



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM

AUTOREFERAT

ANNA JURCZAK

Pracownia Stomatologii Dziecięcej
Instytut Stomatologii
Wydział Lekarski
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
Kraków, 2017

1. Imię i nazwisko - Anna Jurczak

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

1994 rok – Dyplom specjalisty I stopnia ze stomatologii ogólnej, Kraków

2000 rok – Dyplom specjalisty II stopnia stomatologii dziecięcej uzyskany z wyróżnieniem w Gdańsku

1997 rok – Dyplom doktora nauk medycznych; Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum; dysertacja pt.: „Dynamika procesu próchnicowego, ubytki niepróchnicowego pochodzenia i wyrzynanie zębów stałych u dzieci 7 - letnich w dwuletnim okresie obserwacyjnym”. Promotor – Prof. dr hab. n. med. Alicja Kaczmarczyk-Stachowska.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

2000 rok - do chwili obecnej - Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie

2000 - 2004 rok - Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej Instytutu Stomatologii UJCM

2004 rok - do chwili obecnej - Pracownia Stomatologii Dziecięcej Instytutu Stomatologii UJCM

2008 rok - do chwili obecnej - Kierownik Pracowni Stomatologii Dziecięcej

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

a) Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

Próchnica wczesnego dzieciństwa (ECC) - czynniki ryzyka i ocena przydatności wybranych biomarkerów śliny w praktyce.

b) Wykaz monotematycznego cyklu publikacji stanowiących podstawę habilitacji

P-1. **Anna Jurczak**, Dorota Kościelniak, Iwona Gregorczyk-Maga, Dorota Olczak-Kowalczyk, Iwona Kołodziej, Jadwiga Ciepły, Ewelina Bąk, Joanna Słowik, Wirginia Krzyściak. Caries status among children residing in Cracow compared with the rest of Poland. J. Stomatol. 2014 : Vol. 67, nr 6, s. 781-799.

<http://jstoma.com/abstracted.php?level=5&ICID=1137104>

IF: 0; pkt. MNiSW: 6

P-2. **Anna Jurczak**, Dorota Kościelniak, Iwona Gregorczyk-Maga, Iwona Kołodziej, Jadwiga Ciepły, Dorota Olczak-Kowalczyk, Monika Komasa, Magdalena Wąsik, Monika A. Papież, Wirginia Krzyściak. Influence of socioeconomic and nutritional factors on the development of early childhood caries in children aged 1-6 years. Nowa Stomatol. 2015; 20, nr 4:133-141.

http://www.nstomatologia.pl/wp-content/uploads/2016/01/ns_2015_133-141.pdf

IF: 0; pkt. MNiSW: 6

P-3. **Anna Jurczak**, Dorota Kościelniak, Monika Papież, Palina Vyhouskaya, Wirginia Krzyściak. A study on β -defensin- 2 and histatin-5 as a diagnostic marker of early childhood caries progression. Biol Res. 2015 Oct 31;48:61.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4628373/pdf/40659_2015_Article_50.pdf

IF: 1.328; pkt. MNiSW: 25

P-4. **Anna Jurczak**, Dorota Kościelniak, Anna Skalniak, Monika Papież, Paulina Vyhouskaya, Wirginia Krzyściak. The role of the saliva antioxidant barrier to reactive oxygen species with regard to caries development. Redox Rep. 2017 February 27:1-11.

<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13510002.2017.1301625>

IF: 2.070; pkt. MNiSW: 20

Analiza bibliometryczna powyższych prac stanowiących podstawę habilitacji, przeprowadzona przez Bibliotekę Medyczną UJ CM (z dn. 21.06.2017 r.) według listy Journal Citation Reports zgodnie z rokiem opublikowania, wykazała następującą łączną ich punktację:

SUMARYCZNY IMPACT FACTOR = 3,398

PUNKTY KBN/ MNiSW = 57

c) Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Celem badań stanowiących podstawę pracy habilitacyjnej i wchodzących w cykl 4 publikacji (P1 - P4) było określenie frekwencji, intensywności i czynników ryzyka próchnicy wczesnego dzieciństwa oraz zbadanie przydatności wybranych wskaźników biochemicznych w ślinie dzieci z ECC jako potencjalnych biomarkerów rozwoju i nasilenia choroby.

Cel ten został zrealizowany poprzez:

P1. Ocenę frekwencji próchnicy i poziomu próchnicy mierzonej średnią liczbą puwz w grupach wiekowych (1-6) 686 dzieci, będących pacjentami Poradni Stomatologii Dziecięcej Uniwersyteckiej Kliniki Stomatologicznej w Krakowie oraz porównanie uzyskanych wyników z badaniami z innych regionów Polski.

P2. Określenie wpływu czynników socjoekonomicznych (takich jak miejsce zamieszkania, wykształcenie rodziców, warunki materialne rodzin) i żywieniowych (takich jak spożycie napojów gazowanych, podjadanie słodkich pokarmów na noc oraz sposób karmienia) na rozwój próchnicy wczesnego dzieciństwa 686 dzieci w wieku 1-6 lat.

P3. Ocenę użyteczności oznaczania ślinowych białek: histatyny-5 oraz beta-defensyny-2, jako wskaźników progresji próchnicy.

P4. Ocenę przydatności oznaczeń wybranych wskaźników antyoksydacyjnych śliny (takich jak glutation zredukowany - GSH, utleniony - GSSG oraz całkowity potencjał antyoksydacyjny śliny – TAC) jako potencjalnych biomarkerów ryzyka rozwoju i progresji próchnicy u dzieci oraz ocenę związku bakteryjnego profilu kariogennego z wybranymi parametrami antyoksydacyjnymi w ślinie.

*Omówienie wyników badań stanowiących podstawę pracy
habilitacyjnej*

Publikacja P1 . **Anna Jurczak**, Dorota Kościelniak, Iwona Gregorczyk-Maga, Dorota Olczak-Kowalczyk, Iwona Kołodziej, Jadwiga Ciepły, Ewelina Bąk, Joanna Słowik, Wirginia Krzyściak. Caries status among children residing in Cracow compared with the rest of Poland. J. Stomatol. 2014 : Vol. 67, nr 6, s. 781-799.

Stan uzębienia dzieci z Krakowa i okolic określono w oparciu o wskaźniki stanowiące sumę liczby zębów mlecznych z aktualną próchnicą, usuniętych lub wypełnionych z powodu próchnicy (puwz) zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia dot. badań epidemiologicznych w zakresie zdrowia jamy ustnej (Oral Health Surveys, Basic method, wydanie 4 i 5, WHO Genewa 1997¹ i 2013²), gdzie za zmianę próchnicową uznaje się ubytek twardych tkanek zęba w bruzdach i na powierzchniach gładkich z miękkim dnem i ścianami, a także podminowane szkliwo bez ubytku.

Określono frekwencję próchnicy w grupach wiekowych 1-6 u 686 dzieci z Krakowa i okolic, będących pacjentami Poradni Stomatologii Dziecięcej Uniwersyteckiej Kliniki Stomatologicznej w Krakowie.

W badanej grupie 1-2-latków próchnica występowała u 58.89%; u 291 przebadanych 3-4-latków frekwencja próchnicy wynosiła 66.67%, w grupie 5 latków próchnica występowała u 71.74% (Tab. 1).

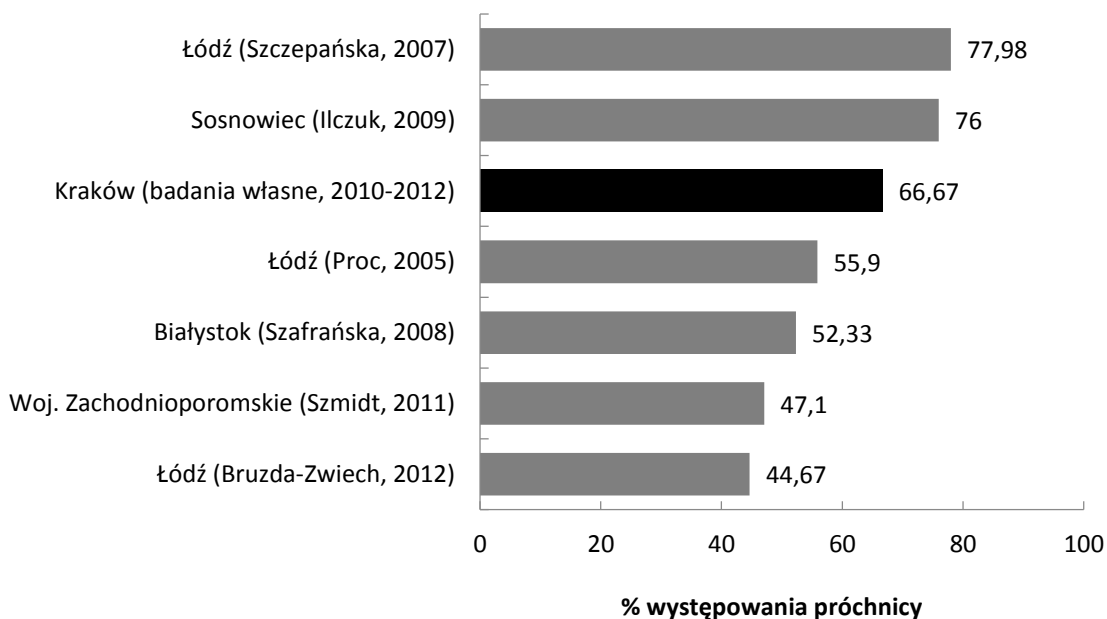
Tabela 1. Frekwencja próchnicy w poszczególnych grupach wiekowych u dzieci z Krakowa i okolic w latach: 2010 – 2012 (badania własne).

<i>Wiek</i>	1-2		3-4		5		6	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Próchnica</i>	53	58.89	194	66.67	99	71.74	110	65.87
<i>Kontrola</i>	37	41.11	97	33.33	39	28.26	57	34.13

Uzyskane wyniki dotyczące frekwencji próchnicy w poszczególnych grupach wiekowych dzieci z Krakowa i okolic zostały porównane z wynikami uzyskanymi w badaniach prowadzonych przez inne ośrodki w Polsce.

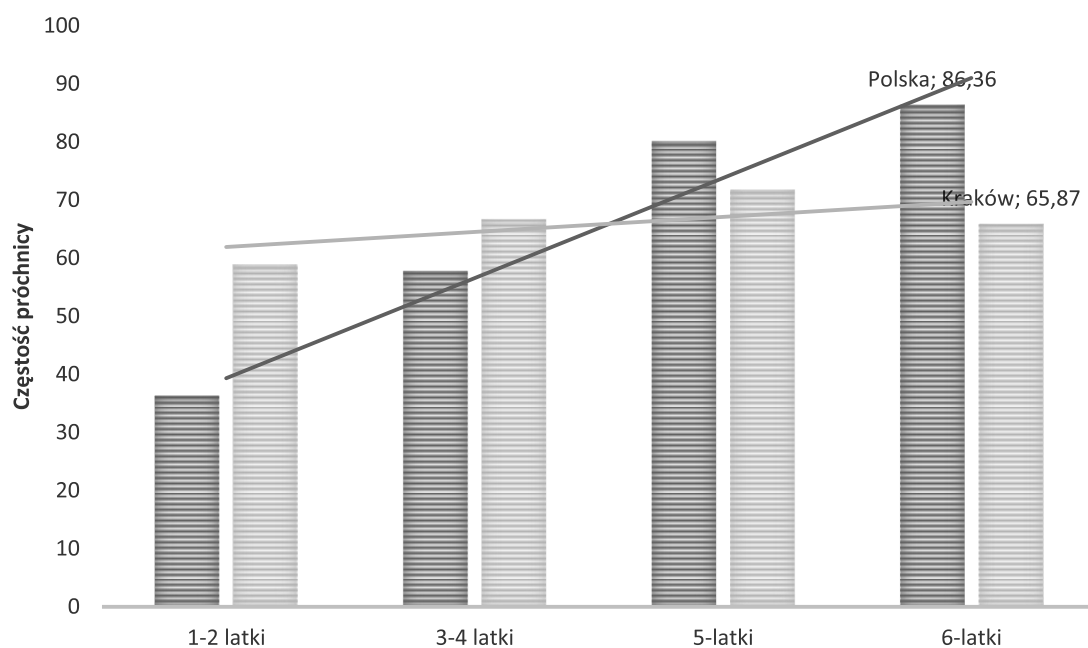
Frekwencja próchnicy w grupie 1-2-latków w Krakowie i okolicach (58.89%) była wyższa w porównaniu z obserwowaną w innych regionach kraju. Z publikowanych wyników badań najniższą frekwencję próchnicy u dzieci 1-2-letnich zanotowano w Łodzi (15%) (Proc,

2005)³. We Wrocławiu czy Warszawie frekwencja próchnicy sięgała (55.6%) (Grzesiak & Kaczmarek, 2006⁴; Polewaczyk, 2011⁵). Częstość próchnicy wzrasta z wiekiem dzieci. Wśród 3-4-latków odsetek dzieci z ECC waha się od 45% do 78% (Ryc. 1).



Rycina 1. Frekwencja próchnicy w grupie 3-4-latków u dzieci z Krakowa i okolic w porównaniu do innych publikowanych badań w Polsce^{3,6,7,8,9,10}.

U dzieci 5-letnich odsetek występowania próchnicy w Polsce waha się od 70% do 88%. Najwyższy procent zachorowania na próchnicę odnotowano w Białymstoku (88%)⁸, najniższy w województwie kujawsko-pomorskim (70.3%)¹¹ i województwie śląskim (70.5%)⁷. Kraków z frekwencją 71.7% znajduje się w czołówce miast z najwyższym odsetkiem występowania próchnicy. W grupie polskich 6-latków 66-96% dzieci cierpi na chorobę próchnicową. Najwyższą frekwencję próchnicy odnotowano w Łodzi (95.7%)¹⁰ i Białymstoku (94.5%)⁸, natomiast Kraków w tym rankingu wypadł najlepiej (65.8%) (Ryc. 2).



Rycina 2. Frekwencja próchnicy w poszczególnych grupach wiekowych u dzieci z Krakowa i okolic w porównaniu do innych publikowanych badań w Polsce

Na podstawie przeprowadzonej w badaniu oceny stanu uzębienia dzieci określono średnią liczbę puwz (p - średnia liczba zębów z aktualną próchnicą, u - usuniętych z jej powodu oraz w – wypełnionych z powodu próchnicy).

Szczegółowy rozkład wskaźnika puwz kształtował się w badanych grupach następująco: w grupie 90 przebadanych 1-2 latków średnia liczba zębów z próchnicą (p) wyniosła 3.94 ± 4.54 , średnia liczba zębów mlecznych usuniętych z powodu próchnicy (u) wynosiła 0.12 ± 0.54 , a średnia liczba zębów wypełnionych (w) 0.08 ± 0.52 . Daje to średnią liczbę puwz wynoszącą 4.14 ± 4.52 . U 291 3-4 latków średnia liczba puwz wyniosła 4.1 ± 4.28 . Wśród 138 5-latków średnia liczba puwz wyniosła 4.35 ± 3.65 . U 167 6-latków średnia liczba puwz wyniosła 4.68 ± 3.89 (Tab. 2).

Tabela 2. Średnia liczba zębów mlecznych z próchnicą (p), średnia liczba zębów mlecznych usuniętych z powodu próchnicy (u), średnia liczba zębów mlecznych, wypełnionych z powodu próchnicy (w) ze średnią liczbą puwz w poszczególnych grupach wiekowych u dzieci z Krakowa i okolic w latach 2010 - 2012. Wartość p <0.05 – statystycznie istotna, analiza wariancji (ANOVA).

Wiek	p		u		w		puwz	
	m	SD	m	SD	m	SD	m	SD
1-2	3.94	4.54	0.12	0.54	0.08	0.52	4.14	4.52
3-4	3.58	4.08	0.27	1.08	0.25	0.73	4.1	4.28
5	3.3	3.39	0.49	1.35	0.56	1.05	4.35	3.62
6	2.66	3.15	1.42	2.37	0.6	1.05	4.68	3.89
p	<0.001		<0.001		<0.001		0.267	

Z badań przeprowadzonych w innych regionach Polski puwz dla 1-2 latków wynosił 1.84, dla 3-4 latków 2.97. Jego średnia wartość dla dzieci w 5 r.ż. wynosiła 5.1, natomiast dla 6-latków 5.33.

U dzieci w 6 roku życia największy wskaźnik puwz miały te zamieszkujące Białystok (7.19), natomiast najniższy zanotowano w Łodzi (4.02) i Sosnowcu (4.2). W Krakowie wskaźnik ten osiągnął 4.68. Największe wartości przybierała składowa "p", sięgając nawet do 5.6 w Białymstoku. Najmniejsze znaczenie dla wartości całego wskaźnika puwz, miała składowa "u", nieprzekraczająca 1, z wyłączeniem Krakowa (1.42).

Sytuacja epidemiologiczna dzieci 2-3 letnich z Krakowa i okolic w odniesieniu do rejonów o wysokich wskaźnikach próchnicy na świecie należy do jednej z najgorszych pod względem intensywności próchnicy nie tylko w Polsce, ale także na świecie (Tab. 3).

Tabela 3. Częstość występowania próchnicy u 2-3-latków na świecie.

Lokalizacja	Frekwencja próchnicy (%)	Grupa badana, n	Literatura
Kanada	1.3	372	Al-Jewair, 2010 ²¹
Australia	3.3	4606	Lucas, 2011 ²²
Nigeria	8.7	196	Adeniyi, 2009 ²³
Turcja	17.3	3171	Doğan, 2013 ²⁴
Włochy	19.0	515	Nobile, 2014 ²⁵
Brazylia	22.0	62	Skrivele, 2013 ²⁶
Indie	24.8	634	Prakash, 2012 ²⁷
Sri Lanka	32.2	422	Kumarihamy, 2011 ²⁸
Tajwan	32.6	364	Tsai, 2006 ²⁹
Chiny	34.7	544	Gao, 2013 ³⁰
Japonia	35.0	711	Hanioka, 2008 ³¹
Uganda	45.0	67	Kiwanuka, 2004 ³²
Iran	52.0	750	Bayat-Movahed, 2011 ³³
Kraków	58.89	192	Badania własne
Laos	82.0	400	Senesombath, 2010 ³⁴

Podsumowując, wyniki niniejszego badania wykazały, że frekwencja próchnicy jest najwyższa w grupie 1-2 latków, osiągając 58.89%. Z kolei wśród 6-latków Kraków wypadł najlepiej z frekwencją 65.87%. Wyniki te sugerują, że najbardziej narażone na rozwój ECC są 1-2 latki i szczególnie wśród dzieci z tej grupy wiekowej należy podejmować zdecydowane działania zapobiegawcze.

Publikacja P2 – **Anna Jurczak**, Dorota Kościelniak, Iwona Gregorczyk-Maga, Iwona Kołodziej, Jadwiga Ciepły, Dorota Olczak-Kowalczyk, Monika Komasa, Magdalena Wąsik, Monika A. Papież, Wirginia Krzyściak. Influence of socioeconomic and nutritional factors on the development of early childhood caries in children aged 1-6 years. *Nowa Stomatol.* 2015; 20, nr 4:133-141.

Biorąc pod uwagę skalę problemu ECC w populacji polskich dzieci zwrócono uwagę na czynniki mogące mieć wpływ na powstawanie i rozwój procesu próchnicowego. Oceniono ich znaczenie w poszczególnych grupach wiekowych: 1-2 lata, 3-4 lata i 5-6 lat. Badanie kliniczne i ankietowe przeprowadzono w grupach wiekowych 1-6 u 686 dzieci z Krakowa i okolic, będących pacjentami Poradni Stomatologii Dziecięcej Uniwersyteckiej Kliniki Stomatologicznej w Krakowie.

Odnosząc uzyskane wyniki w poszczególnych grupach wiekowych do miejsca zamieszkania i wykształcenia rodziców zwrócono uwagę, iż wyższa frekwencja próchnicy w grupie 1-2-latków występowała w rejonach wiejskich w porównaniu z miastem ($p=0.026$; chi-kwadrat test), oraz u dzieci rodziców z wykształceniem średnim w porównaniu z dziećmi rodziców z wykształceniem wyższym ($p=0.002$; chi-kwadrat test) (Tab. 4).

Tabela 4. Wpływ warunków socjoekonomicznych na występowanie próchnicy w poszczególnych grupach wiekowych.

Wiek		Zamieszkanie						Warunki materialne						Wykształcenie rodziców					
		Duże miasto		Małe miasto		Wieś		Dobre		Średnie		Złe		Podstawowe		Średnie		Wyższe	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
1–2	Brak próchnicy	21	42.86	9	69.23	7	25	30	42.25	6	33.33	–	–	0	0	10	27.78	27	57.45
	Próchnica	28	57.14	4	30.77	21	75	41	57.75	12	66.67	–	–	7	100	26	72.22	20	42.55
	<i>p</i>	0.026						0.491						0.002					
3–4	Brak próchnicy	62	38.99	11	28.21	24	25.81	83	35.78	13	23.64	–	–	6	17.14	20	22.47	71	43.56
	Próchnica	97	61.01	28	71.79	69	74.19	149	64.22	42	76.36	–	–	29	82.86	69	77.53	92	56.44
	<i>p</i>	0.077						0.086						<0.001					
5	Brak próchnicy	20	26.32	9	37.5	10	26.32	31	27.43	7	30.43	0	0	3	23.08	6	12.5	30	40
	Próchnica	56	73.68	15	62.5	28	73.68	82	72.57	16	69.57	1	100	10	76.92	42	87.5	45	60
	<i>p</i>	0.542						0.79						0.004					
6	Brak próchnicy	44	43.56	6	25	7	16.67	52	38.81	5	16.13	0	0	2	7.69	7	15.22	48	50.53
	Próchnica	57	56.44	18	75	35	83.33	82	61.19	26	83.87	1	100	24	92.31	39	84.78	47	49.47
	<i>p</i>	0.005						0.044						<0.001					

wartość *p*—uzyskana z testu chi-kwadrat

W grupie 5-latków frekwencja próchnicy nie zależała od miejsca zamieszkania. W grupie 6-latków najwyższą frekwencję próchnicy zanotowano u dzieci rodziców zamieszkujących rejony wiejskie, w porównaniu do dzieci zamieszkałych w mieście ($p=0.005$; test chi-kwadrat) (Tab. 4). U dzieci pochodzących z rodzin o złym oraz średnim statusie materialnym frekwencja próchnicy była wyższa w porównaniu do dzieci rodzin zamożnych ($p=0.044$; test chi-kwadrat) (Tab. 4). Podobnie jak w grupie 1-2-latków tak i w grupach 3-4-latków, 5-latków oraz 6-latków najwyższy wpływ na frekwencję próchnicy miało wykształcenie rodziców. U dzieci rodziców z wykształceniem zawodowym oraz średnim zanotowano wyższą frekwencję próchnicy w porównaniu z dziećmi rodziców z wykształceniem wyższym ($p<0.001$; test chi-kwadrat) (Tab. 4).

W grupie 1-2 latków istotny wpływ na wystąpienie próchnicy miało podawanie słodzonych pokarmów/napojów w nocy (Tab. 5).

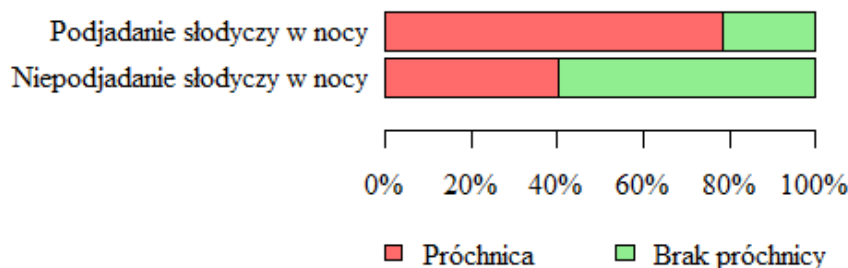
Tabela 5. Wpływ poszczególnych zmiennych na częstość występowania próchnicy w różnych grupach wiekowych (regresja logistyczna).

Regresja logistyczna - to metoda statystyczna pozwalająca wyznaczyć iloraz szans (OR) dla wielu różnych cech (nazywanych zmiennymi objaśniającymi) naraz.

Iloraz szans (OR) - określa ile razy większe są szanse zajścia zdarzenia w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej.

<i>Wiek</i>		<i>Karmienie</i>			<i>Podjadanie słodczy w nocy</i>	<i>Częste spożywanie soków i napojów gazowanych</i>	<i>Pasta dla dzieci</i>
		<i>Naturalne</i>	<i>Sztuczne</i>	<i>Mieszane</i>			
1-2	OR	poziom referencyjny	1.849	2.454	3.684	2.602	4.71
	95% Przedział ufności dla OR		0.436	0.436	1.174	0.774	0.447
			7.845	13.813	11.565	8.744	49.628
	Poziom istotności		0.405	0.309	0.025	0.122	0.197
3-4	OR	poziom referencyjny	1.002	1.813	1.427	2.227	0.287
	95% Przedział ufności dla OR		0.445	0.669	0.826	1.252	0.033
			2.258	4.916	2.466	3.961	2.46
	Poziom istotności		0.995	0.242	0.203	0.006	0.006
5	OR	poziom referencyjny	0.773	1.029	3.843	2.136	0.702
	95% Przedział ufności dla OR		0.195	0.28	1.411	0.838	0.164
			3.06	3.787	10.466	5.443	2.996
	Poziom istotności		0.713	0.966	0.008	0.112	0.632
6	OR	poziom referencyjny	0.647	5.449	1.177	2.251	1.041
	Przedział ufności dla OR		0.239	0.665	0.542	1.031	0.351
			1.754	44.615	2.556	4.917	3.093
	Poziom istotności		0.392	0.114	0.681	0.042	0.942

Czynnik ten zwiększał wystąpienie próchnicy ponad 3.5 krotnie (OR=3.684) (Ryc. 3).



Rycina 3. Wpływ podjadania słodczy w nocy na częstość występowania próchnicy w grupie 1-2-latków (regresja logistyczna).

Zaobserwowano również, że w tej grupie wiekowej częste spożywanie soków i napojów gazowanych zwiększało ryzyko wystąpienia ECC ponad 2.5 krotnie (OR=2.602) (Tab. 5). Wśród 3-4 latków częste spożywanie soków i napojów gazowanych zwiększało szansę wystąpienia próchnicy ponad 2-krotnie (OR=2.227) w porównaniu do spożywania rzadkiego (Tab. 5). Wpływ karmienia mieszanego (OR=1.813) oraz podjadanie słodczy w nocy (OR=1.427) na ryzyko rozwoju próchnicy okazały się nieistotne statystycznie (Tab. 5). Z kolei na występowanie próchnicy u 5 latków podjadanie słodczy w nocy miało istotny wpływ (OR=3.843), a więc podjadanie słodczy w nocy zwiększało szansę wystąpienia próchnicy niemal 4-krotnie. Wpływ pozostałych zmiennych okazał się nieistotny statystycznie (Tab. 5). Istotny wpływ na występowanie próchnicy u 6 latków miało częste spożywanie soków i napojów gazowanych. Czynnikiem ten zwiększał ryzyko ECC ponad 2-krotnie (Tab. 5). Natomiast karmienie mieszane (OR=5.449) i podjadanie słodczy w nocy (OR=1.177) okazały się nieistotne statystycznie (Tab. 5).

Spośród przebadanych czynników socjoekonomicznych dla 1-2 latków istotne statystycznie okazało się miejsce zamieszkania oraz poziom wykształcenia rodziców (Tab. 4). Dzieci zamieszkujące tereny wiejskie znacznie częściej chorowały na próchnicę (75%) w porównaniu do dzieci z małych (30.77%) czy dużych miast (57.14%). Takie same wnioski wysunięto w pracy Correia-Faria i wsp. (2014)³⁵, gdzie frekwencja próchnicy wśród dzieci zamieszkujących tereny wiejskie wyniosła 56.2%, a tereny miejskie 34.6%. Uzyskane wyniki można wytłumaczyć utrudnionym dostępem do opieki dentystycznej rodzin mieszkających na wsi, co potwierdzają najnowsze badania prowadzone w Niemczech³⁶. W Australii, Kilpatrick

i wsp. (2012)³⁷ ustalili, że ECC występuje 1.59 krotnie częściej u dzieci zamieszkujących tereny odległe, trudno dostępne.

Niskie wykształcenie rodziców wykazało dodatnią korelację z występowaniem próchnicy wieku dziecięcego w grupie 1-2 latków. Frekwencja próchnicy u dzieci, których rodzice mieli wykształcenie zawodowe wyniosła 100%, a wykształcenie średnie 72.22% (Tab. 4). Podobnie w pracy Congiu i wsp. (2014)³⁸ niskie wykształcenie rodziców wpływało negatywnie na zdrowie jamy ustnej dzieci. W badaniach przeprowadzonych przez Zhou i wsp. (2012)³⁹ oraz Prakash i wsp. (2012)⁴⁰ zwrócono uwagę tylko na wykształcenie matek. Udowodniono, że ECC występowało częściej wśród dzieci, których matki nie miały wykształcenia lub miały wykształcenie podstawowe. Natomiast w pracy Retnakumari i Cyriac (2012)⁴¹ oraz Masumo i wsp. (2012)⁴² czynnik ten okazał się nieistotny statystycznie.

W prowadzonym przeze mnie badaniu status materialny rodziców okazał się nieistotnym czynnikiem ryzyka ECC ($p=0.491$) dzieci w wieku 1-2 lat (Tab. 4). Podobny wynik uzyskali Kumarihamy i wsp. (2011)⁴³ oraz Masumo i wsp. (2012)⁴². Natomiast badania przeprowadzone przez Prakash i wsp. (2012)⁴⁰ wykazały, że w grupie 1-2-latków próchnica wczesnego dzieciństwa występowała częściej wśród dzieci z rodzin o niskich dochodach w porównaniu z dziećmi rodzin zamożnych.

W grupie 3-4 - latków oraz 5 - latków z Krakowa i okolic istotny statystycznie wpływ na rozwój ECC miało wykształcenie rodziców (Tab. 4). W grupie wiekowej 3-4 latków ponad 80% dzieci rodziców z wykształceniem zawodowym wykazywało objawy próchnicy wczesnego dzieciństwa. W przypadku dzieci rodziców z wykształceniem średnim odsetek ten nieznacznie uległ zmniejszeniu (77.5%) (Tab. 4). Wśród 5-latków krakowskich frekwencja próchnicy sięgała odpowiednio 77% i 87.5% (Tab. 4). Zbieżne wyniki uzyskano w badaniach przeprowadzonych w Chinach przez Li i wsp. (2011)⁴⁴ oraz Chu i wsp. (2012)⁴⁵, a także w Indiach w pracy Narang i wsp. (2013)⁴⁶. Wykazano, że dzieci rodziców z niskim i średnim wykształceniem miały wyższe wskaźniki próchnicy niż dzieci rodziców z wykształceniem wyższym⁴⁶. Rodzice z niższym wykształceniem często posiadają znikomą wiedzę w zakresie prewencji i czynników ryzyka próchnicy wczesnego dzieciństwa, co pozwala uznać brak średniego lub wyższego wykształcenia rodziców za czynnik sprzyjający zwiększeniu ryzyka wystąpienia choroby próchnicowej w wieku niemowlęcym i wczesnym dzieciństwie.

Nieistotny okazał się wpływ miejsca zamieszkania oraz status materialny rodziny na stan jamy ustnej dzieci 3-4-letnich, jak i 5-letnich (Tab. 4). W pracach Corre[^]a-Faria i wsp. (2014)³⁵ oraz Li i wsp. (2011)⁴⁴ zwrócono uwagę, że większość dzieci zamieszkujących tereny wiejskie miało objawy próchnicy. W publikacji Postma i wsp. (2008)⁴⁷

zaobserwowano, że na terenach zurbanizowanych średni wskaźnik puwz był wyższy niż na terenach o niskiej infrastrukturze budowlanej. Badanie przeprowadzone wśród Afroamerykanów przez Ismail i wsp. (2009)⁴⁸ czy imigrantów francuskich zamieszkujących rejony Szwajcarii⁴⁹ wykazało statystycznie istotny wpływ mieszkania w biednych dzielnicach miast na rozwój ECC. W prezentowanych pracach zwrócono uwagę na dodatnią korelację pomiędzy rozwojem próchnicy a niskim statusem materialnym rodzin. W publikacji Chu i wsp. (2012)⁴⁵ zaobserwowano, że dzieci pochodzące z rodzin o niskim i średnim dochodzie miały wyższe wskaźniki próchnicy (puwz) w porównaniu z dziećmi pochodzącymi z rodzin zamożnych. Chankanka i wsp. (2012)⁵⁰ udowodnili, że wysoki status socjoekonomiczny gwarantuje lepszą ochronę, zmniejszającą do minimum szanse wystąpienia ECC. W południowej Afryce, Postma i wsp. (2008)⁴⁷ zaobserwowali najwyższe wskaźniki puwz u dzieci rodzin o średnim dochodzie. Natomiast w centralnym Trinidadzie, Naidu i wsp. (2013)⁵¹ wykazali brak istotnego statystycznie związku pomiędzy czynnikami socjoekonomicznymi a występowaniem próchnicy wśród dzieci.

Wśród 6 - latków z Krakowa i okolic istotny wpływ na rozwój ECC miało miejsce zamieszkania oraz wykształcenie rodziców. Ponad 80% dzieci zamieszkujących tereny wiejskie wykazywało zmiany próchnicowe. Kilpatrick i wsp. (2012)³⁷ udowodnili, że dzieci pochodzące z terenów trudno dostępnych prawie 1.5 - krotnie częściej chorowały na ECC niż dzieci mieszkające na terenach o łatwym dostępie do opieki zdrowotnej. W grupie 6-latków krakowskich stwierdzono próchnicę u ponad 90% dzieci rodziców z wykształceniem zawodowym i 85% z wykształceniem średnim. Istotny wpływ wykształcenia rodziców lub wyłącznie matki na ryzyko rozwoju próchnicy w tym przedziale wiekowym potwierdzili również Peres i wsp. w Brazylii (2005)⁵², Chu i wsp. w Chinach (2012)⁴⁵ oraz Narang i wsp. w Indiach (2013)⁴⁶.

W grupie 6-latków nie znaleziono zależności pomiędzy występowaniem ECC a statusem materialnym rodzin w niniejszym badaniu (Tab. 4). Natomiast badania przeprowadzone przez Chu i wsp. (2012)⁴⁵ oraz Narang i wsp. (2013)⁴⁶ pozwoliły zaobserwować, że dzieci pochodzące z rodzin o niskim statusie materialnym znacznie częściej wykazywały obecność zmian próchnicowych niż dzieci z rodzin o wysokim dochodzie. W Brazylii, Peres i wsp. (2005)⁵² ustalili, że ponad 50% dzieci pochodzących z rodzin o niskim dochodzie miało wskaźnik puwz > 4.

Analiza nawyków żywieniowych dzieci z Krakowa i okolic pokazała, iż w grupie 1-2 latków istotny wpływ na pojawienie się próchnicy miało podawanie słodzonych pokarmów i napojów na noc ($p=0.025$) (Tab. 5). W tej samej grupie wiekowej zależność tą badano również na Sri

Lance (2011)⁵³, jednak okazała się ona nieistotna statystycznie. Natomiast w Indiach (2012)⁴⁶ gdzie badaniu poddano dzieci w podobnym wieku (8-48 miesięcy) uzyskano wyniki zbliżone z krakowskimi. Dzieci, które podjadały w nocy, częściej miały ECC (40.7%) w porównaniu z dziećmi nie karmionymi w nocy (3.1%). Istotność statystyczną wpływu podjadania w nocy na częstość występowania ECC u dzieci w wieku 1-3 lat wykazano również w pracy Retnakumari i Cyriac (2012)⁵⁴. W przypadku dzieci w wieku 5 lat podjadanie słodczy w nocy podnosiło szansę wystąpienia ECC niemal 4-krotnie (OR=3.843) (Tab. 5). Wpływ tego czynnika u starszych dzieci (3-5 lat) analizowano również na Sri Lance (2014)⁵³ gdzie ustalono, iż 52% dzieci z próchnicą podjadało w nocy, natomiast wśród nie karmionych nocą próchnicę miało jedynie 29%. Z kolei w badaniach przeprowadzonych w Chinach, 2011⁴⁴ (3-5 lat) wykazano, że 75.2% przebadanych dzieci z próchnicą podjadało w nocy. W pozostałych grupach wiekowych przebadanej populacji czynnik ten okazał się nieistotny statystycznie.

Kolejnym analizowanym czynnikiem powiązaniem ze stosowaną dietą było spożywanie soków oraz napojów gazowanych. U dzieci z Krakowa i okolic wykazano istotne zwiększenie szansy wystąpienia próchnicy w grupach wiekowych: 3-4 latków (OR=2.227) oraz 6-latków (OR=2.251) w powiązaniu ze spożywaniem soków oraz napojów gazowanych (Tab.5). W podobnych badaniach (w grupie 3-5 latków) przeprowadzonych w Iowa, USA (2012) również wykazano istotność statystyczną tego czynnika (OR=1.34)⁵⁵. W Chinach (2011)⁴⁴ za punkt odcięcia przyjęto spożywanie tego typu napojów częściej niż 3 razy w tygodniu i w grupie tej znalazło się 81.1% dzieci z próchnicą. Saalfeld i Jackson-Allen⁵⁶ szerzej zajęli się opisem skutków samego spożywania napojów wysokosłodzonych przez dzieci na ich ogólny stan zdrowia. W badaniu Ismail i wsp., USA (2009)⁵⁷ przeprowadzonym wśród Afroamerykanów, Marshal i wsp., USA (2005)⁵⁸ oraz Thitasomakul i wsp., Azja (2009)⁵⁹ potwierdzili istotność statystyczną wpływu spożywania napojów gazowanych na rozwój ECC. W badaniach przeprowadzonych we Włoszech (2014)⁶⁰ czy w Chinach (2017)⁶¹ ustalono, że przyjmowanie słodkich napojów ≥ 2 razy dziennie istotnie zwiększa szansę wystąpienia próchnicy wczesnego dzieciństwa (OR=1.18) u dzieci w wieku 2-3 lat. Badania na populacji dzieci z Krakowa i okolic nie wykazały istotnego wpływu częstego spożywania soków i napojów gazowanych na ryzyko rozwoju próchnicy w grupach dzieci: 1-2 letnich (OR=2.602; p=0.122) oraz 5-cio letnich (OR=2.136; p=0.112) (Tab. 5).

Niejako kompilacją tych dwóch czynników zajęto się w Łodzi, Polska (2007)²⁹. Analizowano tam wpływ spożywania w nocy napojów innych niż woda mineralna lub woda przegotowana wodociągowa na ryzyko występowania ECC u 3-latków. W grupie przyjmującej nocą takie napoje znalazło się przeszło 62% przebadanej populacji. Stwierdzono, iż czynnik ten

zwiększa ryzyko wystąpienia ECC 4-krotnie (OR=4.0 ; $p<0.001$). Tak silny wpływ spożywania tego typu napojów w nocy argumentowano głównie zmniejszonym wydzielaniem śliny podczas snu i zasypiania oraz dłuższym przetrzymywaniem pokarmów w jamie ustnej. Istotnym czynnikiem w tej pracy okazało się również zasypianie dzieci z butelką w ustach (32.1% ; OR=7.65; $p<0.01$). Sytuacja przedstawiona w podobnych badaniach pochodzących z Wielkiej Brytanii (2001)⁶² miała się jeszcze gorzej. Prawie 80% dzieci przebadanych (w Salford) podjadało lub spożywało napoje w porze nocnej. Zostało przy tym wyraźnie zaznaczone przez autorów, że dzieci te w większości pochodziły z tzw. „środowisk zaniedbanych” (co dodatkowo jest zgodne z obserwacjami krakowskimi na temat wpływu warunków socjoekonomicznych na higienę jamy ustnej oraz rozwój ECC u dzieci).

Czynnikiem mogącym predysponować do rozwoju próchnicy okazał się sposób karmienia (naturalne - piersią/mleko matki, sztuczne - butelką oraz mieszane - połączenie dwóch powyższych opcji). Badanie przeprowadzone we Włoszech (2014)⁶³ wykazało wpływ rodzaju podawanego pokarmu na występowanie i rozwój ECC u dzieci do 30 miesiąca życia. Wykazano tam, iż spośród dzieci karmionych wyłącznie sztucznie przeszło 99% miało próchnicę, w większości umiarkowaną lub zaawansowaną, natomiast u dzieci karmionych w 100% mlekiem matki odsetek ten wynosił 59.18% (wszystkie przypadki zakwalifikowano jako postać wczesną próchnicy, bez zajęcia zębiny). W grupie dzieci karmionych w sposób mieszany u około 80% zdiagnozowano próchnicę, której stopień zaawansowania korelował z odsetkiem pokarmów sztucznych, którymi uzupełniano karmienie naturalne. W badaniu przeprowadzonym przez Dabawala i wsp. w Indiach (2017)⁶⁴ czy Majorana i wsp. we Włoszech (2017)⁶⁵ podobnie, za istotny statystycznie czynnik występowania i rozwoju próchnicy uznano karmienie mieszane. Jednak w badaniu przeprowadzonym w Banglądzie, Indie (2012)⁶⁶ sposób karmienia nie wpływał istotnie na ryzyko rozwoju ECC.

Podsumowując, wyniki przeprowadzonego badania wykazały, że do głównych przyczyn występowania próchnicy u dzieci z Krakowa i okolic należą złe nawyki żywieniowe, niski poziom wykształcenia rodziców, a także złe warunki materialne rodzin. Z drugiej strony coraz bardziej dostępne w krajach rozwijających się żywność przetworzona czy napoje z dużą zawartością cukru wydają się być jedną z głównych przyczyn pogorszenia się stanu zdrowia jamy ustnej u dzieci. W krajach z wysoką frekwencją próchnicy zwrócono uwagę na związek z niską wyceną świadczeń zdrowotnych w obrębie profilaktyki zdrowia jamy ustnej. Przyczynami wysokiej frekwencji próchnicy wśród dzieci przedszkolnych są także niedostateczna liczba stomatologów dziecięcych, jak również szerokie zaniedbania w tej sferze zdrowia publicznego.

Publikacja P-3. **Anna Jurczak**, Dorota Kościelniak, Monika Papież, Palina Vyhouskaya, Wirginia Krzyściak. A study on β -defensin- 2 and histatin-5 as a diagnostic marker of early childhood caries progression. Biol Res. 2015 Oct 31;48:61.

Naturalne peptydy przeciwdrobnoustrojowe stanowią pierwotną linię obrony u większości organizmów wyższych. Wśród nich, histatyny-5 oraz β -defensyny-2 należą do ludzkich białek ślinowych, wykazujących silne właściwości antymikrobiotyczne. Właściwości te wraz ze zdolnością ww. białek do hamowania kolagenaz i proteaz cysteinowych przyciągają uwagę jako potencjalne biomarkery podatności lub odporności na próchnicę wczesnego dzieciństwa (ECC).

W wyniku przeprowadzonych badań zwrócono uwagę na wzrost poziomu histatyny-5 oraz β -defensyny-2 w grupie dzieci z ECC (n=41; średnia wieku=5±2.3) w porównaniu do grupy kontrolnej (n=41; średnia wieku= 5±1.5) (Tab. 6).

Tabela 6. Poziom histatyny-5 oraz β -defensyny-2 w grupie dzieci z próchnicą wczesną w porównaniu z grupą kontrolną (dzieci bez objawów choroby).

	Kontrola (n=41)		Próchnica wczesnego dzieciństwa(ECC) (n=41)		p*
	Średnia (ng/ml)	SD	Średnia (ng/ml)	SD	
histatyna 5	15.29	1.16	50.75	2.11	0.0002
β-defensyna-2	2.15	0.07	2.29	0.05	0.0417

* test T; SD – odchylenie standardowe

Wyniki przeanalizowano pod kątem zaawansowania procesu próchnicowego. Poziomy histatyny-5 i β -defensyny-2 były istotnie wyższe w grupie dzieci zaklasyfikowanych do grupy ≥ 3 wg ICDAS II, osiągając poziomy 50.55 ng/mL w przypadku histatyny-5 oraz 2.22 ng/mL odpowiednio dla β -defensyny-2 w porównaniu z dziećmi zaklasyfikowanymi do grupy 1-2 wg ICDAS II odpowiednio 42.55 ng/ml dla histatyny-5 i 1.74 ng/ml w przypadku β -defensyny-2 (Tab. 7).

W pobranych próbkach śliny dokonano oceny mikrobiologicznej pod kątem flory bakteryjnej. Określono profil bakteryjny na podstawie wyizolowanych gatunków bakterii. Zwrócono uwagę na dominację gatunków potencjalnie próchnicogennych takich jak: *S. mutans* i *L. rhamnosus* w grupie dzieci z postacią zaawansowaną ECC (stopień ≥ 3 wg ICDAS) w stosunku do grupy dzieci sklasyfikowanych jako 1-2 wg ICDAS. Uzyskane profile bakteryjne różniły się w poszczególnych grupach (P = 0.04).

Podsumowując uzyskane wyniki poziomów badanych peptydów antybakteryjnych w ślinie dzieci z próchnicą wczesnego dzieciństwa, wykazano znaczący wzrost stężenia histatyny-5 ($P = 0.03$, ANOVA) i β -defensyny-2 ($P = 0.04$, ANOVA) w grupie dzieci z postacią zaawansowaną ECC tzw. „severe” (stopień ≥ 3 wg ICDAS) w porównaniu z pacjentami z postacią łagodną tzw. „mild” (1-2 wg ICDAS) (Tabela 7).

Tabela 7. Poziom histatyny-5 oraz β -defensyny-2 w grupie dzieci z ECC (w stopniu ≥ 3 wg ICDAS) w porównaniu z grupą dzieci z próchnicą (w stopniu 1-2 wg ICDAS).

	≥ 3 wg ICDAS ($n=24$)		1-2 wg ICDAS ($n=17$)		p^*
	Średnia (ng/ml)	SD	Średnia (ng/ml)	SD	
histatyna 5	50.55	0.50	42.55	0.36	0.03
β-defensyna-2	2.22	0.19	1.74	0.21	0.04

* test T; SD – odchylenie standardowe

Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem histatyny-5, poziomem β -defensyny-2 a wiekiem, płcią, nawykami żywieniowymi, stosowaną dietą, zażywaniem lekami (dane o tych czynnikach zostały uzyskane z badania ankietowego).

Uzyskane wyniki są zbieżne z wynikami Gornowicz i wsp. (2014)⁶⁷ którzy wykazali podwyższony poziom histatyny-5 w grupie dzieci z próchnicą, przy czym wyższe stężenia były obserwowane u dzieci z postacią zaawansowaną próchnicy wczesnej (stopień ≥ 3 wg ICDAS) w porównaniu z pacjentami z postacią łagodną (1-2 wg ICDAS).

Rozważając związek β -defensyny-2 (HBD-2) z próchnicą wczesną, badacze Ribeiro i wsp. (2013)⁶⁸, oraz Tao i wsp. (2005)⁶⁹ uzyskali wyniki rozbieżne z wynikami uzyskanymi w prezentowanej pracy. Poziom HBD-2 nie korelował z występowaniem próchnicy, w odróżnieniu od HBD-3 oraz HNP-3 (α -defensyny-3).

Phattarataratip E. i wsp. (2011)⁷⁰ również nie wykazali związku HBD-2 z objawami choroby, jednak zaobserwowano trend wzrostu poziomu defensyny wraz ze wzrostem całkowitej ilości bakterii z grupy Mutans streptococci. Szczepy *S. mutans* izolowane od osób z próchnicą miały większą oporność na β -defensynę-2 w porównaniu do szczepów izolowanych od dzieci z grupy kontrolnej.

Ilość specyficznych białek ślinowych gospodarza może wpływać na kolonizację poszczególnych gatunków bakterii, w tym uważanych za czynnik sprawczy próchnicy jak *S. mutans*. Ponadto dominacja szczepów uważanych za bardziej próchnicogenne wykazuje ścisłą zależność ze stopniem zaawansowania choroby, co znajduje odzwierciedlenie w

zwiększonym poziomie wybranych białek ślinowych zarówno histatyny-5, jak i beta-defensyny-2.

Szukając związku pomiędzy poziomem histatyny-5 oraz β -defensyny-2 a liczbą próchnicotwórczych gatunków bakterii zwrócono uwagę na występowanie charakterystycznych profili bakteryjnych zależnych od poziomu oznaczanych białek. Dane te korelowały z danymi klinicznymi, dotyczącymi procesu zaawansowania choroby. Publikowane wyniki badań, oceniające populację drobnoustrojów jamy ustnej u dzieci w wieku 3-6 lat sugerują, że mikroflora zębów jest związana z całym ekosystemem tworzącą ją gatunków bakterii, a nie tylko małym jej wycinkiem związanym z niewielką liczbą wybranych konkretnych patogennych gatunków bakterii.

Wyniki jakie uzyskano w grupie dzieci z próchnicą początkową określaną często jako białe plamy tzw. „white spots” (*Streptococcus mutans/Lactobacillus rhamnosus/Streptococcus sanguinis/Streptococcus mitis* 9% - 4% - 56% - 31%) są zbieżne z wynikami Aas i wsp. (2008)⁷¹ oraz van Houte i wsp. (1991)⁷², w których wykazano, że 10% dzieci i młodzieży z próchnicą (w wieku od dwóch do dwudziestu jeden lat) nie ma w ogóle *S. mutans*. Sugeruje się udział innych gatunków bakterii w rozwoju i progresji próchnicy zębów, takich jak: *Lactobacillus*, *Veillonella*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, czy gatunków kwasotwórczych niezależnych od *Streptococcus mutans*, takich jak: *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. mitis* i *S. anginosus*^{73 74}, *Actinomyces*, i *Atopobium*, co potwierdzono także w niniejszych badaniach. W przypadku białych plam udział *S. mutans* był wyższy w porównaniu do grupy kontrolnej (9% white spot > 2% control), co zostało potwierdzone w badaniach van Houte i wsp., 1991⁷², w których *S. mutans* stanowił: 0,001 do 10%. Gatunki *Streptococcus* (poza *S. mutans*) i *Actinomyces*, uważane są za głównych sprawców uszkodzeń szkliwa. W przypadku nieobecności *S. mutans* i *Lactobacillus* początkowa demineralizacja szkliwa może być indukowana przez wczesnych kolonizatorów (*S. sanguinis*, *S. mitis* i *S. oralis*), co również zostało wykazane w niniejszym badaniu, gdzie *Streptococcus sanguinis* stanowił 56% w przypadku dzieci z grupy „white spots”.

W przypadku dzieci z postacią zaawansowaną ECC udział gatunku *S. mutans* wynosił 33%, co jest zbieżne z wynikami Gross i wsp., (2012)⁷⁵; Sampaio-Maia & Monteiro-Silva (2014)⁷⁶ w których przy uszkodzeniu zębiny udział *S. mutans* stanowił około 30% całości mikroflory. *S. mutans* nie był gatunkiem dominującym w zaawansowanym stadium próchnicy, gdzie dominowały takie gatunki jak: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* oraz *Prevotella*^{75, 76}. Zjadliwość populacji bakterii próchnicotwórczych koreluje z przyjętym fenotypem dla danego

środowiska związanego z potencjałem kwasotwórczym bakterii, który może indukować zmiany środowiska prowadzące do rozwoju próchnicy zębów.

W warunkach fizjologicznych jama ustna dzieci ma wyższy odsetek bakterii należących do działów: *Firmicutes* (rodzajów *Streptococcus*, *Veillonella*, *Lactobacillus* i *Granulicatella*) i *Actinobacteria* (rodzajów *Rothia* i *Actinomyces*), a mniejszy odsetek bakterii z działów *Bacteroidetes* (rodzajów *Bacteroidales* i *Prevotella*), *Fusobacteria* (rodzaj *Fusobacterium*), *Spirochaetes*, i szczepu TM7, w porównaniu do osób dorosłych^{74, 77}. Co ciekawe, wraz ze wzrostem dziecka rośnie także odsetek bakterii próchnicotwórczych. Zmiana ta dotyczy przesunięcia populacji bakterii tlenowych lub fakultatywnych ziarniaków Gram-dodatnich na względnie beztlenowe bakterie Gram-ujemne⁷⁸. W przedstawionym badaniu w grupie kontrolnej dominowały gatunki uważane za niepatogenne (*Streptococcus mutans*/*Lactobacillus rhamnosus*/*Streptococcus sanguinis*/*Streptococcus mitis* 2% - 5% - 22% - 15% - 56% other species), co potwierdza stawianą hipotezę o profilu bakteryjnym zależnym od środowiska.

Przedstawione w niniejszej pracy badania stanowią ważny krok umożliwiający wykorzystanie przeprowadzonych oznaczeń poziomu histatyny-5 oraz β -defensyny-2 w ślinie jako wskaźników rozwoju i progresji ECC, wspierających badaczy i klinicystów w podejmowaniu decyzji dotyczących diagnostyki, profilaktyki i leczenia próchnicy u dzieci.

Nasze obserwacje mogą prowadzić do nowych sposobów zapobiegania próchnicy i wprowadzenia nowego narzędzia oceny ryzyka tej choroby. Dla personelu medycznego pracującego z dziećmi byłyby to dobre dodatkowe procedury, które można by wprowadzić w ramach rutynowych badań profilaktycznych bez ryzyka związanego z badaniem inwazyjnym, jakim jest pobranie krwi.

Publikacja P4 – **Anna Jurczak**, Dorota Kościelniak, Anna Skalniak, Monika Papież, Paulina Vyhouskaya, Wirginia Krzyściak. The role of the saliva antioxidant barrier to reactive oxygen species with regard to caries development. Redox Rep. 2017 February 27:1-11.

Bakterie wywołujące próchnicę wczesnego dzieciństwa, w szczególności *S. mutans* wykazują silną odpowiedź zarówno na zakwaszenie środowiska, jak i stres oksydacyjny, czemu towarzyszy wzmożona odpowiedź ze strony ślinowych antyoksydantów, m.in. oksydazy NADH (Nox; kodowanej przez NOx). Uważa się, że zwiększenie poziomów antyoksydantów m.in. oksydazy NADH ma zasadnicze znaczenie w regeneracji NAD⁺, w czasie redukcji tlenu, tym samym zapobiegając tworzeniu się reaktywnych form tlenu (RFT). Rola antyoksydantów, a także mechanizmów z nimi związanych nie jest w pełni zrozumiała, choć zainteresowanie badaczy ww. zagadnieniami jest coraz większe.

W ostatnim czasie wykazano udział antyoksydantów w regulacji i metabolizmie bakterii próchnicotwórczych silnie związanych z zakwaszeniem środowiska i stresem oksydacyjnym. Szkodliwa rola stresu oksydacyjnego wynika z bezpośredniego oddziaływania na podstawowe mechanizmy przenoszenia i przekazywania sygnałów, co prowadzi do zwiększonego wzrostu i różnicowania bakterii kariogennych oraz ich zwiększonej siły działania. Strategie terapii przeciwutleniającej komórek wywołujących próchnicę mających na celu ochronę przed zniszczeniem, mogą być oparte na wiedzy z aspektów molekularnych stresu oksydacyjnego w licznych chorobach, w tym próchnicy⁷⁹. Sugeruje się, że względnie wysokie poziomy antyoksydantów lub leków o działaniu przeciwutleniającym mogą skutecznie hamować zwiększony stres oksydacyjny, a zatem mogą przyczyniać się do uzyskania poprawy stanu klinicznego.

Dotychczas pojawiło się w literaturze niewiele badań oceniających poziomy antyoksydantów ślinowych pacjentów z próchnicą w porównaniu do zdrowych osobników bez objawów choroby. Ponadto, chociaż rola stresu oksydacyjnego u pacjentów z próchnicą wydaje się udokumentowana, większość publikowanych badań nie przedstawia żadnego wyjaśnienia obserwowanych zmian w różnych materiałach biologicznych oraz w różnych postaciach zaawansowania choroby. Aspekt ten wydaje się godny weryfikacji, podobnie jak rola oznaczania wybranych antyoksydantów ślinowych w kolonizacji szczepów kariogennych, szczególnie w próchnicy o różnym stopniu zaawansowania.

Celem badania było określenie ślinowych antyoksydantów u dzieci z ECC w porównaniu do zdrowych osobników bez zmian próchnicowych, a także ocena roli bariery antyoksydacyjnej w ślinie dzieci z próchnicą i jej wpływ na kolonizację bakterii próchnicotwórczych.

W badaniu wzięło udział łącznie 81 pacjentów: 16 dziewcząt i 11 chłopców (średnia wieku 3.56 ± 1.25) zaklasyfikowanych do grupy „cavitated” (w stopniu: 5–6 wg klasyfikacji ICDAS, *International Caries Detection and Assessment System*) z obecną próchnicą wczesnego dzieciństwa (ECC), oraz 13 dziewcząt i 14 chłopców (średni wiek 2.35 ± 1.09) zaklasyfikowanych do grupy „non-cavitated” (w stopniu: 1–2 wg klasyfikacji ICDAS). Grupę kontrolną stanowiło 16 dziewczynek i 11 chłopców (średni wiek: 3.11 ± 1.19) bez objawów choroby. Wiek pacjentów w poszczególnych grupach ze stwierdzoną ECC nie różnił się istotnie od dzieci z grupy kontrolnej. Nie stwierdzono istotnych różnic w obrębie płci pomiędzy grupą badaną a grupą kontrolną. Wartość wskaźnika higieny jamy ustnej (OHI-S, *Simplified Oral Hygiene Index*) we wszystkich badanych grupach wyniosła 0.

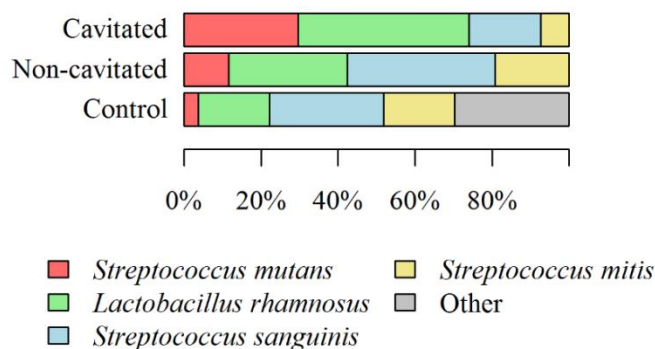
Identyfikacji fenotypowej bakterii dokonano przy wykorzystaniu komercyjnie dostępnego zestawu do identyfikacji paciorkowców: STREPTOtest24 (Lachema, Pliva).

Oznaczenie spektrofotometryczne TAC, czyli całkowitej zdolności śliny do redukcji jonów Fe^{3+} wykonano metodą Benzie’go i Strain’a⁸⁰. Oznaczenie poziomu glutationu: zredukowanego (GSH) i utlenionego (GSSG) opierało się na reakcji metody Griffith⁸¹ z modyfikacją Tietze⁸², jak opisano w *Current Protocols in Toxicology* by Mustacich⁸³. Oznaczenie ilościowe białka w ślinie wykonano metodą opisaną przez Smith i wsp.⁸⁴.

Przydatność ww. metod do wybranych oznaczeń w ślinie w badanych grupach oceniono na podstawie przeprowadzonej ich walidacji zgodnie z normalizacją europejską¹.

W prowadzonym badaniu wyizolowano 80 szczepów bakterii, z których 47 (58.75%) szczepów należało do 3 gatunków *Streptococcus*, a także 25 (31.25%) szczepów należało do rodzaju *Lactobacillus*. *Streptococcus* był najczęstszym gatunkiem (n=47, 58.75% szczepów), z czego *Streptococcus mutans* (n=12, 15%), a następnie *Streptococcus sanguinis* i *mitis* (n = 23, 28.75% i n = 12, 15% szczepów). Procentowy udział poszczególnych gatunków bakterii w badanych grupach pokazano na wykresie (Ryc. 4).

¹ PN-EN ISO/IEC 17025: 2001: Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.



Rycina 4. Udział procentowy wyizolowanych gatunków bakterii w poszczególnych grupach badanych i kontrolnej. Cavitated - postać zaawansowana ECC (stopień ≥ 3 wg ICDAS); „non-cavitated” - postać wczesna ECC - 1-2 wg ICDAS; control – grupa kontrolna.

Jak przedstawiono na Rycinie 4, prezentowane gatunki bakterii tworzą charakterystyczne profile. Bakterie hodowane na podłożu selektywnym (HLR-S) i ich późniejsza identyfikacja fenotypowa pozwalają na określenie procentowego udziału poszczególnych szczepów bakteryjnych w poszczególnych grupach pacjentów. Co ciekawe, profil bakteryjny zależał od stadium choroby. W grupie dzieci zaklasyfikowanych do non-cavitated dominujące były: *S. sanguinis* (38.46%), *L. rhamnosus* (30.77%), *S. mitis* (19.23%) i *S. mutans* (11.54%) (Ryc. 4). W grupie dzieci ze zmianami kawitacyjnymi dominowały następujące gatunki: *L. rhamnosus* (44.44%), *S. mutans* (29.63%) i *S. sanguinis* (18.52%) (Ryc. 4). W grupie kontrolnej udział procentowy poszczególnych gatunków bakterii wynosił: *S. mutans* (3.70%), *S. mitis* (18.52%), *L. rhamnosus* (18.52%), *S. sanguinis* (29.63%) i inne (29.63%).

W niniejszym badaniu zweryfikowano wpływ udziału bariery antyoksydacyjnej śliny na indukcję reaktywnych form tlenu (ROS) i odpowiedź komórek bakteryjnych na poziomy ślinowych antyoksydantów. W badaniu wykazano wyższe stężenia ślinowych antyoksydantów takich jak: glutation zredukowany (GSH), glutation utleniony (GSSG) i całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAC) u pacjentów z zaawansowaną postacią próchnicy w porównaniu do pacjentów z postacią łagodną. Dodatkowo, zmiany w poziomie wybranych parametrów (GSH, GSSG i TAC) wykazywały zależność związaną ze stopniem zaawansowania próchnicy; były wyższe u dzieci z próchnicą w porównaniu do osób bez objawów choroby. Co więcej, zauważyć można występowanie próchnicogennych profili bakteryjnych w ślinie dzieci z ECC w porównaniu z osobami zdrowymi. Obserwowane zmiany wiążą się z rolą ochronną antyoksydantów. Gdy stężenie przeciwutleniaczy (antyoksydantów ślinowych) jest wysokie, poziom reaktywnych form tlenu (ROS) wytwarzanych przez neutrofile, fibroblasty i inne komórki jamy ustnej jest niewielki, co powoduje, że bakterie próchnicotwórcze zdecydowanie szybciej mnożą się i dzielą, co w

konsekwencji prowadzi do zniszczenia twardych tkanek zęba. System antyoksydantów ślinowych, reprezentowanych w tym wypadku przez wysokie poziomy glutationu zredukowanego (GSH), glutationu utlenionego (GSSG) i całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAC) dodatkowo uczestniczy w osłabianiu odporności gospodarza w odpowiedzi na bakterie kolonizujące jamę ustną (Tab. 8), zapewniając tym samym ich wzrost i przetrwanie w sprzyjających warunkach.

Tabela 8. Związek pomiędzy ślinowym poziomem glutationu zredukowanego (GSH), utlenionego (GSSG) i całkowitym potencjałem antyoksydacyjnym a ślinowym profilem bakteryjnym u dzieci z ECC. Wartość P otrzymana z modelu regresji liniowej zależna od wieku, płci, częstości spożywania słodkich pokarmów, częstotliwości spożywania napojów gazowanych, i wysokosłodzonych oraz rodzaju karmienia (sztuczne/naturalne/mieszane).

Zmienne zależne	Względna wartość badanych parametrów	SE	t	p
GSH				
<i>S. mutans</i>	poziom referencyjny			
<i>L. rhamnosus</i>	-6.602	3.744	-1.764	<i>p</i> =0.082
<i>S. sanguinis</i>	-17.905	4.705	-3.805	<i>p</i> <0.001
<i>S. mitis</i>	-32.746	5.098	-6.423	<i>p</i> <0.001
GSSG				
<i>S. mutans</i>	poziom referencyjny			
<i>L. rhamnosus</i>	-10.927	1.354	-8.071	<i>p</i> <0.001
<i>S. sanguinis</i>	-14.987	1.702	-8.807	<i>p</i> <0.001
<i>S. mitis</i>	-20.247	1.844	-10.981	<i>p</i> <0.001
TAC				
<i>S. mutans</i>	poziom referencyjny			
<i>L. rhamnosus</i>	-0.013	0.007	-1.81	<i>p</i> =0.074
<i>S. sanguinis</i>	-0.023	0.009	-2.519	<i>p</i> =0.014
<i>S. mitis</i>	-0.046	0.01	-4.569	<i>p</i> <0.001
GSH				
Control	poziom referencyjny			
Non-cavitated	60.462	3.554	17.014	<i>p</i> <0.001
Cavitated	74.884	3.447	21.724	<i>p</i> <0.001
GSSG				
Control	poziom referencyjny			
Non-cavitated	17.073	1.285	13.284	<i>p</i> <0.001
Cavitated	31.591	1.247	25.341	<i>p</i> <0.001
TAC				
Control	poziom referencyjny			
Non-cavitated	1.036	0.007	148.01	<i>p</i> <0.001
Cavitated	1.153	0.007	169.9	<i>p</i> <0.001

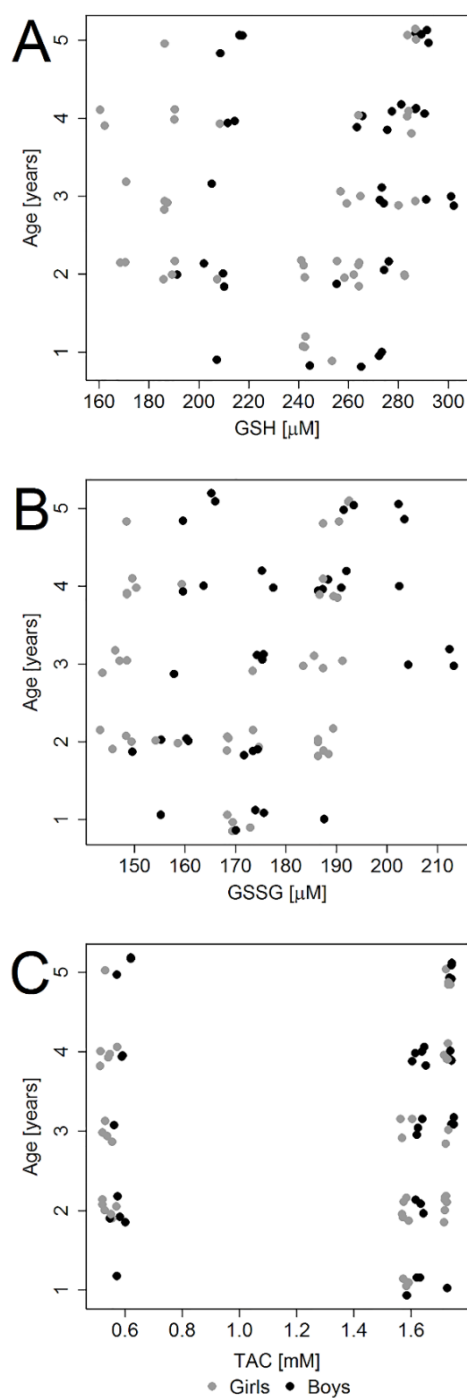
W wyniku prowadzonych badań potwierdzono hipotezę o związku między podwyższonym poziomem ślinowych antyoksydantów a stopniem zaawansowania choroby próchnicowej u dzieci, co zostało zilustrowane w tabelach 8, 9.

Tabela 9. Związek między zredukowanym i utlenionym glutationem, całkowitą zdolnością antyoksydacyjną oraz profilami bakteryjnymi i postępem ECC. Dane reprezentują medianę. Superskrypty a, b, c oznaczają grupy różniące się w teście Mann-Whitney z poprawką Bonferroni. Grupy oznaczone tą samą literą nie wykazały statystycznie istotnych różnic. GSH - glutation zredukowany; GSSG - glutation utleniony; TAC - całkowita zdolność antyoksydacyjna.

*** Wartość P uzyskana w teście Kruskala-Wallisa zależna od wieku, płci, częstości spożywania pokarmów, częstości spożywania napojów gazowanych, częstotliwości spożywania napojów słodzonych oraz częstości karmienia naturalnego / mieszanego/sztucznego.**

Variables		GSH (mmol /L)	<i>p</i> [*]	post- hoc **	GSSG (mmol /L)	<i>p</i> [*]	post- hoc **	GSH /GSSG	<i>p</i> [*]	post- hoc **	TAC (mmol /L)	<i>p</i> [*]	post- hoc **
Profil bakteryjny w ślinie	<i>S. mutans</i> (n=12)	0.289	<i>p</i> <0.001	a	0.197	<i>p</i> <0.001	a	1.43	<i>p</i> <0.001	ab	1.74	<i>p</i> <0.001	a
	<i>L. rhamnosus</i> (n=25)	0.276		a	0.186		b	1.5		a	1.65		ab
	<i>S. sanguinis</i> (n=23)	0.255		b	0.173		c	1.44		ab	1.58		b
	<i>S. mitis</i> (n=12)	0.241		bc	0.168		cd	1.41		bc	1.57		bc
	Others (n=8)	0.187		c	0.148		d	1.27		c	0.54		c
Chorzy vs. Zdrowi	Non- cavitated (n=26)	0.261	<i>p</i> <0.001	a	0.174	<i>p</i> <0.001	a	1.48	<i>p</i> <0.001	ab	1.60	<i>p</i> <0.001	a
	Cavitated (n=27)	0.287		b	0.191		b	1.49		a	1.73		b
	Control (n=27)	0.190		c	0.150		c	1.28		b	0.56		c

Jak widać, poziomy GSH/GSSG są ściśle związane z profilami bakteryjnymi i wykazują związek ze stadium rozwojowym ECC (Tabela 8-9). Podobnie, wartości TAC w ślinie są 2.86-krotnie wyższe u dzieci z postacią zaawansowaną próchnicy (cavitated) i 3.09 wyższe u dzieci z formą łagodną próchnicy (non-cavitated) w porównaniu z wartościami TAC u dzieci bez objawów choroby. Dodatkowo wartości TAC wykazują związek z wiekiem (Ryc. 5).



Rycina 5. Scatterplot obrazujący związek między poziomem (A) glutationu zredukowanego (GSH) a wiekiem, (B) glutationu utlenionego (GSSG) i wiekiem oraz (C) poziomem całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAC) i wiekiem w grupie dziewczynek i chłopców.

Wyniki te są zgodne z wynikami Uberos i wsp. (2008)⁸⁵, którzy wykazali, że ślinowy poziom TAC u pacjentów z próchnicą jest 2.89 razy wyższy niż w grupie kontrolnej. Przegląd literatury dotyczącej różnych metod oznaczania TAC w ślinie osób z próchnicą można znaleźć w pracy Kumar i wsp. (2011)⁸⁶. Przeprowadzone badanie jest pierwszym, które wykazało zależność wzrostu wartości TAC od postępu choroby i profilu kariogenego

szczepów bakterii próchnicotwórczych. Badanie to jest również pierwszą pracą wykazującą dodatnią korelację pomiędzy poziomem TAC a wiekiem dzieci ($r = 0.234$, $p = 0.36$) (Ryc. 5C).

Stosunek GSH/GSSG jest silnie związany ze stopniem zaawansowania próchnicy u dzieci. W porównaniu z grupą kontrolną, GSH/GSSG w grupie dzieci z łagodną formą próchnicy wczesnego dzieciństwa (non-cavitated) wzrasta średnio o 0.222 (95% przedział ufności wynosi 0.184-0.260), podczas gdy w grupie dzieci z postaci zaawansowaną ECC wzrost ten sięga 0.183 (95% przedział ufności wynosi 0.147-0.220).

Współczynnik korygujący korelacji R^2 dla tego modelu wynosi 77.56%, co oznacza, że 77.56% zmienności wyników GSH/GSSG jest związane z profilem bakteryjnym i stadium zaawansowania próchnicy. Pozostałe 20.45% zależy zarówno od zmiennych niewymienionych w modelu, jak i również od czynników losowych.

Planowane są dalsze badania wyjaśniające inne mechanizmy występujących zmian. Nasze badanie jest jednym z niewielu wyjaśniających istnienie związku między poziomem ślinowych wskaźników antyoksydacyjnych (GSH, GSSG, GSH/GSSG i TAC) oraz poziomem bakterii próchnicotwórczych w ślinie i stadium zaawansowania próchnicy u dzieci. Ponadto w prezentowanej pracy po raz pierwszy pokazano, że w ślinie dzieci z próchnicą istnieje zależność pomiędzy określonymi profilami bakterii uważanych za próchnicotwórcze a stopniem zaawansowania choroby próchnicowej u dzieci.

Bariera antyoksydacyjna śliny, prezentowana przez wybrane w niniejszej pracy wskaźniki takie jak: GSH, GSSG i TAC uczestniczy w promowaniu kolonizacji bakterii próchnicotwórczych w jamie ustnej poprzez ich bezpośredni wpływ na reaktywne formy tlenu (ROS) uwalniane przez komórki jamy ustnej (fibroblasty, makrofagi, neutrofile), które przy dużych poziomach ślinowych antyoksydantów nie mogą zneutralizować szkodliwych skutków działania bakterii.

Uzyskane przez nas wyniki znajdują potwierdzenie w uzyskanych przez Mahjoub i wsp. wynikach⁸⁷, w których zwrócono uwagę na zwiększoną wartość TAC u dzieci z próchnicą w porównaniu do dzieci bez objawów choroby. Podwyższone wartości TAC w ślinie występują w stadiach zaawansowanych próchnicy, na co zwróciliśmy uwagę także podczas prowadzonego badania, gdzie obserwowane zmiany są statystycznie istotne, nawet pomiędzy grupami, tj. non-cavitated i cavitated (Ryc. 5C).

Podsumowanie wyników badań stanowiących podstawę pracy habilitacyjnej

Publikacja P1.

Zestawiając frekwencję próchnicy dzieci z Krakowa i okolic z resztą Polski można zauważyć, że najgorzej wygląda sytuacja w najmłodszej grupie wiekowej 1-2-latków, wśród której Kraków zajmuje wiodącą rolę z najwyższą frekwencją próchnicy, sięgającą 58.89%. Wśród 6-latków Kraków osiągnął najniższą frekwencję próchnicy: 65.87%.

Publikacja P2.

Wpływ na wysoką frekwencję próchnicy i poziom próchnicy mają podstawowe nawyki higieniczno-żywniowe dzieci powiązane z edukacją rodziców. Edukacja w zakresie zdrowia jamy ustnej wydaje się konieczna i powinna obejmować edukację nie tylko personelu medycznego mającego styczność z dziećmi (pielęgniarki szkolne, pediatrzy, położne) ale przede wszystkim rodziców/przyszłych rodziców, którzy mają największy wpływ na wykształcenie się u dzieci prawidłowych nawyków dotyczących higieny jamy ustnej czy też odpowiedniej diety (np. ilość spożywanych produktów wysokosłodzonych (np. napojów gazowanych, karmienie nocne).

Publikacja P3.

Ilość specyficznych białek ślinowych gospodarza może wpływać na kolonizację poszczególnych gatunków bakterii, w tym uważanych za czynnik sprawczy próchnicy jak *S. mutans*. Ponadto dominacja szczepów uważanych za bardziej próchnicogenne wykazuje ścisłą zależność ze stopniem zaawansowania choroby, co znajduje odzwierciedlenie w zwiększonym poziomie wybranych białek ślinowych zarówno histatyny-5 jak i beta-defensyny-2.

Publikacja P4.

W wyniku prowadzonych badań potwierdzono hipotezę o związku między podwyższonym poziomem ślinowych antyoksydantów (reprezentowanych przez wybrane wskaźniki takie jak: glutation zredukowany (GSH), glutation utleniony (GSSG), całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAC) a stopniem zaawansowania choroby próchnicowej i profilem bakteryjnym. Ilość specyficznych białek ślinowych gospodarza może wpływać na kolonizację

poszczególnych gatunków bakterii. Ponadto dominacja szczepów uważanych za bardziej próchnicogenne wykazuje ścisłą zależność ze stopniem zaawansowania choroby, co znajduje odzwierciedlenie w zwiększonym poziomie wybranych białek ślinowych zarówno histatyny-5, jak i beta-defensyny-2.

Wnioski

Personel medyczny pracujący z dziećmi powinien znać przyczyny wysokich wskaźników próchnicy, żeby móc im przeciwdziałać przez edukację, eliminację złych nawyków żywieniowych i higienicznych, wyrobienie w rodzicach i dzieciach nawyku regularnych kontroli w gabinecie dentystycznym oraz szczotkowania zębów pastą z fluorem. Fundamentalne znaczenie ma edukacja rodziców/przyszłych rodziców. Nieleczona próchnica prowadzi nieuchronnie do utraty uzębienia mlecznego, a w konsekwencji do licznych wad w obrębie stawu skroniowo-żuchwowego, niedorozwoju szczęk, nieprawidłowego ząbkowania, wad wymowy, upośledzenia prawidłowego dojrzewania przewodu pokarmowego, zaburzeń odżywiania a co za tym idzie nie przybierania na wadze i spadku masy ciała (pokarm nie jest trawiony).

Próchnica jako choroba jamy ustnej (zarówno próchnica zębów jak i choroby dziąseł), jest spowodowana przez mikroorganizmy. Obecnie nie jest uważana za chorobę zakaźną w klasycznym rozumieniu, ponieważ jej etiologia jest wyraźnie wieloczynnikowa^{88 89}, a także z uwagi na fakt, że zaangażowane bakterie chorobotwórcze znajdują się również w mniejszych proporcjach u osób zdrowych⁹⁰. W obliczu powyższej definicji strategie przeciwdrobnoustrojowe walki z chorobą mogą okazać się nieskuteczne w przypadku chorób jamy ustnej, a podejście związane z profilaktyką tej choroby polegające wyłącznie na przywróceniu równowagi mikrobiologicznej w jamie ustnej⁹¹ nieefektywne i pozbawione efektów długofalowych. Konieczne jest zatem poszukiwanie alternatywnych rozwiązań wykorzystujących potencjał innych (poza mikrobiologicznymi) czynników zaangażowanych w rozwój choroby. Szersze spojrzenie na etiologię i patogenezę ECC w oparciu o dotychczasową i aktualną wiedzę może mieć bezpośrednie znaczenie dla opracowania nowych narzędzi poprawy oceny ryzyka ECC i długotrwałych działań profilaktycznych u dzieci. Prezentowane badania wskazują na możliwość zastosowania dodatkowego narzędzia ryzyka ECC i potencjalne wykorzystanie biomarkerów ślinowych takich jak: histatyna-5 w

połączeniu z β - defensyną-2, oraz glutationu zredukowanego, utlenionego i całkowitego potencjału antyoksydacyjnego w stomatologii. Jeśli wykorzystana się potencjał peptydów przeciwbakteryjnych oraz elementów obrony antyoksydacyjnej śliny jako potencjalnych biomarkerów różnych schorzeń, w tym rozwoju i progresji próchnicy zębów w połączeniu z dobrą higieną jamy ustnej, edukacją pacjentów i profesjonalnymi działaniami profilaktycznymi, stworzy się nowoczesne podejście, skierowane na pacjenta, będące ważnym elementem tzw. terapii spersonalizowanej, rozumianej jako szeroko pojęte działania profilaktyczne, od leczenia aż po zarządzanie i kontrolę choroby jaką jest próchnica.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Główne kierunki mojego przedhabilitacyjnego dorobku naukowego obejmują następującą problematykę:

1. Występowanie i czynniki etiologiczne próchnicy zębów u dzieci
2. Traumatologia narządu żucia
3. Wyrzynanie zębów u dzieci
4. Dopuszczalność materiałów stomatologicznych zawierających metale do badania MRI
5. Leczenie miazgi zębów
6. Choroby przyzębia i błony śluzowej
7. Leczenie stomatologiczne pacjentów z rzadkimi patologiami

Ad 1. Tematyka poświęcona próchnicy zębów u dzieci - publikacje wyszczególnione w spisie prac znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC) oraz w spisie pozostałych prac – pozycja 8, 13, 14, 39.

W ostatnich latach uczestniczyłam w badaniach epidemiologicznych dotyczących próchnicy zębów oraz badaniach roli naturalnych peptydów antybakteryjnych w hamowaniu wzrostu i zdolności biofilmotwórczych bakterii uczestniczących w rozwoju próchnicy u dzieci. Badania te są dla mnie szczególnie interesujące nie tylko ze względu na trwające obecnie poszukiwania nowych metod profilaktyki (oprócz fluorkowej) próchnicy u dzieci, ale także z uwagi na potencjalne przeciwpróchnicowe działanie tych związków. W przeprowadzonych eksperymentach wykazano zdolność histatyny-5 oraz lizozymu jako naturalnie występujących peptydów ślinowych (AMPs) do hamowania wzrostu i kolonizacji bakterii

próchnicotwórczych na przykładzie bakterii *S. mutans*, uważanych za główny czynnik etiologiczny próchnicy u dzieci.

Kontrola tworzenia i tempa wzrostu biofilmu jest bardzo ważna z punktu widzenia dbania o zdrowie jamy ustnej. Miałam możliwość uczestniczyć w pracach poświęconych badaniu zależności pomiędzy aktywnością kinazy pirogronianowej (PK) czy dehydrogenazy preferianowej, a kariogennością szczepów bakterii kariogennych. Wyniki badań mechanizmu i efektywności oddziaływania związków o aktywności przeciwpróchnicowej z białkami docelowymi w komórkach mikroorganizmów potencjalnie kariogennych oraz doświadczenie uzyskane w czasie realizacji ww. przedsięwzięć mogą zostać wykorzystane w trakcie realizacji kolejnych interdyscyplinarnych projektów, pozwalających na identyfikację związków o potencjalnych właściwościach przeciwpróchnicowych.

Ad 2. Traumatologii narządu żucia poświęcone są publikacje wyszczególnione w spisie pozostałych prac – pozycja 1, 2, 10, 12, 18, 26, 29, 30, 32, 36, 37, 38, 40.

Traumatologia zębowa zawsze stanowiła ważną dziedzinę moich zainteresowań, zwłaszcza tematyka dotycząca zwicnięć zębów u dzieci oraz powikłań pourazowych. W napisanych przeze mnie artykułach poglądowych oraz rozdziałach w podręcznikach na temat przyczyn, leczenia urazów i ich powikłań starałam się w sposób syntetyczny przedstawić niezbędną wiedzę, ponieważ w dalszym ciągu popełniane są liczne błędy w codziennej praktyce lekarskiej związane z nieuzasadnionym odraczaniem replantacji, sposobami szynowania i okresem utrzymywania unieruchomienia. Kilka prac poświęciłam tematowi progresywnych resorpcji zewnętrznych zarówno zapalnych, jak i zamiennych, które stanowią duży problem diagnostyczny, jak i terapeutyczny. Brałam również udział w pracach dotyczących zastosowania laserowego przepływomierza Dopplera do monitorowania stanu miazgi zębów stałych po urazach. Moje prace mogą okazać się użyteczne w kształceniu ustawicznym każdego lekarza dentysty.

Ad 3. Zagadnieniu wyrzynania zębów u dzieci poświęcone są publikacje znajdujące się na liście pozostałych prac – pozycja 6, 9, 16, 31.

W pracach dotyczących ząbkowania zajmowałam się zarówno badaniami epidemiologicznymi dotyczącymi terminów wyrzynania i ilości zębów w danych grupach wiekowych, jak i poszukiwaniem zależności pomiędzy terminami wyrzynania zębów a czynnikami socjoekonomicznymi. Zajmowałam się także objawami ogólnymi i miejscowymi

towarzyszącymi pierwszemu ząbkowaniu, a także czynnikami mogącymi mieć wpływ na zaburzenia wyrzynania zębów u dzieci, takimi jak np. ankyloza i PFE (pierwotne zaburzenie wyrzynania). Moje badania potwierdzały ogólnie obserwowaną akcelerację wyrzynania zębów i mogą stanowić przyczynek do ustalenia obowiązujących w Polsce tabel wyrzynania zębów.

Ad 4. Tematyka dopuszczalności do badania MRI materiałów stomatologicznych zawierających metale dotyczy publikacji znajdujących się na liście pozostałych prac – pozycja 28, 41, 47.

Pacjenci kierowani na badanie w rezonansie magnetycznym bardzo często dostają odmowę wykonania badania z powodu metalowych elementów znajdujących się w jamie ustnej, np. z powodu użytkowania stałych aparatów ortodontycznych lub metalowych szyn. W moich badaniach starałam się ustalić, jakie materiały stomatologiczne zawierające metale są dopuszczone do badania MR (praktycznie wszystkie metalowe uzupełnienia używane w naszym kraju) oraz które z nich dają najmniejsze artefakty przy badaniu głowy (są to stopy metali szlachetnych). Prace te mają duże znaczenie praktyczne zarówno dla radiologów, jak i dentystów.

Ad 5. Zagadnieniom związanym z leczeniem miazgi zębów poświęcone są artykuły znajdujące się na liście pozostałych prac – pozycja 19, 24, 25, 27, 34, 35, 39, 43, 46.

Leczenie miazgi zarówno zębów stałych, jak i mlecznych to ważny aspekt pracy każdego dentysty, który powinien znać zarówno konieczne do tych zabiegów instrumentarium, jak i metody oraz materiały używane w endodoncji. Tych zagadnień dotyczą moje prace, w których zajmowałam się również tematami związanymi z prawidłową odbudową po leczeniu endodontycznym zębów mlecznych koronami stalowymi, a także aspektem estetyki po leczeniu endodontycznym zębów stałych, związanym z wybielaniem tych zębów.

Ad 6. Chorób przyzębia i błony śluzowej oraz zagadnień związanych z higieną jamy ustnej dotyczą artykuły znajdujące się w spisie prac znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC) w poz. 8 oraz znajdujące się w spisie pozostałych prac – pozycja 7, 11, 21.

Tematem moich prac były zagadnienia dotyczące nawyków higienicznych u studentów krakowskich uniwersytetów, a także tematy związane z zapaleniem dziąseł w wieku

pokwitania oraz zmianami patologicznymi błony śluzowej jamy ustnej występujące w wybranych chorobach o podłożu genetycznym u pacjentów w wieku rozwojowym.

Ad 7. Zagadnieniom związanym z leczeniem pacjentów z rzadkimi patologiami oraz z czynnikami ryzyka występowania ubytków niepróchnicowego pochodzenia poświęcone są artykuły z listy pozostałych prac znajdujące się – pozycja 4, 5, 15, 17, 20, 22, 23, 33, 42, 44, 45.

Opisy przypadków takich patologii, jak zębiak szczęki, zęby wgłębione, amelogenesis imperfecta, hipodoncja, zęby Turnera, rodzinna hiperdoncja, zespół Aperta, dentinogenesis imperfecta hereditaria, glikogenoza typ Ib, ich symptomatologia w jamie ustnej, a zwłaszcza postępowanie terapeutyczne polegające na wielospecjalistycznym podejściu są ważne dla edukacji lekarzy zajmujących się stomatologią dziecięcą. Część z nich nie zetknęła się z takimi przypadkami i moje prace mogą pomóc w prawidłowej diagnostyce i ustaleniu dalszego planu leczenia w przypadku takich pacjentów. Badałam również czynniki ryzyka powodujące narażenie na występowanie ubytków niepróchnicowego pochodzenia krakowskich studentów Wydziału Lekarskiego CMUJ, związane ze stresem, tzw. zdrową dietą, alkoholem i napojami energetycznymi.

Byłam kierownikiem i wykonawcą następujących projektów badawczych realizowanych w ramach badań statutowych uczelni:

1. *Ocena wybranych parametrów ślinowych dzieci z próchnicą w połączeniu z oceną mikrobiologiczną jamy ustnej- **kierownik pracy***
2. *Terminy i kolejność wyrzynania zębów mlecznych i stałych u dzieci z Krakowa i okolic – uaktualnienie tabel wyrzynania, bilans uzębienia mlecznego i stałego- **kierownik pracy***
3. *Wpływ czynników pourazowych na wynik leczenia złamań korzeni zębów u dzieci- **kierownik pracy***
4. *Zastosowanie 15,5% siarczanu żelaza, aldehydu glutarowego i formokrezolu w leczeniu chorób miazgi zębów mlecznych metodą amputacji przyżyciowej – porównanie skuteczności- **kierownik pracy***
5. *Badanie dopuszczalności stopów metali stosowanych w stomatologii do badania w MRI- **kierownik pracy***
6. *Ocena zależności pomiędzy układem białkowym i aminokwasowym śliny a występowaniem próchnicy u dzieci- **współwykonawca pracy***
7. *Wpływ zapalenia przyzębia na ryzyko udaru niedokrwionego mózgu- **współwykonawca pracy***
8. *Proteomika układów dynamicznych: białko-bakteria jako przydatne narzędzie diagnostyki próchnicy- **współwykonawca pracy***

Realizowałam także Monitoring Zdrowia Jamy Ustnej - komisja bioetyczna KB 190/2016, program finansowany przez Ministerstwo Zdrowia Umowa nr 11/1/2016/1210/777 z dnia 26.08.2016

Współpraca naukowa

Zakład Diagnostyki Medycznej UJ CM

Zakład Stomatologii Dziecięcej WUM

Katedra Radiologii UJ CM

Zakład Chirurgii Stomatologicznej IS UJ CM

Katedra Periodontologii i Patologii Jamy Ustnej IS UJ CM

Zakład Protetyki IS UJ CM

Katedra Ortodoncji IS UJ CM

- ¹ World Health Organization Oral health surveys : basic methods. Geneva: World Health Organization 4th ed, 1997.
- ² World Health Organization Oral health surveys : basic methods. Geneva: World Health Organization 5th ed, 2013.
- ³ Proc P, Filipińska-Skąpska R, Wochna-Sobańska M. 2005 Próchnica uzębienia dzieci łódzkich do 5 lat. Frekwencja i intensywność występowania choroby. *Dent. Med. Probl* 42(2): 249–253.
- ⁴ Grzesiak I, Kaczmarek U. 2006 Rozmieszczenie próchnicy w zębach mlecznych u wrocławskich dzieci w wieku 18–36 miesięcy. *Dent. Med. Probl.* 43(2): 215–221.
- ⁵ Polewaczyk A, Plichta M, Modzelewska P, Matyjaszczyk M, Turska-Szybka A. 2011 Znaczenie sposobu odżywiania w zapobieganiu chorobie próchnicowej u dzieci poniżej 3. roku życia. *Nowa Stomatologia* 2: 56-61.
- ⁶ Szczepańska J, Lubowiedzka B, Szydłowska B, Pawłowska E. 2007 Wpływ zwyczajów żywieniowych na ryzyko występowania próchnicy wczesnego dzieciństwa. *Czas. Stomatol.* LX(4): 249-256.
- ⁷ Ilczuk D, Herba M, Filipowska-Grońska A, Weryńska-Kalmba M, Wiczkowski A. 2009 Próchnica zębów mlecznych u dzieci w wybranym przedszkolu w Sosnowcu. *Dent. Med. Probl* 46(4): 437–441.
- ⁸ Szafrńska B, Waszkiel D. 2008 Frekwencja i intensywność próchnicy u dzieci w wieku od 3 do 7 lat, mieszkających w Białymstoku. *Czas. Stomatol.* 61(7): 480-487.
- ⁹ Szmít M, Barczak K, Buczkowska- Radlińska J. 2011 Ocena stanu uzębienia i potrzeb zdrowotnych u dzieci trzyletnich zamieszkałych na terenie województwa zachodniopomorskiego. *Poradnik Stomatologiczny* XI(11): 498-502.
- ¹⁰ Bruzda-Zwiech A, Filipińska R, Szydłowska-Walendowska B, Lubowiedzka-Gontarek B, Żądzińska E, Borowska-Strugińska B, Wochna-Sobańska M. 2012 State of dentition and treatment needs assessment in 3-7 year-old children living in Lodz. *J Stoma.* 65(3): 384-394.
- ¹¹ Ministerstwo Zdrowia 2012 Wyniki badań epidemiologicznych prowadzonych w ramach programu „Monitoring Zdrowia Jamy Ustnej” w 2012 roku, MZ.
- ¹² Bagińska J, Rodakowska E, Wilczyńska-Borawska M, Jamiółkowski J. 2013 Index of clinical consequences of untreated dental caries (pufa) in primary dentition of children from north-east Poland. *Adv Med Sci.* 21: 1-6.
- ¹³ Rybarczyk-Townsend E, Hilt A, Lubowiedzka B, Wochna-Sobańska M. 2012 Stan uzębienia u dzieci 6-letnich w województwie łódzkim na podstawie badań z roku 2010. *J Stoma.* 65(6): 805-815.
- ¹⁴ Składnik-Jankowska J, Czajczyńska-Waszkiewicz A, Kaczmarek U. 2012 Prevalence of dental erosion in 15 year-old subjects from Lower Silesia province, *J Stoma;* 65(3): 359–369.
- ¹⁵ Zimna-Walendzik E, Kolmaga A, Łaszek M, Gawron-Skarbek A, Szatko F. 2012 Wpływ zachowań higieniczno-żywnościowych na występowanie próchnicy u 12-letnich dzieci łódzkich. *Probl Hig Epidemiol.* 93(4): 746-751.
- ¹⁶ Ministerstwo Zdrowia. 2011 Wyniki badań epidemiologicznych prowadzonych w ramach programu „Monitoring Zdrowia Jamy Ustnej” w 2011 roku, MZ.
- ¹⁷ Polewaczyk A, Plichta M, Modzelewska P, Matyjaszczyk M, Turska-Szybka A. 2011 Znaczenie sposobu odżywiania w zapobieganiu chorobie próchnicowej u dzieci poniżej 3. roku życia, *Nowa Stomatologia* 2: 56-61.
- ¹⁸ Hilt A, Daszkowska M, Wochna-Sobańska M. 2008 Spostrzeżenia dotyczące stanu i potrzeb leczniczych uzębienia dzieci przedszkolnych z Łodzi. *Nowa Stomatologia* 1: 3-6.
- ¹⁹ Fortuniak A, Szczepańska J, Szydłowska-Walendowska B. 2007 Wpływ szybkości wydzielania śliny spoczynkowej i stymulowanej na intensywność próchnicy u dzieci 6-letnich. *Nowa Stomatologia* 4: 125-129.
- ²⁰ Grymek-Marciniak A, Kaczmarek U, Fita K, Wilk-Sieczak B. 2007 Stan uzębienia i potrzeby lecznicze u dzieci 6–letnich z wybranych losowo przedszkoli we Wrocławiu. *Dent. Med. Probl* 44(4): 463–469.
- ²¹ Al-Jewair TS, Leake JL. 2010 The Prevalence and Risks of Early Childhood Caries (ECC) in Toronto, Canada. *The Journal of Contemporary Dental Practice.* 11(5): 1-8.
- ²² Lucas N, Neumann A, Kilpatrick N, Nicholson JM. 2011 State-level differences in the oral health of Australian preschool and early primary school-aged children. *Australian Dental Journal.* 56: 56–62.
- ²³ Adeniyi AA, Ogunbode OE, Jeboda OS, Folayan OM. 2009 Do maternal factors influence the dental health status of Nigerian pre-school children? *International Journal of Paediatric Dentistry* 19: 448-454.
- ²⁴ Doğan D, Dülgergil ÇT, Mutluay AT, Yıldırım I, Hamidi MM, and Çolak H. 2013 Prevalence of caries among preschool-aged children in a central Anatolian population. *Journal of Natural Science. Biology and Medicine.* 4(2): 325-329.
- ²⁵ Nobile CG, Fortunato L, Bianco A, Pileggi C, Pavia M. 2014 Pattern and severity of early childhood caries in Southern Italy: a preschool-based cross-sectional study. *BMC Public Health.* 14: 206.
- ²⁶ Skrivele S, Care R, Berzina S, Kneist S, de Moura-Sieber V, de Moura R, Borutta A, Maslak E, Tserekhava T, Shakovets N, Wagner M. 2013 Caries and its risk factors in young children in five different countries. *Stomatologija* 15: 39-46.
- ²⁷ Prakash P, Subramaniam P, Durgesh BH, Konde S. 2012 Prevalence of early childhood caries and associated risk factors in preschool children of urban Bangalore, India: A cross-sectional study. *European Journal of Dentistry* 6: 141-152.
- ²⁸ Kumarihamy S, Subasinghe LD, Jayasekara P, Kularatna SM, Palipana PD. 2011 The prevalence of Early Childhood Caries in 1-2 yrs olds in a semi-urban area of Sri Lanka. *BMC Research Notes* 4: 336.
- ²⁹ Tsai AI, Chen C-Y, Li L-A, Hsiang C-L, Hsu K-H. 2006 Risk indicators for early childhood caries in Taiwan. *Community Dent Oral Epidemiol* 34: 437-445.
- ³⁰ Gao X, Di Wu I, Lo EC, CHu CH, Hsu CY, Wong MC. 2013 Validity of caries risk assessment programmes in preschool children. *Journal of Dentistry* 41(9): 785-795.
- ³¹ Hanioka T, Nakamura E, Ojima M, Tanaka K, Aoyama H. 2008 Dental caries in 3-year-old children and smoking status of parents. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 22: 546-550.

- ³² Kiwanuka SN, Åstrom AN, Trovik TA. 2004 Dental caries experience and its relationship to social and behavioural factors among 3–5-year-old children in Uganda. *International Journal of Paediatric Dentistry* 14: 336-346.
- ³³ Bayat-Movahed S, Samadzadeh H, Ziyarati L, Memary N, Khosravi R, Sadr-Eshkevari PS. 2011 Oral health of Iranian children in 2004: a national pathfinder survey of dental caries and treatment needs. *Eastern Mediterranean Health Journal* 17(3): 249-249.
- ³⁴ Senesombath S, Nakornchai S, Banditsing P, Lexomboon D. 2010 Early childhood caries and related factors in Vientiane, Lao PDR. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 41(3): 717-725.
- ³⁵ Corrêa-Faria P, Paixão-Gonçalves S, Paiva SM, Pordeus IA, Marques LS, Ramos-Jorge ML. 2015 Association between developmental defects of enamel and early childhood caries: a cross-sectional study. *Int J Paediatr Dent*. Mar 25(2): 103-9.
- ³⁶ Meyer F, Karch A, Schlinkmann KM, Dreesman J, Horn J, RübSamen N, Sudradjat H, Schubert R, Mikolajczyk R. 2017 Sociodemographic determinants of spatial disparities in early childhood caries: An ecological analysis in Braunschweig, Germany. *Community Dent Oral Epidemiol*. May 26. doi: 10.1111/cdoe.12308. [Epub ahead of print]
- ³⁷ Kilpatrick NM, Neumann A, Lucas N, et al. 2012 Oral health inequalities in a national sample of Australian children aged 2-3 and 6-7 years. *Aust Dent J*. 57(1): 38-44.
- ³⁸ Congiu G, Campus G, Sale S, et al. 2014 Early childhood caries and associated determinants: a cross-sectional study on Italian preschool children. *J Public Health Dent*. 74(2): 147-152.
- ³⁹ Zhou Y, Yang JY, Lo EC, et al. 2012 The contribution of life course determinants to early childhood caries: a 2-year cohort study. *Caries Res*. 46(2): 87-94.
- ⁴⁰ Prakash P, Subramaniam P, Durgesh B.H. et al. 2012 Prevalence of early childhood caries and associated risk factors in preschool children of urban Bangalore, India: A cross-sectional study. *Eur J Dent*. 6(2): 141-152.
- ⁴¹ Retnakumari N, Cyriac G. 2012 Childhood caries as influenced by maternal and child characteristics in pre-school children of Kerala-an epidemiological study. *Contemp Clin Dent*. 3(1): 2-8.
- ⁴² Masumo R, Bardsen A, Mashoto K, et al. 2012 Prevalence and socio-behavioral influence of early childhood caries, ECC, and feeding habits among 6 – 36 months old children in Uganda and Tanzania. *BMC Public Health* 12: 24.
- ⁴³ Kumarihamy SL, Subasinghe LD, Jayasekara P, et al. 2011 The prevalence of Early Childhood Caries in 1-2 yrs olds in a semi-urban area of Sri Lanka. *BMC Res Notes* 4: 336.
- ⁴⁴ Li Y, Zhang Y, Yang R, et al. 2011 Associations of social and behavioural factors with early childhood caries in Xiamen city in China. *Int J Paediatr Dent*. 21(2): 103-11.
- ⁴⁵ Chu CH, Ho PL, Lo ECM. 2012 Oral health status and behaviours of preschool children in Hong Kong. *BMC Public Health* 12: 1-8.
- ⁴⁶ Narang R, Sabyasachi S, Jagannath GV, et al. 2013 The Maternal Socioeconomic Status and the Caries Experience Among 2-6 Years Old Preschool Children of Lucknow City, India. *J Clin Diagn Res*. 7(7): 1511-1513.
- ⁴⁷ Postma TC, Ayo-Yusuf OA, van Wyk PJ. 2008 Socio-demographic correlates of early childhood caries prevalence and severity in a developing country - South Africa. *Int Dent J*. 58(2): 91-97.
- ⁴⁸ Ismail AI, Sohn W, Lim S, et al. 2009 Predictors of dental caries progression in primary teeth. *J Dent Res*. 88(3): 270-275.
- ⁴⁹ Baggio S, Abarca M, Bodenmann P, Gehri M, Madrid C. 2015 Early childhood caries in Switzerland: a marker of social inequalities. *BMC Oral Health*. 15: 82. doi: 10.1186/s12903-015-0066-y.
- ⁵⁰ Chankanka O, Levy SM, Marshall TA, et al. 2012 The associations between dietary intakes from 36 to 60 months of age and primary dentition non-cavitated caries and cavitated caries. *J Public Health Dent* Doi: 10.1111/j.1752-7325.2012.00376.x [Epub ahead of print]
- ⁵¹ Naidu R, Nunn J, Kelly A. 2013 Socio-behavioural factors and early childhood caries: a cross-sectional study of preschool children in central Trinidad. *BMC Oral Health* 13: 30
- ⁵² Peres MA, de Oliveira Latorre Mdo R, Sheiham A, et al. 2005 Social and biological early life influences on severity of dental caries in children aged 6 years. *Community Dent Oral Epidemiol*. 33(1): 53-63.
- ⁵³ Kumarihamy SL, Subasinghe LD, Jayasekara P, et al. 2011 The prevalence of Early Childhood Caries in 1-2 yrs olds in a semi-urban area of Sri Lanka. *BMC Res Notes*. 4: 336
- ⁵⁴ Retnakumari N, Cyriac G. 2012 Childhood caries as influenced by maternal and child characteristics in pre-school children of Kerala-an epidemiological study. *Contemp Clin Dent*. 3(1): 2-8.
- ⁵⁵ Chankanka O, Levy SM, Marshall TA, et al. 2012 The associations between dietary intakes from 36 to 60 months of age and primary dentition non-cavitated caries and cavitated caries. *J Public Health Dent*. 75(4): 265-73.
- ⁵⁶ Saalfield S, Jackson-Allen P. 2006 Biopsychosocial consequences of sweetened drink consumption in children 0-6 years of age. *Pediatr Nurs*. 32(5): 460-462, 467-471.
- ⁵⁷ Ismail AI, Sohn W, Lim S, et al. 2009 Predictors of dental caries progression in primary teeth. *J Dent Res*. 88(3): 270-275.
- ⁵⁸ Marshall TA, Broffitt B, Eichenberger-Gilmore J, et al. 2005 The roles of meal, snack, and daily total food and beverage exposures on caries experience in young children. *J Public Health Dent*. 65(3): 166-173.
- ⁵⁹ Thitasomakul S, Piwat S, Thearmentree A, et al. 2009 Risks for early childhood caries analyzed by negative binomial models. *J Dent Res*. 88(2): 137-141.
- ⁶⁰ Majorana A, Cagetti MG, Bardellini E, et al. 2014 Feeding and smoking habits as cumulative risk factors for early childhood caries in toddlers, after adjustment for several behavioral determinants: a retrospective study. *BMC Pediatr*. 14: 45.
- ⁶¹ Sun HB, Zhang W, Zhou XB. 2017 Risk Factors associated with Early Childhood Caries. *Chin J Dent Res*. 20(2):97-104. doi: 10.3290/j.cjdr.a38274.
- ⁶² Eckersley AJ, Blinkhorn FA. 2001 Dental attendance and dental health behaviour in children from deprived and non-deprived areas of Salford, North-West England. *Int J Paediatric Dent*. 2: 103-109.
- ⁶³ Majorana A, Cagetti MG, Bardellini E, et al. 2014 Feeding and smoking habits as cumulative risk factors for early childhood caries in toddlers, after adjustment for several behavioral determinants: a retrospective study. *BMC Pediatr*. 14: 45.

- ⁶⁴ Dabawala S, Suprabha BS, Shenoy R, Rao A, Shah N. 2017 Parenting style and oral health practices in early childhood caries: a case-control study. *Int J Paediatr Dent.* 27(2):135-144. doi: 10.1111/ipd.12235. Epub 2016 May 2.
- ⁶⁵ Majorana A, Cagetti MG, Bardellini E, Amadori F, Conti G, Strohmenger L, Campus G. 2014 Feeding and smoking habits as cumulative risk factors for early childhood caries in toddlers, after adjustment for several behavioral determinants: a retrospective study. *BMC Pediatr.* 14: 45. doi: 10.1186/1471-2431-14-45.
- ⁶⁶ Prakash P, Subramaniam P, Durgesh B.H. et al. 2012 Prevalence of early childhood caries and associated risk factors in preschool children of urban Bangalore, India: A cross-sectional study. *Eur J Dent.* 6(2): 141-152
- ⁶⁷ Gornowicz A, Tokajuk G, Bielawska A, Maciorkowska E, Jabłoński R, Wójcicka A, Bielawski K. 2014 The assessment of sIgA, histatin-5, and lactoperoxidase levels in saliva of adolescents with dental caries. *Med Sci Monit.* 29(20): 1095–100
- ⁶⁸ Ribeiro TR, Dria KJ, de Carvalho CB, Monteiro AJ, Fonteles MC, de Moraes Carvalho K, Fonteles CS. 2013 Salivary peptide profile and its association with early childhood caries. *Int J Paediatr Dent.* 23(3): 225–34
- ⁶⁹ Tao R, Jurevic RJ, Coulton KK, Tsutsui MT, Roberts MC, Kimball JR, Wells N, Berndt J, Dale BA. 2005 Salivary antimicrobial peptide expression and dental caries experience in children. *Antimicrob Agents Chemother.* 49(9): 3883–8.
- ⁷⁰ Phattarataratip E, Olson B, Broffitt B, Qian F, Brogden KA, Drake DR, Levy SM, Banas JA. 2011 *Streptococcus mutans* strains recovered from caries-active or caries-free individuals differ in sensitivity to host antimicrobial peptides. *Mol Oral Microbiol.* 26(3): 187–99.
- ⁷¹ Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, Leys EJ, Paster BJ. 2008 Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol.* 46(4):1407–17.
- ⁷² Van Houte J, Sansone C, Joshipura K, Kent R. 1991 Mutans streptococci and non-mutans streptococci acidogenic at low pH, and in vitro acidogenic potential of dental plaque in two different areas of the human dentition. *J Dent Res.* 70: 1503–7.
- ⁷³ Van Houte J, Lopman J, Kent R. 1994 The predominant cultivable flora of sound and carious human root surfaces. *J Dent Res.* 73(11): 1727–34.
- ⁷⁴ Krzyściak W, Jurczak A, Piątkowski J. 2016 The Role of Human Oral Microbiome in Dental Biofilm Formation. *Microbial Biofilms - Importance and Applications.* Rijeka : InTech, 2016. Chapter 16. s. 329-382
- ⁷⁵ Gross EL, Beall CJ, Kutsch SR, Firestone ND, Leys EJ, Griffen AL. 2012 Beyond *Streptococcus mutans*: dental caries onset linked to multiple species by 16S rRNA community analysis. *PLoS One.* 7(10):e47722.
- ⁷⁶ Sampaio-Maia B, Monteiro-Silva F. 2014 Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood: an update. *Dent Res J (Isfahan).* 11(3): 291–301.
- ⁷⁷ Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. 2014 The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 33(4): 499-515.
- ⁷⁸ Tanner AC, Mathney JM, Kent RL, Chalmers NI, Hughes CV, Loo CY, Pradhan N, Kanasi E, Hwang J, Dahlan MA, Papadopolou E, Dewhirst FE. 2011 Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries. *J Clin Microbiol.* 49(4): 1464–74.
- ⁷⁹ Silva PV, Troiano JA, Nakamune AC, et al. 2016 Increased activity of the antioxidants systems modulate the oxidative stress in saliva of toddlers with early childhood caries. *Arch Oral Biol.* 70: 62-66.
- ⁸⁰ Benzie IF, Strain JJ. 1996 The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem.* 239: 70–76.
- ⁸¹ Griffith OW. 1980 Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem.* 106: 207–212.
- ⁸² Tietze F. 1969 Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem.* 27: 502– 522.
- ⁸³ Mustacich D. 2005 Measurement of glutathione and glutathione disulfide. *Curr Protoc Toxicol.* 6:1027–1029.
- ⁸⁴ Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Sözgen K, Cekic SD, Tütem E, Apak R. 2006 Spectrophotometric total protein assay with copper(II)–neocuproine reagent in alkaline medium. *Talanta* 68: 1601-9.
- ⁸⁵ Uberos J, Alarcón JA, Peñalver MA, et al. 2008 Influence of the antioxidant content of saliva on dental caries in an at-risk community. *Br Dent J.* 205(2): E5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18545268>
- ⁸⁶ Kumar D, Pandey RK, Agrawal D. 2011 An estimation and evaluation of total antioxidant capacity of saliva in children with severe early childhood caries. *Int J Paediatr Dent.* 21: 459–464.
- ⁸⁷ Han DH, Kim MJ, Jun EJ, et al. 2013 The role of glutathione metabolism in cariogenic bacterial growth and caries in Korean children. *Arch Oral Biol.* 58: 493–499.