



Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
Wydział Medyczny

lek. stom. Aleksandra Perczak

**Identyfikacja czynników ryzyka otyłości a eksploracja stanu zdrowia jamy  
ustnej u dzieci z zespołem nadpobudliwości psychoruchowej i deficytem  
uwagi ADHD**

*(Identification of risk factors for obesity and exploration of oral health in  
children with attention-deficit/hyperactivity disorder ADHD)*

rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: dr hab. n. med. Elżbieta Paszyńska  
Promotor pomocniczy: dr n. med. Szymon Rzątownski  
Zakład Stomatologii Zintegrowanej

Poznań, 2020

*Pragnę podziękować mojemu Promotorowi,  
Pani dr hab. n. med. Elżbiecie Paszyńskiej  
Kierownikowi Zakładu Stomatologii Zintegrowanej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu  
za opiekę naukową, ogromną pomoc w realizacji pracy, za poświęcony czas i cenne  
wskazówki oraz za inspirację i dobre słowo na każdym etapie pracy.*

*Składam serdeczne podziękowania  
Pani dr hab. n. med. Monice Dmitrzak-Węglarz  
z Zakładu Genetyki w Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu  
za pomoc i wykonanie badań biochemicznych, za dobre rady i serdeczną pomoc.*

*Bardzo dziękuję  
Pani dr hab. Annie Goc  
z Katedry Genetyki Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu  
za pomoc i wykonanie badań genetycznych, za wartościowe sugestie i miłą współpracę.*

*Dziękuję również  
Pani dr n. mat. Magdalenie Roszak  
z Katedry i Zakładu Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu  
za pomoc i wykonanie analizy statystycznej oraz życzliwe wsparcie.*

*Dziękuję  
mojemu mężowi za cierpliwość i wyrozumiałość,  
a moim współpracowniczkom Martynie i Kamili  
za pomoc przy organizacji badań i wsparcie techniczne.*

## Spis treści:

<b>1. WPROWADZENIE</b> .....	8
Objawy ADHD .....	8
Etiologia ADHD .....	10
Diagnostyka ADHD .....	11
Leczenie ADHD .....	14
ADHD i otyłość .....	14
Otyłość a stres psychiczny .....	17
ADHD i badania stanu zdrowia jamy ustnej .....	21
<b>2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY</b> .....	24
<b>3. MATERIAŁY I METODY</b> .....	25
3.1. Charakterystyka badanej grupy .....	25
3.2. Badania kliniczne – ankiety, kwestionariusze i skale .....	27
3.3. Badanie stanu zdrowia jamy ustnej na podstawie wsk.epidemiologicznych .....	27
3.4. Pobranie próbek śliny całkowitej z jamy ustnej .....	31
3.4.1. Pobranie próbek z jamy ustnej do badań genetycznych .....	31
3.5. Opis testów laboratoryjnych .....	32
3.5.1. ELISA – test immunoenzymatyczny .....	32
3.5.2. Test kompetencyjny – Cortisol free in Saliva ELISA Kit .....	33
3.5.3. Test podwójnego wiązania-Secretory IgA in hum bio. Fluids ELISA .....	34
3.5.4. Test kompetencyjny – Alpha-Amylase Saliva ELISA Kit .....	35
3.5.5. Przygotowanie próbek z jamy ustnej do badań genetycznych .....	36
3.6. Analiza statystyczna – opis .....	38
<b>4. WYNIKI BADAŃ</b> .....	39
4.1. Analiza statystyczna wyników badania .....	39
4.1.1 Dane społeczno-ekonomiczne .....	39
4.1.2. Dane okołoporodowe .....	41
4.1.3. Ocena aktualnego rozwoju fizycznego dzieci .....	46
4.1.4. Analiza wyników polimorfizmu genu TCF7L2 .....	49
4.2. Badanie podmiotowe jamy ustnej z porównaniem wybranych wskaźników stomatologicznych .....	52
4.3. Stężenie kortyzolu, amylazy ślinowej (sAA) i Immunoglobuliny A (IgA) w ślinie całkowitej dla obu grup .....	63
4.4. Częstotliwość wizyt stomatologicznych dzieci z obu grup -na podstawie badań ankietowych .....	66
4.5. Nawyki żywieniowe na podstawie badań ankietowych .....	68

4.6. Odczuwanie bólu w jamie ustnej w przeszłości i aktualnie oraz lęk związany z zabiegami stomatologicznymi - na podstawie badań ankietowych .....	70
4.7. Analiza porównawcza bólu w jamie ustnej i lęku stomatologicznego w relacji do wsk. stomatologicznych puwz, PUWZ, GI, PCR w grupie badanej .....	72
4.8. Porównanie stresu psychicznego z ostatnich 12 miesięcy między grupami oraz jego korelacja ze stężeniami amylazy ślinowej, IgA i kortyzolu .....	77
<b>5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja .....</b>	<b>80</b>
5.1. Ocena biologicznego rozwoju i polimorfizmu genu TCF7L2 .....	80
5.2. Badanie kliniczne jamy ustnej .....	82
5.3. Wykorzystanie ślinowych stężeń kortyzolu, amylazy ślinowej i IgA w badaniach stanu jamy ustnej i stanu psychicznego u dzieci z zespołem ADHD .....	87
5.4. Uzyskane wyniki a ograniczenia przeprowadzonych badań .....	90
<b>6. WNIOSKI .....</b>	<b>91</b>
<b>7. STRESZCZENIE .....</b>	<b>92</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>96</b>
<b>9. PIŚMIENNICTWO .....</b>	<b>99</b>
<b>10. SPIS TABEL .....</b>	<b>115</b>
<b>11. SPIS RYCIN .....</b>	<b>116</b>
<b>12. ZAŁĄCZNIKI .....</b>	<b>118</b>
Załącznik nr 1	
• WYWIAD CIĄŻOWY I OKOŁOPORODOWY I WCZESNY ROZWÓJ DZIECKA .....	119
• WYWIAD RODZINNY .....	123
• STRESUJĄCE WYDARZENIA W ŻYCIU DZIECKA .....	124
• SOCJODEMOGRAFICZNA CHARAKTERYSTYKA RODZINY .....	125
Załącznik nr 2	
HIGIENA I NAWYKI ŻYWIENIOWE .....	126
Załącznik nr 3	
KARTA BADANIA STOMATOLOGICZNEGO .....	128
Załącznik nr 4	
UCHWAŁA KOMISJI BIOETYCZNEJ .....	130

## WYKAZ SKRÓTÓW

- ADHD - zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (*ang. attention deficit hyperactivity disorder*)
- BMI - wskaźnik masy ciała (*ang. body mass index*)
- DSM-V/IV - klasyfikacja zaburzeń psychicznych Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego (*ang. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*)
- ELISA - ilościowy test immunoenzymatyczny (*ang. enzyme-linked immunosorbent assay*)
- GCP - zasady opracowania protokołu badań (*ang. Good Clinical Practice*)
- GI – wskaźnik stanu dziąseł (*ang. Gingival Index*)
- HPA - podwzgórze-przysadka-nadnercza (*ang. hypothalamus-pituitary-adrenal*)
- ICD-10 - Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych (*ang. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*)
- ICDAS II - Międzynarodowy System Oceny i Wykrywania Próchnicy (*ang. International Caries Detection and Assessment System*)
- IgA - immunoglobulina A (*ang. immunoglobulin A*)
- IgA-AGA - oznaczenie przeciwciał gliadyny w IgA (*ang. AGA- antigliadin antibody*)
- kortyzol – hormon glikokortykosteroidowy (*ang. cortisol*)
- MINI-Kid - krótki międzynarodowy wywiad neuropsychiatryczny dla dzieci i młodzieży (*ang. mini international neuropsychiatric interview for children and adolescents*)
- N - ilość badanych osób (*ang. number of people*)
- OUN – ośrodkowy układ nerwowy (*ang. central nervous system*)
- P - liczba zębów stałych z próchnicą czynną (*ang. number of decayed permanent teeth*)
- p - liczba zębów mlecznych z próchnicą czynną (*ang. number of decayed primary teeth*)
- p - wartość prawdopodobieństwa testu (*ang. calculated probability*)
- p-wartość - wartość prawdopodobieństwa odpowiadająca statystyce W (wartości statystyki w teście Shapiro- Wilka), (*ang. calculated probability for W statistics*)
- PCR-wskaźnik – wskaźnik obecności płytki nazębnej (*ang. Plaque Control Record*)
- PCR-metoda – metoda reakcji łańcuchowej polimerazy (*ang. polymerase chain reaction*)
- pH - ujemny logarytm stężenia jonów wodorowych (*ang. pH concentration*)
- poly-HRP - polimer peroksydazy chrzanowej
- PUW/PUWZ– wskaźnik intensywności próchnicy zębów stałych (*ang. DMF, index of decayed, missing, filled adult teeth*)
- puw/puwz - wskaźnik intensywności próchnicy zębów mlecznych (*ang. dmf, index of decayed, missing, filled baby teeth*)
- sAA - alfa-amylaza ślinowa (*ang. salivary alpha amylase*)
- SES- status społeczno - ekonomiczny (*ang. socioeconomic status*)
- skala Apgar - skala używana w medycynie w celu określenia stanu noworodka zaraz po porodzie (*ang. Apgar's score*)
- SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu (*ang. Single Nucleotide Polymorphism*)
- T2D - cukrzyca typu 2 (*ang. diabetes mellitus type 2*)
- TMB - tetrametylobenzydyna
- U - wartość statystyki w teście Manna-Whitneya (dla małej liczebności próby), (*ang. Mann Whitney probability value*)
- U – liczba zębów stałych usuniętych z powodu próchnicy (*ang. number of*

*missed permanent teeth*)

u - liczba zębów mlecznych usuniętych z powodu próchnicy (*ang. number of missed primary teeth*)

W – liczba zębów stałych z jednym lub więcej wypełnieniami (*ang. number of filled permanent teeth*)

w - liczba zębów mlecznych z jednym lub więcej wypełnieniami (*ang. number of missed primary teeth*)

WHO - Światowa Organizacja Zdrowia (*ang. World Health Organization*)

WHR - wskaźnik talia-biodra (*ang. Waist-to-Hip-Ratio*)

QC - kontrola wzorcowa dot. stężenia kortyzolu (*ang. Quality Control*)

## 1. Wprowadzenie

Zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (*ang. attention deficit hyperactivity disorder, ADHD*) jest jednym z najczęściej rozpoznawanych zaburzeń neruorozwojowych u dzieci w wieku szkolnym. Charakteryzuje się obecnością trwałych wzorców zachowania pod postacią nadaktywności motorycznej, impulsywności oraz zachowań nieuważnych (*ang. attention deficit*). Źródło tego zaburzenia tkwi w funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego, a określenie rozwojowy zakłada, że objawy te, to często normalne zachowania, lecz nieadekwatne do wieku i poziomu rozwojowego dziecka [Accardo i wsp. 2000]. Utrzymywanie się i intensywność objawów odzwierciedla zakłócenia w pracy mózgu i nie pozwala na osiągnięcie adekwatnych do wieku mechanizmów rozwojowych.

W zależności od stosowanych kryteriów diagnostycznych oraz badanej populacji rozpowszechnienie ADHD u dzieci w wieku szkolnym wynosi od 1-2% (według ICD-10) do 3-5% (według DSM-V), ze średnim światowym rozpowszechnieniem wśród dzieci i młodzieży wynoszącym 5,3% [Polańczyk i wsp. 2007, 2014]. Według innych autorów może sięgać nawet 3-10 % u dzieci oraz od 2,5 do 4,4% u dorosłych [Elia i wsp. 2009, Fayyad i wsp. 2007, Simon i wsp. 2009]. Położenie geograficzne praktycznie nie ma znaczenia. Duże rozbieżności w zakresie występowania ADHD związane są w zasadzie z charakterystyką badań metodologicznych [Polańczyk i wsp. 2007]. U chłopców zaburzenie to jest rozpoznawane 2-4 razy częściej niż u dziewczynek [Pastor i Reuben 2008]. Uważa się, że może to być skutek większej wrażliwości na wpływ szkodliwych czynników środowiskowych u chłopców [Biederman i wsp. 2002]. Szczyt rozpowszechnienia przypada między 6 a 9 rokiem życia i jest głównie następstwem niemożności adaptacji dziecka do systemu szkolnego.

### Objawy ADHD

Obraz kliniczny zespołu ADHD jest złożony. Można wyróżnić kilka obszarów funkcjonowania dziecka, w których obserwuje się zaburzenia. Główne są trzy: nadruchliwość, impulsywność i zaburzenia koncentracji uwagi (zachowania nieuważne/deficyt uwagi). Nadruchliwość to nadmierna, w porównaniu do rówieśników, często chaotyczna aktywność motoryczna niezwiązana z działaniem celowym. Impulsywność oznacza zachowanie podporządkowane impulsowi pojawiającemu się w danej chwili. Zaburzenia koncentracji uwagi cechuje to, że dziecko ma kłopoty z długim podtrzymaniem uwagi na danej aktywności, nawet przy sprzyjających warunkach zewnętrznych.



Charakterystyczna jest podatność na działanie dystraktorów zewnętrznych, czyli łatwe rozpraszenie się pod wpływem nieistotnych bodźców. Dzieci z zespołem ADHD wykonują zadania bez całkowitego zrozumienia instrukcji, mają kłopoty z realizacją długoterminowych i złożonych prac, nie potrafią uczyć się z wcześniejszych doświadczeń, są niecierpliwe, nie czekają na swoją kolej [Pisula i Wolańczyk 2005].

Inne charakterystyczne zakłócenia dla ADHD obserwuje się w przebiegu procesów emocjonalnych. Reakcje emocjonalne są niewspółmierne do bodźca, gwałtowne i trudne do opanowania przez dziecko, pojawiają się łatwo oraz z dużą siłą. Dzieci z ADHD mają mniejszą zdolność do samoregulacji wzbudzenia motywacyjnego, koniecznego do efektywnego zakończenia działania. Charakterystyczna jest zależność od zewnętrznych źródeł energii, motywacji i pobudzenia. Problemem jest gorsze poczucie czasu, dlatego występuje zaburzona czasowa organizacja zachowania [Borkowska 2008]. Dzieci działają w zależności od aktualnej sytuacji i bezpośrednio napływających bodźców, dlatego ich aktywność jest warunkowana zdarzeniami aktualnymi niż odległymi w czasie, utrudnia to przewidywanie i myślenie o konsekwencjach. Ograniczeniu ulega umiejętność podtrzymania zachowania nastawionego na osiągnięcie celu. Planowanie zadań motorycznych, a zwłaszcza ich realizacja podlega dezorganizacji [Borkowska 2008].

Dzieci z ADHD ze względu na swoją impulsywność w zachowaniu, mogą mieć trudności w nawiązywaniu i utrzymywaniu satysfakcjonujących relacji społecznych w grupie rówieśniczej. Objawy nadaktywności motorycznej i impulsywność wywołują reakcje niechęci, zniecierpliwienia u osób dorosłych, co prowadzi do problemów we wzajemnych kontaktach. Dzieci z ADHD w ograniczonym zakresie stosują się do nakazów i poleceń podawanych przez opiekunów, w mniejszym stopniu niż rówieśnicy są w stanie oprzeć się zakazanym pokusom. Zachowanie zgodne z zasadami wydaje się być dla nich trudne do zrealizowania [Borkowska 2008].

Wszystkie te czynniki mają wpływ na funkcjonowanie dziecka w środowisku, na jego świadomość i zachowania zdrowotne, aktywność fizyczną, dyscyplinę i konsekwencję w dbałości o swoje zdrowie. Zaburzone kontrolowanie przez dziecko właściwych zachowań i ich podtrzymywanie ma duże znaczenie w kontekście zachowania zdrowia lub przebiegu danyh schorzeń czy chorób.

Istotna zatem wydaje się analiza, w jakim zakresie te zaburzenia w planowaniu, w świadomej aktywności fizycznej, w kontrolowaniu swoich czynów mogą wpływać na zdrowie dzieci z ADHD, w tym na zdrowie jamy ustnej.

## **Etiologia ADHD**

Etiologia ADHD jest wieloczynnikowa z dużym udziałem czynnika genetycznego [Akutagava-Martins i wsp. 2013]. Badania rodzin, bliźniąt oraz dzieci adoptowanych wykazały, że ADHD jest chorobą dziedziczną, a czynnik genetyczny zwiększa ryzyko jej wystąpienia [Faraone i Mick 2010]. Uważa się, że dużą rolę odgrywa zaburzenie dojrzewania struktur układu nerwowego spowodowane zmianami w obrębie materiału genetycznego. Ekspresja tych nieprawidłowości powoduje zmiany na poziomie biochemicznym i strukturalnym, co w konsekwencji doprowadza do zaburzeń specyficznych procesów poznawczych i kontroli zachowania [Słopeń 2011]. Według wielu autorów jest to zaburzenie poligeniczne. Istotną rolę odgrywają mutacje w obrębie genów związanych z aktywnością dopaminergiczną, noradrenergiczną, w mniejszym stopniu serotoninoergiczną. Ekspresja tych genów jest najbardziej wyraźna w korze przedczołowej i jądrach podstawnych ośrodkowego układu nerwowego [Słopeń 2011].

Do czynników ryzyka oprócz predyspozycji genetycznych zalicza się głównie czynniki biologiczne, psychospołeczne, a także chemiczne. Według wielu autorów czynniki środowiskowe stanowią 10–40% wszystkich czynników prowadzących do rozwoju ADHD [Biederman 2005, Biederman i Faraone 2005]. Rozwojowi ADHD może sprzyjać niska masa urodzeniowa, przedwczesny poród, starszy wiek matki, jej otyłość, wielodzieciowość, krwawienia przedporodowe, nieprawidłowe żywienie, spożywanie alkoholu, zażywanie narkotyków, ciężki poród, a w szczególności ogólny stan zdrowia matki w okresie ciąży oraz przyjmowanie niektórych leków [Biederman 2005, Banerjee i wsp. 2007, Chang i wsp. 2014]. Niekorzystnie również działa dieta bogata w nadmiar tłuszczów, cukru, kwasów omega 3 [Curtis i Patel 2008]. Znaczący czynnik ryzyka stanowi sytuacja stresowa ciężarnej. Stres bowiem wywołuje wzrost poziomu kortykotropiny, a zaburzenia funkcjonowania osi podwzgórze-przysadka mózgowa nasilają prawdopodobieństwo wystąpienia chorób psychicznych [Van den Bergh i wsp 2005, Talge i wsp. 2007, Van den Bergh i Marcoen 2004, Grizenko i wsp. 2008]. Zdaniem niektórych autorów na rozwój ADHD mogą wpływać również określone uwarunkowania psycho-społeczne: status społeczny rodziny, dochód i wykształcenie, konfliktowe sytuacje rodzinne w czasie ciąży, kryminogenność ojca [Froehlich i wsp. 2011, Azazy i wsp. 2018, Assari i Caldwell 2019, Lindblad i wsp. 2011, Hjern i wsp. 2010, Russel i wsp. 2016]. Z toksycznych związków chemicznych wpływających potencjalnie na rozwoju ADHD należy wymienić palenie papierosów przez ciężarną, alkohol, polichlorowane bifenyle, bisfenol A, ołów i rtęć. W literaturze przedmiotu jednakże podkreśla

się, że choć związki te wpływają znacząco na zaburzenia w ADHD, to predyspozycje genetyczne nasilają podatność na ekspozycję szkodliwości środowiskowych w okresie prenatalnym i wczesnożyciowym, gdy wrażliwość rozwijającego się układu nerwowego jest największa [Langauer-Lewowicka i wsp. 2016].

Poszczególne czynniki ryzyka mogą sprzyjać rozwojowi ADHD u dziecka, tym niemniej największą rolę odgrywa jednoczesne występowanie kilku elementów ryzyka przy jednoczesnej predyspozycji genetycznej.

### **Diagnostyka ADHD**

Postawienie rozpoznania ADHD stanowi nie lada problem, ponieważ trudno jest postawić wyraźną granicę pomiędzy ADHD a normą rozwojową. W tym celu niezbędne jest dokonanie rozgraniczenia cech i objawów [Kołakowski i wsp. 2014]. Impulsywność, nadruchliwość i trudności w koncentracji uwagi nie stanowią wyłącznie specyficznych przejawów zaburzenia neurorozwojowego. Należy je postrzegać jako cechy, które w różnym natężeniu i konfiguracjach rozpowszechnione są wśród całego społeczeństwa. Tylko w przypadku, gdy cechy te wyraźnie odbiegają od normy, a przed wszystkim znacznie utrudniają osobie funkcjonowanie, możemy nazwać je objawami choroby [Wolańczyk i wsp. 2004].

Międzynarodowe klasyfikacje diagnostyczne, takie jak ICD-10 czy DSM-5 usiłują wytyczyć granicę oddzielającą zaburzenie od funkcjonowania zgodnego z normą, a zatem wyznaczyć moment kiedy dana cech staje się objawem [Sipowicz i wsp. 2019]. Granicę tę wytycza się w oparciu o pewien model pożądaných w danym społeczeństwie cech i zachowań pozwalających na najbardziej optymalną adaptację do warunków życia. Wspomnieć należy, że nadpobudliwość psychoruchowa była w przeszłości zachowaniem przystosowawczym o wartości społecznie pożądanej [Arcelus i Munden 2008]. Jednak współczesny świat stawia przed człowiekiem inne wymagania i dlatego zachowania nadaktywne przestały wspomagać osobę w pełnieniu tych wymagań stając się zakłócającym zaburzeniem.

Rozróżnienie cechy i objawu wydaje się kluczowe w procesie diagnozowania zespołu nadpobudliwości psychoruchowej ADHD, gdyż zapobiega zbyt pochopnemu rozpoznawaniu tej jednostki chorobowej. Nie wszystkie problematyczne zachowania można tłumaczyć zespołem nadpobudliwości ADHD. Problematiczne zachowania odbiegające od normy i trudności wychowawcze oraz szkolne powinny stanowić sygnał alarmowy i mobilizować do wyjaśnienia takiego stanu rzeczy [Sipowicz i wsp. 2019]

Ostatecznie rozpoznanie ADHD stawiamy na podstawie objawów klinicznych przy użyciu kryteriów diagnostycznych klasyfikacji ICD 10 oraz DSM V. Stwierdzenie u osoby objawów typowych dla trzech głównych obszarów diagnostycznych (nadmierna impulsywność, nadmierna ruchliwość i zaburzenia koncentracji uwagi) stanowi podstawowy warunek dla rozpoznania ADHD.

Nadmierna impulsywność w zachowaniu jest uważana za szybką, niedokładną odpowiedź na bodźce [Borkowska 2003]. Nadruchliwość definiuje się jako przesadną aktywność ruchową, nieukierunkowaną na cel lub konkretne działanie [Wolańczyk i Komender 2005], a deficyty związane z koncentracją przejawiają się w obniżonym skupieniu uwagi na wykonywaniu działania oraz w braku utrzymania uwagi na bodźcu [Kołakowski i wsp. 2014].

Według ICD-10 jak i DSM-5 podstawowe cechy ADHD obejmują trzy osiowe komponenty wspomniane powyżej. Oba systemy klasyfikacji opierają się na tożsamej wiedzy medycznej i psychologicznej, reprezentują jednak nieco odmienne ujęcie samego zaburzenia jakim jest ADHD.

Międzynarodowa klasyfikacja ICD-10 posługuje się terminem zaburzenie hiperkinetyczne i umiejscawia je wśród zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania w podgrupie zaburzeń zachowania i emocji rozpoczynających się zwykle w dzieciństwie i wieku młodzieńczym. Aby dokonać rozpoznania zaburzenia hiperkinetycznego należy potwierdzić obecność co najmniej 6 z 9 symptomów braku uwagi, 3 z 5 symptomów nadmiernej aktywności oraz 1 z 4 symptomów impulsywności. Ponadto objawy muszą mieć początek przed 7 rokiem życia i utrzymywać się co najmniej przez 6 miesięcy oraz przejawiać nasilenie nieadekwatne do poziomu rozwoju dziecka [Sipowicz i wsp. 2019].

Klasyfikacja Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego DMS-5 posługuje się terminem zespół nadpobudliwości psychoruchowej z zaburzeniami koncentracji uwagi i umiejscawia tę jednostkę wśród zaburzeń neurorozwojowych. Istotą jest triada charakterystycznych objawów, ale aby dokonać rozpoznania należy stwierdzić obecność 6 lub więcej z 9 objawów nieuwagi, 6 lub więcej z objawów nadaktywności i impulsywności. Objawy muszą mieć początek przed 12 rokiem życia i utrzymywać się minimum 6 miesięcy, przejawiać nasilenie nieadekwatne do poziomu rozwoju dziecka i wpływać negatywnie na funkcjonowanie społeczne, szkolne lub zawodowe. Upośledzenie funkcjonowania społecznego, zawodowego lub szkolnego dziecka z ADHD powinno być istotne klinicznie i występować przynajmniej w dwóch sytuacjach (np. w szkole i w domu).

Analizując kryteria diagnostyczne zawarte w obu klasyfikacjach można zaobserwować, że prawidłowe rozpoznanie ADHD opiera się na stwierdzeniu określonej liczby charakterystycznych symptomów z każdego z trzech obszarów zaburzeń, które dodatkowo muszą spełniać pewne warunki. Taka sytuacja pozwala na określenie czy dany wzorec zachowania dziecka należy interpretować jako zaburzenie czy indywidualny wzór zachowania zgodny z normą, choć problematyczny wychowawczo. Przede wszystkim trzeba upewnić się czy nasilenie objawów przewyższa normalny obraz cechy charakterystyczny dla określonego wieku [Kołąkowski i wsp. 2014]. Często zachowania problematyczne zgłaszane przez rodziców są całkowicie typowe dla młodszych faz rozwojowych [Tucholska 1992]. Z tej perspektywy najbardziej newralgiczny diagnostycznie jest wiek przedszkolny. Rozwój dziecka w tym wieku jest szczególnie osobniczo zmienny, co powoduje, że indywidualny przypadek nie zawsze będzie miał odniesienie w opracowanych normach rozwojowych.

W procesie diagnostycznym niezwykle istotny jest także kontekst sytuacyjny występowania objawów. Koniecznym warunkiem dla rozpoznania ADHD jest niemal stała obecność symptomów o różnym nasileniu w domu, szkole oraz innych okolicznościach

Podkreślić należy, że diagnozowanie ADHD jest zadaniem niezwykle trudnym, gdyż w dużym stopniu opiera się na wnioskach płynących z obserwacji dziecka [Kruk i wsp. 2016]. Z tego względu obecnie celem jest odnalezienie wygodniejszych oraz bardziej obiektywnych metod diagnostycznych w ADHD, takich jak badania genetyczne, neurofizjologiczne oraz neurowizualne, które zdefiniowałyby wyraźnie i obiektywne różnice pomiędzy pacjentami z ADHD i osobami zdrowymi. Dotychczas żadna z metod nie okazała się dostatecznie wrażliwa i swoista. Duże nadzieje upatruje się przede wszystkim w badaniach genetycznych. Niemniej jednak w badaniach spektroskopowych magnetycznym rezonansem jądrowym OUN dzieci z ADHD zaobserwowano zmiany anatomiczne pod postacią zmniejszenia rozmiarów obszarów przedczołowo-ogoniastych oraz zmiany hipokamu i ciała migdałowatego [Słopeń 2011, Gaidamowicz i wsp 2018, Frodl i wsp 2010]. Jednakże zmiany anatomiczne w ośrodkowym układzie nerwowym nie są patognomiczne dla rozpoznania ADHD i nie stanowią warunku do rozpoznania tej choroby. Zmiany te mogą być spowodowane nieprawidłowym rozwojem mózgu na początku rozwoju embriologicznego [Słopeń 2011].

## **Leczenie ADHD**

Leczenie powinno być zorientowane na dziecko czyli ukierunkowane na objawy osiowe, problemy współwystępujące, trudności w funkcjonowaniu w środowisku rodzinnym, szkolnym rówieńczym. Konieczne jest, aby psychoedukacja obejmowała pacjenta, rodziców/opiekunów oraz nauczycieli/wychowawców [Cichoń i Jeonek 2017]. Jeśli zawiedzie terapia poznawczo-behawioralna stosuje się farmakoterapię. Ma to miejsce w przypadku braku skuteczności oddziaływań terapeutycznych, występowania głębokich i uporczywych zaburzeń funkcjonowania dziecka w różnych środowiskach albo obecność zaburzeń będących powikłaniem ADHD [Cichoń i Jeonek 2017]. Do leków rekomendowanych należą leki psychostymulujące oraz atomoksetyna. Leki psychostymulujące działają poprzez zwiększenie uwalniania dopaminy, hamowanie wychwytu zwrotnego serotoniny i amin katecholowych. Skuteczność tych leków sięga 80%. Poprawa dotyczy skupiania i utrzymywania uwagi oraz redukcji nadmiernej ruchliwości i w mniejszym stopniu, impulsywności. Wśród leków z tej grupy są pochodne metylofeniadatu (Metylofenidat, Focalin, Methylin, Ritalin, Matadat). Atomoksetyna jest inhibitorem zwrotnego wychwytu noradrenaliny, jego skuteczność również sięga 80%, ale jej działanie jest całodobowe. Z innych leków stosowanych w leczeniu ADHD należy wymienić klonidynę oraz guanfacyna. Skuteczność ich jest na poziomie 30-50%, a także powodują one więcej działań niepożądanych (m.in. powodują zmniejszoną aktywność gruczołów ślinowych, nadmierną suchość w jamie ustnej). Kolejną grupą leków rozważaną w przypadku ADHD są neuroleptyki, które działają uspokajająco i redukują zachowania agresywne [Cichoń i Jeonek 2017]

## **ADHD i otyłość**

W ostatnich latach coraz większą uwagę poświęca się współwystępowaniu ADHD i otyłości. Światowa Organizacja Zdrowia definiuje otyłość jako nieprawidłowe lub nadmierne nagromadzenie tłuszczu w tkance tłuszczowej, które prowadzi do pogorszenia stanu zdrowia. Otyłość to przewlekła choroba bez tendencji do samoistnego ustępowania, w której zespół objawów uwarunkowany jest czynnikami zewnętrznymi, takimi jak stres, nieprawidłowe żywienie, brak aktywności fizycznej oraz czynnikami wewnętrznymi: genetycznymi, metabolicznymi i procesami degeneracyjnymi [Ogińska-Bulik 2004]. Jako że definicja ta nie podaje progu powyżej którego osobę uznaje się za otyłą, w użyciu stosuje się wskaźnik BMI (*ang. body mass index*). Jednakże u dzieci wskaźnik BMI bardzo dynamicznie zmienia się w zależności od wieku, wzrostu, masy ciała oraz wzajemnych proporcji ciała, co

skutkuje koniecznością stosowania odpowiednich siatek centylowych dla BMI. Oprócz BMI do badań epidemiologicznych wykorzystuje się również wskaźnik talia-biodra WHR (*ang. waist-to-hip-ratio*) lub zwłaszcza u dzieci pomiar obwodu talii [Taylor i wsp. 2000]. Otyłość jest aktualnie dużym problemem zdrowotnym wśród dzieci i młodzieży, a późne powikłania otyłości, takie jak choroby układu krążenia, cukrzyca typu 2 i nadciśnienie tętnicze są typowe jak przy otyłości dorosłych. Na rozwój otyłości ma wpływ wiele współdziałających czynników, przede wszystkim środowisko, styl życia, nawyki żywieniowe oraz czynniki genetyczne [Whitaker 1997]. W ostatnim czasie odkryto nie tylko hormony regulujące łaknienie (leptyna, grelina i insulina) ale także neuroprzekaźniki monoaminowe – noradrenalina, dopamina, serotonina wpływające na bilans energetyczny, jednak funkcja ich jest złożona, a mechanizm regulacji i wpływu tych neuroprzekaźników na rozwój otyłości jest słabo poznany [Maślanek 2013].

Istotnym aspektem otyłości u dzieci i młodzieży są też problemy natury psychologiczno-społecznej. Dziecko w złym stanie psychicznym, w emocjach, nad którymi trudno zapanować, porównujące się z rówieśnikami kompensuje jedzeniem brak wiary w siebie. Wiele badań wskazuje, że zwiększona potrzeba jedzenia jest wynikiem przeżywania negatywnych emocji, obniżonego nastroju i złego samopoczucia [Wiśniowiecka i Szewczyk 2001]. Nadmiernemu jedzeniu sprzyjają też poczucie odrzucenia emocjonalnego, osamotnienie, przeżywany gniew, wrogość, depresja [Joško-Ochojska i Lizończyk 2014]. Przejadanie się może być też wyrazem buntu, reakcją na poczucie winy, łagodzeniem lęków, wyrazem niewłaściwego zaspokajania potrzeb jednostki. Dzieci, które mają poczucie braku akceptacji lub odrzucenia emocjonalnego tłumią swoje uczucia i emocje poszukując pocieszenia w jedzeniu.

Analizując przyczyny powstawania otyłości i nadwagi należy także uwzględnić rolę stresu i braku umiejętności radzenia sobie z nim. Okresy wzmożonej pracy umysłowej (rozpoczęcie nauki w szkole), stany napięć, przeżywanie konfliktów są dla dzieci bodźcami stresogennymi skłaniającymi do sięgania po jedzenie [Gutowska-Wyka 2003]. Badania wskazują, że ludzie jedzą więcej w sytuacji stresu związanego z nadmiarem pracy, zwiększonym pobudzeniem powstałym na skutek nadmiaru negatywnych bodźców, czy w sytuacji zagrożenia [Lech i Ostrowska 2017]. Wydaje się, że im większy problem i silniejsze emocje, tym większe prawdopodobieństwo ucieczki w jedzenie, ponieważ jedzenie to prosty, prawie zawsze dostępny i dający natychmiastowy efekt sposób łagodzenia napięcia.

W badaniach naukowych od początku XXI wieku sugeruje się, że zespół ADHD może być czynnikiem rozwoju nadmiernej masy ciała lub otyłości [Holtkamp i wsp. 2004, Anderson i wsp. 2006, Hubel i wsp. 2006, Hanć i wsp. 2015, Cortese i wsp. 2016, Hanć 2018]. Holtkamp i wsp. [2004] stwierdzili, że chłopcy z ADHD w porównaniu z populacją mają wyższy BMI i częściej obserwuje się u nich nadwagę i otyłość. Nieznany jest do końca mechanizm powstania otyłości u dzieci z ADHD. Możliwe, że impulsywność i brak uwżności, które charakteryzują ADHD prowadzą do dysregulacji przyjmowania pokarmu z konsekwencją wzrostu wagi [Cortese i Castellanos 2014]. Możliwą determinantą wpływającą na fakt, że ADHD przyczynia się do otyłości jest mechanizm radzenia sobie z przeżywanymi trudnymi emocjami, stresem, stanami napięć i konfliktami przez dzieci z ADHD. Skutkiem tego może być impulsywne jedzenie, zdeorganizowane nawyki żywieniowe, w tym częste podjadanie przekąsek, które dziecko traktuje jako nagrodę lub rekompensatę za przymus tłumienia niewłaściwych uczuć.

Pomijając płaszczyznę psychologiczną związku ADHD i otyłości wskazuje się również na istnienie potencjalnie wspólnej dla otyłości i ADHD dysfunkcji biologicznej. Jak wiadomo podwzgorze jest tą częścią mózgu, która kontroluje procesy odpowiedzialne za regulację uczucia głodu i sytości. Regulacja ta jest oparta na sieci wzajemnych powiązań: układu hormonalnego (insulina, hormony płciowe, glikokortykosterydy, glukagon, kortyzol i inne), substancji regulacyjnych (leptyna, neuropeptyd Y, endorfiny, galanina) enzymów i neuroprzekaźników (serotonina, dopamina, noradrenalina). Jakikolwiek zaburzenie powstałe na każdym z tych etapów może prowadzić do zaburzeń w odżywianiu. Nie można też wykluczyć wspólnego podłoża genetycznego ADHD i otyłości.

Większość badań wskazuje, że ADHD jest istotnym czynnikiem rozwoju otyłości niezależnie od leczenia farmakologicznego, statusu socjoekonomicznego i większości zaburzeń towarzyszących ADHD. W przypadku dorosłych osób z ADHD ryzyko nadwagi jest większe o 50%, a otyłości o blisko 40% w stosunku do osób zdrowych. Związek ADHD–otyłość nasila się z wiekiem – od braku zależności lub mniejszej częstości otyłości lub nadwagi u dzieci przedszkolnych w porównaniu z rówieśnikami do wysokiej częstości otyłości u osób dorosłych z ADHD. Rozbieżności, które pojawiają się w wielu badaniach świadczą o braku bezpośredniej zależności między ADHD i otyłością. Można przypuszczać, że istnieją i mają pewną rolę bliżej nieokreślone czynniki pośredniczące. Na podstawie dostępnej literatury i badań można przedstawić kilka hipotez wyjaśniających zwiększoną częstość otyłości u osób z ADHD. Podłożem związku ADHD–otyłość mogą być wspólne



geny [Hanć i wsp. 2016, Albayrak i wsp. 2013], cechy neurobiologiczne [Liu i wsp. 2008], uwarunkowane nimi deficyty w zakresie funkcji wykonawczych [Choundhry i wsp. 2013], programowanie płodowe [Hanć i wsp. 2015], zaburzenia snu (rytmu dobowego) i nieprawidłowe zwyczaje żywieniowe [Voegel i wsp. 2015], wysokotłuszczowa dieta [Ptacek i wsp. 2014], obniżona sprawność i aktywność fizyczna [Cook i wsp. 2015, Nascimento i wsp. 2013] oraz stres [Hanć i wsp. 2015, Pauli-Pott i wsp. 2017], a także siedzący tryb życia, emocjonalne jedzenie. Podejrzewa się także, że związek ADHD z otyłością może być efektem ubocznym adaptacji do środowiska ubogiego w pożywienie [Campbell i Eisenberg 2007]. Niewiele badań testowało przedstawione hipotezy, a ich wyniki nie są jednoznaczne [Hanć 2018]. W badaniach wykazano ponadto, że chłopcy w wieku przedszkolnym z ADHD mają tendencję do niższej wagi niż ich rówieśnicy. Wzrost masy ciała lub otyłości zaobserwowano u chłopców dopiero w późniejszych etapach rozwoju i powinien on być rozważany jako istotna współistniejąca cecha ADHD [Hanć 2018].

### **Otyłość a stres psychiczny**

Ostatnie, liczne badania dostarczają dowodów na związek pomiędzy otyłością i chronicznym stresem oraz zmianami w układzie HPA (podwzgórze-przysadka-nadnercza). Wydaje się, że stres przyczynia się do zwiększonego ryzyka otyłości. Ten związek może pojawiać się za pośrednictwem zmian w układzie HPA. Zrozumienie tego związku i wzajemnej interakcji pomiędzy długotrwałym stresem, aktywnością osi HPA i otyłością jest ważne ze względu na poszukiwanie efektywnych metod leczenia otyłości i związanych z nią chorób metabolicznych [Bose i wsp. 2009]. Prowadzone nad tym zagadnieniem badania bezsprzecznie dowodzą, że stan psychiczny naszego organizmu i mechanizmy uruchamiane w momencie przeżywania emocji, zwłaszcza tych negatywnych, w istotny sposób wpływają na fizjologię procesów toczących się w organizmie [Szydełko i wsp. 2016].

Zachwianie równowagi psychicznej i fizycznej powoduje uruchomienie skomplikowanego mechanizmu obejmującego komponentę centralną - układ HPA oraz obwodową - układ współczulny i przywspółczulny. Konsekwencją tej aktywacji jest wzrost produkcji przez korę nadnerczy glikokortykosteroidów, a zwłaszcza kortyzolu - określanego hormonem stresu. Według badań kortyzol znacznie zwiększa spożycie pokarmów wysokokalorycznych. Odbywa się to na drodze stymulacji uwalniania endogennych opioidów, zmniejszających aktywność osi HPA i osłabiających odpowiedź na stres. Powtórne jednak pobudzenie szlaku nagrody przez kolejne bodźce stresowe wywołuje efekt odwrotny. Sytuacja ta w nieuchronny sposób prowadzi do neurobiologicznej adaptacji i kompulsywnej natury

przejadania się [Szydełko i wsp. 2016].

Prace zmierzające do poznania mechanizmów odpowiedzi naszego organizmu na podwyższone napięcie psychiczne wykazały znaczącą rolę biomarkerów neurologicznych, nie tylko kortyzolu, uznawanego za główny wskaźnik aktywacji osi HPA, ale również alfa-amylazy ślinowej (sAA), która koreluje z pobudzeniem układu współczulnego oraz immunoglobuliny A (IgA) oddającą stan pobudzenia układu odpornościowego.

Dzięki nowym osiągnięciom biologii molekularnej i medycyny dużo uwagi poświęca się wymienionym wyżej biologicznym markerom, ze względu na ich obecność w dostępnej do badania ślinie człowieka. Ma to szczególne znaczenie przy monitorowaniu stanu zdrowia dzieci, osób starszych i niepełnosprawnych, gdyż bezstresowość, łatwość i bezinwazyjność pobierania śliny umożliwia swobodne i częste badanie czynników, których poziom regulowany jest odpowiedzią organizmu na sytuacje stresowe. Wykorzystanie śliny w diagnostyce laboratoryjnej daje szerokie możliwości badania wielu związków chemicznych, które pozwalają monitorować stan zdrowia, progresję choroby lub wyniki leczenia. Zwłaszcza oznaczanie stężenia hormonów wydaje się niezwykle istotne ze względu na to, że ich produkcja w organizmie podlega dużej zmienności w cyklu dobowym i zmienia się pod wpływem różnych czynników np. stresu lub wysiłku fizycznego [Klichowska-Palonka i Pac-Kożuchowska 2009]. Wymienione cechy stanowią bodziec do wzrostu zainteresowania diagnostów medycznych i lekarzy do wykorzystania śliny w badaniach nad jednostkami chorobowymi i opracowywaniem nowych metod ich diagnozy i monitorowania terapii. Objętość wydzielanej śliny i jej skład wykazują zmiany ze względu na wiek, płeć, stan zdrowia czy rodzaj czynnika pobudzającego [Kaufman i Lamster 2002].

Ślina jest wytwarzana przez trzy pary dużych gruczołów ślinowych: ślinianki przyuszne, podżuchwowe i podjęzykowe oraz liczne małe gruczoły policzkowe wyściełające jamę ustną [Klichowska-Palonka i Pac-Kożuchowska 2009]. Spośród najistotniejszych funkcji śliny wymienić należy ułatwienie przeżuwania i połykania, wstępne trawienie węglowodanów, działanie przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe dla ochrony jamy ustnej oraz jako podłoże do tworzenia płytki nazębnej. Wydzielanie śliny posiada podwójną regulację autonomiczną. Podczas pobudzania układu przywspółczulnego następuje obfite wydzielanie śliny wodnistej, natomiast podczas pobudzenia układu współczulnego – gęstej śliny obfitującej w białko. Nie mniej jednak woda stanowi około 94-95% śliny. Pozostała część to elementy stałe śliny, aczkolwiek podlegające zmianom - około 6% w warunkach podstawowych i 0,5% po stymulacji. Głównym składnikiem organicznym śliny są substancje

białkowe - enzymy, białka surowicy krwi, mucyny, immunoglobuliny, substancje grupowe krwi, kalikreina, laktoferyna, naskórkowy czynnik wzrostu, histatyna, cystatyna, stateryna, sialina, hormony i witaminy z grupy A, B, C i K [Szydłarska i wsp. 2008]. Gęstość śliny mieści się w przedziale 1,002-1,012 g/ml, a jej odczyn w dużej mierze zależy od szybkości wytwarzania od wartości pH 6,2-6,5 w nocy, do około 8,0 w ciągu dnia. Stymulacja wydzielania śliny odbywa się przez bodźce smakowe, mechaniczne, zapachowe, wzrokowe, czy psychiczne. Podstawowe wydzielanie śliny wynosi 0,33-0,55 ml/min i znacznie różni się u poszczególnych osób. Po silnym pobudzeniu np. bodźcem pokarmowym wydzielanie śliny może wzrosnąć do 1,5-2,3 ml/min, a po lekach, np. pilokarpinie, może osiągnąć wartość nawet 5,0 ml/min. Szczyt wydzielania przypada w okolicy 10 roku życia, a po 30 roku życia obserwuje się wyraźny spadek wydzielania śliny [Szydłarska i wsp. 2008].

W ostatnich latach prowadzi się badania nad coraz szerszą gamą jednostek chorobowych, które można diagnozować z wykorzystaniem białek zawartych w ślinie, ale również na podstawie tych badań prognozuje się stan pacjentów. Jednym z ważniejszych kryteriów podziału użyteczności diagnostycznej związków zawartych w ślinie jest lokalizacja ich wytwarzania. Związki produkowane w gruczołach ślinowych (wewnątrzgruczołowo) uważa się za posiadające mniejszy potencjał diagnostyczny (wyjątkiem jest amylaza ślinowa) Pozostałe syntetyzowane są zewnątrzgruczołowo, transportowane z osocza do śliny. Uważa się, że substancje drugiej grupy wykazują większy potencjał diagnostyczny, ponieważ odzwierciedlają stan organizmu [Kaufman i Lamster 2002, Carpenter 2013].

Jednym z biomarkerów oznaczanym w ślinie jest alfa-amylaza ślinowa (sAA), która wykorzystywana jest do oceny pobudzenia współczulnego układu nerwowego. Alfa-amylaza ślinowa osiąga maksimum wartości około 5 min po zadziałaniu bodźca (stresora), a do wartości sprzed pobudzenia wraca w około 10 min. W przeciwieństwie do innych wskaźników biologicznych zawartych w ślinie nie jest transportowana do niej z krwi, gdyż jest produkowana miejscowo przez gruczoły ślinowe w jamie ustnej [Sobczak-Zagalska i wsp 2014]. Alfa amylaza ślinowa może odgrywać pewną rolę dotyczącą odpowiedzi na występowanie stresu psychicznego poprzez modulację sygnałów części współczulnej i przywspółczulnej nerwowego układu autonomicznego. Poprzez takie działanie amylaza może być markerem dysregulacji części współczulnej układu autonomicznego w różnych zaburzeniach psychicznych [Schumacher i wsp. 2013]. Zmiany w stężeniu amylazy w ślinie mogą odzwierciedlać poziom aktywacji układu autonomicznego, podobnie jak kortyzol wyraża pobudzenie układu HPA.

Zatem poziom amylazy w ślinie jest istotny zarówno z powodu jej wpływu na próchnicę zębów, jak i w celu monitorowania aktywacji układu współczulnego na skutek reakcji stresowej.

Kolejnym biomarkerem uczestniczącym w mechanizmach odpowiedzi na stres jest kortyzol. Należy on do grupy glikokortykoidów wydzielanych przez warstwę pasmowatą kory nadnerczy, po aktywacji osi HPA i jest hormonem wydzielanym do krwi. Odpowiada za gospodarkę węglowodanową, lipidową i białkową ustroju. Dzięki swoim biochemicznym właściwościom kortyzol transportowany jest z krwi do śliny i innych płynów ustrojowych poprzez dyfuzję bierną. Stężenie kortyzolu w ślinie jest miarodajnym odzwierciedleniem poziomu jego wolnej frakcji we krwi. Jego stężenie w ślinie jest kilkadziesiąt razy mniejsze niż w surowicy krwi, można jednak mówić o zachowaniu stałego stosunku stężenia w ślinie do stężenia w surowicy z uwagi na jego szybki transfer. Dlatego też oznaczenie go w ślinie jest reprezentatywne w stosunku do oznaczeń w surowicy [Klichowska-Palotka i Pac-Kożuchowska 2009]. Należy mieć jednak świadomość, że poziom kortyzolu w ślinie charakteryzuje się dużą zmiennością i jest zależny od takich czynników jak płeć, wiek, masa ciała, rytm okołodobowy oraz pora dnia pobrania, co może wpływać na uzyskane wyniki [Jessop i Turner-Cobb 2008].

Kortyzol wydzielany jest w rytmie okołodobowym, ze szczytem uwalniania po przebudzeniu człowieka, następnie jego poziom zmniejsza się w ciągu dnia, aby osiągać najniższe wartości tuż przed snem [Sapolsky i wsp. 2000]. Ekspozycja na czynnik stresujący wiąże się ze znacznym wzrostem produkcji kortyzolu i szybkim jego powrotem do poziomu spoczynkowego. Taka adaptacyjna odpowiedź organizmu uznawana jest za korzystny mechanizm radzenia sobie ze stresem. Natomiast narażenie na przewlekły stres powoduje niekorzystny wzrost produkcji kortyzolu w ciągu całego dnia [Fernald i Gunnar 2009]. Przewlekłe podwyższony poziom kortyzolu u dzieci może zwiększać ryzyko wystąpienia objawów zaburzeń kardiologicznych, układu oddechowego, cukrzycy, otyłości, niektórych nowotworów, a także zaburzeń lękowych, depresji, agresji, i zaburzeń uwagi [Miller i wsp. 2009, Galobardes i wsp. 2004, 2006, Andrews i wsp. 2002].

Około 20 lat temu udowodniono, że ślina może być źródłem informacji o poziomie niezwiązanego kortyzolu i dlatego stężenie kortyzolu w ślinie może pełnić rolę wskaźnika toczącej się odpowiedzi osi HPA na stres psychiczny [Schumacher i wsp. 2013]. W 2002 roku Baer zaproponował równoległą ocenę dwóch systemów (HPA i autonomicznego) aktywowanych w obecności stresu poprzez monitorowanie poziomów kortyzolu i amylazy

ślinowej [cyt. za Schumacher i wsp. 2013].

Wykazano również, że amylaza ślinowa i kortyzol są znacząco powiązane z poziomem lęku stomatologicznego, przy czym amylaza aktywuje się w warunkach ostrego stresu, podczas gdy kortyzol jest markerem stresu długotrwałego [AlMaummar i wsp. 2019].

Trzecim biomarkerem odpowiedzi organizmu na sytuacje stresowe jest immunoglobulina A (IgA), największa immunoglobulina wydzielana do krwi na skutek aktywacji układu immunologicznego, granulocytów i neutrofilii oraz błony śluzowej jamy ustnej. Wzrost koncentracji IgA w ślinie świadczy o pobudzeniu układu odpowiadającego za reakcję stresową, a także o zwiększonej nadwrażliwości ze strony błony śluzowej jamy ustnej, co może przyczyniać się również do rozwoju chorób jamy ustnej. Badania poziomu IgA u pacjentów z chorobą przyzębia wykazały, że jej podwyższone stężenie jest związane ze zwiększoną aktywnością IgA spowodowaną prawdopodobnie hamowaniem adherencji i destrukcją bakterii, grzybów i wirusów jamy ustnej [Fábián i wsp. 2012]. Szybkość wydzielania IgA do środowiska jamy ustnej jest niezależna od stymulacji gruczołów ślinowych [Proctor i wsp. 2003]. Zatem wpływ na poziom IgA może być związany z zaburzeniami hormonalnymi (hiperkortyzolemia) oraz z odchyleniami w transmisji neuroprzekazników, co może przekładać się na wyższy stan napięcia stresowego u człowieka [Fernald i Gunnar 2009].

Przedstawione składniki śliny niewątpliwie otwierają nowe możliwości w poszukiwaniu czynników predykcyjnych i diagnostycznych związanych ze stresem i chorobami neurobiologicznymi.

### **ADHD i badania stanu zdrowia jamy ustnej**

Badania stomatologiczne dzieci z ADHD i analiza zmian występujących w jamie ustnej są nieliczne i w większości ograniczają się do oceny klinicznej stanu narządu żucia. Wśród opublikowanych badań dominują grupy dzieci powyżej 10 roku życia, co stwarza problem oceny opartej wyłącznie na analizie stanu zębów stałych. Zdecydowanie brakuje badań klinicznych z uwzględnieniem dzieci młodszych poniżej 8 roku życia, najprawdopodobniej jest to związane z czasem ustalania diagnozy u dzieci przypadającej na okres między 6 a 8 rokiem życia.

W dostępnej literaturze dotyczącej dzieci z ADHD zwraca się uwagę na zwiększone występowanie zmian próchnicowych u dzieci z ADHD [Broadbend i wsp. 2004, Blomqvist

i wsp. 2006, 2011], zmniejszone wydzielanie śliny, [Hidas i wsp. 2011], częściej występuje u nich bruksizm i urazy zębów. W ocenie higieny jamy ustnej wskazuje się na gorsze parametry wskaźników płytki bakteryjnej [Hidas i wsp. 2013]. W badaniach Broadbent i wsp. [2004] wykazano, że dzieci z ADHD mają ponad dziesięć razy większe ryzyko być w grupie dzieci z wysoką frekwencją próchnicy zębów. W innych badaniach Blomqvist i wsp. [2006] oraz Chandra i wsp. [2009] wprawdzie również wykazali, że dzieci z ADHD manifestują wyższą częstość występowania próchnicy zębów stałych, jednak wyniki ich były na granicy istotności statystycznej. Autorzy tych i innych publikacji podkreślają, że wpływ na rozwój próchnicy ma znacząco częstsze spożywanie kariogennych węglowodanów, nieregularność w spożywaniu posiłków, jak również mniej systematyczne i krótsze szczotkowanie zębów [Chandra i wsp. 2009, Hidas i wsp. 2013, Chau i wsp. 2017]. Można również zauważyć, że z wiekiem dziecka liczba zębów dotkniętych nowymi ubytkami próchnicowymi zmniejsza się pomimo braku widocznych różnic w nawykach higieniczno-dietetycznych pomiędzy młodocianymi z ADHD i młodocianymi zdrowymi [Blomqvist i wsp. 2011]. Częściowa remisja typowych objawów ADHD w wieku nastoletnim może wpływać pozytywnie również na poprawę higieny jamy ustnej i znormalizowanie diety u adolescentów.

Przypuszczenia, że ze względu na charakterystyczną w ADHD nieuważność, impulsywność i upośledzoną funkcję wykonawczą dzieci będą miały problemy z regularnością i systematycznością związaną z higieną jamy ustnej okazują się słuszne. Ponadto wydaje się prawdopodobne, że zakłócenia w przebiegu procesów emocjonalnych mają wpływ na kompulsywne jedzenie kariogennych przekąsek, a mniejsza zdolność do samoregulacji wzbudzenia motywacyjnego i zaburzona czasowa organizacja zachowania utrudniają przewidywanie konsekwencji, co w przypadku zdrowia jamy ustnej ma kluczowe znaczenie.

ADHD może być czynnikiem ryzyka zwiększonego poziomu występowania próchnicy, jednakże nie można też wykluczyć udziału w tym zjawisku stosowanej farmakoterapii [Vafaei i wsp. 2018]. Znamienny jest wpływ leków stosowanych w terapii ADHD (np. Ritalinu) na wydzielanie niestymulowanej śliny. Ritalin (pochodna metylofenidatu) powoduje zmniejszenie wydzielania śliny, co może powodować suchość w jamie ustnej, czego skutkiem może być zwiększona próchnica zębów i schorzeń przyzębia. Pomimo, że w badaniach Friedlander i Friedlander [1992] nie potwierdzono związku przyjmowania Ritalinu z intensywniejszą próchnicą zębów poprzez zmniejszone wydzielanie śliny, to jednak Hidas i wsp. [2011, 2013] w swoich badaniach wykazali znaczące różnice

w wydzielaniu śliny, wskaźników higieny jamy ustnej i próchnicy zębów pomiędzy dziećmi z ADHD, u których stosowano farmakoterapię Ritalinem, w porównaniu do tych bez farmakoterapii. Wykazali jednak, że poziom wydzielanej śliny nie był poniżej normy wskazującej na hiposaliwację, to jednak w porównaniu do grupy kontrolnej był znacząco mniejszy. Vafaei i wsp. [2018] natomiast w swoich badaniach potwierdzili, że dzieci z ADHD leczone pochodną metylofenidatu (Ritalin) mają mniejsze wydzielanie niestymulowanej śliny, wyższe wskaźniki próchnicy i płytki bakteryjnej w porównaniu do dzieci leczonych tylko terapią neurofeedbacku. Neurofeedback jest nieinwazyjną terapią bazującą na zapisie elektroencefalogramu (EEG) i polega na uczeniu się opartym na warunkowaniu instrumentalnym, w którym nagradza się pożądane zachowanie. Podczas neurofeedbacku dochodzi do stymulowania pożądanych i hamowania niepożądanych fal mózgowych. Neurofeedback znalazł szerokie zastosowanie w neurorehabilitacji [Walker i Kozłowski 2005].

## 2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Celem niniejszej pracy była identyfikacja czynników antropologicznych ryzyka otyłości u dzieci chorych na zespół ADHD, zbadanie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu SNP genu TCF7L2 dedykowanego dla oceny ryzyka cukrzycy typu 2, określenie napięcia psychicznego, aktywacji układu współczulnego i odpornościowego, na podstawie wybranych wskaźników neurobiologicznych, takich jak kortyzol, amylaza ślinowa, immunoglobulina IgA obecnych w ślinie oraz ocena stanu zdrowia jamy ustnej.

Aby zrealizować powyższe cele, podjęto próbę wyjaśnienia następujących zagadnień w oparciu o badania kliniczne, ankietowe i biochemiczne oraz odpowiedź na następujące pytania:

1. Czy dzieci chore na ADHD mają tendencję do zwiększonej masy ciała?
2. Czy polimorfizm pojedynczego nukleotydu SNP genu TCF7L2 dedykowanego dla oceny ryzyka cukrzycy typu 2 wykaże korelację z otyłością u dzieci z ADHD?
3. Czy u dzieci obciążonych ADHD dochodzi do zmian jakościowych śliny w odniesieniu do wybranych wskaźników neurobiologicznych, takich jak kortyzol, amylaza ślinowa, immunoglobulina IgA?
4. Czy u dzieci chorych na ADHD poziom tych biomarkerów jest powiązany ze stanem zdrowia ich jamy ustnej?
5. Jakie stomatologiczne potrzeby lecznicze występują u subpopulacji polskiej dzieci z zespołem ADHD?

Przyjętą hipotezą 0 w niniejszej pracy był brak różnic w badanych parametrach pomiędzy grupą badaną i porównawczą w zakresie zaburzeń w rozwoju biologicznym, odchyień w polimorfizmie nukleotydu SNP genu TCF7L2 oraz nieprawidłowości w stanie zdrowia jamy ustnej wskazujących na konieczność specjalistycznej opieki stomatologicznej. W przypadku potwierdzenia różnic będzie przyjęta hipoteza 1.



### 3. MATERIAŁ I METODY

Metodyka badań zakładała zastosowanie nieinwazyjnych metod badania: badanie kliniczne jamy ustnej oraz pobranie śliny jako materiału badawczego od osób biorących udział w projekcie, co jest ważnym aspektem w przypadku badania dzieci.

Protokół badań został opracowany zgodnie z zasadami *Good Clinical Practice* GCP [Guideline for Good Clinical Practice 1996] i zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 26/2018 z dnia 4.01.2018). Wszystkie dzieci biorące udział w projekcie zostały poinformowane o celach i rodzajach badań, a ich opiekunowie prawni/przedstawiciele ustawowi wyrazili pisemną zgodę na ich przeprowadzenie.

#### 3.1. Charakterystyka badanej grupy

##### Grupa badana

Badaniem początkowo zostało objętych 45 dzieci z rozpoznaniem zaburzeń ADHD zrekrutowanych w poradniach psychologiczno-pedagogicznych północno-zachodniej części kraju, mieszkających na stałe w tej części Polski, zgodnie z kryteriami diagnostycznymi ICD-10, DSM-IV oraz DSM-V. W trakcie badań rodzice jednego dziecka odstąpili od wcześniej wyrażonej zgody na udział w projekcie. Wśród pięciu dzieci nie udało się nawiązać współpracy w gabinecie stomatologicznym, przeprowadzić badania podmiotowego i przedmiotowego oraz pobrać próbki śliny. Ostatecznie do grupy badanej zakwalifikowano 39 dzieci w wieku 6-11 lat ( $X=8,8$ ,  $SD=1,2$ ), w tym 31 chłopców (79,5% ogółu grupy badanej) i 8 dziewcząt (20,5% ogółu grupy badanej).

##### Grupa kontrolna

Badaniem została objęta grupa 80 zdrowych dzieci w wieku 6-10 lat ( $X=8,0$ ,  $SD=1,1$ ), w tym 41 chłopców (51,3% ogółu grupy kontrolnej) i 39 dziewcząt (48,7% ogółu grupy kontrolnej) zrekrutowanych wśród uczniów szkół podstawowych (po wyrażeniu zgody przez dyrektorów szkół) oraz pacjentów gabinetu stomatologicznego na tym samym obszarze kraju. W pierwszym etapie podczas szkolnego zebrania informowano rodziców o planowanym

projekcie badawczym i proponowano udział dzieci w badaniu. Szczegółowo przedstawiano cel badania i warunki uczestnictwa.

Rekrutacja dzieci w gabinecie stomatologicznym odbywała się podczas wizyt kontrolnych lub planowych. Po przedstawieniu rodzicom celu projektu i warunków uczestnictwa proponowano udział w badaniu podczas kolejnej wizyty.

Wszystkie dzieci były włączane do badań po wyrażeniu pisemnej zgody opiekunów prawnych i współzgody osób badanych. Wszystkich pacjentów umawiano na wizyty w godzinach przedpołudniowych.

Podstawowym problemem badań w psychiatrii i stomatologii jest wyodrębnienie homogennych grup fenotypowych. Z tego względu wprowadzone zostały ściśle kryteria włączenia dzieci do niniejszych badań (tabela 1).

Tabela 1 . Kryteria włączenia do grupy badanej i kontrolnej oraz kryteria wyłączenia z obu grup

kryteria włączenia do grupy badanej ADHD	kryteria włączenia do grupy kontrolnej	kryteria wyłączenia z grupy badanej i kontrolnej
dzieci obojga płci w wieku 6-11 lat	dzieci obojga płci w wieku 6-11 lat 11	dzieci z organicznym uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego (np. padaczka, poważne urazy i infekcje OUN)
dzieci z rozpoznaniem ADHD w oparciu o kryteria diagnostyczne ICD-10, DSM-IV, DSM-V (diagnoza potwierdzona przez dwóch psychiatrów), z wykorzystaniem ustrukturalizowanego wywiadu	brak zaburzeń psychicznych – ocena z wykorzystaniem kwestionariusza MINI-Kid [Mazurek i wsp. 2006]	współistniejąca: schizofrenia, choroba afektywna dwubiegunowa, jakiegokolwiek poważne zaburzenia somatyczne
utrzymywanie się zaburzenia powyżej 6 miesięcy	zgoda rodziców/opiekunów prawnych	leczenie farmakologiczne mogące wpływać na zachowanie i funkcje poznawcze
dzieci bez obciążeń rodzinnych zaburzeniami psychicznymi (krewni I stopnia)		przewlekłe choroby somatyczne
zgoda rodziców/opiekunów prawnych		brak zgody rodziców/opiekunów prawnych

### 3.2. Badania kliniczne – ankiety, kwestionariusze i skale

W celu oceny zdrowia i jakości życia badanych oraz ekspozycji na stresujące wydarzenia posłużono się kwestionariuszami ankiet.

W obu grupach pierwszą wypełnianą ankietą była Ankieta Rodzica, która zawierała pytania dotyczące wieku i wykształcenia rodziców, ich pracy, statusu socjo-ekonomicznego rodziny, przebiegu ciąży, zdrowia dziecka, posiadanego rodzeństwa, okresu karmienia piersią, przebytych chorób oraz stresujących dla dziecka sytuacji w przeciągu ostatniego roku (załącznik nr 1).

Następnie badający lekarz podczas indywidualnej rozmowy z rodzicami i osobami badanymi wypełnił na podstawie ich odpowiedzi ankietę dotyczącą historii opieki stomatologicznej, częstotliwości wizyt kontrolnych oraz nawyków dietetycznych i żywieniowych ukierunkowanych na zdrowie jamy ustnej (załącznik nr 2).

### **3.3. Badanie stanu zdrowia jamy ustnej na podstawie wskaźników epidemiologicznych**

Badanie przedmiotowe jamy ustnej przeprowadzono w Specjalistycznych Gabinetach Stomatologicznych w Bydgoszczy i w Mroczy, z zachowaniem zasad aseptyki, używając sterylnych pakietów diagnostycznych narzędzi stomatologicznych w świetle lampy unitu stomatologicznego. Pakiety zawierały: końcówkę strzykawko-dmuchawki, lusterko stomatologiczne, zgłębnik, jałowe gaziki. W trakcie badania używano jednorazowych rękawiczek i maseczek ochronnych. Metodyka badań obejmowała stomatologiczne badanie przedmiotowe, oceniające występowanie zmian w obrębie tkanek twardych i błony śluzowej jamy ustnej. Wyniki nanoszono na przygotowaną autorską kartę badań (załącznik nr 3). Stan tkanek twardych jamy ustnej, dziąseł i poziom higieny jamy ustnej oceniano zgodnie z kryteriami Światowej Organizacji Zdrowia [WHO, Oral Status/Euro, Oral Health Surveys, Basic Data, 1997] z zastosowaniem następujących wskaźników stomatologicznych:

- wskaźnik płytki nazębnej (PCR, *Plaque Control Record*), [O'Leary i wsp. 1972]
- wskaźnik dziąsłowy (GI, *Gingival Index*), [Löe, Silness 1963]
- puwz - suma zębów mlecznych z próchnicą, zębów mlecznych usuniętych i wypełnionych z powodu próchnicy [Klein, Palmer, Knutson, 1938]
- PUWZ - suma zębów stałych z próchnicą, zębów usuniętych i wypełnionych z powodu próchnicy [Klein, Palmer, Knutson, 1938]
- ICDAS II - Międzynarodowy System Oceny i Wykrywania Próchnicy (*International Caries Detection and Assessment System*) [Ismail i wsp. 2007, [www.iccms-web.com](http://www.iccms-web.com)]

## OPIS WSKAŹNIKÓW

**PCR** (*Plaque Control Record*) jest wskaźnikiem określającym obecność płytki bakteryjnej naddziąsłowej w dokładnej skali procentowej. Ocenia się występowanie płytki nazębnej na wszystkich czterech powierzchniach zębów (mezjalnej, dystalnej, przedsionkowej i językowej) stawiając znak „+” (tak) w przypadku stwierdzenia obecności płytki lub znak „-” (nie) przy jej braku. Następnie liczbę powierzchni z płytką dzieli się przez liczbę wszystkich zbadanych powierzchni i mnoży przez 100%. Otrzymuje się procentowo wyrażony wynik odzwierciedlający stan higieny jamy ustnej. Wskaźnik PCR stosuje się w badaniach klinicznych i epidemiologicznych [Knychalska-Karwan 2006, Rateitschak i wsp. 2006].

**GI** (*Gingival Index*) określa stan dziąseł [Löe i Silness 1963]. Stosując wskaźnik GI można podzielić stany zapalne dziąsła na trzy stopnie (tabela 2). Pomiarów dokonuje się na powierzchni przedsionkowej, językowej, mezjalnej oraz dystalnej wybranych zębów, z sześciu różnych sekstantów. Objaw krwawienia pojawia się od stopnia 2.

Tabela 2. Opis wskaźnika GI [Rateitschak i wsp. 2006]

stopień	charakterystyka
0	normalne dziąsło, nieobecny stan zapalny, brak przebarwień, brak krwawienia
1	nieznaczne nasilenie stanu zapalnego, ograniczone przebarwienie, nieznaczna zmiana powierzchni, brak krwawienia
2	przeciętne nasilenie stanu zapalnego, zaczerwienienia i obrzęku, krwawienie podczas sondowania i w następstwie ucisku
3	znaczne nasilenie stanu zapalnego, intensywne zaczerwienienie i obrzęk, tendencja do samoistnego krwawienia, ewentualnie owrzodzenie

Wskaźnik GI został zaproponowany ze względu na jego praktyczne zastosowanie dla celów epidemiologicznych [Rateitschak i wsp. 2006]. Wartości GI uzyskane dla poszczególnych powierzchni zostały dodane i podzielone przez liczbę badanych powierzchni zębów.

## **PUWZ i puwz**

Stan twardych tkanek zębów pod kątem zmian próchnicowych oceniono na podstawie intensywności próchnicy zębów mlecznych i stałych PUWZ/puwz (DMFT) [Klein, Palmer, Knutson, 1938]. Wartość (liczba) PUWZ/puwz jest sumą składowych (P + U + W dla zębów stałych oraz p + u + w dla zębów mlecznych). Liczba ta przedstawia dotychczasową historię próchnicy i jej aktualną intensywność, nie wskazując jednak na aktywność. Może być obliczana dla jednej lub więcej osób.

PUWZ/puwz przedstawiana jest wartością liczbową, gdzie:

P/p - to liczba zębów stałych/mlecznych z jednym lub kilkoma ubytkami próchnicy pierwotnej i / lub wtórnej na powierzchni żującej lub gładkiej zęba, do próchnicy nie kwalifikuje się zębów z plamami i przebarwieniami innego pochodzenia oraz niedorozwojem szkliwa

U/u - to liczba zębów stałych/mlecznych usuniętych z powodu próchnicy

W/w - to liczba zębów stałych/mlecznych z jednym lub więcej wypełnieniami, bez próchnicy wtórnej.

**ICDAS II** (Międzynarodowy System Oceny i Wykrywania Próchnicy, *International Caries Detection and Assessment System*) jest klinicznym systemem punktowym, który pozwala wykrywać i klasyfikować stopień zaawansowania zmiany próchnicowej oraz oceniać jej aktywność. Został opracowany dla celów epidemiologicznych i klinicznych, a także w celu szacowania rozwoju lub zatrzymania choroby próchnicowej oraz do oceny działań profilaktycznych [Dikmen 2015, Ismail i wsp. 2007].

System ten może być stosowany do oceny powierzchni koron lub korzeni zębów i w przeciwieństwie do innych systemów klasyfikuje również zmiany w obrębie szkliwa, które nie są ubytkami.

System ICDAS II bada zmienione powierzchnie oraz ocenia potencjalną głębokość zmiany próchnicowej (tabela 3).

Tabela 3. Kryteria oceny ICDAS II [Ismail i wsp. 2007]

kod	charakterystyka
0	ząb zdrowy: brak zmiany w translucencji szkliwa po osuszeniu przez 5 sekund; hipoplazja, fluoroza, abrazja, erozja oraz zewnątrz- i wewnątrzpochodne przebarwienia są zapisywane jako

	zdrowa powierzchnia
<b>1</b>	pierwsza wizualna zmiana szkliwa: bruzda/dołek oglądany bez osuszenia (na mokro) wygląda prawidłowo, ale po osuszaniu przez 5 sekund (prowadzącym do dehydratacji) ujawnia próchnicową nieprzezierność (białą lub brązową)
<b>2</b>	wyraźnie dostrzegalna zmiana na osuszonym szkliwie: ząb oceniany bez osuszenia wykazuje nieprzezierność (biała plama próchnicowa) i/ lub brązowe przebarwienie próchnicowe, które jest szersze niż naturalna bruzda/dołek i niezgodne z klinicznym obrazem zdrowego szkliwa
<b>3</b>	zlokalizowane odłamanie szkliwa z powodu próchnicy bez dostrzegalnej zębiny lub leżącego poniżej zaciemnienia: wilgotny ząb wykazuje wyraźną nieprzezierność próchnicową (biała plama) i/lub brązowe przebarwienie próchnicowe; po osuszeniu przez 5 sekund utrata struktury szkliwa przy wejściu lub wewnątrz dołka/bruzdy jako wizualnie dostrzegalna demineralizacja (ściany bruzdy/dołka nieprzeziernie, białe, brązowe lub ciemnobrązowe); brak przerwania ciągłości całego szkliwa, zębina nie jest dostrzegalna na ścianie lub dnie; po przesunięciu delikatnie zgłębnikiem zakończonym kuleczką wzdłuż bruzdy lub dołka, wpada on w ubytek szkliwa
<b>4</b>	ciemny cień zębiny leżącej pod miejscowo odłamanym lub nienaruszonym szkliwem; zmiana wygląda jak zaciemnienie powierzchni z nienaruszonym szkliwem, może też wykazywać zlokalizowane odłamanie szkliwa (przy czym utrata ciągłości szkliwa nie odsłania zębiny); cień zębiny jest łatwiej dostrzegalny na wilgotnym zębie; zaciemnienie wynika z zabarwienia (koloru szarego, niebieskiego lub brązowego) zmienionej próchnicowo zębiny, która prześwieca przez szkliwo
<b>5</b>	wyraźny ubytek z dostrzegalną zębina; ubytek w nieprzeziernym lub przebarwionym szkliwie odsłania zębina; przy oglądaniu zęba bez osuszenia stwierdza się utratę struktury zęba przy wejściu lub wewnątrz dołka/bruzdy; dostrzega się także demineralizację (nieprzeziernie białe, brązowe lub ciemnobrązowe ściany) i odsłoniętą zębina; obecność ubytku w zębina zostaje potwierdzona, gdy kuleczka zgłębnika wchodzi w ubytek (w dołkach i szczelinach grubość szkliwa wynosi 0,5-1mm)
<b>6</b>	rozległy ubytek z dostrzegalną zębina: wyraźna utrata struktury zęba, ubytek jest zarówno głęboki, jak i szeroki; zębina dostrzegalna jest na ścianach i dnie ubytku; ubytek obejmuje co najmniej ½ powierzchni zęba lub może sięgać miazgi

### **3.4. Pobranie próbek śliny całkowitej z jamy ustnej**

Zbieranie próbek śliny przeprowadzono w godzinach porannych, pomiędzy godziną 8.00 a 11.00, po upływie około 90 minut od ostatniego posiłku i wykonywania zabiegów higienicznych w jamie ustnej. Każde dziecko przed zbieraniem próbek śliny przepłukało jamę ustną wodą, następnie po upływie 5 minut rozpoczynano kolekcjonowanie śliny. Podczas pobierania dziecko znajdowało się w oddzielnym pomieszczeniu. Zbieranie próbek śliny niestymulowanej odbywało się przez około 15 minut. Podczas zbierania próbek dzieci zajmowały pozycję siedzącą w kierunku lekkiego pochylenia tułowia do przodu, unikając stymulacji bodźcami zewnętrznymi. Dzieci poinstruowano uprzednio, aby po rozpoczęciu badania, nie przetykały śliny i pozwalały jej spływać do kalibrowanych, cylindrycznych probówek.

Próbki pełnej śliny spoczynkowej w ilości około 3-5 ml były odwirowywane z prędkością 4500 obrotów/minutę przez 15 minut (Labofuge 200, Heraeus Sepatech, Germany), następnie przenoszono pipetą automatyczną do kodowanych probówek typu Eppendorf objętość ok. 1,5 ml supernatantu śliny. Bezpośrednio po przygotowaniu próbek zamrażano je w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . W ciągu kolejnych 2 tygodni, w pojemniku chłodzącym, probówki Eppendorf transportowano do laboratorium w Zakładzie Genetyki Klinicznej na Wydziale Lekarskim Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, gdzie zamrażano je do temperatury  $-80^{\circ}\text{C}$  i przechowywano do czasu wykonania oznaczeń biochemicznych.

#### **3.4.1. Pobranie próbek z jamy ustnej do badań genetycznych**

Do analizy genetycznej pobierano dwukrotnie wymaz z błony śluzowej policzków przy użyciu standardowych wymazówek, które następnie zamrażano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$  i przekazywano po około 2 tygodniach do laboratorium Katedry Genetyki Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

U części pacjentów z grupy badanej analizę genetyczną wykonano z próbek śliny zebranej do osobnych zestawów Oragene-DNA OG-500 (DNAGenotek), z których DNA izolowano według instrukcji podanej przez producenta. Zebrany materiał był przechowywany w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$  do czasu izolacji. Następnie izolat DNA zamrażano w  $-20^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania analiz genotypowania, które wykonano również w laboratorium Katedry Genetyki Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

### 3.5. Opis testów laboratoryjnych

Analizy wybranych składników śliny i poziomu kortyzolu dokonano w laboratorium Zakładu Genetyki Psychiatrii, Katedry Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Analiza biochemiczna śliny od grupy badanej i kontrolnej obejmowała oznaczenie:

- stężenia wolnego kortyzolu w ślinie całkowitej
- stężenia immunoglobuliny IgA w ślinie całkowitej
- stężenia  $\alpha$ -amylazy ślinowej w ślinie całkowitej

Analizę genetyczną polimorfizmu pojedynczego nukleotydu SNP rs7903146 genu Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) dokonano w laboratorium przy Katedrze Genetyki Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

#### 3.5.1. ELISA – test immunoenzymatyczny

ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) jest ilościowym testem immunoenzymatycznym opartym o fazę stałą, który służy do oznaczenia stężenia antygeny w badanej próbce z wykorzystaniem barwników fluorescencyjnych.

Określenia poziomu stężenia wolnego kortyzolu, immunoglobuliny typu A (IgA) oraz alfa-amylazy w ślinie dokonano przy użyciu odpowiednio dedykowanych testów immunoenzymatycznych zgodnie z instrukcjami producenta. Odczytu gęstości optycznej dokonano przy użyciu czytnika spektrofotometrycznego (*Biochrom Asys UVM 340 Microplate Reader*), dla długości fali 450 nm  $\pm$  10 nm niezwłocznie po zastopowaniu reakcji barwnej. Wszystkie oznaczenia wykonano w dwóch powtórzeniach. Do oceny statystycznej wykorzystano średnią z dwóch pomiarów. Założono, że w przypadku różnicy pomiędzy pomiarami gęstości optycznej większej niż 10% dla pojedynczej próbki, wynik nie będzie uwzględniany w analizie statystycznej. Stężenia w próbkach badanych wyliczono stosując 4-parametrowy algorytm (*4 parameter logistic*).



### **3.5.2. Test kompetencyjny – Cortisol free in Saliva ELISA Kit, DEMEDITEC, nr kat. DES6611**

W badaniach własnych zastosowano test kompetencyjny - *Cortisol free in Saliva* ELISA Kit, DEMEDITEC, nr kat DES6611.

Studzienki płytki zostały opłaszczane króliczymi przeciwciałami poliklonalnymi przeciwko cząsteczkom kortyzolu. Endogenny kortyzol zawarty w próbach pacjentów konkuruje z kortyzolem skoniugowanym z polimerem peroksydazy chrzanowej o wiązanie do przeciwciał związanych na płycie. Im mniej przeciwciał wyznakowanych połączy się z antygenem, tym słabszą reakcję barwną zaobserwujemy.

Czułość metody oznaczania wolnego kortyzolu wynosi 0,014 ng/ml, natomiast górna granica wykrywanego stężenia w stosowanym teście wynosi 30 ng/ml. W celu wykonania krzywej kalibracyjnej przygotowywano szereg rozcieńczeń standardu: 30 ng/ml, 7 ng/ml, 1,7 ng/ml, 0,4 ng/ml, oraz 0,1 ng/ml. Ponadto do każdego szeregu oznaczeń włączano kontrole wzorcowe o niskim (*QC Low*) i wysokim stężeniu kortyzolu (*QC High*). Protokół wykonania analizy obejmował następujące etapy:

1. Do zagłębień płytki polistyrenowej opłaszczonej przeciwciałami skierowanymi przeciwko poszukiwanym cząsteczkom kortyzolu dodano po 100 µl standardów, blanku, prób wzorcowych oraz prób badanych.
2. Następnie dodano do wszystkich studzienek 50 µl koniugatu kortyzolu i polimeru peroksydazy chrzanowej (*poly-HRP*).
3. Próby poddano godzinnej inkubacji w temperaturze 4°C (na wytrząsarce).
4. Przeprowadzono trzykrotne płukanie buforem płuczącym (300 µl na studzienkę).
5. Dodano po 200 µl substratu reakcji barwnej, tetrametylobenzydyny (TMB).
6. Próby poddano 30-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej w ciemności.
7. Zahamowano reakcję barwną poprzez dodanie 50 µl roztworu kwasu.

### **3.5.3. Test podwójnego wiązania - Secretory IgA in human biological fluids ELISA Kit, DEMEDITEC, nr kat. DEXK276**

Podczas prowadzonych badań zastosowano test podwójnego wiązania (kanapkowy) -*Secretory IgA in human biological fluids ELISA Kit, DEMEDITEC, nr kat. DEXK276*.

Studzienki płytki zostały opłaszczane mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko ludzkiej immunoglobulinie sekrecyjnej klasy IgA. Badane antygeny zostają związane z przeciwciałami, którymi została opłaszczona płytka. Niezwiązane antygeny zostają usunięte w trakcie płukania. Następnie dodawane jest drugie przeciwciało (mysie przeciwciało monoklonale przeciwko łańcuchom alfa ludzkiej immunoglobuliny sekrecyjnej IgA) wyznakowane przez enzym peroksydazy chrzanowej. Następnie roztwór substrat/chromofor jest dodawany na płytkę, a enzym katalizuje reakcję i obserwujemy barwny produkt reakcji, który odczytujemy spektrofotometrycznie.

Czułość metody oznaczania IgA wynosi 1,2 µg/ml, natomiast górna granica wykrywanego stężenia w stosowanym teście wynosi 400 µg/ml. W celu wykonania krzywej kalibracyjnej przygotowywano szereg rozcieńczeń standardu: 2 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml, 100 ng/ml, oraz 400 µg/ml. Ponadto do każdego szeregu oznaczeń włączano kontrolę pozytywną. Protokół wykonania analizy obejmował następujące etapy:

1. Do zagłębień płytki polistyrenowej opłaszczonej przeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom IgA dodano po 100 µl standardów, blanku, kontroli oraz prób badanych rozcieńczonych w stosunku 1:100.
2. Próby poddano 90-minutowej inkubacji w temperaturze 37 °C.
3. Przeprowadzono trzykrotne płukanie buforem płuczącym (300 µl na studzienkę).
4. Następnie dodano do wszystkich studzienek 100 µl koniugatu przeciwciała drugorzędowego i polimeru peroksydazy chrzanowej (poly-HRP).
5. Próby poddano 30-minutowej inkubacji w temperaturze 37 °C.
6. Przeprowadzono pięciokrotne płukanie buforem płuczającym (300 µl na studzienkę).
7. Dodano po 100 µl substratu reakcji barwnej, tetrametylobenzydyny (TMB).
8. Próby poddano 20-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej w ciemności.
9. Zahamowano reakcję barwną poprzez dodanie 100 µl roztworu kwasu.

### **3.5.4. Test kompetencyjny – Alpha-Amylase Saliva ELISA Kit, DEMEDITEC, nr kat. DEEQ6231**

W prowadzonych badaniach posłużono się testem kompetencyjnym *Alpha-Amylase Saliva* ELISA Kit, DEMEDITEC, nr kat DEEQ6231.

Studzienki płytki zostały opłaszczone przeciw-króliczymi przeciwciałami. W pierwszej części reakcji na płytkę dodawane są razem: rozcieńczone próby pacjentów, koniugat alfa-amylazy i enzymu peroksydazy oraz specyficzne królicze przeciwciała poliklonalnych anti-alfa amylazy. Alfa-amylaza zawarta w próbach pacjentów konkuruje z przeciwciałami skoniugowanymi z peroksydazą o wiązanie do specyficznych przeciwciał. Im mniej przeciwciał wyznakowanych połączy się z antygenem, tym słabszą reakcją barwną zaobserwujemy.

Czułość metody oznaczania alfa-amylazy wynosi 3,6 U/ml, natomiast górna granica wykrywanego stężenia w stosowanym teście wynosi 500 Ug/ml. W celu wykonania krzywej kalibracyjnej przygotowywano szereg rozcieńczeń standardu: 500 U/ml, 200 U/ml, 80 U/ml, 30 U/ml, oraz 10 U/ml. Ponadto do każdego szeregu oznaczeń włączano kontrole wzorcowe. Protokół wykonania analizy obejmował następujące etapy:

1. Do zagłębień płytki polistyrenowej dodano po 20 µl standardów, blanku, prób wzorcowych oraz prób badanych rozcieńczonych w stosunku 1:200.
2. Następnie dodano do wszystkich studzienek 100 µl koniugatu alfa-amylazy z peroksydazą oraz 100 µl poliklonalnych przeciwciał anti-alfa amylazy.
3. Próby poddano godzinnej inkubacji w temperaturze 4 °C (na wytrząsarce).
4. Przeprowadzono trzykrotne płukanie buforem płuczącym (300 µl na studzienkę).
5. Dodano po 100 µl substratu reakcji barwnej, tetrametylobenzydyny (TMB).
6. Próby poddano 15-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej w ciemności.
7. Zahamowano reakcję barwną poprzez dodanie 100 µl roztworu kwasu.

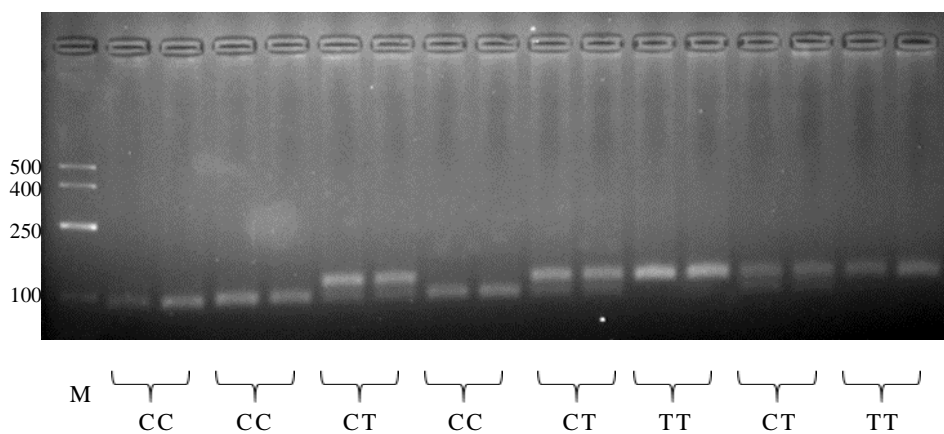
### 3.5.5. Przygotowanie próbek z jamy ustnej do badań genetycznych

Genomowe DNA z wymazówek izolowano przy użyciu zestawu GeneMATRIX Swab-Extract DNA Purification Kit wg protokołu producenta (EURx Sp. z o.o.) wymywając DNA z kolumny 50 µl buforu elucyjnego. Stężenie otrzymanego DNA sprawdzono w 16 losowo wybranych próbach poprzez pomiar absorbancji  $A_{260}$  - średnie stężenie DNA wynosiło 39,4 ng/µl. DNA przechowywano w -20°C.

PCR ze starterami aTCF7L2-for (5'TTAGAGAGCTAAGCACTTTTTAGGTA3') i aTCF7L2-rev (5'CTGACATTGACTAAGTTACTTGC3') zsyntetyzowanymi przez firmę GENOMED S.A. przeprowadzano w objętości 20 µl mieszaniny reakcyjnej. W jej skład wchodziły: 1 µl r-ru DNA; 2 µl 10× Pol buffer B (EURx Sp. z o.o.); po 0,5 ul 10 µM r-rów obu starterów; 0,8 µl 5 mM r-ru dNTP (EURx Sp. z o.o.); 14,2 µl sterylnej dejonizowanej H<sub>2</sub>O; 1 µl Color Taq DNA polymerase (EURx Sp. z o.o.). Wyjątek stanowiły 4 próby od uczestników badania z ADHD, w których stężenie izolowanego DNA izolowanego przekraczało 1 µg/µl – w tych przypadkach do reakcji PCR pobierano 0,5 µl r-ru DNA, a mieszaninę reakcyjną uzupełniano 0,5 µl H<sub>2</sub>O. Reakcję amplifikacji prowadzono w następujących warunkach: 94°C przez 3 min; 33 cykle: 94°C przez 30 s, 52°C przez 30 s, 72°C przez 30 s; 72°C przez 5 min. W razie potrzeby produkty reakcji PCR przechowywano w -20°C.

Całą objętość produktu reakcji PCR trawiono w objętości 25 µl ok. 1 jedn. enzymu restrykcyjnego RsaI (EURx Sp. z o.o.) w buforze dostarczonym przez producenta. Trawienie prowadzono w 37°C przez noc. Produkty trawienia i marker wielkości DNA (Perfect Plus 50-500 bp DNA Ladder, EURx Sp. z o.o.) rozdzielano elektroforetycznie w 3% żelu agarozowym z bromkiem etydyny w buforze TAE. Elektroforogramy archiwizowano w postaci zdjęć w UV (rycina 1).

Rycina 1 przedstawia zdjęcie w świetle UV przykładowego żelu z bromkiem etydyny po elektroforezie trawionych RsaI produktów PCR specyficznych dla fragmentu genu TCF7L2. Ścieżka M - marker wielkości DNA (po lewej stronie podano wielkości fragmentów wzorcowych w pz), w kolejnych parach ścieżek żelu trawione produkty PCR otrzymane na matrycy DNA od tej samej osoby z dwu wymazów z jamy ustnej podpisane oznaczonym genotypem polimorfizmu rs7903146. Produkt PCR i wariant T, pozbawiony miejsca cięcia dla RsaI, ma wielkość 116 pz, wariant C zostaje rozcięty na fragmenty 91 pz i (niewidoczny w żelu) 25 pz.



Rycina 1. Zdjęcie przykładowego elektroforogramu

### 3.6. Analiza statystyczna – opis

W pracy analizowano parametry, które były danymi ilościowymi na skali interwałowej oraz dane jakościowe na skali porządkowej lub skali nominalnej. Parametry ilościowe przedstawiono za pomocą średniej arytmetycznej±odchylenie standardowe, mediany, wartości maksymalnej i minimalnej oraz rozstępu kwartylowego (kwartył dolny Q1, kwartył górny Q3). Zmienne na skali porządkowej przedstawiono za pomocą mediany oraz wartości minimalnej i maksymalnej czy kwartyli. Dla danych jakościowych na skali porządkowej oraz nominalnej podano liczebność badanej cechy w analizowanym materiale z zapisem procentowym. Wybrane zmienne przedstawiono graficznie za pomocą wykresów „ramka-wąsy”, wykresów kołowych czy słupkowych.

Zgodność z rozkładem normalnym zmiennych na skali interwałowej badano testem Shapiro-Wilka, natomiast równość wariancji weryfikowano testem Levene'a. W przypadku braku zgodności z rozkładem normalnym lub danych na skali porządkowej stosowano testy nieparametryczne. Do porównania dwóch niezależnych grup użyto odpowiednio testu parametrycznego t Studenta, testu Welcha (brak równości wariancji) lub testu nieparametrycznego Manna-Whitneya. Zmienne na skali nominalnej (tabele wymiaru 2x2) analizowano za pomocą testu niezależności Chi-kwadrat Pearsona lub Chi-kwadrat z poprawką Yates'a. W przypadku tabeli wymiaru 3x2 zastosowano test Fishera-Freemana-Haltona.

Zależności między poszczególnymi parametrami badano stosując analizę współczynnika korelacji liniowej Pearsona lub współczynnika korelacji rangowej Spearmanna (dla skali porządkowej lub interwałowej bez spełnionego założenia o normalności rozkładu).

Analizę przeprowadzono za pomocą dwustronnych testów statystycznych na poziomie istotności  $\alpha=0,05$  w pakiecie statystycznym STATISTICA v.13.0 firmy StatSoft oraz przy pomocy pakietu StatXact v.11.0 firmy Cytel Studio [Stanisz 2006a; Stanisz 2006b].

Analiza statystyczna została wykonana w Katedrze i Zakładzie Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

## **4. WYNIKI BADAŃ**

### **4.1. Analiza statystyczna wyników badania**

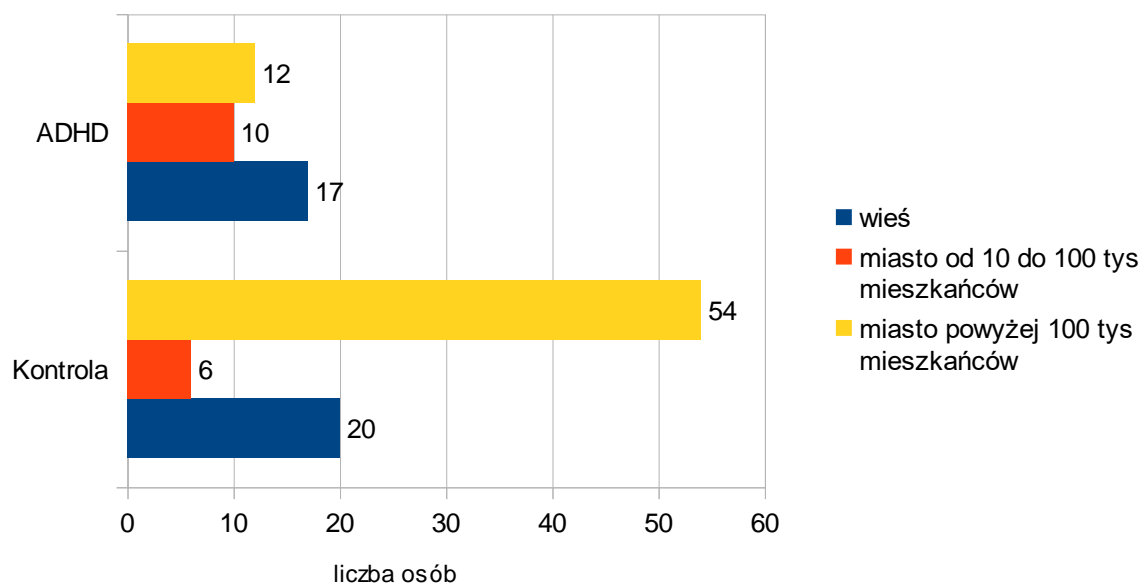
#### **4.1.1. Dane społeczno-ekonomiczne**

Na pytania zawarte w ankiecie rodzica odpowiedzi udzieliło 100% rodziców. Pośród wszystkich przebadanych dzieci, przeważającą część (55,5%) stanowiły rodziny mieszkające w miastach powyżej 100 tysięcy mieszkańców, 13,4 % osób biorących udział w badaniu, to mieszkańcy mniejszych i średnich miast, a pozostali badani to mieszkańcy wsi 31,1%.

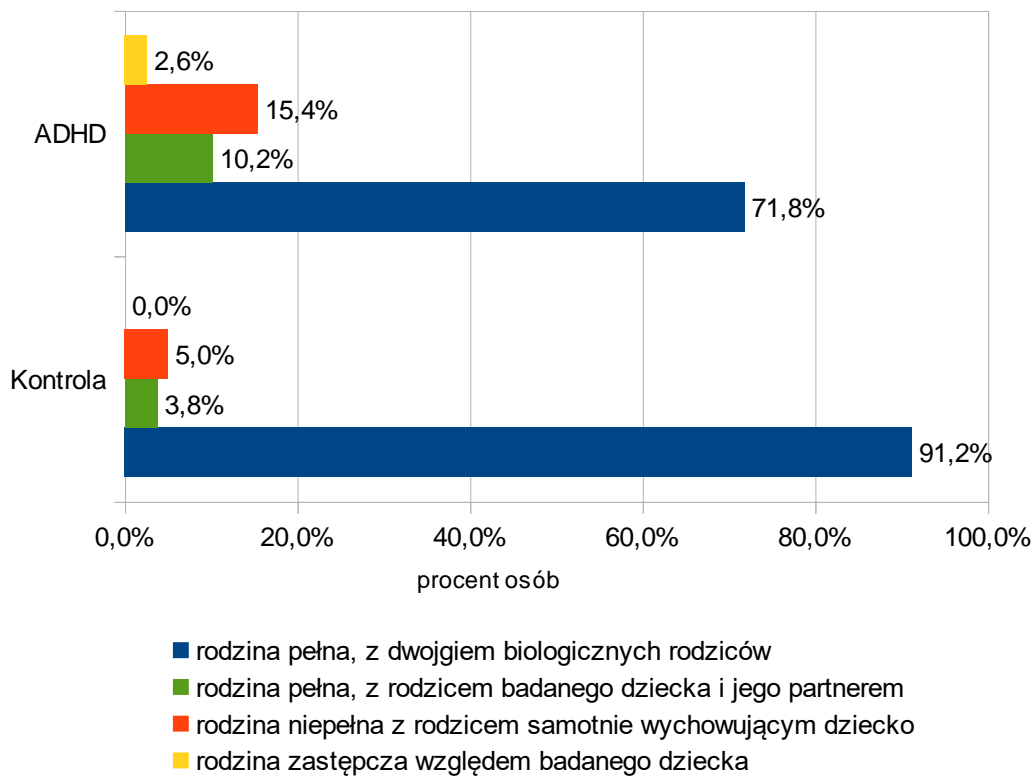
Charakterystyka rodzin w ankiecie rodzica odzwierciedlała aktualny układ sprawowanej opieki nad dzieckiem.

Wśród rodzin z dziećmi z ADHD dominowały rodziny pełne z dwojgiem biologicznych rodziców 71,8%. Odsetek rodzin z jednym rodzicem biologicznym dziecka i jego partnerem to 10,3%, a 15,4% stanowiły rodziny niepełne, z rodzicem samotnie wychowującym dziecko. W jednym przypadku rodzinę stanowiła rodzina zastępcza względem badanego dziecka.

W grupie kontrolnej również dominowały rodziny pełne z dwojgiem biologicznych rodziców 91,2%. Rodziny z jednym rodzicem biologicznym dziecka i jego partnerem stanowiły 3,8%, a rodziny niepełne, z rodzicem samotnie wychowującym dziecko - 5%. Zestawienie danych z Ankiety Rodzica dotyczących miejsca zamieszkania badanych oraz charakterystykę rodzin w obu grupach przedstawiono na rycinie 2 i 3



Rycina 2. Miejsce zamieszkania dzieci z grupy badanej i kontrolnej



Rycina 3. Charakterystyka rodzin grupy badanej i kontrolnej



#### 4.1.2. Dane okołoporodowe

Ankietowani rodzice odpowiadali także na pytania związane z ciążą i okresem okołoporodowym badanych dzieci. Medyczne informacje bardzo często były pozyskiwane z książeczki zdrowia dziecka, którą rodzic posiadał podczas wizyty w gabinecie stomatologicznym.

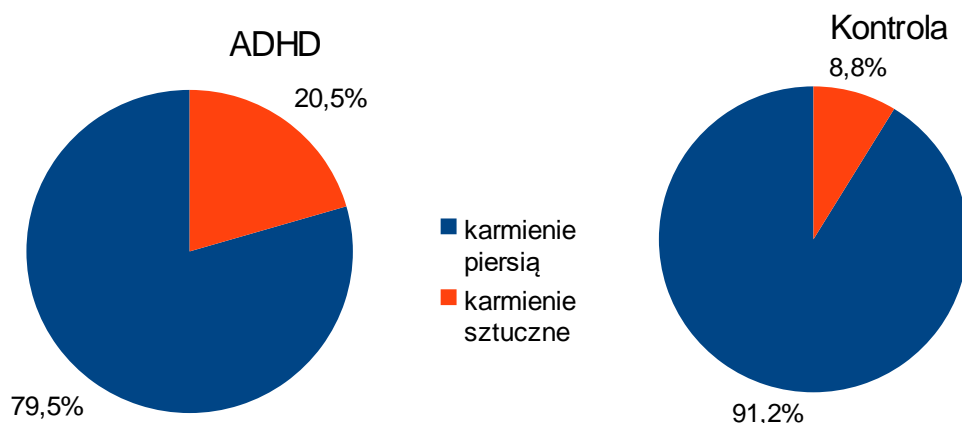
W grupie badanej przebieg ciąży u 30 matek (76,9%) badanych dzieci przebiegł prawidłowo, a u 9 kobiet (23,1%) ciąża była powikłana (rycina 6).

Ankietowanych zapytano także o jedną z ważniejszych kwestii w prowadzonych badaniach, czyli o przeżywany przez matkę stres w czasie ciąży lub obecność w tym okresie problemów emocjonalnych. 51,3% ankietowanych matek uważało, że nie doświadczyło długotrwałego i silnego stresu oraz nie przeżywało problemów emocjonalnych. Natomiast 43,6% pytanym matek było zdania, że w ciąży z pewnych względów, przeżywały długotrwały i silny stres lub miało istotne problemy emocjonalne (rycina 7). Dwie matki (5,1%) na pytanie o przeżywany w ciąży stres i obecne problemy emocjonalne udzieliły odpowiedzi: nie wiem. Matki badanych dzieci mające poród naturalny wśród ankietowanych to 25 kobiet (64,1%), 13 kobiet (33,3%) rodziło przez cesarskie cięcie, a u 1 matki (2,6%) poród przebiegł z użyciem próżnościagu. Rycina 5 przedstawia rodzaj porodu z podziałem na naturalny i wspomagany.

Wszyscy ankietowani udzielili odpowiedzi na pytanie *W którym tygodniu ciąży urodziło się dziecko?* W prowadzonych badaniach średnia dotycząca tygodnia porodu wynosiła 39,2. Podczas przeprowadzania ankiety stwierdzono, że nie w każdej książeczce zdrowia dziecka była podana punktacja w skali Apgar w pierwszej, trzeciej, piątej oraz dziesiątej minucie życia noworodka. Najwięcej danych, bo aż 25 badanych dzieci miało zaznaczoną punktację w skali Apgar w 1 minucie. W trzeciej minucie - 16 osób, w piątej - 18, a w dziesiątej minucie - 15 dzieci (tabela 5).

W Ankiecie Rodzica wszystkie osoby z grupy badanej podały masę urodzeniową dziecka. Ankietowani rodzice podali liczbę miesięcy, przez które ich dzieci były naturalnie karmione piersią. Średnia wyniosła 6,6 miesiąca z maksimum na poziomie 36 miesięcy.

Dane dotyczące punktacji w skali Apgar zostały przedstawione w tabeli 5, a rodzaju karmienia na rycinie 4.



Rycina 4. Porównanie rodzaju karmienia dziecka w okresie noworodkowym i niemowlęcym dla obu grup (p=0,128)

W grupie kontrolnej przebieg ciąży u 75 matek (93,8%) badanych dzieci przebiegł prawidłowo, a u 5 kobiet (6,2%) lekarz stwierdził powikłania (rycina 6).

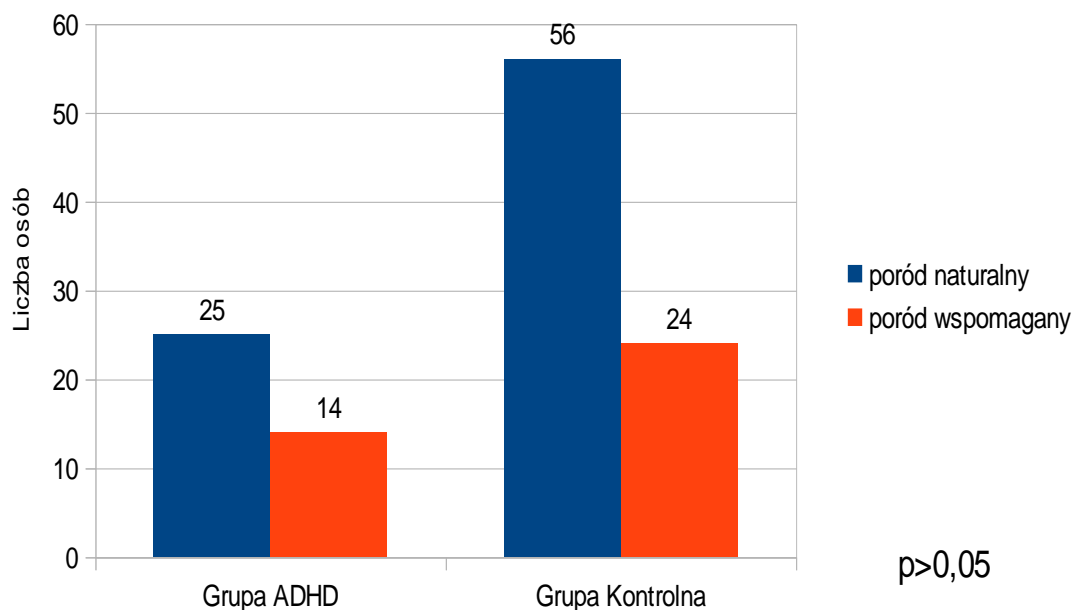
Na pytanie o przeżywany w ciąży silny i długotrwały stres lub występowanie w ciąży problemów emocjonalnych 23 matki (28,8%) udzieliły odpowiedzi twierdzącej, a 57 matek (71,2%) zaprzeczyło występowaniu stresujących przeżyć w okresie ciąży (rycina 7).

Matki mające poród naturalny wśród ankietowanych to 56 kobiet (70%), a 24 kobiety (30%) rodziły przez cesarskie cięcie (rycina 5).

W grupie kontrolnej średnia dotycząca tygodnia porodu wynosiła 39,5. Dane dotyczące punktacji w skali Apgar przedstawiono w tabeli 5. Najwięcej danych, bo aż u 67 badanych dzieci zaznaczono punktację w skali Apgar w pierwszej minucie, w trzeciej minucie u 39, w piątej u 56, a w dziesiątej minucie u 45 dzieci.

Informacje dotyczące rodzaju karmienia dziecka przedstawiono na rycinie 4.

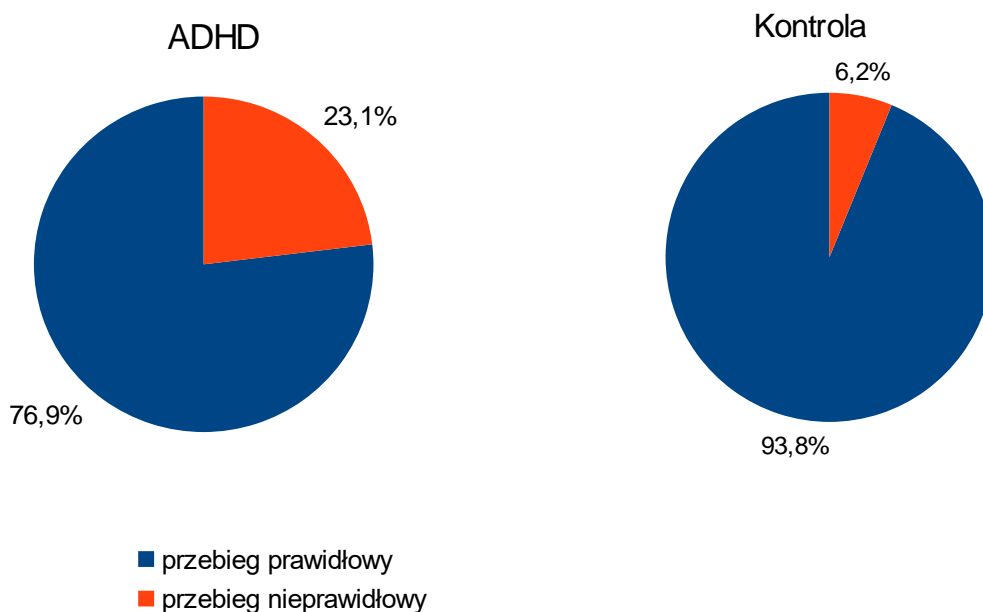
Ankieta zawierała również pytanie o liczbę miesięcy, przez które ich dzieci były naturalnie karmione piersią. Średnia wyniosła 5,5 miesiąca z maksimum na poziomie 18 miesięcy. W Ankiecie Rodzica wszystkie osoby z grupy kontrolnej podały masę urodzeniową dziecka.



Rycina 5. Rodzaj porodu w obu grupach ( $p > 0,05$ )

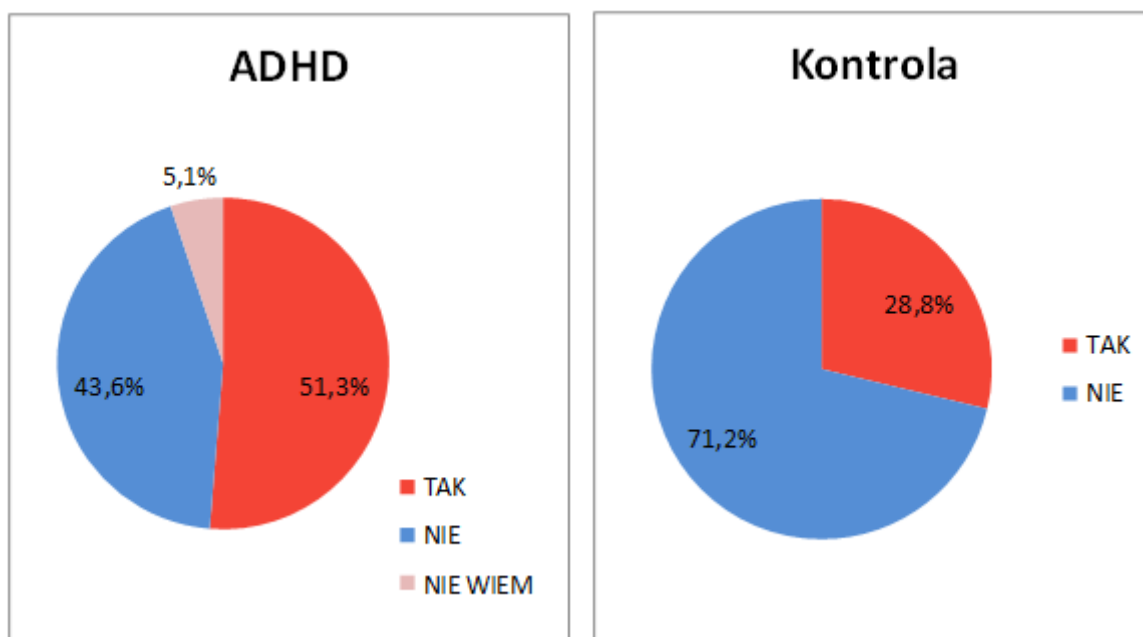
Wykazano brak zależności między rozpoznaniem ADHD u dzieci a przebytych rodzajem porodu (naturalny/wspomagany). Liczba odpowiedzi w grupie kontrolnej (30% - poród wspomagany, 70% - naturalny) nie różni się istotnie ( $p > 0,05$ ) od odpowiednich odpowiedzi w grupie ADHD (36% - wspomagany, 64% - naturalny, ), (rycina 5).

Natomiast porównanie obu grup wykazało istotną różnicę między grupą ADHD, a grupą kontrolną dotyczącą przebiegu ciąży ( $p = 0,018$ ). Liczba ciąż nieprawidłowych w grupie kontrolnej (6,2%, 5 ciąż z 80) różni się istotnie od liczby ciąż z nieprawidłowym przebiegiem u matek dzieci z ADHD (9 z 39, co stanowi 23,1%). Dowodzi to istotnej korelacji między wystąpieniem ADHD u dzieci a przebiegiem ciąży ich matek (rycina 6).



Rycina 6. Porównanie przebiegu ciąży w obu grupach ( $p=0,018$ )

Na podstawie danych o stanie emocjonalnym w czasie ciąży matek dzieci z ADHD i grupy kontrolnej, liczba odpowiedzi na TAK (przeżycie silnego stresu w ciąży lub problemy emocjonalne) w grupie kontrolnej (23 osoby z 80, stanowi to 28,8%) różni się istotnie od takich odpowiedzi w grupie ADHD (20 z 39 tj. 51,3%). Zatem istnieje zależność między wystąpieniem ADHD u dzieci a występowaniem znaczącego stresu psychicznego u kobiet w czasie ciąży ( $p<0,05$ ), (rycina 7).



Rycina 7. Porównanie występowania sytuacji stresujących w ciąży w obu grupach ( $p=0,003$ )

Wykazano zależność pomiędzy wystąpieniem ADHD u dzieci a występowaniem w ciąży stresowych sytuacji i problemów emocjonalnych ( $p = 0,003$ ).

Ze względu na to, że dwie matki z grupy badanej na pytanie o stresujące wydarzenia w ciąży odpowiedziały „nie wiem” dokonano również analizy statystycznej na grupie badanej  $n=37$ , bez uwzględnienia odpowiedzi „nie wiem”. Także w tym przypadku analiza wykazała istotne różnice  $p=0,008$  (tabela 4).

Tabela 4. Analiza w obu grupach występowania sytuacji stresujących w ciąży lub problemów emocjonalnych bez odpowiedzi „nie wiem” ( $p=0,008$ )

Sytuacje stresujące w ciąży/problemy emocjonalne		ADHD n=37	Kontrola n=80
tak	ilościowo	20	23
	%	54,1%	28,8%
nie	ilościowo	17	57
	%	45,9%	71,2%

Tabela 5. Parametry noworodkowe i punktacja w skali Apgar w pierwszych minutach życia u dzieci obu grup

Grupa		ADHD n=39	Kontrola n=80	p-wartość
Parametr				
Długość ciąży [tyg]		39,2±1,9*	39,4±1,8*	p=0,194
Masa urodzeniowa [kg]		3508,1±584,8*	3449,6±597,3*	p=0,637
Długość karmienia [ms]		6,6±8,0* 4,0 (0-36)**	5,55±4,1* 5,5 (0-18)**	p=0,559
Apgar	1 min	10,0 (2-10)**	10,0 (2-10)**	p=0,727
	3 min	10,0 (2-10)**	10,0 (2-10)**	p=0,861
	5 min	10,0 (2-10)**	10,0 (2-10)**	p=0,935
	10 min	10,0 (2-10)**	10,0 (2-10)**	p=0,826

\*Średnia ± odchylenie standardowe

\*\*Mediana (min-max)

#### 4.1.3. Ocena aktualnego rozwoju fizycznego dzieci

Ocena aktualnego rozwoju biologicznego dzieci przeprowadzona na podstawie pomiarów ciała wykazała istotne różnice w masie ciała, obwodzie bioder oraz indeksie BMI (odpowiednio  $p=0,008$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,016$ ), (tabela 6 oraz ryciny 8, 9, 10). Pozostałe parametry: wzrost i obwód talii nie wykazały znaczących różnic (odpowiednio  $p=0,103$ ,  $p=0,365$ ), (tabela 6 i 7).

Tabela 6. Statystyka opisowa wybranych zmiennych opisujących parametry antropologiczne grupy ADHD i kontrolnej

Grupa Parametr	ADHD n=39	Kontrola n=80	p-wartość
Wiek [lata]	8,8±1,2*	8,0±1,1*	ns
Wysokość ciała [cm]	135,6±7,6*	132,9±8,5*	0,103
Masa ciała [kg]	33,6±10,3*	29,3±6,4*	0,008
BMI	18,1±4,1*	16,3±2,1*	0,016
Obwód pasa [cm]	63,3±11,5*	59,9±6,5*	0,365
Obwód bioder [cm]	75,6±9,1*	70,3±6,1*	0,001

\* Średnia ± odchylenie standardowe

Tabela 7. Porównanie masy ciała, wysokości ciała, BMI, obwodu pasa i bioder dzieci zdrowych i z grupy badanej

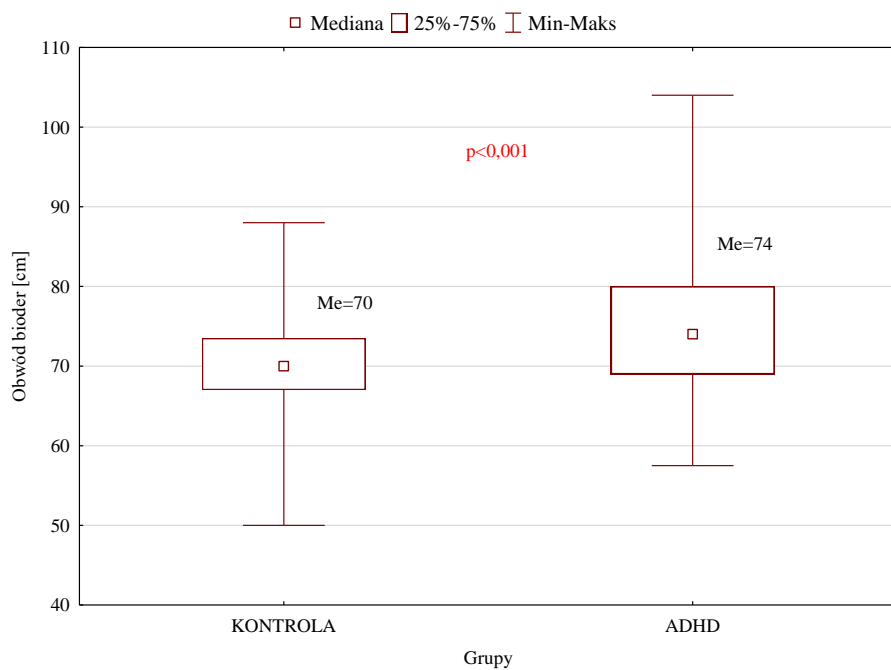
zmienna	Liczebność	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl
---------	------------	---------	---------	---------	----------	---------------

#### ADHD

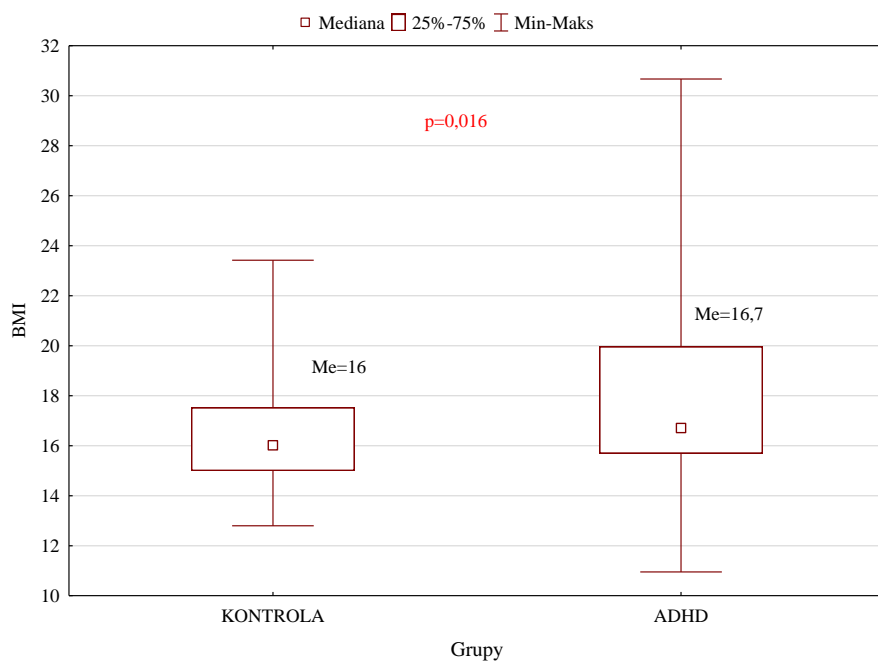
Wysokość ciała [cm]	39	135,6	135,0	122,0	157,2	130,5
Masa ciała [kg]	39	33,6	31,8	16,3	75,8	26,7
BMI	39	18,1	16,7	10,9	30,7	15,7
Obwód pasa [cm]	39	63,3	60,0	49,0	101,0	55,0
Obwód bioder [cm]	39	75,6	74,0	57,5	104,0	69,0

#### Kontrola

Wysokość ciała [cm]	80	133,0	133,0	115,0	156,0	126,0
Masa ciała [kg]	80	29,3	27,9	19,3	52,6	26,0
BMI	80	16,3	16,0	12,8	23,4	15,0
Obwód pasa [cm]	80	59,9	59,5	38,0	80,0	56,0
Obwód bioder [cm]	80	70,3	70,0	50,0	88,0	67,0

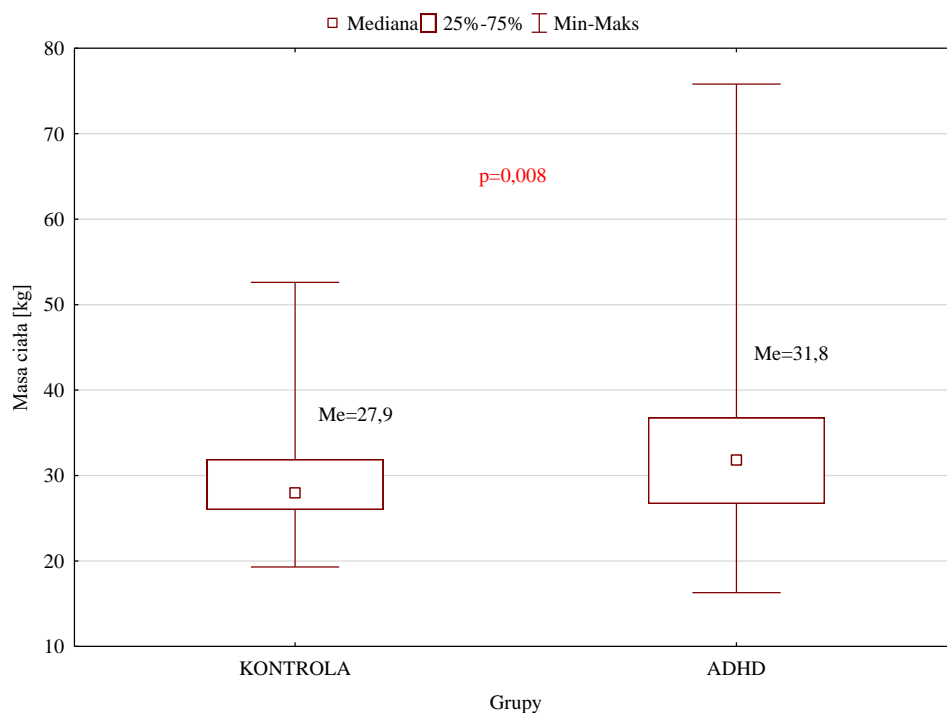


Rycina 8. Porównanie obwodu bioder między grupą dzieci z ADHD i grupą kontrolną



Rycina 9. Porównanie wartości indeksu BMI między grupą dzieci z ADHD i grupą kontrolną





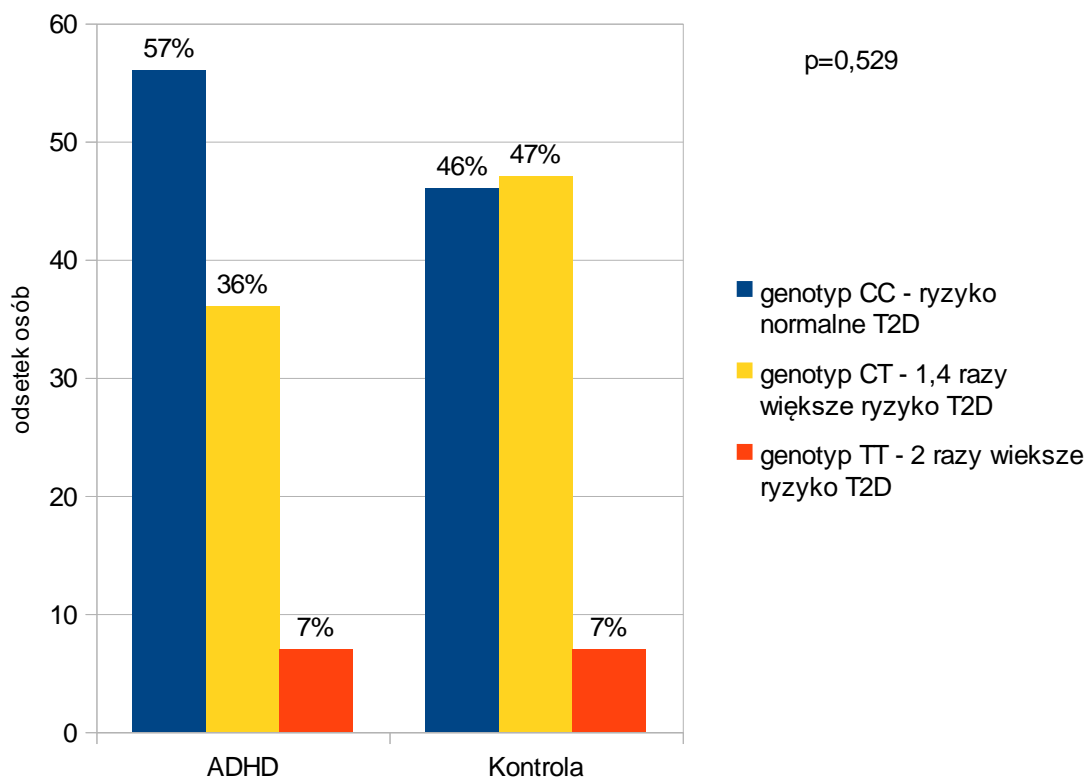
Rycina 10. Porównanie masy ciała między grupą dzieci z ADHD i grupą kontrolną

#### 4.1.4. Analiza wyników polimorfizmu genu TCF7L2

Analiza statystyczna wyników dotyczących polimorfizmu rs7903146 genu Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) nie wykazała różnic między grupą ADHD a grupą kontrolną pod względem zwiększonego ryzyka wystąpienia cukrzycy typu 2 (T2D), ( $p=0,529$ ), (rycina 11).

Analiza szczegółowa wykazała również, że liczba pacjentów w analizowanych grupach z danym genotypem nie różniła się istotnie ( $p>0,05$ ). W grupie kontrolnej z genotypem TT (dwa razy większe ryzyko T2D) było 6,8% dzieci, a w grupie badanej 7,4% takich pacjentów ( $p=0,855$ ). Podobnie rozkładały się dane pod względem liczby pacjentów z genotypem CT (1,4 razy większy ryzyko wystąpienia T2D), w grupie kontrolnej było 47,3% pacjentów, natomiast wśród dzieci z ADHD było to 35,9% ( $p=0,245$ ).

Nie stwierdzono zatem zależności między badanym polimorfizmem a występowaniem u dzieci zespołu ADHD.



Rycina 11. Porównanie genotypów TCF7L2 w obu grupach (p=0,529).

Analiza statystyczna nie ujawniła istotnych korelacji między polimorfizmem genu TCF7L2 a masą ciała, wzrostem, BMI, obwodem bioder i obwodem pasa. W przypadku masy ciała i BMI uzyskane wyniki były na granicy istotności statystycznej, może zatem zachodzić tendencja w kierunku podatności przy obecności dodatkowych czynników ryzyka (co powinno stać się przedmiotem dalszych obserwacji i badań), (tabela nr 8).

Analiza statystyczna dokonana oddzielnie na grupie ADHD i grupie kontrolnej nie wykazała zależności między genotypem TCF7L2 a masą ciała, BMI, obwodem bioder i pasa (p>0,05).

Tabela 8. Korelacje polimorfizmu rs7903146 genu Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) do masy i wysokości ciała, BMI, obwodu bioder, obwodu pasa łącznie dla obu grup

pary porównywanych parametrów	współczynnik Spearmana-R	p-wartość
polimorfizm i wysokość ciała	nieistotne	0,5
polimorfizm i masa ciała	nieistotne	0,063
polimorfizm i BMI	nieistotne	0,077
polimorfizm i obwód pasa	nieistotne	0,249
polimorfizm i obwód bioder	nieistotne	0,109

#### **4.2. Badanie podmiotowe jamy ustnej z porównaniem wybranych wskaźników stomatologicznych**

W badaniu stomatologicznym wykorzystano dane dotyczące ilości zębów mlecznych, ilości zębów stałych, a także obliczono wskaźnik puwz dla zębów mlecznych, PUWZ dla zębów stałych, ICDAS II dla zębów mlecznych i stałych, wskaźnik PCR ilości płytki bakteryjnej oraz oceniono kondycję dziąsła poprzez wskaźnik GI.

Stan zębów mlecznych (tabela 9) u dzieci z grupy ADHD zdecydowanie różnił się statystycznie od stanu uzębienia dzieci z grupy kontrolnej, poprzez większą ilość zębów z próchnicą, zębów wypełnionych z powodu próchnicy w przeszłości ( $p < 0,001$ ), ogólna suma wskaźnika puwz była na granicy istotności statystycznej ( $p = 0,056$ ). Stadia zaawansowania zmian próchnicowych w zębach mlecznych rozpatrywane na podstawie przyporządkowania do odpowiednich stopni indeksu ICDAS wykazały istotne różnice dla ICDAS 0, ICDAS 1, ICDAS 2, ICDAS 5, ICDAS 6 (rycina 12, 13, 14, 15, 16) z niekorzystnymi wynikami dla dzieci z zespołem ADHD, które w odróżnieniu od dzieci zdrowych, miały więcej zębów mlecznych z wyższymi stadiami choroby próchnicowej.

Mediana z leczenia zębów mlecznych w grupie ADHD wyniosła 0 (min-max, 0-1).

Stan zębów stałych (tabela 10) u dzieci z grupy ADHD także różnił się statystycznie od dzieci z grupy kontrolnej, ze względu na większą liczbę zębów z próchnicą, która zwiększyła całkowity wskaźnik PUWZ ( $p = 0,005$ ). Stadia zaawansowania zmian próchnicowych w zębach stałych rozpatrywane na podstawie przyporządkowania do odpowiednich stopni indeksu ICDAS wykazały istotne różnice dla ICDAS 1, ICDAS 3 (rycina 17,18) z niekorzystnymi wynikami dla dzieci z grupy ADHD, które, w odróżnieniu od dzieci zdrowych, miały więcej zmienionych próchnicowo zębów stałych.

Mediana z leczenia zębów stałych w grupie ADHD wyniosła 0 (min-max, 0-0,5).

Wskaźnik higieny jamy ustnej PCR (rycina 24) wypadł niekorzystnie dla grupy badanej z ADHD i różnił się znacząco od grupy kontrolnej, czego przejawem również był zapalny stan dziąseł na poziomie pierwszego stopnia 1,1 według wskaźnika GI (rycina 25) ( $p < 0,001$ ),

Tabela 9. Liczba zębów mlecznych, indeksy próchnicy ICDAS i puwz, ogólny wskaźnik płytki PCR, indeks GI stanu dziąseł, wskaźnik leczenia dla zębów mlecznych w obu grupach

<b>Grupa</b> <b>Parametr</b>	ADHD n=39	Kontrola n=80	p-wartość
liczba zębów mlecznych	11,2± 3,6*	12,3±2,4*	ns
ICDAS=0	4,2±3,4* 3,0 (0-13,0)**	9,3±3,5* 9,0 (3,0-20,0)**	<0,001
ICDAS=1	2,1±1,8* 2,0 (0-10,0)**	0,5±0,9* 0 (0-5,0)**	<0,001
ICDAS=2	1,4±1,2* 2,0 (0-4,0)**	1,0±1,1* 1 (0-5,0)**	0,094
ICDAS=3	0,2±0,5* 0 (0-2,0)**	0,5±1,0* 0 (0-5,0)**	0,206
ICDAS=4	0,4±1,2* 0 (0-7,0)**	0,4±0,8* 0 (0-4,0)**	0,410
ICDAS=5	1,7±2,2* 1,0 (0 - 10)**	0,3±0,8* 0 (0-3,0)**	<0,001
ICDAS=6	1,1±2,0* 0 (0-10,0)**	0,2±0,6* 0 (0-2,0)**	0,009
p	3,3±4,0* 2 (0-20,0)**	1,0±1,6* 0 (0-7,0)**	<0,001
u	0,2±0,6* 0 (0-3,0)**	0,1±0,4* 0 (0-3,0)**	0,645
w	0,9±1,3* 0 (0-5,0)**	1,9±1,8* 2,0 (0-7,0)**	0,002
puwz	4,4±4,0 4,0 (0-20,0)**	3,0±2,8 3,0 (0-11,0)**	0,056
PCR	49,6 ±27,8* 45 (10,0-100,0)**	5,9 ±6,6* 4,8 (0-40,6)**	<0,001
GI	1,1±0,8* 1,0 (0-2,7)**	0,1 ± 0,1* 0 (0-0,5)**	<0,000
Wskaźnik leczenia zębów mlecznych	0,2±0,3* 0 (0-1)**	0,7 ± 0,3* 0,84 (0-1)**	<0,001

\*Średnia ± odchylenie standardowe

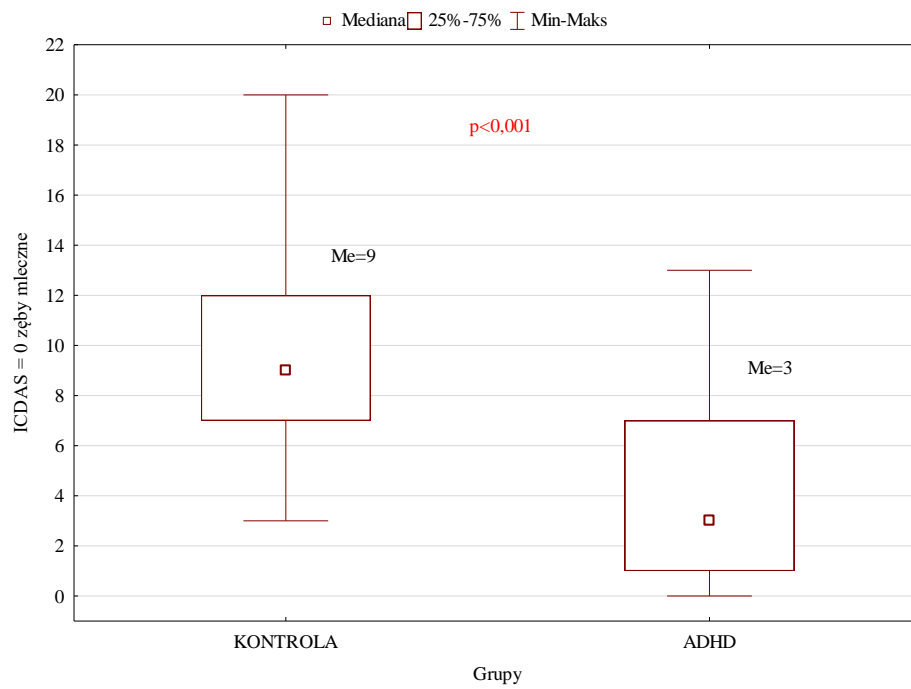
\*\*Mediana (min-max)

Tabela 10. Liczba zębów stałych, indeksy próchnicy ICDAS i PUWZ, ogólny wskaźnik płytki PCR, indeks GI stanu dziąseł, wskaźnik leczenia dla zębów stałych w obu grupach

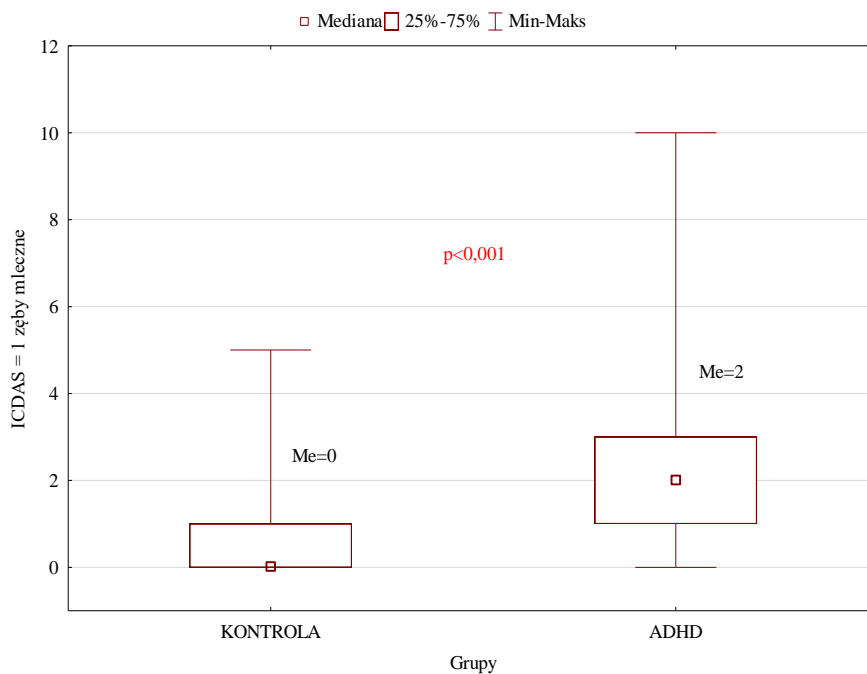
<b>Grupa</b> <b>Parametr.</b>	<b>ADHD</b> n=39	<b>Kontrola</b> n=80	<b>p-wartość</b>
liczba zębów stałych	12,5±3,5*	11,2±2,9*	ns
ICDAS=0	10,3±3,9* 10,0 (0-20,0)**	10,1±2,8* 10,5 (0-14,0)**	0,930
ICDAS=1	0,9±1,1* 1 (0-4,0)**	0,6±0,9* 0 (0-3,0)**	0,071
ICDAS=2	0,6±1,0* 0 (0-3,0)**	0,5±0,9* 0 (0-3,0)**	0,629
ICDAS=3	0,6±0,9* 0 (0-4,0)**	0,1±0,3* 0 (0-2,0)**	0,010
ICDAS=4	0,1±0,3* 0 (0-1,0)**	0,01±0,1* 0 (0-1,0)**	0,571
ICDAS=5	0,03±0,2* 0 (0-1,0)**	0,01±0,1* 0 (0-1,0)**	0,908
ICDAS=6	0,03±0,2* 0 (0-1,0)**	0±0	0,824
P	0,8±1,1* 0 (0-4,0)**	0,1±0,4* 0 (0-2,0)**	0,001
U	0±0	0±0	0
W	0,051±0,22* 0 (0-1,0)**	0,015±0,50 0 (0-2,0)	0,728
PUWZ	0,8±0,86* 0 (0-4,0)**	0,2±0,7* 0 (0-3,0)**	0,005
PCR	49,6 ±27,8* 45,0 (10-100)**	5,9 ±6,6* 4,8 (0-40,6)**	<0,001
GI	1,1±0,8* 1,0 (0-2,7)**	0,1 ± 0,1* 0 (0-0,5)**	<0,001
Wskaźnik leczenia zębów stałych	0,04± 0,1* 0 (0-0,5) **	0,5± 0,4* 0,5 (0-1) **	0,016

\*Średnia ± odchylenie standardowe

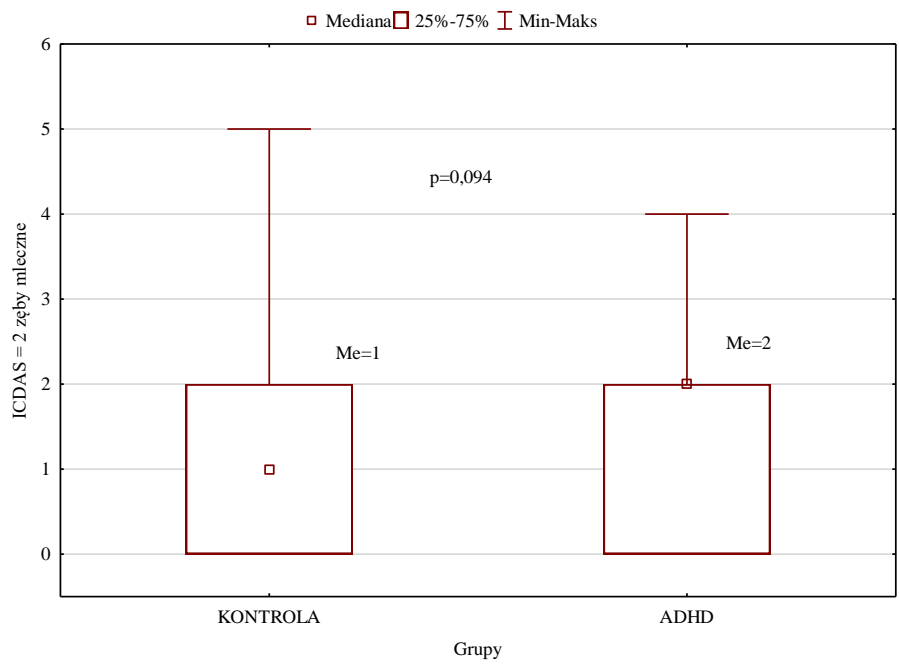
\*\*Mediana (min-max)



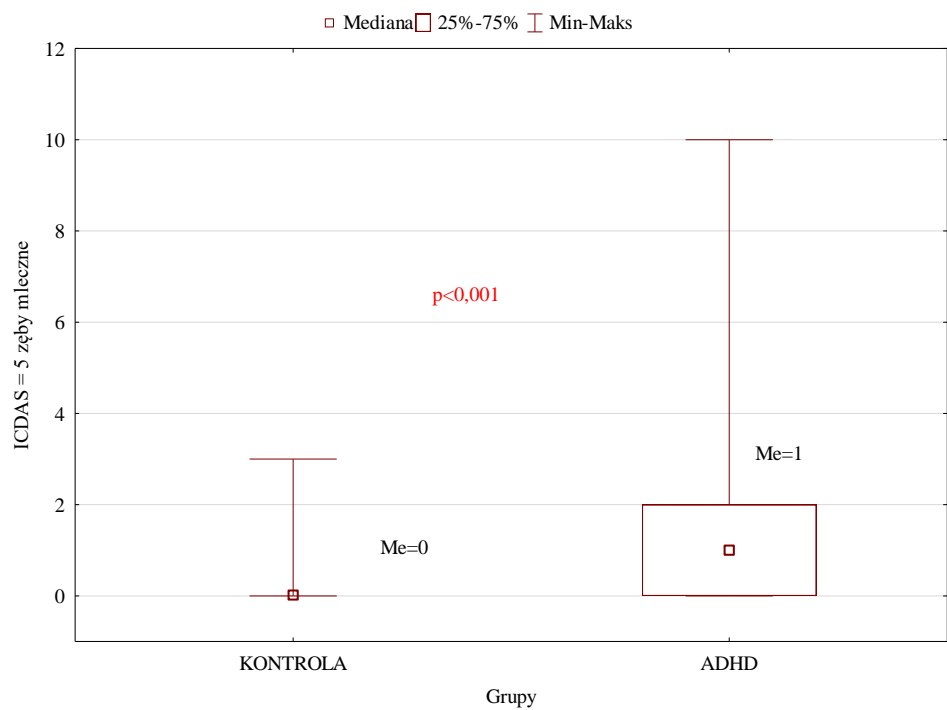
Rycina 12. Porównanie stopnia ICDAS = 0 zębów mlecznych w obu grupach



Rycina 13. Porównanie stopnia ICDAS = 1 zębów mlecznych w obu grupach

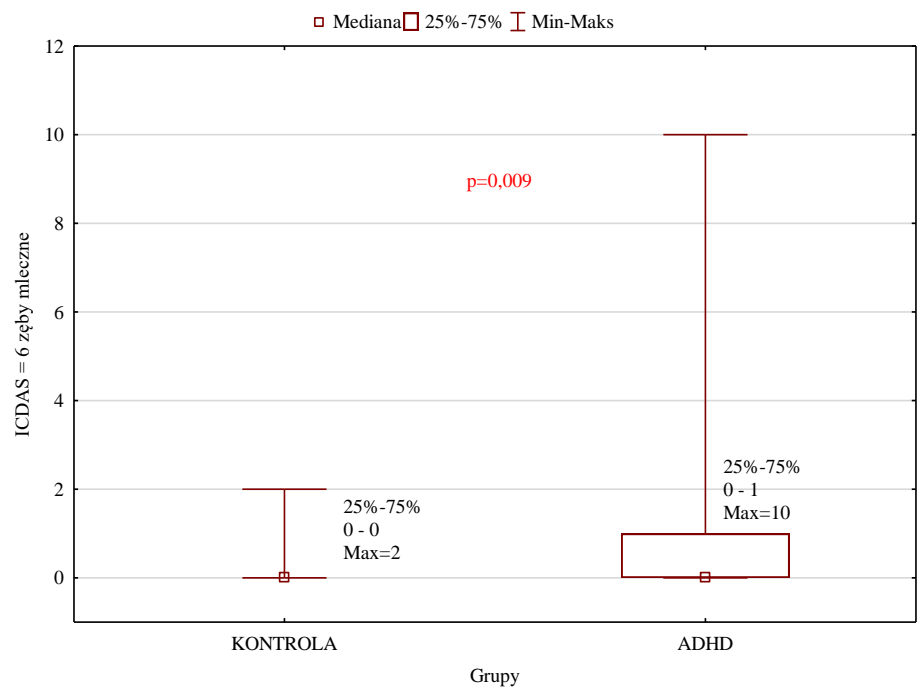


Rycina 14. Porównanie stopnia ICDAS = 2 zębów mlecznych w obu grupach

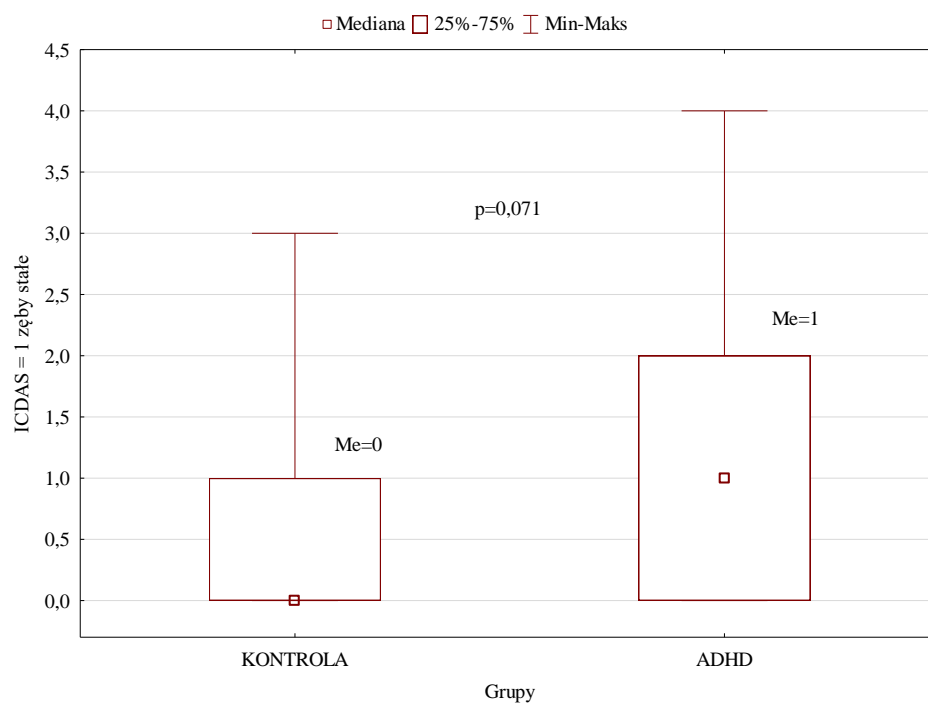


Rycina 15. Porównanie stopnia ICDAS = 5 zębów mlecznych w obu grupach

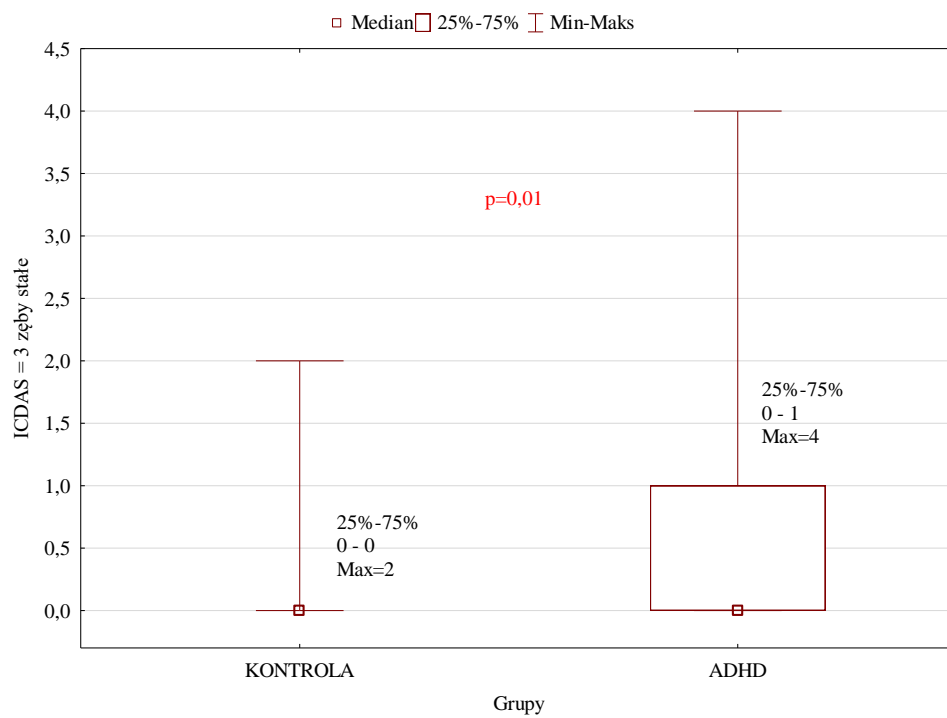




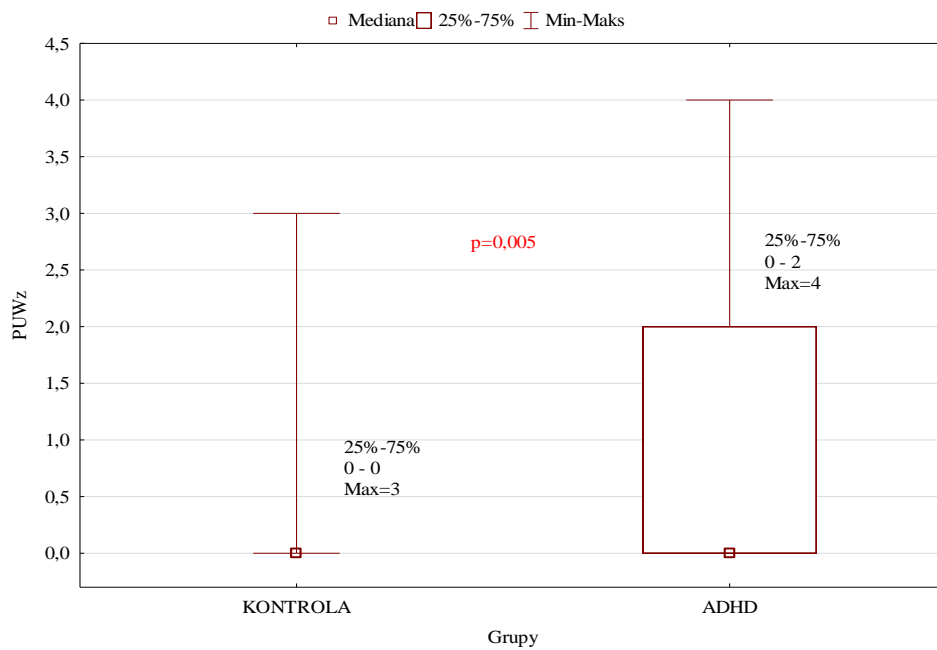
Rycina 16. Porównanie stopnia ICDAS = 6 zębów mlecznych w obu grupach



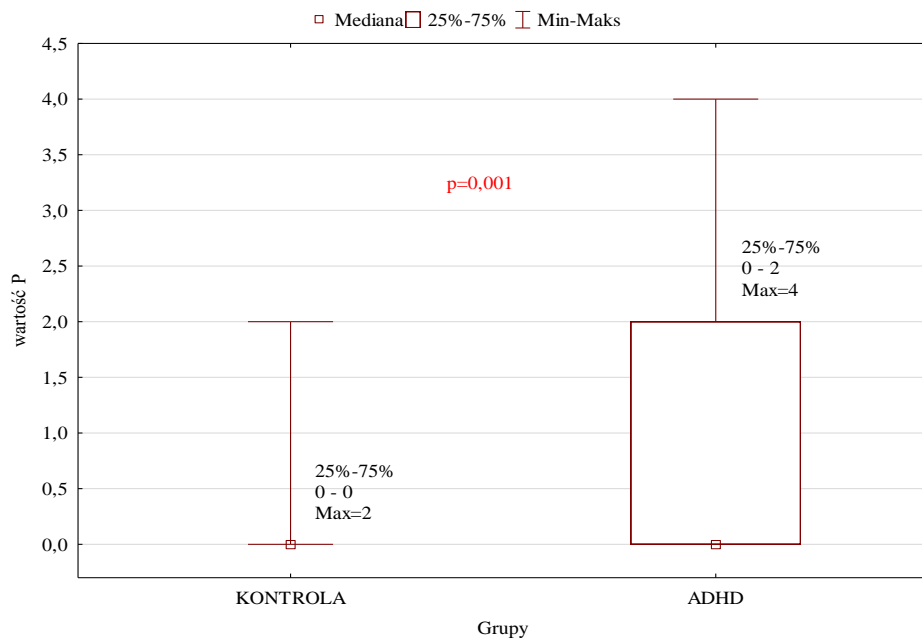
Wykres 17. Porównanie stopnia ICDAS = 1 zębów stałych w obu grupach



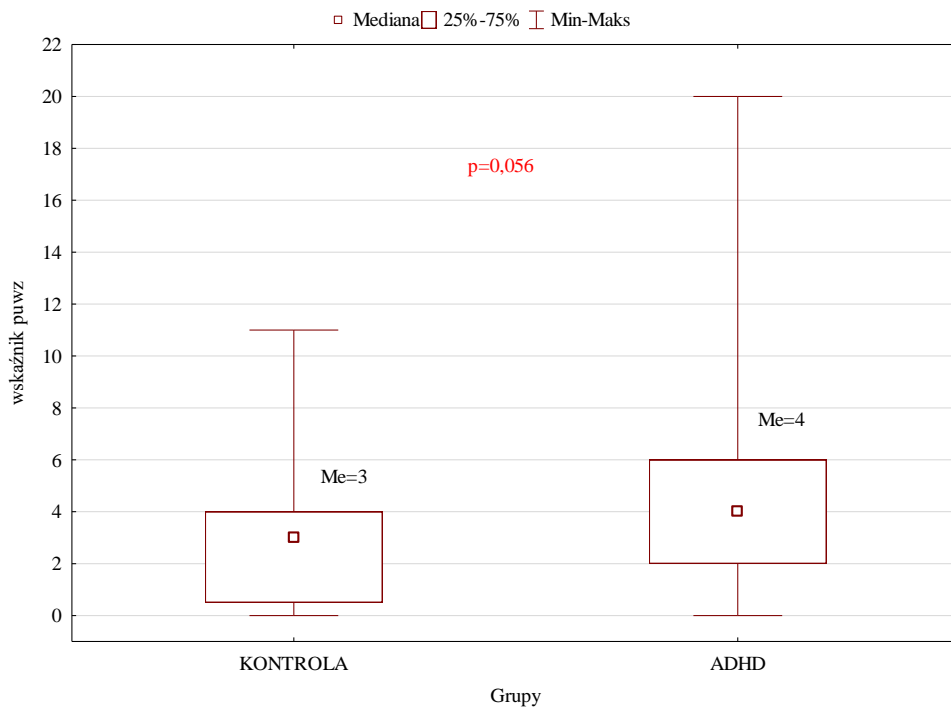
Rycina 18. Porównanie stopnia ICDAS = 3 zębów stałych w obu grupach



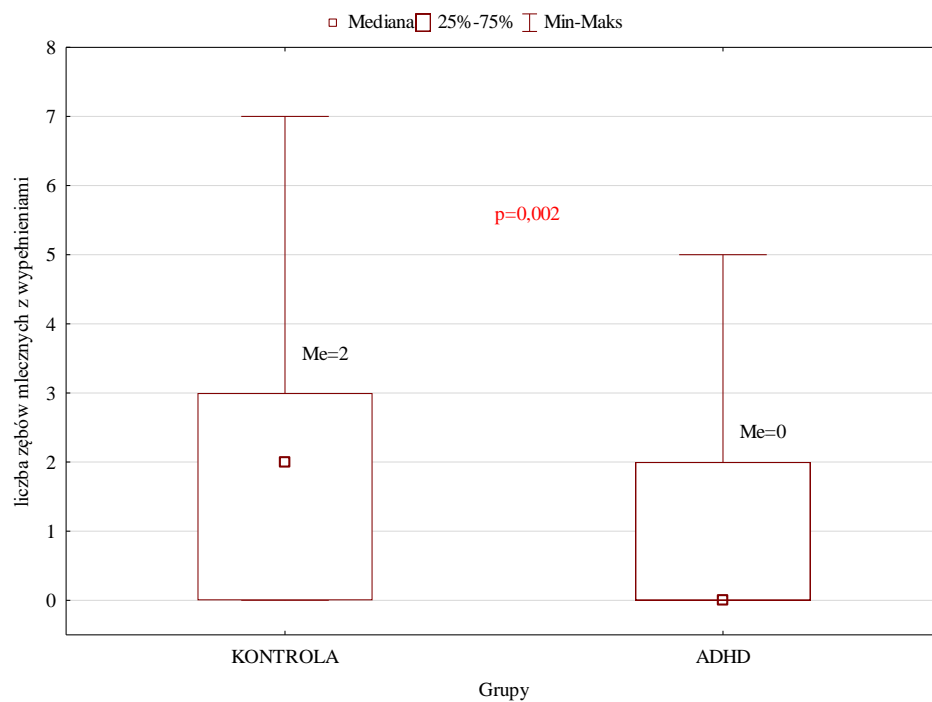
Rycina 19. Porównanie PUWz w obu grupach



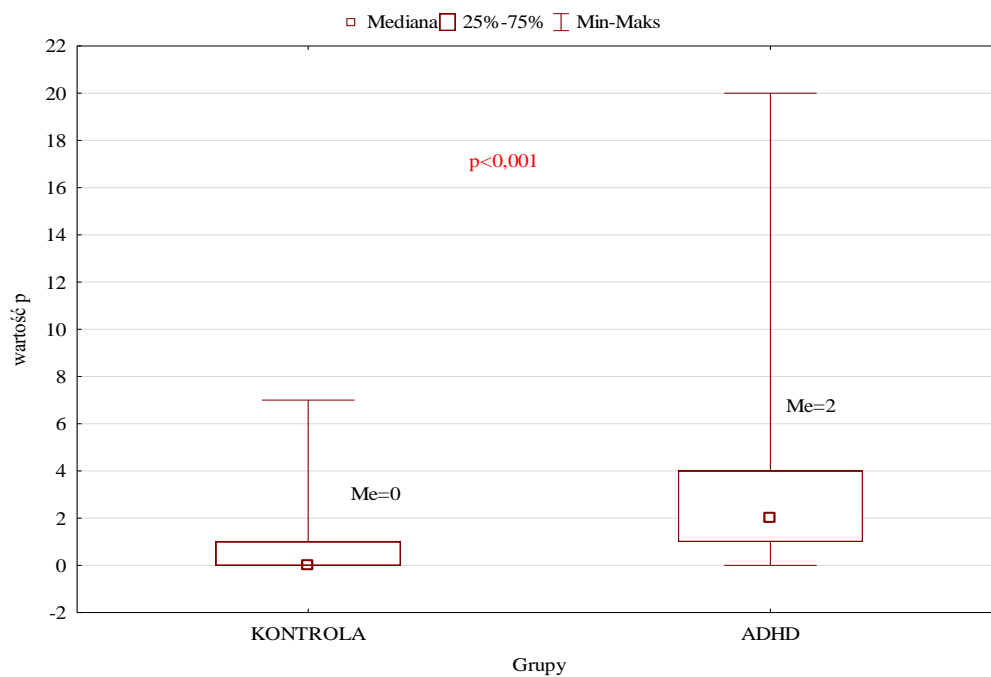
Rycina 20. Porównanie wartości P (liczby zębów stałych z próchnicą) w obu grupach



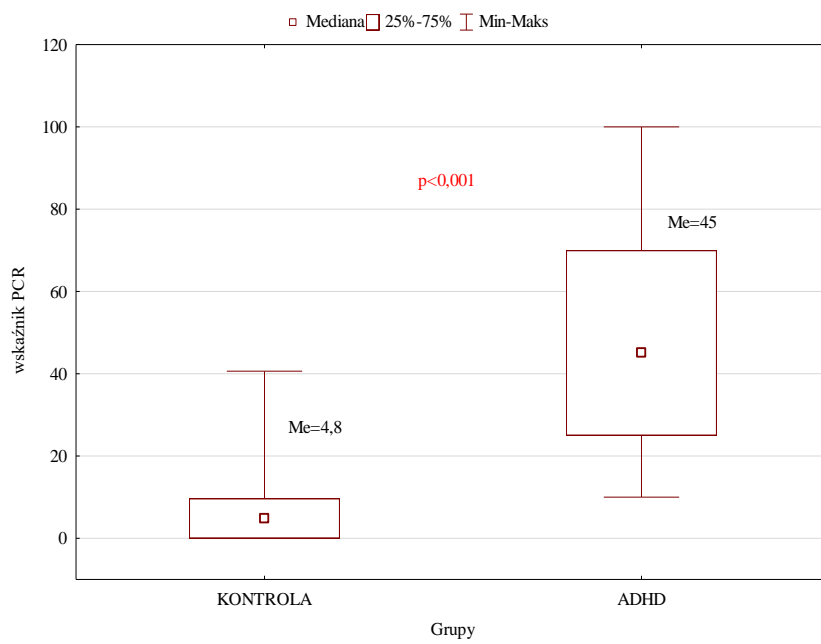
Rycina 21. Porównanie wskaźnika puwz w obu grupach



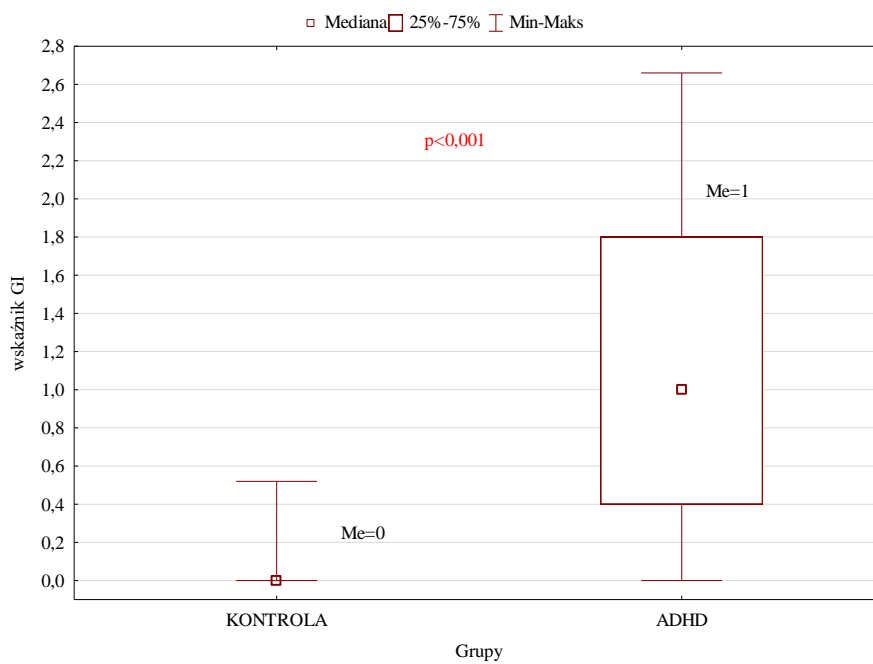
Rycina 22. Porównanie liczby zębów mlecznych z wypełnieniami w obu grupach



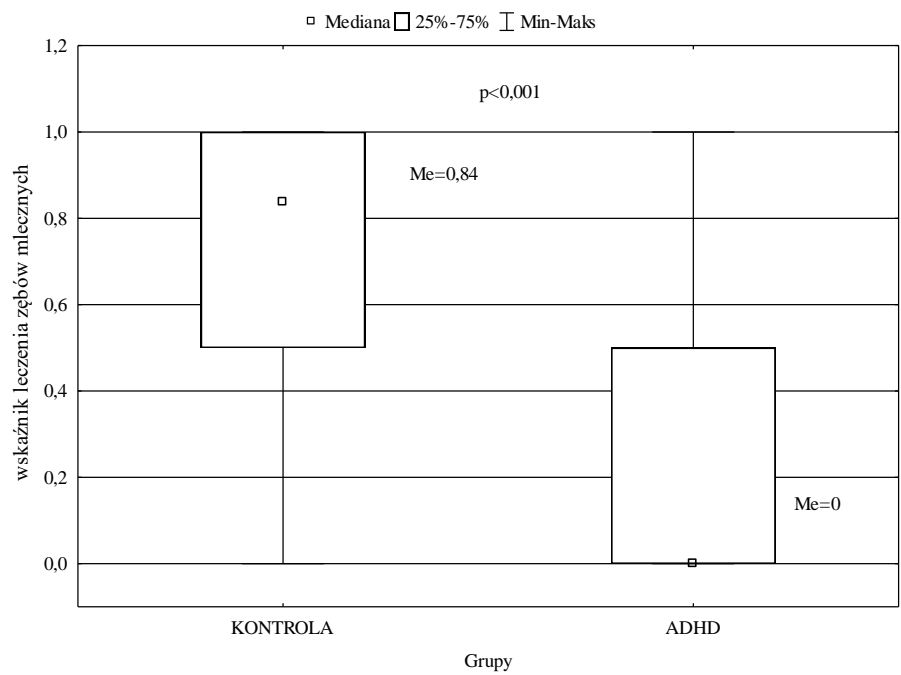
Rycina 23. Porównanie liczby zębów mlecznych z próchnicą „p” w obu grupach



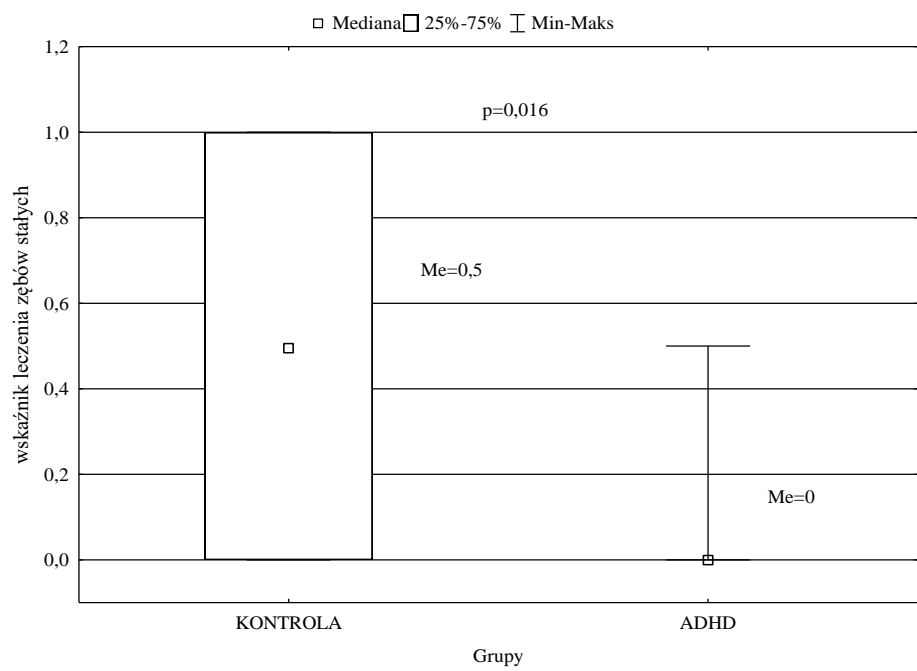
Rycina 24. Porównanie wskaźnika PCR w obu grupach



Rycina 25. Porównanie wskaźnika GI w obu grupach



Rycina 26. Porównanie wskaźnika leczenia zębów mlecznych w obu grupach



Rycina 27. Porównanie wskaźnika leczenia zębów stałych w obu grupach

#### 4.3. Stężenie kortyzolu, amylazy ślinowej (sAA) i Immunoglobuliny A (IgA) w ślinie całkowitej dla obu grup

Z pobranych próbek śliny całkowitej wykonano oznaczenia stężeń IgA, amylazy ślinowej oraz kortyzolu. Wartości stężeń IgA i amylazy ślinowej były istotnie wyższe w grupie dzieci ADHD niż w grupie kontrolnej ( $p < 0,001$  dla IgA i  $p = 0,002$  dla sAA). Stężenie kortyzolu w ślinie wynosiło średnio 6 ng/ml (ADHD) i 5,5 ng/ml (Kontrola) z medianą 4,7 (ADHD) i 4,1 (Kontrola), bez istotności statystycznej różnic pomiędzy grupami ( $p = 0,399$ ), (tabela 11).

Tabela 11. Stężenia kortyzolu, amylazy ślinowej, IgA w ślinie całkowitej dla grupy ADHD i kontrolnej

parametr \ grupa	ADHD n=39	Kontrola n=80	p-wartość
stężenie kortyzolu [ng/ml]	6,0±4,5* 4,7 (1,5-17,8)**	5,5±6,3* 4,1 (0,2-54,2)**	0,399
stężenie sAA [U/ml]	124,9±74,8* 112,2 (11,7-295,9)**	81,2±54,5* 68,9 (1,3-321,1)**	0,002
stężenie IgA [ug/ml]	172,8±53,2* 180,5 (63,9-298,2)**	115,1±55,9* 112,8 (21,3-235,4)**	<0,001

\*Średnia ± odchylenie standardowe

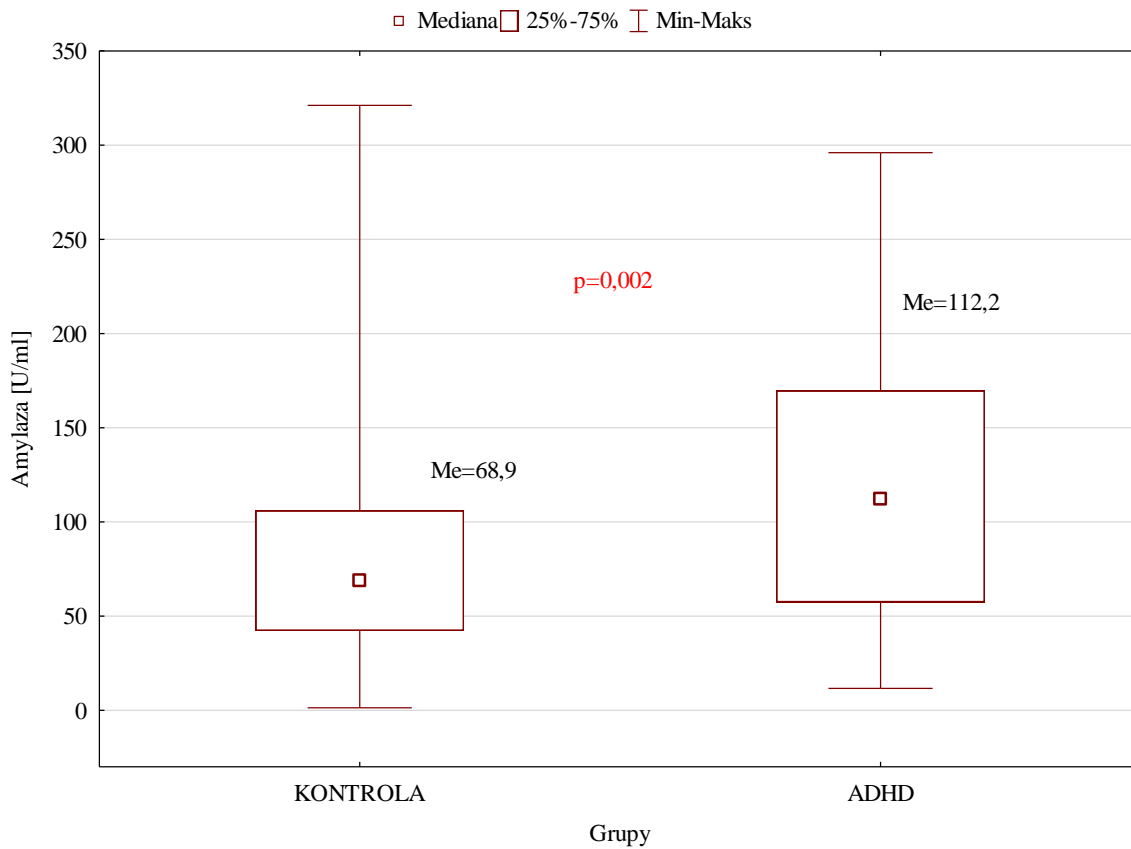
\*\*Mediana (min-max)

W grupie badanej z ADHD wykazano dodatkowo bliski istotności związek stężenia kortyzolu z ilością płytki bakteryjnej w jamie ustnej według wartości wskaźnika PCR ( $r_s = 0,29$ ;  $p = 0,069$ ). Poziom immunoglobuliny A wykazał natomiast ujemną, bliską istotności statystycznej korelację ( $r_s = -0,29$ ,  $p = 0,07$ ) z liczbą ubytków próchnicowych w zębach mlecznych (p) i dodatnią, bliską istotności korelację z wartościami stopni stanu zapalnego dziąseł GI ( $r_s = 0,28$ ,  $p = 0,08$ ). U dzieci z grupy kontrolnej stężenie amylazy ślinowej było istotnie statystycznie, ujemnie skorelowane z liczbą zębów mlecznych z próchnicą ( $r_s = -0,24$ ,  $p = 0,034$ ), (tabela 12).

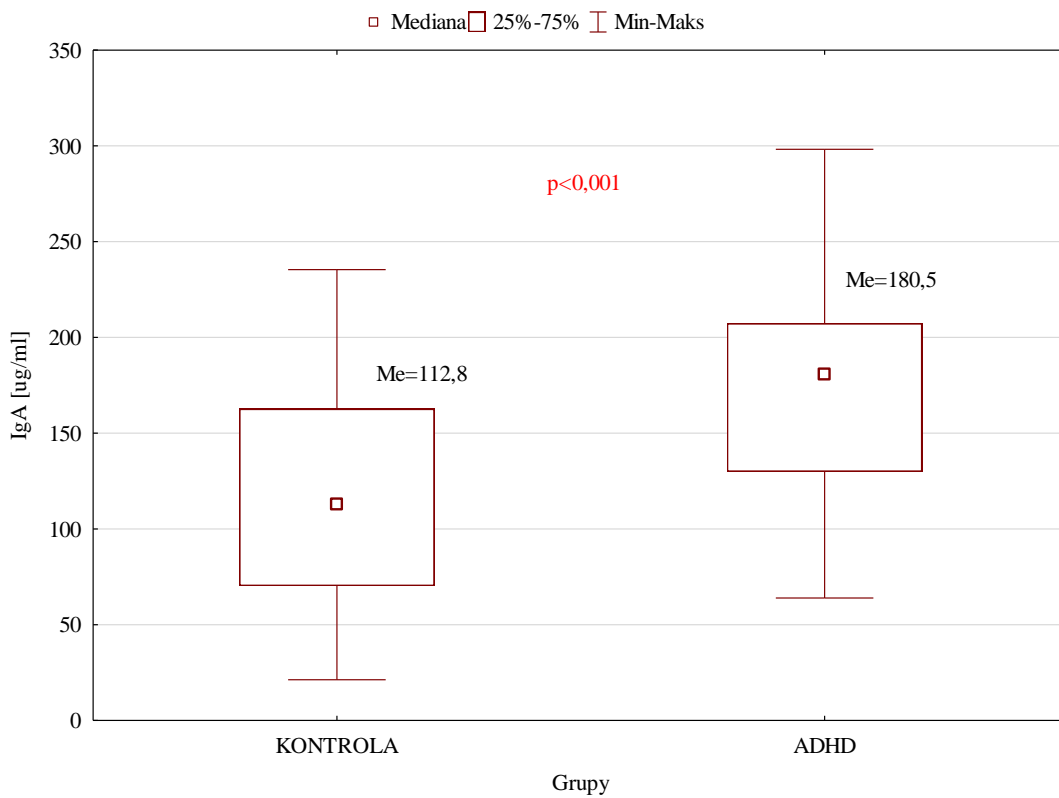
Tabela 12. Korelacje amylazy, IgA i kortyzolu do wskaźników opisujących stan jamy ustnej (p, P, puw, PUWZ, PCR, GI) w grupie badanej (n=39) i kontrolnej (n=80)

pary parametrów	grupa	współczynnik R-Spearmana	p-wartość
stężenie amylazy [U/ml] i p	ADHD		0,537
	kontrola	-0,24	0,034
stężenie amylazy [U/ml] i P	ADHD		0,822
	kontrola		0,524
stężenie amylazy [U/ml] i puwz	ADHD		0,630
	kontrola		0,699
stężenie amylazy [U/ml] i PUWZ	ADHD		0,742
	kontrola		0,815
stężenie amylazy [U/ml] i PCR	ADHD		0,930
	kontrola		0,706
stężenie amylazy [U/ml] i GI	ADHD		0,951
	kontrola		0,347
stężenie IgA [ug/ml] i p	ADHD	-0,29	0,072
	kontrola		0,418
stężenie IgA [ug/ml] i P	ADHD		0,760
	kontrola		0,433
stężenie IgA [ug/ml] i puwz	ADHD		0,707
	kontrola		0,889
stężenie IgA [ug/ml] i PUWZ	ADHD		0,631
	kontrola		0,798
stężenie IgA [ug/ml] i PCR	ADHD		0,353
	kontrola		0,353
stężenie IgA [ug/ml] i GI	ADHD	0,28	0,084
	kontrola		0,198
stężenie kortyzolu [ng/ml] i p	ADHD		0,302
	kontrola		0,487
stężenie kortyzolu [ng/ml] i P	ADHD		0,243
	kontrola		0,538
stężenie kortyzolu [ng/ml] i puwz	ADHD		0,595
	kontrola		0,825
stężenie kortyzolu [ng/ml] i PUWZ	ADHD		0,248
	kontrola		0,998
stężenie kortyzolu [ng/ml] i PCR	ADHD	0,29	0,069
	kontrola		0,387
stężenie kortyzolu [ng/ml] i GI	ADHD		0,151
	kontrola		0,068





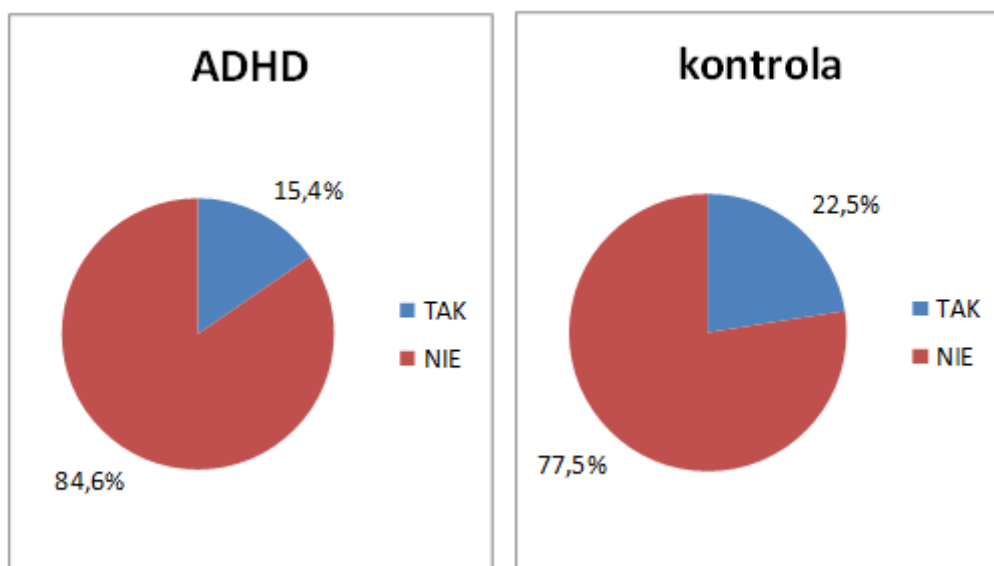
Rycina 28. Porównanie stężeń amylazy ślinowej w obu grupach



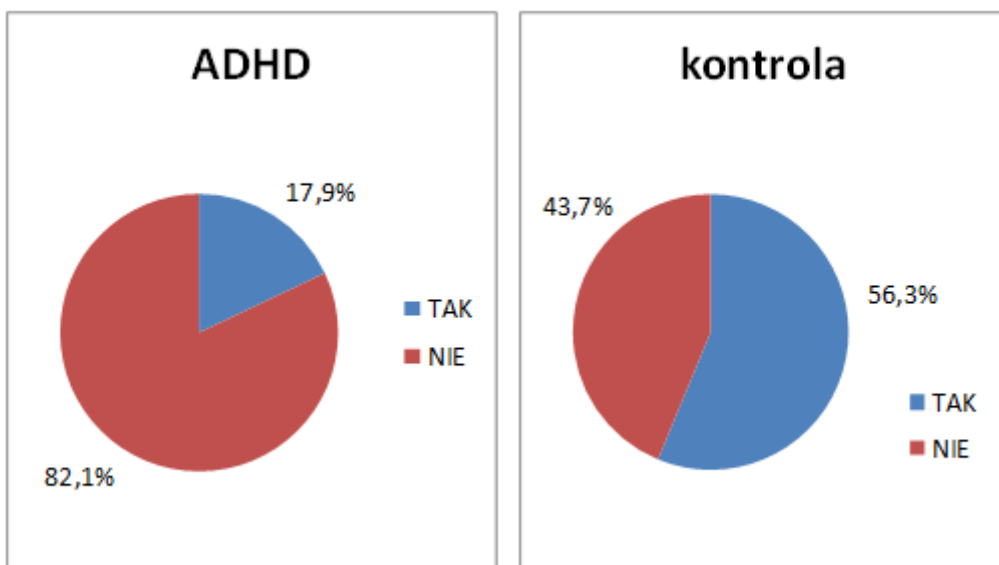
Rycina 29. Porównanie stężeń IgA w ślinie dla obu grup

#### 4.4. Częstotliwość wizyt stomatologicznych dzieci z obu grup - na podstawie badań ankietowych

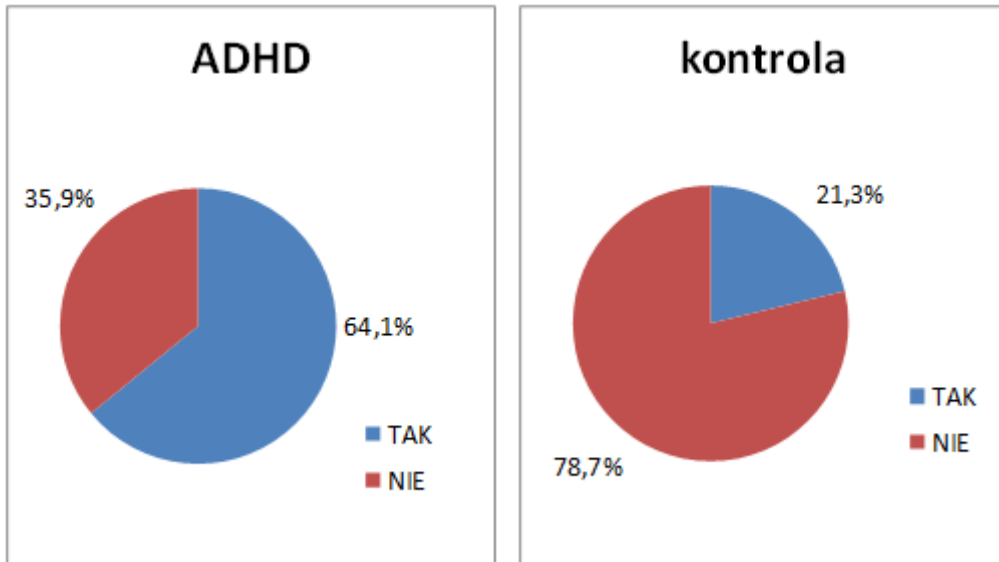
Na podstawie deklaracji rodziców zawartej w badaniu ankietowym dokonano analizy częstotliwości uczęszczania na kontrolne wizyty stomatologiczne przez dzieci w odstępach 3, 6 i 12 miesięcy. Rodzice dzieci z obu grup zadeklarowali na podobnym poziomie ostatnią kontrolną wizytę stomatologiczną, która odbyła się w przeciągu poprzednich trzech miesięcy (grupa badana 15,4%, grupa kontrolna 22,5%;  $p=0,364$ ), (rycina 30). Natomiast zaobserwowano różnicę w kontrolnej wizycie stomatologicznej przeprowadzonej w ciągu ostatnich sześciu miesięcy między grupami. Liczba dzieci z ADHD, które były na wizycie stomatologicznej w ciągu ostatnich 6 miesięcy (7 z 39 tj. 17,9%) różni się istotnie ( $p<0,001$ ) od dzieci zdrowych (45 z 80 tj. 56,3%), (rycina 31). Podobnie odnotowano różnicę pomiędzy dziećmi, których rodzice zadeklarowali kontrolną wizytę stomatologiczną, która odbyła się ponad rok temu. Liczba dzieci z ADHD, które były na ostatniej kontrolnej wizycie stomatologicznej powyżej 12 miesięcy (25 z 39, tj. 64,1%) różni się istotnie ( $p<0,001$ ) od dzieci zdrowych (17 z 80, tj. 21,3%), (rycina 32).



Rycina 30. Porównanie liczby dzieci, które były na kontrolnej wizycie stomatologicznej w ciągu ostatnich 3 miesięcy w obu grupach ( $p=0,364$ )



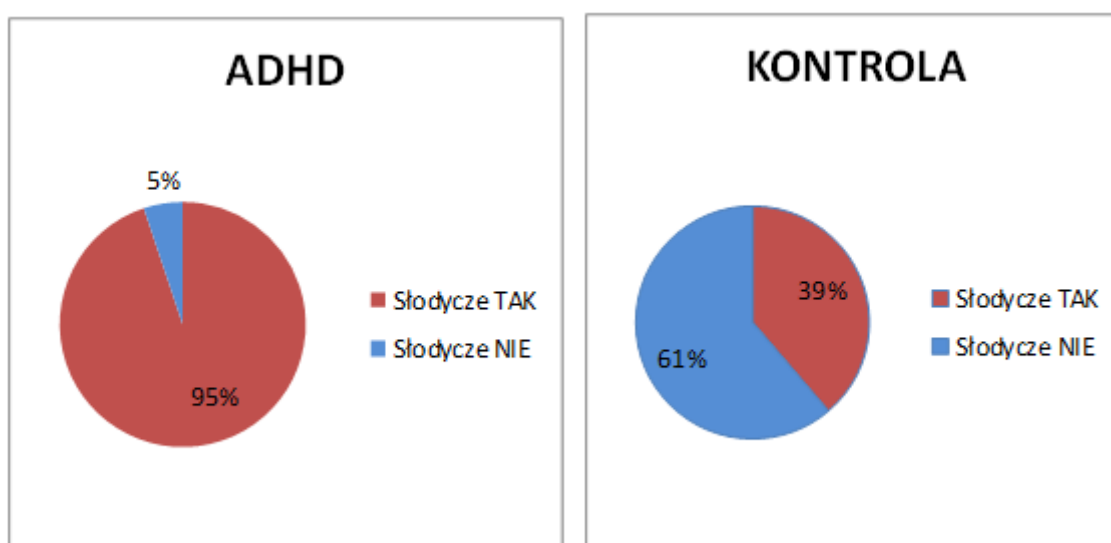
Rycina 31. Porównanie liczby dzieci, które były na kontrolnej wizycie stomatologicznej w ciągu ostatnich 6 miesięcy w obu grupach ( $p < 0,001$ )



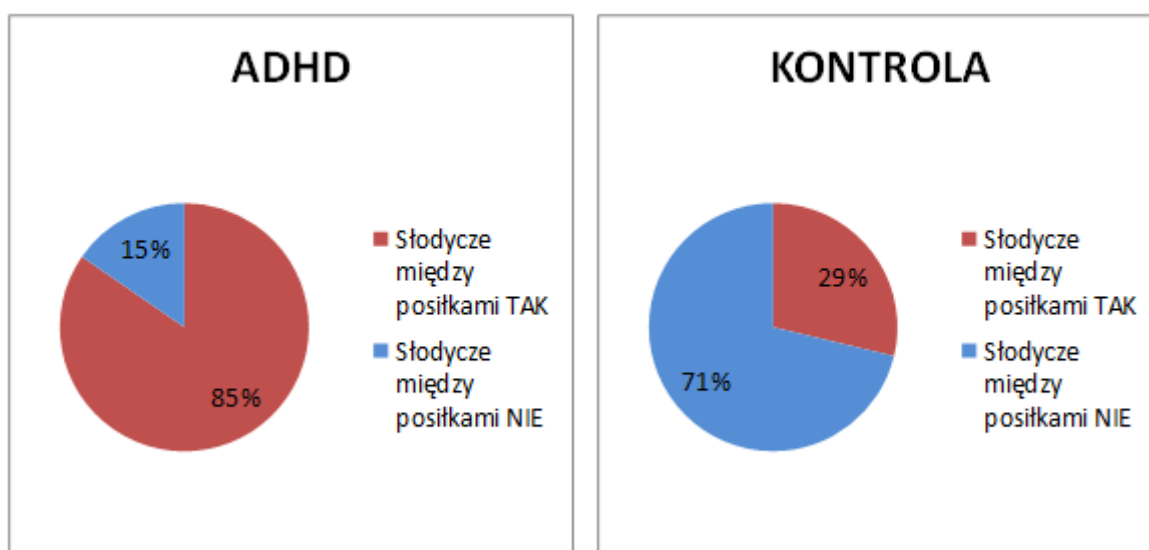
Rycina 32. Porównanie liczby dzieci, które były na kontrolnej wizycie stomatologicznej ponad rok temu w obu grupach ( $p < 0,001$ )

#### 4.5. Nawyki żywieniowe – na podstawie badań ankietowych

Na podstawie ankiety dotyczącej żywienia i nawyków dietetycznych dokonano analizy w zakresie spożywania słodczy i słodzonych napojów gazowanych. Wykazano, że 95% dzieci z ADHD codziennie spożywa słodczy, w porównaniu do 39% dzieci z grupy kontrolnej, tym samym analiza statystyczna pokazała istotne różnice ( $p < 0,001$ , rycina 33). Również spożywanie słodczy między głównymi posiłkami było istotnie wyższe w grupie dzieci z ADHD w porównaniu do grupy kontrolnej, gdzie 85% dzieci z ADHD spożywa słodczy między posiłkami i 29% dzieci z grupy kontrolnej ( $p < 0,001$ , rycina 34).

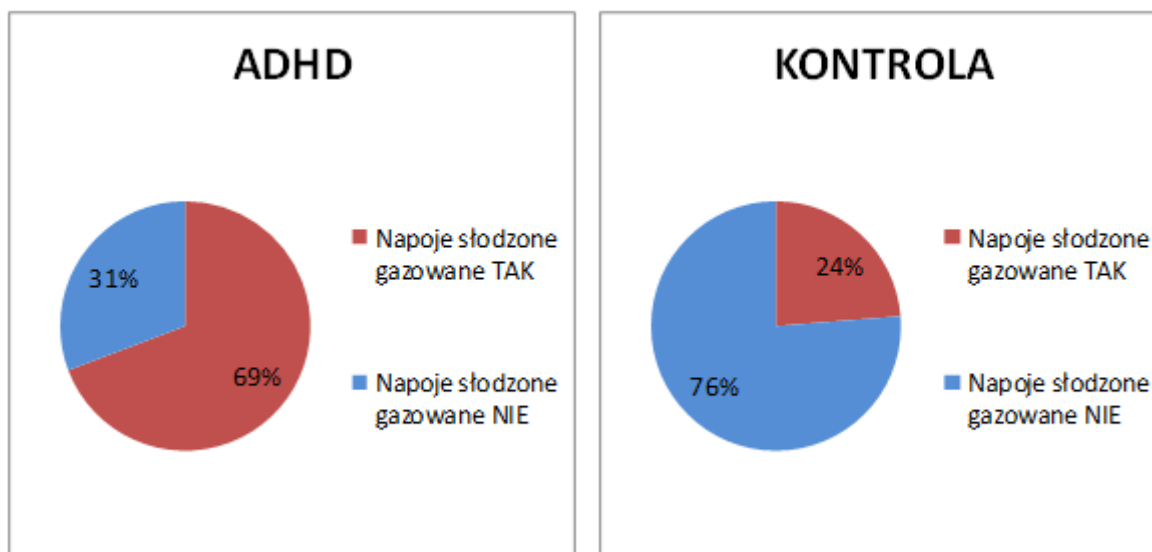


Rycina 33. Spożywanie słodczy codziennie w obu grupach ( $p < 0,001$ )



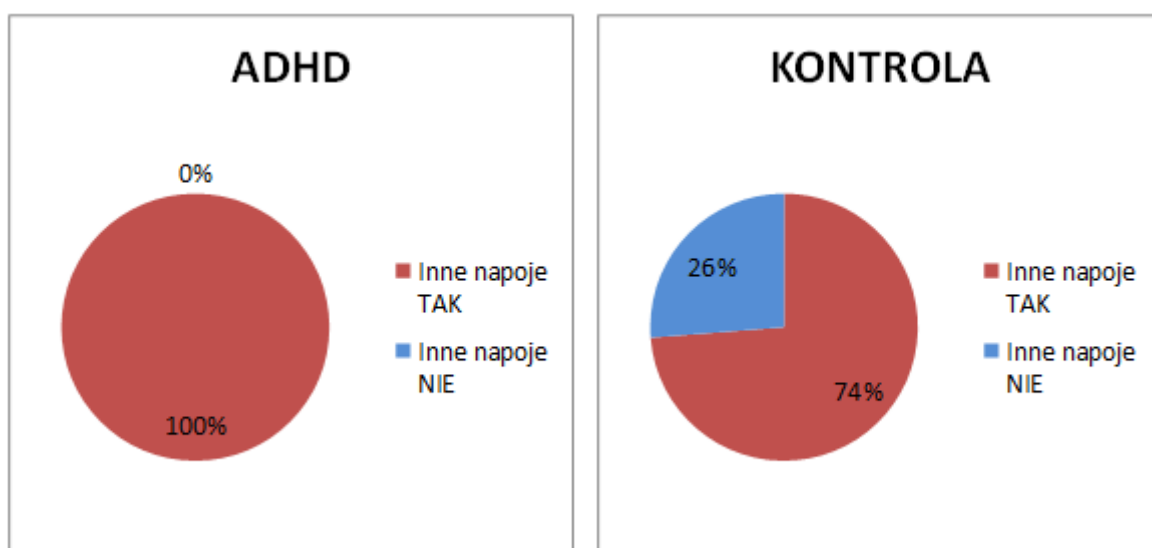
Rycina 34. Spożywanie słodczy pomiędzy głównymi posiłkami w obu grupach ( $p < 0,001$ )

Porównując, na podstawie wypełnionych ankiet, picie słodzonych, gazowanych napojów również wykazano istotne różnice pomiędzy grupami, 69% dzieci z ADHD pije słodzone napoje gazowane w porównaniu do 24% dzieci z kontroli ( $p < 0,001$ , rycina 35).



Rycina 35. Porównanie picia słodzonych, gazowanych napojów w grupie ADHD i kontrolnej ( $p < 0,001$ )

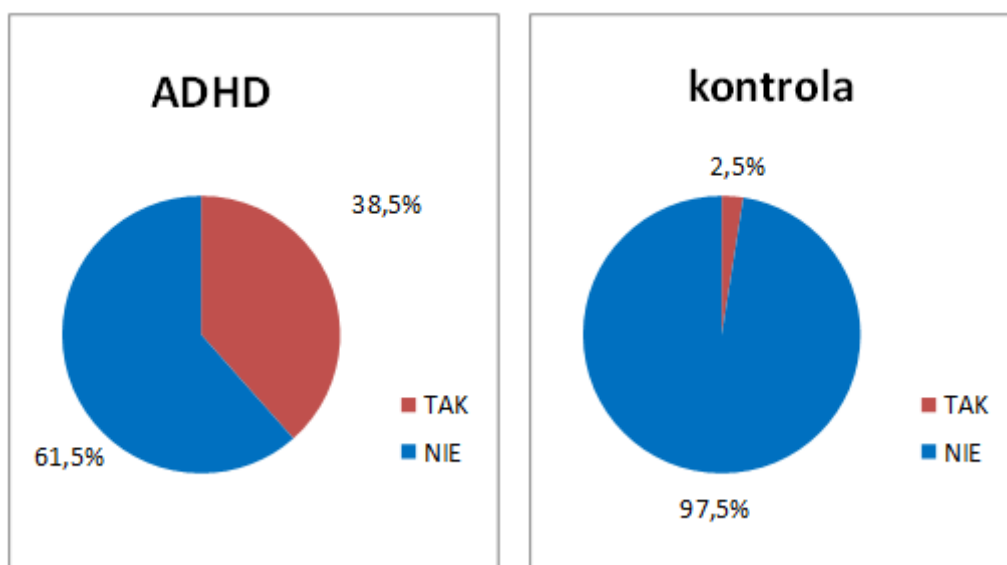
Kolejnym pytaniem w ankiecie żywieniowej było: *Czy dziecko pije pomiędzy posiłkami inne napoje niż woda?* W odpowiedziach, 100% dzieci z ADHD pije między posiłkami nie tylko wodę, w porównaniu do 74% dzieci z grupy kontrolnej. Istotność statystyczna wyniosła  $p < 0,001$  (rycina 36).



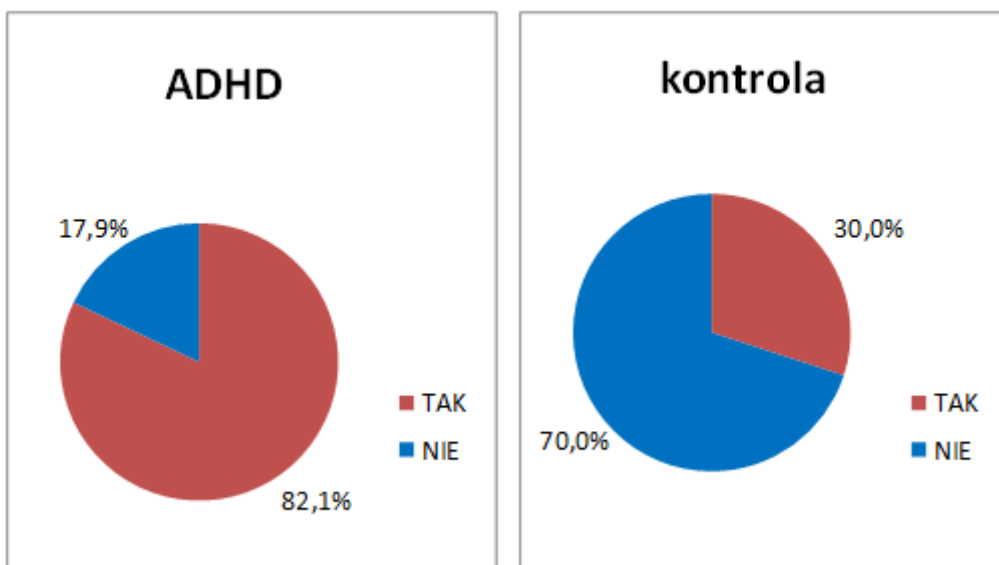
Rycina 36. Porównanie picia innych napojów niż woda między posiłkami w obu grupach ( $p < 0,001$ )

#### 4.6. Odczuwanie bólu w jamie ustnej w przeszłości i aktualnie oraz lęk związany z zabiegami stomatologicznymi – na podstawie badań ankietowych

W przeprowadzonej ankiecie na temat historii i aktualnie odczuwanego dyskomfortu bólowego w jamie ustnej u dzieci z obu grup, analiza statystyczna wykazała istotne różnice między grupami ( $p < 0,001$ ). Liczba dzieci z ADHD, które podały w ankiecie ból w jamie ustnej w dniu badania wyniosła 15 (38,5%) w porównaniu do 2 dzieci (2,5%) z grupy kontrolnej (rycina 37). Również odpowiedzi na pytanie o dolegliwości bólowe ze strony jamy ustnej odczuwane w przeszłości pomiędzy grupami różniły się istotnie. W grupie ADHD 32 dzieci (82,1%) podało, że w przeszłości odczuwało ból w jamie ustnej, w porównaniu do 24 dzieci (30%) z grupy dzieci zdrowych (rycina 38).

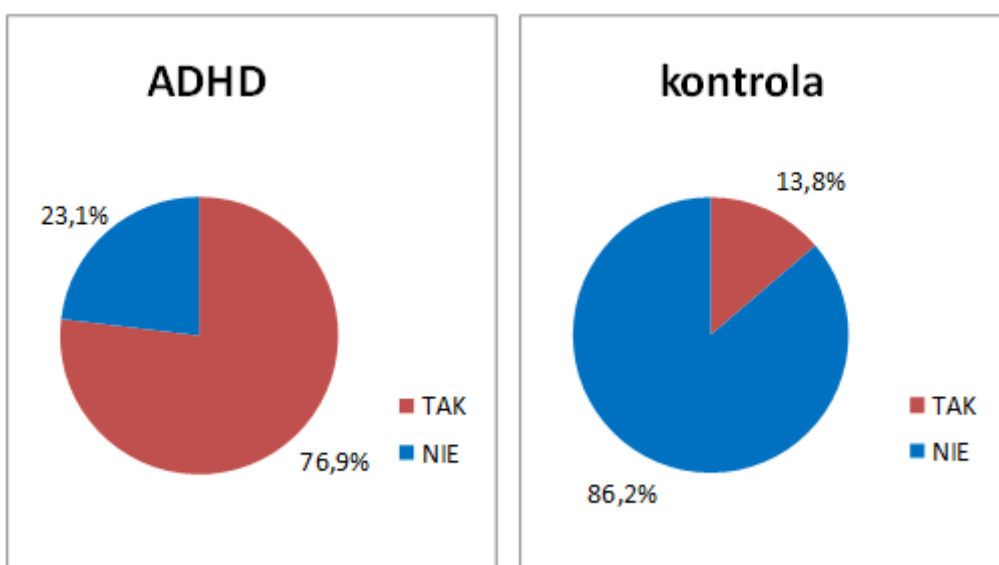


Rycina 37. Porównanie bólu w jamie ustnej aktualnie występującego pomiędzy grupą badaną ADHD i kontrolną ( $p < 0,001$ )



Rycina 38. Porównanie występowania bólu w jamie ustnej w przeszłości pomiędzy grupą badaną ADHD i kontrolną ( $p < 0,001$ )

Znaczna liczba rodziców dzieci z ADHD (30 osób) podała brak współpracy dziecka podczas wizyt stomatologicznych, z powodu lęku przed wykonywaniem procedur i zabiegów w jamie ustnej u dzieci (grupa badana 76,9%, grupa kontrolna 13,8%), (rycina 39). Analiza statystyczna wykazała istotne różnice pomiędzy grupą badaną a kontrolną w zakresie lęku stomatologicznego ( $p < 0,001$ ). Wykazano, że dzieci z ADHD statystycznie częściej odczuwają strach i obawy przed procedurami, które wykonywane są w gabinecie stomatologicznym.



Rycina 39. Porównanie lęku stomatologicznego pomiędzy grupą badaną ADHD i kontrolną ( $p < 0,001$ )

#### 4.7. Analiza porównawcza bólu w jamie ustnej i lęku stomatologicznego w relacji do wskaźników stomatologicznych puwz, PUWZ, GI, PCR w grupie badanej

W grupie badanej ADHD wykazano istotną różnicę w wartościach wskaźnika dziąsłowego GI oraz w ilości płytki bakteryjnej wg indeksu PCR między pacjentami z aktualnie występującym bólem w jamie ustnej w stosunku do pacjentów bez bólu w czasie badania ( $p < 0,05$ ), (tabela 13, rycina 40 i 41).

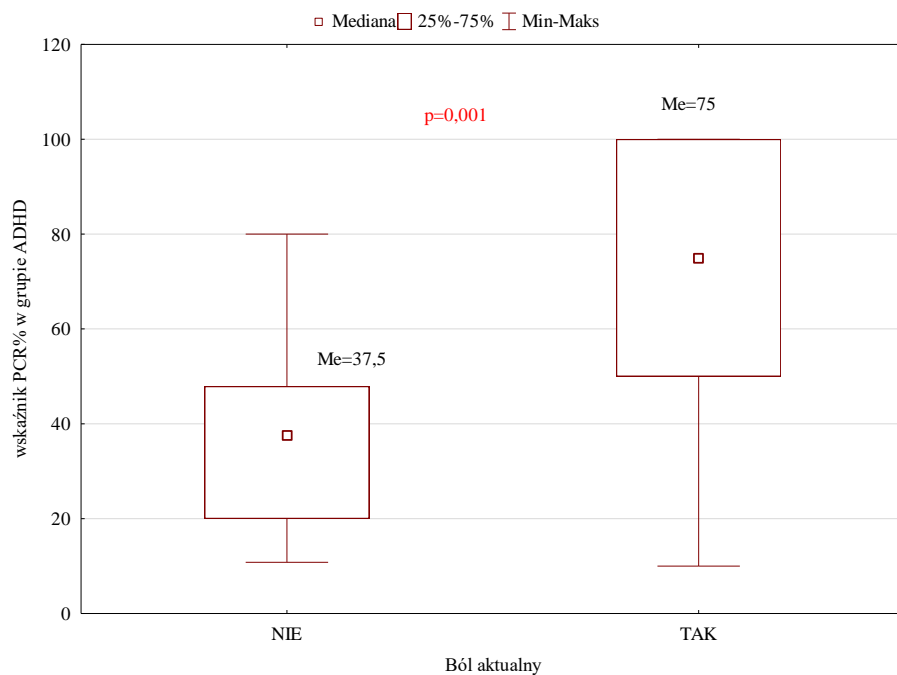
Wartości wskaźników PUWZ i puwz nie wykazały istotnej statystycznie różnicy porównując grupę dzieci ADHD odczuwające ból aktualnie z tymi, które bólu aktualnie nie odczuwały (tabela 13).

Tabela 13. Różnice w wartościach wskaźników GI, puwz, PUWZ i PCR pomiędzy dziećmi w grupie ADHD, które odczuwały ból w jamie ustnej aktualnie w stosunku do tych, które bólu aktualnie nie odczuwały (test Manna-Whitneya)

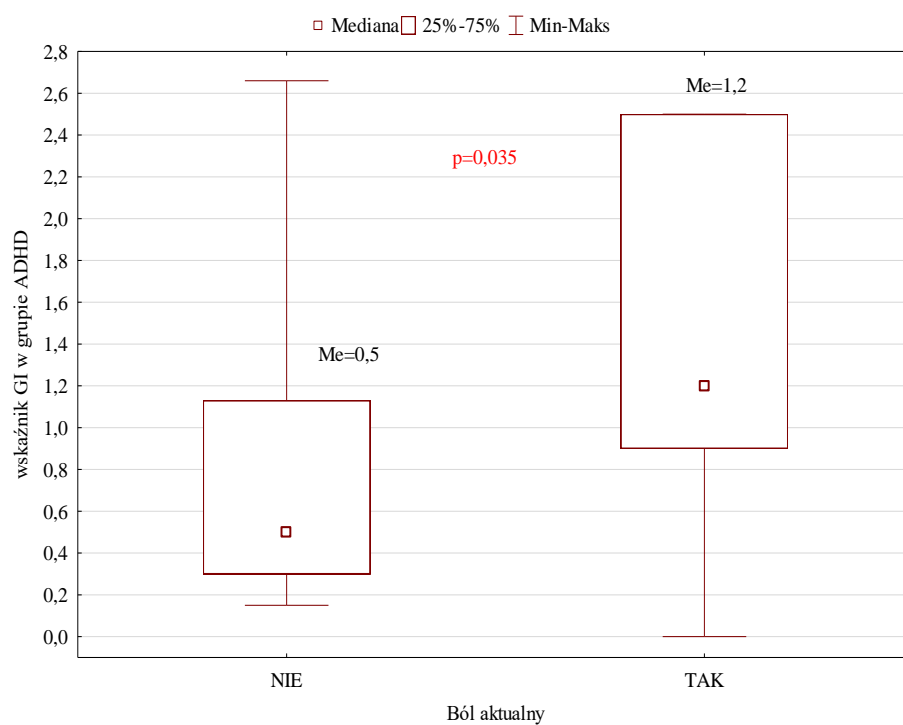
badane parametry	grupa ADHD, która aktualnie nie odczuwała bólu n=24	grupa ADHD, która aktualnie odczuwała ból n=15	p-wartość
GI	0,87±0,72*	1,44±0,83*	0,035
puwz	3,75±3,04*	5,4±5,14*	0,296
PUWZ	0,71±1,16*	1,07±1,16*	0,258
PCR	37,31±18,24*	69,33±29,69*	0,001

\*średnia ± odchylenie standardowe





Rycina 40. Porównanie wskaźnika PCR w grupie ADHD pomiędzy dziećmi, które odczuwały ból w jamie ustnej aktualnie do tych, które go nie odczuwały



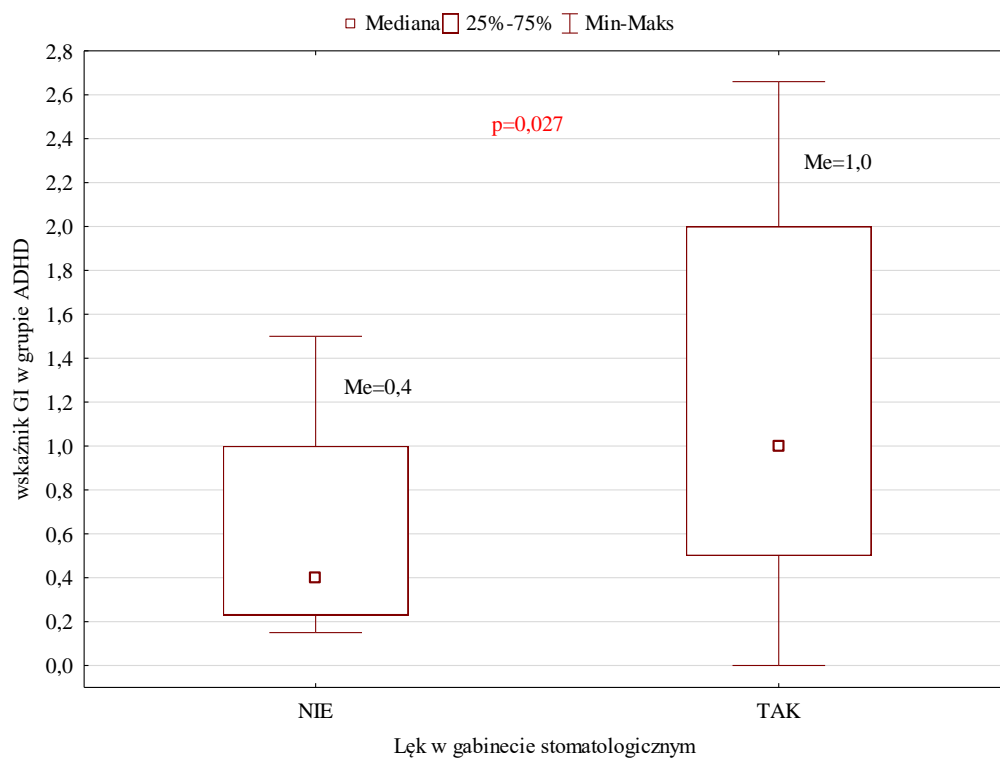
Rycina 41. Porównanie wskaźnika GI w grupie dzieci z ADHD z bólem w jamie ustnej aktualnie do tych bez bólu aktualnie odczuwanego

Wartości wskaźnika GI u dzieci z ADHD odczuwających lęk były istotnie statystycznie wyższe od wartości wskaźnika GI odnotowanych u dzieci nie odczuwających lęku ( $p < 0,05$ ) (rycina 42, tabela 14). W przypadku wskaźnika PCR różnica była bliska istotności ( $p = 0,054$ ). Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy wartościami PUWZ i puwz w obu grupach w odniesieniu do lęku stomatologicznego (tabela 14).

Tabela 14. Różnice w wartościach wskaźników GI, PCR, puwz i PUWZ u dzieci z grupy badanej, które odczuwają lęk stomatologiczny w stosunku do tych, które lęku stomatologicznego nie odczuwają (test Manna-Whitneya)

badane parametry	grupa ADHD która nie odczuwa lęku stomatologicznego n=9	grupa ADHD, która odczuwa lęk stomatologiczny n=30	p-wartość
GI	0,59±0,47*	1,24±0,83*	0,027
puwz	3,89±3,26*	4,53±4,23*	0,831
PUWZ	1,11±1,36*	0,77±1,10*	0,501
PCR	33,97±14,59*	54,33±29,29*	0,054

\*średnia ± odchylenie standardowe



Rycina 42. Porównanie wskaźnika GI w grupie ADHD między dziećmi odczuwającymi lęk stomatologiczny do tych bez lęku

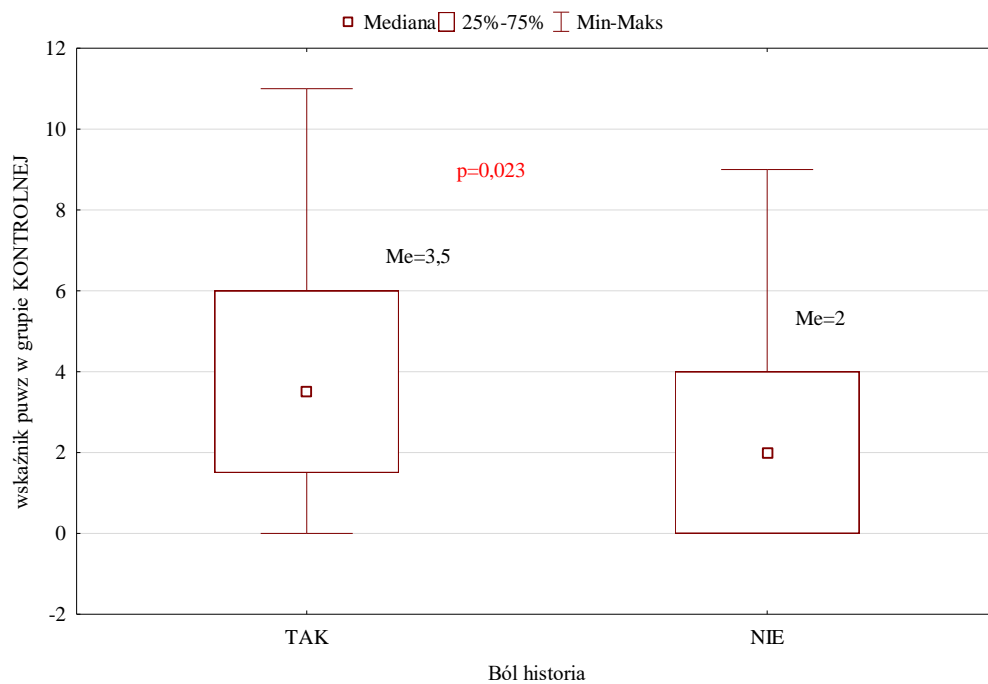
W grupie kontrolnej analiza porównawcza dzieci z aktualnie występującym bólem nie została dokonana, ponieważ tylko dwoje dzieci deklarowało odczuwanie bólu w czasie przeprowadzania badania.

Analiza historii bólu w przeszłości w jamie ustnej u dziecka w stosunku do aktualnych wartości wskaźników stomatologicznych puwz, PUWZ, GI, PCR wykazała istotność statystyczną dla puwz ( $p=0,023$ ) oraz PCR ( $p=0,007$ ), (rycina 43 i 44, tabela 15).

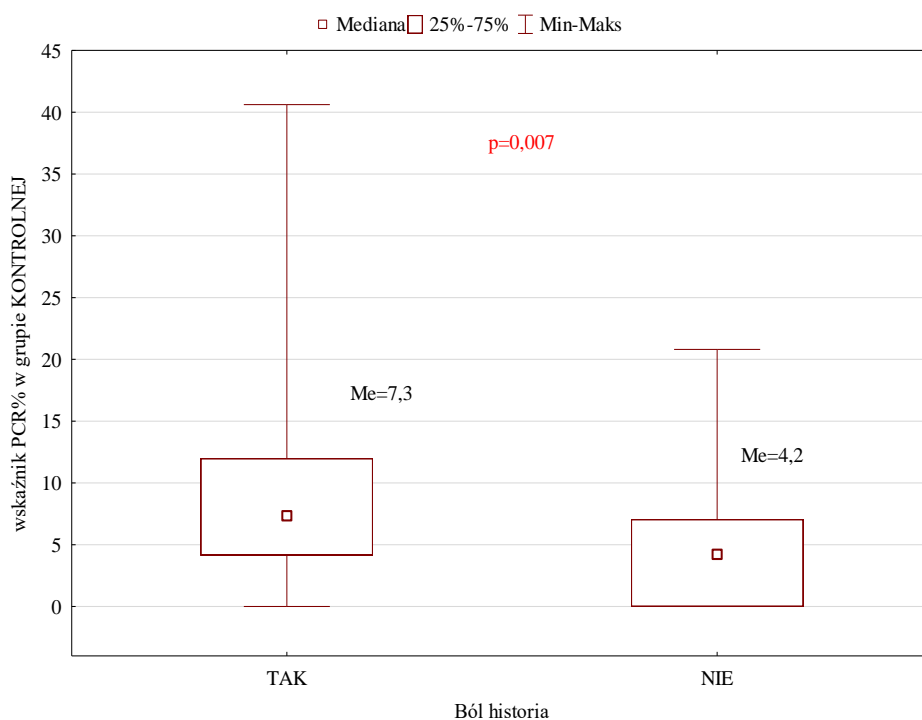
Tabela 15. Różnice w wartościach wskaźników puwz, PUWZ, PCR, GI u dzieci z grupy kontrolnej, które odczuwały ból w jamie ustnej w przeszłości w stosunku do tych, które bólu w przeszłości nie odczuwały (test Manna-Whitneya)

badane parametry	grupa kontrolna, która odczuwała ból w jamie ustnej w przeszłości n=24	grupa kontrolna, która nie odczuwała bólu w jamie ustnej w przeszłości n=56	p-wartość
PCR	9,15±8,56*	4,49±4,98*	0,007
GI	0,09±0,14*	0,03±0,09*	0,227
puwz	4,17±3,20*	2,46±2,35*	0,023
PUWZ	0,33±0,92*	0,18±0,51*	0,929

\*średnia ± odchylenie standardowe



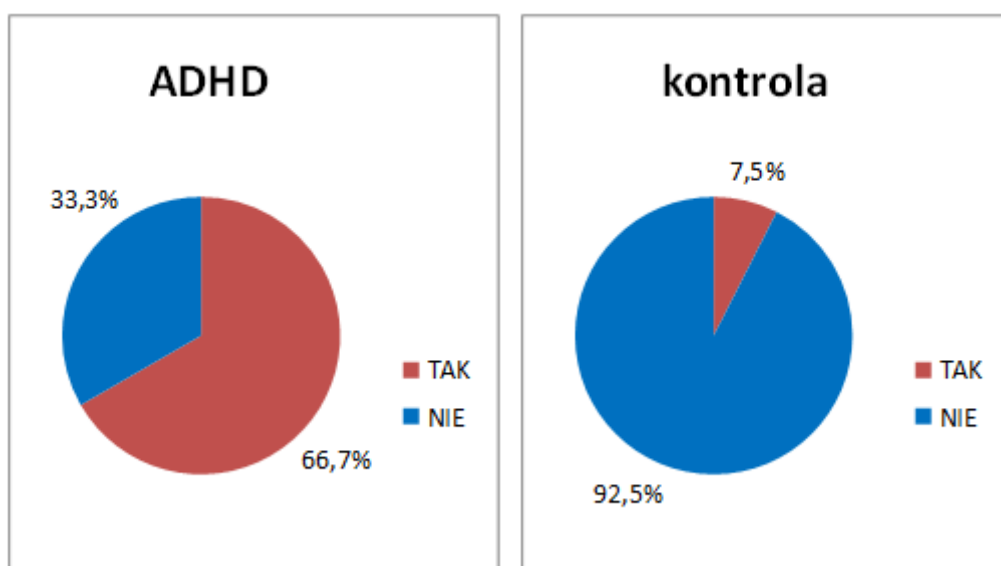
Rycina 43. Porównanie wartości wskaźnika puwz w grupie kontrolnej u dzieci, które w przeszłości odczuwały ból w jamie ustnej w stosunku do tych, które bólu w przeszłości nie odczuwały



Rycina 44. Porównanie wartości wskaźnika PCR w grupie kontrolnej u dzieci, które w przeszłości odczuwały ból w jamie ustnej w stosunku do tych, które bólu w przeszłości nie odczuwały

#### 4.8. Porównanie stresu psychicznego z ostatnich 12 miesięcy między grupami oraz jego korelacja ze stężeniami amylazy ślinowej i kortyzolu

W Ankiecie Rodzica jedno z pytań dotyczyło przeżycia sytuacji stresowych w przeciągu ostatnich 12 miesięcy poprzedzających badanie dziecka. Pomiędzy grupami występowała znacząca różnica (grupa ADHD 66,7%, grupa kontrolna 7,5%) w przebytych stresowych wydarzeniach ( $p < 0,05$ ), (rycina 45).



Rycina 45. Porównanie występowania przeżyć stresowych między grupą ADHD i kontrolną ( $p < 0,05$ )

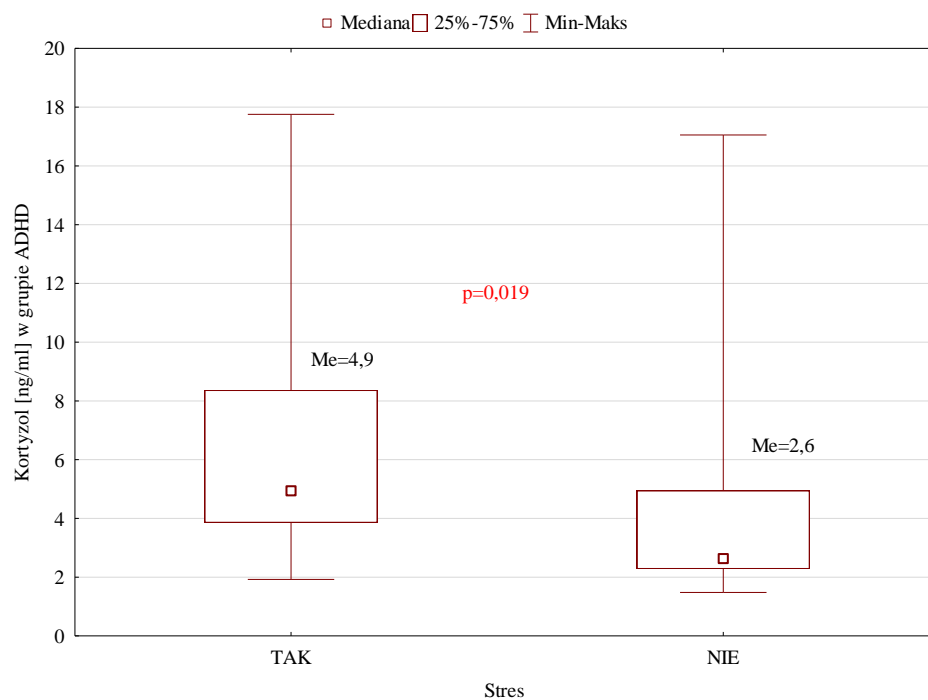
Dodatkowo w grupie ADHD stwierdzono istotną statystycznie korelację stężenia kortyzolu ( $p = 0,019$ ) i amylazy ślinowej ( $p = 0,034$ ) z występowaniem stresu psychicznego u dzieci z ADHD w ciągu ostatniego roku (tabela 16, rycina 46 i 47). Natomiast nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem IgA a stresującymi wydarzeniami w tej grupie.

W grupie kontrolnej nie wykazano zależności pomiędzy tymi parametrami neurobiologicznymi i stresem psychicznym ( $p > 0,05$ ).

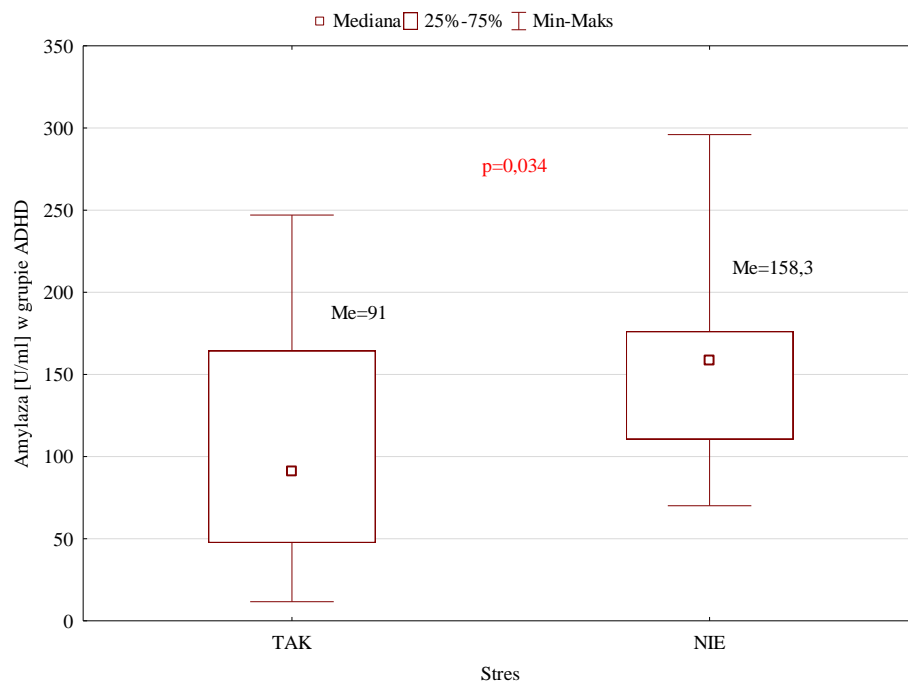
Tabela 16. Różnice w wartościach stężeń kortyzolu, amylazy ślinowej i IgA pomiędzy dziećmi z grupy ADHD, które w ostatnim roku miały przeżycia stresujące a tymi bez przeżyć stresujących (test Manna-Whitneya)

badana zmienna	grupa ADHD z wydarzeniami stresującymi w ostatnim roku n=26	grupa ADHD bez wydarzeń stresujących w ostatnim roku n=13	p-wartość
stężenie amylazy [U/ml]	107,22*±72,77	160,24*±68,24	0,034
stężenie kortyzolu [ng/ml]	6,84*±4,48	4,44*±4,17	0,019
stężenie IgA [ug/ml]	178,66*±52,73	161,21*±54,33	0,340

\*średnia ± odchylenie standardowe



Rycina 46. Porównanie stężenia kortyzolu u dzieci z ADHD, które miały przeżycia stresujące w stosunku do tych bez przeżyć stresujących w ciągu ostatniego roku



Rycina 47. Porównanie stężenia amylazy u dzieci z ADHD, które miały przeżycia stresujące w stosunku do tych dzieci, które nie miały przeżyć stresujących w ciągu ostatniego roku

## 5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

### 5.1. Ocena biologicznego rozwoju i polimorfizmu genu TCF7L2.

Wyniki badań uzyskane w przedstawionym opracowaniu wpisują się w szerszy nurt poszukiwań czynników mających wpływ na wzrost zaburzeń psychicznych w okresie rozwojowym człowieka [Cepeda 2012]. Wykonana analiza rozwoju biologicznego i stanu jamy ustnej z uwzględnieniem parametrów neurobiologicznych możliwych do oznaczenia w ślinie pozwalają na ocenę stanu zdrowia dzieci z zespołem ADHD w ujęciu kompleksowym. Aspekt oceny stanu zdrowia jamy ustnej wydaje się bardzo ważny, ponieważ gabinet stomatologiczny jest placówką służby zdrowia, która powinna być istotnym elementem opieki medycznej dla tych dzieci [Blomqvist i wsp. 2011]. Przeprowadzone badania z całą pewnością pozwalają uświadomić konieczność kierowania dzieci i młodzieży do leczenia specjalistycznego, w tym stomatologicznego, bez którego może dojść do postępujących zaniedbań w zdrowiu jamy ustnej. Analiza parametrów neurobiologicznych śliny może być pomocna w ustaleniu głównych czynników decydujących o progresji zmian.

W odniesieniu do danych z przeszłości, dotyczących przebiegu ciąży i porodu dzieci z obu grup, korelacje dotyczyły nieprawidłowości samej ciąży i wystąpienia wydarzeń stresowych, ze znamioną statystycznie istotnością dla dzieci z zespołem ADHD. Przebieg porodu i pierwsza ocena noworodków w skali Apgar nie wyróżniała dzieci z żadnej grupy ( $p > 0,05$ ).

Wyniki te są zgodne z danymi przedstawianymi w literaturze naukowej na temat predyspozycji i czynników ryzyka dla ADHD. Stan zdrowia w okresie ciąży [Wiegersma i wsp. 2019], przyjmowanie leków w czasie ciąży [Figuroa 2010, Croen i wsp. 2011, Lavebratt i wsp. 2019, Pasker-de Jong i wsp. 2010], sytuacje stresowe ciężarnej [Van den Bergh i wsp. 2017, Manzari i wsp. 2019, Talge i wsp. 2007] stanowiąc mogą istotne impulsy modulujące dojrzewanie struktur układu nerwowego u dziecka w okresie prenatalnym. Stres bowiem wywołuje wzrost poziomu kortykotropiny, a zaburzenia funkcjonowania osi podwzgórze-przysadka mózgowa nasilają prawdopodobieństwo wystąpienia chorób psychicznych [Clemens i wsp. 2020, Brannigan i wsp. 2019].

Należy zaznaczyć, że w przedstawianej pracy ocena parametrów stresowych u matki z okresu ciąży i porodu była dokonywana wstecz w stosunku do czasu analizy dziecka.



Ich wartość mimo zachodzących zależności należy rozpatrywać w kierunku dokładniejszej analizy indywidualnej poszczególnych dzieci włączonych do projektu.

Natomiast ocena biologicznego rozwoju dzieci dotyczyła pomiarów antropologicznych dokonanych w czasie teraźniejszym trwania badań, takich jak wzrost, wymiary obwodowe talii i bioder, masa ciała oraz indeks BMI. Pomędzy grupą badana i kontrolną wykazano istotne różnice w masie ciała, obwodzie bioder oraz indeksie BMI (odpowiednio  $p=0,008$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,01$ ), podczas gdy wzrost i obwód talii nie wykazały znaczących różnic (odpowiednio  $p=0,103$ ,  $p=0,365$ ).

Dotychczas opublikowane prace wskazują, że dzieci z zespołem ADHD mają większą masę ciała lub BMI w porównaniu z normami pediatrycznymi lub grupa kontrolną [Holtkamp i wsp. 2004, Anderson i wsp. 2006, Hubel i wsp. 2006, Hanć 2018]. Holtkamp i wsp. [2004] stwierdzili, że chłopcy z ADHD w porównaniu z populacją mają wyższy indeks BMI i częściej obserwuje się u nich nadwagę i otyłość. U dzieci i młodzieży wskaźnik BMI zmienia się dynamicznie w zależności od wieku i wzrostu, dlatego też dla nich konieczne jest stosowanie odpowiednich siatek centylowych [Maślanek i wsp. 2013]. Nie wszystkie badania dostarczają jednoznacznych wyników, mimo to na podstawie analizy wielu źródeł można stwierdzić, że ADHD jest znaczącym czynnikiem rozwoju nadwagi i otyłości niezależnie od leczenia farmakologicznego, statusu socjoekonomicznego i większości zaburzeń towarzyszących ADHD [Hanć 2018]. Możliwą determinantą wpływającą na nadwagę i otyłość u dzieci z ADHD może być nieumiejętność radzenia sobie z sytuacjami trudnymi i przeżywanymi emocjami. Ucieczka w wysokokaloryczne jedzenie jest często prostym i łatwo dostępnym sposobem na kompensowanie niepowodzeń szkolnych, towarzyskich, konfliktów rodzinnych [Makara-Studzinska 2007].

Analiza statystyczna wyników dotyczących polimorfizmu SNP genu TCF7L nie ujawniła istotnych korelacji między polimorfizmem tego genu a masą ciała, wzrostem, BMI, obwodem bioder, obwodem pasa, choć wyniki prawdopodobieństwa ryzyka w zależności od genotypu były na granicy istotności ( $p=0,05$ ) w odniesieniu do masy ciała oraz BMI.

Otyłość, nadwaga i inne czynniki środowiskowe mogą przyczyniać się do rozwoju cukrzycy typu 2. Związek między polimorfizmem pojedynczych nukleotydów (SNP) genu TCF7L2, szczególnie rs7903146 a ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 2 został potwierdzony naukowo [Cauchi i wsp. 2007], jednak badania nad związkiem pomiędzy

otyłością lub nadwagą a polimorfizmem tego genu nie potwierdzają ścisłej zależności [Kała i wsp. 2014, Cauchi i wsp. 2008]. Mimo, że mutacje w genie TCF7L2 prowadzą do licznych zmian metabolicznych, takich jak upośledzone wydzielanie insuliny czy modyfikacji w produkcji i tolerancji glukozy, co prawdopodobnie wpływa na gospodarkę węglowodanowo-lipidową, to związek polimorfizmu genu TCF7L2 i otyłości jest nadal kontrowersyjny, wymagający dalszych analiz. Podkreślić również należy, że brakuje w tym obszarze prac badawczych prowadzonych na subpopulacji dziecięcej.

## 5.2. Badanie kliniczne jamy ustnej

Na podstawie przeprowadzonego badania jamy ustnej stwierdzono, że w grupie dzieci chorych na ADHD frekwencja próchnicy wynosiła 84,6%. Znacząco niższą wartość odnotowano w grupie kontrolnej, gdzie wynosiła ona 41,6%.

Wskaźniki intensywności próchnicy puwz i PUWZ wynosiły dla grupy badanej odpowiednio  $4,4 \pm 4$  i  $0,8 \pm 0,9$ , a dla dzieci z grupy kontrolnej odpowiednio  $3 \pm 2,8$  i  $0,2 \pm 0,7$ . Stwierdzono bliską znamiennej istotności różnicę między grupami dla wskaźnika puwz ( $p=0,056$ ) oraz istotną statystycznie różnicę dla wskaźnika PUWZ ( $p=0,005$ ). Analiza poszczególnych składowych wskaźnika puwz wykazała większą liczbę zębów z aktywną próchnicą zębów mlecznych (p) u dzieci w grupie badanej ( $p=3,3 \pm 4$ ), podczas gdy w grupie kontrolnej wartość p wyniosła  $1,0 \pm 1,6$  ( $p < 0,001$ ). Analiza poszczególnych składowych wskaźnika PUWZ wykazała, że większą liczbę zębów z aktywną próchnicą (P) stwierdzono u dzieci w grupie badanej  $P=0,8 \pm 1,1$ , podczas gdy w grupie kontrolnej wartość P wyniosła  $0,1 \pm 0,4$ . Analiza statystyczna wykazała istotność różnicy w wartościach p i P pomiędzy obiema grupami ( $p < 0,001$ ). Liczba usuniętych zębów mlecznych (u) była u dzieci z grupy badanej na średnim poziomie  $u=0,2 \pm 0,6$  i nie różniła się istotnie od liczby w grupie kontrolnej  $0,1 \pm 0,4$ ; ( $p=0,645$ ). Zarówno w grupie dzieci ADHD, jak i kontrolnej nie stwierdzono usuniętych zębów stałych z powodu próchnicy  $U=0$ . Liczba zębów wypełnionych z powodu choroby próchnicowej (w) była mniejsza w grupie ADHD i wynosiła  $0,9 \pm 1,3$ , a większa w grupie kontrolnej  $w=1,9 \pm 1,8$ ; ( $p=0,002$ ). Ilość zębów stałych wypełnionych z powodu choroby próchnicowej (W) była na podobnym poziomie i nie wykazywała istotnej różnicy ( $p=0,728$ ) między grupami. Niekorzystny stan rozwoju zmian próchnicowych w zębach mlecznych rozpatrywany na podstawie przyporządkowania do odpowiednich stopni indeksu ICDAS II wykazał istotne różnice dla stopni ICDAS 0, ICDAS 1, ICDAS 2, ICDAS 5,

ICDAS 6, a dla zębów stałych ICDAS1, ICDAS 3 u dzieci z zespołem ADHD, które, w odróżnieniu od dzieci zdrowych, miały więcej zębów mlecznych z wyższymi stadiami choroby próchnicowej. Niższą liczbę wyleczonych zębów mlecznych potwierdziła też mediana z leczenia próchnicy zębów mlecznych, która dla grupy ADHD wyniosła 0,0 (min-max, 0-1), (średnia  $0,2 \pm 0,3$ ) i była niższa niż w grupie kontrolnej, dla której mediana wyniosła 0,8 (min-max, 0-1), (średnia  $0,8 \pm 0,3$ ). Analizując parametry dotyczące leczenia zębów stałych również można zauważyć, że mediana w grupie badanej ADHD jest niższa i wynosi 0 (min-max 0-0,5; średnia  $0,04 \pm 0,14$ ) w porównaniu do grupy kontrolnej, w której mediana leczenia zębów stałych wyniosła 0,5 (min-max 0-1), a średnia  $0,5 \pm 0,48$ .

Na podstawie analizy wyników wskaźników puwz, PUWZ, ICDAS II, można przyjąć, że lepszy stan uzębienia stwierdzono u dzieci z grupy kontrolnej. Analiza intensywności próchnicy wyrażona wskaźnikiem puwz/PUWZ i jego poszczególnych składowych wykazała, że jego wartości w grupie ADHD oscylowały pomiędzy wartościami 0-20/0-4, a w grupie kontrolnej 0-11/0-3. Istotnie statystycznie różnice stwierdzono w liczbie ubytków i liczbie wypełnień w zębach mlecznych oraz w liczbie ubytków w zębach stałych. Przedstawione dane dowodzą, że w zaburzeniach spektrum ADHD istnieje większe ryzyko próchnicy zębów mlecznych i stałych.

Jak dotąd brakuje oceny jamy ustnej dzieci z zespołem ADHD dla subpopulacji polskiej. Związek klinicznych i biologicznych czynników ryzyka otyłości u dzieci z ADHD nie był rozpatrywany razem z zdrowiem jamy ustnej. Opublikowane dotychczas wyniki badań stomatologicznych w krajach, gdzie oceniono stan uzębienia dzieci dotkniętych ADHD są nieliczne, jednakże w dostępnej literaturze zwraca się uwagę na zwiększone występowanie zmian próchnicowych u dzieci z zespołem ADHD, gdzie wartości wskaźnika próchnicy dla zębów stałych PUWZ wynosiły powyżej 2,0 [Hidas i wsp. 2011, 2103, Chau i wsp. 2017, Koelbeck i wsp. 2013]. W badaniach grupy szwedzkich dzieci z zespołem ADHD średnia wartość wskaźnika dla zębów stałych PUWZ wynosiła  $2,8 \pm 4$ , w porównaniu do dzieci bez ADHD  $2,2 \pm 3,2$  [Blomqvist i wsp. 2007]. Na uwagę zasługuje fakt, że badane dzieci były starsze (średnia wieku 13 lat) i ocena zmian próchnicowych w cytowanych publikacjach była dokonana wyłącznie dla zębów stałych. Słabością cytowanych badań były również mało liczebne grupy badane poddane analizie, np. 21 dzieci [Blomqvist i wsp. 2007]. Podobny problem należy zauważyć w odniesieniu do innych opublikowanych badań, w których liczebność grup była również niska i zwykle nie przekraczała 50 dzieci, natomiast średni wiek badanych był wyższy niż 8 lat (średnio  $>12$  r.ż.), co powoduje, że brak jest możliwości

porównania stanu zdrowia zębów mlecznych. W odniesieniu do danych krajowych, spośród których nie ma opracowań dotyczących zdrowia jamy ustnej u dzieci z zespołem ADHD, jedynym źródłem, do którego można odnieść wyniki uzyskane w pracy są ogólnopolskie badania stanu zdrowia jamy ustnej, prowadzone w populacyjnych grupach zdrowych dzieci i młodzieży w wieku 5-6 oraz 15 lat [Wierzbicka i wsp. 2011]. Należy zaznaczyć, że badania monitoringowe nie są całkowicie porównywalne ze względu na różnicę dotyczącą średniej wieku dzieci, która w niniejszych badaniach wyniosła 8 lat.

W odniesieniu do danych ogólnopolskich, uwzględnionych w badaniach epidemiologicznych opracowanych, pt. *Monitorowanie stanu zdrowia jamy ustnej populacji polskiej w latach 2016-2020* stwierdzić należy, że nadal liczba ubytków pochodzenia próchnicowego w grupie wiekowej 5-7-letnich jest wysoka [Olczak-Kowalczyk i wsp. 2017]. Średnio 6,4% dzieci sześciolletnich w Polsce ma próchnicę w uzębieniu stałym. W raporcie wykazano także, że u coraz młodszych dzieci przybywa zmian próchnicowych. Aż 50% trzylatków boryka się z chorobą próchnicową, a prawie co trzeci siedmiolatek w Polsce (29,7%) ma uzębienie stałe z chorobą próchnicową. Do najważniejszych czynników zaliczono niewystarczającą wiedzę rodziców oraz związane z tym faktem popełniane błędy higieniczne oraz dietetyczne. Ponadto dodatkowo zwrócono uwagę na potrzebę prowadzenia programów edukacyjnych i profilaktycznych skierowanych do przyszłych rodziców i opiekunów dzieci oraz do samych zainteresowanych, czyli dzieci i młodzieży [Olczak-Kowalczyk i wsp. 2017]. W 2016 roku w ramach prac pt. *Monitoring stanu zdrowia jamy ustnej Polaków* przeprowadzono badanie *Próchnica zębów stałych u dzieci w wieku 5-7 lat w Polsce i jej związek z próchnicą zębów mlecznych*, na próbie około łącznie 1900 pięcioletków oraz siedmiolatek. Opisywane badanie opierało się także na wskaźnikach puwz i PUWZ. Badanie przeprowadzono w województwach dolnośląskim, mazowieckim, małopolskim i lubelskim. U dzieci pięcioletnich wykazano próchnicę u 76,95% badanych. W grupie dzieci 7-letnich aż 89,4% posiadało ubytki pochodzenia próchnicowego. 26,2% pięcioletków miało przynajmniej jeden ząb stały, z czego 6,4% już z chorobą próchnicową. 98,8% siedmiolatek posiadała choćby jeden ząb stały, niestety aż 29,7% z próchnicą [Olczak-Kowalczyk i wsp. 2017].

Porównując wyniki badań własnych z opracowaniami programu *Monitoringu stanu zdrowia jamy ustnej Polaków* zaobserwowano, że w grupie 39 przebadanych dzieci z zespołem ADHD ponad 84% dzieci boryka się już chorobą próchnicową, a odsetek tych dzieci był wyższy niż w innych badaniach stomatologicznych prowadzonych w naszym kraju

[Olczak-Kowalczyk i wsp. 2017]. Jak pokazały badania własne stan uzębienia u dzieci z zespołem ADHD w porównaniu do dzieci bez rozpoznania ADHD w wieku 6-10 lat jest niezadowalający.

W przeprowadzonych badaniach, u dzieci z zespołem ADHD stwierdzono zwiększoną retencję płytki bakteryjnej według wskaźnika PCR i większy zapalny stan dziąseł według wskaźnika GI aniżeli w grupie zdrowych. Wyniki te są zbieżne z badaniami prowadzonymi wśród dzieci z innych krajów chorych na ADHD opisanych przez Chau i wsp. (2016), Hidas i wsp. (2013), Blomqvist i wsp. (2011). Według tych autorów zwiększona akumulacja płytki bakteryjnej, stan zapalny dziąseł mogą być wynikiem preferowanej przez tych pacjentów diety wysokowęglowodanowej i gorszych zachowań prozdrowotnych. Mniej dzieci z ADHD szczotkowało zęby systematycznie rano i wieczorem, usuwanie resztek pokarmowych jeszcze przed rozkładem bakteryjnym odbywało się nieregularnie. Wśród dzieci z zespołem ADHD istnieje tendencja do spożywania częściej posiłków i podjadania pomiędzy posiłkami głównymi. Przy braku ograniczeń w dostępie do słodyczy i kontroli ich spożywania ze strony opiekunów dziecka, wzrost liczby spożywanych posiłków może mieć duże znaczenie w progresji próchnicy zębów mlecznych i stałych. W literaturze istnieje pewna niezgodność autorów różnych publikacji, w których z jednej strony potwierdzają, że nieregularne szczotkowanie zębów wpływa na wysoką aktywność próchnicy (niezależnie od pochodzenia, poziomu edukacji i zamożności badanych), inne badania wskazują na brak wpływu szczotkowania na wzrost frekwencji próchnicy [Blomqvist 2007]. Bretz i wsp [2018]. przedstawili pogląd, że dieta wysokowęglowodanowa sprzyja rozwojowi szczepów bakteryjnych *Streptococcus sobrinus*, które dzięki obecności w jamie ustnej sacharozy są lepiej przystosowane do kolonizacji płytki bakteryjnej. Zakładają oni, że jeżeli w jamie ustnej dochodzi do aktywnego rozwoju szczepu bakterii *Streptococcus sobrinus*, pozostałe drobnoustroje kwasotwórcze są mniej aktywne. Jednak przy zmianie dostępności cukrów w jamie ustnej proporcje kariogennych szczepów bakteryjnych wracają do normy. Analiza artykułów badających wpływ cukru na ryzyko próchnicy klasyfikowały spożycie cukru jako umiarkowany czynnik ryzyka dla próchnicy dla większości ludzi ze stałą ekspozycją na fluor. W obu grupach (ADHD i kontrolna) rodzice deklarowali podobny udział w programach szkolnych zapewniających regularną fluoryzację kontaktową (ADHD=87,1%, Kontrola=81,3%), jednakże nieregularność szczotkowania zębów była zdecydowanie wyższa w grupie dzieci z zespołem ADHD. O regularnym, dwukrotnym szczotkowaniu zapewniało w grupie badanej jedynie 48,7%, a w grupie kontrolnej 91%. Stąd można przyjąć, że dzieci

z grupy badanej miały mniejszą ekspozycję na fluor ze względu na nieregularne szczotkowanie, a częstsze podjadanie dzieci z ADHD powinno być rozważane jako czynnik ryzyka gorszego stanu zębów mlecznych i stałych. Należy pamiętać też, że obciążone zespołem ADHD dzieci posiadają większe trudności w rozwiązywaniu złożonych problemów i mają problem w rozpoznaniu związków przyczyna-skutek. Deficyty na poziomie funkcji wykonawczych utrudniają podejmowanie przez dziecko aktywności związanych z planowaniem i organizacją, jeśli nie są one odpowiednio motywowane i stymulowane.

W rodzinach z dzieckiem z ADHD raportuje się większą liczbę konfliktów na linii rodzina-dziecko, co może mieć wpływ na zachowania prozdrowotne również w stosunku do jamy ustnej. Występująca w ADHD dość znaczna redukcja funkcjonowania dziecka w porównaniu do dziecka bez zaburzeń w tym samym wieku, wymusza od rodziców wsparcia w wielu codziennych czynnościach, włączając w to radzenie sobie z utrzymaniem higieny jamy ustnej i pewien reżim dietetyczny. Opracowane dane z niniejszej pracy są sygnałem alarmującym dla wielu obszarów opieki stomatologicznej, w tym frekwencji wizyt w gabinecie stomatologicznym. Z danych ankietowych zawartych w pracy częstotliwość wizyt stomatologicznych różni się między grupami. Liczba dzieci z zespołem ADHD, które były na wizycie stomatologicznej w ciągu ostatnich 6 miesięcy (18%) różni się istotnie od dzieci zdrowych (56%), a dane dotyczące bólu w jamie ustnej w przeszłości i w czasie teraźniejszym były zdecydowanie częściej odnotowywane w ankiecie rodziców dzieci z zespołem ADHD.

Wyniki te sugerują, że rodziny badanych dzieci z ADHD potrzebują dodatkowego wsparcia i powinny być kontrolowane z krótszymi przerwami pomiędzy wizytami stomatologicznymi, by zapobiec rozwojowi próchnicy, ponieważ reprezentują gorsze zachowania prozdrowotne. Podsumowując stan jamy ustnej zbadanych dzieci ze zdiagnozowanym zespołem ADHD, należy stwierdzić, że o ryzyku próchnicy stanowi wieloprzyczynowość etiologii tej choroby, jednak rozpoznanie zaburzeń ADHD może stanowić ważne (nie jedyne) kryterium w prognozowaniu ryzyka rozwoju próchnicy.

### **5.3. Wykorzystanie ślinowych stężeń kortyzolu, amylazy ślinowej i IgA w badaniach stanu jamy ustnej i stanu psychicznego u dzieci z ADHD**

Wykonane w niniejszej pracy oznaczenia stężeń kortyzolu, amylazy ślinowej i IgA potwierdziły potencjał wykorzystania śliny jako materiału biologicznego do diagnostyki i monitorowania różnych układów człowieka [Castagnola i wsp. 2017]. Badanie śliny jest narzędziem diagnostycznym w chorobach ogólnoustrojowych i jamy ustnej człowieka ze względu na zawartość elektrolitów, glikoprotein, enzymów, hormonów, immunoglobulin [Lawrence 2002]. Jako że hormony i białka układu immunologicznego człowieka nie są bezpośrednio produkowane w obrębie jamy ustnej, lecz przechodzą do śliny na drodze dyfuzji z układu krwionośnego, tym bardziej ten pośredni profil kinetyczny świadczy o istotności otrzymanych wyników [Hucklebridge i wsp. 1998].

Wyniki oznaczeń wybranych składników śliny wykazały, że wartości stężeń IgA i amylazy ślinowej były istotnie wyższe w grupie dzieci ADHD niż w grupie kontrolnej ( $p < 0,001$ ), w przypadku kortyzolu nie stwierdzono znamiennej różnicy pomiędzy grupami ( $p = 0,399$ ).

W przeprowadzonych badaniach aktywność amylazy ślinowej była podwyższona w grupie dzieci o zdecydowanie większej liczbie ubytków próchnicowych (grupa ADHD). W literaturze dotyczącej zagadnień biomarkerów ślinowych próchnicy opublikowano wiele prac potwierdzających zależność amylazy od poziomu próchnicy [Keyes 1968, Schilling i Bowen 1992, Scannapieco i wsp. 1993, Rosan i Lamont 2000, Balakrishnan i Simmonds 2000, Preetha i wsp. 2019]. Ta korelacja jest uwarunkowana działaniem amylazy ślinowej w jamie ustnej jako katalizatora reakcji hydrolizy cukrów nierozpuszczalnych, takich jak skrobia, do prostszych form węglowodanów, łatwiejszych do metabolizowania przez bakterie *Streptococcus* [Amerongen i Veerman 2002]. Ważną właściwością tego enzymu jest silne powinowactwo do wiązania cukrów do powierzchni szkliwa zębów w błonce nabytej (pelliculi) i płytki bakteryjnej dla bakterii. Badania przeprowadzone przez Douglasa i wsp. [2001] wykazały, że produkcja kwasów w wyniku fermentacji skrobi przez interakcje amylazy ślinowej i bakterii w jamie ustnej zwiększa ilościowo formowanie aktywnej płytki bakteryjnej i indukcję próchnicy. Potwierdzenie wcześniejszych wyników badań stanowi niniejsza ocena kliniczna dzieci z grupy ADHD, w której wykazano zależność pomiędzy stężeniem IgA i występowaniem płytki bakteryjnej na powierzchni zębów według wartości PCR oraz stanu dziąseł według wartości GI ( $p < 0,05$ ).

Wyniki badań własnych wskazują na wiele kierunków, w których można analizować amylazę ślinową. Jej poziom w ślinie jest istotny zarówno z powodu stymulacji rozwoju próchnicy w jamie ustnej, jak i monitorowania poziomu aktywacji układu współczulnego na skutek reakcji stresowej [Nater i Rohleder 2009]. Wybranie amylazy ślinowej do badań u dzieci wynikało z szeregu najnowszych publikacji, sugerujących udział tego enzymu w odpowiedzi na fizyczne i psychiczne bodźce stresogenne [Rohleder i wsp. 2004]. Wykazanie w badanej grupie dzieci z zespołem ADHD korelacji stężenia amylazy ślinowej z zadeklarowanymi sytuacjami stresowymi w przeciągu ostatnich 12 miesięcy sugeruje, że sAA może być bardziej reaktywna na przewlekłe bodźce stresowe. W analizach innych autorów, kiedy porównywano sAA podczas działania ostrych i przewlekłych bodźców stresorowych, uzyskano wyższe stężenia amylazy ślinowej [Chatterton i wsp. 1996; Behringer i wsp. 2012]. W literaturze na temat stresu psychicznego dotychczas nie ustalono jednoznacznie czy amylaza ślinowa bardziej wydzielana jest w przypadku ostrego czy przewlekłego stresu.

Wyniki uzyskane w prezentowanej pracy przyczyniają się do wniosku o wyższej aktywności sAA po ekspozycji na silne bodźce stresowe połączone z odczuwaniem bólu i dyskomfortu w jamie ustnej, trwającego od dłuższego czasu. W grupie dzieci z zespołem ADHD, które miały wyższe wskaźniki próchnicy, stwierdzono bowiem korelacje sAA ze stresującymi wydarzeniami w życiu dziecka ( $p=0,034$ ). Te dodatkowe impulsy dla osi HPA w układzie osi stresu u człowieka wyjaśniają w pewnym stopniu koordynację wydzielania sAA i IgA u badanych dzieci z zespołem ADHD [Almela i wsp. 2011].

W literaturze dotyczącej zagadnień ADHD rozpatrywane są także zaburzenia koordynacji i kontroli poziomu kortyzolu w organizmie człowieka [Northover i wsp. 2016, Corominas-Roso i wsp. 2015, Blomqvist i wsp. 2007, Angeli i wsp. 2018]. Niewyrównane stężenia tego hormonu mogą wpływać na jego nieprawidłową fluktuację w ciągu doby czyli odwrócenie szczytów i spadków wydzielania lub/i jego nieprawidłowe utrzymywanie się w sposób ciągły w kierunku podwyższonych stężeń [Angeli i wsp. 1978, Hucklebridge i wsp. 2005]. W badaniach własnych w obu grupach dzieci był on pobierany jednokrotnie w godzinach rannych. Wyniki oznaczeń pokazały podobne wartości w grupie dzieci z zespołem ADHD i bez zaburzeń ADHD ( $p=0,399$ ), natomiast istotna była korelacja stężenia kortyzolu w ślinie i przebytych wydarzeń stresowych ( $p=0,019$ ). Pomiędzy grupami pojawiła się znacząca różnica w deklaracji występowania stresu psychicznego lub nie (grupa ADHD 66,7%-tak, grupa kontrolna 7,5%-tak). W grupie badanej ADHD kortyzol wykazał dodatkowo



związek co do ilości płytki bakteryjnej w jamie ustnej według wartości wskaźnika PCR ( $r_s=0,29$ ;  $p=0,069$ ). Ten wynik jest też zsynchronizowany w wartościach tego samego wskaźnika PCR oraz wskaźnika dziąsłowego GI z aktualnie występującym dolegliwościami bólowymi w jamie ustnej oraz odczuwaniem lęku przez zabiegiem stomatologicznym u dzieci z zespołem ADHD ( $p<0,05$ ). Można zatem założyć, że mimo obserwacji występowania pewnej chwiejności w wydzielaniu tego hormonu, może on być podwyższony w sytuacji narastających problemów zdrowotnych w jamie ustnej u dzieci z zespołem ADHD, np. w przypadku występowania dolegliwości bólowych, zaniedbania leczenia ubytków próchnicowych, niewłaściwej higieny jamy ustnej, niepokojów związanych z próbami podjęcia zabiegów u dziecka w gabinecie stomatologicznym. Brak istotności w poziomie kortyzolu pomiędzy grupami jest zatem uzasadniony, bowiem kortyzol charakteryzuje się dość dużą zmiennością i jest wydzielany bezpośrednio po działaniu czynnika stresowego w ciągu kilku minut, a następnie szybko zmienia swój poziom i wraca do profilu dobowego. Nawet jeśli u dzieci występuje wzmożone wydzielanie kortyzolu w ciągu doby, przyspieszenie jego sekrecji następuje w godzinach nocnych [Peeters i wsp. 2006; Stetler i wsp. 2004]. Uwzględniając powyższe mechanizmy i charakterystyczną zmienność kortyzolu, dalsze analizy jego poziomu u dzieci z zespołem ADHD wymagałyby kolejnych prób i ocen w okresie 24-godzinnym, niemniej jednak oznaczenia w ślinie otwierają wiele dróg ze względu na nieinwazyjność i powtarzalność pomiarów [Chen i wsp. 2010, Fernald i Gunnar 2009].

Badania ostatnich lat wykazały związek pomiędzy układem immunologicznym a układem nerwowym i dokrewnym, w którym sprzężenia sekrecyjne uzależnione od osi podwzgórze-przysadka-nadnercza i tarczyca mają szczególne znaczenie w regulacji stresu u człowieka. Wartości stężenia IgA i amylazy ślinowej były istotnie wyższe w grupie dzieci z ADHD niż w grupie kontrolnej ( $p<0,001$ ). W grupie badanej ADHD stwierdzono bliską istotności ujemną korelację stężenia Immunoglobuliny A z liczbą ubytków próchnicowych w zębach mlecznych ( $r_s=-0,29$ ,  $p=0,072$ ), natomiast bliską istotności dodatnią korelację stężenia Immunoglobuliny A z wartościami stanu zapalnego dziąseł GI ( $r_s=0,28$ ,  $p=0,084$ ). Dlatego wyniki badań własnych mogą sygnalizować podwyższoną aktywność układu immunologicznego i wrażliwość samej immunoglobuliny A na występowanie ognisk zapalnych w jamie ustnej. Jest to ważny wymiar badań, ponieważ korelacja IgA z wartościami GI potwierdza związek układu immunologicznego z toczącym się od dłuższego czasu stanem zapalnym w jamie ustnej.

#### **5.4. Uzyskane wyniki a ograniczenia przeprowadzonych badań**

Przeprowadzony kompleks badań posiada ograniczenia, które należy omówić. Grupy podlegające ocenie nie były liczne i nie były jednorodne pod względem płci. Rekrutacja dzieci z zespołem ADHD jest trudnym zadaniem, wymagającym kontaktu z wieloma lekarzami psychiatrami oraz ośrodkami i poradniami pedagogiczno-psychologicznymi z kilku województw ościennych regionu województw wielkopolskiego i kujawsko-pomorskiego. Należy też wspomnieć, że mimo chęci niesienia pomocy lekarskiej rodzice dzieci z zespołem ADHD niejednokrotnie nie przejawiali chęci współpracy i nawiązania bezpośredniego kontaktu z badającym.

Kolejnym problemem podlegającym szerszej dyskusji jest czas pobierania materiału diagnostycznego w stosunku do stanu klinicznego pacjenta. Na wyniki badań mógł mieć bowiem wpływ czas zbierania klinicznych danych pacjentów i pobierania próbek śliny. Wizyty stomatologiczne odbywały się w różnym odstępach czasowych od wystąpienia w rodzinie czynników stresogennych bez wcześniejszych informacji związanych z wartościami prediagnostycznymi jako linii podstawowej. Hormony, neuroprzekaźniki, cytokiny są wydzielane w rytmach dobowych, których dysregulacja prowadzi do manifestacji objawów. Z tego względu na pewno byłoby interesujące również wydłużenie pomiarów do dłuższych czasokresów i połączenie ich z jednoczesnym monitorowaniem stanu psychicznego dzieci.

Jak dotąd brakuje oceny stanu jamy ustnej dzieci z zespołem ADHD dla subpopulacji polskiej. Związek klinicznych i biologicznych czynników ryzyka otyłości u dzieci z ADHD nie był rozpatrywany razem ze zdrowiem jamy ustnej. Opublikowane dotychczas wyniki zagranicznych badań stomatologicznych oparte są na populacjach dzieci nastoletnich, a dzieci młodsze nie były analizowane jako osobna grupa, dlatego tym bardziej należy podkreślić wartość poznawczą przeprowadzonego projektu.

## 6. WNIOSKI

W oparciu o uzyskane wyniki badań ankietowych, klinicznych i biochemicznych wystosowano następujące wnioski:

1. U dzieci z zespołem ADHD istnieje zwiększone ryzyko nadwagi.
2. Nie potwierdzono zależności między badanym polimorfizmem (SNP) rs7903146 genu TCF7L2 dedykowanego dla oceny ryzyka cukrzycy typu 2 i otyłości a występowaniem u dzieci zespołu ADHD. Jednakże w przypadku analizy masy ciała i BMI uzyskane wyniki wykazują tendencję, która przy obecności dodatkowych czynników ryzyka może oznaczać większą podatność na choroby związane z zwiększoną masą ciała.
3. U dzieci obciążonych ADHD dochodzi do zmian jakościowych śliny w wybranych wskaźnikach układu współczulnego i odpornościowego, takich jak amylaza ślinowa i immunoglobulina IgA.
4. U dzieci z ADHD poziom tych neurobiomarkerów jest powiązany ze stanem zdrowia jamy ustnej i stresem psychicznym.
5. Dzieci z zaburzeniami spektrum ADHD wymagają intensyfikacji opieki stomatologicznej ze względu na większą ilość nieleczonych ubytków próchnicowych w zębach mlecznych i stałych powiązanych z nadmierną retencją płytki bakteryjnej.

## 7. STRESZCZENIE

Badania stomatologiczne dotyczące zmian występujących przy ADHD w obrębie jamy ustnej są nieliczne i w większości ograniczają się do oceny klinicznej stanu narządu żucia. Badania związku ADHD i otyłości z oceną wielu zmiennych dotyczących jamy ustnej nie były jak dotąd rozpatrywane. Z tego względu wartość poznawczą może stanowić włączenie do analizy parametrów określających jednocześnie stan zdrowia jamy ustnej, aktywność gruczołów ślinowych wraz ze stężeniem składników powiązanych z podwyższonym napięciem psychicznym (kortyzol, amylaza ślinowa, sIgA), ośią podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową HPA i nadaktywnością układu współczulnego. Powyższe zmienne mogą mieć wielokierunkowe znaczenie zarówno w eksplikacji ADHD, otyłości, a także mogą determinować stan jamy ustnej oraz wpływać na zaburzenia podstawowych funkcji śliny. Kolejnym kierunkiem badań było określenie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP), (rs7903146 w genie TCF7L). Polimorfizm tego genu jest jednym z najlepiej zbadanych i najbardziej rokowniczym dla przewidywania zwiększonego ryzyka zachorowania na cukrzycę typu 2, jego potencjał rokowniczy dla tej został potwierdzony w wielu badaniach.

Projekt został przeprowadzony w dwóch grupach: dzieci z obciążeniem zespołu ADHD i dzieci zdrowych bez tego obciążenia.

Grupa badana ADHD obejmowała 39 dzieci w wieku 6-11 lat (31 chłopców i 8 dziewczynek) z rozpoznaniem ADHD, zgodnym z kryteriami diagnostycznymi ICD-10, DSM-IV oraz DSM-V.

Grupa kontrolna to 80 zdrowych dzieci w wieku 6-10 lat (41 chłopców i 39 dziewczynek) bez obciążeń chorobami somatycznymi, psychicznymi, także u krewnych pierwszego stopnia.

### **Metodyka badań**

W obu grupach, w celu oceny zdrowia i jakości życia badanych, ich statusu socjo-ekonomicznego oraz ekspozycji na stresujące wydarzenia posłużono się kwestionariuszem Ankiety Rodzica.

Następnie podczas rozmowy z rodzicami i osobami badanymi wypełniono indywidualnie ankietę dotyczącą historii opieki stomatologicznej, nawyków dietetycznych i żywieniowych ukierunkowanych na zdrowie jamy ustnej.

Ze względu na wiek dzieci dokonano wyboru nieinwazyjnej techniki badawczej, gdzie materiałem biologicznym do analiz biochemicznych była ślina całkowita pobierana

w warunkach ambulatoryjnych. Testy próbek śliny techniką ELISA obejmowały określenie stężenia całkowitego kortyzolu, immunoglobuliny IgA i amylazy ślinowej w ślinie całkowitej.

U wszystkich uczestników projektu z próbek z jamy ustnej przeprowadzono badanie polimorfizmu rs7903146 genu Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2).

Przedmiotowe badanie kliniczne jamy ustnej było przeprowadzone według wybranych wskaźników oceniających stan tkanek twardych jamy ustnej, dziąseł i poziom higieny jamy ustnej zgodnie z kryteriami Światowej Organizacji Zdrowia: Plaque Control Record (PCR), Gingival Index (GI), suma zębów mlecznych z próchnicą, zębów usuniętych i wypełnionych z powodu próchnicy - puwz, suma zębów stałych z próchnicą, zębów usuniętych i wypełnionych z powodu próchnicy PUWZ oraz wskaźnik próchnicy ICDAS II.

## **Wyniki**

Dla dzieci z zespołem ADHD wyniki badań ankietowych dotyczących danych okołoporodowych potwierdziły korelacje co do nieprawidłowości samej ciąży i wystąpienia w tym czasie wydarzeń stresogennych. Przebieg porodu i pierwsza ocena noworodków w skali Apgar nie wyróżniała dzieci z żadnej grupy.

Ocena aktualnego biologicznego rozwoju dzieci wykazała istotne różnice w masie ciała, obwodzie bioder oraz indeksie BMI.

Analiza statystyczna wyników dotyczących polimorfizmu SNP genu TCF7L nie ujawniła istotnych korelacji między polimorfizmem tego genu a masą ciała, wzrostem, BMI, obwodem bioder, obwodem pasa, choć znaczenie tej zależności od genotypu było na granicy istotności w odniesieniu do masy ciała oraz BMI.

W grupie dzieci z zespołem ADHD frekwencja próchnicy wynosiła 84,6% (w grupie porównawczej wynosiła ona 41,6%). Wskaźniki intensywności próchnicy puwz i PUWZ były również istotnie wyższe, a analiza składowych tych wskaźników wykazała większą liczbę zębów z aktywną próchnicą zębów mlecznych (p) i stałych (P). Liczba zębów mlecznych wypełnionych z powodu choroby próchnicowej (w) była mniejsza w grupie ADHD, natomiast liczba zębów stałych wypełnionych z powodu choroby próchnicowej (W) była na podobnym poziomie w obu grupach. Niekorzystne zmiany próchnicowe rozpatrywane na podstawie przyporządkowania do odpowiednich stopni indeksu ICDAS II wykazały istotne różnice między porównywanymi grupami dla stopni ICDAS 0, ICDAS 1, ICDAS 2, ICDAS 5, ICDAS 6 w przypadku zębów mlecznych, a dla zębów stałych dla stopni ICDAS 1, ICDAS 3. Według tego indeksu, dzieci z zespołem ADHD miały więcej zębów mlecznych z bardziej zaawansowanymi stadiami próchnicy w szkliwie i zębnie. Dodatkowo stwierdzono u ich

zwiększoną retencję płytki bakteryjnej według wskaźnika PCR i większy zapalny stan dziąseł według wskaźnika GI aniżeli w grupie zdrowych dzieci. Uzyskane wyniki są sygnałem alarmującym dla wielu obszarów opieki stomatologicznej, w tym frekwencji wizyt w gabinecie stomatologicznym. Z danych ankietowych zawartych w pracy częstotliwość wizyt stomatologicznych różniła się między grupami podobnie jak wskaźnik leczenia zębów mlecznych i stałych.

Wartości stężeń IgA i amylazy ślinowej były istotnie wyższe w grupie dzieci ADHD niż w grupie kontrolnej, w przypadku stężenia kortyzolu nie stwierdzono znamiennej różnicy pomiędzy grupami. Stwierdzono poza tym w grupie ADHD korelację bliską istotności statystycznej stężenia IgA do stanu dziąseł według wskaźnika GI oraz korelację również bliską istotności stężenia kortyzolu do występowania płytki bakteryjnej na powierzchni zębów (PCR).

Wyższe stężenia wybranych parametrów neurobiologicznych w ślinie były też sprzężone z aktualnie występującymi dolegliwościami bólowymi w jamie ustnej oraz odczuwaniem lęku przez zabiegiem stomatologicznym u dzieci z zespołem ADHD.

## **Wnioski**

Przeprowadzone badania wskazują na konieczność kierowania dzieci z ADHD do leczenia specjalistycznego, w tym stomatologicznego, bez którego może dojść do nasilenia niekorzystnych zmian w jamie ustnej. Otrzymane wyniki sugerują, że rodziny badanych dzieci z ADHD potrzebują dodatkowego wsparcia i powinny być pod stałą opieką stomatologiczną z krótszymi przerwami pomiędzy wizytami stomatologicznymi, by zapobiec rozwojowi próchnicy, ponieważ wykazują gorsze zachowania zdrowotne. Natomiast analiza parametrów neurobiologicznych śliny może być pomocna w ustaleniu głównych czynników decydujących o progresji zmian.

Wyniki wielokierunkowych badań pozwoliły na sformułowanie 4 głównych wniosków.

1. U dzieci z zespołem ADHD istnieje zwiększone ryzyko nadwagi, jednak nie koreluje ono z polimorfizmem genu rs7903146 dedykowanego dla oceny ryzyka cukrzycy typu 2 i otyłości.
2. U dzieci obciążonych ADHD dochodzi do zmian jakościowych śliny w wybranych wskaźnikach układu współczulnego i odpornościowego, takich jak amylaza ślinowa i immunoglobulina IgA.

3. U dzieci z ADHD poziom tych neurobiomarkerów jest powiązany ze stanem zdrowia jamy ustnej.
4. Dzieci z zaburzeniami spektrum ADHD wymagają intensywnej opieki stomatologicznej, ze względu na większe ryzyko próchnicy zębów mlecznych i stałych powiązanych z nadmierną retencją płytki bakteryjnej.

## **8. SUMMARY**

### **Introduction. Aims of the study.**

Studies relating to changes occurring in the oral cavity of children with ADHD are few and these are mostly of limited assessment. Studies on a possible association between ADHD and obesity by the assessment of multiple oral variables have, to date, not been recorded. Studies to establish any such relationship would have to include parameters that simultaneously determine the degree of oral health. The level of salivary gland activity and the concentration of factors associated with increased levels of mental stress. These factors include cortisol, salivary amylase and sIgA, the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and hyperactivity of the sympathetic nervous system. These variables may be of multidirectional significance in both ADHD and obesity and may also determine the oral cavity condition and the level of basic salivary functions. Another part of this study was to determine of single nucleotide polymorphism (SNP, rs7903146 in the TCF7L gene). The polymorphism of this gene has been shown to be one of the most prognostic indicator of the metabolic disease type 2 diabetes. The project involved two groups of children , one with ADHD and a healthy, control group, matched by age.

### **ADHD group.**

This group consisted of 39 children aged 6-11 (31 boys and 8 girls) diagnosed with ADHD, in accordance with the diagnostic criteria of ICD 10, DSM-IV and DSM-V.

### **Control group.**

This consisted of 80 healthy children aged 6-10 (41 boys and 39 girls) without somatic or mental disease themselves or in first degree relatives.

### **Methodology.**

In both groups, a parent's questionnaire was used to assess general health, quality of life, their socio-economic status and exposure to stressful events. Then, during an individual conversation with parents and respondents, a questionnaire was completed regarding the history of dental care, dietary and nutritional habits focused on oral health. Due to the young age of children, a non-invasive research technique was chosen, where the biological material for biochemical analyzes was whole saliva collected in an outpatient basis. Salivary sample tests by ELISA included the determination of total cortisol, immunoglobulin IgA and salivary alpha amylase. All the project participants were tested for rs7903146 polymorphism of the transcription factor 7-Like 2 gene (TCF7L2) from oral samples. This clinical oral examination was conducted according to selected indicators assessing the



condition of oral hard tissues and gums and the oral level of hygiene in accordance with World Health Organization criteria namely: Plaque Control Record (PCR), Gingival Index (GI), the sum of primary teeth with caries, teeth missing and filled due to caries - dmft, the sum of permanent teeth with caries, teeth missing and filled due to caries DMFT, and ICDAS II another caries index.

### **Results.**

In the group of children with ADHD syndrome, the results of analysis of the perinatal data confirmed correlations regarding the abnormalities of pregnancy and the occurrence of stressors at that time. The course of delivery and the first assessment of newborns on the Apgar scale did not distinguish children from either group. However current assessment of the children's biological development has shown significant differences in body weight, hip circumference and BMI index. Statistical analysis of the results of the SNP polymorphism of the TCF7L gene did not reveal significant correlations between this gene polymorphism and body weight, height, BMI, hip circumference, waist circumference, although the risk probability results depending on the genotype were on the border of significance ( $p = 0.05$ ) in regard to body weight and BMI.

In the group of children with ADHD, the frequency of caries was 84.6% and in the comparative group it was 41.6%. The caries intensity indicators, dmft and DMFT, were also significantly higher, and analysis of the components of these indicators showed a greater number of teeth with active caries of primary (dt) and permanent (DT) teeth. The number of teeth filled due to caries (ft) was lower in the ADHD group, while the number of permanent teeth filled due to caries (FT) was similar in both groups. Development of carious lesions in primary teeth, considered on the basis of the ICDAS II index, showed significant differences for ICDAS 0, ICDAS 1, ICDAS 2, ICDAS 5, ICDAS 6, and for permanent teeth ICDAS1, ICDAS 3. Generally children with ADHD had more primary teeth with more advanced stages of caries in enamel and dentine than in the control group. In addition, the amount of bacterial plaque measured by the PCR index and inflammation of the gums by GI index were more advanced than in the healthy children. Furthermore these findings constitute alarming indicators of the need for dental care, including the frequency of dental visits or dental treatment which significantly varied between the groups. Concentration of IgA and salivary amylase were significantly higher in the ADHD group than in the control group. In the case of cortisol there was no significant difference between the groups. The relationship between salivary amylase, IgA and the number of carious teeth, dental plaque and gum inflammation has been confirmed. Among ADHD children there was a correlation between higher

concentrations of selected neurobiological parameters in saliva, oral pain sensation and anxiety before dental surgery.

### **Conclusions.**

This research project clearly indicates the need to refer ADHD children and adolescents to special care, including dental treatment, due to the risk of poor oral health that may occur. The results suggest that the whole family needs additional support and should be under constant dental care, with shorter intervals between dental visits in order to prevent the development of tooth decay as a consequence of unhealthy behavior. In addition, the analysis of salivary neurobiological parameters may be helpful in monitoring the disease in present time.

The results of interdisciplinary research allow formulation the following four conclusions.

1. Children with ADHD represent a population at risk of overweight. However, when comparing the rs7903146 gene polymorphism dedicated to assessing the risk of type 2 diabetes, there is no significant correlation between the groups.
2. ADHD children may have qualitative changes in saliva according to the sympathetic and immune systems, such as salivary amylase and IgA.
3. ADHD children may represent subjects with increased levels of these neurobiomarkers associated with oral health.
4. ADHD children require intensification of dental care, due to the risk of primary and secondary teeth decay and education about the dangers of plaque retention.

## 9. PIŚMIENNICTWO

- 1) Abraham SB, Rubino D, Sinaii N, Ramsey S, Nieman LK. Cortisol, obesity, and the metabolic syndrome: a cross-sectional study of obese subjects and review of the literature. *Obesity*. 2013;21(1):E105–E117. doi:10.1002/oby.20083
- 2) Accardo PJ, Capute AJ, Painter MJ. Neurodevelopmental disabilities in child neurology: the creation of a new sub-board. *J Pediatr*. 2000;136(2):266–267. doi:10.1016/s0022-3476(00)70116-8
- 3) Akutagava-Martins GC, Salatino-Oliveira A, Kieling CC, Rohde LA, Hutz MH. Genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder: current findings and future directions. *Expert Rev Neurother*. 2013;13(4):435–445. doi:10.1586/ern.13.30
- 4) Al Kawas S, Rahim ZH, Ferguson DB. Potential uses of human salivary protein and peptide analysis in the diagnosis of disease. *Arch Oral Biol*. 2012;57(1):1–9. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.06.013
- 5) Albayrak Ö, Pütter C, Volekmar AL, Cichon S et al. Common obesity risk alleles in childhood Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2013; 162B(4): 295–305.
- 6) Ali N, Nater UM. Salivary Alpha-Amylase as a biomarker of stress in behavioral medicine. *Int J Behav Med*. 2020; doi:10.1007/s12529-019-09843-x
- 7) Ali N, Pruessner JC. The salivary alpha amylase over cortisol ratio as a marker to assess dysregulations of the stress systems. *Physiol Behav*. 2012;106(1):65–72. doi:10.1016/j.physbeh.2011.10.003
- 8) AlMaummar M, AlThabit HO, Pani S. The impact of dental treatment and age on salivary cortisol and alpha-amylase levels of patients with varying degrees of dental anxiety. *BMC Oral Health*. 2019;19(1):211. doi:10.1186/s12903-019-0901-7
- 9) Almela M, Hidalgo V, Villada C, Espin L et al. Salivary alpha-amylase response to acute psychosocial stress: the impact of age. *Biol Psychol*. 2011;87(3):421–429. doi:10.1016/j.biopsycho.2011.05.008
- 10) Almela M, Hidalgo V, Villada C, Espín L et al. The impact of cortisol reactivity to acute stress on memory: sex differences in middle-aged people. *Stress*. 2011;14(2):117–127. doi:10.3109/10253890.2010.514671
- 11) American Psychiatric Association. [Accessed February 29]; DSM-5: The Future of Psychiatric Diagnosis. 2012b <http://www.dsm5.org/Pages/Default.aspx>. [Ref list]
- 12) American Psychiatric Association. [Accessed February 29]; The impairment and disability subgroup. 2012a [www.dsm5.org/meetus/pages/impairmentanddisability.aspx](http://www.dsm5.org/meetus/pages/impairmentanddisability.aspx). [Ref list]

- 13) Amerongen AV, Veerman EC. Saliva the defender of the oral cavity. *Oral Dis.* 2002;8(1):12–22. doi:10.1034/j.1601-0825.2002.1o816.x
- 14) Anderson SE, Cohen P, Naumova EN, Must A. Relationship of childhood behavior disorders to weight gain from childhood into adulthood. *Ambul Pediatr.* 2006;6(5):297–301. doi:10.1016/j.ambp.2006.06.002
- 15) Andrews RC, Herlihy O, Livingstone DE, Andrew R, Walker BR. Abnormal cortisol metabolism and tissue sensitivity to cortisol in patients with glucose intolerance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(12):5587–5593. doi:10.1210/jc.2002-020048
- 16) Angeli A, Frajria R, De Paoli R, Fonzo D, Ceresa F. Diurnal variation of prednisolone binding to serum corticosteroid-binding globulin in man. *Clin Pharmacol Ther.* 1978;23(1):47–53. doi:10.1002/cpt197823147
- 17) Angeli A, Frajria R, Dogliotti L, Crosazzo C et al. Differences between temporal patterns of plasma cortisol and corticosteroid-binding globulin binding capacity throughout the twenty-four hour day and the menstrual cycle. *J Endocrinol Invest.* 1978;1(1):31–38. doi:10.1007/bf03346768
- 18) Angeli E, Korpa T, Johnson EO, Apostolakou F et al. Salivary cortisol and alpha-amylase diurnal profiles and stress reactivity in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Psychoneuroendocrinology.* 2018;90:174–181. doi:10.1016/j.psyneuen.2018.02.026
- 19) Aragonès E, Cañisá A, Caballero A, Piñol-Moreso JL. Cribado para el trastorno por déficit de atención/hiperactividad en pacientes adultos de atención primaria [Screening for attention deficit hyperactivity disorder in adult patients in primary care]. *Rev Neurol.* 2013;56(9):449–455.
- 20) Arcelus J, Munden A, ADHD Nadpobudliwość ruchowa, *BELLONA*, Warszawa 2008
- 21) Assari S, Caldwell CH. Family income at birth and risk of attention deficit hyperactivity disorder at age 15: Racial differences. *Children (Basel).* 2019;6(1):10. doi:10.3390/children6010010
- 22) Azazy S, Nour-Eldein H, Salama H, Ismail M. Quality of life and family function of parents of children with attention deficit hyperactivity disorder. *East Mediterr Health J.* 2018;24(6):579–587. Published 2018 Jul 29. doi:10.26719/2018.24.6.579
- 23) Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J.* 2000;45(4):235–245. doi:10.1111/j.1834-7819.2000.tb00257.x
- 24) Banerjee TD, Middleton F, Faraone SV. Environmental risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. *Acta Paediatr.* 2007;96(9):1269–1274. doi:10.1111/j.1651-2227.2007.00430.x
- 25) Behringer V, Deschner T, Möstl E, Selzer D, Hohmann G. Stress affects salivary alpha-Amylase activity in bonobos. *Physiol Behav.* 2012;105(2):476–482. doi:10.1016/j.physbeh.2011.09.005

- 26) Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol Psychiatry*. 2005;57(11):1215–1220. doi:10.1016/j.biopsych.2004.10.020
- 27) Biederman J, Faraone SV. Attention-deficit hyperactivity disorder [published correction appears in *Lancet*. 2006 Jan 21;367(9506):210]. *Lancet*. 2005;366(9481):237–248. doi:10.1016/S0140-6736(05)66915-2
- 28) Biederman J, Faraone SV, Monuteaux MC. Differential effect of environmental adversity by gender: Rutter's index of adversity in a group of boys and girls with and without ADHD. *Am J Psychiatry*. 2002;159(9):1556–1562. doi:10.1176/appi.ajp.159.9.1556
- 29) Blomqvist M, Ahadi S, Fernell E, Ek U, Dahllöf G. Dental caries in adolescents with attention deficit hyperactivity disorder: a population-based follow-up study. *Eur J Oral Sci*. 2011;119(5):381–385. doi:10.1111/j.1600-0722.2011.00844.x
- 30) Blomqvist M, Holmberg K, Fernell E, Ek U, Dahllöf G. Oral health, dental anxiety, and behavior management problems in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Eur J Oral Sci*. 2006;114(5):385–390. doi:10.1111/j.1600-0722.2006.00393.x
- 31) Blomqvist M, Holmberg K, Lindblad F, Fernell E et al. Salivary cortisol levels and dental anxiety in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Eur J Oral Sci*. 2007;115(1):1–6. doi:10.1111/j.1600-0722.2007.00423.x
- 32) Borkowska A. Procesy uwagi i hamowania reakcji u dzieci z ADHD z perspektywy rozwojowej neuropsychologii klinicznej, *Wydawnictwo UMCS*, Lublin 2008
- 33) Bose M, Oliván B, Laferrère B. Stress and obesity: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in metabolic disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2009;16(5):340–346. doi:10.1097/MED.0b013e32832fa137
- 34) Brannigan R, Tanskanen A, Huttunen MO, Cannon M et al. The role of prenatal stress as a pathway to personality disorder: longitudinal birth cohort study [published online ahead of print, 2019 Sep 6]. *Br J Psychiatry*. 2019;1–5. doi:10.1192/bjp.2019.190
- 35) Bretz WA, Krahn DD, Drewnowski A, Loesche WJ. Salivary levels of putative cariogenic organisms in patients with eating disorders. *Oral Microbiol Immunol*. 1989;4(4):230–232. doi:10.1111/j.1399-302x.1989.tb00258.x
- 36) Bretz WA. Oral profiles of bulimic women: Diagnosis and management. What is the evidence? *J. Evid. Based Dent. Pract*. 2002; 2(4): 267–272
- 37) Broadbent JM, Ayers KM, Thomson WM. Is attention-deficit hyperactivity disorder a risk factor for dental caries? A case-control study. *Caries Res*. 2004;38(1):29–33. doi:10.1159/000073917
- 38) Cameron AC, Widmer RP (red). *Stomatologia dziecięca*. *Wydawnictwo Elsevier Urban & Partner*, Wrocław 2013

- 39) Campbell BCh, Eisenberg D. Obesity, attention deficit-hyperactivity disorder and the dopamin-ergic reward system. *Coll Antropol.* 2007; 31(1): 33–38.
- 40) Carpenter GH. The secretion, components, and properties of saliva. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2013;4:267–276. doi:10.1146/annurev-food-030212-182700
- 41) Castagnola M, Scarano E, Passali GC, Messina I et al. Salivary biomarkers and proteomics: future diagnostic and clinical utilities. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2017;37(2):94–101. doi:10.14639/0392-100X-1598
- 42) Cauchi S, Choquet H, Gutiérrez-Aguilar R, Capel F et al. Effects of TCF7L2 polymorphisms on obesity in European populations. *Obesity.* 2008;16(2):476–482. doi:10.1038/oby.2007.77
- 43) Cauchi S., El Achhab Y. Choquet, Dina C et al. TCF7L2 is reproducibly associated with type 2 diabetes in various ethnic groups: a global meta-analysis. *J Mol Med.* 2007; 85: 777– 782.
- 44) Cepeda C. Badanie psychiatryczne dzieci i młodzieży. Podręcznik kliniczny, *Elsevier Urban & Partner*, Wrocław 2012
- 45) Chandra P, Anandakrishna L, Ray P. Caries experience and oral hygiene status of children suffering from attention deficit hyperactivity disorder. *J Clin Pediatr Dent.* 2009;34(1):25–29. doi:10.17796/jcpd.34.1.n170271832662v44
- 46) Chang Z, Lichtenstein P, D'Onofrio BM, Almqvist C et al. Maternal age at childbirth and risk for ADHD in offspring: a population-based cohort study. *Int J Epidemiol.* 2014;43(6):1815–1824. doi:10.1093/ije/dyu204
- 47) Chatterton RT Jr, Vogelsong KM, Lu YC, Ellman AB, Hudgens GA. Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clin Physiol.* 1996;16(4):433–448. doi:10.1111/j.1475-097x.1996.tb00731.x
- 48) Chau YC, Lai KY, McGrath CP, Yiu CK. Oral health of children with attention deficit hyperactivity disorder. *Eur J Oral Sci.* 2017;125(1):49–54. doi:10.1111/eos.12323
- 49) Chau YCY, Peng SM, McGrath CPJ, Yiu CKY. Oral health of children with attention deficit hyperactivity disorder: systematic review and meta-analysis. *J Atten Disord.* 2017;1087054717743331. doi:10.1177/1087054717743331
- 50) Chen AY, Kim SE, Houtrow AJ, Newacheck PW. Prevalence of obesity among children with chronic conditions. *Obesity.* 2010;18(1):210–213. doi:10.1038/oby.2009.185
- 51) Chen E, Cohen S, Miller GE. How low socioeconomic status affects 2-year hormonal trajectories in children. *Psychol Sci.* 2010;21(1):31–37. doi:10.1177/0956797609355566
- 52) Choundhry Z, Sengupta SM, Grizenko N, Harvey WJ at al. Body weight and ADHD: examining the role of self-regulation. *PLos One* 2013; 8(1): e55351.

- 53) Cichoń L, Jeonek I- ADHD- wskazówki praktyczne: farmakoterapia i prowadzenie dokumentacji *Psychiatr Psychol Klin.* 2017; 4:270-273.
- 54) Clemens V, Bürgin D, Eckert A, Kind N et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in a high-risk sample of children, adolescents and young adults in residential youth care - Associations with adverse childhood experiences and mental health problems. *Psychiatry Res.* 2020;284:112778. doi:10.1016/j.psychres.2020.112778
- 55) Cook BG, Li D, Heinrich KM. Obesity, physical activity, and sedentary behavior of youth with learning disabilities and ADHD. *J. Learn. Disabil.* 2015; 48(6): 563–576
- 56) Corominas-Roso M, Palomar G, Ferrer R, Real A et al. Cortisol response to stress in adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2015;18(9):pyv027. doi:10.1093/ijnp/pyv027
- 57) Cortese S, Castellanos FX. The relationship between ADHD and obesity: implications for therapy. *Expert Rev Neurother.* 2014;14(5):473–479. doi:10.1586/14737175.2014.904748
- 58) Cortese S, Morcillo Peñalver C. Comorbidity between ADHD and obesity: exploring shared mechanisms and clinical implications. *Postgrad Med.* 2010;122(5):88–96. doi:10.3810/pgm.2010.09.2205
- 59) Cortese S, Moreira-Maia CR, St Fleur D, Morcillo-Peñalver C et al. Association between ADHD and obesity: a systematic review and meta-analysis. *Am J Psychiatry.* 2016;173(1):34–43. doi:10.1176/appi.ajp.2015.15020266
- 60) Cortese S, Vincenzi B. Obesity and ADHD: clinical and neurobiological implications. *Curr Top Behav Neurosci.* 2012;9:199–218. doi:10.1007/7854\_2011\_154
- 61) Croen LA, Grether JK, Yoshida CK, Odouli R, Hendrick V. Antidepressant use during pregnancy and childhood autism spectrum disorders. *Arch Gen Psychiatry.* 2011;68(11):1104–1112. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2011.73
- 62) Curtis LT, Patel K. Nutritional and environmental approaches to preventing and treating autism and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): a review. *J Altern Complement Med.* 2008;14(1):79–85. doi:10.1089/acm.2007.0610
- 63) Dikmen B. ICDAS II criteria (international caries detection and assessment system). *J Istanb Univ Fac Dent.* 2015;49(3):63–72. doi:10.17096/jiufd.38691
- 64) Douglass JM, Tinanoff N, Tang JM, Altman DS. Dental caries patterns and oral health behaviors in Arizona infants and toddlers. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2001;29(1):14-22.
- 65) Elia J, Arcos-Burgos M, Bolton KL, Ambrosini PJ et al. ADHD latent class clusters: DSM-IV subtypes and comorbidity. *Psychiatry Res.* 2009;170(2-3):192–198. doi:10.1016/j.psychres.2008.10.008

- 66) Engert V, Vogel S, Efanov SI, Duchesne A et al. Investigation into the cross-correlation of salivary cortisol and alpha-amylase responses to psychological stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36(9):1294–1302. doi:10.1016/j.psyneuen.2011.02.018
- 67) Fairchild G. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis function in attention-deficit hyperactivity disorder. *Curr Top Behav Neurosci*. 2012;9:93–111. doi:10.1007/7854\_2010\_101
- 68) Faraone SV, Doyle AE. The nature and heritability of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2001;10(2):299–ix.
- 69) Faraone SV, Mick E. Molecular genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatr Clin North Am*. 2010;33(1):159–180. doi:10.1016/j.psc.2009.12.004
- 70) Fayyad J, De Graaf R, Kessler R, Alonso J et al. Cross-national prevalence and correlates of adult attention-deficit hyperactivity disorder. *Br J Psychiatry*. 2007;190:402–409. doi:10.1192/bjp.bp.106.034389
- 71) Fábíán TK, Hermann P, Beck A, Fejérdy P, Fábíán G. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *Int J Mol Sci*. 2012;13(4):4295–4320. doi:10.3390/ijms13044295
- 72) Fernald LC, Gunnar MR. Poverty-alleviation program participation and salivary cortisol in very low-income children. *Soc Sci Med*. 2009;68(12):2180–2189. doi:10.1016/j.socscimed.2009.03.032
- 73) Figueroa R. Use of antidepressants during pregnancy and risk of attention-deficit/hyperactivity disorder in the offspring. *J Dev Behav Pediatr*. 2010;31(8):641–648. doi:10.1097/DBP.0b013e3181e5ac93
- 74) Fliers EA, Buitelaar JK, Maras A, Bul K et al. ADHD is a risk factor for overweight and obesity in children. *J Dev Behav Pediatr*. 2013;34(8):566–574. doi:10.1097/DBP.0b013e3182a50a67
- 75) Friedlander AH, Friedlander IK. Dental management considerations in children with attention-deficit hyperactivity disorder. *ASDC J Dent Child*. 1992;59(3):196–201.
- 76) Frodl T, Stauber J, Schaaff N, Koutsouleris N et al. Amygdala reduction in patients with ADHD compared with major depression and healthy volunteers. *Acta Psychiatr Scand*. 2010;121(2):111–118. doi:10.1111/j.1600-0447.2009.01489.x
- 77) Froehlich TE, Anixt JS, Loe IM, Chirdkiatgumchai V et al. Update on environmental risk factors for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Curr Psychiatry Rep*. 2011;13(5):333–344. doi:10.1007/s11920-011-0221-3
- 78) Fuemmeler BF, Østbye T, Yang C, McClernon FJ, Kollins SH. Association between attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms and obesity and hypertension in early adulthood: a population-based study. *Int J Obes (Lond)*. 2011;35(6):852–862. doi:10.1038/ijo.2010.214



- 79) Gaidamowicz R, Deksnytė A, Palinauskaitė K, Aranauskas R et al. ADHD - the scourge of the 21st century?. ADHD – plaga XXI wieku? *Psychiatr Pol.* 2018;52(2):287–307. doi:10.12740/PP/67111
- 80) Galobardes B, Smith GD, Lynch JW. Systematic review of the influence of childhood socioeconomic circumstances on risk for cardiovascular disease in adulthood. *Ann Epidemiol.* 2006;16(2):91–104. doi:10.1016/j.annepidem.2005.06.053
- 81) Gawęda A, Nowak M, Janas-Kozik M, Diagnoza ADHD- pomoc czy przeszkoda? *Psychiatria i psychologia kliniczna* 2010 2(10), 116-117
- 82) Goodman R, Scott S. *Psychiatria dzieci i młodzieży.* Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2000
- 83) Granger DA, Kivlighan KT, el-Sheikh M, Gordis EB, Stroud LR. Salivary alpha-amylase in biobehavioral research: recent developments and applications. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1098:122–144. doi:10.1196/annals.1384.008
- 84) Grant SF, Thorleifsson G, Reynisdottir E, Benediktsson R et al. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat. Genet.* 2006; 38: 320–323.
- 85) Graziano PA, Bagner DM, Waxmonsky JG, Reid A et al. Co-occurring weight problems among children with attention deficit/hyperactivity disorder: the role of executive functioning. *Int J Obes (Lond).* 2012;36(4):567–572. doi:10.1038/ijo.2011.245
- 86) Grizenko N, Shayan YR, Polotskaia A, Ter-Stepanian M, Joobar R. Relation of maternal stress during pregnancy to symptom severity and response to treatment in children with ADHD. *J Psychiatry Neurosci.* 2008;33(1):10–16.
- 87) Guideline for Good Clinical Practice (e6). International Conference on Harmonization ICH. 1996. <http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA482.pdf>
- 88) Gunnar MR, Donzella B. Social regulation of the cortisol levels in early human development. *Psychoneuroendocrinology.* 2002;27(1-2):199–220. doi:10.1016/s0306-4530(01)00045-2
- 89) Gutowska-Wyka A. Radzenie sobie ze stresem a zwyczaje żywieniowe u młodzieży z nadwagą i z wagą w normie. *Zeszyty Naukowe WSHE, Psychologia.* 2003; 1(31):13-20.
- 90) Hanć T. ADHD as a risk factor for obesity. Current state of research. ADHD jako czynnik ryzyka otyłości. Aktualny stan badań. *Psychiatr Pol.* 2018;52(2):309–322. doi:10.12740/PP/70388
- 91) Hanć T, Cortese S. Attention deficit/hyperactivity-disorder and obesity: A review and model of current hypotheses explaining their comorbidity. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018;92:16–28. doi:10.1016/j.neubiorev.2018.05.017

- 92) Hanć T, Dmitrzak-Węglarz M, Borkowska A, Wolańczyk T et al. Overweight in boys with is related to candidate genes and not to deficits in cognitive functions. *J. Atten. Disord.* 2016. Doi: 10.1177/1087054716676364
- 93) Hanć T, Słopień A, Wolańczyk T, Dmitrzak-Węglarz M et al. ADHD and overweight in boys: cross-sectional study with birth weight as a controlled factor. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2015;24(1):41–53. doi:10.1007/s00787-014-0531-1
- 94) Hanć T, Słopień A, Wolańczyk T, Szwed A et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder is Rrelated to decreased weight in the preschool period and to increased rate of overweight in school-age boys. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2015;25(9):691-700. doi:10.1089/cap.2014.0157
- 95) Heilbrun LP, Palmer RF, Jaen CR, Svoboda MD et al. Maternal chemical and drug intolerances: potential risk factors for autism and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *J Am Board Fam Med.* 2015;28(4):461–470. doi:10.3122/jabfm.2015.04.140192
- 96) Hewagalamulage SD, Lee TK, Clarke IJ, Henry BA. Stress, cortisol, and obesity: a role for cortisol responsiveness in identifying individuals prone to obesity. *Domest Anim Endocrinol.* 2016;56 Suppl:S112–S120. doi:10.1016/j.domaniend.2016.03.004
- 97) Hidas A, Birman N, Noy AF, Shapira J et al. Salivary bacteria and oral health status in medicated and non-medicated children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Clin Oral Investig.* 2013;17(8):1863–1867. doi:10.1007/s00784-012-0876-0
- 98) Hidas A, Noy AF, Birman N, Shapira J et al. Oral health status, salivary flow rate and salivary quality in children, adolescents and young adults with ADHD. *Arch Oral Biol.* 2011;56(10):1137–1141. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.03.018
- 99) Hjern A, Weitoft GR, Lindblad F. Social adversity predicts ADHD-medication in school children - a national cohort study. *Acta Paediatr.* 2010;99(6):920–924. doi:10.1111/j.1651-2227.2009.01638.x
- 100) Holtkamp K, Konrad K, Müller B, Heussen N et al. Overweight and obesity in children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28(5):685–689. doi:10.1038/sj.ijo.0802623
- 101) Horecka-Lewiłowicz A, Lwitowicz T, Szpringer M. ADHD – jeden z najczęstszych problemów wieku rozwojowego. *Studia Medyczne* 2011; 21: 23-36.
- 102) Hubel R, Jass J, Marcus A, Laessle RG. Overweight and basal metabolic rate in boys with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eat Weight Disord.* 2006;11(3):139–146. doi:10.1007/bf03327559
- 103) Hucklebridge F, Clow A, Evans P. The relationship between salivary secretory immunoglobulin A and cortisol: neuroendocrine response to awakening and the diurnal cycle. *Int J Psychophysiol.* 1998;31(1):69–76. doi:10.1016/s0167-8760(98)00042-7

- 104) Hucklebridge F, Hussain T, Evans P, Clow A. The diurnal patterns of the adrenal steroids cortisol and dehydroepiandrosterone (DHEA) in relation to awakening. *Psychoneuroendocrinology*. 2005;30(1):51–57. doi:10.1016/j.psyneuen.2004.04.007
- 105) Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A et al. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2007;35(3):170–178. doi:10.1111/j.1600-0528.2007.00347.x
- 106) Jańczuk Z.(red). Stomatologia zachowawcza. Zarys kliniczny. *Wydawnictwo PZWL*, Warszawa 2010.
- 107) Jessop DS, Turner-Cobb JM. Measurement and meaning of salivary cortisol: a focus on health and disease in children. *Stress*. 2008;11(1):1–14. doi:10.1080/10253890701365527
- 108) Joško-Ochojska Jadwiga, Lizończyk Iwona. Występowanie depresji u młodzieży z nadwagą i otyłością. *Hygeia Public Health* 2014, 49(4): 690-695
- 109) Kała E, Bodek I, Trelńska O, Gładysz P i wsp. Polimorfizm rs7903146 genu TCF7L2 a występowanie nadwagi i otyłości u osób zgłaszających się do poradni ogólnej podstawowej opieki zdrowotnej. *Annales Academiae Medicae Silesiensis* 2014;68(4): 200–206.
- 110) Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva-a review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(2):197–212. doi:10.1177/154411130201300209
- 111) Keyes PH. Research in dental caries. *J Am Dent Assoc*. 1968;76(6):1357–1373. doi:10.14219/jada.archive.1968.0186
- 112) Kim J, Kwon HJ, Ha M, Lim MH et al. Relationship among attention-deficit hyperactivity disorder, dietary behaviours and obesity. *Child Care Health Dev*. 2014;40(5):698–705. doi:10.1111/cch.12129
- 113) Kim J, Mutyala B, Agiovlasitis S, Fernhall B. Health behaviors and obesity among US children with attention deficit hyperactivity disorder by gender and medication use. *Prev Med*. 2011;52(3-4):218–222. doi:10.1016/j.ypmed.2011.01.003
- 114) Klichowska-Palonka M, Pac-Kożuchowska E. Wykorzystanie badania śliny w diagnostyce endokrynologicznej. *Endokrynologia Pediatryczna*, 2009; 2(27): 61-66 DOI: 10.18544/EP-01.08.02.1147
- 115) Knychalska-Karwan Z, Zbiór wskaźników stomatologicznych i niektórych testów oraz klasyfikacji, *Czelej*, 2006
- 116) Knychalska-Karwan Z (red). Stomatologia zachowawcza wieku rozwojowego. Kraków, *Wydawnictwo WUJ*, 2008

- 117) Kohlboeck G, Heitmueller D, Neumann C, Tiesler C et al. Is there a relationship between hyperactivity/inattention symptoms and poor oral health? Results from the GINIplus and LISApplus study. *Clin Oral Investig.* 2013;17(5):1329–1338. doi:10.1007/s00784-012-0829-7
- 118) Kołakowski A, Wolańczyk T, Pisula A, Skotnicka M, Bryńska A. ADHD – zespół nadpobudliwości psychoruchowej. Przewodnik dla rodziców i wychowawców. *GWP Gdańskie Wydawnictwo Psychologiczne*, Gdańsk 2014.
- 119) Kruk A, Brukwicka I, Kopański Z, Kollár R i wsp. ADHD - zaburzenia zachowania i emocji wieku dziecięcego i młodzieńczego. *Journal of Clinical Healthcare* 2016(1): 21-25
- 120) Kudielka BM, Buske-Kirschbaum A, Hellhammer DH, Kirschbaum C. HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;29(1):83–98. doi:10.1016/s0306-4530(02)00146-4
- 121) Langauer-Lewowicka H, Rudkowski Z, Pawlas K. Zaburzenia hiperkinetyczne z zaburzeniami koncentracji uwagi u dzieci – zagrożenia środowiskowe. *Medycyna Środowiskowa - Environmental Medicine* 2016;19(4):53–58. doi: 10.19243/2016408
- 122) Lavebratt C, Yang LL, Giacobini M, Forsell Y et al. Early exposure to antibiotic drugs and risk for psychiatric disorders: a population-based study. *Transl Psychiatry.* 2019;9(1):317. doi:10.1038/s41398-019-0653-9
- 123) Lawrence HP. Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J Can Dent Assoc.* 2002;68(3):170–174.
- 124) Lech M, Ostrowska L, Psychologiczne aspekty otyłości. *Forum Zaburzeń Metabolicznych.* 2017;8(2):63-70.
- 125) Lindblad F, Ringbäck Weitoft G, Hjern A. Maternal and paternal psychopathology increases risk of offspring ADHD equally. *Epidemiol Psychiatr Sci.* 2011;20(4):367–372. doi:10.1017/s2045796011000564
- 126) Liu LL, Lin B-M, Wang Y-W. Does dopaminergic reward system contribute to explaining co-morbidity obesity and ADHD? *Med. Hypotheses.* 2008; 70(6): 1118-1120
- 127) Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21:533–551. doi:10.3109/00016356309011240
- 128) Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, Del Guerra S et al. Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.* 2007; 117: 2155–2163.
- 129) Makara-Studzinska M, Buczyjan A, Moryłowska J. Jedzenie- przyjaciel i wróg. Korelaty psychologiczne otyłości. *Przegląd piśmiennictwa. Zdr. Publ.* 2007 117(3) 392-396

- 130) Man KKC, Chan EW, Ip P, Coghill D et al. Prenatal antidepressant exposure and the risk of attention-deficit hyperactivity disorder in children: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018;86:1–11. doi:10.1016/j.neubiorev.2017.12.007
- 131) Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med.* 1990;19(3):119–125. doi:10.1111/j.1600-0714.1990.tb00809.x
- 132) Manzari N, Matvienko-Sikar K, Baldoni F, O'Keeffe GW, Khashan AS. Prenatal maternal stress and risk of neurodevelopmental disorders in the offspring: a systematic review and meta-analysis. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 2019;54(11):1299–1309. doi:10.1007/s00127-019-01745-3
- 133) Marek B, Kos-Kudła B, Bunter B. Ślina – użyteczny materiał diagnostyczny w praktyce pediatrycznej? *Ped. Pol.*, 1992:1-2, 68-70
- 134) Maślanek A, Pieszko M, Małgorzewicz S. Przyczyny otyłości prostej u dzieci i młodzieży. Wybrane Problemy Kliniczne 2013 Via Medica. *Forum Zaburzeń Metabolicznych* 2013;4(1):29-36.
- 135) Mazurek J, Małyszczak K. Wstępna ocena trafności polskiej wersji kwestionariusza MINI-Kid (Mini International Neuropsychiatry Interview for children and adolescents) *Postępy Psychiatrii i Neurologii.* 2006; 15 (3): 150-146
- 136) Miller GE, Chen E, Fok AK, Walker H et al. Low early-life social class leaves a biological residue manifested by decreased glucocorticoid and increased proinflammatory signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(34):14716–14721. doi:10.1073/pnas.0902971106
- 137) Miller GE, Gaudin A, Zysk E, Chen E. Parental support and cytokine activity in childhood asthma: the role of glucocorticoid sensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(4):824–830. doi:10.1016/j.jaci.2008.12.019
- 138) Nascimento de EMF, Contreira AR, Silva da EVA, Souza de LP, Beltrame TS. Motor performance and nutritional status with attention deficit hyperactivity disorder. *J. Hum. Growth Dev.* 2013; 23(3): 357–363
- 139) Nater UM, La Marca R, Florin L, Moses A et al. Stress-induced changes in human salivary alpha-amylase activity - associations with adrenergic activity. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(1):49–58. doi:10.1016/j.psyneuen.2005.05.010
- 140) Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34(4):486–496. doi:10.1016/j.psyneuen.2009.01.014
- 141) Nater UM, Skoluda N, Strahler J. Biomarkers of stress in behavioural medicine. *Curr Opin Psychiatry.* 2013;26(5):440–445. doi:10.1097/YCO.0b013e328363b4ed

- 142) Ngamchuea K, Chaisiwamongkhol K, Batchelor-McAuley C, Compton RG. Chemical analysis in saliva and the search for salivary biomarkers - a tutorial review. *Analyst*. 2017;143(1):81–99. doi:10.1039/c7an01571b
- 143) Nguimmo-Metsadjio A, Atogho-Tiedeu B, Noubiap JJ, Evehe MS et al. Investigation of the association between the TCF7L2 rs7903146 (C/T) gene polymorphism and obesity in a Cameroonian population: a pilot study. *J Health Popul Nutr*. 2017;36(1):12. doi:10.1186/s41043-017-0087-z
- 144) Northover C, Thapar A, Langley K, Fairchild G, van Goozen SHM. Cortisol levels at baseline and under stress in adolescent males with attention-deficit hyperactivity disorder, with or without comorbid conduct disorder. *Psychiatry Res*. 2016;242:130–136. doi:10.1016/j.psychres.2016.05.052
- 145) Ogińska-Bulik N. Psychologia nadmiernego jedzenia. *Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego*, Łódź 2004
- 146) Olczak-Kowalczyk D, Gozdowski D, Kaczmarek U. Próchnica zębów stałych u dzieci w wieku 5 i 7 lat w Polsce i jej związek z próchnicą zębów mlecznych, *Nowa Stomatol.*, 2017, 22 (3), 129-141
- 147) Olczak-Kowalczyk D, Szczepańska J, Kaczmarek U, „Współczesna Stomatologia Wieków Rozwojowych”. *Med Tour Press*. Otwock 2017, Wydanie: I
- 148) O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol*. 1972;43(1):38. doi:10.1902/jop.1972.43.1.38
- 149) Pasker-de Jong PC, Zielhuis GA, van Gelder MM, Pellegrino A et al. Antihypertensive treatment during pregnancy and functional development at primary school age in a historical cohort study. *BJOG*. 2010;117(9):1080–1086. doi:10.1111/j.1471-0528.2010.02568.x
- 150) Pastor PN, Reuben CA. Diagnosed attention deficit hyperactivity disorder and learning disability: United States, 2004-2006. *Vital Health Stat* 10. 2008;(237):1–14.
- 151) Paszynska E, Dmitrzak-Weglarz M, Tyszkiewicz-Nwafor M, Slopian A. Salivary alpha-amylase, secretory IgA and free cortisol as neurobiological components of the stress response in the acute phase of anorexia nervosa. *World J Biol Psychiatry*. 2016;17(4):266–273. doi:10.3109/15622975.2016.1163419
- 152) Paszynska E, Roszak M, Slopian A, Boucher Y et al. Is there a link between stress and immune biomarkers and salivary opiorphin in patients with a restrictive-type of anorexia nervosa? *World J Biol Psychiatry*. 2019;1–10. doi:10.1080/15622975.2019.1593502
- 153) Pauli-Pott U, Reinhardt A, Bagus E, Wollenberg B et al. Psychosocial risk factors underlie the link between attention deficit hyperactivity symptoms and overweight at school entry. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2017;26(1):67–73. doi:10.1007/s00787-016-0870-1

- 154) Peeters F, Berkhof J, Delespaul P, Rottenberg J, Nicolson NA. Diurnal mood variation in major depressive disorder. *Emotion*. 2006;6(3):383–391. doi:10.1037/1528-3542.6.3.383
- 155) Piątowska D (red). Zarys kariologii. *Wydawnictwo Med. Tour Press International*, Warszawa 2002.
- 156) Pinar-Erdem A, Kuru S, Urkmez ES, Sepet E et al. Oral health status and its relation with medication and dental fear in children with attention-deficit hyperactivity disorder. *Niger J Clin Pract*. 2018;21(9):1132–1138. doi:10.4103/njcp.njcp\_409\_17
- 157) Pisula A, Wolańczyk T. Zespół nadpobudliwości psychoruchowej. In: Wolańczyk T, Komender J (eds.): Zaburzenia emocjonalne i behawioralne u dzieci. *Wydawnictwo Lekarskie PZWL*, Warszawa 2005.
- 158) Polanczyk G, de Lima MS, Horta BL, Biederman J, Rohde LA. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry*. 2007;164(6):942–948. doi:10.1176/ajp.2007.164.6.942
- 159) Polanczyk GV, Willcutt EG, Salum GA, Kieling C, Rohde LA. ADHD prevalence estimates across three decades: an updated systematic review and meta-regression analysis. *Int J Epidemiol*. 2014;43(2):434–442. doi:10.1093/ije/dyt261
- 160) Preetha K, Tejasri K et al. An evaluation of role of salivary alpha amylase in the caries activity among young individuals. *Int J Med Sci Curr Res*. 2019;2 (3):54-57.
- 161) Proctor GB, Carpenter GH, Segawa A, Garrett JR, Ebersole L. Constitutive secretion of immunoglobulin A and other proteins into lumina of unstimulated submandibular glands in anaesthetised rats. *Exp Physiol*. 2003;88(1):7–12. doi:10.1113/eph8802438
- 162) Ptacek R, Kuzelova H, Stefano GB, Raboch J et al. Disruptive patterns of eating behaviors and association lifestyles in males with ADHD. *Med. Sci. Monit*. 2014; 20: 608–613.
- 163) Rohleder N, Nater U, Wolf J M, Ehlert U, Kirschbaum C. Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha-amylase: an indicator of sympathetic activity? *Ann N Y Acad Sci*.2004;1032:258–263, doi:10.1196/annals.1314.033.
- 164) Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect*. 2000;2(13):1599–1607. doi:10.1016/s1286-4579(00)01316-2
- 165) Russell AE, Ford T, Williams R, Russell G. The association between socioeconomic disadvantage and attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): a systematic review. *Child Psychiatry Hum Dev*. 2016;47(3):440–458. doi:10.1007/s10578-015-0578-3
- 166) Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev*. 2000;21(1):55–89. doi:10.1210/edrv.21.1.0389

- 167) Sapolsky RM. Stress hormones: good and bad. *Neurobiol Dis.* 2000;7(5):540–542. doi:10.1006/nbdi.2000.0350
- 168) Scannapieco FA, Torres G, Levine MJ. Salivary alpha-amylase: role in dental plaque and caries formation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1993;4(3-4):301–307. doi:10.1177/10454411930040030701
- 169) Schafer S.A, Tschritter O, Machicao F, Thamer C et al. Impaired glucagon-like peptide-1-induced insulin secretion in carriers of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphisms. *Diabetologia* 2007; 50: 2443–2450.
- 170) Schilling KM, Bowen WH. Glucans synthesized in situ in experimental salivary pellicle function as specific binding sites for *Streptococcus mutans*. *Infect Immun.* 1992;60(1):284–295.
- 171) Schumacher S, Kirschbaum C, Fydrich T, Ströhle A. Is salivary alpha-amylase an indicator of autonomic nervous system dysregulations in mental disorders?-a review of preliminary findings and the interactions with cortisol. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(6):729–743. doi:10.1016/j.psyneuen.2013.02.003
- 172) Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 1964;22:121–135. doi:10.3109/00016356408993968
- 173) Simon V, Czobor P, Bálint S, Mészáros A, Bitter I. Prevalence and correlates of adult attention-deficit hyperactivity disorder: meta-analysis. *Br J Psychiatry.* 2009;194(3):204–211. doi:10.1192/bjp.bp.107.048827
- 174) Sipowicz K, Witusik A, Pietras T (red). ADHD – wybrane zagadnienia diagnozy i terapii. Wrocław, *Continuo*, 2019
- 175) Słopeń A. Badania asocjacyjne genów kandydujących w zespole nadpobudliwości psychoruchowej i deficytu uwagi (ADHD) z wybranymi funkcjami poznawczymi. Rozprawa habilitacyjna. 2011; 22-23
- 176) Snoek H, Van Goozen SH, Matthys W, Buitelaar JK, van Engeland H. Stress responsivity in children with externalizing behavior disorders. *Dev Psychopathol.* 2004;16(2):389–406. doi:10.1017/s0954579404044578
- 177) Sobczak-Zagalska H, Peplińska M, Emerich K. Lęk związany z wizytą dzieci i młodzieży u stomatologa –subiektywne metody oceny. *Post Psychiatr Neurol.* 2014; 23: 47-52.
- 178) Spencer T, Biederman J, Wilens T, Harding M et al. Pharmacotherapy of attention-deficit hyperactivity disorder across the life cycle. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 1996;35(4):409–432. doi:10.1097/00004583-199604000-00008
- 179) Stetler C, Dickerson SS, Miller GE. Uncoupling of social zeitgebers and diurnal cortisol secretion in clinical depression. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;29(10):1250–1259. doi:10.1016/j.psyneuen.2004.03.003



- 180) Sujan AC, Rickert ME, Öberg AS, Quinn PD et al. Associations of maternal antidepressant use during the first trimester of pregnancy with preterm birth, small for gestational age, autism spectrum disorder, and attention-deficit/hyperactivity disorder in offspring. *JAMA*. 2017;317(15):1553–1562. doi:10.1001/jama.2017.3413
- 181) Szatko F, Rabęda A, Bromblik A: Ocena skuteczności systemu opieki stomatologicznej na podstawie analizy porównawczej stanu uzębienia i potrzeb stomatologicznych dzieci w wieku przedszkolnym. *Czas Stomatol*. 2008,61, 1,61-68.
- 182) Szewczuk-Bogusławska M, Flisiak-Antonijczuk H. Czy zmiana kryteriów diagnostycznych ułatwi rozpoznanie ADHD u dorosłych? *Psychiatr Pol*. 2013;47(2):293–302.
- 183) Szpringer-Nodzak M (red). Stomatologia wieku rozwojowego. Warszawa; Wydawnictwo PZWL, 2008 .
- 184) Szydełko J, Szydełko M, Piątek D, Tuzim K, Boguszewska-Czubara A. Wpływ chronicznego stresu u kobiet w ciąży na kształtowanie się zachowań żywieniowych u ich potomstwa w życiu postnatalnym. *Medical Review*. 2016;14:83-92. doi:10.15584/medrev.2016.1.7.
- 185) Szydłarska, D, Grzesiuk, W, Kupstas, A, Bar-Andziak, E; Ślina jako materiał diagnostyczny. *Forum Medycyny Rodzinnej: Czasopismo Polskiego Towarzystwa Medycyny Rodzinnej*;2008;6; 454-464.
- 186) Talge NM, Neal C, Glover V; Early stress, translational research and prevention science network: fetal and neonatal experience on child and adolescent mental health. Antenatal maternal stress and long-term effects on child neurodevelopment: how and why? *J Child Psychol Psychiatry*. 2007;48(3-4):245–261. doi:10.1111/j.1469-7610.2006.01714.x
- 187) Taylor RW, Jones IE, Williams SM, Goulding A. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19 y. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(2):490–495. doi:10.1093/ajcn/72.2.490
- 188) Tong Y, Lin Y, Zhang Y, Yang J et al. Association between TCF7L2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: a large Human Genome Epidemiology (HuGE) review and meta-analysis. *BMC Med Genet*. 2009 10:15. doi: 10.1186/1471-2350-10-15.
- 189) Tucholska S. Nadpobudliwość psychoruchowa: kryteria diagnozy, natura zaburzenia. In Steuden St. (red.) Wybrane zagadnienia z psychologii klinicznej. Lublin. *Towarzystwo Naukowe KUL* 1992
- 190) Vafaei A, Vafaei I, Noorazar G, Akbarzadeh R et al. Comparison of the effect of pharmacotherapy and neuro-feedback therapy on oral health of children with attention deficit hyperactivity disorder. *J Clin Exp Dent*. 2018;10(4):e306–e311. Published 2018 Apr 1. doi:10.4317/jced.54586

- 191) Van den Bergh BRH, Marcoen A. High antenatal maternal anxiety is related to ADHD symptoms, externalizing problems, and anxiety in 8- and 9-year-olds. *Child Dev.* 2004;75(4):1085–1097. doi:10.1111/j.1467-8624.2004.00727.x
- 192) Van den Bergh BRH, Mulder EJ, Mennes M, Glover V. Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanisms. A review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29(2):237–258. doi:10.1016/j.neubiorev.2004.10.007
- 193) Van den Bergh BRH, van den Heuvel MI, Lahti M, Braeken M et al. Prenatal developmental origins of behavior and mental health: The influence of maternal stress in pregnancy. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017;S0149-7634(16)30734-5. doi:10.1016/j.neubiorev.2017.07.003
- 194) Velders FP, De Wit JE, Jansen PW, Jaddoe VW et al. FTO at rs9939609, food responsiveness, emotional control and symptoms of ADHD in preschool children. *PLoS One.* 2012;7(11):e49131. doi:10.1371/journal.pone.0049131
- 195) Voegel SW, Bijlenga D, Tanke M, Bron TI et al. Circadian rhythm disruption as a link between attention-deficit/hyperactivity disorder and obesity? *J. Psychosom. Res.* 2015; 79(5): 443–450.
- 196) Walker JE, Kozlowski GP, Neurofeedback treatment of epilepsy, *Child Adolesc. Psychiatric. Clin. N. Am* (2005) 163 – 176
- 197) Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med.* 1997;337(13):869–873. doi:10.1056/NEJM199709253371301
- 198) Wieggersma AM, Dalman C, Lee BK, Karlsson H, Gardner RM. Association of prenatal maternal anemia with neurodevelopmental disorders. *JAMA Psychiatry.* 2019;1–12. doi:10.1001/jamapsychiatry.2019.2309
- 199) Wierzbicka M, Petersen PE, Szatko F, Dybizbanska E, Kalo I. Changing oral health status and oral health behaviour of schoolchildren in Poland. *Community Dent Health.* 2002;19(4):243–250.
- 200) Wierzbicka M, Szatko F, Rucińska K, Zawadziński M. Ogólnokrajowy monitoring zdrowia jamy ustnej i jego uwarunkowań. Polska 2000. *Ministerstwo Zdrowia, Zakład Stomatologii Zachowawczej IS Am W Warszawie, Katedra Higieny i Epidemiologii Am W Łodzi,* 2003
- 201) Wierzbicka M, Szatko F, Strużycka I, Rusyan E i wsp. Monitoring zdrowia jamy ustnej. Polska 2011. Stan zdrowia jamy ustnej i jego uwarunkowania oraz potrzeby profilaktyczno-lecznicze dzieci w wieku 5, 7 i 15 lat. *WUM.* Warszawa 2011.
- 202) Wierzbicka M, Szatko F, Zawadziński M, Pierzynowska E i wsp. Ogólnokrajowy monitoring zdrowia jamy ustnej i jego uwarunkowania. Polska 2003. *Zakład Stomatologii Zachowawczej Am W Warszawie, Katedra Higieny i Epidemiologii AM W Łodzi. Ministerstwo Zdrowia,* Warszawa 2004

- 203) Wierzbicka M, Szatko F, Zawadziński M, Pierzynowska E i wsp. Ogólnopolski monitoring zdrowia jamy ustnej. Polska 2002. AM w Warszawie. AM w Łodzi, MZ, Warszawa 2003
- 204) Wierzbicka M, Zawadzińska M, Pierzynowska E i wsp.: Ogólnokrajowy monitoring zdrowia jamy ustnej i jego uwarunkowań. Polska 2001. *MZiOS*, AM Warszawa 2002.
- 205) Wilhelm C, Marx I, Konrad K et al. Differential patterns of disordered eating in subjects with ADHD and overweight. *World J Biol Psychiatry*. 2011;12 Suppl 1:118–123. doi:10.3109/15622975.2011.602225
- 206) Wiśniowiecka M, Szewczyk L. Poczucie osamotnienia u dzieci z otyłością. W: L. Szewczyk, A. Kulik (Red.). Wybrane zagadnienia z psychologii klinicznej i osobowości. *Psychosomatyka TN KUL*, Lublin 2001, 27-38
- 207) Wolańczyk T, Komender J. Zaburzenia emocjonalne i behawioralne u dzieci. *Wydawnictwo Lekarskie PZWL*, Warszawa 2005.
- 208) Wolańczyk T, Skotnicka M, Kołakowski A, Pisula A. Zespół nadpobudliwości psychoruchowej u dzieci. *Wychowanie w Przedszkolu* 2004;3:131–134.
- 209) Wolf HF, Rateitschak EM, Rateitschak KH, “Periodontologia” wyd. polskie pod red. Z.Jańczuka, *Czelej* 2006, dodruk 2012

## 10. SPIS TABEL

**Tabela 1.** Kryteria włączenia do grupy badanej i kontrolnej oraz kryteria wyłączenia z obu grup

**Tabela 2.** Opis wskaźnika GI

**Tabela 3.** Kryteria oceny ICDAS II

**Tabela 4.** Analiza w obu grupach występowania sytuacji stresujących w ciąży lub problemów emocjonalnych bez odpowiedzi „nie wiem”

**Tabela 5.** Parametry noworodkowe i punktacja w skali Apgar w pierwszych minutach życia u dzieci obu grup

**Tabela 6.** Statystyka opisowa wybranych zmiennych opisujących parametry antropologiczne grupy ADHD i kontrolnej

**Tabela 7.** Porównanie masy ciała, wysokości ciała, BMI, obwodu pasa i bioder dzieci zdrowych i z grupy badanej

- Tabela 8.** Korelacje polimorfizmu rs7903146 genu Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) do masy i wysokości ciała, BMI, obwodu bioder, obwodu pasa łącznie dla obu grup
- Tabela 9.** Liczba zębów mlecznych, indeksy próchnicy ICDAS i puwz, ogólny wskaźnik płytki PCR, indeks GI stanu dziąseł, wskaźnik leczenia dla zębów mlecznych w obu grupach
- Tabela 10.** Liczba zębów stałych, indeksy próchnicy ICDAS i PUWZ, ogólny wskaźnik płytki PCR, indeks GI stanu dziąseł, wskaźnik leczenia dla zębów stałych
- Tabela 11.** Stężenia kortyzolu, amylazy ślinowej, IgA w ślinie całkowitej dla grupy ADHD i kontrolnej
- Tabela 12.** Korelacje amylazy, IgA i kortyzolu do wskaźników opisujących stan jamy ustnej (p, P, puw, PUWZ, PCR, GI) w grupie badanej (n=39) i kontrolnej (n=80)
- Tabela 13.** Różnice w wartościach wskaźników GI, puwz, PUWZ i PCR pomiędzy dziećmi w grupie ADHD, które odczuwały ból w jamie ustnej aktualnie w stosunku do tych, które bólu aktualnie nie odczuwały
- Tabela 14.** Różnice w wartościach wskaźników GI, PCR, puwz i PUWZ u dzieci z grupy badanej, które odczuwają lęk stomatologiczny w stosunku do tych, które lęku stomatologicznego nie odczuwają
- Tabela 15.** Różnice w wartościach wskaźników puwz, PUWZ, PCR, GI u dzieci z grupy kontrolnej, które odczuwały ból w jamie ustnej w przeszłości w stosunku do tych, które bólu w przeszłości nie odczuwały
- Tabela 16.** Różnice w wartościach stężeń kortyzolu, amylazy ślinowej i IgA pomiędzy dziećmi z grupy ADHD, które w ostatnim roku miały przeżycia stresujące a tymi bez przeżyć stresujących

## 11. SPIS RYCIN

- Rycina 1. Zdjęcie przykładowego elektroforogramu
- Rycina 2. Miejsce zamieszkania dzieci z grupy badanej i kontrolnej
- Rycina 3. Charakterystyka rodzin grupy badanej i kontrolnej
- Rycina 4. Porównanie rodzaju karmienia dziecka w okresie noworodkowym i niemowlęcym dla obu grup
- Rycina 5. Rodzaj porodu w obu grupach

- Rycina 6. Porównanie przebiegu ciąży w obu grupach
- Rycina 7. Porównanie występowania sytuacji stresujących w ciąży w obu grupach
- Rycina 8. Porównanie obwodu bioder między grupą dzieci z ADHD i grupą kontrolną
- Rycina 9. Porównanie wartości indeksu BMI między grupą dzieci z ADHD i grupą kontrolną
- Rycina 10. Porównanie masy ciała między grupą dzieci z ADHD i grupą kontrolną
- Rycina 11. Porównanie genotypów TCF7L2 w obu grupach
- Rycina 12. Porównanie stopnia ICDAS = 0 zębów mlecznych w obu grupach
- Rycina 13. Porównanie stopnia ICDAS = 1 zębów mlecznych w obu grupach
- Rycina 14. Porównanie stopnia ICDAS = 2 zębów mlecznych w obu grupach
- Rycina 15. Porównanie stopnia ICDAS = 5 zębów mlecznych w obu grupach
- Rycina 16. Porównanie stopnia ICDAS = 6 zębów mlecznych w obu grupach
- Rycina 17. Porównanie stopnia ICDAS = 1 zębów stałych w obu grupach
- Rycina 18. Porównanie stopnia ICDAS = 3 zębów stałych w obu grupach
- Rycina 19. Porównanie PUWZ w obu grupach
- Rycina 20. Porównanie wartości P (liczby zębów stałych z próchnicą) w obu grupach
- Rycina 21. Porównanie wskaźnika puwz w obu grupach
- Rycina 22. Porównanie liczby zębów mlecznych z wypełnieniami w obu grupach
- Rycina 23. Porównanie liczby zębów mlecznych z próchnicą „p” w obu grupach
- Rycina 24. Porównanie wskaźnika PCR w obu grupach
- Rycina 25. Porównanie wskaźnika GI w obu grupach
- Rycina 26. Porównanie wskaźnika leczenia zębów mlecznych w obu grupach
- Rycina 27. Porównanie wskaźnika leczenia zębów stałych w obu grupach
- Rycina 28. Porównanie stężeń amylazy ślinowej w obu grupach
- Rycina 29. Porównanie stężeń IgA w obu grupach
- Rycina 30. Porównanie liczby dzieci, które były na wizycie stomatologicznej w ciągu ostatnich 3 miesięcy w obu grupach
- Rycina 31. Porównanie liczby dzieci, które były na wizycie stomatologicznej w ciągu ostatnich 6 miesięcy w obu grupach
- Rycina 32. Porównanie liczby dzieci, które były na wizycie stomatologicznej w ciągu ostatnich 12 miesięcy w obu grupach
- Rycina 33. Spożywanie słodczy codziennie w obu grupach
- Rycina 34. Spożywanie słodczy pomiędzy głównymi posiłkami w obu grupach

- Rycina 35. Porównanie picia słodzonych, gazowanych napojów w grupie ADHD i kontrolnej
- Rycina 36. Porównanie picia innych napojów niż woda między posiłkami w obu grupach.
- Rycina 37. Porównanie występowania bólu w jamie ustnej aktualnie pomiędzy grupą badaną ADHD i kontrolną
- Rycina 38. Porównanie występowania bólu w jamie ustnej w przeszłości pomiędzy grupą badaną ADHD i kontrolną
- Rycina 39. Porównanie lęku stomatologicznego pomiędzy grupą badaną ADHD i kontrolną
- Rycina 40. Porównanie wskaźnika PCR w grupie ADHD pomiędzy dziećmi, które odczuwały ból w jamie ustnej aktualnie a tymi, które go nie odczuwały
- Rycina 41. Porównanie wskaźnika GI w grupie dzieci z ADHD z bólem w jamie ustnej aktualnie do tych bez bólu aktualnie odczuwanego
- Rycina 42. Porównanie wskaźnika GI w grupie ADHD między dziećmi odczuwającymi lęk stomatologiczny a tymi bez lęku
- Rycina 43. Porównanie wartości wskaźnika puwz w grupie kontrolnej u dzieci, które w przeszłości odczuwały ból w jamie ustnej w stosunku do tych, które bólu w przeszłości nie odczuwały
- Rycina 44. Porównanie wartości wskaźnika PCR w grupie kontrolnej u dzieci, które w przeszłości odczuwały ból w jamie ustnej w stosunku do tych, które bólu w przeszłości nie odczuwały
- Rycina 45. Porównanie występowania przeżyć stresowych między grupą ADHD i kontrolną
- Rycina 46. Porównanie stężenia kortyzolu u dzieci z ADHD, które miały przeżycia stresujące w stosunku do tych bez przeżyć stresujących w ciągu ostatniego roku
- Rycina 47. Porównanie stężenia amylazy u dzieci z ADHD, które miały przeżycia stresujące w stosunku do tych dzieci, które nie miały przeżyć stresujących w ciągu ostatniego roku

## 12. ZAŁĄCZNIKI

## ZAŁĄCZNIK NR 1

### WYWIAD CIĄŻOWY I OKOŁOPORODOWY WCZESNY ROZWÓJ DZIECKA

Imię i nazwisko: \_\_\_\_\_

Data urodzenia (dzień/miesiąc/rok): \_\_\_\_\_

Płeć dziecka:            Chłopiec                Dziewczynka   

#### CIĄŻA

✓ Wysokość matki (cm): \_\_\_\_\_ Masa ciała przed ciążą (kg): \_\_\_\_\_

✓ Najwyższa masa ciała w czasie ciąży (kg): \_\_\_\_\_

✓ Czy lekarz sugerował, że przyrosty masy ciała są zbyt duże?:    1-tak    2-nie    3-nie wiem

1. Czas trwania ciąży (w tygodniach, plus ewentualnie dni): \_\_\_\_\_

2. Przebieg ciąży:    1-prawidłowy    2-nieprawidłowy

3. Choroby występujące w czasie ciąży (jeżeli tak, zaznacz w którym trymestrze):

1-cukrzyca	5-problemy emocjonalne	9-grypa	13-zaburzenia neurologiczne
2-choroby nerek	6-zaburzenia psychiatryczne	10-różyczka	14-inne
3-choroby serca	7-zaburzenia endokrynologiczne	11-ospa wietrzna	15-nie
4-choroby tarczycy	8-zaburzenia autoimmunologiczne	12-świnka	16-nie wiem

4. Choroby matki przed urodzeniem dziecka?

1-cukrzyca	4-choroby tarczycy	7-zaburzenia endokrynologiczne	10-inne
2-choroby nerek	5-problemy emocjonalne	8-zaburzenia autoimmunologiczne	11-nie
3-choroby serca	6-zaburzenia psychiatryczne	9-astma oskrzelowa	12-nie wiem

5. Stres w ciąży związany z trudną sytuacją materialną:            1-tak    2-nie    3-nie wiem

6. Stres w ciąży związany z problemami rodzinnymi:            1-tak    2-nie    3-nie wiem

7. Stres w ciąży związany z chorobą lub śmiercią członka rodziny:            1-tak    2-nie3    -nie wiem

8. Stres związany z nieprawidłowym przebiegiem ciąży:            1-tak    2-nie    3-nie wiem

9. Inny stres (*jaki?*): 1-tak 2-nie 3-nie wiem

10. Leki przyjmowane w czasie ciąży?: 1-tak 2-nie 3-nie wiem

(*jeżeli tak*) Jakie leki i z jakiego powodu?: \_\_\_\_\_

## PORÓD

Badania laboratoryjne: pH: \_\_\_\_\_ -BE: \_\_\_\_\_

inne: \_\_\_\_\_

W jakim wieku była matka w chwili urodzenia dziecka?: \_\_\_\_\_ lata

W jakim wieku był ojciec w chwili urodzenia dziecka?: \_\_\_\_\_ lata

Czy był to poród pojedynczy czy bliźniaczy?: 1-pojedynczy 2-bliźniaczy 3-inny

W jaki sposób ukończono ciążę?:

1-cięcie cesarskie 3-wysokie kleszcze 5-siłami natury

2-kleszcze 4-wyciągacz próżniowy 6-nie wiem

Czy były zmiany w płynie owodniowym?:

1-zielony 2-smółka 3-krew 4-inne 5-nie 6-nie wiem

## OKRES NOWORODKOWY/NIEMOWLĘCY I DALSZE ETAPY ROZWOJU

1. Urodzeniowa długość ciała (*proszę podać*): \_\_\_\_\_

2. Urodzeniowy obwód głowy (*proszę podać*): \_\_\_\_\_

3. Masa urodzeniowa (w gramach) (*proszę podać*): \_\_\_\_\_

4. Punktacja w skali Apgar (*proszę podać*):

1 min: \_\_\_\_\_ 3 min \_\_\_\_\_ 5 min \_\_\_\_\_ 10 min \_\_\_\_\_

5. Czy dziecko miało żółtaczkę po urodzeniu?:

1-nasilona wymagająca leczenia 3-mało nasilona wymagająca leczenia 5-nie

2-miernie nasilona wymagająca leczenia 4-nie wymagająca leczenia 6-nie wiem

Jaki był poziom bilirubiny? (*proszę podać*):



**6. Czy stwierdzano wrodzone wady?:**

1-serca	4-słuchu	7-przepuklinę	10-inne wady
2-o.u.n	5-przewodu pokarmowego	8-kości	11-nie
3-wzroku	6-układu oddechowego	9-stawów	12-nie wiem

**7. Problemy z karmieniem w okresie noworodkowym/niemowlęcym:** 1-tak 2-nie 3-nie wiem

**8. Czy dziecko było karmione piersią?:** 1-tak 2-nie 3-nie wiem

Jak długo było karmione **wyłącznie piersią** (ile miesięcy): \_\_\_\_\_

Jak długo było karmione **piersią** wliczając czas w którym dziecko było dokarmiane sztucznym mlekiem:

\_\_\_\_\_

**9. Sen dziecka w okresie niemowlęctwa:** 1-prawidłowy 2-nieprawidłowy

**10. Łaknienie w okresie niemowlęctwa:** 1-prawidłowe 2-nieprawidłowe

**11. Łaknienie w późniejszych latach:** 1-prawidłowe 2-nieprawidłowe

**12. Rozwój motoryki:** 1-prawidłowy 2-nieprawidłowy

**13. Rozwój mowy:** 1-prawidłowy 2-nieprawidłowy

**14. Przebyte choroby dziecka:**

1-drgawki gorączkowe	3-zaburzenia hormonalne	5-zespół Tourette'a	7-nie wiem
2-padaczka	4-tiki	6-nie	

**15. Choroby psychiatryczne dziecka:**

1-zaburzenie afektywne dwubiegunowe	4-depresja	7-zaburzenia zachowania	10-nie wiem
2-zaburzenie obsesyjno-kompulsyjne	5-schizofrenia	8-zaburzenia odżywiania	11-nie występują
3-zaburzenie depresyjne nawracające	6-ADHD	9-inne (jakie?)	

**16. Specyficzne trudności szkolne:**

1-zaburzenie rozwoju umiejętności czytania (dysleksja)	4-zaburzenia mieszane
2-zaburzenie rozwoju umiejętności arytmetycznych (dyskalkulia)	5-nie występują

3-zaburzenie rozwoju umiejętności pisania (dysgrafia)

**17. Zaburzenia rozwoju mowy:**

1-zaburzenie rozwoju ekspresji mowy      3-zaburzenie rozwoju artykulacji      5-nie występują

2-zaburzenie rozwoju rozumienia mowy      4-jąkanie

**18. Zażywanie narkotyków:**      1-tak      2-nie

**19. Picie alkoholu:**      1-tak      2-nie

**20. Palenie papierosów:**      1-tak      2-nie

**21. Próby samobójcze:**      1-tak      2-nie

**22. Konflikty dziecka z prawem, kolegą, kuratorem, usunięcie ze szkoły:**      1-tak      2-nie

**23. Nauka w szkole:**

1-dobrze    2-średnio    3-ma kłopoty, lecz nie powtarzał klasy    4-poważne kłopoty z nauką, powtarzanie klas

**24. Czy dziecko przynosi uwagi ze szkoły lub są bardzo wyraźne skargi nauczycieli:**

1-wcale    2-bardzo rzadko    3- 1 raz w m-cu    4- 2 razy w m-cu    5- 1 raz w tygodniu    6-prawie codziennie

## WYWIAD RODZINNY

### B1. WYWIAD DOTYCZĄCY MATKI

Wiek: \_\_\_\_\_ Wysokość ciała: \_\_\_\_\_ Masa ciała: \_\_\_\_\_

**1. Wykształcenie:**

1-podstawowe      2-zasadnicze      3-średnie      4-wyższe

**2. Praca:**

1-pracuje      2-nie pracuje      3- renta/inwalidztwo      4-bezrobotna

### B2. WYWIAD DOTYCZĄCY OJCA

Wiek: \_\_\_\_\_ Wysokość ciała: \_\_\_\_\_ Masa ciała: \_\_\_\_\_

**1. Wykształcenie:**

1-podstawowe      2-zasadnicze      3-średnie      4-wyższe

**2. Praca:**

1-pracuje      2-nie pracuje      3- renta/inwalidztwo      4-bezrobotna

### B3. RODZEŃSTWO:

**1. Rodzeństwo badanego:**

1-tak      2-nie      3-nie wiem

1a. Podaj liczbę braci: \_\_\_\_\_

1b. Podaj liczbę siostr \_\_\_\_\_

## STRESUJĄCE WYDARZENIA W ŻYCIU DZIECKA

Stresujące wydarzenia, które miały miejsce w ciągu ostatnich 12 miesięcy życia dziecka

Czy Twoje dziecko było pod silnym wpływem co najmniej jednego z tych zdarzeń?

1. życie lub zdrowie dziecka było poważnie zagrożone
2. dziecko było świadkiem zdarzenia, w którym życie lub zdrowie innego człowieka było zagrożone, lub ktoś zginął
3. dziecko doświadczyło przemocy fizycznej (bicie, szarpanie, popychanie, przypalanie, duszenie, zmuszanie do aktywności seksualnej, itd.) lub psychicznej (przezywanie, wyszydzanie, obgadywanie, ktoś na nie krzyczał bardzo mocno, groził mu, dziecko czuło się odrzucone przez bliską mu osobę)
4. dziecko było świadkiem przemocy fizycznej lub psychicznej względem innej osoby
5. dziecko doświadczyło śmierci kogoś mu bliskiego
6. w rodzinie występowały poważne problemy (kłótnie, konflikty, rozstania, problem alkoholowy, inne uzależnienia, problemy emocjonalne członków rodziny, inne)
7. dziecko było przez wiele dni rozdzielone z którymś z rodziców
8. poważne problemy z ocenami w szkole
9. inne bardzo stresujące wydarzenie

*(Poprzez określenie "pod silnym wpływem" mamy na myśl: czy Twoje dziecko wydawało się: a) bardzo przerażone; b) zdezorientowane lub bezradne; c) bardzo zszokowane lub wstrząśnięte; d) miało problem z powrotem do normalnego dla niego zachowania lub samopoczucia, kiedy było już po wszystkim, LUB e) zachowywało się wyraźnie inaczej kiedy było po wszystkim.)*

Tak       Nie       Nie wiem

## SOCJODEMOGRAFICZNA CHARAKTERYSTYKA RODZINY

**Państwa rodzinę najlepiej określa punkt:**

- pełna, z dwojgiem biologicznych rodziców badanego dziecka
- pełna, z rodzicem biologicznym badanego dziecka i jego partnerem
- niepełna – z rodzicem samotnie wychowującym dziecko
- rodzina adopcyjna (względem badanego dziecka)
- rodzina zastępcza (względem badanego dziecka)

**Miejsce zamieszkania rodziny:**

- wieś
- miasto od 10 tys. do 100 tys. mieszkańców
- miasto powyżej 100 tys. mieszkańców

**Czy stałe dochody Pana(i) gospodarstwa domowego pozwalają na zaspokojenie bieżących potrzeb?**

- Z wielką trudnością    z trudnością    z pewną trudnością    raczej łatwo    łatwo

**Ile osób zamieszkuje lokal?**

- 1      2      3      4      5      6      7      8 i więcej

**Powierzchnia domu/mieszkania (w m<sup>2</sup>): \_\_\_\_\_**

## ZAŁĄCZNIK NR 2

<b>HIGIENA I NAWYKI ŻYWIENIOWE</b>		
<b>ANKIETA STOMATOLOGICZNA</b>		
Opracowanie: dr hab. Elżbieta Paszyńska		
<b>PACJENT</b> nr		
Imię i nazwisko.....		
Data badania.....		
Adres.....	<b>TAK</b>	<b>NIE</b>
Telefon..... Wiek.....		
Data urodzenia (PESEL).....		
1. Czy kontrolna wizyta stomatologiczna odbyła się w ciągu ostatnich 3 miesięcy?		
2. Czy kontrolna wizyta stomatologiczna odbyła się w ciągu ostatnich 6 miesięcy?		
3. Czy dziecko było ponad 1 rok temu na ostatniej kontrolnej wizycie stomatologicznej?		
4. Czy dziecko było kiedyś z powodu bólu w gabinecie stomatologicznym?		
5. Czy aktualnie dziecko uskarża się na ból w jamie ustnej?		
6. Czy dziecko boi się wizyt stomatologicznych?		
7. Czy dziecko używa regularnie płukankę do jamy ustnej, codziennie?		
8. Czy dziecko używa regularnie nić dentystyczną?		
9. Czy dziecko codziennie spożywa mleko i sery?		
10. Czy dziecko codziennie spożywa słodczy?		
11. Czy dziecko spożywa słodczy między posiłkami?		
12. Czy dziecko pije tylko wodę do posiłków? Jeśli nie, to co pije?		
13. Czy dziecko pije napoje słodzone – gazowane?		
14. Czy między głównymi posiłkami dziecko pije inne napoje niż woda?		
15. Ile razy dziennie pije inne płyny niż woda niegazowana?		
16. Objęcie programem profilaktycznym w szkole (fluoryzacja)?		
17. Wpisz aktualną nazwę pasty do zębów dziecka, jaką używa?		
18. Proszę określić średnią długość w czasie szczotkowania zębów przez dziecko?		
19. Czy dziecko szczotkuje zęby bez pomocy rodziców?		
20. Czy używa szczotkę manualną?		
21. Czy używa szczotkę elektryczną?		

22. Czy używa różne rodzaje szczotki zmiennie?		
23. Czy była kontrola ortodontyczna u dziecka?		
24. Czy są w domu ograniczenia w jedzeniu słodczy?		
25. Jakie są to ograniczenia domowe?		
26. Jak często dziecko myje zęby:		
- raz dziennie wieczorem		
- raz dziennie rano		
- 2x dziennie		
- po każdym posiłku		
- jak mu się przypomni		

ZAŁĄCZNIK NR 3

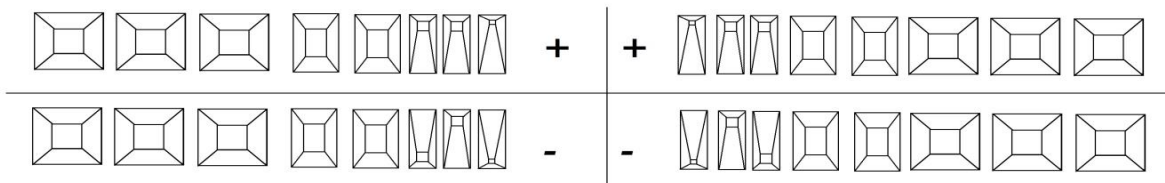
KARTA BADANIA STOMATOLOGICZNEGO

DATA BADANIA .....

Imię i nazwisko .....

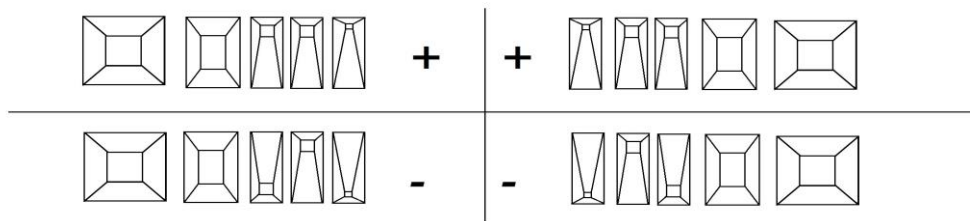
NUMER .....

Data urodzenia .....



ZĘBY STAŁE

P - ..... U - ..... W - ..... PUWZ - .....



ZĘBY MLECZNE

p - ..... u - ..... w - ..... puwz - .....

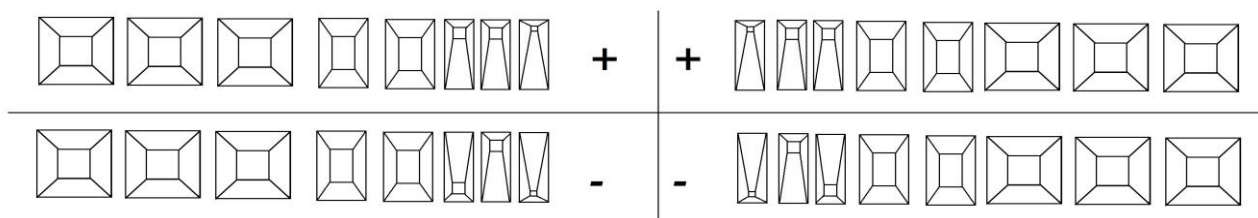


**ICDAS II STAŁE (0,1,2,3,4,5,6)**

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

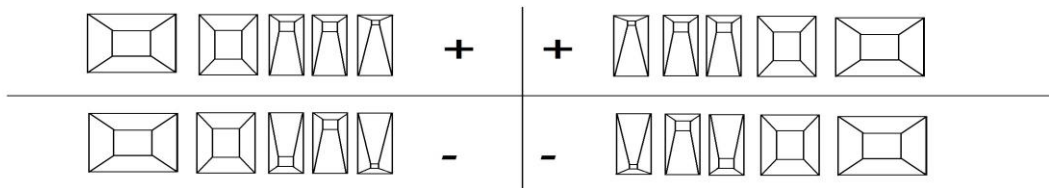
**ICDAS II MLECZNE (0,1,2,3,4,5,6)**

55.....54..... 53..... 52..... 51 ..... 61..... 62..... 63..... 64..... 65.....  
 85.....84..... 83..... 82..... 81..... 71..... 72..... 73..... 74..... 75.....



**PCR – Plaque Control Record (+/-)**

**PCR** =  $(\sum +) / (\sum \text{powierzchni}) \times 100\% = \dots\dots\dots$



**GI** (0,1,2,3) =  $\sum 0,1,2,3 / \sum \text{wsz. zębów} = \dots\dots\dots$


0-stan prawidłowy, 1-delikatne zaczerwienie, osad, 2-obrzęk, zaczerwienienie dziąsła, krwawienie,  
 3-intensywny obrzęk, owrzodzenie, samoistne krwawienie



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIwersYTECIE MEDYCZNYM  
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIUCollegium Stomatologicum  
ul. Bukowska 70  
60-812 Poznańtel. (+48 61) 854 73 36  
www.bioetyka.ump.edu.pl

## Uchwała nr 26/18

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 1 grudnia 1994 r. o zmianach lekarzy i lekarzy dentyści (t.j. Dz. U. z 2017, poz. 128 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1996, w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 488); Ustawy z dnia 6 września 2001, Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2016, poz. 2142 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004, w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 181, poz. 1834 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005, zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 19 kwietnia 2006, w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2006 Nr 104, poz. 1168); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2006, w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2006 Nr 104, poz. 1168); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. i Dz. U. z 2016 r., poz. 289; Ustawy z dnia 28 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (t.j. Dz. U. z 2017, poz. 211, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 8 października 2010, w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badań klinicznych wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194, poz. 1295); Ustawy z dnia 10 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (t.j. Dz. U. z 2016 r., poz. 1718); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012, w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012, w sprawie sposobu dokonywania przedklinicznych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie sposobów i sposobu składania opinii na badania kliniczne w rozumieniu Ustawy (Dz. U. 2012, Nr 8, poz. 491); w sprawie o Deklarację Halijskiej - Zarady Europejskiej Państwom w Eksperymentacji Medycznej z Umierającymi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 04 stycznia 2018 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych,

Kierownik projektu: dr hab. n med. Elżbieta Paszyńska

Miejsce prowadzenia badań:

Zakładu Stomatologii Zintegrowanej Uniwersytetu Medycznego  
w Poznaniu oraz Specjalistyczna Praktyka Stomatologiczna,  
Aleksandra Perczak ul. Łobżenicka 11, 89-115 Mroczka  
i ul. Nowa 15, 85-119 Bydgoszcz

Jednostki oświatowe na terenie województwa kujawsko-pomorskiego

Główny badacz: lek. stom. Aleksandra Perczak

Członkowie zespołu

badawczego: dr hab. n. med. Monika Dmierzak-Węglarz  
dr n med. Szymon Rzątownski  
Anna Goc prof. UMK

Temat badań:

„Identyfikacja czynników ryzyka otyłości a eksploracja stanu zdrowia  
jamy ustnej u dzieci z zespołem nadpobudliwości psychoruchowej i  
deficytem uwagi ADHD”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

potwierdza się zgodność  
z oryginałem

2018-01-09

Sekretariat Komisji Bioetycznej  
przy Uniwersytecie Medycznym  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
mgr inż. Barbara Undrych  
tel. 61 854 62 51  
e-mail: b.undrych@ump.edu.plZastępca  
Przewodniczącego Komisji

prof. dr hab. Janusz Wiśniewski