

Anna Ronij

**OCENA WYSTĘPOWANIA BIAŁEK MUCYNOWYCH
W ŚLINIE PACJENTÓW Z PRÓCHNICĄ ZĘBÓW**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Dr hab. n. med. Anna Szkaradkiewicz-Karpińska

Zakład Przedklinicznej Stomatologii Zachowawczej
i Przedklinicznej Endodoncji
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Poznań, 2018

Chciałabym serdecznie podziękować
Wielce Szanownej
Pani Dr hab. n. med. Annie Szkaradkiewicz-Karpińskiej
Promotorowi
za wszechstronną pomoc w trakcie realizacji tej pracy.

Dziękuję również moim Najbliższym
za cierpliwość i wsparcie w toku powstawania niniejszej pracy.

Spis treści:

| | | |
|------|-------------------------------------|----|
| I | WSTĘP..... | 6 |
| II | CEL PRACY..... | 26 |
| III | MATERIAŁ I METODY BADAŃ..... | 27 |
| IV | WYNIKI I ICH OMÓWIENIE..... | 36 |
| V | DYSKUSJA..... | 60 |
| VI | WNIOSKI..... | 68 |
| VII | STRESZCZENIE..... | 69 |
| VIII | SUMMARY..... | 71 |
| IX | PIŚMIENNICTWO..... | 73 |
| X | SPIS FOTOGRAFII, RYCIN I TABEL..... | 84 |
| XI | ANEKS..... | 87 |

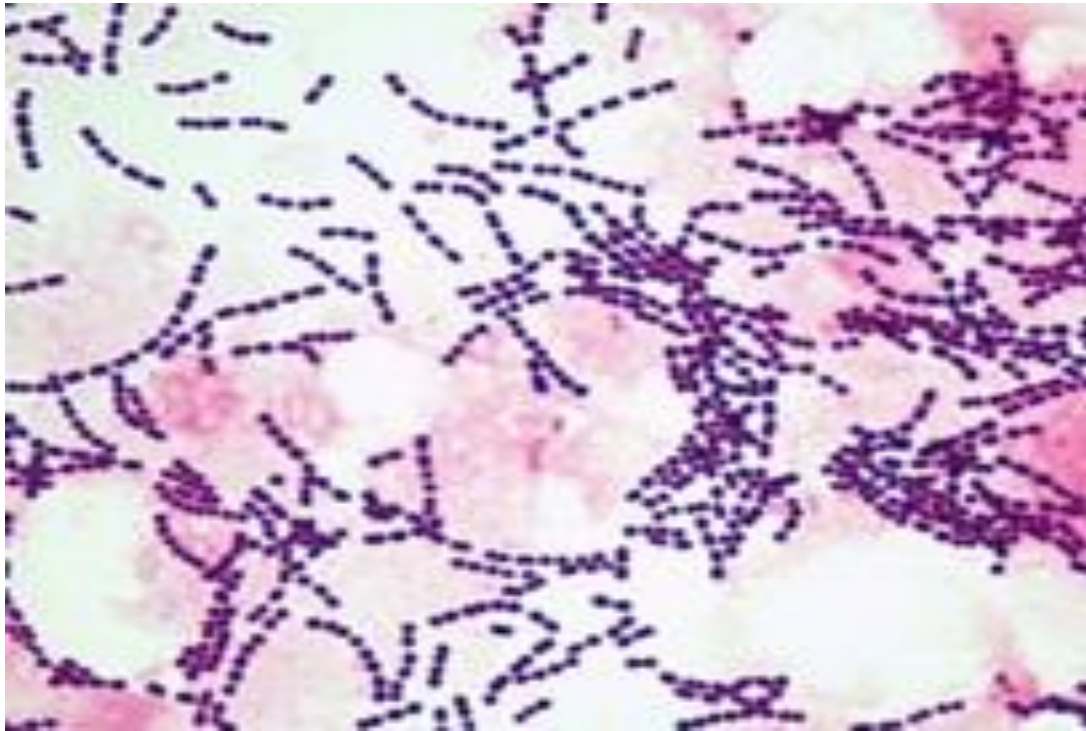
WYKAZ SKRÓTÓW

- ACFF - Polski Oddział Sojuszu dla Przyszłości Wolnej od Próchnicy
- ADA – Amerykańskie Towarzystwo Stomatologiczne
- CAST - wskaźnik zasięgu i leczenia próchnicy
- CBCT – tomografia komputerowa stożkowa wolumetryczna
- CCS - system klasyfikacji próchnicy
- CFU – liczba wyhodowanych bakterii
- DI FOTI – cyfrowa transiluminacja za pomocą włókien optycznych
- DSR - cyfrowa radiografia subtrakcyjna
- ECM – miernik przewodnictwa elektrycznego
- EIS – metoda impedancji spektroskopowej
- ELISA – metoda immunoenzymatyczna
- FDI – Międzynarodowe Towarzystwo Stomatologiczne
- FOTI – transiluminacja za pomocą włókien optycznych
- GI (Gingival Index) - wskaźnik dziąsłowy
- ICDAS – Międzynarodowy System Wykrywania i Oceny Próchnicy
- MUC1 – mucyna 1
- MUC5B – mucyna 5B
- MUC7 – mucyna 7
- OTC – optyczna koherencyjna tomografia
- PI.I (Plaque Index) – wskaźnik płytki nazębnej
- PRP – białka bogate w prolinę
- PRS – polaryzacyjna spektroskopia Ramana
- PS-OCT – koherencyjna optyczna czuła polaryzacyjna tomografia
- PUWZ – intensywność próchnicy
- PUFA – wskaźnik klinicznych następstw nieleczonej próchnicy
- RVG – radiowizjografia
- TCSP-FLIM - technika obrazowania mierząca okres życia wzbudzonych przez fluorescencję molekuł
- TK – tomografia komputerowa
- TRP – domena TRP
- WHO – Światowa Organizacja Zdrowia

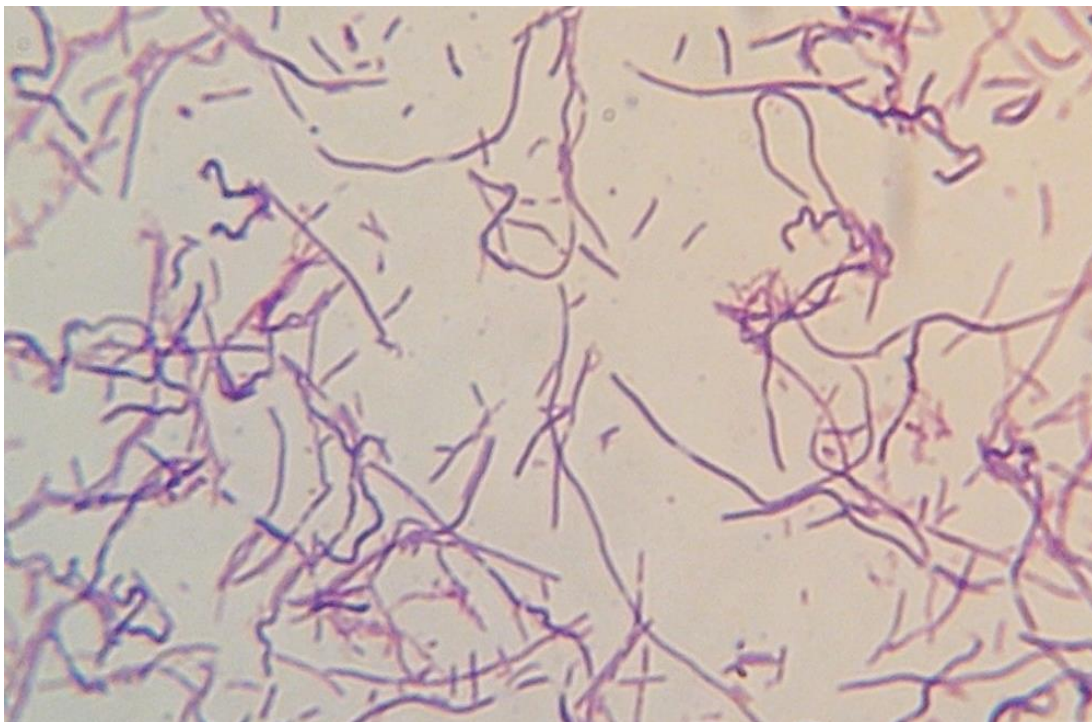
I. WSTĘP

Próchnica zębów (ang. dental caries) jest wieloprzyczynową, przewlekłą chorobą bakteryjną, zlokalizowanym, patologicznym procesem prowadzącym do demineralizacji i proteolitycznego rozpadu tkanek twardych zęba [32, 98]. Próchnica jest procesem postępującym, w następstwie może prowadzić do utraty zębów. Globalne badania populacyjne dokumentują, że powszechnie występująca na świecie próchnica zębów, stanowi najczęstszą chorobę cywilizacyjną. Wg najnowszych danych choroba próchnicowa obecnie dotyczy prawie 2,4 miliarda ludzi na świecie [9]. Jej występowanie notowane jest we wszystkich grupach wiekowych. W grupie dorosłych Polaków próchnica zębów stanowi poważny problem zdrowotny, obejmując blisko 100% populacji [80, 129].

Etiopatogeneza próchnicy zębów jest wieloprzyczynowa i nadal nie do końca wyjaśniona [77, 106]. Wiadomo obecnie, że zasadniczym czynnikiem etiologicznym zapoczątkowującym próchnicę są bakterie próchnicotwórcze, tzw. kariopatogeny, głównie paciorkowce jamy ustnej, przede wszystkim *Streptococcus mutans* (fotografia 1). W/w gatunek charakteryzuje się wysoką adhezją do powierzchni hydroksyapatytu szkliwa zębów. Ponadto szczepy tego gatunku charakteryzują się zdolnością wytwarzania rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych zewnątrzkomórkowych wielocukrów, tzw. egzopolisacharydu (EPS), tworzących zrąb (matriks) powstającej płytki nazębnej [33, 56, 98]. Jednocześnie, kariopatogeny fermentując cukry wytwarzają kwasy organiczne, szczególnie kwas mlekowy, które akumulowane w płytce nazębnej, powodują obniżenie jej pH (<5,5), co w następstwie inicjuje powstawanie ogniska zmiany wczesnej. Dochodzi do zapoczątkowania demineralizacji szkliwa, co w następstwie może prowadzić do powstania ubytku w szkliwie zębów [98, 106]. Z kolei w rozwoju próchnicy zębów, dobrze jest znana rola innego kariopatogenu – pałeczek *Lactobacillus* spp., spośród których dominującym gatunkiem jest *Lactobacillus acidophilus* (fotografia 2). Pałeczki te charakteryzuje znaczna kwasolubność i intensywna kwasotwórczość. Optymalne pH dla ich wzrostu mieści się w zakresie 5,5 – 5,8 [21, 131]. Pałeczki te nie wykazują właściwości adhezcyjnych do hydroksyapatytów szkliwa i dlatego tylko nieliczne występują w bakteryjnej płytce nazębnej. Natomiast wskazuje się, że powstające ubytki próchnicowe mogą stanowić tzw. nisze retencyjne dla akumulacji i wzrostu *Lactobacillus* spp., co powoduje rozwój procesu próchnicowego, w następstwie prowadząc do ubytku w zębinie [21, 115].



Fotografia 1. *Streptococcus mutans* preparat mikroskopowy barwiony metodą Grama - pow.1000x (© A. Szkaradkiewicz-Karpińska)



Fotografia 2. *Lactobacillus acidophilus* - preparat mikroskopowy barwiony metodą Grama - pow. 1000x (© A. Szkaradkiewicz-Karpińska)

Schematyczny model strategii udziału bakterii *S. mutans* i *Lactobacillus* spp. przedstawiono na rycinie 1. Jednak, dobrze jest wiadomym, że szczepy *Lactobacillus* spp. mogą produkować nadtlenek wodoru. Z ostatnio prezentowanych badań Szkaradkiewicz-Karpińska AK. i wsp. [117] wynika, że pałeczki *Lactobacillus* produkujące nadtlenek wodoru mogą zapobiegać progresji chronic periodontitis, a także rozwojowi próchnicy zębów. Z kolei z periopatogenezą i kariopatogenezą związane są głównie szczepy *Lactobacillus* nieprodukujące nadtlenu wodoru.

Płytką nazębna (dental plaque), dawniej określana jako płytka bakteryjna (microbial plaque) tworzy się już w kilka minut po oczyszczeniu zębów. Na powierzchni szkliwa, będącego w kontakcie ze śliną, odkłada się najpierw bezbakteryjna, amorficzna błonka, zwana błonką nabytą (pellicle). Błonka nabyta jest formowana poprzez adsorpcję białek śliny, głównie białek bogatych w prolinę (PRP) i mucyn, przy czym dominują białka bogate w prolinę (PRP) [12, 40, 41, 46, 64, 84, 125]. Stanowi warstwę o grubości około 0,01-1 μm. Przyłączające się do tworzonej błonki nabytej kariopatogeny odpowiadają za inicjowanie procesu próchnicowego. Z kolei w błonce długoterminowej, tzw. dojrzałej, dominują mucyny, a zawartość białek bogatych w prolinę jest minimalna wskutek ich degradacji. W ciągu 2 tygodni błonka nabyta staje się dojrzałą płytką nazębną.

Kilkutygodniowa dojrzała płytka nazębna składa się z organicznej matrycy (białka śliny, przede wszystkim mucyny i zewnątrzkomórkowe produkty przemiany bakteryjnej – glukany i fruktany), a także z bakterii, złuszczonej komórki nabłonka i leukocytów. Jak wskazują badania liczba bakterii w płytce wynosi 10^{11} /g masy [115, 133].

Płytką nazębna zostaje utworzona na większości powierzchni zębów. Wyróżnia się dwa rodzaje płytek nazębnych – naddziąsłową i poddziąsłową. Płytką naddziąsłową tworzy się w bruzdach (głównie zębów trzonowych), na powierzchniach stycznych zębów i na powierzchniach gładkich zębów (policzkowych i podniebiennych). Płytką poddziąsłową powstaje poniżej linii dziąseł i w szczelinie dziąsłowej.

Płytką nazębna może ulec mineralizacji. Jeśli ślina jest bardzo przesycona jonami wapniowymi i fosforanowymi, to jony te mogą zostać odłożone w warstwy płytki nazębnej. Mineralizacja płytki nazębnej składa się z dwóch faz: pierwszej – krystalizacji pierwotnej (tworzenie ognisk krystalizacyjnych), drugiej – krystalizacji wtórnej (dojrzewanie wytworzonych kryształów fosforanu wapnia). Tworzą się nierozpuszczalne kryształki fosforanu wapnia i płytka nazębna ulega zwapnieniu – powstaje kamień nazębny. W skład dojrzałego kamienia nazębnego wchodzi 80% zmineralizowanego materiału, a 20% to składniki organiczne [92, 135].



● Streptococcus mutans

Zdrowy ząb - brak zmiany próchnicowej (kolonizacja powierzchni zęba przez bakterie *S. mutans*)



■ Lactobacillus spp
● Streptococcus mutans

Ząb z występującą wczesną zmianą próchnicową (dominująca obecność bakterii *S. mutans*, pojedyncze pałeczki *Lactobacillus* wewnątrz zmiany)



■ Lactobacillus spp
● Streptococcus mutans

Ząb z zaawansowaną zmianą próchnicową (dominująca obecność pałeczek *Lactobacillus*, pojedyncze bakterie *S. mutans* wewnątrz zmiany)

Rycina 1. Schematyczne przedstawienie strategii udziału bakterii *S. mutans* i *Lactobacillus spp.* w rozwoju zmiany próchnicowej wg Caufielda i wsp. [21]

Inicjacja procesu próchnicowego ma miejsce na poziomie ultrastrukturalnym (kryształ apatytu) i nie jest dostrzegalna klinicznie. Zapoczątkowanie próchnicy związane jest z bakteryjną fermentacją węglowodanów, w wyniku której powstają kwasy organiczne powodujące spadek pH. Obniżenie pH płytki poniżej wartości krytycznej (dla hydroksyapatytu wartość ta wynosi 5,5, dla fluoroapatytu 4,5, dla szkliwa 4,5-5,5, dla zębiny ok. 6,0, dla cementu korzeniowego 6,7) powoduje rozpuszczanie fosforanów wapnia zawartych w hydroksyapatycie i inicjuje utratę substancji mineralnych zęba. Powtarzające się spadki pH w odpowiednio długim czasie doprowadzają do demineralizacji podatnego miejsca na powierzchni zęba, a zatem zapoczątkowują proces próchnicowy [54, 97, 98].

Pierwotna zmiana próchnicowa, ograniczona do szkliwa nazywana jest próchnicą początkową i charakteryzuje się nienaruszoną powierzchnią. Jednak okolica podpowierzchniowa jest porowata. W tym stadium utrata substancji mineralnych nie może być wykryta, ponieważ szkliwo jest twarde i nie wykazuje ubytku. Początkowe zmiany próchnicowe mogą ulec odwróceniu dzięki remineralizacji powodującej przywrócenie szkliwa do stanu zdrowia. Remineralizacja stanowi proces odbudowy częściowo rozpuszczonych kryształów szkliwa. Warunkiem niezbędnym do jej przebiegu jest przesylenie śliny solami wapnia i fosforu. Umożliwia to przepływ jonów w kierunku szkliwa, tzn. rozpuszczone kryształy mogą pobierać ze śliny wapń i fosforany. Wapń związany przez białka ślinowe utrzymuje równowagę pomiędzy hydroksyapatytem a Ca^{2+} śliny. Utrzymanie optymalnego stopnia przesylenia śliny solami wapnia jest jednym z czynników uniemożliwiających demineralizację, czyli wypłukiwanie tych soli ze szkliwa. Laarsen i Bruun [62] wykazali, że próchnica jest odwracalna jedynie w przypadku podpowierzchniowego uszkodzenia szkliwa. Oznacza to, że hydroksyapatyty utworzą się tylko wtedy, gdy w szkliwie znajdują się jeszcze kryształy.

Niezmieniona powierzchnia nad początkową zmianą próchnicową stanowi decydujący czynnik dla procesu remineralizacji, ponieważ chroni wytrawione kryształy hydroksyapatytów w szkliwie przed pokryciem białkami śliny. Istotą postępowania remineralizacyjnego jest ponowne wbudowanie utraconych minerałów do podpowierzchniowej warstwy szkliwa. Wystąpienie ubytków w szkliwie jest procesem nieodwracalnym. Progresa procesu próchnicowego prowadzi do obumarcia miazgi i zakażenia tkanek okołowierzchołkowych [89, 97].

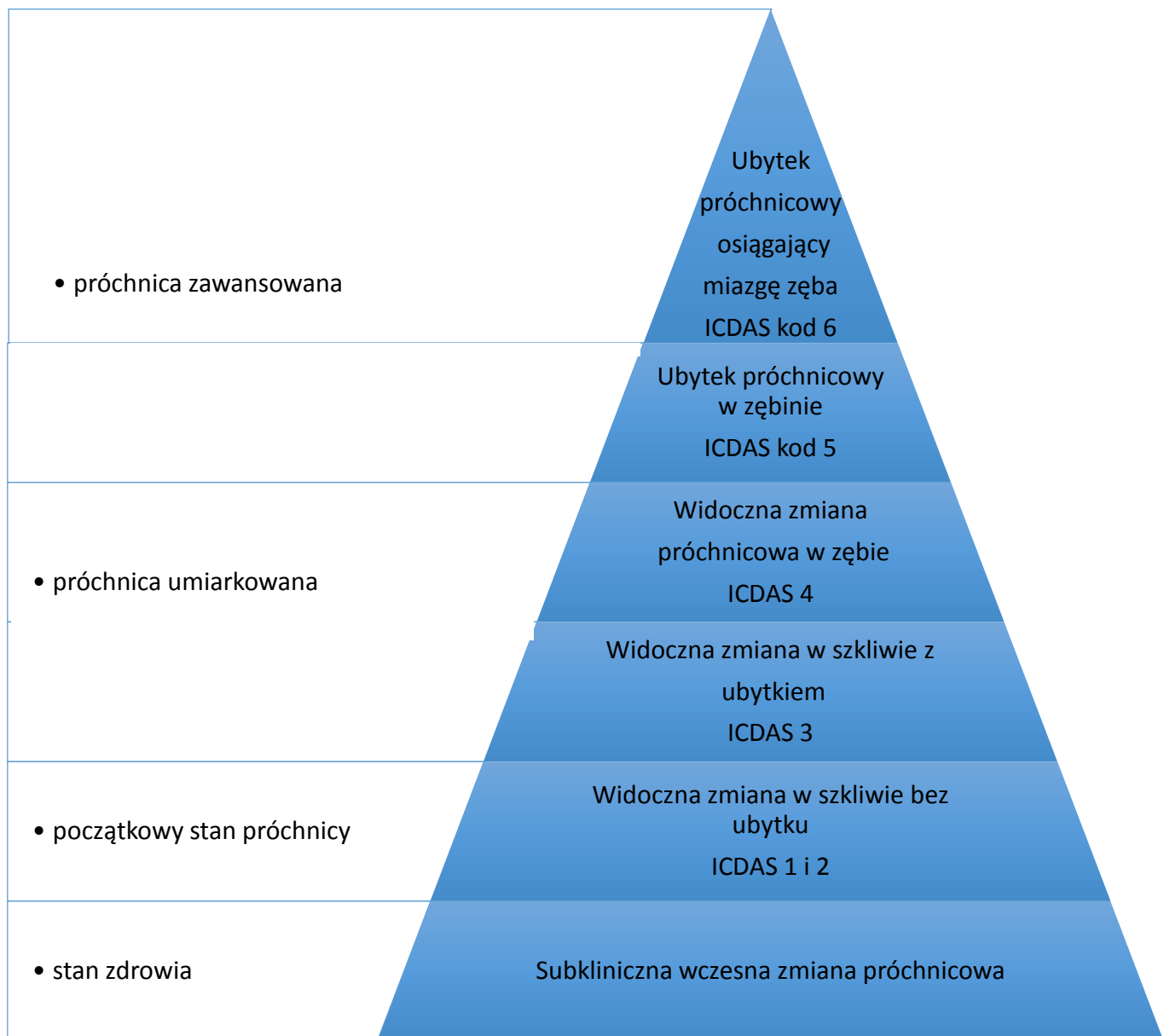
Rozpoznawanie próchnicy koncentruje się na odpowiednio wczesnym wykrywaniu wszystkich zmian umożliwiających modyfikowanie ich dalszego przebiegu i zapobieganie progresji. Idealna metoda diagnostyczna powinna być nieinwazyjna, a także dostarczać wiarygodnych, swoistych i czułych informacji o rozmiarze i aktywności zmiany opartych na procesach biologicznych związanych bezpośrednio z procesem próchnicowym.

Najpowszechniej stosowanym sposobem oceny każdej powierzchni zęba jest ocena wizualna (wzrokowa), połączona z wykorzystaniem oświetlenia, lusterka i zgłębnika.

Systemem oceny klinicznej, który znajduje obecnie największe uznanie jest ICDAS II (International Caries Detection and Assessment System II). Celem stworzenia tego systemu była standaryzacja opisu zmian próchnicowych, dająca możliwości ich porównywania i stosowania w badaniach klinicznych. Schemat rozwoju zmian próchnicowych i poziomy diagnostyczne ich wykrywalności zostały przedstawione na rycinie nr 2. W systemie ICDAS przyjęto kody (od 0 do 6) określające intensywność próchnicy. Kod 0 to zdrowe szkliwo; możliwe jest występowanie przebarwień ograniczonych do bruzd i równomiernie rozłożonych. W obrazie histologicznym nie obserwuje się zmian demineralizacyjnych. Kod 1 oznacza najbardziej początkową demineralizację. Nie jest ona widoczna na wilgotnej powierzchni zęba, natomiast uwidacznia się po dłuższym (5s) osuszeniu zęba. Jest widoczna jako punktowa zmiana przezierności szkliwa, czyli białe, kredowe odwapnienie lub ciemne przebarwienie, ograniczone do jednego miejsca w bruzdzie. Histologicznie zmiany te dotyczą zewnętrznej połowy szkliwa. Kod 2 to bardziej zaawansowana zmiana, w której białe odwapnienie jest widoczne nawet przy wilgotnym zębie. Histologicznie odpowiada demineralizacji wewnętrznej połowy szkliwa. Kod 3 oznacza zmianę z ubytkiem próchnicowym. Zębina jest nieprzebarwiona i niewidoczna spod zdemineralizowanego szkliwa. Zmiany histologiczne najczęściej dotyczą samego szkliwa lub połączenia szkliwno-zębinowego. Kodem 4 oznaczono zmiany z przeświecającą ciemną zębiną próchnicową. Histologicznie zmiana rozwija się w 1/3 środkowej części zębiny. Kod 5 oznacza otwarty ubytek próchnicowy z odsłoniętą zębiną. Zmiana rozwija się w 1/3 najgłębszej warstwie zębiny. Jeżeli destrukcja dotyczy ponad połowy powierzchni zęba, wówczas nadaje się jej kod 6. Zmiana próchnicowa obejmuje rozległy ubytek z wyraźną utratą struktury zęba; zębina jest dostrzegalna na ścianach i dnie ubytku; ubytek jest zarówno szeroki jak i głęboki, może sięgać miazgi zęba [58, 89, 98].

Istotnym elementem diagnostyki jest badanie aktywności zmian próchnicowych. Badanie to opiera się na wizualnej ocenie barwy i połysku tkanek oraz ich konsystencji przy użyciu sondy stomatologicznej. Zmiany o jasnym, kredowym zabarwieniu szkliwa (białe plamy próchnicowe) świadczą o dużej aktywności próchnicy, zmiany ciemne i lśniące (brązowe plamy próchnicowe) są zwykle zatrzymane. W badaniu klinicznym zmiany aktywne są szorstkie – co można stwierdzić zgłębnikiem periodontologicznym, podczas gdy zmiany zatrzymane są gładkie i szkliste. Wiarygodnym wyznacznikiem aktywności zmiany próchnicowej jest także jej odległość od dziąsła. Próchnica rozwija się w miejscach zalegania płytki nazębnej, w związku z tym zmiany znajdujące się w pobliżu dziąsła świadczą o aktywności próchnicy, podczas gdy zmiany zatrzymane są widoczne w pewnej odległości od dziąsła. Podobnie w przypadku próchnicy cementu korzeniowego, zmiany aktywne znajdują się w pobliżu dziąsła, są żółte i miękkie, lub mają skórzastą konsystencję. Charakter zmian oraz stopień ich zaawansowania warunkuje postępowanie profilaktyczno-terapeutyczne [80, 82].

Wskaźnik Klinicznych Następstw Nieleczonej Próchnicy (PUFA) przedstawiony w 2010 roku przez Monse i wsp.[8, 83], a skrót obejmuje: zajęcie miazgi – Pulpal involvement, owrzodzenie – Ulceration, przetoka – Fistula, ropień – Abscess. Zajęcie miazgi P/p – stan, w którym widoczna jest otwarta komora zęba lub gdy proces próchnicowy zniszczył komorę zęba i widoczne są tylko korzenie; owrzodzenie U/u – ostre krawędzie zęba z zajęciem miazgi lub korzenia spowodowały urazowe owrzodzenie otaczających tkanek miękkich, np. języka lub błony śluzowej policzka; przetoka F/f – stwierdza się obecność czynnej przetoki związanej z zębem z zajęciem miazgi; ropień A/a - jest rozpoznawany na podstawie obecności obrzęku związanego z zębem z patologicznie zmienioną miazgą.



Rycina 2. Rozwój zmian próchnicowych i poziomy diagnostyczne ich wykrywalności.

Badanie jamy ustnej przeprowadza się tylko wzrokiem, a stan zęba i otaczających tkanek zapisuje przy pomocy kodów: 1 – zęby ze zmianami lub 0 – zęby bez objawów. Wartość PUFA należy obliczyć według ustalonego schematu. Wskaźnik może być stosowany łącznie z PUW lub ICDAS.

Wskaźnik Zasięgu i Leczenia Próchnicy CAST zaprezentowany po raz pierwszy w 2011 roku w *International Dental Journal* [34] jest połączeniem wybranych elementów składowych wskaźników ICDAS, PUW, PUFA. Wskaźnik CAST szereguje rozpoznanie wg stopnia zaawansowania choroby próchnicowej, które oznaczono kodami: 0-2 dotyczy zębów zdrowych, pokrytych częściowo materiałem uszczelniającym i zębów wypełnionych; 3-5 – obejmuje zmiany próchnicowe rozpoczynając od zmian próchnicowych w szkliwie do wyraźnego ubytku w zębinie bez naruszenia sklepienia komory; kod nr 6, 7, 8 oznacza powikłania ze strony miazgi włącznie z usunięciem zęba z powodu próchnicy (kod nr 8); kod nr 9 – stany kliniczne nie mieszczące się w klasyfikacji oznaczonej kodami 0-8.

System Klasyfikacji Próchnicy (ang. Caries Classification System, CCS) wyróżnia próchnicę ubytkową i nieubytkową (przedubytkową), bez odniesienia do konkretnego sposobu leczenia oraz łączy kliniczny obraz zmiany próchnicowej z jej obrazem radiologicznym, pozwalając na rozpoznanie aktywności próchnicy po pewnym czasie [42, 134]. Według Amerykańskiego Towarzystwa Stomatologicznego (ang. American Dental Association, ADA) za zmianę próchnicową uznawana jest kliniczna manifestacja choroby próchnicowej. Pacjent ze zdiagnozowaną chorobą próchnicową może mieć kilka lub wiele zmian próchnicowych. Ich liczba i zaawansowanie określają aktywność choroby próchnicowej. Każda zmiana próchnicowa może być sklasyfikowana jako nieubytkowa (ang. non-cavitated) lub ubytkowa (ang. cavitated).

Próchnica nieubytkowa jest zmianą początkową (plamą próchnicową), przed wystąpieniem makroskopowo dostrzegalnego przerwania ciągłości szkliwa. Charakterystyczne cechy plamy próchnicowej dotyczą zmiany barwy i połysku (lub jego braku), które są wynikiem zachwiania równowagi pomiędzy remineralizacją i demineralizacją. Jeżeli zmiana widoczna jest jedynie po osuszeniu powierzchni zęba, oznacza to mniejsze jej zaawansowanie. Remineralizacja początkowej zmiany próchnicowej skutkuje powstaniem blizny tkankowej. Z kolei dalszy postęp demineralizacji prowadzi do powstania ubytku, oznaczającego utratę integralności twardych tkanek zęba. Próchnica ubytkowa wymaga zatem postępowania mikroinwazyjnego/inwazyjnego (chirurgicznego), bez którego zahamowanie dalszego rozwoju tego procesu będzie niemożliwe. W świetle obecnej wiedzy zmiana próchnicowa, następnie ubytek jest wyrazem zachwiania równowagi próchnicowej. Diagnostyka próchnicy uwzględnia

wielopoziomowy proces diagnostyczno-terapeutyczny. Szczególnym wyzwaniem jest diagnostyka zmian próchnicowych obejmujących powierzchnie styczne zębów bocznych ze względu na uwarunkowania anatomiczne. Dlatego precyzyjne działania wydają się szczególnie istotne, gdyż jak wskazują wyniki badań, zmiany próchnicowe nieubytkowe są zazwyczaj bezobjawowe [14, 50, 99, 100].

W diagnostyce próchnicy wykorzystuje się metodę wizualno-dotykową i metody radiologiczne, a szczególnie zdjęcia skrzydłowo-zgryzowe, które wspólnie stanowią złoty standard w wykrywaniu i rozpoznawaniu zmian próchnicowych. Badanie wizualno-dotykowe powinno być przeprowadzone w stosunku do każdej powierzchni zęba. W ocenie powierzchni stycznych wykorzystywane są elastomerowe separatory ortodontyczne, które rozsuwając zęby, umożliwiają ocenę powierzchni aproksymalnych. Powierzchnia zęba powinna być przed badaniem diagnostycznym oczyszczona i osuszona. Obecnie narzędziem zalecanym do badania dotykowego struktury tkanek zęba jest sonda WHO 621, małe upychadło kulkowe lub ekskawator [130]. Według zaleceń WHO i FDI na całym świecie, w oparciu o rozpoznanie wizualno-dotykowe, prowadzone są badania epidemiologiczne, umożliwiające monitorowanie próchnicy w różnych grupach wiekowych. Ponadto obowiązujące systemy klasyfikacji zmian próchnicowych, ICDAS, PUFA, CAST czy CCS bazują na tej technice wykrywania ubytków próchnicowych. W związku z powyższym w pracy także zastosowano metodę wizualno-dotykową, co zapewniło porównywalność uzyskanych wyników.

Szczególnie pomocne jest zastosowanie powiększenia: lupy, kamera wewnątrzustna czy transiluminacji. Diagnozując zmianę próchnicową oceniane są: lokalizacja zmiany próchnicowej, obecność płytki nazębnej i przebarwień, stopień zaawansowania, aktywność, obecność lub brak ubytku tkanek twardych [97].

Najczęściej stosowanym systemem diagnostycznym w ocenie powierzchni stycznych jest badanie radiologiczne. Podstawą zastosowania metod radiologicznych jest utrata substancji mineralnych twardych tkanek zęba występująca w przebiegu procesu próchnicowego. Prowadzi to do zwiększenia przepuszczalności promieni rentgenowskich przez zmienione obszary i w rezultacie zaciemnienia na filmie. Zmiana próchnicowa jest dostrzegalna radiologicznie gdy utrata substancji mineralnych wynosi co najmniej 20-30%. Metody radiologiczne nie wykrywają zatem najwcześniejszych stadiów próchnicy, zwłaszcza na powierzchniach żujących. Aktualnie opracowano metodę radiograficzną wspomaganą komputerowo (RVG), w której specjalne oprogramowanie umożliwia odniesienie indywidualnych danych radiologicznych do bazy danych histologicznych oraz pozwala na

wizualizację rozmiaru i progresji zmiany, zapewniając przy tym wysoką czułość wykrywania zmian w szkliwie. Z kolei dzięki cyfrowej radiografii subtrakcyjnej (ang. digital subtraction radiography – DSR) można stwierdzić progresję próchnicy lub skuteczność jej leczenia. Badaniami, które dokładnie uwidaczniają strukturę tkanek twardych, są tomografia komputerowa (TK) oraz tomografia komputerowa stożkowa, wolumetryczna (ang. cone beam computed tomography – CBCT). Techniki te pozwalają uzyskać obrazy trójwymiarowe z wyższą rozdzielczością niż obrazy wykonane dzięki tradycyjnej tomografii komputerowej oraz przy mniejszej dawce promieniowania. CBCT może mieć zastosowanie w wykrywaniu i ocenie próchnicy na powierzchniach stycznych oraz jej głębokości w obrębie zębiny. Natomiast w wykrywaniu próchnicy w obrębie szkliwa metoda ta jest mało skuteczna [97, 105].

Dodatkowymi, często stosowanymi metodami, które mogą być wykorzystane szczególnie w diagnostyce próchnicy powierzchni stycznych są metody oparte na zjawisku fluorescencji (DIAGNOdent pen, KAVo) oraz metody optyczne wykorzystujące wiązkę światła przechodzącą przez tkanki zęba [5, 74]. Metoda pomiaru ilościowej wzbudzonej fluorescencji (ang. quantitative light-induced fluorescence) oparta jest na zjawisku zmiany fluorescencji zęba wraz z utratą substancji mineralnych [103]. Aktualnie dostępne są dwa rodzaje urządzeń diagnostycznych opartych na zjawisku wzbudzonej fluorescencji zęba i pomiarze fluorescencji próchnicowo zmienionych tkanek – Inspektor Pro QLF i Inspektor QLF-D Biluminator oraz DIAGNOdent 2095 i DIAGNOdent Pen. Głównym wskazaniem do zastosowania w/w urządzeń jest diagnostyka początkowych zmian próchnicowych oraz monitorowanie ich przebiegu dzięki możliwości porównania obrazów. Aparat DIAGNOdent wykrywa zmiany o głębokości nawet do 200 μm . Porównanie wyników pomiarów na powierzchniach żujących za pomocą tego aparatu z oceną wizualną i radiologiczną w odniesieniu do oceny klinicznej dokonanej w trakcie opracowania ubytku wykazało wysoką czułość dla zmian w obrębie szkliwa (czułość = 96%) i zębiny (czułość = 92%) przy swoistości wynoszącej 86 %, istotnie przewyższającej pozostałe metody [74].

Metoda FOTI (ang. fiber-optic transillumination) może być stosowana na wszystkich powierzchniach, zwłaszcza na powierzchniach stycznych. Ma taką samą wartość diagnostyczną w zakresie powierzchni stycznych zębów bocznych jak zdjęcie skrzydłowo-zgryzowe i podobną do metody wizualnej przy zmianach na powierzchni żującej. W metodzie DI-FOTI (ang. digital imaging fiber-optic transillumination) obraz zęba podświetlonego wiązką światła widzialnego przekazywany jest za pomocą kamery cyfrowej do komputera, w którym poddawany jest analizie i archiwizowany. Metoda ta wykorzystywana jest do wykrywania

początkowych zmian próchnicowych, próchnicy wtórnej oraz pęknięć szkliwa. W porównaniu z badaniem radiologicznym wykazuje ponad dwukrotnie wyższą czułość w wykrywaniu zmian na powierzchniach stycznych i żujących przy nieco niższej swoistości [85, 105].

Ponadto, przeprowadzone badania kliniczne wskazują również na zastosowanie urządzenia DIAGNOcam (KAVo) w ocenie występowania próchnicy na powierzchniach stycznych.

Aktualnie rozwijane są również inne metody oparte na zjawiskach optycznych, takie jak: optyczna koherencyjna tomografia (ang. optical coherencetomography – OTC), polaryzacyjna spektroskopia Ramana (ang. polarized Raman spectroscopy – PRS), koherencyjna optyczna czuła polaryzacyjna tomografia (ang. polarization sensitive optical coherence tomography – PS-OCT), transiluminacja w bliskiej podczerwieni NIRS (ang. near infra-red imaging spectroscopy), fluorescencja w podczerwieni (ang. infrared fluorescence – IR fluorescence), terahercowe impulsowe obrazowanie (ang. multiphoton imaging) i technika obrazowania mierząca okres życia wzbudzonych przez fluorescencję molekuł (ang. time-correlated single-photon counting fluorescence lifetime imaging – TCSPC-FLIM).

Z kolei urządzenia diagnostyczne oparte na pomiarach elektrycznych wykrywają zmniejszenie oporu elektrycznego w następstwie demineralizacji szkliwa. Metoda impedancji spektroskopowej wykorzystuje prąd zmienny o zmiennej częstotliwości (ang. electrical impedance spectroscopy – EIS). Dostępne na rynku urządzenia CarieScan, CarieScan Plus i CarieScan Pro cechują się wysoką czułością oraz swoistością wykrywania początkowych zmian próchnicowych [73].

Opracowano również ultradźwiękowy detektor próchnicy (ang. ultrasound caries detector), który w porównaniu z metodami radiologicznymi cechuje się większą czułością, ale jednocześnie mniejszą specyficnością wykrywania zmian próchnicowych.

Metoda fototermicznej radiometrii i luminescencji, wykorzystana w urządzeniu Canary System, jest oparta na emisji pulsacyjnej światła lasera diodowego i mierzy poziom luminescencji i ciepła uwalnianego z zęba. Wykrywa zmiany próchnicowe znajdujące się do 5 mm poniżej wypełnień kompozytowych i amalgamatowych oraz próchnicę pod lakami szczelinowymi. Wykazuje czułość pomiarów wynoszącą prawie 97%.

Należy jednak uwzględnić, że wskazania urządzeń diagnostycznych powinny być zawsze interpretowane w kontekście decyzji terapeutycznych. Stosowane są jako narzędzia pomocnicze w diagnostyce próchnicy, zawsze w powiązaniu z badaniem klinicznym i oceną czynników ryzyka próchnicy u pacjenta.

Powszechnie wiadomo, że dla utrzymania zdrowia zębów konieczne są działania profilaktyczne, zapobiegające powstawaniu płytki nazębnej. Najważniejsze z tych działań to systematyczna higiena jamy ustnej, w tym zabiegi mechaniczne (szczotkowanie zębów, usuwanie kamienia nazębnego) oraz badanie kontrolne uzębienia. Ponadto bardzo istotną strategią przeciwdziałania próchnicy zębów jest zastosowanie fluoru. Główne mechanizmy działania fluoru polegają na wspomaganie remineralizacji, hamowaniu demineralizacji szkliwa oraz ograniczeniu wpływu bakterii kariogennych. Fluor w niskich stężeniach doprowadza do wytworzenia fluoroapatytów, które są bardziej odporne na działanie kwasów bakteryjnych niż zwykłe szkliwo. Fluor w wyższych stężeniach powoduje powstanie rezerwuaru tego pierwiastka w postaci fluorku wapnia, który jest uwalniany w razie potrzeby. Warunkiem kariostatycznego działania fluoru jest, nawet niskie, ale stałe utrzymujące się stężenie tego pierwiastka w otoczeniu zęba. Obecnie uważa się, że najważniejszy efekt profilaktyczny wywiera działanie miejscowe fluoru. Za podstawową metodę zapobiegania próchnicy uważane jest szczotkowanie zębów dwa razy dziennie pastą z fluorem, ze zwróceniem szczególnej uwagi na staranne usuwanie płytki nazębnej [127].

Jednocześnie w ostatnich latach coraz częściej jako naturalne substancje przeciwbakteryjne wykorzystywane są produkty naturalne. Najważniejsze wśród nich są: miód Manuka (pochodzący z drzewa Manuka w Nowej Zelandii), liście z drzewa herbacianego, eukaliptus, olejki z lawendy i rozmarynu. Preparaty te inhibują kariogenezę. Wykazano, że miód Manuka hamuje adhezję *Streptococcus mutans* do szkliwa, a ponadto działa przeciwdrobnoustrojowo wobec beztlenowców jamy ustnej. Zawiera ok. 100 różnych komponent, wśród których są monoterpeny i alkohole.

Listeryna zawiera olejki, w tym tymol, eukaliptus, salicylan metylu i mentol. Tymol i eukaliptus wykazują aktywność przeciwbakteryjną, podczas gdy salicylan metylu i mentol stanowią lokalne czynniki anestetyczne. Preparat ten zapobiega agregacji bakterii i powstawaniu wczesnej zmiany próchnicowej.

W wielu krajach afrykańskich i środkowego Wschodu selekcjonowane są rośliny, które również utrzymują dobry stan uzębienia. Zielona herbata nadal jest przedmiotem intensywnych badań, zawiera flawonoidy. Dokumentuje się, że zielona herbata oddziałuje bakteriobójczo wobec *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*, a także inhibuje powstawanie płytki nazębnej. Ponadto może hamować aktywność transferazy glukozylowej, enzymu związanego z produkcją bakteryjnego zewnątrzkomórkowego polisacharydu [2].

Obecnie uważa się, że pałeczki *Lactobacillus*, poprzez wytwarzanie substancji o aktywności przeciwdrobnoustrojowej (kwasy organiczne, nadtlenek wodoru, laktocyny),

mogą ograniczać lub zapobiegać procesowi kolonizowania powierzchni zęba przez bakterie z rodzaju *Streptococcus*. Pałeczki *Lactobacillus* mogą, zatem również „chronić” szkliwo zęba przed powstawaniem próchnicy [120, 123]. Dla udokumentowania tej koncepcji przeprowadzono od 2001 roku wiele badań z zastosowaniem szczepów probiotycznych *Lactobacillus*, a także z użyciem modelu zwierzęcego. Jednak dotychczas nie uzyskano jednoznacznych wyników, dokumentujących skuteczność bakterii *Lactobacillus* w profilaktyce próchnicy [79]. Jednocześnie, sprzeczne są rezultaty doświadczeń na zwierzętach [123]. Nadal nie jest jasna rola bakterii *Lactobacillus spp.* w aktywności próchnicy, co jest szczególnie ważne dla pełniejszego poznania etiopatogenezy tej choroby.

Dotychczasowe badania wskazują jednak na możliwość interferencji szczepów probiotycznych *Lactobacillus* z biofilmem nazębnym [21, 120]. Jednocześnie zostało wykazane, że aktywność próchnicy jest związana z obecnością szczepów *Lactobacillus spp.*, które nie produkują nadtlenu wodoru [120]. Te dane wskazują, że pałeczki, wytwarzające nadtlenek wodoru oddziałują antagonistycznie wobec kariopatogennych *Streptococcus*, co może być związane z hamowaniem procesu próchnicotwórczego. Obecnie wskazuje się także na możliwość zastosowania w profilaktyce próchnicy szczepów probiotycznych *Lactobacillus spp.*, które mogłyby spełniać funkcję doustnej „szczepionki” [124].

Bardzo interesujące wydają się możliwości antagonistycznego oddziaływania pałeczek *Lactobacillus spp.* wobec *Streptococcus mutans*. Potencjalny efekt probiotycznych szczepów na kariopatogeny udokumentowano w wielu badaniach *in vitro* [124]. Badania zespołu Simark-Mattsson i wsp. [111] wykazały, że występujący w jamie ustnej *Lactobacillus spp.* może znacznie hamować wzrost szczepów *Streptococcus mutans*. W badaniach klinicznych Bafna i wsp. [7] uzyskano redukcję liczby *S. mutans* w ślinie pacjentów z wysokim ryzykiem próchnicy po regularnym spożyciu jogurtu z zawartością *L. acidophilus* i *Bifidobacterium*. Gruner i wsp. [44] wykazali, że szczególnie *Bifidobacteria* istotnie redukują liczbę *S. mutans* Laleman [61], Näse [86] oraz Ashwin [4] udokumentowali, że stosowanie probiotyków może redukować liczbę *S. mutans* w trakcie trwania kuracji, co może chronić przed rozwojem próchnicy zębów. Efekt ochronny koreluje ściśle z czasem spożywania probiotyków. Stensson i wsp. [113] wykazał redukcję występowania próchnicy oraz zapalenia dziąseł u 9-letnich dzieci z uzębieniem mlecznym po regularnym spożyciu *L. reuteri* od dnia urodzin przez pierwszy rok życia. Z kolei w przeprowadzonych badaniach Szkaradkiewicz i wsp. [120] wykazano, że występujące w jamie ustnej pacjentów z próchnicą aktywną izolaty *Lactobacillus spp.* nie wytwarzały nadtlenu wodoru. Natomiast w grupie pacjentów z próchnicą nieaktywną stwierdzono obecność w ślinie szczepów *Lactobacillus spp.* wytwarzających nadtlenek

wodoru. Wg autorów może to sugerować zależność rozwoju próchnicy zębów od zdolności *Lactobacillus spp.* do produkcji tego związku. Z drugiej strony wiadomo także, że pałeczki kwasu mlekowego mogą odgrywać istotną rolę w progresji próchnicy zębów, co głównie wiąże się z wytwarzaniem przez te bakterie kwasu mlekowego [98, 106]. Wyniki badań są zgodne z powyższymi danymi a ponadto po raz pierwszy dokumentują patogenetyczny związek próchnicy aktywnej z obecnością szczepów *Lactobacillus spp.* nieprodukujących nadtlenu wodoru. Te obserwacje potwierdzają zależność rozwoju próchnicy od zdolności *Lactobacillus spp.* do produkcji nadtlenu wodoru. Najprawdopodobniej bakterie wytwarzające nadtlenek wodoru oddziałują antagonistycznie wobec innych mikroorganizmów, szczególnie wobec *Streptococcus mutans*, gatunku bakterii związanych z inicjowaniem procesu próchnicowego. Wyniki dokumentują, że szczepy *Lactobacillus spp.* produkujące nadtlenek wodoru mogą odgrywać rolę w ograniczaniu procesu próchnicowego. Występowanie w ślinie pałeczek *Lactobacillus spp.* wytwarzających nadtlenek wodoru wykazano już wcześniej [21]. Jednak uzyskane wyniki nie były analizowane w odniesieniu do aktywności procesu próchnicotwórczego.

W zapobieganiu próchnicy zębów ostatnio podejmowane są próby zastosowania genetycznej modyfikacji bakterii. Chodzi tu o tzw. wymianę genetyczną poszczególnych gatunków mikrobiomu jamy ustnej. Aktualnie testuje się genetycznie zmodyfikowanego *Streptococcus mutans* pozbawionego genu dehydrogenazy mleczanowej, szczepu znacznie mniej kariogennego, który kolonizując jamę ustną może zapobiegać wczesnym zmianom próchnicowym [2].

Inną aktualnie wdrażaną metodą jest zastosowanie bakteriofagów, które redukują liczbę kariopatogenów oraz periopatogenów [2].

Ocena ryzyka próchnicy, czyli prawdopodobieństwa rozwoju nowych zmian próchnicowych i progresji już istniejących, jest ważnym elementem postępowania profilaktyczno-leczniczego w chorobie próchnicowej. Ocena ta analizuje czynniki etiologiczne choroby występujące u pacjenta i ich wpływ na stan równowagi między procesami demineralizacji i remineralizacji szkliwa. Pozwala także na indywidualne ukierunkowanie działań edukacyjnych i profilaktyczno-leczniczych. Systemy oceny ryzyka próchnicy wyróżniają następujące grupy czynników: czynniki etiologiczne choroby próchnicowej (kariopatogeny, węglowodany), czynniki prognostyczne (wczesne zmiany próchnicowe odwracalne – plamy próchnicowe, status społeczno-ekonomiczny) oraz czynniki ochronne (profilaktyka fluorkowa). Ryzyko rozwoju próchnicy u osób dorosłych związane jest w szczególności z występowaniem choroby próchnicowej w przeszłości, obecnością aktywnych

ognisk próchnicowych w obrębie koron, złą higieną jamy ustnej, dietą bogatą w węglowodany, występowaniem chorób przyzębia, obecnością recesji dziąsłowych i ekspozycją powierzchni korzeni na działanie czynników środowiska jamy ustnej, występowaniem licznych wypełnień, użytkowaniem ruchomych uzupełnień protetycznych, przyjmowaniem leków hamujących wydzielanie śliny, przebytą radioterapią okolic głowy i szyi [80].

Pełna diagnostyka choroby próchnicowej wg najnowszych zaleceń Polskiego Oddziału Sojuszu dla Przyszłości Wolnej od Próchnicy (ACFF) ds. zapobiegania próchnicy w populacji osób dorosłych uwzględnia :

- stopień zaawansowania zmian próchnicowych z użyciem systemu ICDAS II,
- stopień aktywności zmian próchnicowych,
- ocenę wskaźników higieny jamy ustnej,
- ocenę tempa wydzielania śliny,
- ocenę poziomu bakterii próchnicotwórczych w ślinie,
- analizę nawyków żywieniowych,
- choroby ogólnoustrojowe i przyjmowane leki (wpływ farmaceutyków na poziom i jakość wydzielanej śliny).

Badanie śliny pozwala na ocenę szybkości jej wydzielania, podstawowych parametrów fizykochemicznych oraz liczebności kariopatogenów (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp.). Jednym z istotnych parametrów śliny jest pojemność buforowa określająca zdolność śliny do neutralizowania kwasów, dzięki której pH śliny utrzymuje się na stałym poziomie. U osób odpornych na próchnicę ślina ma wyższą pojemność buforową.

Wydzielanie śliny stymulowanej w ilości 1,0-3,0 ml/min mieści się w granicach normy. Wartości 0,7-1,0 ml/min świadczą o niskim wydzielaniu, natomiast poniżej 0,7 ml/min – o bardzo niskim wydzielaniu śliny. Stymulacja gruczołów ślinowych powoduje zwiększone wydzielanie śliny. Ilość wydzielanej śliny stymulowanej u dzieci jest nieco wyższa niż u dorosłych, jednak jej wydzielanie trwa krócej. Obecnie dostępne są komercyjne testy pozwalające na określenie podstawowych parametrów fizykochemicznych śliny [20, 24, 43, 51, 59, 65]. Badania powinny być przeprowadzane w godzinach porannych, najlepiej między 8.00 a 10.00. Co najmniej na godzinę przed ich wykonaniem nie powinno się jeść i pić, szczotkować zębów, stosować płukanek profilaktycznych oraz gumy do żucia. Testy te polegają na tym, że w trakcie żucia kostki parafiny ślina jest przez 5 minut wypływana do kalibrowanych pojemników. Oceniane są następujące parametry śliny: szybkość zwilżania błony śluzowej wargi dolnej, konsystencja, odczyn, pojemność buforowa oraz ilość

wydzielanej śliny stymulowanej. Odczyn (pH) śliny spoczynkowej uznawany za prawidłowy wynosi 6,8-7,8, umiarkowanie kwaśny 6,0-6,6, kwaśny 5,0-5,8.

Badania bakteriologiczne śliny pozwalają na ocenę ilościową *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus acidophilus* w ślinie stymulowanej. Aktualnie dostępny test CRT Bacteria określa liczebność kolonii w/w kariopatogenów w ślinie stymulowanej. Uważa się, że wysokie ryzyko wystąpienia próchnicy pojawia się, gdy liczebność kolonii *S. mutans* i *Lactobacillus* spp. wynosi 10^6 CFU/1ml. Liczbę wyhodowanych kolonii (ang. Colony Forming Unit - CFU/ml śliny) odnosi się do modelowego wzorca. Udowodniono istnienie związku między wysoką liczebnością SM w ślinie ($>10^5$ CFU /ml) a wysokim ryzykiem rozwoju próchnicy. Liczba kolonii LB $> 10^5$ odzwierciedla natomiast wysokie spożycie węglowodanów przez badanego w ciągu ostatnich kilku tygodni [24, 60].

Badania ostatnich lat wskazują, że bardzo istotną rolę w patogenezie próchnicy mogą odgrywać białka śliny: niemucynowe o wysokim stopniu homologii łańcucha polipeptydowego i mucyny, które w niestymulowanej ślinie stanowią do 26% całkowitej ilości białek [3, 31, 68, 70, 135, 136]. Aktualnie wyróżnia się grupę 20 różnych, strukturalnie unikatowych białek mucynowych, przy czym w ślinie wykazano obecność pięciu z nich: MUC1, MUC4, MUC5B, MUC7 i MUC19 [23, 104, 136]. MUC1 i MUC4 należą do klasy mucyn błonowych natomiast MUC5B, MUC7 i MUC19 stanowią klasę mucyn wydzielniczych (rozpuszczalnych) [71, 114, 121]. Mucyny są glikoproteinami. Ich charakterystyczną cechą jest wysoka zawartość wodorowęglanowych łańcuchów (łańcuchy oligosacharydowe), które połączone są wiązaniami kowalencyjnymi z białkowym rdzeniem. Białkowy rdzeń (apomucyna) zbudowany jest z kilku różnych domen. Największa z nich, tzw. domena TRP (ang. Tandem Repeat Peptide) jest obecna w każdej z poznanych mucyn i tworzą ją powtarzające się odcinki polipeptydowe o identycznym składzie aminokwasowym (tzw. VNTR). Wielkość tych odcinków i ich sekwencja aminokwasowa są charakterystyczne dla danego typu apomucyny, natomiast liczba powtarzających się odcinków jest zmienna. W odróżnieniu od innych glikoprotein, cechami wyróżniającymi mucyny są: znaczna zawartość reszt seryny, treoniny i proliny (stanowiące 20-55% wszystkich aminokwasów łańcucha polipeptydowego) oraz bardzo duża liczba przyłączonych łańcuchów oligosacharydowych (powyżej 40% cząsteczki). Charakterystyczna budowa powoduje, że cząsteczki mucyn reprezentują sztywne, wyciągnięte struktury. Najważniejszymi mucynami śliny ludzkiej są: MUC1, MUC5B i MUC7.

MUC1

Mucyna ta należy do klasy mucyn błonowych, c. cz. wynosi 250-500 kDa i stanowi mucynę nabłonkową, reprezentującą integralne białko błonowe. Częsteczka błonowa MUC1 zawiera część - domenę cytoplazmatyczną (obecną w cytoplazmie komórek), domenę transbłonową (zakotwiczącą MUC1 w błonie komórkowej) oraz domenę zewnątrzkomórkową o sztywnej i nitkowatej strukturze (może wystawać ponad powierzchnię błony komórkowej na odległość 200-500 nm). Mucyna ta pozostaje na powierzchni komórek po jej sekrecji i pierwotnie spełnia rolę ochronną nabłonka jamy ustnej, podobnie jak nabłonka dróg oddechowych, przewodu pokarmowego i układu moczowo-płciowego [63, 101, 102]. Ponadto wskazuje się, że MUC1 odgrywa rolę w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, szczególnie w indukcji sekrecji cytokin pro-zapalnych: IL-1, IL-6 i TNF- α . Jednocześnie dobrze już udokumentowano, że w następstwie proteolizy lub cięcia na drodze mechanicznej domena zewnątrzkomórkowa tej mucyny ulega szybkiemu uwalnianiu do śliny. Występuje wówczas w postaci rozpuszczalnej i może przyłączać się do powierzchni zębów, przypuszczalnie ułatwiając za pośrednictwem wydłużonej i sztywnej struktury adhezję mucyn wydzielniczych [101].

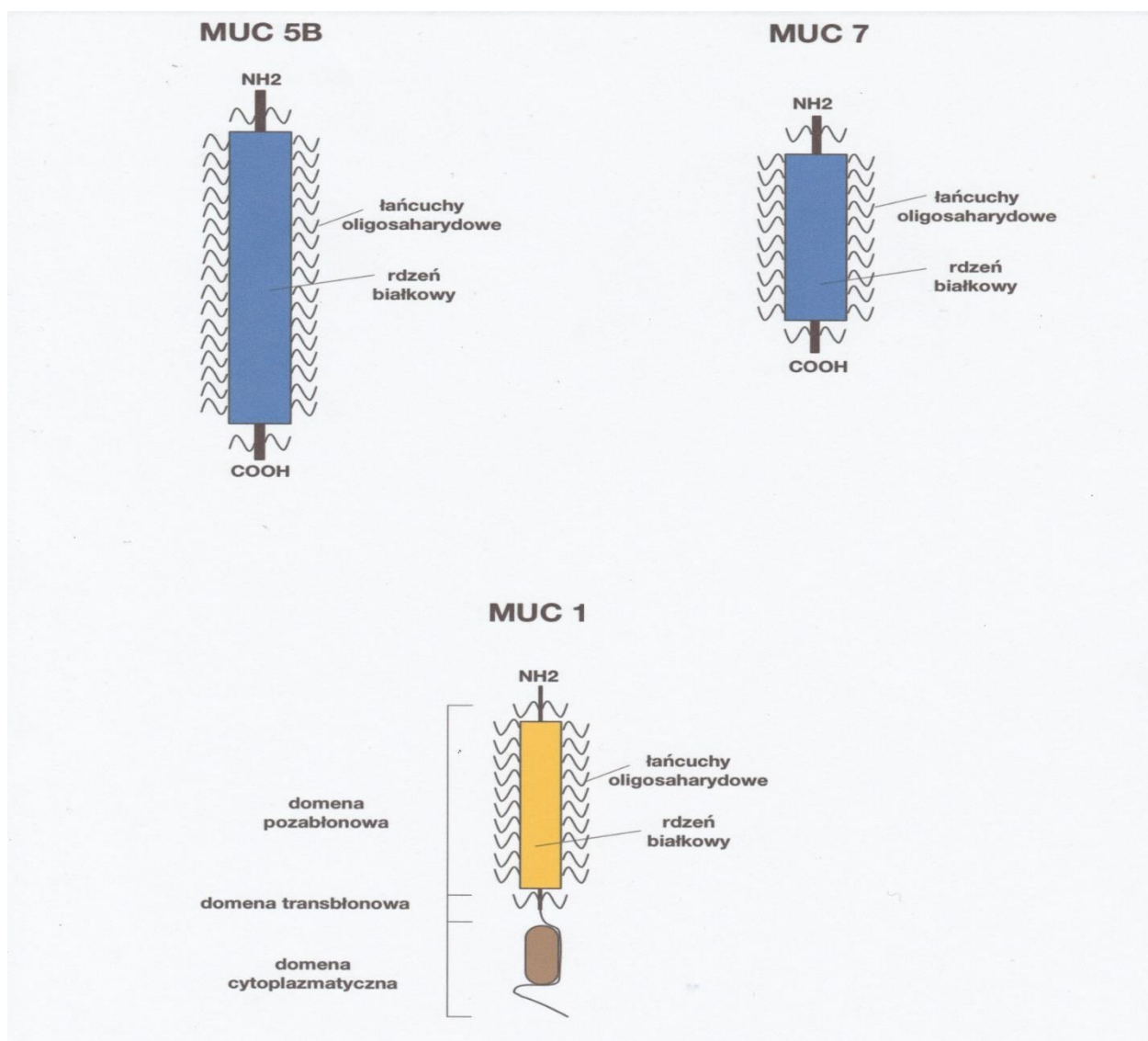
Najważniejszymi mucynami wydzielniczymi są: MUC5B i MUC7, wcześniej określane jako mucyna wysokocząsteczkowa (glikoproteina MG1) oraz niskocząsteczkowa (glikoproteina MG2). W ślinie MUC5B występuje w postaci żelowej, natomiast MUC7 charakteryzuje konsystencja nie-żelowa. Ślinianki podżuchwowe, podjęzykowe i mniejsze gruczoły błony śluzowej jamy ustnej odpowiadają za syntezę i sekrecję tych mucyn [112, 126].

MUC5B

Powyższa mucyna wydzielnicza posiada wysoki c.c.z., wynoszący powyżej 1MDa i 78% jej masy stanowią wodorowęglany, a 15% białko; wykazuje obecność domen bogatych w cysteinę. Charakteryzuje się dużym rozmiarem i wydłużoną formą struktury, nadaje ślinie konsystencję żelową. Wywiera zatem istotny wpływ na właściwości reologiczne śliny, które powiązane są z takimi procesami, jak powlekanie i nawilżanie tkanek oraz zmniejszenie siły tarcia. Jednocześnie charakteryzuje się wysokim powinowactwem do hydroksyapatytu szkliwa zębów, współuczestnicząc w formowaniu błonki nabytej i zapewniając ochronę przed demineralizacją [3, 36]. Ponadto MUC5B może tworzyć kompleksy z MUC7 [122].

MUC7

Mucyna ta jest drobnocząsteczkowa, c. cz. wynosi 200-250 kDa i 68% jej masy stanowią wodorowęglany natomiast 30% białko; występuje w ślinie w postaci nie-żelowej. Strukturalnie jest podobna do MUC5B, różni się jednak wielkością i brakiem domen bogatych w cysteinę [16, 63, 67, 121]. Wywiera znacznie mniejszy wpływ niż MUC5B na właściwości reologiczne śliny. Wykazuje niskie powinowactwo do hydroksyapatytów szkliwa zębów i głównie pozostaje w postaci rozpuszczalnej, odgrywając znaczną rolę w przyłączaniu i inaktywacji bakterii jamy ustnej [53, 101, 136]. Tworzy kompleksy nie tylko z MUC5B, ale także wchodzi w interakcje z sekrecyjną immunoglobuliną A (SIgA), stateryną i laktoferyną [101, 110]. MUC7 sprzyja więc oczyszczaniu i usuwaniu drobnoustrojów z jamy ustnej. Struktury opisanych mucyn przedstawiono na rycinie 3.



Rycina 3. Schematyczne przedstawienie struktury mucyn ślinowych – MUC5B, MUC7, MUC1.

Przedstawione dane wskazują zatem na rolę mucyn ślinowych, a zwłaszcza MUC5B i MUC7 w modyfikowaniu flory bakteryjnej jamy ustnej, szczególnie w oddziaływaniu inaktywacyjnym na niektóre kariopatogeny i periopatogeny. W związku z tym uzasadnione było podjęcie badań dla wyjaśnienia czy występowanie próchnicy zębów u osób dorosłych może być związane z zaburzeniami tych glikoprotein w ślinie.

II. CEL PRACY

Wiele jest danych wskazujących na potencjalne znaczenie mucyn ślinowych, a zwłaszcza MUC5B i MUC7 w ochronie przed próchnicą zębów. Jednak, nadal nie stwierdzono, czy występowanie próchnicy zębów u dorosłych jest związane z zaburzeniami ilościowymi tych glikoprotein w ślinie. Celem niniejszej pracy było wyjaśnienie powyższego zagadnienia w oparciu o następujące zadania badawcze:

1. Ocena występowania mucyny błonowej – MUC1 w ślinie zdrowych dorosłych osób.
2. Ocena występowania mucyn wydzielniczych – MUC5B i MUC7 w ślinie zdrowych dorosłych osób.
3. Ocena występowania mucyny błonowej – MUC1 w ślinie dorosłych osób z próchnicą zębów.
4. Ocena występowania mucyn wydzielniczych – MUC5B i MUC7 w ślinie dorosłych osób z próchnicą zębów

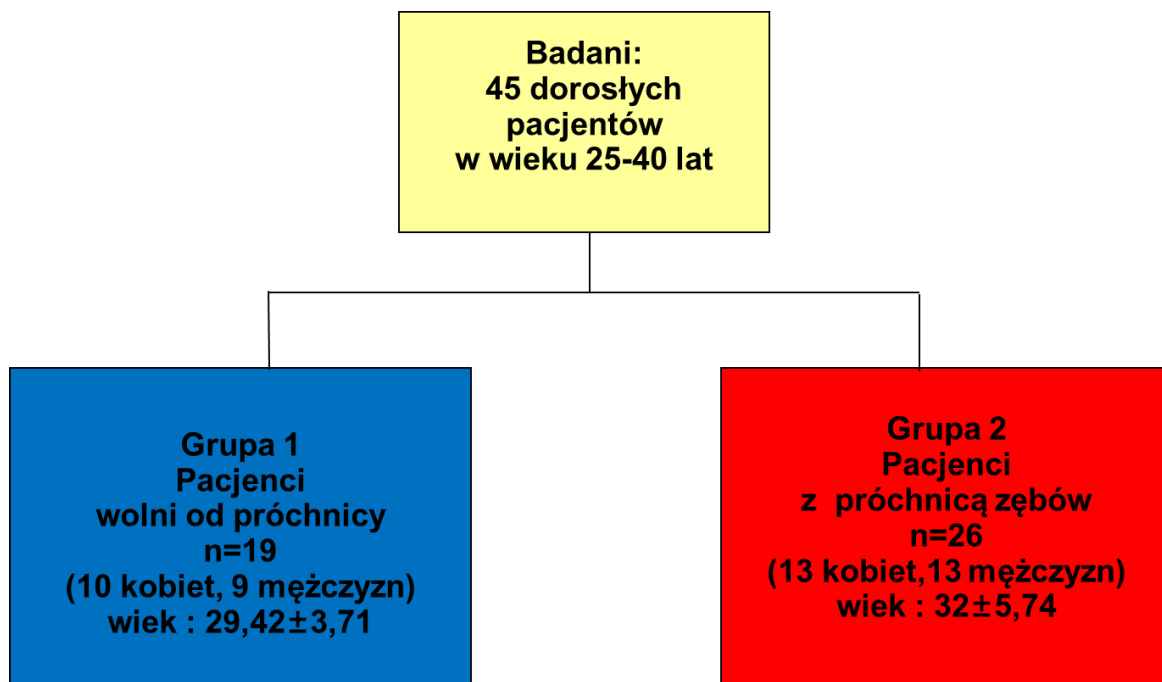
III. MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto 120 dorosłych osób zgłaszających się do gabinetu stomatologicznego – Specjalistyczna Praktyka Stomatologiczna Anna Ronij – celem przeprowadzenia przeglądu uzębienia i/lub leczenia. U wszystkich pacjentów na podstawie diagramu określono intensywność próchnicy, którą wyrażono liczbą PUWZ (wyjaśnienie przedstawiono w opisie klinicznego badania stomatologicznego). Uzyskane wyniki tych badań pozwoliły na wyłonienie dwóch grup pacjentów w oparciu o przyjęte kryteria.

Do badań zostali zakwalifikowani pacjenci ogólnie zdrowi, niepodający w wywiadzie chorób ogólnych, a także niepoddawani leczeniu ogólnemu lub miejscowemu antybiotykiem ani chemioterapeutykiem. Ponadto kryteriami wykluczenia z badań było rozpoznanie grzybicy jamy ustnej, choroby przyzębia lub bruksizmu, obecność uzupełnień protetycznych, a także palenie papierosów. W okresie trzech tygodni poprzedzających badanie u pacjentów nie wykonywano profesjonalnych zabiegów higienizacyjnych, a także nie stosowano płukanek przeciwbakteryjnych.

Grupę 1, w skład której wchodziło 19 osób (10 kobiet i 9 mężczyzn) stanowili pacjenci wolni od próchnicy zębów; średnia wieku: $29,42 \pm 3,71$. Grupę 2, w skład której wchodziło 26 osób (13 kobiet i 13 mężczyzn) stanowili pacjenci z próchnicą zębów; średnia wieku: $32 \pm 5,74$. Materiał badany przedstawiono schematycznie na rycinie nr 4. Pacjenci obu grup nie zgłaszali nadmiernego spożywania węglowodanów, podawali podobne nawyki żywieniowe. W kartach badań odnotowano płeć, wiek oraz dane i wartości uzyskane w podmiotowym i przedmiotowym badaniu stomatologicznym. Materiał do badań laboratoryjnych stanowiła pełna ślina spoczynkowa.

Badania przeprowadzono za zgodą Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała nr 60/ 15).



Rycina 4. Materiał badany

Kliniczne badanie stomatologiczne obejmowało badanie podmiotowe i przedmiotowe. Badanie podmiotowe związane było z występowaniem chorób ogólnoustrojowych oraz miejscowego lub ogólnego stosowania antybiotyków i chemioterapeutyków. W wywiadzie uwzględniono także nawyki higieniczne, tj. stosowanie płukanek przeciwbakteryjnych, a także zabiegi profesjonalne higienizacyjne, które nie mogły być przeprowadzone w okresie trzech tygodni poprzedzających badanie. W badaniu przedmiotowym poddano ocenie intensywność próchnicy zębów, higienę jamy ustnej oraz stan dziąseł. Badanie przeprowadzono metodą wizualno - dotykową przy użyciu lusterka i zgłębnika w świetle lampy stomatologicznej.

Na podstawie diagramu określano intensywność próchnicy zębów, którą wyrażono liczbą PUWZ. W karcie badań oznaczono widoczne ubytki próchnicowe (P). Ponadto odnotowano zęby usunięte z powodu próchnicy (U) i zęby wypełnione (W). Na podstawie kryteriów przyjętych przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) pacjenci zostali zakwalifikowani do poszczególnych grup badawczych. Pacjenci, u których liczba PUWZ wynosiła 0 utworzyli grupę osób wolnych od próchnicy i była to grupa numer 1. Z kolei pacjenci, u których liczba PUWZ była większa niż 0, utworzyli grupę osób z próchnicą zębów i stanowili grupę numer 2. Na podstawie kryteriów przyjętych przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) określano intensywność próchnicy. Pacjenci, u których wskaźnik PUWZ był mniejszy niż 5 charakteryzowali się bardzo niską intensywnością próchnicy zębów. Pacjenci, u których wskaźnik PUWZ znajdował się w przedziale od 5,0 do 8,9 cechowała niska intensywność próchnicy. Natomiast pacjenci, u których wartość wskaźnika PUWZ znajdowała się w przedziale 9,0 do 13,9 – charakteryzowali się umiarkowaną intensywnością próchnicy. Wskaźnik PUWZ wyższy niż 13,9 określał intensywność próchnicy jako wysoką [55, 57, 130].

Higienę jamy ustnej oceniano z zastosowaniem wskaźnika płytki nazębnej - Plaque Index (P.I) według Silness i Løe [109]. Umożliwia on ocenę występowania miękkich złogów umiejscowionych w okolicy szyjki zęba. Ocenie poddano cztery powierzchnie: policzkową, językową, bliższą i dalszą wszystkich zębów według następującej skali:

- 0- nie stwierdza się obecności płytki nazębnej,
- 1- cienka warstwa płytki bakteryjnej niewidoczna gołym okiem, ale wykryta podczas badania zgłębnikiem,
- 2- płytka o umiarkowanej grubości widoczna gołym okiem,
- 3- obfite złogi płytki bakteryjnej.

Plaque Index obliczano sumując wartości uzyskane z badania wszystkich powierzchni zębów i dzieląc przez 4. Wartość wskaźnika Pl.I. w przedziale 0-0,6 świadczy o dobrym stanie higieny jamy ustnej; 0,7-1,8 o dostatecznej higienie, natomiast 1,9- 3,0 o złym stanie higieny.

Stan dziąsła oceniany był z zastosowaniem wskaźnika dziąsłowego - Gingival Index (GI) według Löe i Silness [72, 109]. Uwzględnia on brak lub występowanie objawów stanu zapalnego dziąseł, takich jak: zmianę zabarwienia, obrzęk, krwawienie przy zgłębnikowaniu lub samoistne. Kryteria oceny opierają się na zmianach jakościowych dziąseł:

- 0- dziąsło zdrowe, o bladoróżowym kolorze, bez wizualnych oznak stanu zapalnego,
- 1- łagodne zapalenie dziąseł - niewielkie zaczerwienienie, nieznaczny obrzęk, brak krwawienia samoistnego lub podczas sondowania,
- 2- umiarkowane zapalenie - dziąsła są obrzęknięte, zaczerwienione, połyskliwe, występuje krwawieniu przy sondowaniu lub ucisku,
- 3- ciężkie zapalenie - dziąsła są wyraźnie obrzęknięte i zaczerwienione, występuje krwawienie samoistne.

Stan dziąsła badano w obrębie czterech powierzchni otaczających ząb. Uzyskane punkty sumowano i dzielono przez ilość badanych powierzchni, otrzymując wartość wskaźnika dla danego zęba. Wartości wskaźnika dziąsłowego w zakresie 0,1-1,0 świadczą o łagodnym stanie zapalnym dziąseł, 1,1- 2,0 o umiarkowanym, natomiast od 2,1 do 3,0 o zaawansowanym zapaleniu dziąseł [60].



Fotografia 3. Badany pacjent wolny od próchnicy zębów – badania własne



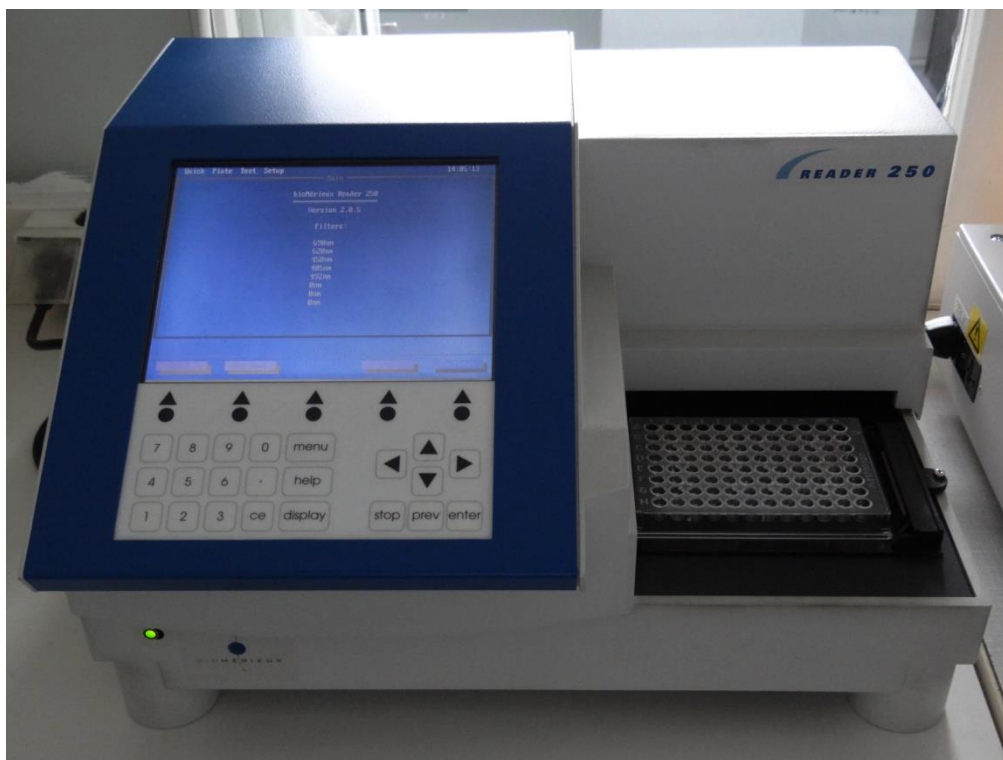
Fotografia 4. Pacjent z licznymi ubytkami próchnicowymi (PUWZ = 14) – badania własne

Kolekcjonowanie próbek śliny

Badania przeprowadzone były w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Materiał do badań stanowiła pełna ślina spoczynkowa zbierana w ciągu 10-15 min od badanych osób w godzinach między 8.00 a 11.00 [15]. Wszystkie badane osoby były informowane o zakazie spożywania posiłków i płynów 2 godziny wcześniej przed badaniem. Ślinę pobierano do jałowych pojemników. Każda próbka śliny stanowiła ok. 2 ml. Próbkę śliny po pobraniu przekazywano do Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej, gdzie były homogenizowane poprzez silne worteksowanie i odwirowywane przy obrotach 3000 x g/15 min. w 4°C. Otrzymane supernatanty były zamrażane w temperaturze -80° C i przechowywane do czasu wykonania badania.

Oznaczanie mucyn ślinowych – MUC1, MUC5B, MUC7

Oznaczenia poziomów mucyn wykonano w Zakładzie Mikrobiologii Lekarskiej metodą immunoenzymatyczną - ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), stosując zestawy wysokiej czułości – EIAab Wuhan; dla oceny MUC1 - ELISA Kit Catalog No.: E0413h, MUC5B – ELISA Kit Catalog No.: E0684h, MUC7 – ELISA Kit Catalog No.: E1808h. Rekombinanty MUC1, MUC5B i MUC7 były stosowane jako standardy (kontrola pozytywna). Oznaczenia wykonywano zgodnie z instrukcją producenta EIAab Wuhan. Wartości absorbancji z wyznaczeniem krzywej standardowej dla każdej badanej mucyny, odczytywano z użyciem czytnika Reader 250 (fotografia 5), przy $\lambda=450\text{nm}$. Zakresy wartości krzywej standardowej dla poszczególnych mucyn wynosiły: 0,156-10 ng/ml dla MUC1; 0,312-20 ng/ml dla MUC5B; 0,469-30 ng/ml dla MUC7. Każde badanie powtarzano 3-krotnie i otrzymaną wartość średnią przedstawiano jako uzyskany wynik.



Fotografia 5. Czytnik – Reader 250 (bioMérieux) do badań immunoenzymatycznych

Analiza statystyczna wyników

Dla obliczeń zastosowano pakiet statystyczny Dell Statistica 2016 (data analysis software system), v 13. Analizowane parametry opisano średnią arytmetyczną, odchyleniem standardowym, medianą, pomiarem minimalnym i maksymalnym. Sprawdzono zgodność z rozkładem normalnym między grupami 1 i 2 testem Shapiro-Wilka. Nie potwierdzono zgodności z rozkładem normalnym do porównania grup, zastosowano więc nieparametryczny test Manna-Whitneya [81].

Płeć pacjentów opisano liczebnością i odpowiadającym im wartościami procentowym w grupach. Do zbadania zależności zastosowano test χ^2 z poprawką Yatesa.

W oparciu o pojęcie czułości i swoistości testu diagnostycznego każdej wartości analizowanych mucyn wyznaczano krzywe ROC (Receiver Operating Characteristic). Wykres krzywej ROC pozwala ustalić punkt odcięcia, czyli wartość graniczną (cutt-off). Dane poniżej tej wartości są swoiste dla występowania choroby – próchnicy zębów. Do każdego z

punktów odcięcia wyznaczone zostały wartości prawdziwie dodatnie (ang. True Positives - TP), prawdziwie ujemne (ang. True Negatives - TN), fałszywie dodatnie (ang. False Positives - FP) i fałszywie ujemne (ang. False Negatives - FN). Na podstawie tych wartości każdy punkt odcięcia został opisany za pomocą czułości i swoistości.

Czułość testu diagnostycznego, czyli zdolność danej metody diagnostycznej do wykrycia rzeczywistego ryzyka próchnicy zębów obliczono wg wzoru :

$$\text{czułość} = TP / (TP + FN)$$

Swoistość testu diagnostycznego, czyli zdolność danego badania diagnostycznego do określenia osób, u których w rzeczywistości nie stwierdzono próchnicy zębów, obliczono wg wzoru :

$$\text{swoistość} = TN / (FP + TN)$$

Zwiększenie czułości testu wiąże się ze zmniejszeniem odsetka wyników fałszywie ujemnych, ale jednocześnie ze zmniejszeniem swoistości (zwiększeniem odsetka wyników fałszywie dodatnich). Zwiększenie swoistości testu wiąże się ze zmniejszeniem odsetka wyników fałszywie dodatnich, ale jednocześnie ze zmniejszeniem czułości (zwiększeniem odsetka wyników fałszywie ujemnych) (27).

Określono również pozytywną wartość predykcyjną (ang. Positive Predictive Value – PPV) oraz negatywną wartość predykcyjną (ang. Negative Predictive Value – NPV). Wartość PPV ukazuje, z jakim prawdopodobieństwem u pacjenta, u którego stwierdzono obecność próchnicy zębów, czy rzeczywiście próchnica jest obecna i dostępna w badaniu. Wartość NPV z kolei obrazuje, z jaką pewnością można stwierdzić, że u osoby, u której nie stwierdzono próchnicy zębów w badaniu wizualnym, rzeczywiście nie stwierdza się obecności próchnicy. Aby określić te dwie wartości zastosowano poniższe wzory

$$PPV = TP / (TP + FP)$$

$$NPV = TN / (FN + TN)$$

Następnie obliczono pole powierzchni pod krzywą AUC (ang. Area Under the Curve) i zbadano jego istotność. Dla parametrów, których pole było istotne wyznaczono optymalny punkt odcięcia albo przy pomocy wskaźnika Youdena (wartość maksymalna z wyrażenia czułość+swoistość-1) lub gdy czułość i swoistość osiągają wartość optymalną. W końcowym etapie porównano AUC poszczególnych parametrów metodą DeLonga [26]. AUC może zawierać się w przedziale <0;1>, a im jest wyższe, tym wartość diagnostyczna testu jest lepsza.

Istotne jest również, by pole to było statystycznie istotnie różne od wartości 0,5, przy której krzywa przecina wykres na pół, co świadczy o tym, że wartość badania diagnostycznego jest taka sama, jak losowy przydział do każdej z grup.

Dla wszystkich obliczeń przyjęto, że poziom istotności p wynosi 0,05.

W prezentowanej analizie statystycznej zastosowano następujące symbole:

\bar{X} - średnia arytmetyczna

X_{\min} – wartość minimalna

X_{\max} – wartość maksymalna

Me – mediana

SD – odchylenie standardowe

n – liczba badanych pacjentów

p – poziom istotności

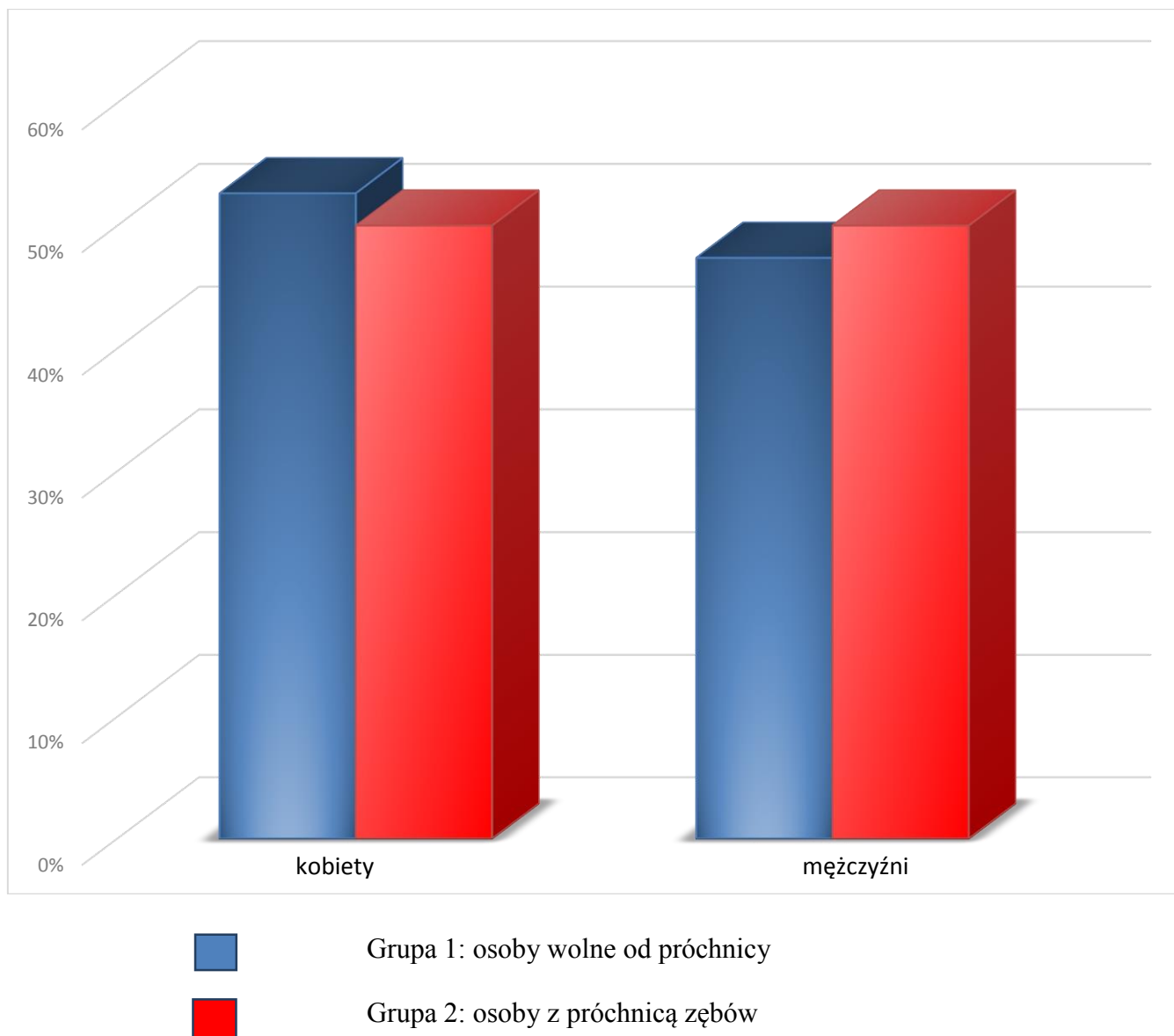
IV. WYNIKI

W oparciu o wartości wskaźników klinicznych uzyskanych na podstawie badania stomatologicznego, zgodnie z przyjętymi kryteriami oceny wg WHO spośród 120 badanych osób 19 zakwalifikowano do grupy pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1), natomiast 26 osób do grupy pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2).

Grupę 1 stanowiło 19 pacjentów wolnych od próchnicy (PUWZ=0, P=0), obejmującą 10 kobiet i 9 mężczyzn w wieku 25 – 37 lat (średnia wieku wynosiła $29,42 \pm 3,71$). Grupę 2 stanowiło 26 pacjentów z próchnicą zębów (PUWZ= 16,11 \pm 2,26; liczba P=6,53 \pm 2,17), w tym 13 kobiet i 13 mężczyzn w wieku 25 – 40 (średnia wieku wynosiła $32 \pm 5,74$). Dane statystyczne charakteryzujące wiek badanych osób przedstawiono w tabeli 1, natomiast wyniki wskaźnika PUWZ i liczby P – w tabeli 2. Graficzne zestawienie udziału procentowego kobiet i mężczyzn w badanych grupach osób przedstawia rycina 5. Analizując porównawczo obie grupy badanych pod względem płci i wieku nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy liczbą kobiet i liczbą mężczyzn oraz ich wiekiem ($p > 0,01$).

Tabela 1. Charakterystyka statystyczna wieku badanych osób wolnych od próchnicy (grupa 1) i próchnicą zębów (grupa 2)

| Grupa | n | Wiek | | | | |
|---------|----|-----------|--------------|------------|------------|----------|
| | | \bar{X} | Mediana (Me) | X_{\min} | X_{\max} | SD |
| Grupa 1 | 19 | 29,42105 | 31,00000 | 25,00000 | 37,00000 | 3,716566 |
| Grupa 2 | 26 | 32,34615 | 32,00000 | 25,00000 | 40,00000 | 5,740678 |



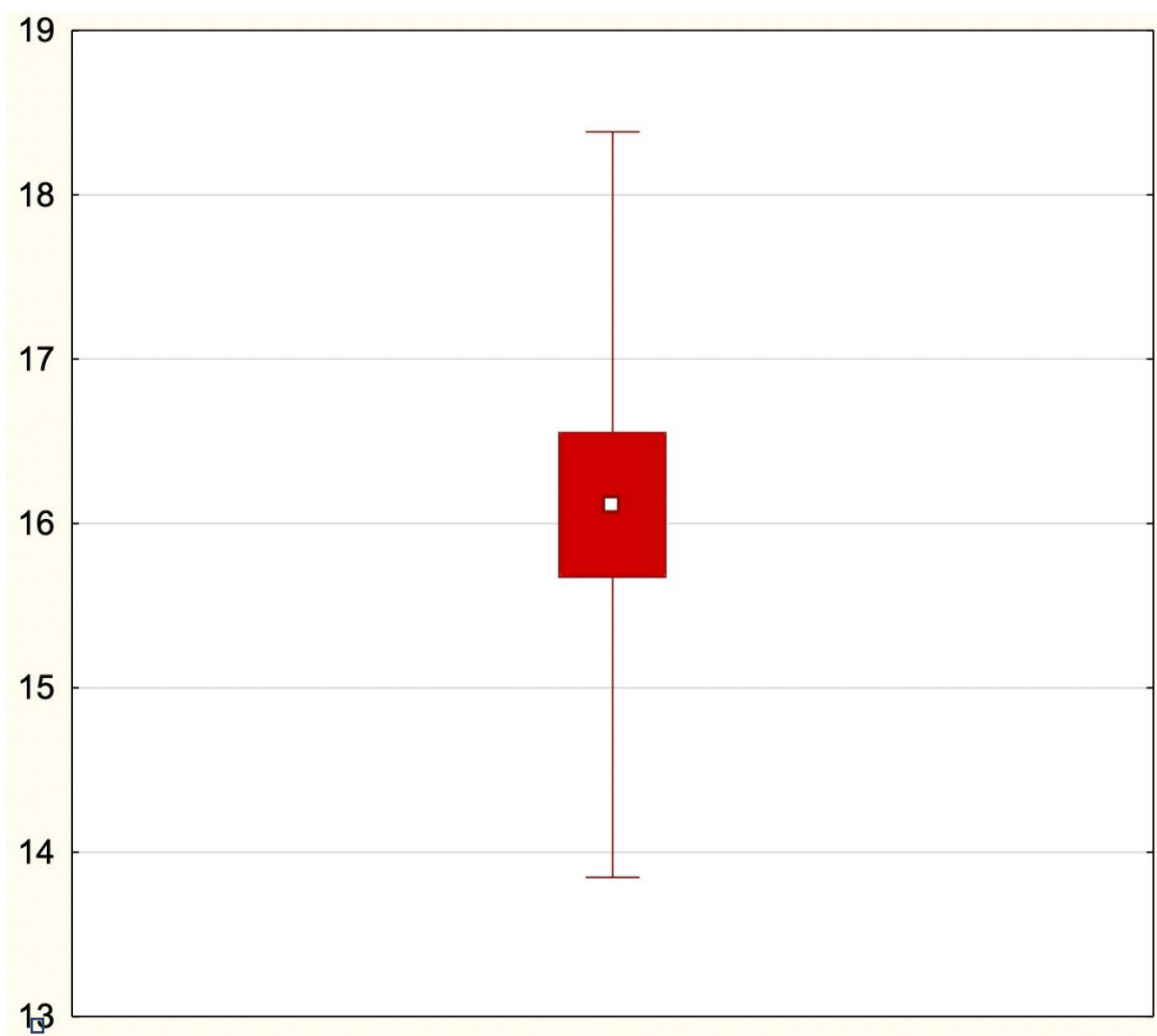
Rycina 5. Graficzne zestawienie udziału procentowego kobiet i mężczyzn w badanych grupach osób

Tabela 2. Wyniki wskaźnika PUWZ oraz liczby P w grupie osób z próchnicą zębów (grupa 2)

| Wskaźnik | \bar{X} | Mediana (Me) | X_{\min} | X_{\max} | SD |
|----------|-----------|--------------|------------|------------|----------|
| PUWZ | 16,11538 | 15,50000 | 14,00000 | 20,00000 | 2,268514 |
| Liczba P | 6,538462 | 6, 000000 | 3,000000 | 12, 00000 | 2,176801 |

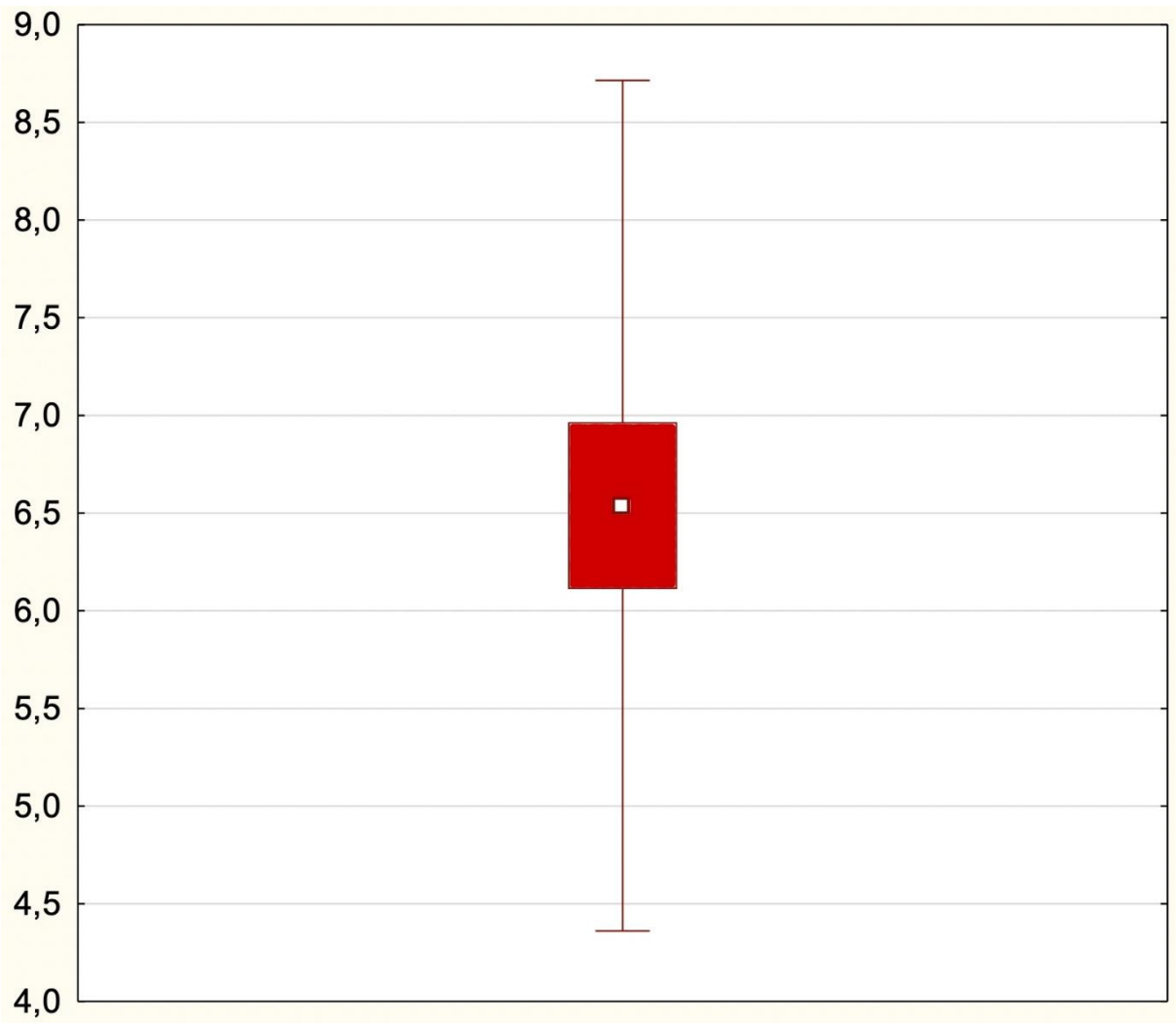
U wszystkich pacjentów grupy 1 nie stwierdzono aktualnej i przebytej próchnicy zębów (PUWZ=0; liczba P=0). Pacjenci w grupie 2 manifestowali ciężką, aktywną próchnicę zębów. Rozpoznanie to stwierdzono na podstawie wskaźnika klinicznego PUWZ i liczby P, wg kryteriów WHO. Średnia wartość u pacjentów tej grupy wynosiła PUWZ=16,11 ± 2,26 i liczba P=6,53 ± 2,17.

Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości PUWZ i liczby P u pacjentów w grupie 2 zestawiono na rycinach 6 i 7.



- średnia □ - średnia ± błąd std. I - średnia ± odch. std.

Rycina 6. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości PUWZ u pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)



- średnia
 - średnia \pm błąd std.
 - średnia \pm odch. std.

Rycina 7. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości średnich liczby P u pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2).

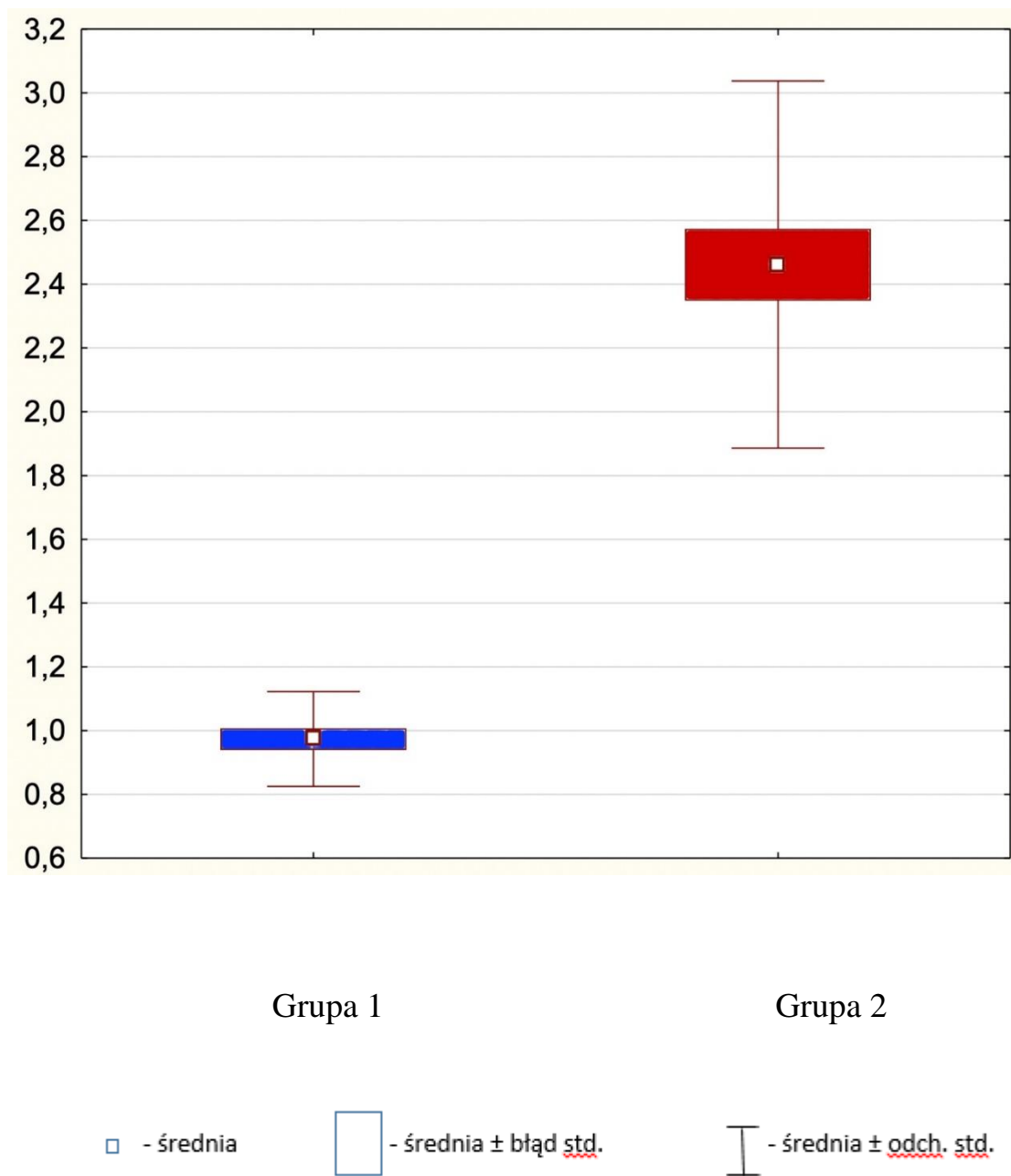
Tabela 3. Wyniki wskaźnika Pl.I w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

| Grupa | n | Pl.I | | | | |
|---------|----|-----------|--------------|------------|------------|----------|
| | | \bar{X} | Mediana (Me) | X_{\min} | X_{\max} | SD |
| Grupa 1 | 19 | 0,973684 | 1,000000 | 0,700000 | 1,300000 | 0,148482 |
| Grupa 2 | 26 | 2,461538* | 2,150000 | 1,700000 | 3,600000 | 0,575553 |

* oznaczono różnicę istotną statystycznie wartości średniej wskaźnika Pl.I ($p < 0,0001$)

Wyniki badań wskaźników klinicznych Pl.I i GI przedstawiono w tabelach 3, 4 oraz graficznie na rycinach 8 i 9. W grupie 1 średni wynik wskaźnika Pl.I wynosił $0,97 \pm 0,14$, co świadczy o dostatecznej higienie jamy ustnej. W grupie 2 średnia wartość Pl.I była statystycznie wyższa niż u pacjentów grupy 1 ($p < 0,0001$), co świadczy o złym stanie higieny jamy ustnej.

Z kolei średnia wartość wskaźnika GI w grupie 1 wynosiła $0,82 \pm 0,35$, co świadczy o łagodnym stanie zapalnym dziąseł. Natomiast średnia wartość GI w grupie 2 była statystycznie wyższa niż w grupie 1 ($p < 0,0001$) i wynosiła $2,02 \pm 0,49$, co świadczy o umiarkowanym stanie zapalnym dziąseł.



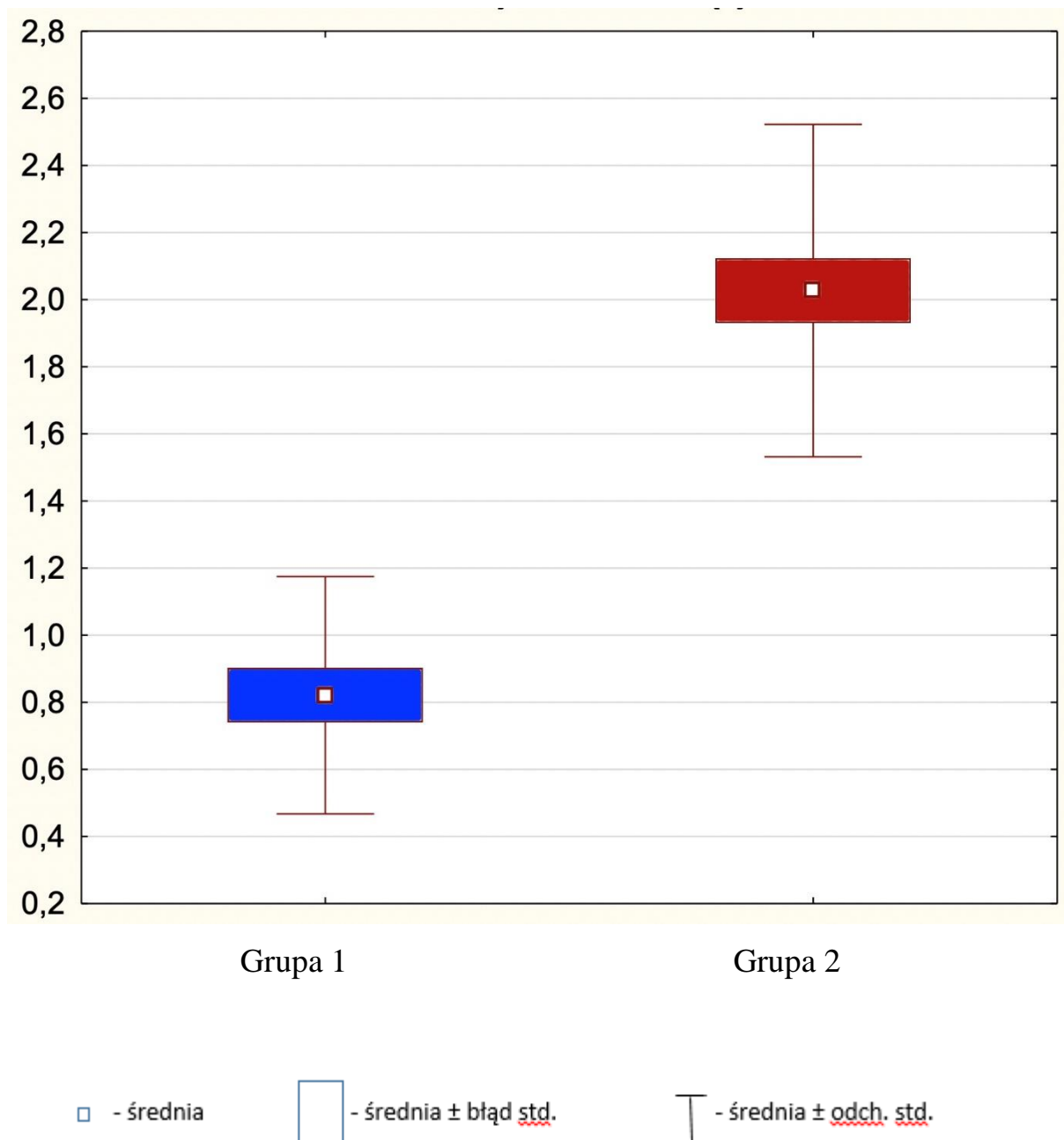
Rycina 8. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości wskaźnika PI.I w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

Tabela 4. Wyniki wskaźnika GI w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

| Grupa | n | GI | | | | |
|---------|----|-----------|--------------|----------|----------|----------|
| | | \bar{X} | Mediana (Me) | Xmin | Xmax | SD |
| Grupa 1 | 19 | 0,821053 | 1,000000 | 0,500000 | 1,600000 | 0,353677 |
| Grupa 2 | 26 | 2,026923* | 2,000000 | 1,000000 | 3,000000 | 0,495223 |

* oznaczono różnicę istotną statystycznie wartości średniej wskaźnika GI ($p < 0,0001$)

Analizując uzyskane wyniki wskaźnika dziąsłowego GI najwyższą średnią wartość wykazano w grupie 2 ($2,02 \pm 0,49$), natomiast najniższą w grupie 1 ($0,82 \pm 0,35$). Wartości te różniły się statystycznie przy poziomie istotności $p < 0,0001$.



Rycina 9. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości wskaźnika GI w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

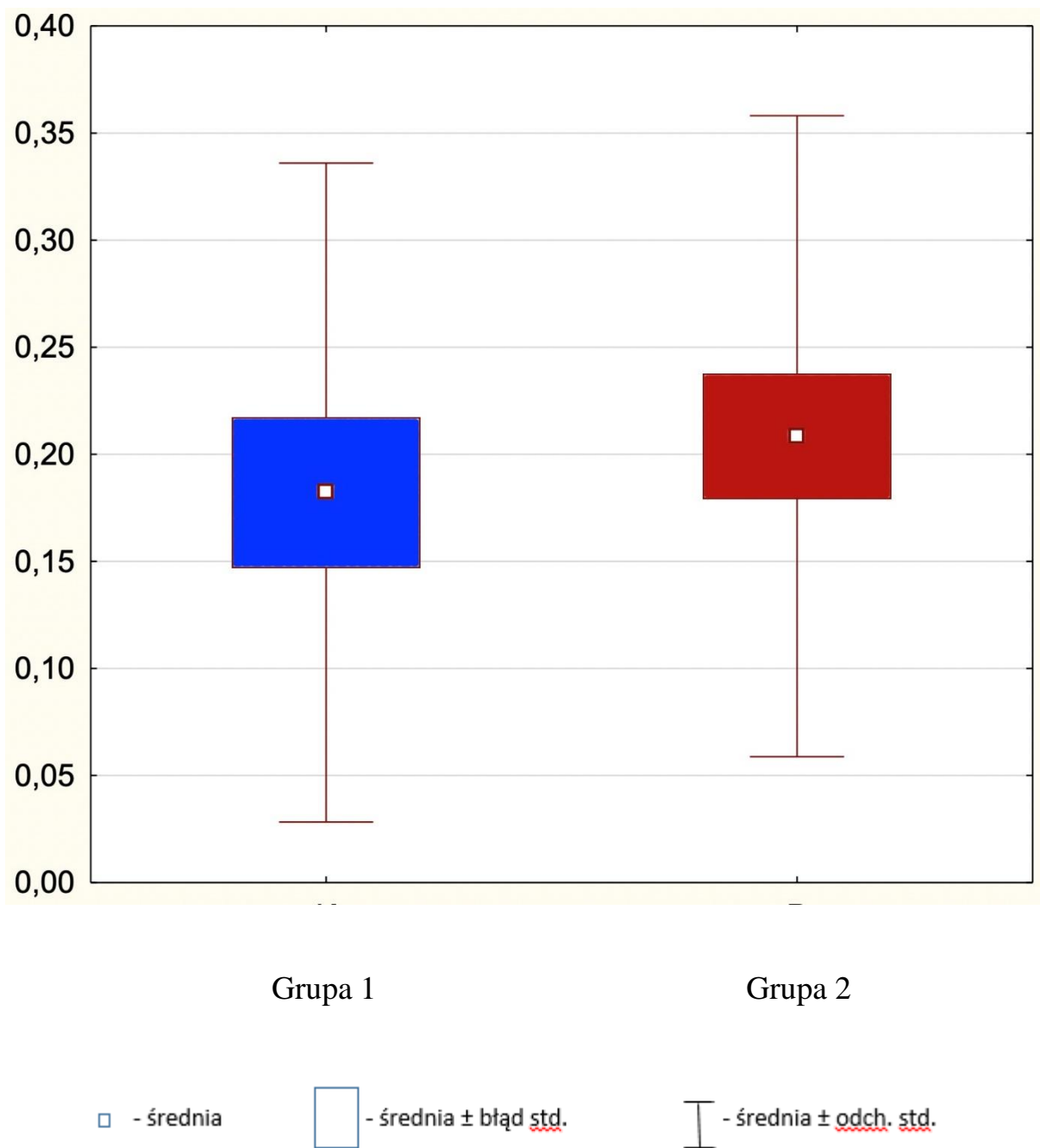
Badania zawartości w ślinie spoczynkowej mucyn: MUC1, MUC5B, MUC7 przeprowadzono przy użyciu immunoenzymatycznego testu (ELISA) – Wuhan EIAab, charakteryzującego się wysoką czułością i wysoką swoistością. Kontrole pozytywne

w tych oznaczeniach (standardy) stanowiły rekombinanty ludzkich MUC1, MUC5B, MUC7.

W badaniach MUC1 jej średnia wartość w grupie 1 wynosiła $0,18 \pm 0,15$ ng/ml. Natomiast w grupie 2 wartość ta wynosiła $0,20 \pm 0,14$ ng/ml. Uzyskane wyniki nie różniły się statystycznie pomiędzy badanymi grupami ($p=0,676$). Dane te przedstawiono w tabeli 5 oraz graficznie na rycinie 10.

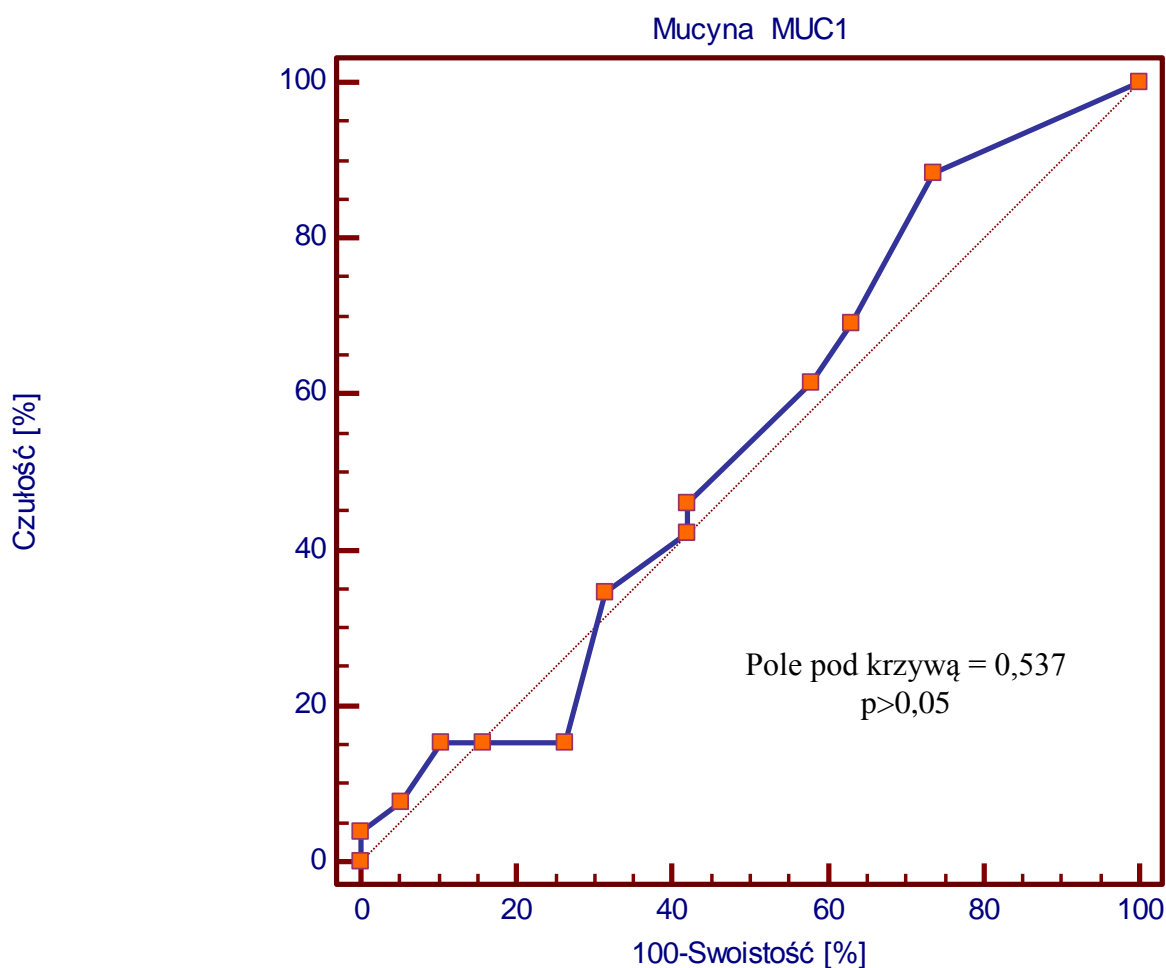
Tabela 5. Wyniki oznaczeń MUC1 w ślinie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

| Grupa | n | MUC1 (ng/ml) | | | | |
|---------|----|--------------|--------------|------------|------------|----------|
| | | \bar{X} | Mediana (Me) | X_{\min} | X_{\max} | SD |
| Grupa 1 | 19 | 0,182105 | 0,160000 | 0,00 | 0,500000 | 0,153861 |
| Grupa 2 | 26 | 0,208462 | 0,160000 | 0,00 | 0,600000 | 0,149658 |

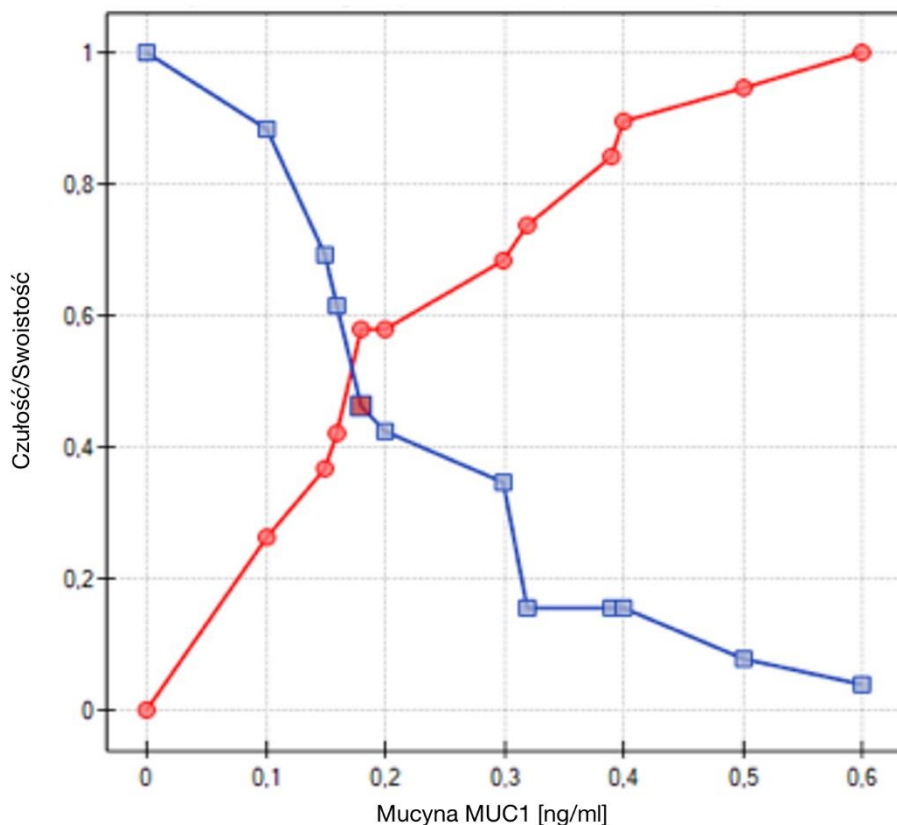


Rycina 10. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości MUC1 w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

W analizie wyników MUC1 w odniesieniu do stwierdzonej próchnicy zębów zastosowano krzywą ROC (rycina 11). Uzyskany wykres krzywej ROC potwierdził brak różnicy statystycznej pomiędzy wynikami obu grup pacjentów ($p > 0,05$). Pole pod krzywą – AUC było niskie i wynosiło 0,537. Jednocześnie, wykreślając krzywą czułości i krzywą swoistości uzyskanych wartości MUC1 w kontekście stwierdzonej próchnicy zębów (rycina 12) uzyskano punkt odcięcia (cut-off), który wynosił 0,18 ng/ml. Jednak wartość ta nie może mieć znaczenia diagnostycznego, gdyż uzyskano ją przy niskiej czułości i swoistości (na poziomie wartości 0,55 czułości/swoistości).



Rycina 11. Krzywa ROC dla uzyskanych wyników oznaczeń poziomów MUC1 w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów)



- Krzywa swoistości dla poszczególnych wartości mucyny MUC1
- Krzywa czułości dla poszczególnych wartości mucyny MUC1
- Punkt odcięcia cut off dla wartości mucyny MUC1 – 0,18 ng/ml

Rycina 12. Czułość/swoistość dla poszczególnych wyników MUC1 uzyskanych w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów). Wartość graniczna wynosi 0,18 ng/ml

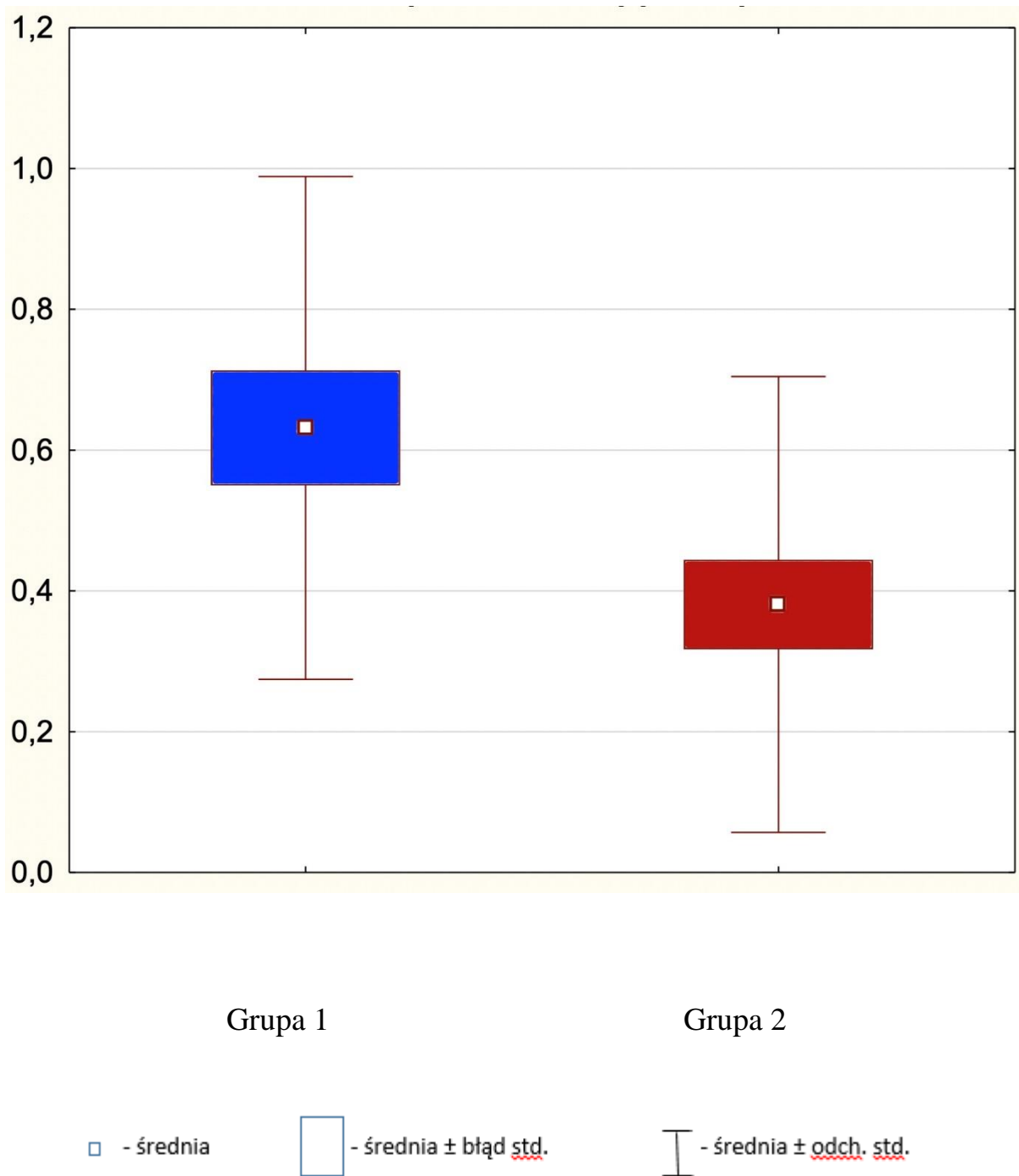
W badaniach zawartości MUC5B w ślinie, jej średnia wartość u pacjentów grupy 1 wynosiła $0,63 \pm 0,35$ ng/ml. Natomiast w grupie 2 uzyskane wyniki były statystycznie niższe i wynosiły średnio $0,38 \pm 0,32$ ng/ml ($p=0,0233$). Dane te przedstawiono w tabeli 6 oraz graficznie na rycinie 13.

W analizie wyników MUC5B w odniesieniu do stwierdzonej próchnicy zębów zastosowano krzywą ROC (rycina 14). Uzyskany wykres krzywej ROC wykazał statystyczną różnicę pomiędzy wynikami obu grup pacjentów ($p<0,01$). Pole pod krzywą – AUC było wyższe niż AUC dla MUC1 i wynosiło 0,699. Jednocześnie, wykreślając krzywą czułości i krzywą swoistości uzyskanych wartości MUC5B w kontekście stwierdzonej próchnicy zębów (rycina 15) uzyskano punkt odcięcia (cut-off), który wynosił 0,4 ng/ml. Jednak wynik ten uzyskany na poziomie 0,65 czułości/swoistości nie stanowi optymalnej wartości granicznej, nie może mieć więc zastosowania diagnostycznego.

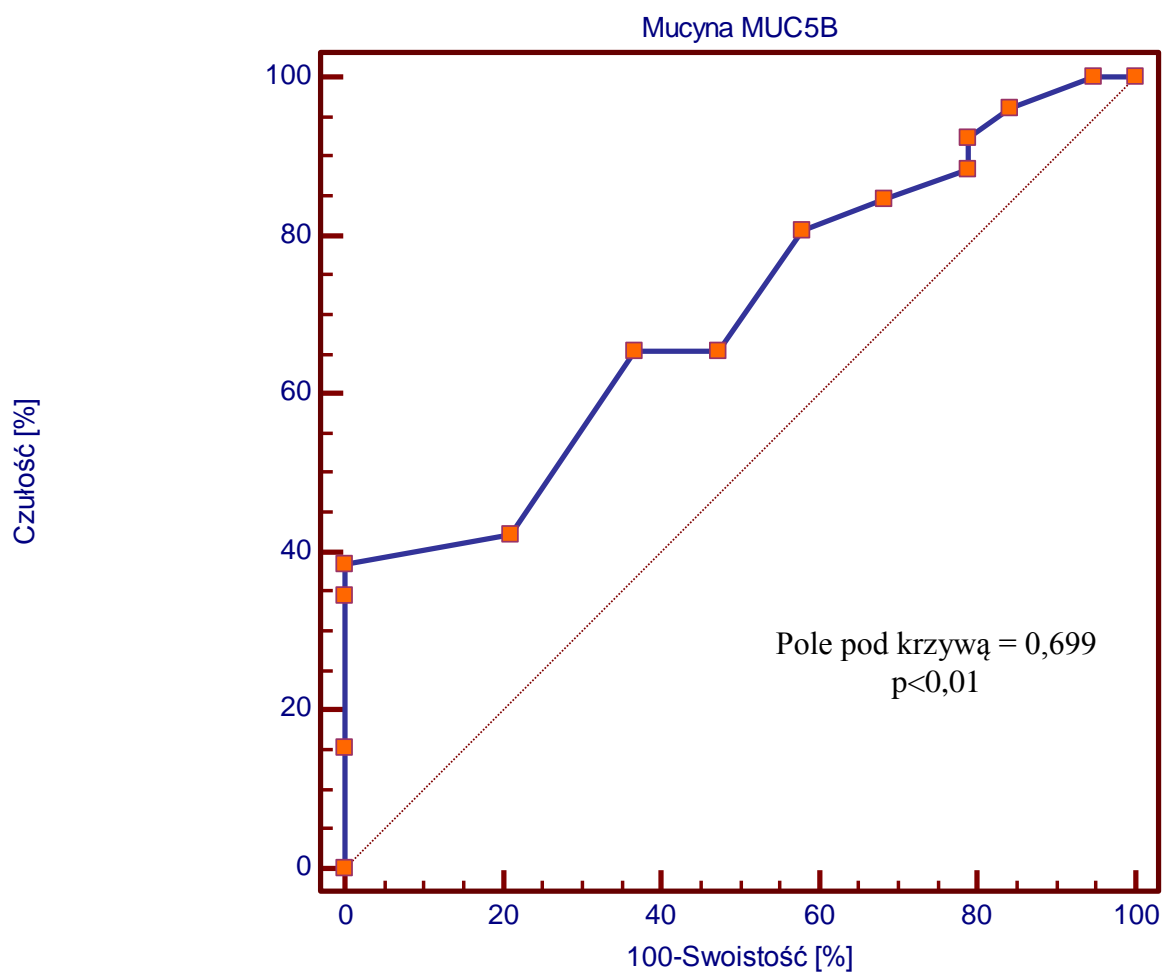
Tabela 6. Wyniki oznaczeń MUC5B w ślinie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

| Grupa | n | MUC5B (ng/ml) | | | | |
|---------|----|---------------|--------------|------------|------------|----------|
| | | \bar{x} | Mediana (Me) | X_{\min} | X_{\max} | SD |
| Grupa 1 | 19 | 0,631579 | 0,500000 | 0,300000 | 1,500000 | 0,357153 |
| Grupa 2 | 26 | 0,380769* | 0,400000 | 0,00 | 1,200000 | 0,323752 |

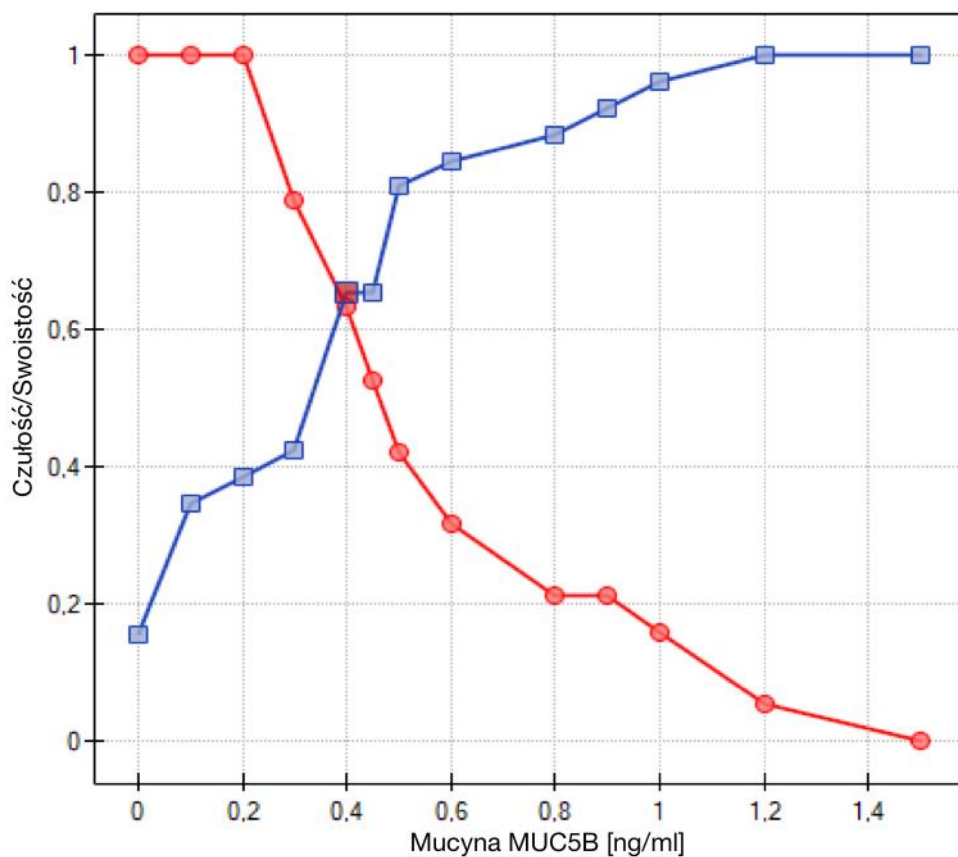
* oznaczono różnicę istotną statystycznie wartości średniej mucyny MUC5B ($p = 0,0233$)



Rycina 13. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości MUC5B w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)



Rycina 14. Krzywa ROC dla uzyskanych wyników oznaczeń poziomów MUC5B w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów)



- Krzywa swoistości dla poszczególnych wartości mucyny MUC5B
- Krzywa czułości dla poszczególnych wartości mucyny MUC5B
- Punkt odcięcia cut off dla wartości mucyny MUC5B – 0,4 ng/ml

Rycina 15. Czułość/swoistość dla poszczególnych wyników MUC5B uzyskanych w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów). Wartość graniczna wynosi 0,4 ng/ml

W badaniach poziomów MUC7 w ślinie, jej średnia wartość u pacjentów grupy 1 wynosiła $5,47 \pm 1,18$ ng/ml. Natomiast w grupie 2 uzyskane wyniki były statystycznie niższe i wynosiły średnio $1,39 \pm 0,86$ ng/ml ($p < 0,0001$). Dane te przedstawiono w tabeli 7 oraz graficznie na rycinie 16.

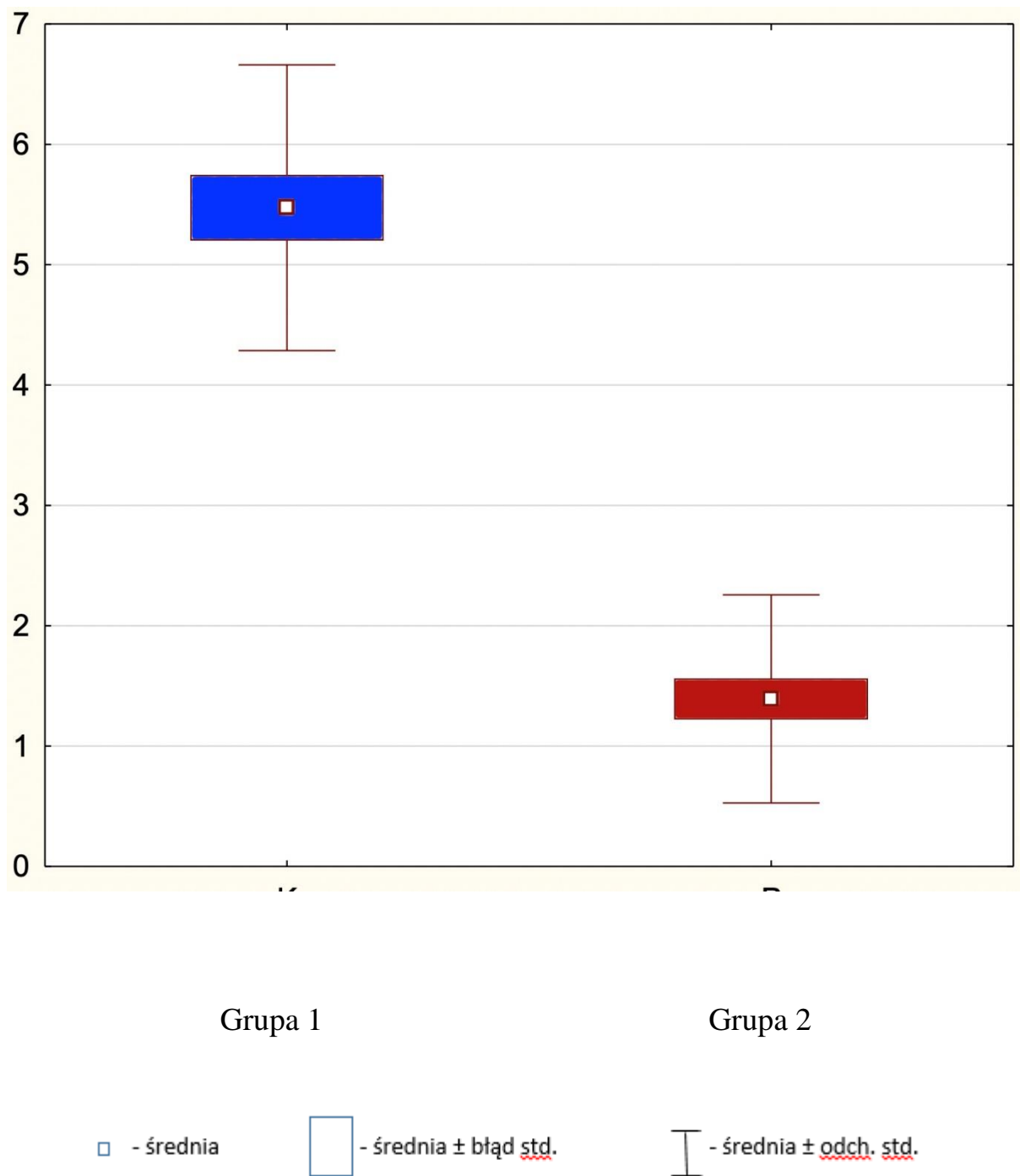
W analizie wyników MUC7 w odniesieniu do stwierdzonej próchnicy zębów zastosowano krzywą ROC (rycina 17). Uzyskany wykres krzywej ROC wykazał statystyczną różnicę pomiędzy wynikami obu grup pacjentów ($p < 0,0001$). Pole pod krzywą – AUC było maksymalne i wynosiło 1,0. Jednocześnie, wykreślając krzywą czułości i krzywą swoistości wartości MUC7 w kontekście stwierdzonej próchnicy zębów (rycina 18) uzyskano punkt odcięcia (cut-off) wynoszący 2,5 ng/ml. Powyższą wartość wykreślono przy czułości/swoistości równej 1, co odpowiada 100% czułości/swoistości. Wartość ta spełnia zatem kryteria optymalnego parametru diagnostycznego.

Wykreślone krzywe ROC zestawiono porównawczo: dla MUC1 i MUC5B (rycina 19), dla MUC1 i MUC7 (rycina 20) oraz dla MUC5B i MUC7 (rycina 21).

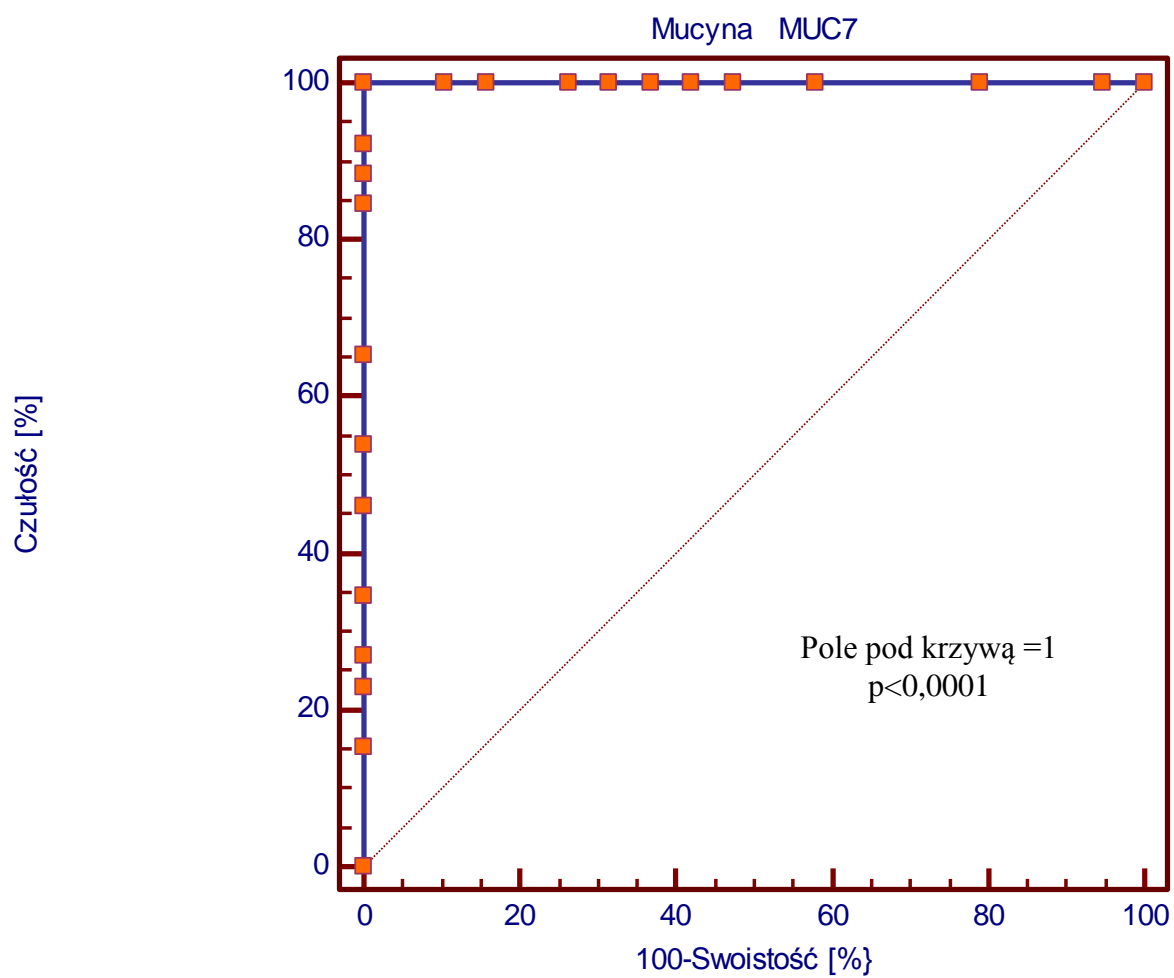
Tabela 7. Wyniki oznaczeń MUC7 w ślinie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

| Grupa | n | MUC7 (ng/ml) | | | | |
|---------|----|--------------|--------------|------------|------------|----------|
| | | \bar{X} | Mediana (Me) | X_{\min} | X_{\max} | SD |
| Grupa 1 | 19 | 5,473684 | 5,600000 | 4,000000 | 9,000000 | 1,186892 |
| Grupa 2 | 26 | 1,392308 | 1,800000 | 0,00 | 2,500000 | 0,865297 |

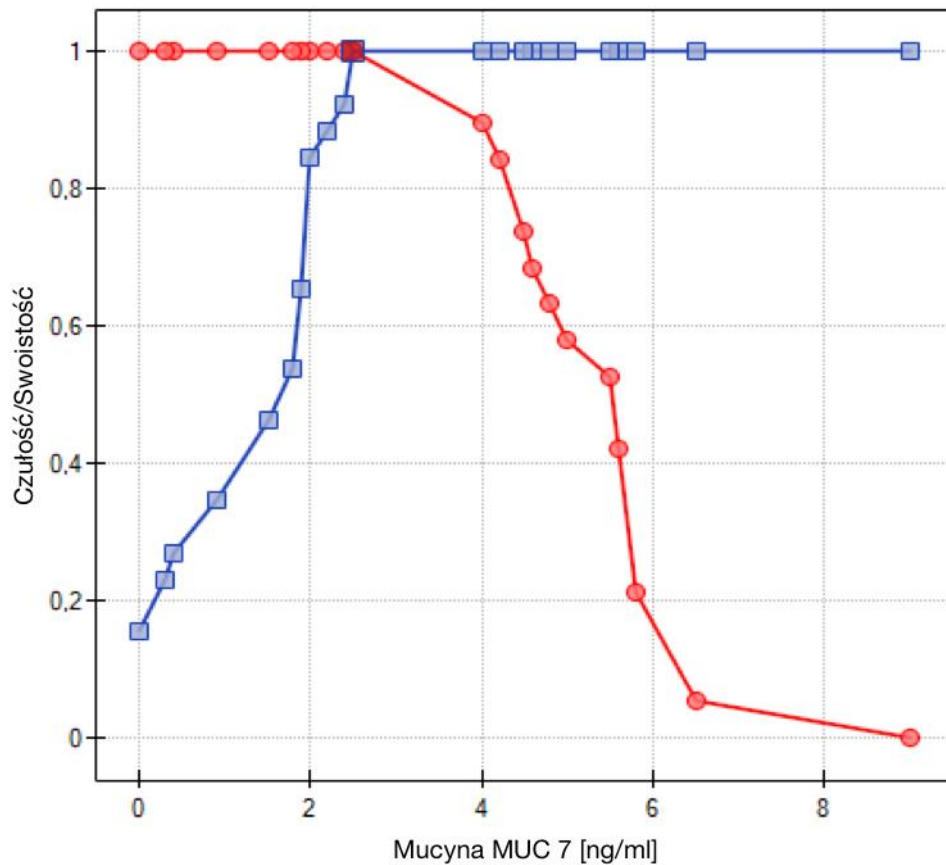
* oznaczono różnicę istotną statystycznie wartości średniej MUC7 ($p < 0,0001$)



Rycina 16. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości MUC7 w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) ora w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

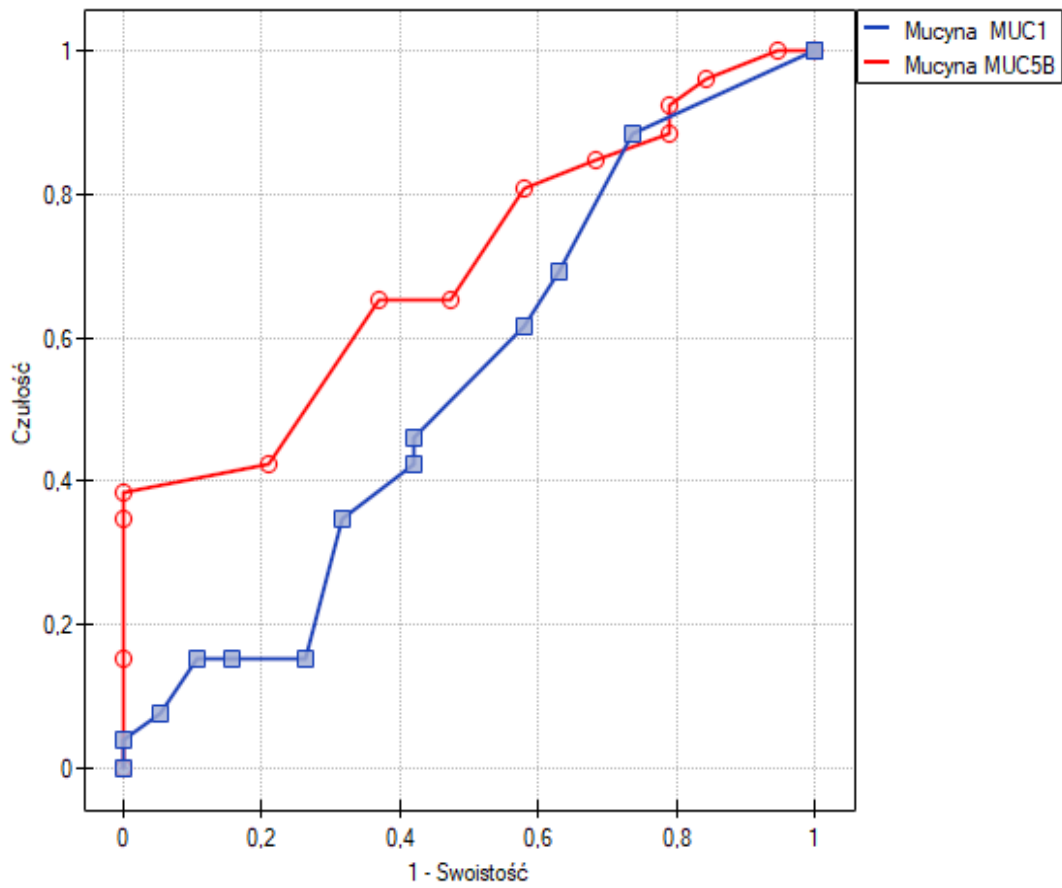


Rycina 17. Krzywa ROC dla uzyskanych wyników oznaczeń poziomów MUC7 w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy i grupy 2 (z próchnicą zębów)).

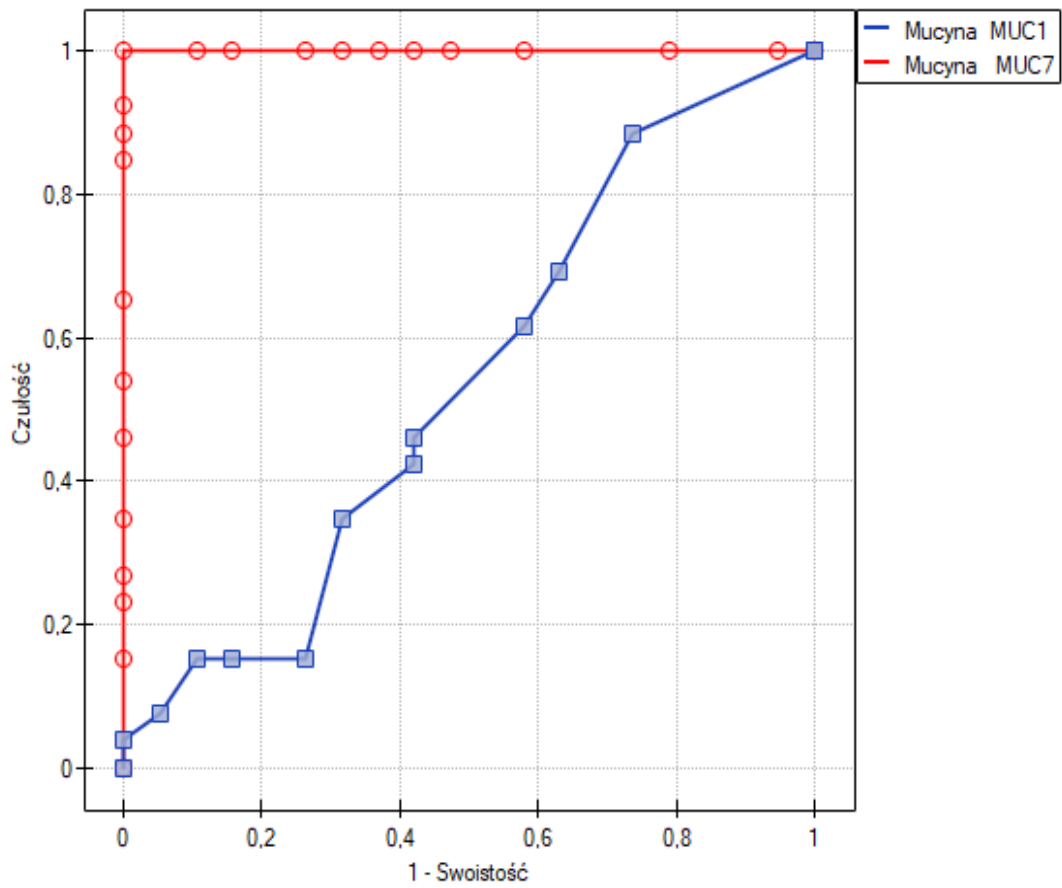


- Krzywa swoistości dla poszczególnych wartości mucyny MUC7
- Krzywa czułości dla poszczególnych wartości mucyny MUC7
- Punkt odcięcia cut off dla wartości mucyny MUC7 – 2,5 ng/ml

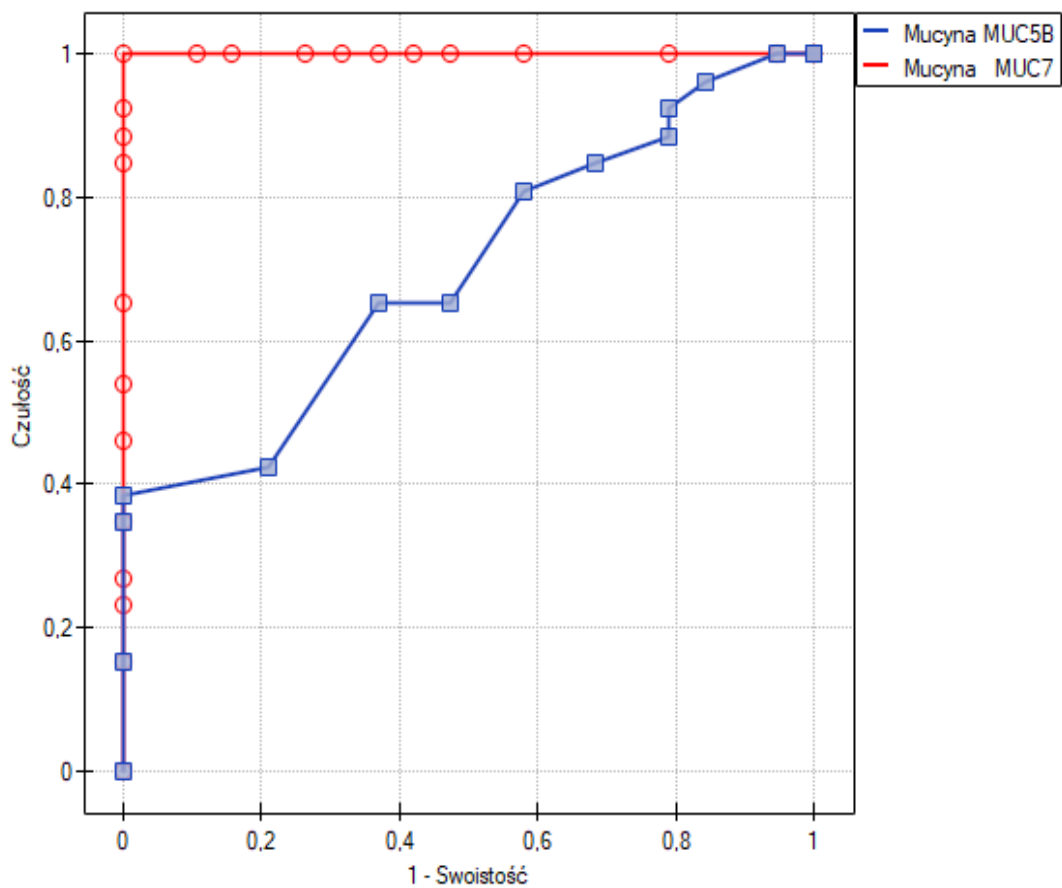
Rycina 18. Czułość/swoistość dla poszczególnych wyników MUC7 uzyskanych w ślinie pacjentów grupy 1(wolnych od próchnicy i grupy 2 (z próchnicą zębów). Wartość graniczna wynosi 2,5 ng/ml.



Rycina 19. Wykresy krzywych ROC dla poziomów MUC1 i MUC5B (pola pod wykresami MUC1 i MUC5B – AUC wynoszą odpowiednio: 0,537; 0,699)



Rycina 20 . Wykresy krzywych ROC dla poziomów MUC1 i MUC7 (pola pod wykresami MUC1 i MUC7 – AUC wynoszą odpowiednio: 0,537; 1,0)



Rycina 18. Wykresy krzywych ROC dla poziomów MUC5B i MUC7 (pola pod wykresami MUC5B i MUC7 – AUC wynoszą odpowiednio: 0,699; 1,0)

V. DYSKUSJA

Próchnica zębów jest chorobą przewlekłą, stanowi postępujący proces patologiczny, który polega na lokalnym rozpuszczaniu hydroksyapatytu i następnie, poprzez różne stadia destrukcji tkanek, może prowadzić do całkowitego zniszczenia zęba. Szacuje się, że ten lokalny proces stanowi najczęstszą przyczynę utraty zębów u dorosłych [94, 96]. Ponadto wskazuje się, że biofilm bakteryjny inicjujący powyższe zmiany może także powodować choroby ogólnoustrojowe [87]. Dane te potwierdzają znaczenie i aktualność następującego stwierdzenia Seymour i wsp. [108] sprzed 10 lat: „Nie można mieć dobrego zdrowia ogólnego bez dobrego zdrowia jamy ustnej”. Globalne badania populacyjne dokumentują, że próchnica zębów występuje u ok. 2,4 miliarda ludzi na świecie, stanowiąc najczęstszą chorobę cywilizacyjną [98, 106].

W wieloczynnikowym etiopatogenetycznym procesie próchnicowym istotną rolę odgrywa ślina i zawarte w niej białka - głównie niemucynowe o wysokim stopniu homologii łańcucha polipeptydowego i mucyny [78, 101, 116]. Ślina stanowi naturalne, płynne środowisko jamy ustnej i jest wydzieliną w głównej mierze pochodzącą z dużych parzystych gruczołów, tj. ślinianek podżuchwowych, podjęzykowych i przyusznych. W mniejszym stopniu wytwarzana jest przez drobne gruczoły zlokalizowane w błonie śluzowej jamy ustnej. Ponadto, w skład śliny całkowitej wchodzi także niewielka ilość płynu dziąsłowego, przesięku surowicy, wydzieliny z gardła i nosa, złuszczone komórki nabłonka i ich fragmenty, drobnoustroje (bakterie, wirusy, grzyby) oraz leukocyty. Blisko 90% wydzieliny pochodzi z dużych gruczołów ślinowych, pozostałą część produkują małe gruczoły rozmieszczone we wszystkich częściach błony śluzowej z wyjątkiem dziąseł i przedniej części podniebienia twardego. W prawidłowych warunkach dzienna produkcja śliny u osób dorosłych waha się w zakresie 0,5-1, a nawet 1,5 l, z czego tylko 2-10% wytwarzane jest w porze nocnej. Ślina spoczynkowa wydzielana jest w czasie od 0,3 do 0,5 ml/min. Podczas snu wydzielanie może obniżyć się nawet do 0,05ml/min. Uważa się, iż za wydzielanie śliny w okresie spoczynku w 65% odpowiada ślinianka podżuchwowa, podczas gdy ślinianka przyuszna wydziela 20%, ślinianka podjęzykowa 7-8%, i gruczoły mniejsze również 7-8% całkowitej śliny. Ślina całkowita w

99% zawiera wodę. Pozostałe 1% stanowią związki organiczne, takie jak: białka, niebiałkowe substancje azotowe, węglowodany, lipidy, hormony oraz substancje nieorganiczne: kationy (sodowy, potasowy, wapniowy, magnezowy) i aniony (chlorkowy, fluorkowy, jodowy, wodorowęglanowy, fosforanowe). Właściwości fizyczne i chemiczne śliny zapewniają jej wielofunkcjonalność, co wyraża się oddziaływaniem buforującym, pozwalającym na utrzymywanie pH w jamie ustnej w zakresie 6,75-7,25 i udziale w termostabilizacji dla zachowania temperatury 35-36°C. Funkcję buforową pełnią w ślinie dwa układy odpowiedzialne za utrzymanie równowagi kwasowo-zasadowej poprzez neutralizację kwasów organicznych produkowanych przez kariopatogeny, a także dostarczanych wraz z pożywieniem [49, 65, 93]. Głównym układem jest system buforowy - kwas węglowy/wodorowęglan, który działa według następującego wzoru:



Stężenie dwuwęglanu w ślinie spoczynkowej jest na poziomie ok. 1 µmol. Natomiast w ślinie stymulowanej wzrasta nawet do 60 µmol. W kwaśnym środowisku jony wodorowęglanowe wiążą jony H⁺ chroniąc tym samym przed obniżeniem wartości pH jamy ustnej. Równowaga tego układu jest zachowana wskutek przesunięcia wzoru w lewą stronę, co prowadzi do uwolnienia dwutlenku węgla (CO₂) w postaci gazu. Istotą tego systemu jest zatem przejście od formy rozpuszczalnej (HCO₃⁻) do gazowej (CO₂).

Jony fosforanowe tworzą drugi układ buforowy - kwas fosforowy/fosforan, który funkcjonuje zgodnie ze wzorem:



Stężenie fosforanów w ślinie niestymulowanej wynosi 10 µmol. Jony te wykazują zdolność buforową w przedziale pH 6-8. Stężenie jonów wodorowęglanowych, w przeciwieństwie do fosforanowych, wzrasta wraz z szybkością wydzielania śliny, co sprawia, że wodorowęglany odpowiadają za ok. 80% pojemności buforowej śliny stymulowanej i ok. 50% pojemności śliny spoczynkowej [25, 29, 116].

Ponadto, niektóre substancje azotowe zawarte w ślinie, takie jak mocznik również oddziałują buforująco. Mocznik, pochodzący z metabolizmu gruczołów ślinowych lub z

surowicy jest źródłem amoniaku, który wiąże nadmiar jonów wodorowych. Źródłem amoniaku mogą być także aminokwasy podlegające dezaminacji.

Jednocześnie ślina spełnia rolę ochronną, odżywczą, trawienną, a także wydalniczą. Funkcja ochronna śliny związana jest z jej właściwościami reologicznymi, zależy od konsystencji i zawartości glikoprotein. Ponadto ślina zwilża pokarm, umożliwia formowanie i połknięcie kęsa pokarmowego. Pozwala także na mechaniczne oczyszczanie jamy ustnej i usuwanie resztek pokarmowych, złuszczonej komórki nabłonka oraz drobnoustrojów do przewodu pokarmowego [30, 45, 48].

Funkcja odżywcza związana jest głównie ze składnikami mineralnymi śliny, w szczególności jonów wapnia, fluoru i fosforanów, które biorą udział w dojrzewaniu szkliwa, hamują demineralizację, a także przyczyniają się do remineralizacji wczesnych zmian próchnicowych. Ślina przy pH 5,5 stanowi roztwór nasycony jonami wapnia i fosforanowymi, co umożliwia ich wędrówkę i wbudowywanie się w strukturę hydroksyapatytu. Zapoczątkowanie procesu próchnicowego związane jest z bakteryjną fermentacją węglowodanów, czego skutkiem jest powstawanie kwasów organicznych, przede wszystkim kwasu mlekowego, co powoduje obniżenie pH. Początkowo jony wodoru wychwytywane są przez składowe systemy buforowe. Dochodzi do obniżenia pH poniżej wartości krytycznej, tj. 5,5. Ślina wówczas staje się roztworem nienasyconym, co powoduje wypłukiwanie się jonów wapniowych i fosforanowych z hydroksyapatytów. Efektem tego jest demineralizacja szkliwa. Równowaga pomiędzy tymi procesami zapewnia niezmienną strukturę szkliwa. Ponadto, podczas postępującego dojrzewania szkliwa dochodzi do uwalniania z hydroksyapatytów jonów odpowiedzialnych za wzrost rozpuszczalności kryształów w kwasach. Są to pierwotne zanieczyszczenia szkliwa, takie jak sód, magnez, węglany. Wbudowywanie jonów wapnia, fluoru i fosforu powoduje powstanie opornych na kwasy fluoroapatytów w miejsce pierwotnych kryształów hydroksyapatytów. Na podobnej zasadzie odbywa się proces remineralizacji wczesnych zmian próchnicowych [97, 98].

Funkcja trawienna śliny związana jest z występowaniem w niej białka amylazy, która stanowi prawie połowę całkowitej zawartości białek w ślinie. Powyższy enzym odpowiada za zapoczątkowanie trawienia skrobi w jamie ustnej. Cukier ten ulega rozkładowi do glukozy, maltozy i maltriozy.

Ostatnio uznaje się, że bardzo ważną rolę w patogenezie próchnicy zębów spełniają niemucynowe białka o wysokim stopniu homologii łańcucha polipeptydowego. Najważniejsze z nich to: białka bogate w prolinę (PRP), cystatyny, stateryna i histatyny.

Białka bogate w prolinę (PRP) stanowią ok. 70% wszystkich białek ludzkiej śliny i charakteryzują się wysoką zawartością proliny 25-40% [22, 28, 39, 66, 75, 90]. Aminokwas ten zapewnia unikatową strukturę tych protein, gdyż prolina zapobiega tworzeniu się struktury trzeciorzędowej cząsteczki tego białka. W ostatnich latach wskazuje się na szczególne znaczenie w patogenezie próchnicy zębów kwaśnych białek bogatych w prolinę (APRP), które stanowią ok. 30% wszystkich białek śliny. W czystej postaci otrzymano cztery kwaśne PRP: APRP1, APRP2, APRP3 i APRP4, przy czym APRP1 i APRP2 są prekursorami pozostałych kwaśnych PRP – APRP3 i APRP4, które powstają w efekcie proteolitycznego rozkładu, przy udziale śliniankowej proteazy, a także kalikreiny ślinowej i trombiny. APRP1 i APRP2 są prawie identyczne (różnią się jedynie podstawieniem reszt aminokwasowych w pozycji 4 i 50), zatem prezentują izoformy [13, 19, 47, 76]. Ich strukturę stanowi łańcuch polipeptydowy o długości 150 aminokwasów, zawierający dwie funkcjonalnie różniące się domeny. N-terminalna domena o długości 30 aminokwasów, zawiera specyficzne aminokwasy: fosfoseryny oraz reszty kwasu asparginowego i charakteryzuje się zdolnością adsorpcji do hydroksyapatytu, wiązania z jonami wapnia oraz współtworzenia błonki nabytej. Domena C-terminalna o długości 120 aminokwasów zawiera wysoką koncentrację proliny, glicyny oraz kwasu glutaminowego i pośredniczy w adherencji bakterii jamy ustnej do szkliwa zębów. Z kolei APRP3 i APRP4 stanowią łańcuchy polipeptydowe o długości 106 aminokwasów, które powstają z APRP1 i APRP2 w wyniku proteolitycznego rozkładu. Z badań Szkaradkiewicz-Karpińskiej i wsp. [118] wynika, że zwiększone poziomy APRP1/2 mogą współdziałać w nasilaniu próchnicy zębów u dorosłych.

Z kolei cystatyny należą do inhibitorów proteinaz cysteinowych i uczestniczą w kontrolowaniu aktywności proteaz ślinowych. Jednocześnie posiadają zdolność do interakcji z powierzchnią zębów, biorą udział w tworzeniu błonki nabytej. Ponadto łagodzą przebieg zapaleń w jamie ustnej poprzez hamowanie bakteryjnych i tkankowych proteinaz cysteinowych [22, 28, 135].

Stateryna jest małą fosfoproteiną ślinową. Wskazuje się, że białko to oddziałuje elektrostatycznie z kationami wapnia na powierzchni hydroksyapatytu. W następstwie tego oddziaływania stateryna może łączyć się z powierzchnią szkliwa i uczestniczyć w procesach

remineralizacji oraz hamowania tworzenia kamienia nazębnego [28, 135]. Jednocześnie posiada znaczące właściwości „poślizgowe”, co ogranicza szkodliwe skutki patologicznej siły żucia, przede wszystkim starcia zębów i powstawania mikropęknięć szkliwa.

Histatyny są małymi, niejednorodnymi polipeptydami o dużej zawartości histydyny i tyrozyny. Wykazują działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Posiadają zdolność do interakcji z powierzchnią zębów poprzez adsorpcję do hydroksyapatytu. Biorą także udział w utrzymaniu równowagi wapniowo-fosforanowej w jamie ustnej. Współuczestniczą w buforowaniu i utrzymaniu stałego pH śliny [18, 28, 52, 135].

Innymi białkami śliny są mucyny, przede wszystkim MUC1, MUC5B i MUC7. Dobrze już udokumentowano, że mucyny stanowią istotną komponentę odporności wrodzonej, która chroni powierzchnię śluzówki jamy ustnej przed fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi szkodliwymi czynnikami środowiskowymi. Jednocześnie wskazuje się, że ślinowe mucyny, chroniąc szkliwo zębów mogą zapobiegać próchnicy [11, 17, 35, 68, 70, 88].

Celowe są zatem badania podjęte w tej pracy dla wyjaśnienia, czy rozwój próchnicy zębów u dorosłych jest związany z zaburzeniami ilościowymi zawartości mucyn w ślinie spoczynkowej.

Przeprowadzone w tej pracy oznaczenia ilościowe zawartości MUC1, MUC5B i MUC7 w ślinie wyselekcjonowanych na podstawie badania stomatologicznego pacjentów - wolnych od próchnicy (grupa 1) i z próchnicą zębów (grupa 2), pozwalają na zobiektywizowaną ocenę uzyskanych wyników w kontekście procesu próchnicowego. Grupa 1 obejmowała osoby zdrowe, wolne od próchnicy (PUWZ = 0, P = 0). Grupę 2 stanowili pacjenci z ciężką próchnicą zębów, u których stwierdzano $PUWZ > 13,9$ (śr. $PUWZ = 16,11 \pm 2,3$; $P = 6,5 \pm 2,2$) wg kryteriów WHO [130]. Powyższy wskaźnik wyraża dynamizm toczącej się próchnicy. Ocena wartości PUWZ i liczby P pozwala zatem na zobiektywizowaną analizę uzyskanych wyników w kontekście przebiegającego procesu próchnicowego.

Jednocześnie dla kompleksowej oceny zdrowia jamy ustnej dodatkowo u wszystkich badanych określono wskaźnik Pl.I i wskaźnik dziąsłowy GI. Przeprowadzenie tych badań umożliwiło zanalizowanie występującej próchnicy w kontekście higieny jamy ustnej. Wiadomym jest, że stan higieny jamy ustnej odgrywa istotne znaczenie w zapobieganiu próchnicy zębów. Wskaźnik Pl.I stanowi wykładnik obecności i grubości płytki nazębnej,

zatem informuje o ryzyku powstawania próchnicy. Natomiast GI informuje o braku lub obecności stanu zapalnego dziąseł. Wskaźnik Pl.I jest bezpośrednio zależny od zabiegów higienizacyjnych jamy ustnej. Zabiegi te mogą być profesjonalne, tzn. specjalistyczne oraz nieprofesjonalne, które powinny być wykonywane dla utrzymania prawidłowej higieny jamy ustnej. Obejmują szczotkowanie zębów oraz zabiegi dodatkowe. Celem szczotkowania zębów jest usuwanie resztek pokarmowych, płytki nazębnej i innych złogów, a także masaż dziąseł. Natomiast, zabiegi dodatkowe, takie jak nitkowanie przestrzeni międzyczębowych, oczyszczanie powierzchni zębowych, irygacje wodne, a także stosowanie płukanek umożliwiają usuwanie płytki nazębnej i resztek pokarmowych z miejsc trudno dostępnych dla szczotkowania zębów.

W przeprowadzonych badaniach, w grupie 1 i w grupie 2 wskaźnik Pl.I średnio wynosił $0,97 \pm 0,148$ dla grupy 1 i $2,46 \pm 0,57$ dla grupy 2. Natomiast wskaźnik GI średnio wynosił $0,82 \pm 0,35$ dla grupy 1 oraz $2,02 \pm 0,49$ dla grupy 2. Wskaźnik Pl.I w grupie 1 odpowiadał kryteriom dobrego stanu higieny jamy ustnej, natomiast GI – łagodnego zapalenia dziąseł. Z kolei w grupie 2 średnia wartość Pl.I wskazywała na zły stan higieny jamy ustnej, natomiast średnia wartość GI odpowiadała umiarkowanemu zapaleniu dziąseł. Te dane dodatkowo charakteryzują wyłonione dwie grupy pacjentów, czyli grupę 1- pacjentów wolnych od próchnicy zębów oraz grupę 2 - z rozpoznaną próchnicą zębów. Pacjenci obu grup nie zgłaszali nadmiernego spożywania węglowodanów, podawali podobne nawyki żywieniowe. Specyficzne nawyki żywieniowe, w tym nadmierne spożywanie węglowodanów nie mogły zatem mieć bardziej istotnego wpływu na występowanie próchnicy w grupie 2. Natomiast stwierdzony dobry stan higieny jamy ustnej w grupie 1 może dowodzić znaczenia nawyków higienizacyjnych w zapobieganiu próchnicy zębów.

Dla oznaczeń badanych mucyn zastosowano wysoko czuły i wysoko specyficzny komercyjny test ELISA.

Analizując poziomy MUC1 wykazano ich bardzo niską zawartość w ślinie. Średnia wartość MUC1 w grupie 1 wynosiła $0,18 \pm 0,15$ ng/ml i w grupie 2 - $0,21 \pm 0,15$ ng/ml, przy czym nie stwierdzono różnicy statystycznej pomiędzy grupami. Wskazywać to może na brak znaczenia MUC1 w rozwoju próchnicy zębów. Wniosek ten pozostaje w sprzeczności z wcześniejszą pracą, wykazującą zwiększony poziom tej mucyny w ciężkiej próchnicy zębów [37]. Jednak w cytowanej pracy zastosowano do oznaczeń tej mucyny własny test

immunoenzymatyczny, który nie był standaryzowany. Dlatego powyższych wyników nie można odnieść do uzyskanych w tej pracy.

Z kolei oznaczając poziomy ślinowych MUC5B i MUC7 w grupie 1 średnie wartości wynosiły odpowiednio: $0,63 \pm 0,36$ ng/ml oraz $5,48 \pm 1,19$ ng/ml. Natomiast w grupie 2 stwierdzone poziomy MUC5B i MUC7 wynosiły odpowiednio: $0,38 \pm 0,32$ ng/ml oraz $1,4 \pm 0,86$ ng/ml. Poziomy tych mucyn były statystycznie wyższe w grupie 1 niż w grupie 2.

Jednocześnie, analizując uzyskane dane w oparciu o wykreślone krzywe ROC wykazano zależność pomiędzy oznaczonymi wartościami MUC5B, jak również MUC7 i stwierdzoną próchnicą zębów. Jednak, tylko dla MUC7 otrzymano optymalną wartość graniczną - cut-off (wynoszącą 2,5 ng/ml), powyżej której uzyskiwane wyniki pozostawały w zakresie normy, tzn. charakteryzowały pacjentów wolnych od próchnicy zębów. Te dane zostały aktualnie opublikowane [119]. Powyższy parametr może być zatem przydatny klinicznie w szybkim rozpoznawaniu zagrożenia rozwoju próchnicy zębów.

Aktualnie w diagnostyce ryzyka próchnicy stosowane są szybkie testy bazujące na oznaczeniach właściwości fizyko-chemicznych śliny, jak pH, lepkość, stan nawodnienia oraz zdolności buforującej. Jednak z badań statystycznych wynika, że żaden z powyższych parametrów nie jest charakterystyczny tylko dla próchnicy [91, 95, 96]. Wskazuje się również na znaczenie oznaczeń totalnej zdolności antyoksydacyjnej (TAC – total antioxidant capacity) śliny w diagnostyce aktywnej próchnicy [1]. Jednak stwierdzono, że wyniki powyższego testu są zależne od płci, zatem ich wartość interpretacyjna jest ograniczona. Dlatego oznaczanie poziomu MUC7 w ślinie może być szczególnie przydatne w rozpoznawaniu ryzyka próchnicy zębów.

Jednocześnie wskazuje się, że MUC7 jest mucyną, która głównie pozostając w ślinie jamy ustnej, bezpośrednio oddziałuje przeciwdrobnoustrojowo, preferencyjnie przeciwko *Streptococcus mutans* [36, 38]. Ponadto wykazano w badaniach in vitro, że mucyna ta w następstwie aktywności przeciwbakteryjnej redukuje tworzony przez *Streptococcus mutans* biofilm nazębny [128]. Przypuszcza się, że ten odmienny od MUC5B mechanizm działania MUC7 polega na jej bezpośredniej interakcji z drobnoustrojami jamy ustnej. MUC5B charakteryzuje się wysokim powinowactwem do hydroksyapatytu szkliwa zębów, a także

oddziałuje przeciwbakteryjnie [35, 69]. Obie w/w mucyny mogą mieć zatem istotne znaczenie w zapobieganiu próchnicy zębów. MUC7 i MUC5B najprawdopodobniej ograniczają kolonizację zębów przez bakterie – MUC7 poprzez bezpośrednią ich inaktywację natomiast MUC5B poprzez blokowanie adherencji bakterii do szkliwa. Uzyskane w tej pracy wyniki pozwalają więc wnioskować, że zmniejszone poziomy ślinowych MUC5B i MUC7 sprzyjają rozwojowi próchnicy zębów u dorosłych. Ponadto oznaczane wartości MUC7 w ślinie mogą być przydatne w ocenie ryzyka tej choroby. Wniosek ten wspierają wcześniejsze badania Banderas-Tarabay i wsp. [10], którzy wykazali u pacjentów z wysokim PUWZ znaczną redukcję lub brak MUC5B i MUC7 w porównaniu do pacjentów z niskim PUWZ. W kontraście do tych wyników pozostają dane publikowane przez Gabryel-Porowska i wsp. [37]. W cytowanej publikacji nie stwierdzono różnic statystycznych pomiędzy poziomami ślinowej MUC5B, jak również MUC7 u pacjentów z bardzo niską (stanowiąca grupę kontrolną) i umiarkowaną intensywnością próchnicy zębów. Jednak, grupa kontrolna liczyła jedynie osiem osób i nie obejmowała pacjentów wolnych od próchnicy zębów, czego efektem był bardzo szeroki i podobny zakres uzyskiwanych poziomów obu mucyn. Ponadto, oznaczane ich wartości minimalne mogą budzić wątpliwości, gdyż były ponad dwukrotnie niższe od minimalnych koncentracji MUC5B i MUC7 wykrywalnych w zastosowanych przez w/w autorów testach. Dlatego, wyniki te trudno odnieść do badań prezentowanych w tej pracy.

Przedstawione w tej pracy dane wskazują, że ślinowa MUC1 nie odgrywa znaczenia patogenetycznego w próchnicy zębów. Natomiast, rozwój próchnicy zębów może być związany z obniżeniem koncentracji ślinowych mucyn – MUC5B i MUC7. Jednocześnie stwierdzony poziom MUC7 2,5 ng/ml może stanowić ważny parametr diagnostyczny w ocenie ryzyka próchnicy. Ponadto uzyskane wyniki w zakresie MUC5B i MUC7 mają znaczenie dla praktyki stomatologicznej, gdyż uzasadniają ich zastosowanie w preparatach przeciwpróchnicowych.

VI. WNIOSKI

1. Wyniki oznaczeń poziomów mucyny błonowej – MUC1 w ślinie pacjentów wolnych od próchnicy i z próchnicą zębów nie różnią się statystycznie, zatem najprawdopodobniej mucyna ta nie odgrywa znaczenia patogenetycznego w rozwoju próchnicy zębów.
2. Wyniki oznaczeń poziomów mucyny – MUC5B w ślinie osób wolnych od próchnicy są statystycznie wyższe niż u pacjentów z próchnicą zębów, co może wskazywać na związek patogenetyczny zmniejszonych poziomów MUC5B z tą chorobą.
3. Wyniki oznaczeń poziomów mucyny - MUC7 w ślinie osób wolnych od próchnicy są istotnie wyższe niż u pacjentów z próchnicą zębów, co może wskazywać na związek patogenetyczny zmniejszonych poziomów MUC7 z tą chorobą.
4. Uzyskana statystycznie optymalna wartość graniczna dla MUC7 (wynosząca 2,5 ng/ml), powyżej której nie stwierdzono próchnicy, może stanowić nowy parametr kliniczny w ocenie ryzyka próchnicy zębów.

VII. STRESZCZENIE

„Ocena występowania białek mucynowych w ślinie pacjentów z próchnicą zębów”

Próchnicę zębów uznaje się za chorobę cywilizacyjną, będącą najczęstszą przyczyną utraty zębów wśród osób dorosłych. Istotne znaczenie dla powstania i rozwoju procesu próchnicowego odgrywa ślina i jej składniki. Bardzo ważnymi składnikami śliny są mucyny, które poprzez adsorpcję do szkliwa mogą mieć udział w zapobieganiu próchnicy zębów. Aktualnie wyróżnia się: heterogenną grupę ludzkich mucyn ślinowych, przy czym obecność MUC1, MUC5B, MUC7 a także MUC4 i MUC19 wykazywano w ślinie. MUC5B, MUC7 i MUC19 reprezentują podgrupę mucyn wydzielniczych, natomiast MUC1 i MUC4 stanowią mucyny błonowe, które w postaciach rozpuszczalnych mogą być wykrywane w ślinie. Wiele jest danych wskazujących na potencjalne znaczenie mucyn ślinowych, a zwłaszcza MUC5B i MUC7 w ochronie przed próchnicą zębów. Jednak, nadal nie stwierdzono, czy występowanie próchnicy zębów u dorosłych jest związane z zaburzeniami ilościowymi tych glikoprotein w ślinie. Celem niniejszej pracy było wyjaśnienie powyższego zagadnienia w oparciu o następujące zadania badawcze :

1. Ocena występowania mucyny błonowej – MUC1 w ślinie dorosłych osób wolnych od próchnicy zębów
2. Ocena występowania mucyn wydzielniczych – MUC5B i MUC7 w ślinie dorosłych osób wolnych od próchnicy zębów
3. Ocena występowania mucyny błonowej – MUC1 w ślinie dorosłych osób z próchnicą zębów
4. Ocena występowania mucyn wydzielniczych – MUC5B i MUC7 w ślinie dorosłych osób z próchnicą zębów.

Badania przeprowadzono u 120 dorosłych osób w wieku od 25 do 40 lat. Wyboru pacjentów do poszczególnych grup badawczych dokonano po przeprowadzeniu badania stomatologicznego w oparciu o przyjęte kryteria doboru badanych. Wyłoniono dwie grupy badawcze. Grupę 1, liczącą 19 osób (25-37 lat; średnia wieku $29,42 \pm 3,71$ lat; 9 mężczyzn i 10

kobiet) stanowili pacjenci wolni od próchnicy zębów. Grupę 2, obejmującą 26 osób (25-40 lat; średnia wieku $32 \pm 5,74$ lata; 13 mężczyzn i 13 kobiet) stanowili pacjenci z próchnicą zębów. Do badań zostali zakwalifikowani pacjenci ogólnie zdrowi. Ponadto kryteriami wykluczenia z badań było rozpoznanie grzybicy jamy ustnej, choroby przyzębia lub bruksizmu, obecność uzupełnień protetycznych, a także palenie papierosów. W okresie 3 tygodni poprzedzających badanie pacjenci nie byli poddawani profesjonalnym zabiegom higienizacyjnym, jak również nie stosowali płukanek doustnych przeciwbakteryjnych.

W klinicznym badaniu stomatologicznym, oznaczano wskaźnik intensywności próchnicy (PUWZ), wskaźnik dziąsłowy (GI) oraz wskaźnik płytki nazębnej (PI.I). Materiał do badań stanowiła pełna ślina spoczynkowa, pobierana w ilości około 2 ml do jałowych pojemników. Z próbek śliny poprzez homogenizację i wirowanie uzyskiwano klarowne supernatanty, które kolekcjonowano i przechowywano w temp. -80°C . Mucyny ślinowe oznaczano ilościowo metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Poziomy badanych mucyn analizowano statystycznie z użyciem krzywych ROC.

Na podstawie uzyskanych wyników, wysunięto następujące wnioski:

1. Wyniki oznaczeń poziomów mucyny błonowej – MUC1 w ślinie pacjentów wolnych od próchnicy i z próchnicą zębów nie różnią się statystycznie, zatem najprawdopodobniej mucyna ta nie odgrywa znaczenia patogenetycznego w rozwoju próchnicy zębów.
2. Wyniki oznaczeń poziomów mucyny – MUC5B w ślinie osób wolnych od próchnicy są statystycznie wyższe niż u pacjentów z próchnicą zębów, co może wskazywać na związek patogenetyczny zmniejszonych poziomów MUC5B z tą chorobą.
3. Wyniki oznaczeń poziomów mucyny - MUC7 w ślinie osób wolnych od próchnicy są istotnie wyższe niż u pacjentów z próchnicą zębów, co może wskazywać na związek patogenetyczny zmniejszonych poziomów MUC7 z tą chorobą.
4. Uzyskana statystycznie optymalna wartość graniczna dla MUC7 (wynosząca 2,5 ng/ml), powyżej której nie stwierdzono próchnicy, może stanowić nowy parametr kliniczny w ocenie ryzyka próchnicy zębów.

VIII. SUMMARY

„Manifestation of mucin in saliva of patients with dental caries”

Dental caries is considered a lifestyle disease and the most common cause for tooth loss in adults. Saliva and its ingredients play an important role for the initiation and development of caries process. Mucins are very important components of saliva and by adsorption to the enamel may play a role in caries prevention. Nowadays, a heterogenous group of salivary mucins is distinguished; MUC1, MUC5B, MUC7, as well as MUC4 and MUC19 have been observed in saliva. MUC5B, MUC7 and MUC19 constitute a subgroup of secretory mucins, whereas MUC1 and MUC4 are membrane-bound mucins which, if they are in their soluble forms, can be detected in saliva. Several data indicate the potential significance of salivary mucins, particularly MUC5B and MUC7 in caries prevention. However, it has not been determined whether the incidence of caries in adult patients is related to quantitative disturbances affecting these salivary glycoproteins. The aim of the thesis was to clarify this issue on the basis of the following research tasks:

1. Evaluation of membrane-bound mucin MUC1 levels in saliva in adult caries-free individuals
2. Evaluation of secretory mucin MUC5B and MUC7 levels in saliva in adult caries-free individuals
3. Evaluation of membrane-bound mucin MUC1 levels in adult caries-affected individuals
4. Evaluation of secretory mucin MUC5B and MUC7 levels in adult caries-affected individuals.

120 adult patients aged 25-40 were included in the study. Participants were classified into particular study groups after dental examination on the basis of previously selected criteria. Two study groups were distinguished. Group 1 which included 19 caries-free participants (25-37 years of age; mean value for age: 29.42 ± 3.71 years; 9 males and 10 females). Group 2 included 26 participants affected by caries (25-40 years of age; mean value for age 32 ± 5.74 years; 13 males and 13 females). Only patients with no systemic health disorders were included in the study. Other exclusion criteria included: oral fungal infection, periodontal disease,

bruxism, presence of prosthetic restorations and smoking. The patients did not undergo professional oral hygiene procedures within the three weeks preceding the study. They also abstained from using anti-bacterial mouthrinses.

The following indices were calculated on the basis of dental clinical examination: DMFT index, Gingival Index (GI), and Plaque Index (PI.I). Full unstimulated saliva constituted the study material. Approximately 2 ml of saliva was collected using sterile tubes. The specimens were homogenized and centrifuged. Clear supernatants were collected and stored at -80°C . The levels of salivary mucins were assessed quantitatively using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). ROC curves were used for statistical analysis of studied mucin levels.

The following conclusions were drawn from the study:

1. The results of salivary membrane mucin – MUC1 quantification in caries-free and caries-affected individuals do not differ in a statistically significant manner; therefore, this type of mucin does not play a role in caries pathogenesis.
2. The results of salivary mucin – MUC5B quantification in caries-free individuals are statistically significantly higher than in caries-affected individuals, which may indicate that there is a relationship between decreased MUC5B levels and caries pathogenesis.
3. The results of salivary mucin – MUC7 quantification are significantly higher in caries-free individuals, which may indicate that there is a link between decreased MUC7 levels and caries pathogenesis.
4. The optimal threshold value for MUC7 (2,5 ng/ml), above which caries was not observed, and which was calculated using statistical methods, may constitute a new clinical parameter in caries risk assessment.

IX. PIŚMIENICTWO

1. Ahmadi-Motamayel F., Goodarzi M.T., Mahdavinezhad A., Jamshidi Z., Darvishi M. Salivary and serum antioxidant and oxidative stress markers in dental caries. *Caries Res.* 2018; 52(6): 565-569.
2. Allaker R.P., Douglas C.W.I. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related disease. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2009; 33: 8-13.
3. Amerongen N.A., Bolscher J.G.M, Veerman E. Salivary Proteins: Protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res.* 2004; 38: 247-253.
4. Ashwin D., Ke V., Taranath M., Ramagoni N.K., Nara A., Sarpangala M. Effect of probiotic containing ice-cream on salivary Mutans Streptococci (SMS) levels in children of 6-12 years of age: a randomized controlled double blind study with six-months follow up. *J. Clin. Diagn. Res.* 2015, 9(2): ZC06-ZC09.
5. Attrill D.C., Ashley P.F. Occlusal caries detection in primary teeth: a comparison of DIAGNOdent with conventional methods. *Brit. Dent. J.* 2001; 190(8): 440-443.
6. Bader J.D., Shugars D.A., Bonito A.J. Systematic review of selected dental caries diagnostic and management methods. *J. Dent. Educ.* 2001; 65(10): 960-968.
7. Bafna H.P., Ajithkrishnan C.G., Kalantharakath T., Singh R.P., Kalyan P., Vathar J.B, Patel H.R. Effect of short-term consumption of amul probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* La5 and *Bifidobacterium Lactis* Bb12 on Salivary *Streptococcus mutans* count in high caries risk individuals. *Int. J. Appl. Basic Med. Res.* 2018, 8(2): 111-115.
8. Bagińska J., Stokowska W. Pulpal involvement-roots-sepsis index: a new method for describing the clinical consequences of untreated dental caries. *Med. Princ. Pract.* 2013; 22: 555-560.
9. Bagramian R.A., Garcia-Godoy F., Volpe A.R. The global increase in dental caries. A pending public health crisis. *Am. J. Dent.* 2009; 22(1): 3-8.
10. Banderas-Tarabay J.A., Zacarías-D'Oleire I.G., Garduño-Estrada R., Aceves-Luna E., González-Begné M. Electrophoretic analysis of whole saliva and prevalence of dental caries. A study in Mexican dental students. *Arch. Med. Res.* 2002; 33: 499-505.
11. Baughan L.W., Robertello F.J., Sarrett D.C., Denny P.A., Denny P.C. Salivary mucin as related to oral *Streptococcus mutans* in elderly people. *Oral Microbiol. Immunol.* 2000; 15: 10-14.

12. Bennick A., Chau G., Goodlin R. , Abcrams S., Tustian D., Madapallimattam G. The role of human salivary acidic proline-rich proteins in the formation of acquired dental pellicle in vivo and their fate after adsorption to the human enamel surface. *Arch. Oral Biol.* 1983; 28: 19-27.
13. Bennick A. Salivary proline- rich proteins. *Mol. Cell. Biochem.* 1982; 45: 83-99.
14. Berczyński P., Gmerek A., Buczkowska-Radlińska J. Diagnostyka próchnicy powierzchni stycznych- przegląd piśmiennictwa. *Pom. J. Life Sci.* 2015; 61(3): 295-302.
15. Bhattarai K.R., Kim H.-R., Chae H.-J. Compliance with saliva collection protocol in healthy volunteers: strategies for managing risk and errors. *Int. J. Med. Sci.* 2018; 15: 823-831.
16. Bolscher J.G., Groenink J.S., van der Kwaak J.S., van den Keijbus P.A., van 't Hof W., Veerman E.C., Nieuw Amerongen A.V. Detection and quantification of MUC7 in submandibular, sublingual, palatine, and labial saliva by anti-peptide antiserum. *J. Dent. Res.* 1999; 78(7): 1362-1369.
17. Buczkowska-Radlińska J., Pol J., Szmidt M., Bińczak-Kuleta A. Wpływ polimorfizmu genu MUC7 na stan uzębienia i higienę jamy ustnej u studentów Wydziału Stomatologii. *Postepy Hig. Med. Dośw.* 2012; 66: 204-209.
18. Campese M., Sun X., Bosch J.A., Oppenheim F.G., Helmerhorst E.J. Concentration and fate of histatins and acidic proline-rich proteins in the oral environment. *Arch. Oral Biol.* 2009; 54: 345-353.
19. Carlson D.M. Salivary proline-rich proteins: biochemistry, molecular biology, and regulation of expression. *Crit .Rev. Oral Biol. Med.* 1993; 4(3-4): 495-502.
20. Castagnola M., Picciotti P.M., Messana I., Fanali C., Fiorita A., Cabras T., Calo L., Pisano E., Passali G.C., Iavarone F., Paludetti G., Scarano E. Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.* 2011; 31: 347-357.
21. Caufield P.W., Schön C.N., Saraithong P., Li Y., Argimón S. Oral lactobacilli and dental caries: a model for niche adaptation in humans. *J. Dent. Res.* 2015; 94:110S-8S. doi:10.1177/0022034515576052.
22. Chroma S., Iwanicka-Grzegorek E. Antybakteryjne peptydy ślinowe – na podstawie piśmiennictwa. *Nowa Stomatol.* 2009; 4: 117-121.
23. Culp D.J., Robinson B., Cash M.N., Bhattacharyya I., Stewart C., Cuadra-Saenz G. Salivary mucin 19 glycoproteins: innate immune functions in *Streptococcus mutans*-induced caries in mice and evidence for expression in human saliva. *J. Biol. Chem.* 2015;290:2993-3008. doi:10.1074/jbc.M114.597906.

24. Cunha-Cruz J., Scott A., Rothen M., Mancl L., Brossel K., Berg J. Salivary characteristics and dental caries: evidence from general dental practices. *J. Am. Dent. Assoc.* 2013; 144(5): 31-40.
25. Dawes C., Pedersen A.M., Villa A., Ekström J., Proctor G.B., Vissink A., Aframian D., McGowan R., Aliko A., Narayana R., Sia Y.W., Joshi R.K., Jensen S.B., Kerr A.R., Wolff A. The functions of human saliva: a review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Arch. Oral Biol.* 2015; 60: 863-874.
26. DeLong E.R., DeLong D.M., Clarke-Pearson D.L. *Biometrics.* 1988; 44(3):837-845.
27. Hajian-Tilaki K.O., Hanley J.A., Joseph L., Collet J.P. A comparison of parametric and nonparametric approaches to ROC analysis of quantitative diagnostic tests. *Med. Decis. Making* 1997; 17(1): 94-102.
28. De Sousa-Pereira P., Amado F., Abrantes J., Ferreira R., Esteves P.J., Vitorino R. An evolutionary perspective of mammal salivary peptide families: Cystatins, histatins, statherin and PRPs. *Arch. Oral Biol.* 2013; 58 : 451-458.
29. Dodds M.W.J., Johnson D.A., Yeh C.K. Health benefits of saliva : a review. *J. Dent.* 2005; 33: 223-233.
30. Edgar W.M. Saliva and dental health. Clinical implications of saliva: Report of a consensus meeting. *Brit. Dent. J.* 1990; 169(3-4): 96-98.
31. Fabian T.K., Hermann P., Beck A., Fejerdy P., Fabian G. Salivary defence proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13: 4295-4320.
32. Featherstone J.D. The continuum of dental caries-evidence for a dynamic disease process. *J. Dent. Res.* 2004; 83C: 39-42.
33. Forssten S.D., Björklund M., Ouwehand A.C. Streptococcus mutans, caries and simulation models. *Nutrients* 2010; 2: 290-298.
34. Frencken J.E., de Amorim R.G., Faber J., Leal S.C. The Caries Assessment Spectrum and Treatment (CAST) index: rational and development. *Int. Dent. J.* 2011; 61(3): 117-123.
35. Frenkel E.S., Ribbeck K. Salivary mucins in host defense and disease prevention. *J. Oral Microbiol.* 2015; 7:29759. doi:10.3402/jom.v7.29759.
36. Frenkel E.S., Ribbeck K. Salivary mucins protect surfaces from colonization by cariogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015; 81: 332-338.
37. Gabryel-Porowska H., Gornowicz A., Bielawska A., Wójcicka A., Maciorkowska E., Grabowska Sz., Bielawski K. Mucin levels in saliva of adolescents with dental caries. *Med. Sci. Monit.* 2014; 20: 72-77.

38. Ge J., Catt D.M., Gregory R.L. *Streptococcus mutans* surface alpha-enolase binds salivary mucin MG2 and human plasminogen. *Infect. Immun.* 2004; 72: 6748-6752.
39. Gibbins H.L., Proctor G.B., Yakubov G.E., Wilson S., Carpenter G.H. Concentration of salivary protective proteins within the bound oral mucosal pellicle. *Oral Dis.* 2014; 20: 707-713.
40. Gibbins H.L., Yakubov G.E., Proctor G.B., Wilson S., Carpenter G.H. What interactions drive the salivary mucosal pellicle formation? *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2014; 120:184-192.
41. Gibbons R.J., Hay D.J. Adsorbed salivary acidic proline-rich proteins contribute to the adhesion of *Streptococcus mutans* JBP to apatitic surfaces. *J. Dent. Res.* 1989; 68: 1303-1307.
42. Gomez J., Tellez M., Pretty I.A., Ellwood R.P., Ismail A.I. Non-cavitated carious lesions detection methods: a systematic review. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 2013; 41(1): 54-66.
43. Gopinath V.K., Arzreanne A.R. Saliva as a diagnostic tool for assessment of dental caries. *Arch. Orofac. Sci.* 2006; 1: 57-59.
44. Gruner D., Paris S., Schwendicke F. Probiotics for managing caries and periodontitis: systematic review and meta-analysis. *J. Dent.* 2016, 48: 16-25.
45. Hall D.H. Ochronne i regeneracyjne funkcje ludzkiej śliny. *Quintessence* 1994; II (6): 403-405.
46. Hannig C., Hannig M. The oral cavity – a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. *Clin. Oral Invest.* 2009; 13(2): 123-139.
47. Hay D.I., Bennick A., Schlesinger D.H., Minaguchi K., Madapallimattam G., Schluckebier S.K. The primary structures of six human salivary acidic proline-rich proteins (PRP-1, PRP-2, PRP-3, PRP-4, PIF-s and PIF-f). *Biochem. J.* 1988; 255: 15-21.
48. Jankowska A.K., Waszkiel D., Kobus A., Zwierz K. Ślina jako główny składnik ekosystemu jamy ustnej. Część II. Mechanizmy odpornościowe. *Wiad. Lek.* 2007; LX (5-6): 253-257.
49. Jankowska A.K., Waszkiel D., Kowalczyk A. Ślina jako główny składnik ekosystemu jamy ustnej. Część I. Mechanizm wydzielania i funkcje. *Wiad. Lek.* 2007; 60(3-4): 148-154.
50. Kaczmarek E., Surdacka A., Matthews-Brzozowska T., Miśkowiak B. Digital image analysis and visualization of early caries changes in human teeth. *Mater. Sci. Pol.* 2005; 23(2): 551-558.

51. Kaczor-Urbanowicz K.E., Carreras-Presas C.M., Aro K., Tu M., Garcia-Godoy F., Wong D.T.W. Saliva diagnostics – current views and directions. *Exp. Biol. Med.* 2017; 242: 459-472.
52. Kamysz W., Okrój M., Łukasiak J., Kędzia A. Histatyny – białka ślinowe bogate w histydyne. *Nowa Stomatol.* 2004; 1(27): 43-45.
53. Kesimer M., Kilic N., Mehrotra R., Thornton D.J., Sheehan J.K. Identification of salivary mucin MUC7 binding proteins from *Streptococcus gordonii*. *BMC Microbiol.* 2009; 9: 163. doi: 10.1186/1471-2180-9-163.
54. Kianoush N., Adler C.J., Nquyen K.A., Browne G.V., Simonian M., Hunter N. Bacterial profile of dentine caries and the impact of pH on bacterial population diversity. *PLoS One* 2014; 9(3): e92940.
55. Klein H. Palmer C.E., Knutson J.W. Studies on dental caries. I. Dental status and dental needs of elementary school children. *Public Health Rep.* 1938 May 13; 53(19): 751-765.
56. Klein M.I., Hwang G., Santos P.H., Campanella O.H., Koo H. *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2015; 5:10. doi:10.3389/fcimb.2015.00010.
57. Knychalska-Karwan Z. Zbiór wskaźników stomatologicznych i niektórych testów oraz klasyfikacji. Wyd. Czelej Lublin 2004.
58. Kockanat A., Unal M. In vivo and in vitro comparison of ICDAS II, DIAGNOdent pen, CarieScan PRO and SoproLife camera for occlusal caries detection in primary molar teeth. *Eur. J. Paediatr. Dent.* 2017; 18(2): 99-104.
59. Kornman K.S. Diagnostic and prognostic tests for oral diseases: practical application. *J. Dent. Educ.* 2005; 69(5): 498-508.
60. Kruszyńska-Rosada M., Borysewicz-Lewicka M. Oznaczenie liczebności bakterii w ślinie stymulowanej przy użyciu testów Dentocult SM Strip mutans i Dentocult LB. *Stomatol. Współcz.* 1995; 2(1): 23-26.
61. Laleman I., Yilmaz E., Ozcelik O., Haytac C., Pauwels M., Herrero E.R., Słomka V., Quirynen M., Alkaya B., Teughels W. The effect of a streptococci containing probiotic in periodontal therapy: a randomized controlled trial. *J. Clin. Periodontol.* 2015, 42(11): 1032-1041.
62. Larsen M.J., Bruun C. Enamel/saliva – inorganic chemical reactions. *Textbook of Cariology*, Eds. Thylstrup A, Fejerskov O, Munksgaard, Copenhagen 1986.
63. Laskowska A., Ugorski M. Mucyny – budowa, właściwości i rola w progresywnym wzroście nowotworowym. *Współczesna onkol.* 1999; 6: 244-248.

64. Lendenmann U., Grogan J., Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle – a review. *Adv. Dent. Res.* 2000; 14: 22-28.
65. Leone C.W., Oppenheim F.G. Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. *J. Dent. Educ.* 2001; 65:1054-62.
66. Levine M . Susceptibility to dental caries and the salivary proline-rich proteins. *Int. J. Dent.* 2011; ID 953412, 13
67. Levine M.J., Reddy M.S., Tabak A., Loomis R.E., Bergey E.J., Jones P.C., Cohen R.E., Stinson M.W., Al-Hashimi I. Structural aspects of salivary glycoproteins. *J. Dent. Res.* 1987; 66(2): 436-441.
68. Linden S.K., Sutton P., Karlsson N.G., Korolik V., McGuckin M.A. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunol.* 2008; 1: 183-197.
69. Lindh L., Glantz P.O., Carlstedt I., Wickström C., Arnebrant T. Adsorption of MUC5B and the role of mucins in early salivary film formation. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2002;25: 139-146.
70. Lips A., Antunes L.S., Antunes L.A., Pintor A.B., Santos D.A.B., Bachinski R., Kuchler E.C., Alves G.G. Salivary protein polymorphisms and risk of dental caries: a systematic review. *Braz. Oral Res.* 2017; 31: e41. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2017.
71. Liu B., Lague J.R., Nunes D.P., Toselli P., Oppenheim FG, Soares RV, Troxler R.F., Offner G.D. Expression of membrane-associated mucins MUC1 and MUC4 in major human salivary glands. *J. Histochem. Cytochem.* 2002; 50: 811-820.
72. Loe H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J. Periodontol.* 1987; 38(6): Suppl: 610-616.
73. Longbottom C., Huysmans M.C. Electrical measurements for use in caries clinical trials. *J. Dent. Res.* 2004; 83C: 76-79.
74. Lussi A., Megert B., Longbottom C., Reich E., Francescut P. Clinical performance of a laser fluorescence device for detection of occlusal caries lesions. *Eur. J. Oral Sci.* 2001; 109: 14-19.
75. Manconi B, Cabras T, Pisano E, Sanna MT, Olianas A, Fanos V., Faa G., Nemolato S., Iavarone F., Castagnola M., Messina I. . Modifications of the acidic soluble salivary proteome in human children from birth to the age of 48months investigated by a top-down HPLC-ESI-MS platform. *J. Proteomics* 2013;91: 536-543.
76. Manconi B., Castagnola M., Cabras T., Olianas A., Vitali A., Desiderio C. Sanna M.T., Messina I. The intriguing heterogeneity of human salivary proline-rich proteins. Short title: Salivary proline-rich protein species. *J. Proteomics* 2016; 134 : 47-56.

77. Manji F., Dahlen G., Fejerskov O. Caries and periodontitis: contesting the conventional wisdom on their aetiology. *Caries Res.* 2018; 52: 548-564.
78. Martins C., Buczyński A.K., Maia L.C., Siqueira W.L., Castro G.F. Salivary proteins as a biomarker for dental caries - a systematic review. *J. Dent.* 2013; 41(1): 2-8.
79. Matsumoto M., Tsuji M., Sasaki H., Sasaki H., Fujita K., Nomura R., Nakano K., Shintani S., Ooshima T. Cariogenicity of the probiotic bacterium *Lactobacillus salivarius* in rats. *Caries Res.* 2005; 39(6): 479-483.
80. Mielczarek A., Bołtacz-Rzepakowska E., Bagińska J., Chałas R., Kwiatkowska A., Hajdo A., Marcinkowska-Ziemak M. Próchnica zębów – zalecenia profilaktyczne i terapeutyczne. Stanowisko grupy roboczej Polskiego Oddziału Sojuszu dla Przyszłości Wolnej od Próchnicy (ACFF) ds. zapobiegania próchnicy w populacji osób dorosłych. *Nowa Stomatol.* 2017; 22(2): 89-96.
81. Moczko J.A., Bręborowicz G.H. Nie samą biostatystyką... Ośrodek Wydawnictw Naukowych Poznań MMX 2010.
82. Momoi Y., Hayashi M., Fujitani M., Fukushima M., Imazato S., Kubo S., Nikaido T., Shimizu A., Unemori M., Yamaki C. Clinical guidelines for treating caries in adults following a minimal intervention policy - evidence and consensus based report. *J. Dent.* 2012; 40(2): 95-105.
83. Monse B., Heinrich-Weltzien R., Benzian H., Holmgren C., van Palenstein Helder W. PUFA - an index of clinical consequences of untreated dental caries. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 2010; 38(1): 77-82.
84. Moreno E.C., Kresak M., Hay D.I. Adsorption thermodynamics of acidic proline-rich human salivary proteins onto calcium apatites. *J. Biol. Chem.* 1982; 257: 2981-2989.
85. Mortensen D., Hessing-Olsen I., Ekstrand K.R., Twetman S. In-vivo performance of impedance spectroscopy, laser fluorescence, and bitewing radiographs for occlusal caries detection. *Quintessence Int.* 2018; 49(4): 293-299.
86. Näse L., Hatakka K., Savilahti E., Saxelin M., Pönkä A., Poussa T., Korpela R., Meurman J.H. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res.* 2001; 35(6): 412-420.
87. Neppelenbroek K.H. The importance of daily removal of the denture biofilm for oral and systemic diseases prevention. *J. Appl. Oral Sci.* 2015; 23(6): 547-548.
88. Nieuw Amerongen A.V., Oderkerk G.H., Driessen A.A. Role mucins from human saliva in the protection on tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res.* 1987; 21: 297-309.

89. Nyvad B., Baelum V. Nyvad criteria for caries lesion activity and severity assessment: a validated approach for clinical management and research. *Caries Res.* 2018; 52: 397-405.
90. Olszowski T., Janiszewska-Olszowska J., Sporniak-Tutak K. Nieswoiste czynniki odpornościowe w przebiegu choroby próchnicowej. *Pediatr. Pol.* 2010; 85(3): 265-268.
91. Pandey P., Reddy N.V., Rao V.A., Saxena A., Chaudhary C.P. Estimation of salivary flow rate, pH, buffer capacity, calcium, total protein content and total antioxidant capacity in relation to dental caries severity, age and gender. *Contemp. Clin. Dent.* 2015; 6(Suppl.1): S65-71.
92. Pasich E., Walczewska M., Pasich A., Marcinkiewicz J. Mechanizm i czynniki ryzyka powstania biofilmu bakteryjnego w jamie ustnej. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2013; 67: 734-741.
93. Paszyńska E. Wybrane czynniki wpływające na wydzielanie i skład śliny – omówienie. *Dent. Forum* 2005; 1: 86-90.
94. Peterson S.N., Snesrud E., Schork N.J., Bretz W.A. Dental caries pathogenicity: a genomic and metagenomic perspective. *Int. Dent. J.* 2011; 61 (1): 11-22.
95. Pfafe T., Cooper-White J., Beyerlein, Kostner K., Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin. Chem.* 2011; 57(5): 675-687.
96. Philip N., Suneja B., Walsh L.J. Ecological approaches to dental caries prevention: paradigm shift or shibboleth? *Caries Res.* 2018; 52: 153-165.
97. Piątowska D. *Kariologia Współczesna. Postępowanie kliniczne.* Med. Tour. Press. International 2009.
98. Pitts N.B., Zero D.T., Marsh P.D., Ekstrand K., Weintraub J.A., Ramos-Gomez F., Tagami J., Twetman S., Tsakos G., Ismail A. Dental caries. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2017; 3:17030. doi:10.1038/nrdp.2017.30.
99. Podsiadła-Urban G., Cieszko-Buk M. Diagnostyka wczesnych zmian próchnicowych. Przegląd współczesnych metod diagnostycznych. Część III. *Mag. Stomatol.* 2011; XXI, 9, 79-84.
100. Podsiadła-Urban G., Cieszko-Buk M.: Diagnostyka wczesnych zmian próchnicowych. Przegląd współczesnych metod diagnostycznych. Część II. *Mag Stomatol.* 2011; XXI, 7-8, 60-66.
101. Pol J., Buczkowska-Radlińska J., Bińczak-Kuleta A., Trusewicz M. Mucyny śliny ludzkiej – ich rola i znaczenie. *Ann. Acad. Med. Siles* 2007; 53(2): 87-91.
102. Radziejewska I. Rola mucyn żołądkowych w oddziaływaniach z *Helicobacter pylori*. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2012; 66: 60-66.

103. Rodakowska, E., Waszkiel D. Assessment of the incidence of caries In first molar using Visual detection and the diagnodent system. *J. Stoma.* 2011; 64(5-6): 385-393.
104. Ruhl S., Rayment S.A., Schmalz G., Hiller K.A., Troxler R.F. Proteins in whole saliva during the first year of infancy. *J. Dent. Res.* 2005; 84: 29-34.
105. Schaefer G., Pitchika V., Litzenburger F., Hickel R., Kühnisch J. Evaluation of occlusal caries detection and assessment by visual inspection, digital bitewing radiography and near-infrared light transillumination. *Clin. Oral Investig.*, 2018. doi: 10.1007/s00784-018-2512-0.
106. Selwitz R.H., Ismail A.I., Pitts N.B. Dental caries. *Lancet* 2007; 369: 51-59.
107. Björklund M., Ouwehand A.C. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients.* 2010; 2: 290-298.
108. Seymour G.J., Ford P.J., Cullinan M.P., Leishman S., Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin. Microbiol. Infect.* 2007; 13 (Suppl 4): 3-10.
109. Silness J., Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol. Scand.* 1984; 22: 121-135.
110. Silva D.G., Stevens R.H., Macedo J.M.B, Hirata R., Pinto A.C., Alves L.M., Veerman E.C., Tinoco E.M. Higher levels of salivary MUC5B and MUC7 in individuals with gastric diseases who harbor *Helicobacter pylori*. *Arch. Oral Biol.* 2009; 54: 86-90.
111. Simark-Mattsson C., Emilson C.G., Håkansson E.G., Jacobsson C., Roos K., Holm S. *Lactobacillus*-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs. caries-active subjects. *Eur. J. Oral Sci.* 2007; 115(4): 308-314.
112. Sonesson M., Wickström C., Kinnby B., Ericson D., Mattsson L. Mucins MUC5B and MUC7 in minor salivary gland secretion of children and adults. *Arch. Oral Biol.* 2008; 53: 523-527.
113. Stensson M., Koch G., Coric S., Abrahamsson T.R., Jenmalm M.C., Birkhed D., Wendt L.K. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. *Caries Res.* 2014, 48(2): 111-117.
114. Strous G.J., Dekker J. Mucins-type glycoproteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1992; 27(1-2): 57-92.
115. Strużycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol. J. Microbiol.* 2014; 63(2): 127-135.
116. Surdacka A. Udział śliny w zapobieganiu próchnicy zębów – przegląd piśmiennictwa. *Czas. Stomat.* 2003; LXI (9); 585-590.

117. Szkaradkiewicz A.K., Karpiński T.K., Zeidler A., Szkaradkiewicz A. Protective effect of oral lactobacilli in pathogenesis of chronic periodontitis. *J. Physiol. Pharmacol.* 2011; 62: 685-689.
118. Szkaradkiewicz-Karpińska A.K., Sak M., Goślińska-Kuźniarek O., Sokalski J., Szkaradkiewicz A. Human salivary acidic proline-rich proteins (APRP1/2) in adult patient with dental caries. *Dentistry* 2017; 7-6. doi: 10.4172/2161-1122.1000437.
119. Szkaradkiewicz-Karpińska A.K., Ronij A., Goślińska-Kuźniarek O., Przybyłek I., Szkaradkiewicz A. MUC7 level as a new saliva risk factor for dental caries in adult patients. *Int. J. Med. Sci.* 2019; 16(2): 241-246.
120. Szkaradkiewicz-Karpińska A.K., Zeidler A., Goślińska-Kuźniarek O., Uram K., Szkaradkiewicz A. Oral lactobacilli and salivary acidic proline-rich proteins (APRP-1/2) in dental caries. *J. Physiol. Pharmacol.* 2018; 69: 139-144.
121. Tabak L.A. In defense of the oral cavity: structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Annu. Rev. Physiol.* 1995; 57: 547-564.
122. Takehara S., Yanagishita M., Podyma-Inoue K.A., Kawaguchi Y. Degradation of MUC7 and MUC5B in human saliva. *Plos one* 2013; 8(7): e69059.
123. Twetman S., Keller M.K. Probiotics for caries prevention. *Adv. Dent. Res.* 2012; 24(2): 98-102.
124. Twetman S. Are we ready for caries prevention through bacteriotherapy? *Braz. Oral Res.* 2012, 26 (Suppl 1): 64-70. *Caries Res.* 2005; 39(6): 479-483.
125. Valente M.T., Moffa E.B., Crosara K.T.B., Xiao Y., de Oliveira T.M., Machado MAAM, Siqueira W.L. Acquired Enamel Pellicle Engineered Peptides: Effects on Hydroxyapatite Crystal Growth. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 3766. doi: 10.1038/s41598-018-21854-4.
126. Veerman E.C., Nieuw Amerongen A.V. Detection and quantification of MUC7 in submandibular, sublingual, palatine, and labial saliva by anti-peptide antiserum. *J. Dent. Res.* 1999; 78(7): 1362-1369.
127. Wasiluk A. Związki fluoru w profilaktyce próchnicy zębów u dzieci i młodzieży – przegląd piśmiennictwa polskiego. *Przegl. Epidemiol.* 2017; 71(4): 603-611.
128. Wei G.X., Campagna A.N., Bobek L.A. Effect of MUC7 peptides on the growth of bacteria and on *Streptococcus mutans* biofilm. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006; 57:1100-1109.

129. Wierzbicka M., Strużycka I., Szatko F., Ganowicz M. Oral health in Poland at the turn of the first and the second decade of the twenty-first century (in Polish). *Stomatol. Współcz.* 2012; 19: 8-16.
130. World Health Organization. *Oral Health Surveys: Basic Methods*. Geneva. 2013.
131. Wójtowicz A., Malm A. Mikrobiologiczne podłoże próchnicy w aspekcie jej profilaktyki. *Farm. Pol.* 2009; 65(5): 327-330.
132. Xu D., Pavlidis P., Thamadilok S., Redwood E., Fox S., Blekhman R., Ruhl S., Gokcumen O. Recent evolution of the salivary mucin MUC7. *Sci. Rep.* 2016; 6, 31791; doi: 10.1038/srep31791.
133. Yamashita Y., Takeshita T. The oral microbiome and human health. *J. Oral Sci.* 2017; 59(2): 2001-2006.
134. Young D.A., Nový B.B., Zeller G.G., Hale R., Hart T.C., Truelove E.L. The American Dental Association Caries Classification System for clinical practice: a report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. American Dental Association Council on Scientific Affairs; American Dental Association Council on Scientific Affairs. *J. Am. Dent. Assoc.* 2015; 146(2): 79-86.
135. Zalewska A., Pietruska M.D., Knaś M., Zwierz K. Niemucynowe białka śliny o wysokim stopniu homologii łańcucha polipeptydowego. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2001; 55(5): 733-754.
136. Zalewska A., Zwierz K., Żółkowski K., Gindzieński A. Structure and biosynthesis of human salivary mucins. *Acta Biochim. Pol.* 2000; 47: 1067-1079.

X. SPIS FOTOGRAFII, RYCIN I TABEL

- Fotografia 1. *Streptococcus mutans* preparat mikroskopowy barwiony metodą Grama (pow.1000x)
- Fotografia 2. *Lactobacillus acidophilus* - preparat mikroskopowy barwiony metodą Grama (pow. 1000x)
- Fotografia 3. Badany pacjent wolny od próchnicy zębów – badania własne
- Fotografia 4. Pacjent z licznymi ubytkami próchnicowymi (PUWZ = 18) – badania własne
- Fotografia 5. Czytnik–Reader 250 (bioMerieux) do badań immunoenzymatycznych
- Rycina 1. Schematyczne przedstawienie strategii udziału bakterii *S.mutans* i *Lactobacillus spp.* w rozwoju zmiany próchnicowej wg Caufielda i wsp.
- Rycina 2. Rozwój zmian próchnicowych i poziomy diagnostyczne ich wykrywalności.
- Rycina 3. Schematyczne przedstawienie struktury mucyn ślinowych – MUC5B, MUC7, MUC1.
- Rycina 4. Materiał badany
- Rycina 5. Graficzne zestawienie udziału procentowego kobiet i mężczyzn w badanych grupach osób
- Rycina 6. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości średnich PUW pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)
- Rycina 7. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości średnich liczby P u pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2).
- Rycina 8. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości średnich wskaźnika Pl.I w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)
- Rycina 9. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości średnich wskaźnika GI w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

- Rycina 10. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości średnich MUC1 w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)
- Rycina 11. Krzywa ROC dla uzyskanych wyników oznaczeń poziomów MUC1 w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów).
- Rycina 12. Czulość/swoistość dla poszczególnych wyników MUC1 uzyskanych w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów).
Wartość graniczna wynosi 0,18 ng/ml.
- Rycina 13. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości średnich MUC5B w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2).
- Rycina 14. Krzywa ROC dla uzyskanych wyników oznaczeń poziomów MUC5B w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów).
- Rycina 15. Czulość/swoistość dla poszczególnych wyników MUC5B uzyskanych w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów).
Wartość graniczna wynosi 0,4 ng/ml.
- Rycina 16. Graficzne przedstawienie uzyskanych wartości średnich MUC7 w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2).
- Rycina 17. Krzywa ROC dla uzyskanych wyników oznaczeń poziomów MUC7 w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów).
- Rycina 18. Czulość/swoistość dla poszczególnych wyników MUC7 uzyskanych w ślinie pacjentów grupy 1 (wolnych od próchnicy) i grupy 2 (z próchnicą zębów).
Wartość graniczna wynosi 2,5 ng/ml.
- Rycina 19. Wykresy krzywych ROC dla poziomów MUC1 i MUC5B
(pola pod wykresami MUC1 i MUC5B – AUC wynoszą odpowiednio :
0,537 ; 0,699)
- Rycina 20 . Wykresy krzywych ROC dla poziomów MUC1 i MUC7
(pola pod wykresami MUC1 i MUC7 – AUC wynoszą odpowiednio :
0,537 ; 1,0)
- Rycina 21. Wykresy krzywych ROC dla poziomów MUC5B i MUC7
(pola pod wykresami MUC5B i MUC7 – AUC wynoszą odpowiednio :
0,699 ; 1,0)

- Tabela 1. Charakterystyka statystyczna wieku badanych osób wolnych od próchnicy (grupa 1) i z próchnicą zębów (grupa 2)
- Tabela 2. Wyniki wskaźnika PUWZ oraz liczby P w grupie osób z próchnicą zębów (grupa 2)
- Tabela 3. Wyniki wskaźnika Pl.I w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)
- Tabela 4. Wyniki wskaźnika GI w grupie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)
- Tabela 5. Wyniki oznaczeń MUC1 w ślinie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)
- Tabela 6. Wyniki oznaczeń MUC5B w ślinie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)
- Tabela 7. Wyniki oznaczeń MUC7 w ślinie pacjentów wolnych od próchnicy (grupa 1) oraz w grupie pacjentów z próchnicą zębów (grupa 2)

XI. ANEKS

| Zmienna | Wyniki zagregowane Statystyki opisowe | | | | | | | | | | |
|---------|---------------------------------------|----------|----------|--------------------|-------------------|----------|----------|----------|-------------------|-------------------|----------|
| | Grupa | Nważnych | Średnia | Ufność -95,000% | Ufność 95,000% | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny Kwartyl. | Górny Kwartyl. | Odch.std |
| Wiek | 1 | 19 | 29,42105 | 27,62972 | 31,21238 | 31,00000 | 25,00000 | 37,00000 | 25,00000 | 33,00000 | 3,716566 |
| Wiek | 2 | 26 | 32,34615 | 30,02744 | 34,66486 | 32,00000 | 25,00000 | 40,00000 | 26,00000 | 38,00000 | 5,740678 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Testy normalności | | | |
|---------|--------------------------------------|----|----------|----------|
| | Grupa | N | W | p |
| Wiek | 1 | 19 | 0,881794 | 0,023074 |
| Wiek | 2 | 26 | 0,865040 | 0,002825 |

| Grupa | Podsumowująca tabela dwudzielcza: częstości obserwowane | | |
|----------|---|----------------|--------------|
| | Płeć kobieta | Płeć mężczyzna | Wiersz Razem |
| 1 | 10 | 9 | 19 |
| %kolumny | 43,48% | 40,91% | |
| %wiersza | 52,63% | 47,37% | |
| 2 | 13 | 13 | 26 |
| %kolumny | 56,52% | 59,09% | |
| %wiersza | 50,00% | 50,00% | |
| Ogół | 23 | 22 | 45 |

| statystyka | Statystyka: Grupa(2) x Płeć(2) | | |
|-------------------------|--------------------------------|------|----------|
| | Chi-kwadr. | df | p |
| Chi ² Yatesa | ,0162473 | df=1 | p=,89857 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Statystyki opisowe | | | | | | | | | | |
|---------|---------------------------------------|----------|----------|--------------------|-------------------|----------|----------|----------|-------------------|-------------------|----------|
| | Grupa | Nważnych | Średnia | Ufność -95,000% | Ufność 95,000% | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny Kwartyl. | Górny Kwartyl. | Odch.std |
| PUWZ | 1 | 0 | | | | | | | | | |
| PUWZ | 2 | 26 | 16,11538 | 15,19911 | 17,03166 | 15,50000 | 14,00000 | 20,00000 | 14,00000 | 18,00000 | 2,268514 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Statystyki opisowe | | | | | | | | | | |
|----------|---------------------------------------|----------|----------|--------------------|-------------------|----------|----------|----------|-------------------|-------------------|----------|
| | Grupa | Nważnych | Średnia | Ufność -95,000% | Ufność 95,000% | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny Kwartyl. | Górny Kwartyl. | Odch.std |
| Liczba P | 1 | 0 | | | | | | | | | |
| Liczba P | 2 | 26 | 6,538462 | 5,659233 | 7,417690 | 6,000000 | 3,000000 | 12,00000 | 5,000000 | 8,000000 | 2,176801 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Statystyki opisowe | | | | | | | | | | |
|---------|---------------------------------------|----------|----------|--------------------|-------------------|----------|----------|----------|-------------------|-------------------|----------|
| | Grupa | Nważnych | Średnia | Ufność -95,000% | Ufność 95,000% | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny Kwartyl. | Górny Kwartyl. | Odch.std |
| Pl.I | 1 | 19 | 0,973684 | 0,902118 | 1,045250 | 1,000000 | 0,700000 | 1,300000 | 0,900000 | 1,000000 | 0,148482 |
| Pl.I | 2 | 26 | 2,461538 | 2,229067 | 2,694009 | 2,150000 | 1,700000 | 3,600000 | 2,100000 | 3,000000 | 0,575553 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Testy normalności | | | |
|---------|--------------------------------------|----|----------|----------|
| | Grupa | N | W | p |
| Pl.I | 1 | 19 | 0,934176 | 0,206653 |
| Pl.I | 2 | 26 | 0,877056 | 0,004992 |

| Zmienna | Test U Manna-Whitneya (z poprawką na ciągłość) Względem zmiennej: Grupa Zaznaczone wyniki są istotne z $p < ,05000$ | | | | | | | | | |
|---------|---|---------------|------|----------|----------|--------------|----------|--------------|--------------|---------------------|
| | Sum.rang K | Sum.rang P | U | Z | p | Z popraw. | p | N ważn. K | N ważn. P | 2*1 str. dokł. p |
| Pl.I | 190,0000 | 845,0000 | 0,00 | -5,66455 | 0,000000 | -5,69009 | 0,000000 | 19 | 26 | 0,000000 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Statystyki opisowe | | | | | | | | | | |
|---------|---------------------------------------|----------|----------|--------------------|-------------------|----------|----------|----------|-------------------|-------------------|----------|
| | Grupa | Nważnych | Średnia | Ufność -95,000% | Ufność 95,000% | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny Kwartyl. | Górny Kwartyl. | Odch.std |
| GI | 1 | 19 | 0,821053 | 0,650586 | 0,991520 | 1,000000 | 0,500000 | 1,600000 | 0,500000 | 1,000000 | 0,353677 |
| GI | 2 | 26 | 2,026923 | 1,826898 | 2,226948 | 2,000000 | 1,000000 | 3,000000 | 2,000000 | 2,100000 | 0,495223 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Testy normalności | | | |
|---------|--------------------------------------|----|----------|----------|
| | Grupa | N | W | p |
| GI | 1 | 19 | 0,775479 | 0,000514 |
| GI | 2 | 26 | 0,868668 | 0,003348 |

| Zmienna | Test U Manna-Whitneya (z poprawką na ciągłość) Względem zmiennej: Grupa Zaznaczone wyniki są istotne z $p < ,05000$ | | | | | | | | | |
|---------|---|---------------|----------|----------|----------|--------------|----------|--------------|--------------|--------------------|
| | Sum.rang K | Sum.rang P | U | Z | p | Z popraw. | p | N ważn. K | N ważn. P | 2*1str. dokł. p |
| GI | 202,0000 | 833,0000 | 12,00000 | -5,38879 | 0,000000 | -5,45808 | 0,000000 | 19 | 26 | 0,000000 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Statystyki opisowe | | | | | | | | | | |
|-------------|---------------------------------------|----------|----------|--------------------|-------------------|----------|---------|----------|-------------------|-------------------|----------|
| | Grupa | Nważnych | Średnia | Ufność -95,000% | Ufność 95,000% | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny Kwartył. | Górny Kwartył. | Odch.std |
| Mucyna MUC1 | 1 | 19 | 0,182105 | 0,107947 | 0,256264 | 0,160000 | 0,00 | 0,500000 | 0,00 | 0,320000 | 0,153861 |
| Mucyna MUC1 | 2 | 26 | 0,208462 | 0,148013 | 0,268910 | 0,160000 | 0,00 | 0,600000 | 0,100000 | 0,300000 | 0,149658 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Testy normalności | | | |
|-------------|--------------------------------------|----|----------|----------|
| | Grupa | N | W | p |
| Mucyna MUC1 | 1 | 19 | 0,918687 | 0,107019 |
| Mucyna MUC1 | 2 | 26 | 0,920432 | 0,046022 |

| Zmienna | Test U Manna-Whitneya (z poprawką na ciągłość) Względem zmiennej: Grupa Zaznaczone wyniki są istotne z $p < ,05000$ | | | | | | | | | |
|-------------|---|---------------|----------|-----------|----------|--------------|----------|--------------|--------------|--------------------|
| | Sum.rang K | Sum.rang P | U | Z | p | Z popraw. | p | N ważn. K | N ważn. P | 2*1str. dokł. p |
| Mucyna MUC1 | 418,5000 | 616,5000 | 228,5000 | -0,413638 | 0,679139 | -0,417101 | 0,676605 | 19 | 26 | 0,673792 |

| Zmienna | Testy t; Grupująca: Grupa Grupa 1: K Grupa 2 P | | | | | | | | | | | |
|----------------|--|--------------|-----------|----|----------|---------------------|----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | Średnia K | Średnia P | t | df | p | t oddz. est.war. | df | p dwustron | Nważnych K | Nważnych P | Odch.std K | Odch.std P |
| Mucyna MUC1 | 0,182105 | 0,208462 | -0,576667 | 43 | 0,567171 | -0,574131 | 38,30938 | 0,569235 | 19 | 26 | 0,153861 | 0,149658 |

| Zmienna | Testy t; Grupująca: Grupa Grupa 1: K Grupa 2 P | | | | |
|-------------|--|----------------|---------------------|----------------|---------------|
| | iloraz F Wariancje | p Wariancje | Levene'a F(1,df) | df Levene'a | p Levene'a |
| Mucyna MUC1 | 1,056951 | 0,881334 | 0,054756 | 43 | 0,816096 |

| Analiza krzywej ROC | |
|----------------------------------|-------------------|
| Czas analizy | 0,69 sek. |
| Analizowane zmienne | Mucyna MUC1;Grupa |
| Liczność - niezinterpretowane | 0 |
| Liczność - braki danych | 0 |
| Poziom istotności | 0,05 |
| Liczność | 45 |
| Liczność STAN + (P) | 26 |
| Liczność STAN - (K) | 19 |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | stymulanta |
| Współczynnik chorobowości | 0,577778 |
| -95% CI | 0,421503 |
| +95% CI | 0,723433 |
| DeLong's method | |
| AUC | 0,537449 |
| SE(AUC) | 0,09062 |
| -95% CI | 0,359838 |
| +95% CI | 0,71506 |
| Statystyka Z | 0,425128 |
| Wartość p | 0,670743 |
| Dla punktu odcięcia | |
| Koszt FN - błędna diagnoza | 1 |
| Koszt FP - błędna diagnoza | 1 |

| Mucyna MUC1 | STAN - | STAN + | FP | TP | TN | FN | Czułość | Swoistość | PPV | NPV | LR+ | LR- | ACC | Koszt | Cut-off |
|----------------|-----------|-----------|----|----|----|----|---------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|-------|-------------|
| 0 | 5 | 3 | # | # | 0 | 0 | 1 | 0 | 0,57777778 | NA | 1 | NA | 0,57777778 | 19 | 0,269230769 |
| 0,1 | 2 | 5 | # | # | 5 | 3 | 0,88462 | 0,26316 | 0,62162162 | 0,625 | 1,20054945 | 0,43846154 | 0,62222222 | 17 | 0,3461538 |
| 0,15 | 1 | 2 | # | # | 7 | 8 | 0,69231 | 0,36842 | 0,6 | 0,46666667 | 1,09615385 | 0,83516484 | 0,55555556 | 20 | 0,230769231 |
| 0,16 | 3 | 4 | # | # | 8 | 10 | 0,61538 | 0,42105 | 0,59259259 | 0,44444444 | 1,06293706 | 0,91346154 | 0,53333333 | 21 | 0,192307692 |
| 0,18 | 0 | 1 | 8 | # | 11 | 14 | 0,46154 | 0,57895 | 0,6 | 0,44 | 1,09615385 | 0,93006993 | 0,51111111 | 22 | 0,153846154 |
| 0,2 | 2 | 2 | 8 | # | 11 | 15 | 0,42308 | 0,57895 | 0,57894737 | 0,42307692 | 1,00480769 | 0,9965035 | 0,48888889 | 23 | 0,115384615 |
| 0,3 | 1 | 5 | 6 | 9 | 13 | 17 | 0,34615 | 0,68421 | 0,6 | 0,43333333 | 1,09615385 | 0,9556213 | 0,48888889 | 23 | 0,115384615 |
| 0,32 | 2 | 0 | 5 | 4 | 14 | 22 | 0,15385 | 0,73684 | 0,44444444 | 0,38888889 | 0,58461538 | 1,14835165 | 0,4 | 27 | -0,03846154 |
| 0,39 | 1 | 0 | 3 | 4 | 16 | 22 | 0,15385 | 0,84211 | 0,57142857 | 0,42105263 | 0,97435897 | 1,00480769 | 0,44444444 | 25 | 0,038461538 |
| 0,4 | 1 | 2 | 2 | 4 | 17 | 22 | 0,15385 | 0,89474 | 0,66666667 | 0,43589744 | 1,46153846 | 0,94570136 | 0,46666667 | 24 | 0,076923077 |
| 0,5 | 1 | 1 | 1 | 2 | 18 | 24 | 0,07692 | 0,94737 | 0,66666667 | 0,42857143 | 1,46153846 | 0,97435897 | 0,44444444 | 25 | 0,038461538 |
| 0,6 | 0 | 1 | 0 | 1 | 19 | 25 | 0,03846 | 1 | 1 | 0,43181818 | NA | 0,96153846 | 0,44444444 | 25 | 0,038461538 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Statystyki opisowe | | | | | | | | | | |
|--------------|---------------------------------------|----------|----------|--------------------|-------------------|----------|----------|----------|-------------------|-------------------|----------|
| | Grupa | Nważnych | Średnia | Ufność -95,000% | Ufność 95,000% | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny Kwartyl. | Górny Kwartyl. | Odch.std |
| Mucyna MUC5B | 1 | 19 | 0,631579 | 0,459437 | 0,803721 | 0,500000 | 0,300000 | 1,500000 | 0,400000 | 0,800000 | 0,357153 |
| Mucyna MUC5B | 2 | 26 | 0,380769 | 0,250003 | 0,511536 | 0,400000 | 0,00 | 1,200000 | 0,100000 | 0,500000 | 0,323752 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Testy normalności | | | |
|--------------|--------------------------------------|----|----------|----------|
| | Grupa | N | W | p |
| Mucyna MUC5B | 1 | 19 | 0,839109 | 0,004484 |
| Mucyna MUC5B | 2 | 26 | 0,902826 | 0,018115 |

| Zmienna | Test U Manna-Whitneya (z poprawką na ciągłość) Względem zmiennej: Grupa Zaznaczone wyniki są istotne z $p < ,05000$ | | | | | | | | | |
|--------------|---|---------------|----------|----------|----------|--------------|----------|--------------|--------------|--------------------|
| | Sum.rang K | Sum.rang P | U | Z | p | Z popraw. | p | N ważn. K | N ważn. P | 2*1str. dokł. p |
| Mucyna MUC5B | 535,5000 | 499,5000 | 148,5000 | 2,252031 | 0,024321 | 2,268454 | 0,023302 | 19 | 26 | 0,022521 |

| Analiza krzywej ROC | |
|----------------------------------|--------------------|
| Czas analizy | 0,27 sek. |
| Analizowane zmienne | Mucyna MUC5B;Grupa |
| Liczność - niezinterpretowane | 0 |
| Liczność - braki danych | 0 |
| Poziom istotności | 0,05 |
| Liczność | 45 |
| Liczność STAN + (P) | 26 |
| Liczność STAN - (K) | 19 |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | destymulanta |
| Współczynnik chorobowości | 0,577778 |
| -95% CI | 0,421503 |
| +95% CI | 0,723433 |
| DeLong's method | |
| AUC | 0,699393 |
| SE(AUC) | 0,077244 |
| -95% CI | 0,547997 |
| +95% CI | 0,850788 |
| Statystyka Z | 2,263521 |
| Wartość p | 0,023604 |
| Dla punktu odcięcia | |
| Koszt FN - błędna diagnoza | 1 |
| Koszt FP - błędna diagnoza | 1 |

| Mucyna MUC5B | STAN + | STAN - | FP | TP | TN | FN | Czułość | Swoistość | PPV | NPV | LR+ | LR- | ACC | Koszt | Cut-off |
|-----------------|-----------|-----------|----|----|----|----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------|-------------|
| 1,5 | 0 | 1 | # | # | 0 | 0 | 1 | 0 | 0,57777778 | NA | 1 | NA | 0,57777778 | 19 | 0,269230769 |
| 1,2 | 1 | 2 | # | # | 1 | 0 | 1 | 0,05263158 | 0,59090909 | 1 | 1,05555556 | 0 | 0,6 | 18 | 0,307692308 |
| 1 | 1 | 1 | # | # | 3 | 1 | 0,96153846 | 0,15789474 | 0,6097561 | 0,75 | 1,14182692 | 0,24358974 | 0,62222222 | 17 | 0,346153846 |
| 0,9 | 1 | 0 | # | # | 4 | 2 | 0,92307692 | 0,21052632 | 0,61538462 | 0,66666667 | 1,16923077 | 0,36538462 | 0,62222222 | 17 | 0,346153846 |
| 0,8 | 1 | 2 | # | # | 4 | 3 | 0,88461538 | 0,21052632 | 0,60526316 | 0,57142857 | 1,12051282 | 0,54807692 | 0,6 | 18 | 0,307692308 |
| 0,6 | 1 | 2 | # | # | 6 | 4 | 0,84615385 | 0,31578947 | 0,62857143 | 0,6 | 1,23668639 | 0,48717949 | 0,62222222 | 17 | 0,346153846 |
| 0,5 | 4 | 2 | # | # | 8 | 5 | 0,80769231 | 0,42105263 | 0,65625 | 0,61538462 | 1,3951049 | 0,45673077 | 0,64444444 | 16 | 0,384615385 |
| 0,45 | 0 | 2 | 9 | # | 10 | 9 | 0,65384615 | 0,52631579 | 0,65384615 | 0,52631579 | 1,38034188 | 0,65769231 | 0,6 | 18 | 0,307692308 |
| 0,4 | 6 | 3 | 7 | # | 12 | 9 | 0,65384615 | 0,63157895 | 0,70833333 | 0,57142857 | 1,77472527 | 0,54807692 | 0,64444444 | 16 | 0,384615385 |
| 0,3 | 1 | 4 | 4 | # | 15 | 15 | 0,42307692 | 0,78947368 | 0,73333333 | 0,5 | 2,00961538 | 0,73076923 | 0,57777778 | 19 | 0,269230769 |
| 0,2 | 1 | 0 | 0 | # | 19 | 16 | 0,38461538 | 1 | 1 | 0,54285714 | NA | 0,61538462 | 0,64444444 | 16 | 0,3846154 |
| 0,1 | 5 | 0 | 0 | 9 | 19 | 17 | 0,34615385 | 1 | 1 | 0,52777778 | NA | 0,65384615 | 0,62222222 | 17 | 0,346153846 |
| 0 | 4 | 0 | 0 | 4 | 19 | 22 | 0,15384615 | 1 | 1 | 0,46341463 | NA | 0,84615385 | 0,51111111 | 22 | 0,153846154 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Statystyki opisowe | | | | | | | | | | |
|-------------|---------------------------------------|----------|----------|--------------------|-------------------|----------|----------|----------|-------------------|-------------------|----------|
| | Grupa | Nważnych | Średnia | Ufność -95,000% | Ufność 95,000% | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny Kwartyl. | Górny Kwartyl. | Odch.std |
| Mucyna MUC7 | 1 | 19 | 5,473684 | 4,901620 | 6,045748 | 5,600000 | 4,000000 | 9,000000 | 4,500000 | 5,800000 | 1,186892 |
| Mucyna MUC7 | 2 | 26 | 1,392308 | 1,042807 | 1,741809 | 1,800000 | 0,00 | 2,500000 | 0,400000 | 2,000000 | 0,865297 |

| Zmienna | Wyniki zagregowane Testy normalności | | | |
|-------------|--------------------------------------|----|----------|----------|
| | Grupa | N | W | p |
| Mucyna MUC7 | 1 | 19 | 0,879855 | 0,021346 |
| Mucyna MUC7 | 2 | 26 | 0,859790 | 0,002216 |

| Zmienna | Test U Manna-Whitneya (z poprawką na ciągłość) Względem zmiennej: Grupa Zaznaczone wyniki są istotne z $p < ,05000$ | | | | | | | | | |
|-------------|---|---------------|------|----------|----------|--------------|----------|--------------|--------------|--------------------|
| | Sum.rang K | Sum.rang P | U | Z | p | Z popraw. | p | N ważn. K | N ważn. P | 2*1str. dokł. p |
| Mucyna MUC7 | 684,0000 | 351,0000 | 0,00 | 5,664547 | 0,000000 | 5,675587 | 0,000000 | 19 | 26 | 0,000000 |

| Analiza krzywej ROC | |
|----------------------------------|-------------------|
| Czas analizy | 0,30 sek. |
| Analizowane zmienne | Mucyna MUC7;Grupa |
| Liczność - niezinterpretowane | 0 |
| Liczność - braki danych | 0 |
| Poziom istotności | 0,05 |
| Liczność | 45 |
| Liczność STAN + (P) | 26 |
| Liczność STAN - (K) | 19 |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | destymulanta |
| Współczynnik chorobowości | 0,577778 |
| -95% CI | 0,421503 |
| +95% CI | 0,723433 |
| DeLong's method | |
| AUC | 1 |
| SE(AUC) | 0 |
| -95% CI | 1 |
| +95% CI | 1 |
| Statystyka Z | 5,676037 |
| Wartość p | <0.000001 |
| Dla punktu odcięcia | |
| Koszt FN - błędna diagnoza | 1 |
| Koszt FP - błędna diagnoza | 1 |

| Mucyna MUC7 | STAN + | STAN - | FP | TP | TN | FN | Czułość | Swoistość | PPV | NPV | LR+ | LR- | ACC | Koszt | Cut-off |
|----------------|-----------|-----------|----|----|----|----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------|------------|
| 9 | 0 | 1 | # | # | 0 | 0 | 1 | 0 | 0,57777778 | NA | 1 | NA | 0,57777778 | 19 | 0,26923077 |
| 6,5 | 0 | 3 | # | # | 1 | 0 | 1 | 0,05263158 | 0,59090909 | 1 | 1,05555556 | 0 | 0,6 | 18 | 0,30769231 |
| 5,8 | 0 | 4 | # | # | 4 | 0 | 1 | 0,21052632 | 0,63414634 | 1 | 1,26666667 | 0 | 0,66666667 | 15 | 0,42307692 |
| 5,6 | 0 | 2 | # | # | 8 | 0 | 1 | 0,42105263 | 0,7027027 | 1 | 1,72727273 | 0 | 0,75555556 | 11 | 0,57692308 |
| 5,5 | 0 | 1 | 9 | # | 10 | 0 | 1 | 0,52631579 | 0,74285714 | 1 | 2,11111111 | 0 | 0,8 | 9 | 0,65384615 |
| 5 | 0 | 1 | 8 | # | 11 | 0 | 1 | 0,57894737 | 0,76470588 | 1 | 2,375 | 0 | 0,82222222 | 8 | 0,69230769 |
| 4,8 | 0 | 1 | 7 | # | 12 | 0 | 1 | 0,63157895 | 0,78787879 | 1 | 2,71428571 | 0 | 0,84444444 | 7 | 0,73076923 |
| 4,6 | 0 | 1 | 6 | # | 13 | 0 | 1 | 0,68421053 | 0,8125 | 1 | 3,16666667 | 0 | 0,86666667 | 6 | 0,76923077 |
| 4,5 | 0 | 2 | 5 | # | 14 | 0 | 1 | 0,73684211 | 0,83870968 | 1 | 3,8 | 0 | 0,88888889 | 5 | 0,80769231 |
| 4,2 | 0 | 1 | 3 | # | 16 | 0 | 1 | 0,84210526 | 0,89655172 | 1 | 6,33333333 | 0 | 0,93333333 | 3 | 0,88461538 |
| 4 | 0 | 2 | 2 | # | 17 | 0 | 1 | 0,89473684 | 0,92857143 | 1 | 9,5 | 0 | 0,95555556 | 2 | 0,92307692 |
| 2,5 | 2 | 0 | 0 | # | 19 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | NA | 0 | 1 | 0 | 1 |
| 2,4 | 1 | 0 | 0 | # | 19 | 2 | 0,92307692 | 1 | 1 | 0,9047619 | NA | 0,07692308 | 0,95555556 | 2 | 0,92307692 |
| 2,2 | 1 | 0 | 0 | # | 19 | 3 | 0,88461538 | 1 | 1 | 0,86363636 | NA | 0,11538462 | 0,93333333 | 3 | 0,88461538 |
| 2 | 5 | 0 | 0 | # | 19 | 4 | 0,84615385 | 1 | 1 | 0,82608696 | NA | 0,15384615 | 0,91111111 | 4 | 0,84615385 |
| 1,9 | 3 | 0 | 0 | # | 19 | 9 | 0,65384615 | 1 | 1 | 0,67857143 | NA | 0,34615385 | 0,8 | 9 | 0,65384615 |
| 1,8 | 2 | 0 | 0 | # | 19 | 12 | 0,53846154 | 1 | 1 | 0,61290323 | NA | 0,46153846 | 0,73333333 | 12 | 0,53846154 |
| 1,5 | 3 | 0 | 0 | # | 19 | 14 | 0,46153846 | 1 | 1 | 0,57575758 | NA | 0,53846154 | 0,68888889 | 14 | 0,46153846 |
| 0,9 | 2 | 0 | 0 | 9 | 19 | 17 | 0,34615385 | 1 | 1 | 0,52777778 | NA | 0,65384615 | 0,62222222 | 17 | 0,34615385 |
| 0,4 | 1 | 0 | 0 | 7 | 19 | 19 | 0,26923077 | 1 | 1 | 0,5 | NA | 0,73076923 | 0,57777778 | 19 | 0,26923077 |
| 0,3 | 2 | 0 | 0 | 6 | 19 | 20 | 0,23076923 | 1 | 1 | 0,48717949 | NA | 0,76923077 | 0,55555556 | 20 | 0,23076923 |
| 0 | 4 | 0 | 0 | 4 | 19 | 22 | 0,15384615 | 1 | 1 | 0,46341463 | NA | 0,84615385 | 0,51111111 | 22 | 0,15384615 |

| Zależne Krzywe ROC – porównanie | |
|--|--------------------------------|
| Czas analizy | 0,50 sek. |
| Analizowane zmienne | Mucyna MUC1;Mucyna MUC5B;Grupa |
| Liczność - niezinterpretowane | 0 |
| Liczność - braki danych | 0 |
| Poziom istotności | 0,05 |
| Zmienna grupująca | Grupa |
| Liczność | 45 |
| Liczność STAN + (P) | 26 |
| Liczność STAN - (K) | 19 |
| Zmienna Mucyna MUC1 | |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | stymulanta |
| AUC | 0,537449 |
| SE(AUC) | 0,09062 |
| -95% CI | 0,359838 |
| +95% CI | 0,71506 |
| Zmienna Mucyna MUC5B | |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | destymulanta |
| AUC | 0,699393 |
| SE(AUC) | 0,077244 |
| -95% CI | 0,547997 |
| +95% CI | 0,850788 |
| DeLong's method | |
| AUC1-AUC2 | 0,161943 |
| SE(AUC1-AUC2) | 0,13626 |
| -95% CI | 0 |
| +95% CI | 0,429007 |
| Statystyka Z | 1,18849 |
| Wartość p | 0,23464 |

| Zależne Krzywe ROC - porównanie | |
|--|-------------------------------|
| Czas analizy | 0,51 sek. |
| Analizowane zmienne | Mucyna MUC1;Mucyna MUC7;Grupa |
| Liczność - niezinterpretowane | 0 |
| Liczność - braki danych | 0 |
| Poziom istotności | 0,05 |
| Zmienna grupująca | Grupa |
| Liczność | 45 |
| Liczność STAN + (P) | 26 |
| Liczność STAN - (K) | 19 |
| Zmienna Mucyna MUC1 | |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | stymulanta |
| AUC | 0,537449 |
| SE(AUC) | 0,09062 |
| -95% CI | 0,359838 |
| +95% CI | 0,71506 |
| Zmienna Mucyna MUC7 | |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | destymulanta |
| AUC | 1 |
| SE(AUC) | 0 |
| -95% CI | 1 |
| +95% CI | 1 |
| DeLong's method | |
| AUC1-AUC2 | 0,462551 |
| SE(AUC1-AUC2) | 0,09062 |
| -95% CI | 0,28494 |
| +95% CI | 0,640162 |
| Statystyka Z | 5,104316 |
| Wartość p | <0.000001 |

| Zależne Krzywe ROC - porównanie | |
|--|--------------------------------|
| Czas analizy | 0,41 sek. |
| Analizowane zmienne | Mucyna MUC5B;Mucyna MUC7;Grupa |
| Liczność - niezinterpretowane | 0 |
| Liczność - braki danych | 0 |
| Poziom istotności | 0,05 |
| Zmienna grupująca | Grupa |
| Liczność | 45 |
| Liczność STAN + (P) | 26 |
| Liczność STAN - (K) | 19 |
| Zmienna Mucyna MUC5B | |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | destymulanta |
| AUC | 0,699393 |
| SE(AUC) | 0,077244 |
| -95% CI | 0,547997 |
| +95% CI | 0,850788 |
| Zmienna Mucyna MUC7 | |
| Kierunek zmiennej diagnostycznej | stymulanta |
| AUC | 0 |
| SE(AUC) | 0 |
| -95% CI | 0 |
| +95% CI | 0 |
| DeLong's method | |
| AUC1-AUC2 | 0,699393 |
| SE(AUC1-AUC2) | 0,077244 |
| -95% CI | 0,547997 |
| +95% CI | 0,850788 |
| Statystyka Z | 9,054336 |
| Wartość p | <0.000001 |