgodzie z doniesieniem Pasqualini i wsp. [23], odnośnie korelacji obserwowanych u pacjentów z chorobami przyzębia. Prezentowane wyniki wskazują jednoznacznie, że ocena stężenia suPAR wnosząca istotne informacje odnośnie stopnia nasilenia odpowiedzi zapalnej u osób noszących akrylowe uzupełnienia protetyczne częściowe i to niezależnie od innych uznanych markerów odpowiedzi zapalnej. Fakt braku istotności statystycznej w przypadku opisywanych w piśmiennictwie różnic w stężeniu suPAR w zależności od wymienionych czynników, który zaobserwowano w niniejszej pracy, dodatkowo jednak wzmocnił wnioski o dyskryminacyjnej mocy stężeń tego biomarkera w badanej populacji pacjentów.

Ocena stężenia białek związanych z odpowiedzią zapalną w obszarze stomatologii pozostaje tematem budzącym duże zainteresowanie i wymagającym zakrojonych na szerszą skalę badań. W swojej pracy Czechowska i wsp. [24], dokonując przeglądu piśmiennictwa, wskazała na próby oceny użyteczności oznaczeń CRP w przypadku oceny skuteczności leczenia chirurgicznego i farmakologicznego oraz oceny gojenia ran pozabiegowych w jamie ustnej. Kimak i wsp. [25] podjęli próbę oceny nasilenia odpowiedzi zapalnej u pacjentów z okołowierzchołkowym zapaleniem

przyzębia, obok hsCRP analizując również stężenia fosfolipazy A2 związanej z lipoproteinami w odpowiedzi na leczenie. Brak jest jednak większej ilości danych wskazujących na próbę oceny w stomatologii stopnia odpowiedzi zapalnej o charakterze słabo nasilonym i przewlekłym, które, jak udokumentowano we wstępie, pozostaje w związku z kondycją organizmu jako całości i niesie ryzyko dalszych powikłań. Wyniki niniejszej pracy niosą nadzieję, że być może suPAR, nowy markery stanu zapalnego i odpowiedzi immunologicznej, pomoże w przyszłości lekarzom stomatologom monitorować postępy leczenia chorób jamy ustnej, w tym stomatopatii protetycznej, a tym samym otworzy pole do zacieśnienia współpracy przedstawicieli tego działu medycyny z medycznym laboratorium diagnostycznym. Z drugiej zaś strony ocena stężenia biomarkera mogłaby być pomocna w podejmowaniu decyzji o wskazaniu do szybszej, niż rekomendowana przez NFZ, wymianie protez częściowych. Wszystkim bowiem laboratoryjnym markerom zapalenia przypisuje się rolę czynników ryzyka jak i coraz częściej dostrzega się także ich wartość predykcyjną w stosunku do zdarzeń sercowo-naczyniowych [26].

### Wnioski

Wyniki badań przeprowadzonych w grupie 117 osób, z których 77 nosiło akrylowe uzupełnienia protetyczne częściowe, osiadające wykazały, że stężenie suPAR było w sposób istotny statystycznie wyższe u osób użytkujących akrylowe protezy częściowe, refundowane przez NFZ, w porównaniu do osób nieużytkujących protez, niezależnie od innych wskaźników laboratoryjnych związanych ze stanem zapalnym. Stężenie suPAR istotnie dodatnio korelowało ze stężeniem cholesterolu frakcji LDL, triglicerydów, CRP oraz liczbą krwinek białych i neutrofilów w badanej populacji pacjentów, a także było istotnie wyższe u osób palących. U pacjentów długotrwale (>5 lat) użytkujących akrylowe protezy częściowe obserwowano większe nasilenie zmian w jamie ustnej oraz wyższe stężenia suPAR w porównaniu do osób nieużytkujących protez oraz pacjentów noszących je krócej niż 5 lat. Wykazane wzrosty stężeń suPAR są związane z istniejącym miejscowym stanem zapalnym u pacjentów noszących protezy. Proces zapalny o większym nasileniu występuje u pacjentów stosujących je ponad 5 lat i u których występują patologiczne zmiany w jamie ustnej. Oznaczanie stężenia suPAR stanowi czuły, niezależny, potencjalnie użyteczny biomarker dla oceny stopnia nasilenia miejscowego stanu zapalnego u osób stosujących akrylowe protezy częściowe osiadające

### Piśmiennictwo

- Fueki K, Ohkudo C, Yatabe M, et al. Clinical application of removable partial dentures using thermoplastic resin-part I: definition and indication of non-metal clasp dentures. *J Prosthodont Res.* 2014; 58(1): 3-10.
- Rutkowski A, Polczyńska M. Klamry protetyczne jako utrzymywacze bezpośrednie. *Nowoczesny Technik Dentystyczny.* 2013; 4: 32.
- Wojda M, Grzelak M, Spiechowicz E, Mierzwińska-Nastalska E. Ocena wyników leczenia pacjentów z zastosowaniem akrylowych protez ruchomych prowadzonego w ramach Narodowego Funduszu Zdrowia. *Protet Stomatol.* 2010; 1: 28-36.
- Januszewska-Opalska A, Nowakowska D. Możliwości zmniejszenia toksycznego wpływu metakrylanu metylu na pacjentów użytkujących akrylowe protezy stomatologiczne oraz w ekspozycji zawodowej zespołu lekarz/asysta/technik. *Dent Med Probl.* 2008; 45(1): 59-64.
- Pereira CA, Toledo BC, Santos CT, et al. Opportunistic microorganisms in individuals with lesions of denture stomatitis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 76(4): 419-424.
- Marinoski J, Bokor-Bratoć M, Cankovic M. Is denture stomatitis always related with candida infection? A case control study. *Med Glas.* 2014; 11(2): 379-384.
- Barlett DV. Protezy częściowe i całkowite – nowe podejście do opieki nad pacjentem. *Protet Stomatol.* 2014; LXIV(2): 134-138.
- Thunø M, Macho B, Eugen-Olsen J. suPAR: The molecular crystal ball. *Dis Markers.* 2009; 27(3): 157-172.
- Persson M, Engström G, Björkbacka H. & Hedblad B. Soluble urokinase plasminogen activator receptor in plasma is associated with incidence of CVD. Results from the Malmö Diet and Cancer Study. *Atherosclerosis.* 2012; 220: 502-505.
- Langkilde A, Hansen TW, Ladelund S, et al. Increased plasma soluble uPAR level is a risk marker of respiratory cancer in initially cancer-free individuals. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2011; 20: 609-618.
- Hayek SS, Quyyumi AA, Reiser J, et al. Soluble Urokinase Receptor and Chronic Kidney Disease. *N Engl J Med.* 2015; 373: 1916-1925.
- Eugen-Olsen J, Andersen O, Linneberg A, et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts cancer, cardiovascular disease, diabetes and mortality in the general population. *J Intern Med.* 2010; 268: 296-308.
- Eapen DJ, Manocha P, Ghasemzedah N, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor level is an independent predictor of the presence and severity of coronary artery disease and of future adverse events. *J Am Heart Assoc.* 2014; 3: e001118.
- Lyngbaek S, Andersson C, Marott JL, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor for risk prediction in patients admitted with acute chest pain. *Clin Chem.* 2013; 59: 1621-1629.
- Lyngbaek S, Marott JL, Moller DV, et al. Usefulness of soluble urokinase plasminogen activator receptor to predict repeat myocardial infarction and mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous intervention. *Am J Cardiol.* 2012; 110: 1756-1763.
- Terlecka M, Machała W, Rydz-Lutrzykowska J, et al. An evaluation of the clinical usefulness of soluble urokinase plasminogen activator receptor in the prognosis in sepsis patients treated in an Intensive Care Unit. *Diagn Lab.* 2016; 52(1): 21-28.
- Haupt TH, Kallemose T, Ladelund S, et al. Risk factors associated with serum levels of the inflammatory biomarker soluble urokinase plasminogen activator receptor in a general population. *Biomark Insights.* 2014; 9: 91-100.
- Sisson J, Boberick K, Winkler S. Conversion of a removable partial denture to a transitional complete denture: a clinical report. *J Prosthet Dent.* 2005; 93(5): 416-418.
- Gooya A, Ejlali M, Adli AR. Fabricating an interim immediate partial denture in one appointment (modified jiffy denture). A clinical report. *J Prosthodont.* 2013; 22(4): 330-333.
- Van Der Waal SV, Lappin F, Crielaard W. Does apical periodontitis have systemic consequences? The need for well-planned and carefully conducted clinical studies. *Brit Dent J.* 2015; 218: 513-516.
- Gomes MS, Blattner TC, Sant'AnaFilho M, et al. Can apical periodontitis modify systemic levels of inflammatory markers? A systematic review and meta-analysis. *J Endod.* 2013; 39: 1205-1217.
- Gomes C, Martinho FC, Darbosa DS, et al. Increased root canal endotoxin levels are associated with chronic apical periodontitis, increased oxidative and nitrosative stress, major depression, severity of depression, and a lowered quality of life. *MolNeurobiol.* 2017; DOI:10.1007/s12035-017-0544-z.

23. Pasqualini D, Bergandi L, Palumbo L. Association among Oral Health, Apical Periodontitis, CD14 Polymorphisms, and Coronary Heart Disease in Middle-aged Adults. *J Endod.* 2012; 38: 1570–1577.
24. Czechowska E, Kuras M, Sokalski J. Białka ostrej fazy jako biomarkery stanu zapalnego w wybranych jednostkach chorobowych jamy ustnej oraz w ocenie skuteczności ich terapii na podstawie przeglądu piśmiennictwa. *Dent Med Probl.* 2012; 49(1): 57–61.
25. Kimak A, Kimak E, Sokolski J et al. Przewlekłe okołowierzchołkowe zapalenie przyzębia, jako czynnik ryzyka miażdżycy i choroby naczyń. *Diagn Lab.* 2017; 53(2): 79-84.
26. Correia-Souse J, Madureira AR, Carvalho MF, et al. Apical periodontitis and related risk factors: cross-sectional study. *Rev Estomatol Med. Dent Cir Maxilofac.* 2015; 56: 226-232.

**Autor do korespondencji:**

dr n. med. Rafał Nikodem Wlazeł  
Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Biochemii Klinicznej  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
92-213 Łódź, ul. Pomorska 251  
tel. +48 42 2014183  
e-mail: rnw@wp.pl

Otrzymano: 04.06.2018

Akceptacja do druku: 06.07.2018

Nie zgłoszono sprzeczności interesów