

UNIWERSYTET MEDYCZNY
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

MAGDALENA WILCZAK

OCENA ZAWARTOŚCI WYBRANYCH METALI I STOPIEŃ PEROKSYDACJI
LIPIDÓW W ŚLINIE U KOBIET CIĘŻARNYCH

Promotor: prof. dr hab. Anna Surdacka

Klinika Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji

Poznań 2019

W ramach przygotowań do badań na potrzeby niniejszej pracy zebrano dotychczasowe piśmiennictwo i przygotowano pracę przeglądową, którą opublikowano w październiku 2018 roku w polskim czasopiśmie Medical Tribune Stomatologia, MNiSW=2

Hajdo A., Wilczak M., Gniazdowski K., Mielczarek A.; Ślina - zwierciadło zdrowia jamy ustnej. Med Trib Stomatol. 2018;10:35-37

Moim Rodzicom oraz Bibusiowi,
za bezgraniczną wiarę w moje możliwości,
za podnoszenie mnie za każdym razem, kiedy
moje skrzydła zapominały jak latać, oraz za wsparcie.
Dziękuję.

„It always seems impossible until it's done” Nelson Mandela

SPIS TREŚCI

	Strona
Spis treści.....	4
Wykaz skrótów zastosowanych w tekście.....	7
I. Wstęp.....	9
I.1. Wybrane metale i ich wpływ na stan zdrowia oraz skutki zdrowotne ekspozycji na metale	9
I.2. Wykorzystanie śliny w diagnostyce.....	17
I.3. Choroby przyzębia.....	24
I.4. Ciąża a zmiany na błonie śluzowej jamy ustnej oraz ich korelacja z poziomami hormonów płciowych.....	26
I.5. Ciąża a metale	30
I.6. Peroksydacja lipidów i stres oksydacyjny oraz wpływ jego produktu (malondialdehyd -MDA) w relacji do zapalenia przyzębia.....	35
II. Cel pracy.....	38
III. Materiał i metody.....	39
IV. Wyniki.....	47
V. Dyskusja.....	70
VI. Wnioski.....	90
VII. Streszczenie.....	91
VIII. Abstract.....	93
IX. Piśmiennictwo.....	95
X. Spis rycin i tabeli.....	111
XI. Załączniki.....	114

Słowa kluczowe: ślina
ciąża
metale
peroksydacja lipidów
wskaźniki higieny jamy ustnej
wskaźniki stanu dziąseł

Key words: saliva
pregnancy
metals
lipids peroxidation
gingival inflammation indicators
oral hygiene indicators

Wykaz skrótów zastosowanych w tekście

Anty-p53	- przeciwciała białka p53
ATSDR	-Agency for Toxic Substances and Disease Registry - Amerykańska Agencja ds. Substancji Toksycznych i Rejestru Chorób
BOP	- Bleeding on Probing - wskaźnik krwawienia brodawek dziąsłowych
CA-125	- glikoproteina antygenowa będąca markerem nowotworowym, wykorzystywanym w diagnostyce raka jajnika
CA 15-3	- antygen będący markerem nowotworowym znajdujący zastosowanie w monitorowaniu leczenia raka piersi
CDC	- Centers for Disease Control and Prevention - Centrum Kontroli i Prewencji Chorób
Cd	- kadm
c-erbB-2	- komórki nowotworowe zawierające duże ilości białka HER2, występują najczęściej w nowotworach piersi, jajnika oraz żołądka
Cr	- chrom
DNA	- kwas dezoksyrybonukleinowy
EFSA	- European Food Safety Authority - Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności
EGFR	- Epidermal growth factor receptor - receptor nabłonkowego czynnika wzrostu
EPA	-U.S. Environmental Protection Agency - Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska
GC-MS	- chromatografia gazowa ze spektrometrią mas
GI	- Gingival Index - wskaźnik stanu dziąseł
Hg	- rtęć
HNP1-3	- ludzkie białko neutrofilowe
IARC	- International Agency for Research on Cancer - Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem

IUGR	- zespół zaburzeń wzrastania płodu
LC-MS	- chromatografia cieczowa ze spektrometrią mas
MAX	- maximum
ME	- mediana
MDA	- malondialdehyd/aldehyd malonowy
MIN	- minimum
MUC7	- mucyna ludzka
NIDCR	- National Institute of Dental and Craniofacial Research - Narodowy Instytut Badań Stomatologicznych i Czaszkowo-Twarzowych
Ni	- nikiel
OHI - S	- Simplified Oral Hygiene Index - uproszczony wskaźnik higieny jamy ustnej
OSCC	- oral squamous cell carcinoma - rak płaskonabłonkowy
Pb	- ołów
PI	- Plaque Index - wskaźnik płytki nazębnej
PUWZ	- liczba określająca intensywność próchnicy
ROS	- reaktywne formy tlenu
SD	- odchylenie standardowe
TBA	- kwas tiobarbiturowy
TBARS	-substancje reaktywne kwasu tiobarbiturowego
TEL	- tetraetylołów
WHO	- World Health Organization - Światowa Organizacja Zdrowia
Q1	- dolny kwartył
Q2	- górny kwartył
μM	-mikro Mol
Zn	- cynk

I. Wstęp

I.1. Wybrane metale i ich wpływ na stan zdrowia oraz skutki zdrowotne ekspozycji na metale

Industrializacja środowiska przez lata doprowadziła do zwiększonej ekspozycji organizmu ludzkiego na metale toksyczne. Wyróżnia się cztery główne drogi ekspozycji: inhalacja zanieczyszczonym powietrzem, spożycie zanieczyszczonej wody, ekspozycja na zanieczyszczoną glebę i odpady przemysłowe oraz spożycie zanieczyszczonej żywności[18].

Metale toksyczne wykorzystywane były przez człowieka od tysiącleci. Od ponad 5000 lat ludzie stosowali ołów w pigmentach do glazurowania porcelany, rurach do transportu wody oraz w materiałach budowlanych. Starożytni Rzymianie stosowali octan ołowiu do doprawienia wina, by stało się słodsze. Zakłada się, że niektórzy Rzymianie spożywali nawet do grama ołowiu dziennie. Ponadto mieszkańcy starożytnego Rzymu używali rtęci jako maści łagodzącej ból przy wyrzynaniu się zębów u dzieci. W okresie od XIV do XIX wieku rtęć stosowano jako lek na syfilis. Jeden z najbardziej znanych impresjonistów - Claude Monet w połowie XIX wieku wykorzystywał pigmenty z kadmem, jednakże ze względu na ograniczoną ilość tego metalu, już na początku XX wieku malarze zaprzestali jego stosowania. Od lat wiadomym jest, że metale toksyczne mają negatywny wpływ na zdrowie człowieka, co nie zmienia faktu, że ekspozycja na metale toksyczne w niektórych miejscach na świecie zwiększa się. Na przykład w Ameryce Południowej w kopalniach złota do jego pozyskiwania nadal stosuje się rtęć. Produkcja metali toksycznych, począwszy od połowy XIX wieku ciągle zwiększała się, co doprowadziło do ich zwiększonej emisji do środowiska [54].

W środowisku naturalnym **chrom** pierwotnie występuje w dwóch formach, trójwartościowej Cr³⁺, która jest biodostępna oraz sześciowartościowej - Cr(VI), która jest formą toksyczną pochodzenia przemysłowego. Sama ekspozycja na chrom w formie sześciowartościowej może odbywać się poprzez kontakt ze stopami metali takimi jak stal nierdzewna. Według doniesień Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (EPA - U.S. Environmental Protection Agency) z 1998 roku oraz Amerykańskiej Agencji ds. Substancji Toksycznych i Rejestru Chorób (ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry) z 2012 roku na terenach przemysłowych ciągle dochodzi do szkodliwej ekspozycji na Cr(VI). Ekspozycja ta najczęściej odbywa się drogą inhalacji. Chrom może powodować uszkodzenia układu oddechowego jednocześnie będąc sklasyfikowanym przez US EPA jako czynnik rakotwórczy. Z drugiej strony chrom w formie trójwartościowej w niskich dawkach jest niezbędny do utrzymania stanu zdrowia człowieka, oraz jest składnikiem wielu pokarmów. Jednakże według doniesień Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) z 2014 roku nie można określić dokładnej dawki referencyjnej zapotrzebowania na chrom z dokładnym określeniem jego maksymalnej bezpiecznej dawki [72].

Kadm jest powszechnie występującym metalem toksycznym, który znalazł się na 7 miejscu listy Niebezpiecznych Substancji wydanej przez ATSDR. Lista ta zaktualizowana została w 2017 roku. Kadm może zanieczyszczać wodę i żywność poprzez wywóz oraz składowanie na odpady takich produktów jak baterie, opakowania plastikowe, czy pigmenty [62,127].

Wspominając o kadmie nie można zapomnieć o kolejnym źródle ekspozycji jakim jest palenie tytoniu. Okres jego półtrwania we krwi palaczy to 3 do 4 miesięcy. Śladowe ilości kadmu mogą utrzymywać się w organizmie człowieka przez około dekadę. U palaczy najczęściej „świeża ekspozycja” jest badana przy wykorzystaniu kotyniny, która jest pierwotnym metabolitem oraz biomarkerem ekspozycji na dym pochodzący z papierosów. Połowiczny okres rozpadu kotyniny wynosi około jedną dobę, co pozwala zbadać tylko „świeżą ekspozycję” na kadm. Natomiast wcześniejszą ekspozycję można zbadać wykorzystując zawartość kadmu we krwi. Oceniając jego za-

wartości w płynach ustrojowych nie tylko można sprawdzić ekspozycje na dym pochodzący z papierosów, ale również ogólną ekspozycję na ten metal [29].

W celach diagnostycznych w medycynie kadm jest najczęściej oznaczany w moczu oraz krwi. Wiele badań wskazuje na kancerogenność kadmu, a wśród nowotworów, w których powstaniu bierze udział najczęściej wymieniane są nowotwory płuc, nerek oraz prostaty [115].

W 1993 roku ze względu na liczne dowody naukowe kadm został sklasyfikowany przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC) jako kancerogen pierwszej kategorii. Jednakże opierając się na najnowszych wynikach badań przeprowadzonych w Szwecji uznaje się kadm za ludzki kancerogen z grupy 2A (substancji prawdopodobnie rakotwórczych dla człowieka), co wydaje się zdecydowanie bardziej trafnym [55].

Według danych IARC z 2017 roku kadm znajduje się już na liście kancerogenów grupy 1. Obecną klasyfikację (kancerogen kategorii 2; aneks 1 do dyrektywy 67/548/EEC), uważa się za obowiązującą w Krajach Unii Europejskiej [24].

Stężenie kadmu we krwi palaczy jest 4 do 5 razy większe niż u osób niepalących. Wchłanianie tego pierwiastka przez przewód pokarmowy wynosi około kilku procent, natomiast w płucach stanowi od 10 do 50%. Zauważono, że podwyższona ilość kadmu we krwi występuje u osób o niskiej zawartości żelaza w organizmie. Poza paleniem tytoniu kadm jest najczęściej dostarczany do organizmu wraz z jedzeniem, a jego poziom waha się według danych WHO od 10 do 40µg w środowisku niezanieczyszczonym do kilkuset mikrogramów w środowisku zanieczyszczonym [55].

Obecność kadmu we krwi wskazuje niedawną ekspozycję, natomiast w moczu na dłuższe obciążenie organizmu, tym samym może pełnić rolę trwałego biomarkera stosowanego do oceny długoczasowego obciążenia organizmu [124].

Kolejnym pierwiastkiem toksycznym jest **ołów**. Mówiąc o toksyczności ołowiu warto wspomnieć o tym, że już w 370 r.p.n.e. Hipokrates użył żargonowego terminu - „kolka ołowiana”, do opisanie kolki, która występowała u mężczyzn pracujących w kopalniach metali. Zarówno Hipokrates jak i Nikander zauważyli charakterystyczne

objawy związane z toksycznymi właściwościami ołowiu takie jak: anemia, neuropatia, bezpłodność, kolki brzuszne, śpiączka, oraz nefropatia [85].

Jako naturalny kruszec, ołów występuje często. Ze względu na kowalność oraz niską temperaturę topnienia był używany od zamierzchłych czasów do produkcji narzędzi. Ze względu na rzekomy korzystny wpływ na zdrowie używany był również jako dodatek do produktów leczniczych. Nieorganiczne złoże ołowiu charakteryzuje się jasnym kolorem, i dlatego używano go jako barwnika. Ołów jest ponadto najczęściej stosowanym metalem nieżelaznym w dzisiejszych czasach. Jako metal nie ulega rozproszeniu, ani nie jest biodegradowalny. Zwiększona emisja ołowiu rozpoczęła się w 1923 roku, kiedy został odkryty tetraetylołów (TEL) i dodawany jako dodatek przeciwstukowy do benzyny, który również wzmacniał siłę silnika. Odkrycia tego dokonał chemik pracujący w firmie General Motors Thomas Miggely [37,85].

Pomimo wielu doniesień naukowych na temat zagrożeń zdrowotnych dla pracowników rafinerii oraz całej populacji wynikających z użycia TEL dopiero w 1975 roku w Stanach Zjednoczonych została zmniejszona jego zawartość w paliwie do 1,7 grama na galon (3,79 l.). Okazuje się, że u pracowników rafinerii pojawiały się objawy psychozy oraz udokumentowano kilka przypadków śmiertelnych wśród pracowników, którzy mieli kontakt z TEL. Jednakże dopiero trzy lata później zawartość TEL w paliwie została obniżona do 0,6 grama na galon, co było jednym z większych osiągnięć pro-zdrowotnych. Przesiewowe badanie populacji na terenie Stanów Zjednoczonych wykazało znaczne obniżenie poziomu ołowiu we krwi począwszy od lat 70-tych XX wieku [37].

Jednakże decyzję o całkowitym usunięciu ołowiu z paliw podjęto dopiero w 1990 roku i określa się ją jako największy triumf zdrowia publicznego XX wieku. Było to wielkie zwycięstwo powiązane z natychmiastową poprawą stanu środowiska naturalnego [85].

W 1997 roku Centrum Kontroli i Prewencji Chorób (CDC) określiło poziom ołowiu w krwi wynoszący 10 µg/dL jako toksyczny [37].

Z kolei w raporcie CDC z 2003 roku podano, że zaobserwowano związek obniżenia poziomu inteligencji dzieci, u których stężenie ołowiu we krwi wynosiło $< 5\mu\text{g} /\text{dL}$, jednakże nie określono dokładnie, jakie stężenie tego pierwiastka jest odpowiedzialne za obniżenie poziomu inteligencji [17].

W całej populacji ludzkiej najbardziej wrażliwe i narażone na ekspozycję na ołów są dzieci oraz kobiety ciężarne [85].

Ból głowy, rozdrażnienie, ból brzucha oraz różne symptomy związane z układem nerwowym są objawami ostrego zatrucia ołowiem. Pacjenci dotknięci encefalopatią spowodowaną zatruciem ołowiem cierpią na bezsenność oraz niepokój. Wśród dzieci zaobserwowano problemy z nauką, koncentracją oraz zachowaniem. W ciężkich przypadkach encefalopatii pacjenci manifestują objawy splątania, zaburzeń świadomości oraz psychozy [54].

Ołów jest kumulującą się substancją toksyczną i ma negatywny wpływ na układ szkieletowy, hematologiczny, odpornościowy, oddechowy, reprodukcyjny, hormonalny, sercowo-naczyniowy, pokarmowy, moczowy oraz nerwowy. Ponadto podatność na toksyczność ołowiu wiąże się z genetycznymi uwarunkowaniami danego organizmu [76].

Endogennym źródłem ołowiu w naszym organizmie jest szkielet, który kumuluje ołów przez całe życie. Około 95% ołowiu, wchodzącego w skład ludzkiego organizmu znajduje się w dorosłym szkielecie. Pierwiastek ten może być magazynowany w kościach przez dekady po bezpośredniej ekspozycji. Ważnym i niezależnym wskaźnikiem negatywnego wpływu ołowiu na zdrowie człowieka jest endogenna ekspozycja na ołów [65].

Nikiel jest naturalnie występującym pierwiastkiem, który występuje w pięciu różnych formach: od najbardziej obojętnej (należy nikiel jako pierwiastek oraz jego stopy) do formy najbardziej toksycznej, którą stanowi tetrakarbonyl niklu - $\text{Ni}(\text{CO})_4$ [107].

Niklu używa się do produkcji różnych stopów metali, w tym stali nierdzewnej. EPA zakwalifikowała nikiel pochodzący z pyłu rafineryjnego oraz siarczki niklu

do grupy A ludzkich kancerogenów. Ślady niklu można znaleźć w wodzie, glebie oraz pożywieniu. Zalecane dzienne spożycie niklu podane jest przez Narodową Akademię Stanów Zjednoczonych (United States National Academies). Dla noworodków nie określono dziennej dawki ze względu na brak danych potwierdzonych badaniami. Natomiast od 14 roku życia oraz w ciąży jak i podczas laktacji dawka ta wynosi 1.0 mg/d. Orzechy, rośliny strączkowe, słodziki, płatki oraz czekolada mleczna w proszku stanowią spożywcze źródła niklu. Narodowa Akademia Stanów Zjednoczonych podaje również, że u osób, które są uczulone na nikiel oraz osób z niewydolnością nerek stwierdza się zwiększoną podatność na negatywne skutki nadmiernego spożycia niklu [128].

Około 10% niklu jest wchłaniane w przewodzie pokarmowym. Do ekspozycji na ten pierwiastek dochodzi również drogą skórą poprzez kontakt z biżuterią oraz produktami metalowymi, ponadto, poprzez inhalacje oraz spożycie zanieczyszczonej wody. Ekspozycja na zwiększone ilości niklu w miejscu pracy (rafinerie i zakłady przetwórstwa niklu) może być przyczyną przewlekłego zapalenia oskrzeli, zmniejszonej wydolności płuc, alergii skórnych, nowotworów płuc oraz zatok [64].

Niezbędnym mikroelementem, który bierze udział w metabolizmie białek oraz węglowodanów jest **cynk**. Bierze on również udział w procesie syntezy kwasów nukleinowych oraz w wielu innych procesach życiowych. Jest potrzebny przy procesach podziału i różnicowania komórek, jak również jest niezbędnym składnikiem odżywczym prawidłowej embriogenezy. Niedobór różnych mikroelementów w tym cynku jest jednym z większych problemów, z którymi boryka się wiele krajów, stąd zapotrzebowanie na cynk oraz określenie jego dokładnych poziomów jest wysoce wskazane. Pełni on niezwykle ważną rolę w rozwoju wewnątrzmacicznym płodu, jak również jako mikroelement stosowany jest do stymulacji wzrostu masy płodu [53].

Najwięcej cynku znajduje się w czerwonym mięsie. W Stanach Zjednoczonych około 50% dziennego zapotrzebowania na cynk pochodzi z mięsa, zbóż oraz nasion roślin strączkowych. Produkty mleczne dostarczają około 20% dziennego zapotrzebowania na ten pierwiastek. Niedobór cynku w diecie dorosłych i dzieci może na przy-

kład spowodować w zakresie jamy ustnej atrofię brodawek języka. Atrofia ta zwykle jest kojarzona z niedoborem żelaza. Pacjenci z niedoborem cynku mogą cierpieć na utrudniony proces gojenia naskórka, utratę włosów oraz alergię skórne. Jednak najczęściej są to objawy niespecyficzne, co utrudnia diagnostykę szczególnie jeśli nie mamy dokładnych danych na temat wcześniejszych incydentów niedoboru cynku. Pomimo pozytywnych właściwości dla rozwoju człowieka, cynk w nadmiarze może być również szkodliwy. Nadmiar cynku podczas embriogenezy może być nie tylko teratogeny, ale również śmiertelny. Warto zwrócić uwagę na badania dotyczące poziomu cynku i miedzi w organizmie człowieka. Okazuje się, że jako efekt drugorzędny po nadmiernej podaży cynku dochodzi do niedoboru miedzi, który manifestuje się poprzez zaburzenia w układzie nerwowym. Konieczne jest wówczas poszerzenie badań w tym zakresie [71].

Kolejnym z pierwiastków toksycznych, który występuje w środowisku i akumuluje się w przewodzie pokarmowym człowieka jest **rtęć**, która paruje już w temperaturze 20°C. Jej lotność zwiększa się wraz ze wzrostem temperatury, a gdy temperatura osiągnie 50°C zwiększa się ona 8-krotnie [21,106].

Okolo 65% zanieczyszczenia rtęcią na świecie w codziennym życiu jest wynikiem jej parowania. Rtęć jest znanym pierwiastkiem neurotoksycznym, stąd szereg obaw związanych z jej negatywnym wpływem na zdrowie ludzkie. Niekorzystne działanie rtęci na organizm człowieka może objawiać się ostrą lub przewlekłą patologią układu trawiennego, nerwowego, skóry oraz tkanek jamy ustnej. Ponadto opisano wpływ rtęci na takie układy jak odpornościowy, reprodukcyjny oraz nerwowy [34].

Do głównych dwóch źródeł ekspozycji, które nie związane są z wykonywanym zawodem w kontakcie z rtęcią, zalicza się spożycie dużej ilości ryb oraz owoców morza, które zawierają metylortęć (MeHg). Na uwagę zasługuje również ekspozycja na nieorganiczną formę rtęci pochodzącą np. z oparów rtęci z wypełnień amalgamatowych. Rtęć pochodząca z zanieczyszczonego środowiska przekształcana jest przez bakterie w MeHg, która będąc słabo wydalaną formą rtęci ulegająca biokumulacji w łańcuchu pokarmowym. Wyższe stężenia MeHg stwierdzono u większych drapieżników,

w tym ryb drapieżnych takich jak miecznik, rekin oraz tuńczyk, jak również u zwierząt, które polują na te ryby oraz spożywających je ludzi [33,97].

W medycynie, a konkretnie w stomatologii szeroko stosowany był w przeszłości amalgamat. Nadal w Polsce wypełnienia wykonane z amalgamatu srebra refundowane są przez Narodowy Fundusz Zdrowia. W wielu krajach europejskich w związku z ochroną środowiska amalgamat został wycofany z lecznictwa stomatologicznego.

Amalgamat to stop zawierający w swoim składzie 50% rtęci, 35% srebra, 13% cyny oraz 2% miedzi. Procentowa zawartość rtęci w amalgamacie waha się od 45-66% ze względu na różne procedury mieszania [108].

Amalgamat był i jest stosowany od ponad 150 lat w stomatologii i jest jednym z najczęściej stosowanych wypełnień. Jednak przez ostatnie dwie dekady coraz częściej zaczęto podważać jego zastosowanie ze względu na rtęć wydzielaną do środowiska jamy ustnej przez wypełnienia amalgamatowe. Pary rtęci metalicznej w postaci Hg_0 są bardzo dobrze wchłaniane w płucach, a ich wysokie stężenie może powodować zapalenie oskrzeli, zapalenie płuc, kaszel, duszność, ból w klatce piersiowej, zapalenie jamy ustnej, zapalenie dziąseł, biegunkę oraz nadmierne wydzielanie śliny. Niestety w dzisiejszych czasach największym źródłem ekspozycji na rtęć są nadal wypełnienia amalgamatowe. Do ekspozycji dochodzi jak wspomniano wcześniej z oparów, ale może również dojść do rozpuszczenia cząsteczek rtęci w ślinie oraz połknięcia fragmentów utraconego wypełnienia amalgamatowego. Według niektórych doniesień literaturowych wypełnienia amalgamatowe mogą być przyczyną powstania zmian liszajcowatych oraz zmniejszenia właściwości antyoksydacyjnych śliny. Samo uwalnianie się rtęci z amalgamatu może również być spowodowane siłami żucia, szczotkowaniem, temperaturą, pH śliny, biologiczną korozją spowodowaną przez bakterie oraz elektrochemiczną korozją [34].

Do badań nad niekorzystnym wpływem rtęci na stan zdrowia oraz do określenia poziomu rtęci w organizmie wykorzystuje się mleko kobiece, włosy, paznokcie, krew, ślinę oraz tkankę tłuszczową [66].

I.2. Ślina - wykorzystanie w diagnostyce

Celem promocji zdrowia oraz świadczenia coraz lepszych usług w zakresie opieki zdrowotnej jest zdolność monitorowania stanu zdrowia, przebiegu i progresji choroby oraz wyników leczenia przy wykorzystaniu minimalnie inwazyjnych środków oraz metod. W tym przypadku w zakresie diagnostyki medycznej ślina wydaje się być idealnym materiałem diagnostycznym monitorującym stan zdrowia oraz przebieg choroby.[5]

Bardzo często nazywana jest również „zwierciadłem stanu zdrowia jamy ustnej” ze względu na bliski kontakt z tkankami jamy ustnej. Ślina pełni wiele funkcji w organizmie takich jak: trawienna, wydalnicza, ochronna, obronna, odżywcza oraz buforowa.[15,47]

Ślina, jak ujawniła nauka, składa się nie tylko z wody, która jest jej głównym składnikiem, procentowo szacuje się pomiędzy 94-99,5 %. Składnikami części stałej śliny, która stanowi w warunkach podstawowych do 6% są elektrolity, immunoglobuliny, hormony, witaminy (A, B, C i K), cytokiny, nabłonkowy czynnik wzrostu (EGF), substancje białkowe takie jak enzymy i mucyny oraz substancje antybakteryjne. Ślina pochodzi z trzech dużych gruczołów ślinowych (przyusznych, podżuchwowych oraz podjęzykowych) oraz małych gruczołów ślinowych takich jak gruczoły językowe, podniebienne, wargowe oraz policzkowe. W skład śliny wchodzi jeszcze płyn dziąsłowy, bakterie, krew, komórki wyścielające, resztki komórkowe oraz wydzielina z nosa i oskrzeli [58].

Wiele badań w ostatnim czasie skupia się na ocenie użyteczności diagnostycznej związków zawartych w ślinie ze względu na lokalizację ich wytwarzania. Okazuje się, że związki, które produkowane są wewnątrzgruczołowo wykazują mniejszy potencjał diagnostyczny, ale np. sekrecyjna immunoglobulina A stanowi wyjątek. Reszta związków jest syntetyzowana zewnątrzgruczołowo, po czym jest transportowana transportem wewnątrz lub zewnątrzkomórkowym z osocza do śliny. I to właśnie te

substancje mają zdecydowanie wyższy potencjał diagnostyczny ze względu na odzwierciedlenie stanu fizjologicznego organizmu [47,118].

Elementem składowym śliny są również substancje białkowe. Do teraz zidentyfikowanych zostało 1939 białek. Ślina mieszana oraz przewodowa wszystkich ślinianek zawiera 740 zidentyfikowanych białek. Okazuje się również, że 597 białek występuje zarówno we krwi jak i w ślinie [118,122].

Ślina pełni ważną rolę w wielu procesach biologicznych takich jak odczuwanie temperatury, smaku, nawilżenie, ułatwienie połykania i zucia oraz trawienia [58].

Jako materiał diagnostyczny ślina od ponad dekady fascynuje naukowców. W ostatnich latach powstało ponad 2500 artykułów dotyczących znaczenia śliny jako źródła biomateriałów zastępującego ludzką krew oraz osocze. Niezwykle ważnym dla naukowców obecnie jest opracowanie bardzo czułych metod badania oraz ustalenie jasnych protokołów postępowania. Ze względu na niższe wartości stężeń niezwiązanej bioaktywnej frakcji biomarkerów w ślinie w porównaniu do krwi konieczne jest stworzenie testów o wysokiej czułości [64].

Badaniami mało- i wielkocząsteczkowych związków, będących również składem krwi zajmują się naukowcy z National Institute of Dental and Craniofacial Research (NIDCR), którzy w 2008 roku opublikowali listę Ludzkiego Proteomu Śliny (Human Salivary Proteome). Na liście tej znajduje się 1166 białek śliny zdrowych osób [46,64].

Za wydzielanie śliny odpowiada układ cholinergiczny oraz układ współczulny (włókna α i β). Skład jonów i białek jest specyficzny i różny dla każdego z gruczołów ślinowych. Ślinianka podżuchwowa wydziela największą część śliny niestymulowanej - 65%, ślinianka przyuszną 20% oraz 5% podjęzykowa. Pozostałe 10 % stanowi ślina z małych gruczołów ślinowych. Przy ślinie stymulowanej podział procentowy zmienia się następująco: 50% ślinianka przyuszną, 35% ślinianka podżuchwowa, 7-8% ślinianka podjęzykowa oraz dokładnie taką samą ilość wytwarzają małe gruczoły ślinowe. Przeciętnie człowiek wydziela od 1-2 litrów śliny w ciągu doby, jednak wszystko to zależy od częstości spożycia posiłków, ich rodzaju, czasu snu oraz naszych emo-

cji. Objętość wydzielania śliny jest zróżnicowana osobniczo i waha się pomiędzy 0,33 ml/min a 0,55 ml/min. Objętość wydzielanej śliny może wzrosnąć poprzez zastosowanie pilokarpiny (5 ml/min) oraz poprzez bodźce pokarmowe (1,5-2,3 ml/min) [51,118].

Zainteresowanie śliną wśród diagnostów jest coraz większe ze względu na łatwość jej pobrania. Metody pobrania śliny są łatwe oraz nieinwazyjne, co jest często bardzo ważne u pacjentów, którzy mają np. „fobię związaną z igłami”. Pobieranie śliny jest nie tylko bezpieczne dla osoby pobierającej materiał, ale również dla samego pacjenta. To właśnie te cechy umożliwiają monitorowanie stężenia metali oraz innych biomarkerów w ślinie. Co ciekawe można łatwo monitorować np. poziom rtęci u dzieci, osób starszych oraz tych, które nie współpracują przy pobraniu próbki moczu lub krwi [15].

Testy z wykorzystaniem śliny są szybszymi testami, stąd coraz większe zainteresowanie tym materiałem biologicznym wśród diagnostów. DNA pochodzące ze śliny jest używane rutynowo w wielu laboratoriach do określenia genetycznej podatności na wiele chorób. Testy z wykorzystaniem śliny używane są w diagnostyce np. chorób wirusowych (wirusa HIV), monitorowaniu chorób nerek, diagnostyce kryminalistycznej oraz medycynie sądowej. Ponadto ślina jest często wykorzystywana w badaniach związanych ze zdrowiem i stanem jamy ustnej oraz do monitorowania przyjmowania, czy nadmiernego użycia leków, narkotyków lub alkoholu. W ślinie zidentyfikowano 23 wirusy, które mogą zostać wykryte w próbce śliny ze względu na reaktywność specyficznych przeciwciał, wykrywanie antygenów oraz kwasu nukleinowego przy zastosowaniu metody PCR. Do zidentyfikowanych wirusów należą między innymi Herpeswirusy, wirusy zapalenia wątrobowego, wirus brodawczaka ludzkiego, HIV, wirus grypy oraz Polio [69,105].

Ślina jest również wykorzystywana we wczesnej diagnostyce i wykrywaniu nowotworów takich jak: nowotwory trzustki, płuc, żołądka, jamy ustnej oraz sutka. Znanymi markerami nowotworowymi dla raka przełyku, raka żołądka i raka jelita grubego, a także raka płaskonabłonkowego (OSCC) są przeciwciała anti-p53.

CA-125 jest stosowany jako marker nowotworowy dla raka, błony śluzowej macicy, jajnika, płuc, sutka oraz dla nowotworów przewodu pokarmowego. Ponadto CA 15-3 oraz c-erbB-2 są stosowane w diagnostyce raka sutka, podczas gdy nadekspresję receptora EGFR obserwuje się w raku trzustki. Wykorzystanie biomarkerów śliny do wczesnego wykrywania raka jamy ustnej, dla którego pięcioletnie przeżycie jest nadal bardzo niskie (62%), wzbudziło ostatnio zainteresowanie wśród naukowców. Ponad 90% raków jamy ustnej to raki płaskonabłonkowe (OSCC). Niestety większość OSCC jest diagnozowana na zaawansowanym etapie, co wskazuje na potrzebę stworzenia klinicznych środków diagnostycznych do ich wczesnego wykrywania [58].

Ślina również może posłużyć do diagnostyki chorób autoimmunologicznych. Do tych chorób należy Zespół Sjogrena, który jest zaburzeniem autoimmunologicznym charakteryzującym się zmniejszonym wydzielaniem gruczołów ślinowych i gruczołów łzowych. Badanie śliny ma szczególne zastosowanie w diagnostyce Zespołu Sjogrena, dla którego charakterystyczny jest wzrost poziomu immunoglobulin, mediatorów odpowiedzi zapalnej, poziomu albumin, sodu oraz chlorku. Charakterystycznym jest również obniżony poziom laktoferyny, lizozymu C i cystatyny C. Do kolejnych chorób autoimmunologicznych, w których zastosowana jest diagnostyka śliny należą stwardnienie rozsiane oraz sarkoidoza [75].

Diagnostyka śliny ma swoje szerokie zastosowanie również w wielu dziedzinach stomatologii takich jak: periodontologia, stomatologia zachowawcza oraz ortodoncja. W periodontologii analiza śliny może być niezwykle przydatna od oceny aktualnego stanu przyzębia, monitorowania odpowiedzi na leczenie oraz do prognozy progresji choroby. Charakterystycznymi biomarkerami dla chorób przyzębia są: enzymy i immunoglobuliny, markery fenotypowe, hormony, bakterie oraz produkty ich przemiany materii oraz jony [60].

Do najczęstszych patogenów przyzębia związanych z chorobami przyzębia należą *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis* i *Treponema denticola* należące do czerwonego kompleksu bakterii, który został określony przez Socransky'ego. Do mediatorów stanu zapalnego w ślinie należą: IL-1b, IL-6, IL-8,

TNF- α , elastaza, asparaginian i aminotransferaza. Natomiast charakterystyczne markery destrukcji tkanek i rozpadu tkanki łącznej to: kolagen telopeptydy, MMP-9, osteokalcyna, proteoglikoksy lub fibronektyna. Szerszy obraz zmian związanych z chorobami przyzębia może stanowić profilowanie metaboliczne śliny. W stomatologii zachowawczej możemy wykorzystać ślinę do oceny ryzyka próchnicy. Najczęstszymi patogenami związanymi z próchnicą są *Streptococcus mutans* oraz *Streptococcus sorbinus* oraz szczep *Lactobacillus*. Niski poziom alfa defenzyn HNP1-3 w ślinie dzieci powoduje ich większą podatność na próchnicę. Mucyny zawarte w ślinie (MUC7) promują aglutynację paciorkowców [58].

Indywidualna analiza czynników charakterystycznych dla danego osobnika w ślinie, do których należy ocena szybkości przepływu śliny, wartość pH śliny oraz buforowości może przyczynić się do oszacowania ryzyka próchnicy [44].

Białko całkowite, chlorek oraz sód należą do niektórych składników śliny, które podlegają wpływowi rytmu dobowego, dlatego często preferowanym jest pobieranie śliny na czczo [104].

Można pobrać ślinę stymulowaną lub niestymulowaną. Ślina niestymulowana jest pobierana bezpośrednio do plastikowych probówek poprzez pasywne spływanie śliny. Najbardziej zalecaną metodą przez analityków jest właśnie pozyskiwanie pasywne śliny. Niestety objętość śliny pobrana w ten sposób jest niższa od objętości śliny stymulowanej [20].

Przed pobraniem śliny nie zaleca się spożywania pokarmów i płynów (za wyjątkiem wody) oraz szczotkowania zębów przez kilka godzin, ze względu na zaburzenia związane z wydzielaniem oraz składem śliny. Napoje oraz żywność o wysokiej zawartości cukru lub kofeiny mogą nie tylko stymulować szybkość wydzielania śliny, ale również obniżać pH jamy ustnej. Obniżenie pH doprowadza nie tylko do obniżenia aktywności enzymu, ale również do uszkodzenia wiązania antygen-przeciwciała w testach immunologicznych [105].

Ponadto przed badaniami warto wyeliminować resztki pokarmowe, które mogą utrudniać analizę próbki śliny. Najlepszą metodą jest przepłukanie ust wodą, najlepiej destylowaną [81].

Ślina stymulowana jest uzyskiwana poprzez żucie, stymulację smakową oraz użycie kwasu cytrynowego. Z poszczególnych gruczołów ślinowych ślina może być pobrana poprzez kaniulację przewodów lub przy użyciu specjalnych urządzeń, które pobierają ślinę tuż przy ujściach przewodów. Metody te jednak wymagają nie tylko większej ilości czasu, ale wykwalifikowania personelu oraz skomplikowanego sprzętu. Kolejną z wad tych metod jest ich złożoność, inwazyjność oraz powolny proces pobrania próbki materiału badawczego [104].

Pobieranie śliny ułatwiają specjalne komercyjne próbki. Większość z nich zawiera stały element, którym jest niewielki wałeczek z poliestru lub bawełny oraz stożkową próbkę, która ułatwia odwirowanie i odzyskiwanie śliny. Do najbardziej popularnych próbek komercyjnych z elementem stałym należą Oral Salimetrics Swab (Salimetrics® LLC, USA), Salivette® Cortisol (Sarstedt, Newton, NC, USA) i Orapette (Trinity Biotech, Dublin, Irlandia). Niestety, żadna z tych próbek nie pozwala na bezpośrednie i dokładne zebranie konkretnej objętości, co utrudnia oszacowanie ilości wydzielania śliny [43].

Kolejnym systemem do pobrania śliny, który wykorzystuje roztwór kwasu cytrynowego jest Saliva Collection System(SCS)® (Greiner Bio-One GmbH, Kremsmuenster, Austria). System ten jest bardziej rozbudowany. Składa się z dwóch części. Pierwsza to roztwór do przepłukania jamy ustnej, druga natomiast służy do pobrania śliny. System ten pozwala na określenie całkowitej ilości pobranej śliny. Został on przetestowany przy użyciu rutynowych metod laboratoryjnych. Testy laboratoryjne wykazały rzetelne i powtarzalne wyniki pomiarów wapnia, magnezu, IgA, kortyzolu, alfa-amylazy ślinowej oraz monitoringu poziomu alkoholu i leków. Niestety niektóre z produktów analizy w tym przypadku mogą ulec zmianie ze względu na niskie pH i dodatki, znajdujące się w roztworze ekstrakcyjnym. Przy wyborze systemu do pobierania śliny musimy kierować się ilością śliny, którą potrzebujemy do

analizy. Badania wykazały, że kwas cytrynowy używany do stymulacji wpływa na testosteron i stężenia kortyzolu w testach immunologicznych [105].

Jeżeli zamierzamy przetworzyć próbki śliny w ciągu 3 do 6 godzin, należy je schłodzić w temperaturze 4°C. Białko całkowite, przeciwutleniacze o niskiej masie cząsteczkowej oraz alfa-amylaza ślinowa utrzymują stabilność do 2 tygodni przetrzymywane w temperaturze -20°C [81].

Na przykład podczas analiz poziomów kortyzolu w ślinie pozostawały one niezmienione przez 3 miesiące, jeśli próbki były przechowywane w temperaturze 5 °C, natomiast co ciekawe, przez rok jeśli były przechowywane w temperaturze -80°C. Ponadto stężenie kortyzolu zmniejszyło się o około 10% w próbkach przechowywanych przez okres 30 dni w temperaturze pokojowej [48].

Według Chiappin i wsp. jeśli do śliny doda się azydek sodu możemy zahamować wzrost bakterii oraz umożliwić przechowywanie próbki, natomiast może to wpłynąć na testy immunologiczne z peroksydazą chrzanową. Ślina zawiera kilka proteaz bakteryjnych, które mogą wpływać na niektóre metody analizy poprzez rozkład białek śliny. By uniknąć takiego problemu przed analizą, przydatnym jest włączenie do analizy inhibitorów proteazy oraz substancji stabilizujących. Można dołączyć takie substancje jak aprotynina, EDTA, tiomersal oraz fluorek fenylometylosulfonylu [20].

Przed analizą próbki śliny powinny być poddane takim samym procedurom jak próbki moczu czy krwi. Powinny one być przechowywane w lodówce i transportowane w kontrolowanej temperaturze. Takie zabiegi umożliwiają uniknięcie skażenia bakteryjnego próbek [105].

I.3. Choroby przyzębia

Choroby przyzębia są to powszechnie występujące procesy zapalne dotyczące tkanki dziąsłowej oraz struktur podtrzymujących ząb. Zapalenie dziąseł (gingivitis) spowodowane jest płytką nazębną gromadzącą się wzdłuż brzegu dziąsłowego z powodu złej higieny jamy ustnej [36].

Jeśli higiena nie zostanie poprawiona, a stan zapalny nie zostanie wyleczony, może przeobrazić się on w zapalenie przyzębia, które charakteryzuje się nie tylko destrukcją tkanki łącznej, utratą kości wyrostka zębodołowego, ale może doprowadzić do utraty zęba [103].

Zapalenie przyzębia jest chorobą wieloczynnikową o złożonej patogenezie. Pomimo, iż mikroorganizmy są jednymi z czynników inicjujących zapalenie, predyspozycje genetyczne oraz czynniki środowiskowe, takie jak palenie mogą zmienić odpowiedź immunologiczną organizmu. Zapalenie dziąseł jest niezwykle powszechne w Stanach Zjednoczonych i sięga ponad 50% populacji osób dorosłych. Natomiast badania przeprowadzone na populacji dorosłych w Wielkiej Brytanii wykazało, że ok. 42% w wieku 34 - 44 lat oraz 70% w wieku 55-64 lat wykazywało objawy zapalenia przyzębia. Podobne wyniki uzyskano na populacji dorosłych Stanów Zjednoczonych. Jeśli chodzi o leczenie chorób przyzębia spowodowanych gromadzącą się płytką nazębną rozpoczyna się je od kontroli bakteryjnego biofilmu, profesjonalnej higienizacji, skalingu, root planingu oraz przede wszystkim od prawidłowego instruktażu higieny jamy ustnej. W przypadkach, w których kontrolowanie płytki jest niewystarczające oraz w przypadkach agresywnej postaci zapalenia przyzębia opcje leczenia obejmują nie tylko antybiotykoterapię, ale również chirurgię przyzębia. Zabiegi te mają ułatwić dalszy dostęp do korzenia i jego oczyszczenie [36].

Skuteczny proces leczenia zapaleń przyzębia prowadzi do zmniejszenia stanu zapalnego, jak również może doprowadzić do regeneracji kości wyrostka zębodołowego i tkanki łącznej. Zapalenie dziąseł, jeśli jest prawidłowo leczone, jest procesem

w pełni odwracalnym. Niestety zapalenie przyzębia nie jest w stu procentach odwracalnym procesem [88].

Do typowych objawów zapalenia przyzębia należą samoistne krwawienia, ruchomość zębów, dyskomfort i migracja zębów. Niestety często objawy zapalenia przyzębia są na tyle niezauważalne, że zarówno pacjent jak i lekarz dentyista przez lata mogą nie zdiagnozować choroby, przez co dochodzi do jej długoletniego występowania bez leczenia. Mając na uwadze, że utrata kości wyrostka zębodołowego związana z zapaleniami przyzębia jest nieodwracalna, lekarze dentyści powinni jak najszybciej zakwalifikować proces postępowania choroby i wdrożyć konieczne leczenie. Takie zabiegi są konieczne, żeby zminimalizować niekorzystne skutki zdrowotne [36].

Pomimo licznych czynników wykluczających i zakłócających wyniki badań, związek pomiędzy chorobą przyzębia i jej wpływem na stan zdrowia zyskał duże zainteresowanie wśród naukowców. W ciągu ostatniej dekady przeprowadzono wiele badań, które łączyły chorobę przyzębia z cukrzycą, infekcjami dróg oddechowych, chorobą sercowo-naczyniową oraz chorobą Alzheimera. Nie jest do końca wyjaśnionym, na jakiej zasadzie choroba przyzębia wpływa na przebieg miażdżycy, jednak rozważanych jest kilka mechanizmów, które określają bezpośrednie efekty wywołane przez bakterie związane z chorobą przyzębia, jak również cytokiny prozapalne oraz pośrednie efekty wrodzonej oraz specyficznej odpowiedzi immunologicznej przeciwko tym bakteriom. Te właśnie procesy mają negatywny wpływ na naczynia krwionośne. Na podobnej zasadzie zapalenie przyzębia może wpływać na kontrolę glikemii w organizmie. Interleukina 1 β (IL-1 β), Interleukina 6 (IL-6) mogą być uwalniane z wysoce unaczynionych i zapalnych tkanek przyzębia. Wymienione mediatory prozapalne są znanymi antagonistami insuliny [40,105].

Naukowcy w oparciu o wyniki badań nad związkiem chorób przyzębia na ogólny stan zdrowia zaczęli badać zależność pomiędzy chorobą przyzębia, a niekorzystnymi ich skutkami w ciąży, szczególnie tymi związanymi z procesami zapalnymi. Stany zapalne oraz infekcje powiązane są ze spontanicznym przedwczesnym po-

rodem oraz niską masą urodzeniową noworodka. W związku z tym immunolodzy wraz z biologami zajmującymi się reprodukcją wysunęli hipotezę, że choroba przyzębia może wpływać niekorzystnie na przebieg ciąży, poprzez wzmożenie systemowych procesów zapalnych oraz infekcji [105].

I.4. Ciąża a zmiany w błonie śluzowej jamy ustnej oraz ich związek z poziomami hormonów płciowych

Ciąża jest okresem obejmującym ważne zmiany metaboliczne i hormonalne, które warunkują prawidłowy stan zdrowia matki oraz odpowiedni rozwój płodu. Zmiany odpowiedzi immunologicznej, rozszerzenie naczyń krwionośnych dziąseł spowodowane są zwiększonym poziomem estrogenów oraz progesteronu, co wyjaśnić może zaostrzenie zapalenia dziąseł w ciąży [99].

U około 60-70% ciężarnych kobiet pojawia się zapalenie dziąseł, natomiast zapalenie przyzębia dotyka zdecydowanie mniejszy procent ciężarnych (~30%) [102].

Zapalenie dziąseł ciężarnych, tak określana jest w literaturze wzmożona odpowiedź zapalna dziąseł na płytkę bakteryjną podczas ciąży. Najczęściej zapalenie dziąseł występuje podczas drugiego i trzeciego trymestru i współistnieje rzadko z zapaleniem przyzębia. Zapalenie to charakteryzuje się szczególnie wysoką tendencją do krwawienia dziąseł, obrzękiem i zaczerwienieniem dziąsła brzeżnego, które zwykle zmniejsza się po porodzie. Najbardziej widoczne i zaawansowane jest ono pomiędzy 14 a 30 tygodniem ciąży. Najczęściej spotykanymi zmianami, z którymi lekarz dentysta może się spotkać w swojej praktyce, występującymi na błonie śluzowej ciężarnych są: *Gingivitis gravidarum simplex* (krwawienie dziąseł), *Gingivitis gravidarum diffusa haemorrhagica* (rumieniowe zapalenie dziąseł), *Gingivitis hypertrophica localisata* (miejscowy przerost brodawkowaty dziąseł), *Gingivitis hypertrophica generalisata* (rozlany przerost brodawkowaty dziąseł) oraz *Epulis gravidarum* (guz ciążowy) [13,123].

Silness i Løe [101] przeprowadzili badania, w których okazało się, że podobna ilość płytki bakteryjnej powoduje bardziej nasiloną odpowiedź zapalną u ciężarnych niż w grupie kontrolnej.

Niektóre badania wykazują pojawienie się kieszonek dziąsłowych, ale bez utraty przyczepu łącznotkankowego, które najprawdopodobniej są wynikiem obrzęku i zapalenia dziąsła brzeżnego. Badania długofalowe wykazują, że widoczna ilość płytki bakteryjnej po pierwszym trymestrze stabilizuje się lub nawet zmniejsza, jednakże wskaźnik krwawienia brodawek dziąsłowych (Bleeding on Probing BOP) wzrasta w drugim oraz trzecim trymestrze. W pewnym stopniu zapalenie dziąseł ciężarnych koreluje ze zwiększonym wzrostem poziomu niektórych bakterii gram ujemnych bez-tlenowców jamy ustnej, szczególnie *Prevotella nigrescens*. Jednakże nie ma wystarczających wykazanych dowodów, by zostały nazwane głównym czynnikiem wywołującym zapalenie dziąseł ciężarnych [45].

Jak wcześniej wspomniano, ciąży towarzyszy znaczny wzrost poziomu progesteronu i estrogenu. Zwiększone stężenie tych hormonów powoduje wzrost odpowiedzi zapalnej ze względu na silne powinowactwo estrogenów do receptorów w tkance dziąsła. Od momentu zapłodnienia komórki jajowej poprzez implantację do rozwoju łożyska ciało żółte produkuje wzmożone ilości progesteronu. W łożysku od trzeciego trymestru do porodu zwiększona jest produkcja hormonów płciowych. Stężenie progesteronu wzrasta 20-krotnie z 10 do 250 $\mu\text{m}/\text{ml}$. W czasie ciąży dochodzi do zmiany metabolizmu hormonów płciowych, a podwyższony poziom 17- β estradiolu uważany jest za jeden z głównych czynników sprzyjających zapaleniom przyzębia w ciąży. Najwyższe stężenia progesteronu i estrogenu w surowicy obserwuje się pod koniec trzeciego trymestru. Wyraźny spadek poziomu hormonów płciowych następuje podczas porodu w momencie wydalenia łożyska. Poziom hormonów, jaki obserwujemy u kobiet nieciążarnych, stabilizuje się około 2 do 3 dnia po porodzie. Estrogeny, według badań naukowych przeprowadzonych zarówno u ludzi jak i u zwierząt, pobudzają procesy proliferacji komórkowej w naczyniach krwionośnych, proliferacji fibroblastów, hamują chemotaksję neutrofilii oraz zmieniają metabolizm kolagenu [13,45,89].

Naukowcy na podstawie uzyskanych wyników sugerują, że ciąża sama w sobie nie jest czynnikiem ryzyka chorób przyzębia, jednak zaburzenia dziąseł są dobrze udokumentowane u matek w drugim i trzecim trymestrze ciąży. Dlatego ważna jest świadomość ciężarnej o konieczności kontroli nie tylko ginekologicznych, ale również stomatologicznych. Kobiety w ciąży powinny zostać skrupulatnie poddane kontroli płytki nazębnej oraz profilaktyce chorób przyzębia. Zmiany i wzrosty hormonów płciowych podczas ciąży wpływają na różne narządy i powodują zmiany w układzie odpornościowym. Dochodzi do zmniejszenia fagocytozy i chemotaksji neutrofilii jak również do zahamowania aktywności limfocytów oraz do zmiany w odpowiedzi limfocytów i zmniejszenia wytwarzania przeciwciał. Pojawiły się również doniesienia o przewlekłym stresie matek oraz deficycie pokarmowym związanym z zapotrzebowaniem żywieniowym matki lub płodu, które mogą mieć wpływ na wzmożoną odpowiedź zapalną w obrębie przyzębia. Aktywacja receptorów estrogenowych i progesteronu w dziąsłach wyjaśniałaby, między innymi, zwiększoną odpowiedź dziąseł na płytkę bakteryjną w czasie ciąży. Istnieją dowody na to, że na tkanki dziąseł wpływają zmiany fizjologiczne w stężeniach hormonów żeńskich podczas ciąży, powodujące obrzęk dziąseł i zapalenie dziąseł u około 50% ciężarnych kobiet. Jak wcześniej wspomniano podawane procenty są różne w przypadku różnych badań. Podczas ciąży wzrasta również przepuszczalność nabłonka łączącego dziąseł, której rezultatem jest zwiększenie przepływu płynu dziąsłowego. Co więcej, sam skład flory bakteryjnej jest modyfikowany przez podwyższony poziom progesteronu, który sprzyja rozwojowi np. *Prevotella intermedia*. Czynniki te mogą wyjaśniać nasilenie zapalenia dziąseł w czasie ciąży lub nawet powstaniem guzów ciążowych. Większość objawów zapalnych preferencyjnie w jamie ustnej pojawiają się w odcinku przednim. Około ósmego miesiąca ciąży może wystąpić wzmożona ruchomość zębów, która następnie ustępuje, podobnie jak objawy zapalne dziąseł po porodzie. Wrodzone reakcje zapalne i immunologiczne odgrywają główną rolę w chorobach przyzębia. Zapalenia przyzębia są inicjowane i utrzymują się z powodu czynników związanych z mikroflorą poddziąsłową. Zaobserwowano między innymi zwiększoną obecność drobnoustrojów, takich jak Po-

Porphyromonas gingivalis, często izolowanych w zapaleniu przyzębia oraz w płynie dziąsłowym u kobiet ciężarnych w stosunku do kobiet nie ciężarnych. Ciekawym jest, że niektóre z badań udokumentowały związek pomiędzy chorobą przyzębia, a niską masą urodzeniową noworodków. Badanie stanu przyzębia matki w okresie ciąży i porodu może przyczynić się do wyjaśnienia tych powiązań i do opracowania strategii opieki stomatologicznej dla ciężarnych. W rzeczywistości zaproponowano różne prewencyjne terapie oparte na programach edukacyjnych z zakresu higieny jamy ustnej, jakie zalecono do stosowania w czasie ciąży, w celu uniknięcia wystąpienia zapaleń przyzębia [42,83].

W 1996 roku Offenbacher wraz z zespołem udokumentował pierwszy związek między chorobą przyzębia, a niską masą urodzeniową na podstawie badania 124 pacjentek [82].

Od ponad 20 lat ukazało się wiele publikacji podważających, jak i potwierdzających to stwierdzenie. Badania, które wykazały pozytywny związek między chorobą przyzębia, a niekorzystnymi skutkami ciąży, przeprowadzone zostały głównie na terenie Stanów Zjednoczonych. Przeważającą grupą badawczą były kobiety pochodzenia afro-amerykańskiego. Interesującym jest fakt, że badania, które były przeprowadzane na większą skalę i na poziomie międzynarodowym, nie wykazywały takiego związku. W 2006 roku Moore i wsp. przeprowadził badania na terenie Wielkiej Brytanii, podczas których zbadano prawie 4000 kobiet, u których stwierdzono choroby przyzębia w pierwszym trymestrze. Badania te nie wykazały, żadnego powiązania pomiędzy chorobą przyzębia, a wystąpieniem porodu przedwczesnego [77].

Srinivas wraz z zespołem w 2012 roku przedstawił podobne wyniki w grupie 311 kobiet dotkniętych chorobą przyzębia oraz 475 zdrowych ciężarnych i nie odnalazł żadnego powiązania pomiędzy chorobą przyzębia, a ryzykiem porodu przedwczesnego, stanu przedrzucawkowego oraz występowaniem zespołu zaburzeń wzrastania płodu (IUGR). Pomimo biologicznego prawdopodobieństwa powiązania choroby przyzębia i jej niekorzystnego wpływu na przebieg ciąży, które opisywane były od 1996 roku, Srinivas i wsp. po przeprowadzeniu 3 badań na licznych grupach badaw-

czych, nie wykazał pozytywnego wpływu leczenia chorób przyzębia na przebieg ciąży [106].

I.5. Cięża a metale

Ekspozycja na działanie metali toksycznych w początkowym etapie życia prenatalnego jak i w pierwszych latach życia dziecka może być powodem problemów zdrowotnych w późniejszym okresie życia. Metale toksyczne dostają się do organizmu płodu poprzez spożywane przez ciężarną pokarmy, a w późniejszym etapie podczas laktacji. Ekspozycja na metale toksyczne podczas ciąży oraz ich wpływ na zdrowie płodu jest badana różnymi metodami. Najczęściej do badania pobierane są próbki moczu, krwi, paznokci czy śliny, które następnie poddawane są analizie pierwiastkowej [114].

Według doniesień literatury wpływ na oś podwzgórze-przysadka-nadnercza u kobiet ciężarnych ma ekspozycja na metale toksyczne, szczególnie na rtęć. Metylortęć (MeHg) jest łatwo wchłaniana przez przewód pokarmowy. Ekspozycja na MeHg w czasie ciąży, do której dochodzi poprzez spożycie ryb przez ciężarne, wiązana, jest z niekorzystnym wpływem na rozwój układu nerwowego u ich dzieci, jednak nie wszystkie wyniki badań potwierdzają te obserwacje [97].

Wspominając o ciąży, warto również zwrócić uwagę na metale toksyczne w aspekcie czynników wpływających na płodność u ludzi. Metale te mogą wywoływać zaburzenia hormonalne, zapobiegać owulacji oraz zapłodnieniu. Rtęć zaburza gospodarkę hormonalną, a kilka badań sugeruje, że ekspozycja na rtęć związana była z problemami reprodukcyjnymi takimi jak: wrodzone wady rozwojowe płodu, niepłodność, zaburzenia cyklu miesięczkowego, spontaniczne poronienia oraz obumarcie płodu. Zostały również przeprowadzone badania na modelach zwierzęcych (myszach) i okazuje się, że rtęć może wpływać na meiotyczne dojrzewanie oocytów myszy i może zmniejszać ich zdolność reprodukcyjną [27].

W latach 2004 do 2006 Fort i wsp. przeprowadzili badanie ekspozycji na metale toksyczne kobiet w I i III trymestrze ciąży na podstawie analizy moczu. Zbadano 657 kobiet, zamieszkujących Sabadell (Hiszpania) w wieku powyżej 16 lat w ciąży pojedynczej, które zgodziły się na badania oraz na poród w szpitalach Sabadell i w sąsiednim mieście Terrassa. Analiza pierwiastkowa dotyczyła takich metali jak: kobalt, nikiel, miedź, cynk, selen, arsen, molibden, kadm, cez, rtęć. Po analizie pierwiastkowej próbek moczu stwierdzono następujące korelacje. Stężenie metali takich jak: kobalt, miedź, cynk jest wyższe w trymestrze III w stosunku do I trymestru, natomiast stężenie kadmu, selenu jest niższe w trymestrze III w stosunku do I trymestru [35].

Udokumentowano, że suplementacja cynku w ciąży znacząco zwiększa wagę dziecka przy porodzie oraz zwiększa obwód głowy. Do dziś podaje się, że szacowana ilość cynku kumulowana w organizmie podczas ciąży to 100 gram. Są to doniesienia z lat osiemdziesiątych XX wieku [75].

Podaje się, że cynk ma również wpływ na niepłodność oraz zwiększa ryzyko poronień [95].

Znaczenie cynku dla wzrastania wewnątrzmacicznego płodu przejawia się w aktywnym transporcie cynku przez łożysko do krążenia płodowego, co skutkuje jego wyższymi stężeniami w krwi pępowinowej w porównaniu do krążenia matki. Badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych wykazały, że samice z ciężkim niedoborem cynku wykazują częstszą utratę płodu oraz częściej występują wrodzone wady rozwojowe płodów, które przeżyły. Te badania również potwierdzają zaburzenia wewnątrzmacicznego wzrostu płodu oraz niższe wskaźniki implantacji jak również zaburzenia wzrostu łożyska. Wszystkie badania na modelach zwierzęcych (gryzonie) podkreślają teratogenne skutki niedoboru cynku w czasie trwania ciąży [119].

Kolejnym pierwiastkiem badanym u ciężarnych w zakresie jego wpływu na przebieg ciąży i rozwoju płodu jest kadm. Ekspozycja ciężarnej na kadm jest przez naukowców wiązana z niekorzystnymi wynikami przebiegu ciąży, wśród których wymienia się zwiększone ryzyko poronienia oraz zaburzenia wewnątrzmacicznego

wzrastania płodu. Długotrwała ekspozycja podczas ciąży może mieć również niekorzystny wpływ na dalszy rozwój dziecka [29].

Ekspozycja ciężarnej, a w tym płodu w okresie prenatalnym na kadm znacząco obniża wagę urodzeniową, obwód głowy noworodka oraz zwiększa ryzyko porodu przedwczesnego. W swoim artykule Zhang i wsp. opisują badania Romana i wsp. [124] zespół ten w badaniu prospektywnym przedstawił zależność ekspozycji płodu na kadm, która jest związana z płcią, na wagę urodzeniową. Stwierdzono, że obniżona waga urodzeniowa pojawia się u dziewczynek, gdy u matki występował zwiększony poziom kadmu, a nie zaobserwowano takiej zależności u chłopców [124].

Statystycznie podaje się, że 8,1-30% ciężarnych pali. Do najbardziej toksycznych substancji, zawartych w dymie tytoniowym należą: cyjanowodór, nikotyna oraz substancje smoliste. Zarówno palenie aktywne jak i bierne w ciąży wiąże się z negatywnymi skutkami zdrowotnymi. Zaliczamy do nich między innymi wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu. Kotynina, jest głównym metabolitem nikotyny oraz markerem ekspozycji na dym tytoniowy. Jednym z dwóch najbardziej toksycznych metali, który wpływa na zaburzenia wzrostu płodu jest kadm. Okazuje się, że izoforma 2 białka transportującego metalotioneiny jest związana z obecnością kadmu i znajduje się w łożysku palących matek. Białko to bierze udział w regulowaniu transportu metali toksycznych do osocza oraz komórek. Kolejnym z metali toksycznych, znajdujących się w dymie tytoniowym jest ołów, który jest neurotoksyczny, a jego eliminacja z organizmu jest zdecydowanie trudniejsza i trwa dłużej [74].

Według doniesień naukowych kadm wpływa niekorzystnie na układ rozrodczy zarówno męski jak i żeński, powodując zaburzenia steroidogenezy oraz zmniejszoną jakość nasienia. Ponadto powoduje zahamowanie folikulogenezy oraz dojrzewania oocytów, zaburzenia owulacji, wadliwą implantację i poronienia. Okazuje się, że dym tytoniowy według badań epidemiologicznych jest jednym z czynników ryzyka wystąpienia ciąży pozamaciczej. Badania zarówno na ludziach jak i zwierzętach wykazują niekorzystny wpływ palenia na funkcjonowanie jajowodów, jednak dokładny mecha-

nizm wpływu dymu tytoniowego na wystąpienie ciąży pozamacicznej pozostaje nieznan [59].

Metalem, który z łatwością przenika przez barierę łożyska i występuje w krwi płodowej oraz płynie owodniowym jest nikiel. Badania przeprowadzone na zwierzętach wykazały, że nikiel indukuje nie tylko embriotoksyczność, fetotoksyczność, zmniejszoną masę ciała płodu, wady rozwojowe, ale może również doprowadzić do śmierci. Ze względu na te obserwacje odnotowujemy obecnie zwiększone zainteresowanie wpływem niklu na płód oraz noworodka. Ludzkie płody oraz niemowlęta uważa się za bardziej narażone na zagrożenia środowiskowe oraz bardziej wrażliwe od osób dorosłych [19].

Kolejnym pierwiastkiem analizowanym w zakresie jego wpływu na przebieg ciąży jest chrom. Chrom może przechodzić przez łożysko, stwarzając poważne zagrożenie dla płodu. U zwierząt obserwuje się działanie chromu, podobnie jak niklu, które jest feto- oraz embriotoksyczne. Obecność chromu wpływa na obniżenie masy urodzeniowej płodu, wady szkieletowe, opóźniony rozwój płodu, wady rozwojowe, a nawet śmierć. Przeprowadzone zostały badania epidemiologiczne, w celu zbadania związku pomiędzy ekspozycją na chrom w macicy a wynikami urodzeniowymi, niestety wyniki te były niespójne. Część z badań wskazuje zwiększone ryzyko wad rozwojowych, porodów przedwczesnych oraz niskiej masy urodzeniowej u niemowląt, których matki zamieszkiwały obszary zanieczyszczone chromem. Do takich obszarów zalicza się teren Chin. Obecnie wiedza na temat wpływu chromu na zdrowie człowieka, jest oparta w dużej mierze na danych pochodzących od osób zawodowo narażonych na kontakt z tym metalem. W ogólnej populacji posiadamy niewiele danych na temat skutków rozwojowych dla niemowląt poddanych wczesnej ekspozycji na chrom podczas trwania ciąży [84,121].

W trakcie rozwoju płodowego bariera krew-mózg pozostaje niedojrzała, co naraża płód w trakcie krytycznego okresu rozwoju neurologicznego na kontakt z ołowiem. Zarówno łożysko jak i bariera krew-mózg pozwalają na swobodne poruszanie się jonów ołowiu (Pb^{+2}) w wyniku pasywnej dyfuzji. Do głównych konse-

kwencji zatrucia ołowiem należy wymiana jonów wapnia na jony ołowiu. Taka wymiana dotyka układ neurologiczny w szczególnie hipokamp oraz doprowadza do upośledzenia pamięci. Poza przenikaniem ołowiu do ośrodkowego układu nerwowego, ołów wpływa na wzrost płodu oraz na wywołanie porodu przedwczesnego, poprzez zakłócenie prawidłowego funkcjonowania komórek. Niestety aktualnie bardziej rozumiemy konsekwencje neurologiczne ekspozycji płodu na ołów niż mechanizm jego wpływu na rozwój płodu i wywołanie porodu przedwczesnego. Jednakże w okresie prenatalnym ołów może również wywierać toksyczny wpływ na osteocyty płodu, czego konsekwencją jest zaburzenie wzrostu szkieletu. Ponadto może dojść do dodatkowego zatrzymania wzrastania płodu z powodu interakcji jonów ołowiu z hormonem stymulującym tarczycę, co prowadzi do zmniejszenia wzrostu narządów zbudowanych z tkanek miękkich, a to skutkuje zmniejszoną wagą urodzeniową. Nagromadzenie ołowiu w łożysku może zaburzyć funkcje łożyska, a tym samym transport składników odżywczych dla płodu. Zaburzenie tego transportu może doprowadzić do niedożywienia płodu. W dzisiejszych czasach ekspozycja na ołów została diametralnie zmniejszona, jednak nadal spotykamy się z przypadkami zatrucia ołowiem. Jednym z krajów rozwijających się, który nadal boryka się z problemem zanieczyszczenia ołowiem są Chiny. W trakcie ciąży obrót kostny matki jest wysoki ze względu na konieczność dostarczenia jonów wapnia dla rozwijającego się szkieletu płodu. Konsekwencją tego jest uwalnianie wyższych stężeń ołowiu u matek, których kościec był bardziej narażony na ekspozycję ołowiu, co prowadzi do narażenia płodu na ekspozycje wewnątrzmaciczną ze względu na łatwość przenikania ołowiu przez barierę łożyska oraz barierę krew-mózg [2,56,65].

I.6. Peroksydacja lipidów i stres oksydacyjny oraz wpływ jego produktu (malondialdehyd -MDA) na zapalenie przyzębia.

Lipidy dzielą się na dwie grupy: polarne i niepolarne. Trójglicerydy należą do lipidów niepolarnych, które przechowywane są w różnych komórkach, a głównie w tkance tłuszczowej, będąc jednocześnie jedną z głównych form magazynowania energii u ssaków. Strukturalnymi składnikami błon komórkowych są lipidy polarne, które uczestniczą w tworzeniu bariery przepuszczalności komórek i organelli wewnątrzkomórkowych w postaci dwuwarstwy lipidowej. Głównym lipidem znajdującym się i formującym dwuwarstwę lipidową jest fosfolipid oparty na glicerolu. Lipidy odgrywają również kluczową rolę w biologii jako cząsteczki sygnałowe. Peroksydacja lipidów jest to proces, w którym utleniacze, takie jak wolne rodniki oraz formy o nierodnikowym charakterze, „atakują” lipidy, zawierające wiązanie podwójne (podwójne wiązania węgiel - węgiel) szczególnie wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Glikolipidy, cholesterol oraz fosfolipidy są również znanymi „celami” niszczącej i potencjalnie śmiertelnej modyfikacji peroksydacyjnej. Peroksydacja lipidów lub reakcja tlenu z nienasyconymi lipidami jest efektem powstania szerokiej gamy produktów utleniania. Do pierwotnych produktów peroksydacji lipidów należą wodoronadtlenki lipidów. W latach osiemdziesiątych XX wieku, spośród różnych aldehydów, które mogą powstać jako produkty uboczne podczas peroksydacji lipidów Esterbauer i współpracownicy skupili się na malondialdehydzie (MDA) propanalu (aldehyd propionowy), heksanal (aldehyd kapronowy) oraz 4-hydroksynonenalu. Zakłada się, że MDA jest najbardziej mutagennym produktem peroksydacji lipidów, natomiast 4-hydroksynonenal jest najbardziej toksyczny. MDA od wielu lat jest szeroko stosowany jako wygodny marker do oznaczania peroksydacji lipidów kwasów tłuszczowych omega-3 oraz omega-6, ponieważ łatwo reaguje z kwasem tiobarbiturowym (TBA). Test z zastosowaniem TBA opiera się na jego reaktywności w stosunku do MDA, w efekcie którego uzyskujemy intensywnie zabarwiony czerwono-fluorescencyjny addukt. Chemicy żywienia po raz pierwszy wykorzystali ten test do oceny autooksydacyjnej degrada-

cji tłuszczów oraz olejów. Ze względu na notoryczną niespecyficzną reakcję substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) powstały kontrowersje dotyczące jego zastosowania do kwantyfikacji MDA z próbek in-vivo. W ciągu ostatniej dekady opracowanych zostało kilka technologii oznaczania wolnego i całkowitego MDA. Należą do nich chromatografia gazowa ze spektrometrią mas (GC-MS), chromatografia cieczowa ze spektrometrią mas (LC-MS) oraz kilka metod opartych na derywatywacji. MDA jest jednym z najbardziej popularnych i wiarygodnych markerów określających stres oksydacyjny w sytuacjach klinicznych. Ze względu na swoją wysoką reaktywność oraz toksyczność jest niezwykle istotny dla naukowców, których zainteresowaniem są badania biomedyczne [7,31,41].

Patogeneza zapaleń przyzębia jest przedmiotem wielu badań. Niestety mechanizmy rozwoju zapaleń przyzębia nie są w pełni poznane. Generacja reaktywnych form tlenu (ROS) jest częścią patofizjologicznej progresji choroby, której przyczyną są wieloczynnikowe. Śladowe wskaźniki stresu oksydacyjnego i statusu antyoksydacyjnego stanowią obiecujące narzędzie do badań chorób jamy ustnej. Reaktywne formy tlenu to wysoko reaktywne, charakteryzujące się krótkim okresem półtrwania pochodne metabolizmu tlenu, które wytwarzane są we wszystkich systemach biologicznych. Niski poziom reaktywnych form tlenu jest niezbędny w wielu procesach biochemicznych takich jak podziały komórkowe, apoptoza oraz wstrzymanie wzrostu komórki. ROS doprowadzają do zniszczenia tkanek poprzez wiele mechanizmów, do których należy uszkodzenie DNA, peroksydacja lipidów, zniszczenie białek oraz oksydacja enzymów. Antyoksydacyjne systemy obronne, skupiające się na usunięciu ROS, są niezbędne do utrzymania stanu zdrowia. Zwykle występuje dynamiczny stan równowagi pomiędzy reaktywnością ROS oraz antyoksydacyjną zdolnością obronną organizmu. Stres oksydacyjny określa się, jako obecność aktywnych cząstek tlenu, przekraczających dostępne zdolności buforowania antyoksydantów. Stres oksydacyjny jest szkodliwy z powodu wolnych rodników tlenowych atakujących lipidy, białka, a także DNA. Mimo to stres oksydacyjny ma również użyteczną rolę w fizjologicznej adaptacji i regulacji wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnału. Bardziej uży-

tecznym określeniu stresu oksydacyjnego może być "stan, w którym siły oksydacyjne przewyższają systemy antyoksydacyjne z powodu utraty równowagi między nimi". Innymi słowy, stres oksydacyjny można zdefiniować jako uszkodzenie tkanki wynikające z braku równowagi pomiędzy nadmiernie wytwarzanymi związkami utleniającymi i niewystarczającymi mechanizmami obronnymi przeciwutleniaczy. Biomarkery, które można wykorzystać do oceny stresu oksydacyjnego *in vivo*, wzbudzają zainteresowanie w ostatnich latach, ponieważ dokładny pomiar takiego stresu jest niezbędny do zbadania ich roli w chorobach związanych ze stylem życia, a także do oceny powodzenia leczenia. Wolne rodniki mają bardzo krótki okres półtrwania (rzędu kilku sekund), a ich pomiar *in vivo* napotyka wiele wyzwań. Jednak pochodne rodników tlenowych (np. nadtlenek wodoru lub wodoronadtlenki lipidów) są stabilne i mają długi okres półtrwania (od godzin do tygodni), a zatem mogą być wielokrotnie mierzone i monitorowane. Zaproponowano wiele markerów utleniających w organizmie, w tym wodoronadtlenki lipidów, 4-hydroksy-nonenal, izoprostany (IsoPs), 8-hydroksy-2-deoksyguanaminę (8-OHdG), aldehyd malonowy (MDA), alantoinę lub substancje reaktywne kwasu tiobarbiturowego (TBARS) [3,8,22].

W piśmiennictwie nadal jest niewiele badań w zakresie oceny stężeń metali toksycznych w poszczególnych trymestrach ciąży. Rzadko publikowane są wyniki dotyczące analizy peroksydacji lipidów i stresu oksydacyjnego w poszczególnych trymestrach ciąży w relacji do stomatologicznych wskaźników stanu jamy ustnej. Interesującym wydaje się również skorelowanie w/w parametrów z ich wpływem na stan jamy ustnej kobiet nieciążarnych, dlatego właśnie podjęłam ten temat.

II. Cel Pracy

Zanieczyszczenie środowiska ma coraz większy wpływ na stan zdrowia człowieka. Jednym z najważniejszych okresów w życiu człowieka, który odbija się na dalszym jego życiu, jest okres prenatalny. Kobiety ciężarne szczególnie narażone są na szkodliwe skutki kontaktu z metalami ciężkimi.

Głównym celem pracy jest ocena stężeń wybranych metali oraz peroksydacji lipidów w ślinie kobiet ciężarnych.

Cele szczegółowe:

1. Wyznaczenie stężenia wybranych metali: cynku, ołowiu, rtęci, kadmu, chromu oraz niklu w ślinie niestymulowanej kobiet ciężarnych w poszczególnych trymestrach ciąży w porównaniu z kobietami nie ciężarnymi.
2. Analiza stężenia aldehydu malonowego (TBARS) w ślinie kobiet ciężarnych w poszczególnych trymestrach ciąży w porównaniu z kobietami nie ciężarnymi.
3. Analiza badań ankietowych pod kątem warunków socjoekonomicznych badanych kobiet oraz przyjmowania suplementów lub jego braku w stosunku do zawartości wybranych metali toksycznych oraz TBARS w ślinie.
4. Ocena potencjalnego wpływu wybranych metali oraz TBARS w ślinie kobiet ciężarnych na stan jamy ustnej.

III. Materiał i metody:

1. Badane grupy

Badania przeprowadzono na grupie 200 kobiet hospitalizowanych w Klinice Zdrowia Matki i Dziecka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej działającej w oparciu o polskie przepisy prawa i Good Clinical Practice przy Uniwersytecie Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu o numerze uchwały 723/16 wydaną 16.06.2016 r. (Załącznik nr 5).

Kobiety badane podzielono na 4 grupy:

Grupa A (ciężarne I trymestr) – **n=50**,

Grupa B (ciężarne II trymestr) – **n=50**,

Grupa C (ciężarne III trymestr) – **n=50**

Grupa K (nieciążarne – grupa kontrolna) – **n=50**.

Udział pacjentek w badaniach był dobrowolny, a kobiety przed wyrażeniem zgody otrzymywały informację o celu oraz istotności ich wykonywania (Załącznik nr 4).

Badania wykonywano w godzinach przedpołudniowych w okresie od lutego 2017 do października 2018. Na początku zbierany był wywiad ogólny dotyczący: wieku, przebiegu ciąży, w tym w jakim tygodniu ciąży jest pacjentka (poza pacjentkami z grupy kontrolnej), historii wcześniejszych ciąż, daty ostatniej miesiączki oraz przyjmowanych leków. Następnie przeprowadzone zostało badanie ankietowe (Załącznik nr 3) zawierające pytania dotyczące historii palenia tytoniu, nawyków żywieniowych oraz historii choroby przyzębia w rodzinie. Do każdej z kart badań (Załącznik nr 1) dołączono zgodę pacjentki na wyżej wymienione badania (Załącznik nr 4).

III.1 Kliniczne badanie stomatologiczne

U wszystkich pacjentek przeprowadzono kliniczne badanie stomatologiczne. Oceniono intensywność próchnicy zębów oraz stan higieny jamy ustnej i dziąseł. W badaniu klinicznym uwzględniono liczbę wypełnień amalgamatowych. Badanie przeprowadzono za pomocą lusterka i zgłębnika stomatologicznego w oświetleniu sztucznym.

Ocena zachorowalności na próchnicę zębów

Stan zębów oceniono za pomocą liczby PUWZ. Liczba PUWZ oznacza sumę zębów dotkniętych próchnicą, gdzie P oznacza liczbę zębów z aktywną próchnicą pierwotną lub wtórną; U oznacza sumę zębów usuniętych z powodu próchnicy; a W – sumę zębów wypełnionych z powodu próchnicy [87].

Ocena stanu higieny jamy ustnej

Do oceny stanu higieny jamy ustnej zastosowano dwa wskaźniki: Plaque Index (PI) wg Silness i Løe [101] oraz Simplified Oral Hygiene Index - (OHI-S) wg Green'a i Vermilion [87].

Plaque Index (PI) - wskaźnik płytki bakteryjnej, ocenia ilość płytki bakteryjnej, która znajduje się przy brzegu dziąsłowym na 4 powierzchniach zęba (językowej, policzkowej, mezialnej, dystalnej) po lekkim osuszeniu bez wybarwienia.

Skala kryterium oceny wskaźnika Plaque Index:

0 – brak płytki

1 – cienka warstwa płytki w okolicy brzegu dziąsła, identyfikowana tylko dzięki badaniu zgłębnikiem

2 – umiarkowana warstwa płytki wzdłuż brzegu dziąsła, rozpoznawana gołym okiem, przestrzenie międzyzębowe wolne od płytki

3– obfite złogi płytki wzdłuż brzegu dziąsłowego, w przestrzeniach zębowych zalega płytka

Wartości sumuje się i dzieli przez 4, co daje średnią wartość płytki dla 1 zęba. PI oceniany był na następujących zębach: 16, 21, 24, 44, 41, 46.

Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S) - uproszczony wskaźnik higieny jamy ustnej ocenia ilość nalotu oraz kamienia.

Kryteria oceny nalotu:

0 - brak obecności nalotu czy przebarwienia

1 - miękki nalot pokrywa nie więcej niż 1/3 powierzchni zęba lub zewnętrzne przebarwienie bez względu na zasięg

2 - miękki nalot pokrywa od 1/3 do 2/3 powierzchni zęba

3 - miękki nalot pokrywa ponad 2/3 powierzchni zęba

Kryteria oceny kamienia

0 - brak obecności kamienia

1 – naddziąsłowy kamień pokrywa nie więcej niż 1/3 powierzchni korony zęba

2 - naddziąsłowy kamień pokrywa koronę zęba od 1/3 do 2/3 powierzchni i występują pojedyncze wysepki kamienia poddziąsłowego w niektórych miejscach szyjki zębowej

3 - naddziąsłowy kamień pokrywa ponad 2/3 powierzchni korony i występują znaczne ilości złogów kamienia poddziąsłowego dookoła szyjki zębowej

Oddzielnie badane są powierzchnie policzkowe oraz językowe. Uzyskane liczby nalotu/kamienia sumuje się i dzieli przez liczbę badanych zębów. Wskaźnik jest sumą wskaźnika nalotu i kamienia. Wskaźnik OHI-S oceniany był na następujących zębach: 16, 21, 24, 44, 41, 4

Ocena stanu dziąseł

Do oceny stanu dziąseł zastosowano wskaźniki Gingival Index (GI) wg Löe i Silness [67] oraz Bleeding on Probing (BoP) wg Ainamo i Baya [1].

Wskaźnik dziąsłowy GI pozwala na określenie stanu brzegu dziąsłowego przy czterech powierzchniach zęba. Uwzględnia brak lub obecność objawów zapalenia dziąseł, takich jak obrzęk, zmiana zabarwienia, krwawienie przy zgłębnikowaniu i krwawienie samoistne. Kryteria oceny tego wskaźnika opierają się na zmianach jakościowych w dziąśle.

Skala kryterium oceny wskaźnika:

0 - dziąsło prawidłowe

1- lekkie (łagodne) zapalenie: niewielka zmiana zabarwienia, niewielki obrzęk, brak krwawienia przy badaniu zgłębnikiem 0,1-1,0

2- średnie (umiarkowane) zapalenie: wyraźne zaczerwienienie, obrzęk, błyszcząca powierzchnia, krwawienie przy badaniu zgłębnikiem, wartości od 1,0 do 2,0

3- zaawansowane (ciężkie) zapalenie: znaczne krwawienie i obrzęk, owrzodzenia, skłonność do spontanicznego krwawienia, wartości powyżej 2,0

Ocenia się dziąsło w każdej z 4 powierzchni, po zsumowaniu wyniku oraz podzieleniu przez 4 uzyskujemy liczbę dla jednego zęba. Następnie dodajemy do siebie liczby przypisane do badanych zębów i dzielimy przez ilość badanych zębów, co daje nam średnią wartość GI dla jamy ustnej. Wskaźnik GI oceniany był na następujących zębach: 16, 21, 24, 44, 41, 46.

Wskaźnik Bleeding on Probing (BoP) jest wskaźnikiem dychotomicznym, który określa występowanie lub brak krwawienia dziąsła podczas zgłębnikowania. Wskaźnik badany jest na 4 powierzchniach zęba, we wszystkich zębach z pominięciem trzecich zębów trzonowych. Wartość wskaźnika podawana jest w procentach. W stanie uogólnionego i intensywnego zapalenia jego wartość sięga 50– 100%, a w stanie prawidłowym wartość nie przekracza 10%. Wskaźnik określamy dzieląc liczbę powierzchni krwawiących przez liczbę wszystkich ocenianych powierzchni oraz mnożąc uzyskany wynik razy 100.

III.2 Materiał biologiczny - ślina

Materiał do badań laboratoryjnych stanowiła niestymulowana ślina. Zbiórki śliny dokonywano zawsze o jednakowej porze dnia w godzinach przedpołudniowych. Zgodnie z protokołem badawczym, wszystkie pacjentki poddane badaniu były na czczo, lub przynajmniej 2 godziny po posiłku, czy po paleniu tytoniu [70].

Zbiórki śliny dokonywano przy zastosowaniu próbek Salivette firmy Sarstedt w następujący sposób: pacjentki znajdując się w zrelaksowanej, wygodnej, siedzącej pozycji z głową lekko pochyloną do przodu przez okres 5 min trzymały wacik w jamie ustnej, który nasącał się śliną, którą następnie wraz z wacikiem wypluwały do próbki [70].

Natychmiast po pobraniu ślinę przekazywano do laboratorium szpitalnego, w którym została odwirowana (15 min/3500 rpm). Materiał odpowiednio podzielono, zabezpieczono i przechowywano w temperaturze -80°C do momentu rozpoczęcia właściwych analiz.

Zamrożony materiał badawczy transportowano do Laboratorium Zakładu Medycyny Środowiskowej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w

Poznaniu. W ślinie (o objętości 100 μL) dokonano pomiaru parametru biochemicznego – peroksydacji lipidów metodą z kwasem tiobarbiturowym (TBA).

Oznaczenia zawartości pierwiastków w ślinie (o objętości 1 mL, utrwalonej stężonym kwasem azotowym) zostały wykonane w Zakładzie Chemii Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu.

III.3 Metodyka badania biochemicznego śliny

Peroksydacja lipidów

Wyznaczanie stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w ślinie

Pomiar substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (ang. *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*, TBARS) to powszechnie wykorzystywana metoda do monitorowania peroksydacji lipidów.

W celu oznaczenia stopnia peroksydacji lipidów w badanych próbkach śliny dokonano pomiaru najważniejszego produktu tej reakcji jakim jest malondialdehyd (MDA). W tym celu wykorzystano metodę z kwasem tiobarbiturowym (TBA), stosowaną klasycznie do tego typu oznaczeń [32]. Do analizy wykorzystano zestaw komercyjny TBARS Assay Kit (Cayman Chemicals, Stany Zjednoczone). Do 100 μL śliny dodawano po 100 μL 10% kwasu trichlorooctowego oraz 800 μL odczynnika barwiącego (przygotowanego poprzez rozpuszczenie 106 mg kwasu tiobarbiturowego w 10 ml kwasu octowego i 10 ml wodorotlenku sodu, co wystarczało do oznaczenia 24 próbek). Po wymieszaniu, próbki inkubowano w łaźni wodnej w temperaturze 99°C przez 1h w celu przyspieszenia reakcji tworzenia kompleksów MDA-TBA. Po tym czasie reakcję zatrzymano poprzez umieszczenie próbek w lodzie na okres 10 min. Następnie badane próbki odwirowano (10 min., 1,600 x g, 4°C) i z każdej próbki przenoszono 200 μL supernatantu do dołka płytki 96-dołkowej i dokonywano odczytu absorbancji

przy długości $\lambda=535$ nm za pomocą multifunkcyjnego czytnika (BioTek, Stany Zjednoczone). Uzyskane wartości absorbancji porównywano z krzywą wzorcową przygotowaną w oparciu o roztwór standardowy MDA (Cayman Chemical, Stany Zjednoczone). Współczynnik determinacji (r^2) dla krzywej wzorcowej wynosił 0,99.

Wyznaczenie stężenia metali w ślinie

W celu wyznaczenia stężenia metali w ślinie zastosowano technikę spektrometrii mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ang. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, ICP-MS) dla niklu, chromu, ołowiu, rtęci oraz kadmu.

W pierwszym etapie badań próbki śliny poddano mineralizacji. Na podstawie danych literaturowych opracowano i zoptymalizowano procedurę mineralizacji próbek śliny. Do wysokociśnieniowych naczyń teflonowych wprowadzono 1 mL badanej próbki śliny. Następnie dodano 2 mL stężonego 65% kwasu azotowego (V). Naczynia zamknięto i umieszczono w mineralizatorze mikrofalowym MARS 6 firmy CEM. Próbkę ogrzewano do temperatury 180°C przez 20 minut i utrzymywano je przez kolejne 3 minuty. Uzyskane mineralizaty, schłodzone do temperatury pokojowej, przenoszono ilościowo do kolbek miarowych i dopełniano wodą ultraczystą (urządzenie MilliQ (Millipore, USA) do objętości 5 mL. Próbkę do momentu analizy przechowywano w lodówce.

Analizę podstawowych izotopów pierwiastków: glinu (Al), kadmu (Cd), kobaltu (Co), żelaza (Fe), rtęci (Hg), niklu (Ni), fosforu (P), ołowiu (Pb), wanadu (V), cynku (Zn), chromu (Cr) oraz berylu (Be) prowadzono za pomocą atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie indukowanej (ang. *Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry*, ICP-OES). Zastosowano w tym celu instrument Agilent 5100 (Agilent, Stany Zjednoczone) wykorzystujący do atomizacji i wzbudzenia fale radiowe o wysokiej częstotliwości, które wytwarzają plazmę o wysokiej temperaturze (7000 K). W wyniku tego działania związki chemiczne rozpadają się do

atomów, ulegają wzbudzeniu i emitują pochłoniętą energię w postaci promieniowania elektromagnetycznego. Metoda ta z powodzeniem została wykorzystana do analizowania zawartości składu pierwiastkowego w płynach ustrojowych [49,90]. Do kalibracji urządzenia wykorzystano komercyjne wzorce analityczne CM17 PrimAg Plus i KP7 Prim Ag (Romil, Wielka Brytania). Zastosowano następujące długości fal (nm): Al – 396.152, Cd - 214.439, Co - 238.892, Fe -238.204, Hg - 194.164, Ni - 231.604, P - 214.912; Pb - 220.353, V - 292.401, Zn - 213.857, Cr - 267.716, Be - 313.042. Limit detekcji wynosił: 0,00053 mg/L dla Al, 0,00026 mg/L dla Cd, 0,0004 mg/L dla Fe, 0,00082 mg/L dla P, 0,00093 mg/L dla Ni, 0,0023 mg/L dla Pb, 0 00029 mg/L dla Co, 0.0023 mg/L dla Hg, 0.0018 mg/L dla V, 0.0018 mg/L dla Zn, 0.00033 mg/L dla Cr oraz 0.0026 mg/L dla Be.

III.4 Metody statystyczne

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej. Dla wszystkich zmiennych ustalono skalę porządkową zarówno dla poziomów metali toksycznych, MDA oraz wskaźników stomatologicznych (GI, PI, BoP, PUWZ oraz OHI-S). Wszystkie zmienne zostały określone mianem zmiennych nieparametrycznych. Dla zmiennych w skali porządkowej obliczone zostały następujące wartości: wartość średniej, mediany, odchylenia standardowego, minimum, maksimum oraz dolnego i górnego kwartyłu. W celu porównania wartości badanych pomiędzy grupami zastosowano test U Manna-Whitneya. Korelacje badanych wartości w badanych grupach zbadano z wykorzystaniem testu Spearman-R.

Poziom istotności α dla wszystkich obliczeń przyjęto na poziomie 0,05.

IV. Wyniki

Do badań włączono 200 pacjentek Kliniki Zdrowia Matki i Dziecka w Szpitalu Ginekologiczno-Położniczym Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Szczegóły na temat podziału grup znajdują się w rozdziale III (Materiał i metody).

Średnia wieku badanych pacjentek wynosiła 30,29 ($\pm 5,58$). Najmłodsza z pacjentek miała 15 lat, a najstarsza 47. Wiek pacjentek kształtował się następująco <20 lat - 2 pacjentki, ≥ 20 lat - 87 pacjentek, ≥ 30 lat - 103 pacjentki, ≥ 40 lat - 8 pacjentek. W grupie A średnia wieku pacjentek wynosiła 31,38 ($\pm 4,55$), w grupie B średnia wieku wynosiła 31,98 ($\pm 4,56$), w grupie C średnia wieku wynosiła 30,14 ($\pm 5,14$) oraz w grupie K średnia wieku wynosiła 27,66 ($\pm 6,88$). Wyniki uzyskane na podstawie badania ankietowego dotyczące zamieszkania pacjentek (wieś, gmina, miasto), wieku oraz zawartości badanych metali toksycznych zamieszczono w Tabeli 1 oraz Tabeli 2. Przedział ufności dla średniej w przypadku tej analizy wynosi 95%.

Tabela 1. Wiek i miejsce zamieszkania w badanych grupach.

PARAMETR	Grupa A (n=50)	Grupa B (n = 50)	Grupa C (n = 50)	Grupa K (n = 50)	Badana populacja (n=200)
Wiek (lata) (średnia \pm SD):	31,38 \pm 4,55	31,98 \pm 4,56	30,14 \pm 5,14	27,66 \pm 6,88	30,29 \pm 5,58
Miejsce zamieszkania(%)					
Miasto	66 (33)	52 (26)	64 (32)	62 (31)	61 (122)
Wieś	18 (9)	34 (17)	26 (13)	34 (17)	28 (56)
Gmina	16 (8)	14 (7)	10(5)	4 (2)	11 (22)

Tabela 2. Średnie stężenie metali w ślinie w zależności od miejsca zamieszkania.

PARAMETR	Grupa A (n=50)	Grupa B (n = 50)	Grupa C (n = 50)	Grupa K (n = 50)	Badana populacja (n=200)
Średnie stężenie pierwiastków (mg/L):					
Cr					
Miasto	0,004 ± 0,004	0,008 ± 0,007	0,010 ± 0,009	0,006 ± 0,006	0,007 ± 0,007
Wieś	0,006 ± 0,006	0,007 ± 0,011	0,013 ± 0,007*	0,004 ± 0,002*	0,008 ± 0,008
Gmina	0,007 ± 0,007	0,006 ± 0,006	0,006 ± 0,006	0,002 ± 0,001	0,006 ± 0,006
Cd					
Miasto	0,002 ± 0,002	0,003 ± 0,003	0,002 ± 0,003	0,002 ± 0,004	0,003 ± 0,003
Wieś	0,001 ± 0,001	0,004 ± 0,010	0,003 ± 0,003	0,001 ± 0,001	0,003 ± 0,006
Gmina	0,002 ± 0,002	0,002 ± 0,002	0,002 ± 0,001	0,001 ± 0,000	0,002 ± 0,002
Ni					
Miasto	0,004 ± 0,007*	0,005 ± 0,008*	0,007 ± 0,011*	0,018 ± 0,025*	0,012 ± 0,018
Wieś	0,010 ± 0,017	0,012 ± 0,018	0,021 ± 0,026*	0,004 ± 0,005*	0,009 ± 0,016
Gmina	0,002 ± 0,000	0,006 ± 0,010	0,012 ± 0,022	0,002 ± 0,000	0,006 ± 0,012
Zn					
Miasto	0,014 ± 0,025	0,016 ± 0,023	0,013 ± 0,016	0,021 ± 0,033	0,016 ± 0,025
Wieś	0,015 ± 0,024	0,117 ± 0,434	0,008 ± 0,015*	0,011 ± 0,006*	0,044 ± 0,240
Gmina	0,012 ± 0,012	0,007 ± 0,004	0,006 ± 0,006	0,018 ± 0,006	0,010 ± 0,009
Hg					
Miasto	0,023 ± 0,031	0,019 ± 0,024	0,032 ± 0,043	0,027 ± 0,031	0,026 ± 0,034
Wieś	0,014 ± 0,013	0,031 ± 0,051	0,035 ± 0,038	0,017 ± 0,017	0,026 ± 0,036
Gmina	0,022 ± 0,018	0,017 ± 0,015	0,012 ± 0,012	0,002 ± 0,000	0,017 ± 0,016
Pb					
Miasto	0,218 ± 0,498	0,266 ± 0,538	0,790 ± 1,152	0,465 ± 0,674	0,441 ± 0,794
Wieś	0,034 ± 0,039	0,894 ± 1,860*	0,345 ± 0,596	0,101 ± 0,335*	0,388 ± 1,115
Gmina	0,155 ± 0,427	0,417 ± 0,724	0,127 ± 0,207	0,002 ± 0,000	0,219 ± 0,490

* - istotne statystycznie różnice w porównaniu grup A, B, C do grupy K

W populacji kobiet zamieszkujących miasta istotne różnice statystyczne odnotowano w ślinie kobiet Grupy C (III trymestr) w stosunku do pacjentek grupy K (kontrola) w stężeniu niklu na poziomie $p = 0,020$, przy wartościach średniego stężenia niklu – dla Grupy C (0,007 mg/L) oraz Grupy K (0,018 mg/L). W porównaniu pacjentek grupy B (II trymestr) do kobiet grupy K istotne różnice statystyczne wykazano w stężeniu ni-

klu, $p=0,027$ przy wartościach średniej Ni Grupa B(0,006 mg/L) oraz Grupa K (0,018 mg/L). Istotne statystycznie różnice zanotowano u kobiet grupy A (I trymestr) w porównaniu do grupy K w stężeniu niklu. Stężenie niklu ($p=0,0003$) w ślinie kobiet grupy A wynosiło 0,005 mg/L, natomiast u kobiet z grupy K - 0,018 mg/L.

W populacji kobiet zamieszkujących gminy nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy pacjentkami badanych grup.

W populacji kobiet zamieszkujących wieś istotne różnice statystyczne odnotowano w ślinie kobiet grupy C (III trymestr) w stosunku do pacjentek grupy K (kontrola) w stężeniach niklu, cynku oraz chromu, Stężenie niklu ($p=0,037$) w ślinie kobiet grupy C wynosiło 0,022 mg/L, natomiast u kobiet grupy K - 0,004 mg/L. Stężenie cynku ($p=0,026$) w ślinie kobiet grupy C wynosiło 0,009 mg/L, a w ślinie kobiet grupy K - 0,011 mg/L. Stężenie chromu ($p=0,006$) w ślinie kobiet grupy C wynosiło 0,013 mg/L, natomiast w ślinie grupy K - 0,005 mg/L. W ślinie kobiet grupy B (II trymestr) istotne statystycznie różnice wykazano w stężeniu ołowiu ($p=0,014$), którego stężenie w ślinie kobiet grupy B wynosiło 0,894 mg/L, natomiast w ślinie grupy K - 0,101 mg/L.

W ślinie kobiet grupy A (I trymestr) nie było istotnych statystycznie różnic.

Następnie analizie statystycznej poddano obecność wypełnień amalgamatowych w grupie badanej do obecności TBARS oraz metali w ślinie.

Pacjentki podzielono na 2 grupy, grupę posiadającą wypełnienia amalgamatowe oraz grupę, która nie posiadała wypełnień amalgamatowych. Statystycznie istotne różnice wykazane zostały w grupie kobiet, które nie miały wypełnień amalgamatowych. Przedział ufności dla średniej w przypadku tej analizy wynosi 95%.

Wyniki przedstawiono w tabeli 3 A (pacjentki bez amalgamatów) oraz tabeli 3 B (pacjentki z amalgamatami).

Tabela 3A. Średnie stężenia badanych pierwiastków w ślinie pacjentek u których nie stwierdzono w zębach obecności wypełnień amalgamatowych.

	Wszystkie grupy	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Całkowita liczba pacjentek w grupie	118	29	29	26	34
Średnia zawartość Cr (mg/L)	0,007 ± 0,008	0,004 ± 0,004	0,008 ± 0,010	0,010 ± 0,009	0,006 ± 0,005
Średnia zawartość Cd (mg/L)	0,002 ± 0,004	0,002 ± 0,002	0,004 ± 0,008*	0,002 ± 0,003	0,002 ± 0,003
Średnia zawartość Ni (mg/L)	0,009 ± 0,017	0,005 ± 0,009*	0,006 ± 0,012*	0,013 ± 0,021	0,013 ± 0,021*
Średnia zawartość Zn (mg/L)	0,029 ± 0,166	0,015 ± 0,026	0,074 ± 0,333	0,008 ± 0,010*	0,017 ± 0,021*
Średnia zawartość Hg (mg/L)	0,022 ± 0,029	0,016 ± 0,022	0,028 ± 0,042	0,023 ± 0,024	0,020 ± 0,026
Średnia zawartość Pb (mg/L)	0,433 ± 0,947	0,106 ± 0,364*	0,696 ± 1,473	0,569 ± 0,901	0,383 ± 0,661*

*istotne statystycznie różnice w porównaniu grup A, B, C do grupy K

Istotne statystycznie różnice w grupie 118 pacjentek nieposiadających wypełnień amalgamatowych odnotowano w ślinie kobiet grupy A (I trymestr) w stosunku do grupy K (kontrola) w stężeniach TBARS, niklu oraz ołowiu.

Stężenie TBARS ($p=0,004$) w ślinie kobiet grupy A wynosiło $4,719 \mu\text{mol/L}$, natomiast w ślinie kobiet grupy K $-6,752 \mu\text{mol/L}$. Stężenie niklu ($p=0,002$) u pacjentek grupy A wynosiło $0,005 \text{ mg/L}$, a u pacjentek grupy K $-0,013 \text{ mg/L}$. Stężenie ołowiu ($p=0,041$) u kobiet grupy A wynosiło $0,106 \text{ mg/L}$, natomiast u kobiet grupy K $-0,383 \text{ mg/L}$.

Istotne statystycznie różnice odnotowano w stężeniach kadmu oraz niklu w grupie B (II trymestr) w porównaniu do grupy K. Stężenie kadmu ($p=0,022$) w ślinie kobiet grupy B wynosiło 0,004 mg/L, natomiast w ślinie kobiet grupy K - 0,002 mg/L.

Stężenie niklu ($p=0,033$) u pacjentek grupy B wynosiło 0,006 mg/L, a u pacjentek grupy K - 0,013 mg/L.

W porównaniu pacjentek grupy C (III trymestr) do pacjentek grupy K istotna statystycznie różnica wystąpiła w stężeniu cynku ($p=0,005$). Stężenie cynku w ślinie kobiet grupy C wynosiło 0,008 mg/L, natomiast w ślinie kobiet grupy K - 0,017 mg/L.

Tabela 3B. Średnie stężenia badanych pierwiastków w ślinie pacjentek u których stwierdzono w zębach obecność wypełnień amalgamatowych.

	Wszystkie grupy	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Całkowita liczba pacjentek w grupie	82	21	21	24	16
Średnia zawartość Cr (mg/L)	0,007 ± 0,007	0,006 ± 0,006	0,006 ± 0,005	0,010 ± 0,009*	0,004 ± 0,003*
Średnia zawartość Cd (mg/L)	0,002 ± 0,003	0,002 ± 0,002	0,001 ± 0,002*	0,002 ± 0,003	0,002 ± 0,003*
Średnia zawartość Ni (mg/L)	0,009 ± 0,015	0,005 ± 0,009	0,011 ± 0,013	0,010 ± 0,015	0,011 ± 0,022
Średnia zawartość Zn (mg/L)	0,015 ± 0,023	0,012 ± 0,017	0,014 ± 0,021	0,015 ± 0,019	0,018 ± 0,036
Średnia zawartość Hg (mg/L)	0,029 ± 0,036	0,028 ± 0,031	0,016 ± 0,022	0,041 ± 0,050	0,028 ± 0,029
Średnia zawartość Pb (mg/L)	0,356 ± 0,749	0,270 ± 0,521	0,231 ± 0,569	0,650 ± 1,109	0,194 ± 0,390

*istotne statystycznie różnice w porównaniu grup A, B, C do grupy K

W porównaniu korelacji grup kobiet, które posiadały wypełnienia amalgamatowe oraz tych, które nie posiadały wypełnień amalgamatowych, istotne statystycznie różnice wykazano w stężeniu TBARS w grupach posiadających wypełnienia amalgamatowe (Tabela 3B), grupa liczyła 82 osoby (grupa 1) oraz w grupie nieposiadającej wypełnień amalgamatowych (Tabela 3A), grupa liczyła 118 osób (grupa 2), $p=0,020$ przy średnim stężeniu, które dla grupy pacjentek posiadających wypełnienia amalgamatowe wynosiło $7,121 \mu\text{mol/L}$, natomiast dla grupy pacjentek nieposiadających wypełnień amalgamatowych wynosiło - $6,026 \mu\text{mol/L}$. Kolejną istotną statystycznie różnicą było porównanie stężenia TBARS ($p=0,003$) u pacjentek w I trymestrze ciąży w grupie z wypełnieniami amalgamatowymi do grupy pacjentek bez wypełnień amalgamatowych. U ciężarnych w I trymestrze posiadających wypełnienia amalgamatowe średnie stężenie TBARS wynosiło $6,740 \mu\text{mol/L}$, natomiast u ciężarnych w I trymestrze nieposiadających wypełnień amalgamatowych - $4,719 \mu\text{mol/L}$.

Kolejna analiza statystyczna dotyczyła przyjmowania suplementów diety przez pacjentki. Pacjentki podzielono na grupę przyjmującą suplementy oraz nie przyjmującą suplementów. Wyniki przedstawiono w tabelach Tabela 4A (pacjentki nie przyjmujące suplementów) oraz Tabela 4B (pacjentki przyjmujące suplementy). Przedział ufności dla średniej w przypadku tej analizy wynosi 95%.

Tabela 4A. Średnie stężenia badanych pierwiastków w ślinie pacjentek nieprzyjmujących suplementów.

	Wszystkie grupy	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Całkowita liczba pacjentek w grupie	53	9	4	10	30
Średnia zawartość Cr (mg/L)	0,007 ± 0,007	0,006 ± 0,006	0,005 ± 0,007	0,013 ± 0,010*	0,006 ± 0,005*
Średnia zawartość Cd (mg/L)	0,002 ± 0,004	0,002 ± 0,002	0,001 ± 0,001	0,004 ± 0,005*	0,002 ± 0,004*
Średnia zawartość Ni (mg/L)	0,014 ± 0,024	0,002 ± 0,004*	0,016 ± 0,027	0,020 ± 0,030	0,016 ± 0,024*
Średnia zawartość Zn (mg/L)	0,014 ± 0,021	0,007 ± 0,005	0,011 ± 0,004	0,010 ± 0,010	0,018 ± 0,027
Średnia zawartość Hg (mg/L)	0,032 ± 0,041	0,024 ± 0,035	0,026 ± 0,045	0,058 ± 0,064*	0,026 ± 0,031*
Średnia zawartość Pb (mg/L)	0,482 ± 0,870	0,204 ± 0,594	0,543 ± 0,930	1,085 ± 1,406	0,356 ± 0,626

*istotne statystycznie różnice w porównaniu grup A, B, C do grupy K

W porównaniu kobiet, które nie przyjmowały suplementów w I trymestrze (Grupa A) do kobiet w grupie kontrolnej (Grupa K) w ślinie istotne statystycznie różnice wykazano w stężeniu niklu ($p=0,003$), przy wartościach średniego stężenia niklu dla Grupy A (0,002 mg/L) oraz dla grupy K (0,016 mg/L). W porównaniu pacjentek grupy B (II trymestr) do kobiet grupy K nie wykazano istotnych statystycznie różnic. W porównaniu pacjentek grupy C (III trymestr) do kobiet grupy K wykazano istotne statystycznie różnice w stężeniach kadmu, rtęci oraz chromu. Stężenie kadmu ($p=0,042$) w ślinie kobiet grupy C wynosiło 0,004 mg/L, natomiast u kobiet grupy K - 0,002 mg/L. Stężenie rtęci ($p=0,039$) w ślinie przy pacjentek grupy C wynosiło 0,058 mg/L, natomiast u pacjentek grupy K - 0,026 mg/L. Stężenie chromu ($p=0,045$) w śli-

nie u pacjentek w III trymestrze ciąży wynosiło 0,013 mg/L, a u pacjentek w grupie kontrolnej - 0,006 mg/L.

Tabela 4B. Średnie stężenia badanych pierwiastków w ślinie pacjentek przyjmujących suplementy.

	Wszystkie grupy	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Całkowita liczba pacjentek w grupie	147	41	46	40	20
Średnia zawartość Cr (mg/L)	0,007 ± 0,007	0,005 ± 0,005	0,008 ± 0,008	0,010 ± 0,008*	0,004 ± 0,003*
Średnia zawartość Cd (mg/L)	0,002 ± 0,004	0,002 ± 0,002	0,003 ± 0,006*	0,002 ± 0,002	0,001 ± 0,002*
Średnia zawartość Ni (mg/L)	0,007 ± 0,012	0,006 ± 0,010	0,007 ± 0,011	0,009 ± 0,013	0,008 ± 0,013
Średnia zawartość Zn (mg/L)	0,026 ± 0,149	0,015 ± 0,025	0,052 ± 0,264	0,012 ± 0,016	0,016 ± 0,026
Średnia zawartość Hg (mg/L)	0,022 ± 0,028	0,021 ± 0,025	0,022 ± 0,034	0,025 ± 0,027	0,017 ± 0,020
Średnia zawartość Pb (mg/L)	0,373 ± 0,871	0,169 ± 0,407	0,497 ± 1,222	0,488 ± 0,848	0,273 ± 0,545

*istotne statystycznie różnice w porównaniu grup A, B, C do grupy K

W porównaniu pacjentek przyjmujących suplementy w grupie A (I trymestr) do kobiet w grupie K (kontrola) nie wykazano istotnych statystycznie różnic. Istotną statystycznie różnicę w stężeniu kadmu w ślinie wykazano natomiast w porównaniu kobiet grupy B (II trymestr) do kobiet grupy K. Stężenie kadmu ($p=0,036$) w ślinie kobiet grupy B wynosiło 0,003 mg/L, natomiast u pacjentek grupy K - 0,001 mg/L. W porównaniu pacjentek grupy C (III trymestr) w stosunku do kobiet grupy K wykazano

istotne statystycznie różnice w stężeniu chromu ($p=0,036$) w ślinie pacjentek grupy C wynosiło 0,010 mg/L, a u kobiet grupy K -0,004 mg/L.

Kolejnej analizie poddano stężenia metali w grupie badanej w ślinie oraz porównano grupy A, B oraz C do grupy K przy zastosowaniu testu U Manna-Whitneya. Przedział ufności dla średniej w przypadku tej analizy wynosi 95%. Wyniki przedstawiono w Tabelach 5, 6, 7, 8 i 9.

Tabela 5. Średnie stężenie oznaczanych metali w ślinie kobiet w grupie A (I trymestr) (n =50).

PIERWIASTE K (mg/L)	ŚREDNIA	SD	ME	MIN	MAX	Q ₁	Q ₃
Cr	0,007	0,008	0,0044	0,0003	0,0470	0,0021	0,0126
Cd	0,003	0,006	0,0009	0,0009	0,0435	0,0009	0,0033
Ni	0,008*	0,012	0,0023	0,0012	0,0583	0,0023	0,0048
Zn	0,049	0,254	0,0087	0,0002	1,8045	0,0052	0,0134
Hg	0,023	0,035	0,0111	0,0015	0,1920	0,0023	0,0269
Pb	0,501	1,194	0,0312	0,0023	7,4440	0,0023	0,5357

* - istotne statystycznie wyniki w porównaniu grupy A do grupy K

Tabela 6. Średnie stężenie oznaczanych metali w ślinie kobiet w grupie B (II trymestr) (n =50).

PIERWIASTE K (mg/L)	ŚREDNI A	SD	ME	MIN	MAX	Q ₁	Q ₃
Cr	0,005	0,005	0,0043	0,0003	0,0252	0,0003	0,0078
Cd	0,002	0,002	0,0009	0,0009	0,0112	0,0009	0,0032
Ni	0,005	0,009	0,0023	0,0012	0,0419	0,0023	0,0023
Zn	0,014	0,023	0,0093	0,0002	0,148	0,0053	0,0144
Hg	0,021	0,026	0,0141	0,0017	0,1127	0,0023	0,0266
Pb	0,175	0,439	0,0023	0,0011	1,7899	0,0023	0,0530

Tabela 7. Średnie stężenie oznaczanych metali w ślinie kobiet w grupie C (III trymestr) (n =50).

PIERWIASTE K (mg/L)	ŚREDNI A	SD	ME	MIN	MAX	Q ₁	Q ₃
Cr	0,010 *	0,009	0,0079	0,0003	0,0330	0,0030	0,0197
Cd	0,002	0,003	0,0009	0,0009	0,0163	0,0009	0,0031
Ni	0,011	0,018	0,0023	0,0017	0,0810	0,0023	0,0134
Zn	0,011	0,015	0,0072	0,0002	0,0744	0,0002	0,0146
Hg	0,032	0,039	0,0226	0,0016	0,2277	0,0023	0,0425
Pb	0,608	0,997	0,0676	0,0019	3,8253	0,0023	0,8354

* istotne statystycznie wyniki w porównaniu grupy C do grupy K

Tabela 8. Średnie stężenie oznaczanych metali w ślinie kobiet w grupie K (n =50).

PIERWIASTEK (mg/L)	ŚREDNIA	SD	ME	MIN	MAX	Q ₁	Q ₃
Cr	0,005 *	0,005	0,0042	0,0003	0,0313	0,0028	0,0074
Cd	0,002	0,003	0,0009	0,0009	0,0213	0,0009	0,0013
Ni	0,013 *	0,021	0,0023	0,0023	0,0876	0,0023	0,0082
Zn	0,018	0,026	0,0101	0,0002	0,1493	0,0054	0,0157
Hg	0,023	0,027	0,0113	0,0011	0,1011	0,0023	0,0349
Pb	0,323	0,591	0,0031	0,0023	2,7769	0,0023	0,5482

*Istotne statystycznie wyniki w porównaniu grup B oraz C do grupy K

Tabela 9. Średnie stężenie TBARS (μmol/L) w ślinie kobiet w badanych grupach

TBARS (μmol/L)	ŚREDNIA	SD	ME	MIN	MAX	Q ₁	Q ₃
GRUPA A	5,570*	2,414	5,1105	0,1048	11,2221	3,9463	7,6133
GRUPA B	6,124	3,184	5,6925	1,9673	15,9368	3,8881	7,0313
GRUPA C	7,077	3,324	6,2164	1,1525	16,6934	5,0523	8,8939
GRUPA K	7,129*	3,572	6,4783	2,4330	19,8365	4,4702	8,4282

*istotne statystycznie wyniki w porównaniu grup A, B, C do grupy K

Istotne statystycznie różnice w stężeniach badanych pierwiastków oraz TBARS w ślinie badanych uzyskano w porównaniu Grupy A (I trymestr) do Grupy K (kontrola) wykazano na poziomie stężeń TBARS oraz niklu. Stężenie TBARS ($p=0,048$) w ślinie pacjentek grupy A wynosiło $5,570 \mu\text{mol/L}$, a u pacjentek dla grupy K - $7,129 \mu\text{mol/L}$. Stężenie niklu ($p=0,0007$) u badanych w grupie A wynosiło $0,005 \text{ mg/L}$, a u pacjentek w grupie K - $0,013 \text{ mg/L}$. W porównaniu badanych z grupy B (II trymestr) do kobiet grupy K nie wykazano istotnych statystycznie różnic. W porównaniu pacjentek grupy C (III trymestr) do kobiet grupy K wykazano istotne statystycznie różnice w stężeniu chromu. Stężenie chromu ($p=0,015$) w ślinie kobiet grupy C wynosiło $0,010 \text{ mg/L}$, a u pacjentek grupy K $0,005 \text{ mg/L}$.

Kolejną analizą statystyczną wykonaną zostało porównanie ilości wypełnień amalgamatowych do stężenia rtęci w organizmie. Liczba pacjentek w każdej z grup z wypełnieniami amalgamatowymi oraz bez wypełnień amalgamatowych przedstawiona została w tabeli 10. Na podstawie multiple regression test oraz regression summary, ponieważ $R^2=0,058$ ten model nie jest istotny statystycznie.

Tabela 10. Liczba kobiet z wypełnieniami amalgamatowymi oraz bez nich.

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K	Wszystkie grupy
Liczba kobiet z amalgamatami	21	21	24	16	82
Liczba kobiet bez amalgamatów	29	29	26	34	118

Kolejna analiza dotyczyła wpływu amalgamatów na wskaźniki zapalenia przyzębia (Gingival Index - GI oraz Bleeding on Probing - BoP). Wskaźnik Spearmana wskazuje, że nie występuje związek monotoniczny pomiędzy badanymi wskaźnikami. Wyniki przedstawiono w tabeli 11.

Tabela 11. Wskaźnik Spearmana (Powiązanie obecności wypełnień amalgamatowych z wskaźnikami zapalenia przyzębia)

	Spearman R	P-value
Amalgamaty & Gingival Index (GI)	0,132	0,061
Amalgamaty & Bleeding on Probing (BoP)	0,028	0,684

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic, ze względu na wartość p-value > 0,05.

Kolejna analiza statystyczna dotyczyła wpływu miejsca zamieszkania na wartości wskaźników higieny jamy ustnej (Plaque Index -PI, Simplified Oral Hygiene Index - OHI-S oraz zapalenia przyzębia (Bleeding on Probing - BoP, Gingival Index - GI) oraz wskaźnik intensywności próchnicy - liczba PUWZ. Wyniki przedstawiono w tabelach 12,13,14,15,16. Ze względu na skalę porządkową w tabelach przedstawiono liczbę pacjentek, medianę, minimum oraz maximum.

Tabela 12. Stan dziąseł badanych kobiet na podstawie wartości wskaźnika GI z podziałem na miejsce zamieszkania.

	Wieś	Miasto	Gmina
Liczba Pacjentek (Valid N)	56	122	22
Mediana	1,000	1,000	1,000
Minimum	0,00	0,00	0,00
Maximum	3,000	2,000	2,000

Najmniejsza wartość wskaźnika GI we wszystkich miejscach zamieszkania wynosiła 0,00. Najwyższa wartość wskaźnika (GI=3,0) wśród badanych występowała u kobiet zamieszkujących wieś. Zarówno w mieście jak i w gminie maksymalna wartość wskaźnika wynosiła 2,0.

Tabela 13. Stan higieny jamy ustnej badanych kobiet na podstawie wskaźnika Pl z podziałem na miejsce zamieszkania.

	Wieś	Miasto	Gmina
Liczba Pacjentek (Valid N)	56	122	22
Mediana	1,000	1,000	1,000
Minimum	0,00	0,00	0,000
Maximum	3,000	3,000	2,000

Najmniejsza wartość wskaźnika Pl we wszystkich miejscach zamieszkania wynosiła 0,00. Najwyższa wartość wskaźnika (Pl=3,0) wśród badanych występowała u kobiet zamieszkujących wieś oraz miasto. U badanych zamieszkujących gminę maksymalna wartość wskaźnika wynosiła 2,0.

Tabela 14. Stan dziąseł badanych kobiet na podstawie wskaźnika Bleeding on Probing (BoP) (%) z podziałem na miejsce zamieszkania.

	Wieś	Miasto	Gmina
Liczba PacjenteK (Valid N)	56	122	22
Mediana	0,000	0,000	19,645
Minimum	0,00	0,00	0,000
Maximum	100,000	100,000	64,290

Najmniejsza wartość wskaźnika BoP we wszystkich miejscach zamieszkania wynosiła 0,00. Najwyższa wartość wskaźnika (BoP=100%) wśród badanych występowała u kobiet zamieszkujących wieś oraz miasto. U badanych zamieszkujących gminę maksymalna wartość wskaźnika wynosiła (BoP=64,29%).

Tabela 15. Stan higieny jamy ustnej badanych kobiet na podstawie wskaźnika OHI-S z podziałem na miejsce zamieszkania.

	Wieś	Miasto	Gmina
Liczba PacjenteK (Valid N)	56	122	22
Mediana	0,500	0,600	0,755
Minimum	0,00	0,00	0,000
Maximum	3,000	2,660	2,000

Najmniejsza wartość wskaźnika OHI-S we wszystkich miejscach zamieszkania wynosiła 0,00. Najwyższa wartość wskaźnika (OHI-S=3,0) wśród badanych występowała u kobiet zamieszkujących wieś. U badanych zamieszkujących miasto najwyższa wartość OHI-S wynosiła 2,660, jednocześnie będąc środkowym najwyższym wynikiem. U badanych zamieszkujących gminę maksymalna wartość wskaźnika OHI-S wynosiła 2,0 i była jednocześnie najniższą wartością maksymalną.

Tabela 16. Zachorowalność na próchnicę zębów badanych kobiet z podziałem na miejsce zamieszkania na podstawie wartości liczby PUWZ.

	Wieś	Miasto	Gmina
Liczba Pacjentek (Valid N)	56	122	22
Mediana	10,500	10,000	11,000
Minimum	0,00	0,00	4,000
Maximum	19,000	18,000	16,000

Najmniejsza wartość liczby PUWZ we wszystkich miejscach zamieszkania wynosiła 0,00. Najwyższa wartość liczby (PUWZ=19) wśród badanych występowała u kobiet zamieszkujących wieś. U badanych zamieszkujących miasto najwyższa wartość PUWZ wynosiła 18, jednocześnie będąc środkowym najwyższym wynikiem. U badanych zamieszkujących gminę maksymalna wartość wskaźnika PUWZ wynosiła 16 i była jednocześnie najniższą wartością maksymalną.

Kolejna analiza statystyczna dotyczyła przedstawienia wartości wskaźników higieny jamy ustnej (Plaque Index -PI, Simplified Oral Hygiene Index - OHI-S oraz zapalenia przyzębia (Bleeding on Probing - BoP, Gingival Index - GI) oraz wskaźnik intensywności próchnicy - PUWZ w 4 badanych grupach (grupa A, B, C oraz K).

Wyniki przedstawiono w tabelach 17, 18, 19, 20 oraz 21

Tabela 17. Stan dziąseł na podstawie wskaźnika Gingival Index (GI) w badanych grupach

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Liczba Pacjentek (Valid N)	50	50	50	50
Mediana	1,000	1,000	1,000	1,000
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00
Maximum	3,000	3,000	2,000	2,000

Najniższa wartość wskaźnika GI we wszystkich grupach wynosiła 0. Najwyższa wartość wskaźnika wynosiła 3 i występowała w grupie A (I trymestr) oraz w grupie B (II trymestr) . W grupach C (III trymestr) oraz K (kontrola) wartość ta wynosiła 2.

Tabela 18. Stan higieny jamy ustnej na podstawie wskaźnika Plaque Index (PI) w badanych grupach

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Liczba PacjenteK (Valid N)	50	50	50	50
Mediana	1,000	1,000	1,000	1,000
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00
Maximum	3,000	3,000	3,000	2,000

Najniższa wartość wskaźnika PI we wszystkich grupach wynosiła 0. Najwyższa wartość wskaźnika wynosiła 3 i występowała u ciężarnych w I trymestrze (Grupa A), II trymestrze (Grupa B) oraz w III trymestrze (Grupa C). W grupie K (kontrola) wartość ta wynosiła 2.

Tabela 19. Stan dziąseł na podstawie wskaźnika Bleeding on Probing (BoP) (%) w badanych grupach

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Liczba PacjenteK (Valid N)	50	50	50	50
Mediana	0,00	0,00	9,060	0,00
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00
Maximum	100,000	100,000	100,000	100,000

Najniższa wartość wskaźnika BoP we wszystkich grupach wynosiła 0. Najwyższa wartość wskaźnika wynosiła 100% i występowała we wszystkich grupach.

Tabela 20. Stan higieny jamy ustnej na podstawie wskaźnika Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S) w badanych grupach

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Liczba Pacjentek (Valid N)	50	50	50	50
Mediana	0,830	0,500	0,450	0,670
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00
Maximum	3,000	2,660	2,170	1,830

Najniższa wartość wskaźnika OHI-S we wszystkich grupach wynosiła 0. Najwyższa wartość wskaźnika wynosiła 3 i występowała w grupie A (I trymestr). W grupie B (II trymestr) wynosiła ona 2,66. W grupie C (III trymestr) wynosiła 2,17. Najniższa najwyższa wartość występowała w grupie K i wynosiła 1,83.

Tabela 21. Zachorowalność na próchnicę zębów w poszczególnych grupach na podstawie liczby PUWZ

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa K
Liczba Pacjentek (Valid N)	50	50	50	50
Mediana	11,000	11,000	10,500	9,000
Minimum	0,00	5,000	0,00	0,00
Maximum	18,000	18,000	18,000	19,000

Najniższa wartość liczby PUWZ u badanych kobiet w grupach A (I trymestr), C (II trymestr) oraz K (kontrola) wynosiła 0. Najwyższa wartość wśród najniższych wartości wynosiła 5 i występowała u pacjentek w II trymestrze (Grupa B). Najwyższa wartość wskaźnika wynosiła 19 i występowała w grupie K. W grupach A, B oraz C wartość ta wynosiła 18.

Kolejna analiza statystyczna dotyczyła korelacji stężenia badanych metali, TBARS oraz badanych wskaźników w całej badanej grupie oraz osobno w każdej z badanych grup (A,B,C,K). Do wykazania korelacji zastosowano wskaźnik Spearman R w celu wykazania związku monotonicznego badanych korelacji. Wyniki istotne statystycznie przedstawiono w tabelach 22, 23, 24, 25, 26.

Tabela 22. Istotne statystycznie korelacje stanu higieny jamy ustnej i dziąseł ze stężeniem badanych metali w ślinie w grupie badanej i kontrolnej (n=200)

	Spearman R	p-value
Hg & Plaque Index	-0,220	0,001
Hg & Simplified Oral Hygiene Index	-0,146	0,0388
Ni & PUWZ	-0,186	0,008
Pb & Gingival Index	-0,325	0,000
Pb & Plaque Index	-0,390	0,000
Pb & Bleeding on Probing	-0,182	0,009
Pb & Simplified Oral Hygiene Index	-0,165	0,019
Cr & Gingival Index	-0,165	0,019
Cr & Plaque Index	-0,196	0,005
Cr & Simplified Oral Hygiene Index	-0,158	0,025

Wykazano istotne związki monotoniczne, a ujemne wartości korelacji Spearman R wskazują na odwrotny kierunek zmian (wraz ze wzrostem poziomu badanych metali maleje wartość wskaźnika).

Tabela 23. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz intensywnością próchnicy a stężeniem badanych metali w ślinie kobiet ciężarnych w grupie A (I trymestr) n=50

	Spearman R	p-value
Hg & Plaque Index	-0,283	0,045
Hg & PUWZ	0,283	0,045
Ni & Gingival Index	-0,367	0,008
Pb & Plaque Index	-0,376	0,007

Wykazano istotne związki monotoniczne, a ujemne wartości korelacji Spearman R wskazują na odwrotny kierunek zmian. Dodatnie wartości korelacji Spearman R wskazują zmianę obu zmiennych w tym samym kierunku. Wraz ze wzrostem jednego wskaźnika, drugi wskaźnik wzrasta.

Tabela 24. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz intensywnością próchnicy a stężeniem badanych metali w ślinie kobiet ciężarnych w grupie B (II trymestr) n=50

	Spearman R	p-value
MDA & Simplified Oral Hygiene Index	0,491	0,000
Cd & Gingival Index	-0,483	0,0003
Cd & Plaque Index	-0,289	0,041
Pb & Gingival Index	-0,308	0,029
Pb & Plaque Index	-0,353	0,011
Zn & Bleeding on Probing	-0,286	0,043

Wykazano istotne związki monotoniczne, a ujemne wartości korelacji Spearman R wskazują na odwrotny kierunek zmian. Dodatnie wartości korelacji Spearman R wskazują zmianę obu zmiennych w tym samym kierunku. Wraz ze wzrostem jednego wskaźnika, drugi wskaźnik wzrasta.

Tabela 25. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz intensywnością próchnicy a stężeniem badanych metali w ślinie kobiet ciężarnych w grupie C (III trymestr) n=50

	Spearman R	p-value
Pb & Gingival Index	-0,318	0,024
Pb & Bleeding on Probing	-0,397	0,004

Wykazano istotne związki monotoniczne, a ujemne wartości korelacji Spearman R wskazują na odwrotny kierunek zmian (wraz ze wzrostem poziomu badanych metali maleje wartość wskaźnika)

Tabela 26. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz intensywnością próchnicy a stężeniem badanych metali w ślinie kobiet ciężarnych w grupie K (kontrola) n=50

	Spearman R	p-value
MDA & Gingival Index	-0,340	0,015
MDA & Plaque Index	-0,369	0,004
MDA & Simplified Oral Hygiene Index	-0,280	0,048
Hg & Plaque Index	-0,303	0,031
Hg & Simplified Oral Hygiene Index	-0,296	0,036
Pb & Gingival Index	-0,510	0,000
Pb & Plaque Index	-0,597	0,000
Pb & Simplified Oral Hygiene Index	-0,328	0,020
Pb & PUWZ	-0,285	0,044
Cr & Gingival Index	-0,513	0,000
Cr & Plaque Index	-0,612	0,000
Cr & Bleeding on Probing	-0,315	0,025
Cr & Simplified Oral Hygiene Index	-0,488	0,000

Wykazano istotne związki monotoniczne, a ujemne wartości korelacji Spearman R wskazują na odwrotny kierunek zmian (wraz ze wzrostem poziomu badanych metali maleje wartość wskaźnika).

V. Dyskusja

Znaczna liczba kobiet w okresie ciąży i laktacji jest narażona na toksyczne czynniki środowiskowe, w tym metale. Wpływają one również na rozwój dziecka. Stąd też wiele badań dotyczy nie tylko okresu prenatalnego, ale również okresu laktacji. Często dochodzi do sytuacji, w których pomimo że ekspozycja była we wczesnym okresie życia, jej efekty widoczne są dopiero w wieku dorosłym [91,100,114].

Populacja ludzka jest narażona na ciągłą ekspozycję na metale poprzez powietrze, wodę, glebę i żywność. Jednym z wielkich osiągnięć ludzkości jest poprawa stanu środowiska, osiągnięta np. dzięki zakazowi dodawania ołowiu do paliwa. Jednak w środowisku nadal jest wiele źródeł metali posiadających potencjalnie szkodliwy wpływ na zdrowie ludzi. Niektóre z metali, tzw. fizjologiczne, takie jak cynk, miedź czy żelazo są niezbędne dla utrzymania homeostazy organizmu ludzkiego. Jednak rtęć, ołów oraz kadm nawet w niskich stężeniach są toksyczne. Ze względu na coraz to większe zastosowanie metali toksycznych w nowych wynalazkach technologicznych odnotowuje się ich obecność w środowisku [35].

Pod koniec XIX wieku brytyjscy naukowcy odkryli, że zwiększona ilość martwych urodzeń (60%) oraz zmniejszona płodność występowała wśród pracowników przemysłu ceramicznego [80].

Innym narażeniem – środowiskowym, na metale jest „smog”.

Do powstania smogu dochodzi pod wpływem działania promieni słonecznych na tlenek azotu oraz wolne związki organiczne, które przedostają się do atmosfery z zanieczyszczeniami pochodzącymi z przemysłu, elektrowni oraz z transportu drogowego. Powstają lotne i stałe cząstki, oraz ozon przyziemny (troposferyczny). W zależności od lokalizacji ozon może mieć korzystny lub szkodliwy wpływ na zdrowie człowieka. Ozon pochodzący z górnej warstwy atmosfery (stratosfery) ma korzystny wpływ, jednak jest on szkodliwy na poziomie dolnej warstwy atmosfery (troposfery). Cząstki stałe mają różną wielkość, szkodliwe dla zdrowia są te o średnicy $\leq 2,5 \mu\text{m}$. Niewielki rozmiar tych cząstek ułatwia im przedostanie się do pęcherzyków

płucnych, gdzie mogą spowodować utrudnioną wymianę gazową. Cząstki stałe są na piątym miejscu, a ozon troposferyczny zajmuje 33 miejsce w globalnym rankingu czynników ryzyka całkowitej liczby zgonów w 2015 roku na terenie Indii [78].

Nie można określić poziomu stężenia ołowiu, które doprowadza do szkodliwych zmian w organizmie. Dla niemowląt, dzieci oraz kobiet w wieku rozrodczym określono natomiast, że stężenie $\geq 10 \mu\text{g/dL}$ jest już za wysokie [86].

W porównaniu do osób dorosłych dzieci są zdecydowanie bardziej narażone na zatrucie ołowiem, ze względu na rozwijający się system różnicowania komórek i wzrostu oraz zwiększone przyswajanie biologiczne tego pierwiastka [80].

Występują również doniesienia naukowe na temat związku pomiędzy niskim poziomem prenatalnej i noworodkowej ekspozycji na ołów a wystąpieniem deficytów w zachowaniach neurobehawioralnych oraz we wczesnym rozwoju [30].

Narażenie płodu na metale związane jest ze środowiskiem, w jakim przebywa matka, a także z jej odżywianiem, zachowaniami i stylem życia [30,4,114].

W piśmiennictwie związanym z tym tematem wiele badań dotyczy kobiet ciężarnych, jak również kobiet w okresie laktacji [4,115].

Niestety, niewiele jest doniesień, w których analizowano materiał badawczy, jakim jest ślina ciężarnych oraz powiązanie obecności metali z nawykami żywieniowymi, historią palenia, przyjmowanymi lekami oraz stanem higieny jamy ustnej. Często wykorzystywanym materiałem biologicznym do badań metali są: mocz, krew, włosy, paznokcie. Ponieważ ślina jest materiałem biologicznym łatwo dostępnym, pobieranym w sposób nieinwazyjny oraz w dowolnych ilościach, dlatego też zwróciła ona moje zainteresowanie w aspekcie badań metali i ich wpływu na stan zdrowia jamy ustnej u kobiet ciężarnych.

V.1 Wpływ miejsca zamieszkania na poziom badanych metali oraz TBARS

W badaniach własnych oznaczono stężenie metali w ślinie kobiet, będące wynikiem narażenia środowiskowego.

W badanych grupach kobiet porównano stężenie metali (nikiel, chrom, ołów, rtęć, kadm, cynk) oraz TBARS w ślinie w zależności od miejsca zamieszkania - wieś, gmina, miasto.

W badaniach Bhowmick i wsp. [11] prowadzonych na terenie zachodniego Bengal (Indie) oraz badań Jiang i wsp. [56] na terenie Chin w prowincji Chengdu wykazano obecność cynku, niklu, chromu, arsenu, manganu oraz ołowiu w środowisku. W chińskiej prowincji Chengdu występują zwiększone ilości ołowiu absorbowanego ze środowiska i kumulowanego w komórkach ludzi zamieszkujących ten teren. Jednym ze źródeł ołowiu może być woda pitna. Ołów przenikał do wody poprzez systemy hydrauliczne, które w swojej konstrukcji zawierały także elementy z tego metalu, który jest lepiej uwalniany do wody bieżącej. Ołów oznaczono również w surowicy kobiet, które zamieszkiwały w domach, malowanych mniej niż rok wcześniej, farbami zawierającymi ten pierwiastek [56].

Poza narażeniem na ołów z powietrza innym źródłem tego pierwiastka może być skażona żywność, m.in. ryż, jaja, kakao w proszku, mleko, piwo, wino, miód, sałata, buraki oraz produkty wędzone [23].

W przypadku dostawania się kadmu do organizmu można wyróżnić dwie drogi: pokarmową oraz inhalacyjną. Żywność należy do podstawowych źródeł dostarczania kadmu do organizmu. Poza wiekiem, wpływ na wchłanianie jelitowe Cd mają stężenie i droga narażenia, rodzaj diety, jego interakcje z innymi pierwiastkami oraz forma chemiczna [6].

Laudański i wsp. w jednym z badań dotyczących kobiet ciężarnych, które zamieszkiwały region Suwałk charakteryzujący się wysokim poziomem kadmu i ołowiu w glebie na niektórych terenach wiejskich, wykryli zwiększony poziom kadmu we krwi kobiet zamieszkujących te tereny. Autorzy porównali wyniki krwi kobiet

zamieszkujących wsie ze skażoną glebą, do terenów wiejskich o nie skażonej glebie w regionie Suwałk. U kobiet zamieszkujących tereny zanieczyszczone wykazano mniej donoszonych, mnogich ciąż oraz statystycznie wyższe występowanie porodów przedterminowych dzieci z niską masą urodzeniową [63].

Istotne statystycznie różnice w przypadku wybranych badanych metali u kobiet zamieszkujących miasta dotyczyły poziomu niklu. O 78% wyższe stężenie niklu występowało w grupie kontrolnej w stosunku do grupy kobiet ciężarnych w I trymestrze. W porównaniu grupy kontrolnej do grupy kobiet w II trymestrze stężenie niklu było o 72% wyższe w grupie kontrolnej. W porównaniu grupy kontrolnej do grupy kobiet w III trymestrze o 61% wyższe stężenie niklu występowało w grupie kontrolnej.

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic u kobiet zamieszkujących gminy.

U kobiet zamieszkujących teren wsi nie zanotowano istotnych zmian w porównaniu ciężarnych w I trymestrze do grupy kontrolnej. Różnice zanotowano w przypadku poziomów następujących wybranych metali: ołowiu, niklu, cynku oraz chromu.

O 785% wyższe stężenie ołowiu zanotowano u ciężarnych w II trymestrze w stosunku do kontroli, natomiast o 425% wyższe stężenie niklu zanotowano w grupie ciężarnych w III trymestrze w stosunku do grupy kontrolnej. Jeśli chodzi o stężenie cynku było ono o 27 % wyższe w grupie kontrolnej w stosunku do kobiet w III trymestrze ciąży. Stężenie chromu było o 225% wyższe w III trymestrze ciąży w stosunku do grupy kontrolnej u kobiet zamieszkujących wieś.

Vardavas i wsp. [112] w swoich badaniach przedstawili wpływ miejsca zamieszkania na poziomy ołowiu, kadmu oraz rtęci. Zbadane zostały ciężarne palące oraz narażone biernie na dym tytoniowy. Okazuje się, że ciężarne zamieszkujące tereny wiejskie miały średnio wyższy poziom ołowiu we krwi w stosunku do ciężarnych zamieszkujących miasta (Kobiety zamieszkujące wieś - Pb =10,27µg/L ; kobiety zamieszkujące miasta - Pb=9,80 µg/L). W badaniach własnych wyniki te przedstawiały się następująco; kobiety zamieszkujące wieś w II trymestrze ciąży miały wyższy poziom ołowiu (Pb= 0,894 mg/L) w stosunku do grupy kontrolnej (Pb= 0,101

mg/L). W badaniach własnych nie badana była grupa kobiet palących i biernie narażonych na dym tytoniowy, stąd nie- możliwe jest bezpośrednie porównanie grup badanych pacjentek. Jeśli chodzi o kadm w badaniach własnych nie wykazano istotnych statystycznie różnic w ilości średniej, jednak maksymalna ilość kadmu wykazana w badaniach Vardavas i wsp. we krwi osiągnęła najwyższą wartość (2,40 µg/L) osiągnęła u ciężarnej zamieszkującej tereny wiejskie. W przypadku zawartości ołowiu wyższą średnia ołowiu we krwi Varvadaa i wsp. wykazali u kobiet ciężarnych zamieszkujących miasta (Hg=1,63µg/L) w stosunku do kobiet zamieszkujących wieś (Hg=0,60µg/L) [112].

V.2 Wpływ obecności wypełnień amalgamatowych na poziom badanych metali oraz TBARS

Kolejna analiza dotyczyła wpływu obecności wypełnień amalgamatowych na poziom badanych metali oraz TBARS.

Istotne statystycznie różnice zauważono w grupie kobiet nieposiadających wypełnień amalgamatowych. Istotne statystycznie różnice w średnim stężeniu TBARS w ślinie wykazano u kobiet w I trymestrze ciąży w stosunku do grupy kontrolnej. Średnie stężenie TBARS jest o 11% wyższe u kobiet w grupie kontrolnej w stosunku do I trymestru. W pozostałych trymestrach nie wykazano istotnych statystycznie różnic. W przypadku wybranych metali różnice wykazano w poziomach niklu, ołowiu, kadmu oraz cynku. I tak o 62% wyższe stężenie niklu w ślinie występowało w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy kobiet w I trymestrze ciąży. O 54% wyższe stężenie niklu zaobserwowano także w ślinie pacjentek w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy kobiet w II trymestrze ciąży. Analizując średnie stężenie ołowiu w ślinie zaobserwowano o 72% wyższe stężenie ołowiu u pacjentek w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy kobiet w I trymestrze ciąży. Porównując grupę kobiet w II trymestrze ciąży do grupy kontrolnej, o 100 % wyższe stężenie kadmu w ślinie stwierdzono u kobiet

w II trymestrze ciąży w porównaniu do kontroli. O 53% wyższe stężenie cynku zanotowano natomiast w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy ciężarnych w III trymestrze.

Porównując grupy kobiet z wypełnieniami amalgamatowymi do grupy kobiet bez wypełnień amalgamatowych, statystycznie istotną była różnica w poziomach TBARS w ślinie, które były wyższe o 18 % w grupie kobiet z wypełnieniami amalgamatowymi. Podobnie istotne statystycznie różnice w stężeniu TBARS wykazało porównanie pacjentek w I trymestrze w grupie z wypełnieniami amalgamatowymi oraz bez amalgamatów, o 6% wyższe stężenie TBARS występowało w ślinie w grupie kobiet w I trymestrze z wypełnieniami amalgamatowymi. Nie wykazano natomiast istotnych różnic w porównaniu dalszych trymestrów oraz grup kontrolnych.

Odmienne obserwacje w tym zakresie przedstawił D'Souza i wsp. [28] Przebadana została krew ciężarnych w II, III trymestrze oraz w trakcie porodu. Ciężarne podzielono na dwie grupy grupę bez objawów nadciśnienia oraz grupę z nadciśnieniem oraz białkomoczem, określanym jako stan przedzucawkowy. U pacjentek w stanie przedzucawkowym wykazano wyższe poziomy TBARS we krwi w II oraz III trymestrze w stosunku do ciężarnych z unormowanym ciśnieniem. Autorzy sugerują, że zwiększony poziom TBARS we krwi ciężarnych może współwystępować ze stanem przedzucawkowym. Zespół badawczy z Indii wykazał, iż u ciężarnych z nadciśnieniem oraz białkomoczem występuje zwiększony poziom stresu oksydacyjnego, a co się z tym wiąże, podwyższony poziom TBARS w krwi [28].

WHO w 2003 roku określiło amalgamaty jako jedno z głównych źródeł ekspozycji na rtęć [120].

Stres oksydacyjny, a przez to jego drugorzędowy produkt TBARS jest indukowany poprzez ekspozycję na rtęć. Al-Saleh i wsp. [4] po przebadaniu grupy 155 matek karmiących i ich dzieci z Arabii Saudyjskiej wykazał, iż w moczu matek oraz dzieci, które miały zwiększone poziomy rtęci również, były zwiększone poziomy TBARS. Poziom TBARS w moczu dzieci wzrastał wraz ze wzrostem poziomu rtęci w mleku

matki. Ekspozycja matki na rtęć w trakcie laktacji wpływa na wzrost stresu oksydacyjnego u karmionych piersią dzieci [4].

V.3. Wpływ stosowania suplementów diety (witamin dla ciężarnych) na poziom badanych metali oraz TBARS.

Kolejna z analiz dotyczyła wpływu stosowania suplementów diety (witamin dla ciężarnych) na poziom badanych metali oraz TBARS.

W grupie ciężarnych nieprzyjmujących suplementów istotne statystycznie różnice w badaniach własnych zauważono w stężeniach następujących metali: niklu, kadmu, ołowiu oraz chromu w grupie kobiet nieprzyjmujących suplementów. O 87 % wyższe stężenie niklu występowało w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy ciężarnych w I trymestrze. U ciężarnych w II trymestrze nie wykazano istotnych statystycznie różnic zawartości niklu w porównaniu do grupy kontrolnej. U ciężarnych w III trymestrze zanotowano natomiast o 100% wyższe stężenie kadmu, 123% wyższe stężenie rtęci oraz o 115 % wyższe stężenie chromu w stosunku do grupy kontrolnej.

W grupie ciężarnych przyjmujących suplementy o 50 % wyższe stężenie kadmu w ślinie występowało u ciężarnych w II trymestrze w stosunku do grupy kontrolnej. Zaobserwowano również, o 150% wyższe stężenie chromu u ciężarnych w III trymestrze w stosunku do grupy kontrolnej.

Pytanie dotyczące przyjmowania suplementów diety w swojej ankiecie badanej zadał również zespół badawczy Taani i wsp. [110]. Badania zostały przeprowadzone na grupie kobiet ciężarnych w Jordanii. Okazuje się, że ponad 2/3 badanych (139 z 200) nie przyjmowała żadnych suplementów diety w trakcie ciąży [110].

Na podstawie badań własnych zauważono, że sytuacja w Polsce jest odwrotna, 127 ciężarnych (ze 150) przyjmowało suplementy diety. Tylko 23 ciężarne nie przyjmowały żadnych suplementów.

Wiele kobiet przyjmuje suplementy w trakcie ciąży, badania składu suplementów wskazują jednak, że część z nich zawiera zwiększone dawki ołowiu, kadmu, arsenu oraz rtęci. Światowa Organizacja Położników i Ginekologów (FIGO) zasugerowała zwrócenie większej uwagi na rzeczywisty skład suplementów oraz poszerzenie badań w zakresie kontaminacji suplementów diety.

Schwalfenberg i wsp. [98] zbadali 26, różnych powszechnie stosowanych suplementów diety przez kobiety ciężarne na terenie Kanady. W wielu próbkach nie wykryto rtęci, natomiast wszystkie suplementy zawierały ołów oraz kadm. Wyniki były zróżnicowane, od takich, które zawierały śladowe ilości metali do takich, które mocno przekraczały wartości dziennego spożycia. W tym przypadku należy wspomnieć o tym, że wg. badań ekspozycja płodu na kadm może doprowadzić do zmniejszenia obwodu głowy podczas porodu oraz może mieć wpływ na rozwój dziecka w pierwszych trzech latach życia [98].

Medycyna naturalna oraz wschodnia spotyka się z coraz większym zainteresowaniem wśród nie tylko kobiet zamieszkujących Wschód, ale również Zachód. Wykazano po zbadaniu, że wiele tradycyjnych chińskich leków zawierało nieakceptowalne stężenia metali. Badania wskazują, że zatrucia ołowiem są kojarzone z zastosowaniem chińskich leków ziołowych. Podobnie spożywanie jedzenia w puszkach może spowodować zatrucie. Ludzie spożywający jedzenie w puszkach mogą mieć wyższe poziomy ołowiu we krwi [56].

Ołów wchodzi w reakcje z wapniem, żelazem oraz cynkiem. Suplementacja może zmniejszyć wchłanianie ołowiu z przewodu pokarmowego oraz uwalnianie go z kośćca ciężarnej. Ciężarne przyjmujące suplementy oraz spożywające mleko mogą mieć niższą zawartość ołowiu we krwi [57,92,126].

Okres ciąży oraz rozwoju płodu jest niezwykle ważny stąd konieczne są badania, które określają skład przyjmowanych powszechnie suplementów diety przez ciężarne. W przypadku kanadyjskiego badania niezwykle pociesającym jest fakt, że w wielu badanych próbkach nie wykryto rtęci [98].

Najczęstszą drogą dostawania się chromu do organizmu jest droga oddechowa oraz układ żołądkowo-jelitowy. Droga inhalacyjna jest najczęstszą drogą narażenia zawodowego. Spożycie żywności i wody zawierających chrom należy do normalnych warunków narażenia drogą pokarmową [104].

Cynk odgrywa istotną rolę w żywieniu i metabolizmie, będąc jednym z najczęściej stosowanych mikroelementów. Nieprawidłowe gojenie się ran, występowanie zmian skórnych, spadek odporności, zakłócenia funkcji mózgowych czy opóźnienie wzrostu, należą do efektów niedoboru cynku. Do niedoboru może dojść, kiedy wchłanianie pierwiastka jest niewystarczające lub wystąpiły zwiększone straty pierwiastka [71].

Jarup i wsp. podają, że u niepalących kobiet szwedzkich, w skład diety których wchodziły skorupiaki, zboża i bogate w błonnik warzywa korzeniowe, poziom kadmu był wyższy w porównaniu do kobiet, u których dieta była zróżnicowana [55].

W przypadku badań własnych istotne różnice wykryto w poziomach kadmu. Był on wyższy u ciężarnych w III trymestrze.

V.4. Obecność badanych metali oraz TBARS w ślinie.

W badaniach własnych dokonano porównania zawartości obecności badanych metali oraz TBARS w ślinie kobiet w badanych grupach.

Istotna statystycznie różnica występowała w stężeniu TBARS oraz niklu u kobiet w grupie kontrolnej w stosunku do I trymestru ciąży. O 22% wyższe stężenie TBARS w ślinie było w grupie kontrolnej w stosunku do kobiet w I trymestrze. W II trymestrze ciąży nie wykazano istotnych statystycznie różnic, a w III trymestrze ciąży stężenie chromu w ślinie było o 100% niższe niż w grupie kontrolnej.

Pomimo iż nikiel uważany jest za relatywnie bierny pierwiastek, istnieją dowody na udział tego metalu w zwiększonym wchłanianiu żelaza, w przypadku badań na szczurach. Zwiększona ekspozycja ciężarnych szczurów na nikiel była przyczyną malformacji w obrębie twarzy, szkieletu oraz oczu. Zwiększony poziom niklu

natomiast doprowadza do zapaleń skórnych. Dieta bogata w nikiel może łatwo przeobrazić się w dietę ze zwiększoną podażą niklu oraz powodować zaostrzenia zapaleń skórnych.[98]

W badaniach wykonanych w latach 2004 a 2006 w Sabadell, Hiszpania zbada-
no poziom metali w pierwszym oraz trzecim trymestrze ciąży w próbkach moczu. Próbki moczu zostały pobrane od 489 ciężarnych kobiet w tej kohorcie. W przedsta-
wionych wynikach, w III trymestrze ciąży u większej liczby kobiet wykazano wyższy
poziom niklu oraz cynku w stosunku do I trymestru [35].

W badaniach moczu u 145 ciężarnych kobiet tureckich wykazano wzrost śred-
niego stężenia chromu w moczu. U kobiet w III trymestrze ciąży podano dożylnie
glukozę po 10-12 h od ostatniego posiłku i wykazano w badaniu poziom chromu w
moczach kobiet ciężarnych, iż był on niższy w stosunku do poziomu chromu w moczu
kobiet nie ciężarnych. Nie wykazano jednak spodziewanych wyników zwiększenia
wydzielanego chromu w moczu u kobiet w III trymestrze [96]. Podobny wynik uzy-
skano w przypadku badań własnych w III trymestrze ciąży, poziom chromu w ślinie
był niższy niż w grupie kontrolnej.

W badaniach wykonanych przez Huang i wsp. [50] wykazano, że wyższy
poziom chromu w moczu kobiet ciężarnych przed porodem, może spowodować więk-
sze ryzyko przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. Poziom chromu zwiększa po-
ziom stresu oksydacyjnego (do produktów stresu oksydacyjnego należy TBARS).
Aktywne jednostki tlenu mogą wpłynąć na wiązanie oraz elastyczność kolagenu, która
może mieć wpływ na przedwczesne pęknięcie błon płodowych. W porównaniu wyko-
nanym przez Huang i wsp. okazuje się, że wyższy poziom chromu w moczu znajdował
się u kobiet ciężarnych w Chinach w stosunku do badań wykonanych na populacji ko-
biet w Austrii, we Włoszech oraz w Anglii [50].

Wyższe stężenie produktów peroksydacji lipidów wiąże się z większym pozio-
mem stresu oksydacyjnego. Badania przeprowadzone przez Demirtaş i wsp. wykazały
wyższy poziom MDA w ślinie aktywnych i biernych palaczy. Stężenie MDA w ślinie

aktywnych palaczy wynosiło 6,07 nmol/ml i było wyższe o 74,9% w porównaniu do śliny osób z grupy kontrolnej – 3,47 nmol/ml [25].

Badania przeprowadzone przez zespół Borges i wsp. wykazały zwiększone stężenie produktów peroksydacji lipidów w grupie osób chorych, w porównaniu do zdrowych badanych z grupy kontrolnej. Poziom stężenia markerów w ślinie pacjentów ze schorzeniami przyzębia wynosił 188,8 nmol/g i był średnio o 67% wyższy od poziomu w ślinie osób z grupy kontrolnej – 113,07 nmol/g [14].

Również wyniki badań przeprowadzonych przez zespół Bañasová wykazały wyższy poziom stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów chorych na choroby przyzębia, w porównaniu do osób zdrowych grupy kontrolnej. W tym przypadku stężenie badanego markera było w grupie chorych wyższe o 92% [9].

Baltacıoğlu i współpracownicy zbadali peroksydację lipidów na podstawie pomiaru stężenia malondialdehydu (MDA) w ślinie. MDA jest jednym z produktów peroksydacji lipidów i jest markerem stresu oksydacyjnego. Badanie wykazało o 87,5% wyższe stężenie MDA w ślinie pacjentów chorych, w porównaniu do grupy kontrolnej [8].

Parametry stresu oksydacyjnego są zależne nie tylko od chorób przyzębia, ale też od innych schorzeń, pod kątem występowania których grupa kontrolna nie została przebadana. Należy także zaznaczyć, że za istotny wzrost poziomu stresu oksydacyjnego w jamie ustnej odpowiada palenie tytoniu. Uczniowie stanowiący grupę kontrolną nie informowali o swoim nałogu tytoniowym lub jego braku.

Behuliak i współpracownicy w swoim badaniu natknęli się na trudności z interpretacją wyników pomiarów stężenia produktów peroksydacji lipidów reagujących z kwasem tiobarbiturowym. Stężenia w pobranych próbkach znacząco wahały się w zależności od pacjenta lub pory pobrania śliny, niezależnie od płci pacjenta. Proponowanym rozwiązaniem tego problemu było zwiększenie powtarzania pobierania próbek lub wykorzystywanie metody do badania licznych grup pacjentów [10].

Poziom ołowiu w grupie badanych kobiet przez Jiang i wsp. [56] przez okres ciąży (I, II, III trymestr) był zdecydowanie niższy w stosunku do grupy kontrolnej jak

również do zbadanych ciężarnych po porodzie. Może do tego dochodzić ze względu na obniżenie ilości czerwonych krwinek, ze względu na wzrost ilości osocza w trakcie ciąży. Większość ołowiu zawartego we krwi związana jest z krwinkami czerwonymi, stąd też obniżony poziom ołowiu w ciąży [56].

W wodzie gruntowej zachodniego Bengalu występują podwyższone ilości toksycznych metali (Mg, Pb, Ni, As oraz Cr). Bhowmick i wsp.[11] zbadali ślinę 50 mężczyzn. Nie wykazano podwyższonych poziomów wskazanych powyżej metali poza As. Wyniki te mogą służyć jako sugestia do wykorzystania śliny jako pierwszego markera poziomów metali toksycznych w organizmie w krajach trzeciego świata. Spożycie wody ze skażonych terenów doprowadza do podwyższonego poziomu zawartości arsenu w ślinie. Autorzy sugerują wysoki potencjał śliny jako środka diagnostycznego, jednak zauważają również konieczność poszerzenia badań w tym kierunku [11].

W badaniach własnych nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy ilością ołowiu w grupach ciężarnych w stosunku do kontroli. W badaniach własnych najwyższy średni poziom ołowiu występował w grupie ciężarnych w III trymestrze, jednak nie był to wynik o istotnej wartości statystycznej.

V.5. Wpływ obecności wypełnień amalgamatowych w jamie ustnej na poziom rtęci w ślinie.

W badaniach własnych po wykonaniu analizy statystycznej udowodniono, że nie ma związku pomiędzy liczbą amalgamatów, a poziomem rtęci w organizmie badanych kobiet.

Zimmer i wsp. [125] poddał analizie krew, ślinę oraz mocz 40 kobiet posiadających wypełnienia amalgamatowe, które uważały, iż ich posiadanie ma negatywne dla nich skutki zdrowotne oraz 43 kobiety będące grupą kontrolną, które posiadały wypełnienia amalgamatowe jednak nie wiązały ich obecności z negatywnymi skutkami zdrowotnymi. Kobiety zamieszkiwały teren Niemiec. W badaniu nie wykazano istot-

nych statystycznie różnic w poziomach rtęci w moczu oraz we krwi. Poziomy rtęci w moczu oraz krwi kobiet z obu grup nie różniły się od statystycznie określonych poziomów rtęci dla populacji w Niemczech. W ślinie badanych nie wykazano istotnych statystycznie różnic. Ważnym jest jednak fakt, iż poziom rtęci w ślinie badanych nie korelował z poziomem rtęci w moczu oraz krwi, dlatego Zimmer i wsp. nie zaleca śliny jako materiału diagnostycznego w biomonitoringu poziomu rtęci [125].

Wyniki badań własnych potwierdzają brak korelacji pomiędzy liczbą wypełnień amalgamatowych, a ilością rtęci w zakresie wszystkich badanych grup w trzech trymestrach ciąży oraz grupie kontrolnej i są zbieżne z wyżej cytowanymi obserwacjami Zimmera.

V.6. Wpływ obecności wypełnień amalgamatowych na wskaźniki Gingival Index (GI) oraz Bleeding on Probing (BoP).

W badaniach własnych przy zastosowaniu wskaźników Gingival Index (GI) oraz Bleeding on Probing (BoP) po wykonaniu analizy statystycznej udowodniono, że nie występuje związek monotoniczny pomiędzy obecnością wypełnień amalgamatowych, a wskaźnikami zapaleń przyzębia.

Tego typu analizy są w literaturze niezwykle rzadkie z tego względu iż analiza której dokonano, nie ma bezpośredniego odniesienia do danych literaturowych i wymaga dalszych badań.

Jeśli chodzi o zapalenia przyzębia a obecność amalgamatów Ilday[52] przeprowadził badania na grupie 22 ochotników, którzy posiadali wypełnienia amalgamatowe klasy II z nawisem. Tydzień po usunięciu nawisów zaobserwowali poprawę, zarówno w przypadku wskaźnika GI jak i PI. Badanie to możemy jednak interpretować również w przypadku nawisów nie tylko z amalgamatu, ale również z kompozytu [52].

V.7. Wpływ miejsca zamieszkania na wartości badanych wskaźników stomatologicznych.

Analizując wpływ miejsca zamieszkania na wartości badanych wskaźników higieny jamy ustnej (Plaque Index -PI, Simplified Oral Hygiene Index - OHI-S), wskaźników zapalenia przyzębia (Bleeding on Probing - BoP, Gingival Index - GI) oraz wskaźnika intensywności próchnicy - mierzonego za pomocą liczby PUWZ na podstawie analizy statystycznej w badaniach własnych wykazano, że najwyższe wartości Gingival Index występowały w grupie kobiet zamieszkujących wieś (Maximum=3,000). Stan przyzębia u kobiet zamieszkujących wieś był gorszy, niż kobiet zamieszkujących miasto oraz gminy. Może się to wiązać z większą świadomością higieny wśród kobiet zamieszkujących większe aglomeracje.

Jeśli chodzi o Plaque Index w badaniach własnych najwyższe wartości występowały zarówno u kobiet mieszkających w mieście oraz na wsi (Maximum=3,000).

Najniższe wartości wskaźnika Bleeding on Probing w badaniach własnych występowały u kobiet zamieszkujących gminy (Maximum=64,290), natomiast Simplified Oral Hygiene Index w badaniach własnych, był najwyższy u kobiet zamieszkujących wieś.

Najwyższe wartości liczby PUWZ w badaniach własnych występowały u kobiet zamieszkujących wieś (Maximum=19,000) przy średniej wartości $10,21 \pm 4,53$, różnica jednak nie była znacząca w stosunku do kobiet zamieszkujących miasto (Maximum=18,000) przy średniej $10,03 \pm 4,12$. Najniższą wartość liczby PUWZ wykazano u kobiet zamieszkujących gminy (Maximum=16,000) przy średniej $10,5 \pm 3,01$.

W swojej pracy Ryba [93] wykazała, że średnie wartości liczby PUWZ u osób zamieszkujących powiat krakowski są wyższe u osób mieszkających na wsi niż u osób zamieszkujących miasto. Średnia wartość liczby PUWZ wynosiła $18,2 \pm 6,62$, co w 2015 umiejscowiło Polskę zgodnie z obserwacjami raportu z WHO, jako jeden z krajów o wysokim natężeniu próchnicy [93].

Na podstawie badań własnych i analizy statystycznej w/w parametrów u 200 kobiet będących w okresie rozrodczym. można stwierdzić, że w Wielkopolsce sytuacja ta przedstawia się korzystniej niż w powiecie krakowskim kilka lat wcześniej.

V.8. Wartości badanych wskaźników stomatologicznych w badanych grupach.

Kolejna analiza statystyczna dotyczyła przedstawienia wartości wskaźników higieny jamy ustnej (Plaque Index -PI, Simplified Oral Hygiene Index - OHI-S) oraz zapalenia przyzębia (Bleeding on Probing - BoP, Gingival Index - GI) oraz wskaźnik intensywności próchnicy - na podstawie wartości liczby PUWZ w 4 badanych grupach (grupa A, B, C oraz K).

Gingival Index w badaniach własnych w I oraz w II trymestrze ciąży osiągał wartości maksymalne na poziomie 3, a w III trymestrze ciąży oraz w grupie kontrolnej spadł do maksymalnej wartości 2.

Tilakarante i wsp. [111]w swoich badaniach na 47 kobietach zamieszkujących Srilanke wykazali, wyższy GI u kobiet ciężarnych w stosunku do grupy kontrolnej. Badania były przeprowadzane w I, II oraz III trymestrze u tych samych kobiet oraz 3 miesiące po porodzie. Badania tego autora wykazują wzrost GI przez I i II trymestr ciąży, co jest zgodne z uzyskanymi wynikami badań własnych. Natomiast w badaniach autora w III trymestrze ciąży GI osiągnął najwyższe wyniki, co jest odmienne od wartości wskaźnika GI zaobserwowanego w badaniach własnych.

Po 3 miesiącach po porodzie, wyniki GI obniżały się do poziomu z I trymestru ciąży [111].

Podobne wyniki jak w badaniach Tilkarante i wsp. uzyskał zespół Taani i wsp. [110]. Grupa badana tego autora składała się z 400 kobiet zamieszkujących Jordanię (200 ciężarnych oraz 200 kontroli). Wartości GI wzrastały wraz z trymestrem ciąży, co jest odmienną obserwacją w stosunku do wyników jakie uzyskano w badaniach własnych.

Podobne rezultaty uzyskał zespół Vasiliauskiene i wsp. [113] w grupie 180 kobiet ciężarnych zaobserwowano, że od I trymestru do III trymestru ciąży wskaźnik GI znacząco wzrósł, by można go interpretować jako ostry gingivitis w III trymestrze.

Geisinger i wsp. [39] przeprowadził badania w Alabamie na grupie 119 ciężarnych kobiet w II trymestrze przeprowadzono pierwsze badanie jamy ustnej, gdzie sprawdzono GI oraz Pl. Następnie poddano pacjentki profesjonalnej higienizacji i starano się zmienić ich nawyki higienizacji. Kolejny raz GI oraz Pl badane były po 8 tyg od pierwszej wizyty. Statystycznie istotne zmiany nastąpiły zarówno w wartości GI jak i Pl. Średnia wartość obu wskaźników spadła o około 50%. Wartość Pl z pierwszej wizyty wynosiła $1,35 \pm 0,07$ po 8 tygodniach spadła do $0,61 \pm 0,07$. Wartość GI z pierwszej wizyty z $1,45 \pm 0,07$ spadła do $0,75 \pm 0,07$ po 8 tyg [39].

W przeprowadzonych badaniach własnych Plaque Index w I, II oraz III trymestrze ciąży miał maksymalną wartość 3, by w grupie kontrolnej osiągnąć maksymalną wartość 2.

Bleeding on probing w każdej z grup badanych przedstawiał się następująco od 0 do 100%. W I trymestrze ciąży średnio wynosił on $14,40\% \pm 20,69$. W II trymestrze ciąży średnio wynosił $13,01\% \pm 22,19$. W III trymestrze ciąży średnio wynosił on $21,39\% \pm 28,87$. W grupie kontrolnej wynosił $5,49\% \pm 16,97$.

W badaniach wykonanych przez Bieri i wsp.[12] na grupie 19 ciężarnych wykazano, że średnio wskaźnik BoP wynosił 41,2% w 12 tyg ciąży (I trymestr), gdzie w badaniach własnych w pierwszym trymestrze ciąży BoP wynosił 13,01%, co jest zdecydowanie niższą wartością. W badaniach autora BoP obniżył się do 26,6 % 4-6 tygodni po porodzie bez interwencji lekarza dentystry. Wynik ten można porównać z grupą kontrolną, w której wynosił on 5,49% Zmniejszenie się wartości wskaźnika po ciąży, a co za tym idzie zmniejszenie stanu zapalnego, może być wytłumaczone poprzez zmiany na tle hormonalnym podczas ciąży. Wyniki te są potwierdzeniem tego, że stan zapalny dziąseł podczas ciąży zmniejsza się po porodzie, bez większej ingerencji lekarza dentystry [12].

Buduneli i wsp. [16] zbadali BoP u 72 kobiet zamieszkujących Izmir w Turcji w II trymestrze ciąży oraz po porodzie. Średnia BoP w II trymestrze ciąży wynosiła 48,5%, co jest zdecydowanie wyższym wynikiem w stosunku do wartości BoP uzyskanej w badaniach własnych na poziomie 13,01%. Po porodzie wartość BoP u kobiet zamieszkujących Izmir zmalała do 44,7 %, co jest wynikiem wyższym od uzyskanych wyników własnych w grupie kontrolnej, który wynosił 5,49%.

W badaniach własnych uzyskano po analizie statystycznej niższe poziomy BoP u kobiet nieciążarnych od tych jakie uzyskali w swoich badaniach Buduneli i wsp. oraz Bieri i wsp.

Najwyższy Simplified Oral Hygiene Index w badanej grupie pacjentek był w I trymestrze $\max=3$, obniżając się w II trymestrze ciąży do wartości $\max= 2,660$ a w III trymestrze ciąży osiągnął maksymalną wartość 2,170. W grupie kontrolnej osiągnął statystycznie najniższą wartość maksymalną 1,830.

W podobnych badaniach przeprowadzonych przez Vasiliauskiene i wsp. [113] ciężarne podzielono na 2 grupy: grupa kontrolna (91 ciężarnych) oraz grupa badana (89 ciężarnych). Grupa badana została poddana następującym procesom higienizacji: aplikacji fluoru, zastosowania płukanek z chlorheksydyną oraz profesjonalnej higienizacji. Wskaźnik OHI-S był badany w I, II oraz III trymestrze ciąży w obu grupach. U pacjentek z grupy kontrolnej wskaźnik OHI-S wzrósł z $1,49 \pm 0,06$ do $1,9 \pm 0,06$ w III trymestrze ciąży, natomiast u kobiet z grupy badanej spadł z $1,48 \pm 0,05$ do $0,94 \pm 0,06$ w III trymestrze ciąży. Pacjentki, które nie poddane zostały profesjonalnej higienizacji, miały zdecydowanie gorsze wyniki [113].

PUWZ w badaniach własnych w I, II oraz III trymestrze ciąży miał maksymalne wartości równe 18. W II trymestrze ciąży minimalna wartość liczby PUWZ wynosiła 5, gdzie w pozostałych grupach badawczych wynosiła 0. Najwyższa wartość PUWZ była w grupie kontrolnej $\max=19$.

W 2010 roku Merglova i wsp. [73] przeprowadzili badania na grupie 142 kobiet ciężarnych (w tym 81 kobiet z ciążą zagrożoną oraz 61 ciężarnych bez zaburzeń) w III trymestrze, będących pacjentkami Szpitala Uniwersyteckiego w Pilźnie, Czechy.

Najniższa liczba PUWZ w obu grupach badanych wynosiła 1. W grupie kobiet z zagrożoną ciążą najwyższy wynik PUWZ wynosił 28 a w grupie zdrowych ciężarnych 27. Nie wykryto istotnych statystycznie różnic pomiędzy PUWZ w obu grupach. W badaniach własnych w III trymestrze maksymalnie liczba PUWZ osiągnęła wartość 18.

Na tej podstawie możemy zauważyć, że stan zdrowia jamy ustnej w badaniach własnych w grupie badanej przedstawia się lepiej niż w populacji ciężarnych na terenie Czech.

Miejsce zamieszkania oraz niskie warunki socjoekonomiczne mogą być powodem obniżonego stanu higieny jamy ustnej.

W badaniach przeprowadzonych na grupie 505 ciężarnych kobiet zamieszkujących Szanghaj i okolice tylko 1,2% badanych chodziło regularnie na przeglądy stomatologiczne. Jest to duża różnica w porównaniu z kobietami w Stanach Zjednoczonych (49%) [68].

Podobnie do Chin przedstawia się sytuacja leczenia stomatologicznego u kobiet ciężarnych w Brazylii, które nawet nie pojawiały się na wizyty, by zapobiec bólowi. Większość badanych kobiet wierzyło, że w ciąży nie należy poddawać się leczeniu stomatologicznemu ze względu na bezpieczeństwo płodu [26].

Kobiety zamieszkujące Ugandę powszechnie uważają poprawność stwierdzenia: „jedna ciąża, jeden ząb”. Okazuje się, że około 3/4 kobiet w Ugandzie nie poszukuje pomocy lekarza dentysty [117].

Promocja zdrowia jamy ustnej jest niezbędna oraz powinna być priorytetem szczególnie w krajach trzeciego świata i w miejscach z obniżonymi warunkami socjoekonomicznymi. Aktualnie jest coraz więcej programów organizowanych przez Światową Organizację Zdrowia oraz Światową Federację Dentystów w tym zakresie.

V.9. Korelacja badanych wskaźników stomatologicznych, a poziomu badanych metali oraz TBARS.

W badaniach własnych zbadano korelację wskaźników stomatologicznych w stosunku do stężenia badanych metali oraz TBARS.

W całej grupie badanej (200 osób) istotne związki monotoniczne dotyczyły stężenia rtęci w korelacji do Plaque Index oraz Simplified Oral Hygiene Index. Ujemne wartości korelacji Spearman R wskazują na odwrotny kierunek zmian. Wraz ze wzrostem stężenia rtęci maleje poziom Pl oraz OHI-S. W takiej samej korelacji przedstawia się stężenie niklu oraz wartości liczby PUWZ jak również wartości stężenia ołowiu w korelacji do GI, Pl, BoP oraz OHI-S. Ujemną wartość korelacji Spearman R wykazała również korelacja stężenia chromu w stosunku do GI, Pl oraz OHI-S.

W I trymestrze ciąży istotne związki monotoniczne, o ujemnej wartości korelacji Spearman R wykazała korelacja stężenia rtęci do Pl jak również stężenia niklu do GI oraz ołowiu do Pl. Wraz ze wzrostem stężenia rtęci, niklu oraz ołowiu wyżej wymienione wskaźniki maleją w I trymestrze ciąży. W przypadku korelacji stężenia rtęci do wartości liczby PUWZ wartość korelacji Spearman R była dodatnia, co wykazuje na zmianę obu zmiennych w tym samym kierunku. Wraz z wzrostem stężenia rtęci rośnie liczba PUWZ.

W II trymestrze ciąży istotne związki monotoniczne dotyczyły stężenia kadmu, ołowiu, oraz TBARS. W przypadku korelacji stężenia kadmu oraz ołowiu w stosunku do wartości wskaźnika GI oraz Pl jak również stężenia cynku do wartości wskaźnika BoP ujemne wartości korelacji Spearman R wskazują na odwrotny kierunek zmian. Wraz ze wzrostem stężenia rtęci, cynku oraz ołowiu wskazane wskaźniki stomatologiczne malały. Korelacja stężenia TBARS do wartości wskaźnika OHI-S posiadała dodatnie wartości Spearman R, co wskazuje na zmiany zmiennych w jednym kierunku. Wraz ze wzrostem stężenia TBARS wzrastała wartość wskaźnika OHI-S.

W III trymestrze ciąży istotne związki monotoniczne dotyczyły korelacji stężenia ołowiu do wartości wskaźnika GI oraz BoP. W obu przypadkach występowały

ujemne wartości korelacji Spearman R. Wraz ze wzrostem stężenia ołowiu malały wartości wskaźników GI oraz BoP.

W grupie kontrolnej wykazano najwięcej istotnych związków monotonicznych o ujemnej wartości korelacji Spearman R (wzrost stężenia metali sugeruje zmniejszenie wartości badanych wskaźników). W przypadku stężenia TBARS zauważono taki związek monotoniczny w stosunku do wartości wskaźnika GI, Pl oraz OHI-S. W przypadku rtęci dotyczyło to wartości wskaźnika Pl oraz OHI-S. Kolejną z korelacji była korelacja stężenia ołowiu w stosunku do wartości wskaźnika GI, Pl, OHI-S oraz wartości liczby PUWZ. Ostatnią istotną korelacją wykazującą istotne związki monotoniczne była korelacja stężenia chromu do wartości wskaźnika GI, Pl, BoP oraz OHI-S.

Nie znaleziono podobnych badań w literaturze, stąd niemożliwa jest dyskusja z wyżej przedstawioną analizą.

Przedstawione powyżej wyniki nie tylko wskazują na niezwykle istotność współpracy pomiędzy lekarzem dentystą, a lekarzem ginekologiem w opiece ciężarnych, ale również na potencjał diagnostyczny śliny. Określenie śliny jako materiału diagnostycznego, który potencjalnie może zastąpić badania krwi w przypadku analizy obecności metali toksycznych i produktów peroksydacji lipidów ,wymaga dalszych badań.

VI. Wnioski

1. W zależności od trymestru ciąży występują różnice w stężeniach wybranych pierwiastków w ślinie ciężarnych kobiet w porównaniu z kobietami nie ciężarnymi.
2. W zależności od miejsca zamieszkania (miasto, wieś, gmina) występują istotne różnice w stężeniu metali w ślinie ciężarnych kobiet w porównaniu z nie ciężarnymi.
3. Oznaczenie pierwiastków: niezbędnych (cynk) i metali toksycznych (ołów, kadm, chrom VI, nikiel, rtęć) w ślinie pozwoliło na opracowanie i zoptymalizowanie procedury analitycznej, która może zostać skutecznie wykorzystana w badaniach klinicznych i toksykologicznych do określania powyższych pierwiastków w bardzo niskich zakresach stężeń.
4. Wykazano statystycznie istotne różnice stężenia TBARS w ślinie kobiet ciężarnych w porównaniu z kobietami nie ciężarnymi. Stężenia te były wyższe w II trymestrze ciąży u kobiet zamieszkujących miasta.
5. Wraz ze wzrostem stężenia rtęci, niklu oraz ołowiu w ślinie kobiet w I trymestrze ciąży, poprawia się stan higieny jamy ustnej i dziąseł.
6. Wraz ze wzrostem stężenia rtęci, cynku oraz ołowiu w ślinie kobiet II trymestrze ciąży poprawia się stan higieny jamy ustnej oraz dziąseł, natomiast w III trymestrze ciąży wraz ze wzrostem stężenia ołowiu poprawia się stan dziąseł.

VI. Streszczenie

Intensywny rozwój nowych technologii, postępująca urbanizacja, a także konsumpcyjny styl życia człowieka wywołują niekorzystne, a nawet nieodwracalne zmiany w środowisku. Do powietrza, wód powierzchniowych i gleby dostaje się szeroka gama zanieczyszczeń. Związki chemiczne przedostają się do roślin, organizmów zwierzęcych i ostatecznie do organizmów ludzkich. Zanieczyszczenia te mogą wywoływać niekorzystne efekty, zarówno po ekspozycji, jak i w okresie późniejszym określane terminem „odległe skutki toksyczne”. Dotyczy to przede wszystkim dzieci, kobiet, kobiet ciężarnych i osób starszych. Ciąża jest wyjątkowym okresem w życiu kobiety, stąd ewentualne narażenie prenatalne powinno być szczególnie kontrolowane przez przyszłą matkę. Ksenobiotyki wchłonięte do organizmu ulegają rozmieszczeniu, (czasami kumulacji), biotransformacji i wydalaniu. Procesy te uzależnione są od czynników fizjologicznych i właściwości fizykochemicznych substancji wchłoniętej. Ksenobiotyki lub ich metabolity mogą znajdować się w różnym materiale biologicznym, m.in. w ślinie.

Głównym celem pracy była ocena stężeń wybranych metali - cynku, ołowiu, rtęci, kadmu, chromu i niklu oraz peroksydacji lipidów w ślinie kobiet ciężarnych. Cel pracy realizowano poprzez: 1. Opracowanie autorskiego kwestionariusza ankiety, 2. Wyznaczenie stężenia wybranych metali – Zn, Pb, Hg, Cd, Cr, Ni w ślinie kobiet ciężarnych w poszczególnych trymestrach ciąży, 3. Analizę stężenia TBARS w ślinie kobiet, 4. Analizę przeprowadzonych badań ankietowych dotyczących wieku i miejsca zamieszkania, przyjmowanych leków i suplementów, 5. Ocenę potencjalnego wpływu wybranych metali oraz TBARS w ślinie kobiet ciężarnych na błonę śluzową jamy ustnej.

Grupy badane stanowiły kobiety ciężarne w I (Grupa A, n=50), II (Grupa B, n=50) i III (Grupa C, n=50) trymestrze ciąży oraz nie ciężarne (Grupa K, n=50), łącznie 200 kobiet – pacjentek Kliniki Zdrowia Matki i Dziecka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Na wykonanie badań

uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej działającej w oparciu o polskie przepisy prawa i Good Clinical Practice przy Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu o numerze uchwały 723/16 wydaną 16.06.2016 r.

Materiał biologiczny stanowiła ślina (2mL) pobrana według standardów europejskich z zastosowaniem probówek Salivette firmy Sarstedt. W pierwszym etapie projektu przeprowadzono badania ankietowe w oparciu o autorski kwestionariusz dotyczący wieku, miejsca zamieszkania, tygodnia ciąży, przyjmowanych leków, nawyków żywieniowych oraz historii chorób przyzębia w rodzinie. W kolejnym etapie wykonano badania jamy ustnej oraz zbadano intensywność próchnicy, stan higieny jamy ustnej i dziąseł na podstawie klinicznych wskaźników stomatologicznych: PUWZ, Plaque Index (PI), Gingival Index (GI), Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S) oraz Bleeding on Probing (BoP). W badaniu została uwzględniona liczba wypełnień amalgamatowych. Następnie od pacjentek pobrano ślinę do probówek Salivette. W pobranym materiale biologicznym oznaczono peroksydację lipidów (TBARS) oraz wyznaczono stężenia wybranych metali (Cr, Cd, Ni, Zn, Hg, Pb) metodą atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie indukowanej (ICP-OES) po uprzedniej mineralizacji. Wyniki badań poddano analizie statystycznej.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że zależnie od trymestru ciąży występują istotne różnice w poziomach wybranych pierwiastków w ślinie ciężarnych w stosunku do grupy kobiet nie ciężarnych – Cd↑, Cr↓. Wykazano również, statystycznie istotne różnice w stężeniu metali w ślinie pacjentek w zależności od miejsca zamieszkania (miasto, wieś, gmina). W przypadku mieszkanek miast istotne statystycznie różnice stężenia TBARS były wyższe w II trymestrze ciąży.

VII. Abstract

The fast paced development of new technologies, expansion of the cities, industrialization as well as the consumerism lifestyle cause not only adverse but also irreversible environmental changes. Air, surface water and soil are prone to wide range of pollutants. Chemical compounds enter plants, animals and finally human bodies. These pollutants can cause adverse effects straight after exposition, as well as later after the exposition. The late adverse effect exposition in literature is called the long-term toxic effect. Children, women, pregnant women and elderly are the ones prone to long-term toxic effects. Prenatal health and growth of the fetus is one of the most crucial times in human lives. Exposition in such early times during pregnancy can have influence on the infant health years after the exposition, thus it should be controlled by future mother. Xenobiotics are absorbed into body and administered, (sometimes cumulated), biotransformed and eliminated. These processes are dependent on physiological factors and psychochemical properties of the absorbed substance. Xenobiotics or their metabolites can be found in diverse biological fluids, saliva being one of them.

The aim of this study was to measure the selected toxic metals - zinc, lead, mercury, cadmium, chromium and nickel as well as the lipid per oxidation in saliva of pregnant women. The objectives were achieved by following steps: 1. The original questionnaire was made 2. The levels of selected metals (Zn, Pb, Hg, Cd, Cr, Ni) in saliva in three trimesters and control group were measured respectively as well as the TBARS levels, 3. The analysis of questionnaire regarding age, place of residence, taken supplementation and medication, 4. Assessment of potential influence of selected toxic metals and TBARS in saliva of pregnant women on oral mucosa.

The study was conducted on 200 women that were hospitalized at the Department of Mother and Child Health in Gynecology and Obstetrics University Hospital in Poznan. The study cohort was divided into 4 groups: Group A (I trimester), Group B (II trimester), Group C (III trimester), Group K (control). Each of the groups consisted of 50 women respectively. The Bioethics Committee within Poznan Univer-

sity of Medical Sciences based on polish law as well as the Good Clinical Practice issued an agreement (732/12) for conducting the study on 16.06.2016.

Non stimulated saliva (2mL) served as the examined biological fluid that was retrieved based on European sampling standards using the Salivette test-tubes form Sarstedt. The examination of the subjects was conducted in morning hours from February 2017 till October 2018. Patients were all on an empty stomach to avoid sample contamination. Firstly the original questionnaire regarding age, gestational age, prescribed medication, place of residence dietary habits and periodontitis history in family was taken from all patients. Each patient had signed the consent. Secondly non stimulated saliva was sampled using the Salivette test-tubes form Sarstedt. After taking the samples dental check-up was conducted: Silness and Loe criteria were used to quantify plaque deposition (Plaque Index-PI), whereas gingival status was assessed using Gingival Index (GI) of Loe and Silness. The prevalence of dental carries was measured using DMFT Index and gingival inflammation was diagnosed using Bleeding on Probing (BoP) indicator. The number of amalgam fillings was also noted during the check up. In saliva samples selected toxic metals (Cr, Cd, Ni, Zn, Hg, Pb) and lipids per oxidation (TBARS) was measured using *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS)*. Statistical analysis using Mann-Whitney U-test and Spearman-R was conducted.

Results: Statistically significant differences were observed in levels of selected toxic metals in different trimesters in relation to control group – Cd↑, Cr↓. Also statistically significant differences were observed in levels of selected toxic metals based on place of residence (city, village, municipality). City residents had statistically significant differences in levels of TBARS in II trimester.

VIII. Piśmiennictwo:

1. Ainamo J., Bay I.; Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4):229–235
2. Allen K.A.; Is Prenatal Lead Exposure a Concern in Infancy? What Is the Evidence? *Adv Neonatal Care.* 2015;15(6):416-420
3. Almerich-Silla J.M., Montiel-Company J.M., Pastor S., Serrano F., Puig-Silla M., Dasí F.; Oxidative Stress Parameters in Saliva and Its Association with Periodontal Disease and Types of Bacteria. *Dis Markers.* 2015;2015:653537
4. Al-Saleh I., Abduljabbar M., Al-Rouqi R., Elkhatib R., Alshabbaheen A., Shinwari N.; Mercury (Hg) exposure in breast-fed infants and their mothers and the evidence of oxidative stress. *Biol Trace Elem Res.* 2013;153(1-3):145-154
5. Arunkumar S., Arunkumar. J.S., Burde K.N., Shakunthala G.K.; Developments in diagnostic applications of saliva in oral and systemic diseases - A comprehensive review. *J Sci Innov Res.* 2014;3(3):372-387
6. Asagba S.O.; Role of diet in absorption and toxicity of oral cadmium. *Afr J Biotechnol.* 2009;8(25):7428-7436
7. Ayala A., Muñoz M.F., Argüelles S.; Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:360-438
8. Baltacıoğlu E., Yuva P., Aydın G., Alver A., Kahraman C., Karabulut E., Akalın F.A.; Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva

from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? *J Periodontol.* 2014;85(10):1432-1441

9. Baňasová L., Kamodyová N., Janšáková K., Tóthová Ľ., Stanko P., Turňa J., Celec P.; Salivary DNA and markers of oxidative stress in patients with chronic periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2015;19(2):201-207

10. Behuliak M., Pálffy R., Gardlík R., Hodosy J., Halcák L., Celec P.; Variability of thiobarbituric acid reacting substances in saliva. *Dis Markers.* 2009;26(2):49-53

11. Bhowmick S., Kundu A.K., Adhikari J., Chatterjee D., Iglesias M., Nriagu J., Guha Mazumder D.N., Shomar B., Chatterjee D.; Assessment of toxic metals in groundwater and saliva in an arsenic affected area of West Bengal, India: A pilot scale study. *Environ Res.* 2015;142:328-336

12. Bieri R. A., Adriaens L., Sporri S., Lang N.P., Persson G. R.; Gingival fluid cytokine expression and subgingival bacterial counts during pregnancy and postpartum: a case series. *Clin Oral Investig.* 2013;17(1):19–28

13. Borakowska-Siennicka M.; Stan przyzębia i higieny jamy ustnej u kobiet ciężarnych. *Nowa Stomatol.* 2002;7:199-203

14. Borges I. Jr, Moreira E.A., Filho D.W., de Oliveira T.B., da Silva M.B., Fröde T.S.; Proinflammatory and oxidative stress markers in patients with periodontal disease. *Mediators Inflamm.* 2007;2007:45794

15. Boskovic M., Stankovic S., Sokolovic D., Kocic G., Jeremovic D., Filipovic G., Ristic I.; Biochemical and biological capacities of saliva in the diagnostics of oral health - literature data. *J Environ Prot Ecol.* 2016;17(3):903-910

16. Buduneli N., Becerik S., Buduneli E., Baylas H., Kinnby B.; Gingival status, crevicular fluid tissue-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-2 levels in pregnancy versus post-partum. *Aust Dent J.* 2010;55(3):292-297
17. Canfield R.L., Henderson C.R. Jr., Cory Selchta D.A Cox C., Jusko T. A., Lanphear B.P.; Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 micro per deciliter. *N Engl J Med.* 2003;348(7):1517-1526
18. Caserta D., Graziano A., Lo Monte G., Brodi M., Moscarini M.; Heavy metals and placental fetal-maternal barrier: a mini-review on the major concerns. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013;17(16):2198-2206
19. Chen X., Li Y., Zhang B., Zhou A., Zheng T., Huang Z., Pan X., Liu W., Liu H., Jiang Y., Sun X., Hu C., Xing Y., Xia W., Xu S.; Maternal exposure to nickel in relation to preterm delivery. *Chemosphere.* 2018;193:1157-1163
20. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF.; Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta.* 2007;383(1-2):30-40.
21. Costa R.D., Cossich E.S.,Tavares C.R.G.; Influence of the temperature, volume and type of solution in the mercury vaporization of dental amalgam residue. *Sci. Total Environ.* 2008;407(1):1–6
22. Czerska M., Mikołajewska K., Zieliński M., Gromadzińska J., Wąsowicz W.; Today's oxidative stress markers. *Med Pr.* 2015;66(3):393-405
23. da Silva de Assis H.C., Sánchez-Chardi A., Dos Reis R.C., Nicaretta L., Mencinauski C., Jakobi S.C., da Silva P.H., Zampronio A.R., Pelletier E., de Oliveira Ribeiro

- C.A.; Subchronic toxic effects of tributyltin (TBT) and inorganic lead (PbII) in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2005;19(1):113-120
24. De la Guardia M., Garrigues S.; *Handbook of Mineral Elements in Food.* Wiley Blackwell. 1 edition 2015;636-636
25. Demirtaş M., Şenel Ü., Yüksel S., Yüksel M.; A comparison of the generation of free radicals in saliva of active and passive smokers. *Turk J Med Sci.* 2014;44(2): 208-211
26. de Oliveira B.H., Nadanovsky P.; The impact of oral pain on quality of life during pregnancy in low-income Brazilian women. *J Orofac Pain.* 2006;20(4):297–305
27. Dickerson E.H., Sathyapalan T., Knight R., Maguiness S.M., Killick S.R., Robinson J., Atkin S.L.; Endocrine disruptor & nutritional effects of heavy metals in ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet.* 2011;28(12):1223-1228
28. D'Souza V., Rani A., Patil V., Pisal H., Randhir K., Mehendale S., Wagh G., Gupte S., Joshi S.; Increased oxidative stress from early pregnancy in women who develop preeclampsia. *Clin Exp Hypertens.* 2016;38(2):225-232
29. Edwards S.E., Maxson P., Miranda M.L., Fry R.C.; Cadmium Levels in North Carolina cohort: Identifying risk factors for elevated levels during pregnancy. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2015;25(4):427-432
30. Emory E., Pattillo R., Archibold E., Bayorh M., Sung F.; Neurobehavioral effects of low-level lead exposure in human neonates. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(1): 2-11

31. Esterbauer H., Lang J., Zadavec S., Slater T.F.; Detection of malonaldehyde by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol.* 1984;105:319–328
32. Esterbauer H., Schaur R. J., Zollner H.; Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Rad. Biol. Med.* 1991;11(1):81–128
33. Fakour H., Esmaili-Sari A., Zayeri F.; Mercury exposure assessment in Iranian women's hair of a port town with respect to food consumption and amalgam fillings. *Sci Total Environ.* 2010;408(7):1538-1543
34. Fakour H., Esmaili-Sari A., Zayeri F.; Scalp hair and saliva as biomarkers in determination of mercury levels in Iranian women: Amalgam as a determinant of exposure. *J Hazard Mater.* 2010;177(1-3):109-113
35. Fort M., Cosin-Tomas M., O. Grimalt J., Querol X., Casas M., Sunyer J.; Assessment of exposure to trace metals in a cohort of pregnant women from an urban center by urine analysts in the first and third trimesters of pregnancy. *Environ Sci Pollut Res.* 2014; 21(15):9234-9241
36. Fuentes L., Yakob M., Wong D.T.W.; Emerging horizons of salivary diagnostics for periodontal disease. *Br Dent J.* 2014; 214:567-573
37. Garcia R.C., Sondgrass W.R.; Lead toxicity and chelation therapy. *Am J Health-Syst Pharm.* 2007;64(1):45-53
38. Gasparovic AC, Jaganjac M, Mihaljevic B, Sunjic SB, Zarkovic N.; Assays for the measurement of lipid peroxidation. *Methods Mol Biol.* 2013;965:283-296

39. Geisinger M.L., Geurs N.C., Bain J.L., Kaur M., Vassilopoulos P.J., Cliver S.P., Hauth J.C., Reddy M.S.; Oral health education and therapy reduces gingivitis during pregnancy. *J Clin Periodontol.* 2014;41(2):141–148
40. Gibson F.C., Yumoto H., Takahashi Y., Chou H.H., Genco C.A.; Innate immune signaling and *Porphyromonas gingivalis*-accelerated atherosclerosis. *J Dent Res.* 2006;85(2):106–121
41. Giera M., Lingeman H., Niessen W.M.A.; Recent advancements in the LC- and GC-based analysis of malondialdehyde (MDA): a brief overview. *Chromatographia.* 2012;75(9-10):433–440
42. Gonzalez-Jaranay M., Tellez L, Roa-Lopez A., Gomez-Moreno G., Moreu G.; Periodontal status during pregnancy and postpartum. *PLoS ONE.* 2017;12(5):e0178234
43. Groschl M, Henrik K, Topf H, Rupprecht T, Rauh M.; Evaluation of saliva collection devices for the analysis of steroids, peptides and therapeutic drugs. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;47(3):478-486
44. Guo L, Shi W.; Salivary biomarkers for caries risk assessment. *J Calif Dent Assoc.* 2013;41(2):107–118
45. Gürsoy, M., Gürsoy, U. K., Sorsa, T., Pajukanta, R. & Könönen, E.; High salivary estrogen and risk of developing pregnancy gingivitis. *J Periodontol.* 2013;84(9):1281-1289
46. Haeckel R., Hanecke P.; Application of saliva for drug monitoring. An in vitro model for transmembrane transport. *Our. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1996;34(3):171-191
47. Hajdo A., Wilczak M., Gniazdowski K., Mielczarek A.; Ślina - zwierciadło zdrowia jamy ustnej. *Med Trib Stomatol.* 2018;10:35-37

48. Hansen AM, Garde AH, Persson R. Sources of biological and methodological variation in salivary cortisol and the impact on measurement among healthy adults: a review. *Scand J Clin Lab Invest.* 2008;68(6):448-458
49. Harrington JM, Young DJ, Essader AS, Sumner SJ, Levine KE.; Analysis of human serum and whole blood for mineral content by ICP-MS and ICP-OES: development of a mineralomics method. *Biol Trace Elem Res.* 2014;160(1):132-142
50. Huang S., Xia W., Li Y., Zhang B., Zhou A., Zheng T., Qian Z., Huang Z., Lu S., Chen Z., Wang Y., Pan X., Huo W., Jin S., Jiang Y., Xu S.; Association between maternal urinary chromium and premature rupture of membranes in the Healthy Baby Cohort study in China. *Environ Pollut.* 2017;230:53-60
51. Humphrey SP, Wiliamson RT.; A review of saliva: normal composition, flow and function. *J Prosthet Dent.* 2001;85(2):162-169
52. Ilday N.O., Celik N., Dilsiz A., Alp H.H., Aydin T., Seven N., Kiziltunç A.; The effects of overhang amalgam restoration on levels of cytokines, gingival crevicular fluid volume and some periodontal parameters. *Am J Dent.* 2016;29(5):266-327
53. Izquierdo-Alvarez S., Garcia Castanon S., Calvo Ruata M.L., Fuertes Aragues E., Pocos Terraz P., Gonzalez Irazabal Y., Garcia Gonzalez E., Garcia Rodriguez B.; Updating of normal levels of copper, zinc and selenium in serum of pregnant women. *J Trace Elem Med Biol.* 2007;21(S1):49-52
54. Jarup L.; Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull.* 2003;68:167-182
55. Jarup L., Belglund M., Elinder C.G., Nordberg G., Vather M.; Health effects of cadmium exposure - a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health.* 1998;24(1):1-51

56. Jiang Y., Wang H., Chen J., Zhang G., Chen L., Dai W., Zhou W., Yang H., Shi H.; Blood lead levels during different trimesters of pregnancy and the possible influencing factors in Chengdu, China. *Biol Trace Elem Res.* 2011;144(1-3):27-35
57. Johnson M.A.; High calcium intake blunts pregnancy induced increases in maternal blood lead. *Nutr Rev.* 2001;59(5):152–156
58. Kaczor-Urbanowicz K.E., Carreas-Presas C.M., Aro K., Tu M., Garcia-Godoy F., Wong TW D.; Saliva diagnostics - current views and directions. *Ex Biol Med.* 2017;242(5):459-472
59. Karaer A., Gorkem T., Tanrikut E., Ozgul O.; Blood cadmium concentrations in women with ectopic pregnancy. *Biol Trace Elem Res.* 2018;184(1):42-46
60. Kaufman E., Lamster I.B.; Analysis of saliva for periodontal diagnosis—a review. *J Clin Periodontol.* 2000;27(7):453–65
61. Kippler M., Bottai M., Georgiou V., Koutra K., Chalkiadaki G., Kampouri M., Kyriklaki A., Vafeiadi M., Fthenou E., Vassilaki M., Kogevinas M., Vahter M., Chatzi L.; Impact of prenatal exposure to cadmium on cognitive development at preschool age and the importance of selenium and iodine. *Eur J Epidemiol.* 2016;31(11):1123-1134
62. Laine J.E., Ray P., Bodnar W., Cable P.H., Boggess K., Offenbacher S., Fry R.C.; Placental Cadmium Levels Are Associated with Increased Preeclampsia Risk. *PLoS ONE.* 2015;10(9):e0113941
63. Laudanski T., Sipowicz M., Modzelewski P., Bolinski J., Szamatowicz J., Ranzewska G., Akerlund M.; Influence of high lead and cadmium soil content on human reproductive outcome. *Int J Gynaecol Obstet.* 1991;36(4):309-315

64. Lee J., Garon E., Wong D.; Salivary diagnostics. *Orthod Craniofac Res.* 2009;12(3):206-211
65. Liu J., Gao D., Chen Y., Jing J., Hu Q., Chen Y.; Lead exposure at each stage of pregnancy and neurobehavioral development of neonates. *Neurotoxicology.* 2014;44:1-7
66. Liu X., Cheng J., Yuling S., Honda S., Wang L., Liu Z., Sakamoto M., Liu W.; Mercury concentration in hair samples from Chinese people in coastal cities. *J Environ Sci.* 2008;20(10):1258–1262
67. Løe H., Silness J.; Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21(6):533–551
68. Lu H.X., Xu W., Wong M.C., Wei T.Y., Feng X.P.; Impact of periodontal conditions on the quality of life of pregnant women: a cross-sectional study. *Health Qual Life Outcomes.* 2015;28:13-67
69. Malamud D., Rodriguez-Chavez I.R.; Saliva as diagnostic fluid. *Dent Clin North Am.* 2011;55(1):159-178
70. Malathi M., Mythili S., Vasanthi H.R.; Salivary Diagnostics: A Brief Review. *ISRN Dentistry.* 2014;2014:158786
71. Maret W., Sandsted H.H.; Zinc Requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol.* 2006;20(1):3-18
72. McDermott S., Salzberg D.C., Anderson A.P., Shaw T., Lead J.; Systematic review of chromium and nickel exposure during pregnancy and impact on child outcomes, *J Toxicol Environ Health.* 2015;78(21-22):1348-1368

73. Merglova V., Hecova H., Stehlikova J., Chaloupka P.; Oral health status of women with high-risk pregnancies. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2012;156(4):337-341
74. Milnerowicz-Nabzdyk E., Bizon A.; How does tobacco smoke influence the morphometry of the fetus and the umbilical cord? - Research on pregnant women with intrauterine growth restriction exposed to tobacco smoke. *Reprod Toxicol.* 2015;58:79-84
75. Mistry H.D., Kurlak L.O., Young S.D., Briley A.L., Pipkin F.B., Baker P.N., Poston L.; Maternal Selenium, copper and zinc concentrations in pregnancy associated with small-for-gestational-age infants. *Matern Child Nutr.* 2014;10(3):327-334
76. Mitra P., Sharma S., Pourohit P., Sharma P.; Clinical and molecular aspects of lead toxicity:An update. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2017;54(7-8):506-528
77. Moore S., Ide M, Coward P.Y., Randhawa M., Borkowska E., Baylis R., Wilson R.F.;A prospective study to investigate the relationship between periodontal disease and adverse pregnancy outcome. *Br Dent J.* 2004;197(5):251–258
78. Mukhtar F.; The rising menace of smog: time to act now.*J Ayub Med Coll Abbotabad.* 2018;30(1);1-2
79. Navazesh M.; Methods for collecting saliva. *Ann NY Acad Sci.* 1993 20;694:72–77
80. Needleman H.; Lead poisoning. *Annu Rev Med.* 2004;55:209-222

81. Nunes L.A.S., Brenzikofer R., Macedo D.V.; Reference intervals for saliva analytes collected by a standardized method in a physically active population. *Clin Biochem.* 2011;44(17-18):1440-1444
82. Offenbacher S., Katz V., Fertik G., Collins J., Boyd D., Maynor G., McKaig R., Beck J.; Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol.* 1996;67(10):1103–1113
83. Offenbacher S., Lieff S., Boggess K.A., Murtha A.P., Madianos P.N., Champagne C.M., McKaig R.G., Jared H.L., Mauriello S.M., Auten R.L. Jr, Herbert W.N., Beck J.D.; Maternal periodontitis and prematurity. Part I: Obstetric outcome of prematurity and growth restriction. *Ann Periodontol.* 2001;6(1):164–174
84. Pan X., Hu J., Xia W., Zhang B., Liu W., Zhang C., Yang J., Hu C., Zhou A., Chen Z., Cao J., Zhang Y., Wang Y., Huang Z., Lv B., Song R., Zhang J., Xu S., Li Y.; Prenatal chromium exposure and risk of preterm birth: a cohort study in Hubei, China. *Sci Rep.* 2017;8-7(1):30-48
85. Papanikolaou N.C., Hatzidaki E.G., Belibanis S., Tzanakakis G.N., Tsatsakis A.M.; Lead toxicity update a brief review. *Med Sci Monit.* 2005;11(10):329-336
86. Patrick L.; Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment. *Altern Med Rev.* 2006;11(1):2-22
87. Piątowska D.: Kariologia współczesna - postępowanie kliniczne. *Med Tour Press International.* 2009,27-28
88. Pihlstrom B.L, Michalowicz B.S, Johnson N.W.; Periodontal diseases. *Lancet.* 2005; 366(9499):1809–1820

89. Podsiadła-Urban G., Kiernicka M., Wysokińska-Miszczuk J.; Wpływ estrogenów i progesteronu na stan przyzębia w poszczególnych okresach życia kobiety-przegląd piśmiennictwa. *Dent Med Probl.* 2010;47(1):89-96
90. Prohaska C, Pomazal K, Steffan I.; Determination of Ca, Mg, Fe, Cu, and Zn in blood fractions and whole blood of humans by ICP-OES. *Fresenius J Anal Chem.* 200;367(5):479-484
91. Roberts, J. S., and Silbergeld, E. K.; Pregnancy, lactation, and menopause: How physiology and gender affect the toxicity of chemicals. *Mt Sinai J Med.* 1995;62(5):343-355
92. Rothenberg S.J., Khan F., Manalo M., Jiang J., Cuellar R., Reyes S., Acosta S., Jauregui M., Diaz M., Sanchez M., Todd A.C., Johnson C.; Maternal bone lead contribution to blood lead during and after pregnancy. *Environ Res A.* 2000;82(1):81–90
93. Ryba B.; Porównanie świadomości prozdrowotnej oraz samooceny higieny ze stanem zębów i przyzębia pacjentów z powiatu krakowskiego. Praca doktorska, 2015, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
94. Rzymski P., Niedzielski P., Poniedziałek B., Tomczyk K., Rzymski P.; Identification of toxic metals in human embryonic tissues, *Arch Med Sci.* 2015;14(2):415-421
95. Rzymski P., Rzymski P., Tomczyk K., Niedzielski P., Jakubowski K., Poniedziałek B., Opala T.; Metal Status in human endometrium: Relation to cigarette smoking and histological lesions. *Environ Res.* 2014;132:328-333
96. Saner G.; Urinary chromium excretion during pregnancy and its relationship with intravenous glucose loading. *Am J Clin Nutr.* 1981;34(9):1676-1679

97. Schreier H.M., Hsu H.H., Amarasiriwardena C., Coull B.A., Schnaas L., Téllez-Rojo M.M., Tamayo y Ortiz M., Wright R.J., Wright R.O.; Mercury and psychosocial stress exposure interact to predict maternal diurnal cortisol during pregnancy. *Environ Health*. 2015 27;14-28
98. Schwalfenberg G., Rodushkin I., Genuis S.J.; Heavy metal contamination of prenatal vitamins. *Toxicol Rep*. 2018;5:390-395
99. Seraphim A.P., Chiba F.Y., Pereira R.F., Mattera M.S., Moimaz S.A., Sumida D.H.; Relationship among Periodontal Disease, Insulin Resistance, Salivary Cortisol, and Stress Levels during Pregnancy. *Braz Dent J*. 2016;27(2):123-127
100. Silbergeld, E. K., Flaws, J. A.; Chemicals and menopause: effects on age at menopause and on health status in the post- menopausal period. *J Womens Health*. 1999;8(2):227-234
101. Silness J., Løe H.; Periodontal disease in pregnancy. Part II: Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*. 1964;22:121-135
102. Silk H., Douglass A.B., Douglass J.M., Silk L.; Oral health during pregnancy. *Am Fam Physician*. 2008;77(8):1139-1144
103. Shaddox L.M., Walker C.B.; Treating chronic periodontitis: current status, challenges, and future directions. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2010;11;2:79–91
104. Shrivastava R., Upreti R.K., Seth P.K., Chaturvedi U.C.; Effects of chromium on the immune system. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2002;34(1):1-7
105. Soares Nunes L.A., Mussavira S., Bindhu O.S.; Clinical and diagnostic utility of saliva as non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochemia Medica*. 2015;25(2):177-192

106. Srinivas S.K., Parry S.; Periodontal Disease and Pregnancy Outcomes: Time to Move On? *J Womens Health*. 2012;21(2):121-125
107. Stone M.E., Cohen M.E., Debban B.A.; Mercury vapor levels in exhaust air from dental vacuum systems. *Dental Mater*. 2007;23(5):527-532
108. Sullivan J.B., Kreger G.R.; Clinical environmental health and toxic exposures. 2nd ed., PA:LWW, 2001:926-930
109. Swartzendruber D.E.; The Possible Relationship Between Mercury From Dental Amalgam and Diseases I: Effects within the oral cavity. *Medical Hypotheses*. 1993;41(1):31-34
110. Taani D. Q., Habashneh R., Hammad M. M., Batieha A.; The periodontal status of pregnant women and its relationship with socio-demographic and clinical variables. *J Oral Rehabil*. 2003;30(4):440–445
111. Tilakaratne A., Soory M., Ranasinghe A.W., Corea S.M.X., Ekanayake S.L., De Silva M.; Periodontal disease status during pregnancy and 3 months post-partum, in a rural population of Sri-Lankan women. *J Clin Periodontol*. 2000;27(10):787–792
112. Vardavas C.I., Patelarou E., Grandér M., Chatzi L., Palm B., Fthenou E., Roumeliotaki T., Koutis A., Kafatos A., Vrijheid M., Connolly G.N., Murphy S., Vahter M., Kogevinas M.; The association between active/passive smoking and toxic metals among pregnant women in Greece. *Xenobiotica*. 2011;41(6):456-63
113. Vasiliauskiene I., Milciuviene S., Bendoraitiene E., Narbutaite J., Slabsinskiene E., Andruskeviciene V.; Dynamics of pregnant women's oral health status during preventive programme. *Stomatologija*. 2007;9(4):129-36

114. Vather M., Health effects of early life exposure to arsenic. *Basic Coin Pharmacy Toxicol.* 2008;29(3):291-296
115. Vather M., Berglund M., Akesson A., Liden C.; Metals and Women's Health. *Environ Res.* 2002;88(3):145-55
116. Waalkes M.P.;Cadmium carcinogenesis. *Mutat Res.* 2003;533(1-2):107-120
117. Wandera M.N., Engebretsen I.M., Rwenyonyi C.M., Tumwine J., Astrom A.N.; Periodontal status, tooth loss and self-reported periodontal problems effects on oral impacts on daily performances, ODP, in pregnant women in Uganda: a cross-sectional study. *Health Qual Life Outcomes.* 2009;7:89
118. Wędrowska E., Simińska E., Wandtke T., Wędrowski M., Piskorska. Potencjał diagnostyczny śliny w screeningu chorób wirusowych. *J Educ Health Sport.* 2016;6(1):147-156
119. Wilson R.L., Grieger J.A., Bianco-Miotto T., Roberts C.T.; Association between Maternal Zinc Status, Dietary Zinc Intake and Pregnancy Complications: A Systematic Review. *Nutrients.* 2016;8(10):641
120. World Health Organization, WHO, CICAD 50. Elemental mercury and inorganic mercury compounds: human health aspects. IPCS, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2003
121. Xia W., Hu J., Zhang B., Li Y., Wise JP Sr., Bassig BA., Zhou A., Savitz DA., Xiong C., Zhao J., du X., Zhou Y., Pan X., Yang J., Wu C., Jiang M., Peng Y., Qian Z., Zheng T., Xu S.; A case-control study of maternal exposure to chromium and infant low birth weight in China. *Chemosphere.* 2016;144:1484-1489

122. Yan W., Apweiler R., Bagley B.M., et al; Systematic comparison of human saliva and plasma proteomes. *Proteomics Clin Appl.* 2009;3(1):116
123. Zaki K., el Hak R., Amer W., Saleh F., El Faras A., Ragab L., Nour H.: Salivary female sex hormone levels and gingivitis in pregnancy. *Biomed Biochim Acta.* 1984;43(6):749-754
124. Zhang Y., Xu X., Chen A., Davuljigari C.B., Zheng X., Kim S.S., Dietrich K.N., Ho S.M., Reponen T., Huo X.; Maternal urinary cadmium levels during pregnancy associated with risk of sex-dependent birth outcomes from an e-waste pollution site in China. *Reprod Toxicol.* 2018;75:49-55
125. Zimmer H., Ludwig H., Bader M., Bailer J., Eickholz P., Staehle H.J., Triebig G.; Determination of mercury in blood, urine and saliva for the biological monitoring of an exposure from amalgam fillings in a group with self-reported adverse health effects. *Int J Hyg Environ Health.* 2002;205(3):205-211
126. Zimmermann M.B., Muthayya S., Moretti D., Kurpad A., Hurrell R.F.; Iron fortification reduces blood lead levels in children in Bangalore. *Indian Pediatr* 2006;117(6):2014–2021
127. <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/>
128. http://www.nationalacademies.org/hmd/~media/Files/Activity%20Files/Nutrition/DRI-Tables/6_%20Elements%20Summary.pdf?la=en

IX. Spis tabel

Tabela 1. Wiek i miejsce zamieszkania w badanych grupach.

Tabela 2. Średnie stężenie metali w ślinie w zależności od miejsca zamieszkania.

Tabela 3A. Średnie stężenia badanych pierwiastków w ślinie pacjentek u których nie stwierdzono w zębach obecności wypełnień amalgamatowych.

Tabela 3B. Średnie stężenia badanych pierwiastków w ślinie pacjentek, u których stwierdzono w zębach obecność wypełnień amalgamatowych.

Tabela 4A. Średnie stężenia badanych pierwiastków w ślinie pacjentek nie przyjmujących suplementów.

Tabela 4B. Średnie stężenia badanych pierwiastków w ślinie pacjentek przyjmujących suplementy.

Tabela 5. Średnie stężenie oznaczanych metali w ślinie kobiet w grupie A (I trymestr) (n =50).

Tabela 6. Średnie stężenie oznaczanych metali w ślinie kobiet w grupie B (II trymestr) (n =50).

Tabela 7. Średnie stężenie oznaczanych metali w ślinie kobiet w grupie C (III trymestr) (n =50).

Tabela 8. Średnie stężenie oznaczanych metali w ślinie kobiet w grupie K (n =50).

Tabela 9. Średnie stężenie TBARS ($\mu\text{mol/L}$) w ślinie kobiet w badanych grupach

Tabela 10. Liczba kobiet z wypełnieniami amalgamatowymi oraz bez nich.

Tabela 11. Wskaźnik Spearmana (Powiązanie obecności wypełnień amalgamatowych z wskaźnikami zapalenia przyzębia)

Tabela 12. Stan dziąseł badanych kobiet na podstawie wartości wskaźnika GI z podziałem na miejsce zamieszkania.

Tabela 13. Stan higieny jamy ustnej badanych kobiet na podstawie wskaźnika Pl z podziałem na miejsce zamieszkania.

Tabela 14. Stan dziąseł badanych kobiet na podstawie wskaźnika Bleeding on Probing (BoP) (%) z podziałem na miejsce zamieszkania.

Tabela 15. Stan higieny jamy ustnej badanych kobiet na podstawie wskaźnika OHI-S z podziałem na miejsce zamieszkania.

Tabela 16. Zachorowalność na próchnicę zębów badanych kobiet z podziałem na miejsce zamieszkania na podstawie wartości liczby PUWZ.

Tabela 17. Stan dziąseł na podstawie wskaźnika Gingival Index (GI) w badanych grupach

Tabela 18. Stan higieny jamy ustnej na podstawie wskaźnika Plaque Index (PI) w badanych grupach

Tabela 19. Stan dziąseł na podstawie wskaźnika Bleeding on Probing (BoP) (%) w badanych grupach

Tabela 20. Stan higieny jamy ustnej na podstawie wskaźnika Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S) w badanych grupach

Tabela 21. Zachorowalność na próchnicę zębów w poszczególnych grupach na podstawie liczby PUWZ

Tabela 22. Istotne statystycznie korelacje stanu higieny jamy ustnej i dziąseł ze stężeniami badanych metali w ślinie w grupie badanej i kontrolnej (n=200)

Tabela 23. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz intensywnością próchnicy a stężeniem badanych metali w ślinie kobiet ciężarnych w grupie A (I trymestr) n=50

Tabela 24. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz intensywnością próchnicy a stężeniem badanych metali w ślinie kobiet ciężarnych w grupie B (II trymestr) n=50

Tabela 25. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz intensywnością próchnicy a stężeniem badanych metali w ślinie kobiet ciężarnych w grupie C (III trymestr) n=50

Tabela 26. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy stanem higieny jamy ustnej i dziąseł oraz intensywnością próchnicy a stężeniem badanych metali w ślinie kobiet ciężarnych w grupie K (kontrola) n=50

Protokół Badań
Wywiad ogólny na podstawie szpitalnej karty choroby

NR KSIĘGI GŁÓWNEJ

NR PACJENTA

Dane personalne chorego

Imię, nazwisko i wiek chorego :

Miejsce urodzenia

Miejsce zamieszkania (miasto, wieś, gmina)

Wywiad szczegółowy:

Tydzień ciąży:

Dotychczasowy przebieg ciąży:

Data ostatniej miesiączki:

wcześniejsze ciąży:

porody:

zabiegi ginekologiczne,

stałą opieką ginekologiczną TAK/NIE

data ostatniej wizyty.

Przyjmowane leki:

Historia palenia:

Wywiad Stomatologiczny :**Badanie stanu jamy ustnej :****BADANIE STOMATOLOGICZNE**

Zerwajgi zuzbite w formie TAK / NIE

Odchylenia od normy

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
55	54	53	52	51	61	62	63	64	65						
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75						

LEGENDA

- – zęb niewyrzynięty
- – brak zęba
- C – próchnica
- V – zęb lub korzeń do usunięcia
- W – wypełnienie
- K – korona
- .. – kamień lub osad nazębny

Błona śluzowa

Przyzęcie

Waga zgryzu

Staw skroniowo-żuchwowy

Informacje dodatkowe

Higiena

Liczba wypełnień amalgamatowych:**Ocena Periodontologiczna Stanu Jamy Ustnej :****Wskaźnik GI (Gingival Index) (0-3) :**

Badamy 4 powierzchnie sumujemy – wartość dla jednego zęba

Wartości jednego zęba dodajemy do siebie i dzielimy przez ilość zbadanych zębów

0 - dziąsło prawidłowe**1**- lekkie (łagodne) zapalenie: niewielka zmiana zabarwienia, niewielki obrzęk, brak krwawienia przy badaniu zgłębnikiem 0,1-1,0**2**- średnie (umiarkowane) zapalenie: wyraźne zaczerwienienie, obrzęk, błyszcząca powierzchnia, krwawienie przy badaniu zgłębnikiem, wartości od 1,0 do 2,0**3**- zaawansowane (ciężkie) zapalenie: znaczne krwawienie i obrzęk, owrzodzenia, skłonność do spontanicznego krwawienia, wartości powyżej 2,0

Grupa zębowa	16	21	24
	44	41	36

Wskaźnik Płytki Bakteryjnej (plaque index-PI) :

Po lekkim osuszeniu powierzchni zębów, bez wybarwiania płytki, ocenia się ilość płytki bakteryjnej umiejscowionej przy brzegu dziąsłowym na 4 powierzchniach (mezjalnej, dystalnej, językowej, policzkowej)

Grupa zębowa	16	21	24
	44	41	36

Wartość wskaźnika dla badanych zębów:

Wskaźnik krwawienia podczas zgłębnikowania kieszkonki przyzębnej–(Bleeding on Probing BoP)

Rozległość stanu zapalnego podawana w procentach

M – Powierzchnia mezjalna,
J – powierzchnia językowa

D- powierzchnia dystalna
P- Powierzchnia policzkowa

Nr zęba	M	D	J	P	Nr zęba	M	D	J	P
17					37				
16					36				
15					35				
14					34				
13					33				
12					32				
11					31				
21					41				
22					42				
23					43				
24					44				
25					45				
26					46				
27					47				

Wynik : liczba powierzchni krwawiących / liczbę wszystkich powierzchni x 100

Wskaźnik higieny jamy ustnej – OHI (Oral Hygiene Index)

Kryteria oceny nalotu:

- 0** - brak obecności nalotu czy przebarwienia
- 1** - miękki nalot pokrywa nie więcej niż 1/3 powierzchni zęba lub zewnętrzne przebarwienie bez względu na zasięg
- 2** - miękki nalot pokrywa od 1/3 do 2/3 powierzchni zęba
- 3** - miękki nalot pokrywa ponad 2/3 powierzchni zęba

Kryteria oceny kamienia

- 0** - brak obecności kamienia
- 1** – naddziąsłowy kamień pokrywa nie więcej niż 1/3 powierzchni korony zęba
- 2** - naddziąsłowy kamień pokrywa koronę zęba od 1/3 do 2/3 powierzchni i występują pojedyncze wysepki kamienia poddziąsłowego w niektórych miejscach szyjki zębowej
- 3** - naddziąsłowy kamień pokrywa ponad 2/3 powierzchni korony i występują znaczne ilości złogów kamienia poddziąsłowego dookoła szyjki zębowej

Grupa zębowa	16	21	24
	44	41	36

Uzyskane liczby nalotu sumuje się i dzieli przez liczbę badanych zębów i otrzymujemy średnia dla nalotu tak samo dla kamienia
OHI to suma wskaźnika nalotu i kamienia

Wynik:

PUWZ : P – zęby z próchnicą
U- zęby usunięte z powodu próchnicy
W- zęby wypełnione

ANKIETA: Analiza czynników środowiskowych na zawartość metali ciężkich w ślinie.

1. Kod pacjenta: 2. Wiek: 3. Wzrost.....4.Masa ...
5. BMI..... 6. Para...../...../...../
6. Czy pali Pani papierosy? TAK / NIE
Jeśli tak to ile średnio wypala Pani papierosów dziennie?.....
Od ilu lat Pani pali?.....
7. Czy paliła Pani papierosy w przeszłości? TAK / NIE
Jeśli tak to ile średnio paliła Pani papierosów dziennie?.....
Przez ile lat Pani paliła?.....Od kiedy Pani nie pali?....
8. Czy ma Pani aktualnie kontakt zawodowy z metalami ciężkimi-pracuje w przemyśle ciężkim, elektronicznym, chemicznym? TAK / NIE
Jeśli tak, od jak dawna?.....
Jeżeli tak, gdzie Pani pracuje?.....
9. Czy miała Pani w przeszłości kontakt zawodowy z odczynnikami chemicznymi?
TAK / NIE
Jeśli tak to proszę wpisać przez jaki okres czasu?.....
Gdzie Pani pracowała?.....
11. Jaka dietę Pani stosuje?
a) tradycyjną b) wegetariańską c) wegańską d) inną.....
12. Czy kiedykolwiek chorowała Pani na niedokrwistość: TAK / NIE
13. Czy stosuje Pani suplementy diety TAK / NIE
Jeśli tak to proszę podać nazwę preparatu:.....
Jaki czas stosowana jest suplementacja?
14. Czy w Pani rodzinie występowała choroba przyzębia TAK/NIE
15. Czy zauważyła Pani u siebie problem z przyzęciem? (np. częste krwawienia z dziąseł)?
- 16.Kiedy w Pani rodzinie wystąpiła utrata zębów?
Ojciec -

Matka-

Jeśli wystąpiła, to czy wystąpiła ona przez chorobę przyzębia? TAK/NIE

Załącznik nr 4

Informacja dla pacjenta:

Badanie ma na celu wyznaczenie obecności metali toksycznych oraz pierwiastków śladowych w płynie dziąsłowym, ślinie oraz krwi u kobiet w okresie ciąży oraz określenie czy jest związek pomiędzy obecnością metali toksycznych oraz pierwiastków śladowych a chorobami przyzębia w okresie ciąży. Do badań pobierany będzie płyn dziąsłowy z okolicy zębów 16, 26, 37, 47, 31, 41, 13, 23, 15, 25, 34, 44. Pobrana również zostanie krew oraz ślina.

Badanie jest całkowicie objęte ochroną danych osobowych, dobrowolne i anonimowe.

Poznań, dn.

Zgoda na pobranie próbki krwi

Wyrażam zgodę na pobranie próbki krwi do badań związanych z oceną obecności metali toksycznych oraz pierwiastków śladowych u kobiet w okresie ciąży na podstawie badania krwi, śliny oraz płynu dziąsłowego. Jestem świadoma swojej decyzji oraz tego, że badanie jest objęte ochroną danych osobowych.

Data i podpis:

Zgoda na pobranie śliny

Wyrażam zgodę na pobranie próbki śliny do badań związanych z oceną obecności metali toksycznych oraz pierwiastków śladowych u kobiet w okresie ciąży na podstawie badania krwi, śliny oraz płynu dziąsłowego. Jestem świadoma swojej decyzji oraz tego, że badanie jest objęte ochroną danych osobowych.

Data i podpis:

