

## **Stężenie immunoglobuliny IgA i pojemność buforowa śliny u dzieci w wieku przedszkolnym jako determinanty zapadalności na próchnicę.**

### **Streszczenie**

Próchnica zębów jest najbardziej rozpowszechnioną przewlekłą chorobą jamy ustnej dotykającą dzieci, młodzież oraz dorosłych większości społeczeństw. Uważana jest za problem społeczny o zasięgu globalnym. Szacuje się, że skutki chorób jamy ustnej pochłaniają od 5 do 10% kosztów opieki zdrowotnej krajów uprzemysłowionych.

Jama ustna będąc początkowym odcinkiem układu pokarmowego narażona jest stale na infekcje bakteryjne, wirusowe i grzybicze. Organizm człowieka wykształcił wiele mechanizmów obronnych mających na celu ochronę przed zakażeniem. Jednym z nich jest stale obmywająca błonę śluzową jamy ustnej i powierzchnie zębów ślina. Ilość i zróżnicowanie składników śliny bezpośrednio przekłada się na pełnione przez nią funkcje. Począwszy od funkcji obronnej, dzięki zawartym w niej białkom m.in. immunoglobulinom (obrona swoista) oraz katelicydynie, defensynom, laktoferynie, lizozymowi, histatynom, mucynom czy peroksydazie ślinowej (obrona nieswoista) i buforowej, aż po rolę remineralizacyjną, ochronną, trawienną, odżywczą i wydalniczą oraz udział w artykulacji dźwięków.

Ślina ze względu na łatwy i nieinwazyjny sposób pobrania stanowi ważny element diagnostyki, a jej analizy wykorzystywane jest w badaniach przesiewowych. Ze względu na dużą zawartość składników organicznych i nieorganicznych oraz zmiany w jej składzie w czasie zdrowia i choroby, ślina może stanowić odzwierciedlenie zmian zachodzących w ludzkim organizmie. Analiza pH śliny, jej pojemności buforowej czy stężenia zawartych w niej odpowiednich białek może wskazywać na predyspozycję do pojawienia się zmian próchnicowych.

Ze względu na złożoną etiologię próchnicy istotną rolę w jej powstaniu mają określone wzorce zachowań w odniesieniu do jamy ustnej. Badania epidemiologiczne przeprowadzane na całym świecie, powszechnie potwierdzają, że niski status społeczno ekonomiczny rodziny oraz niski poziom edukacji rodziców są związane z częstszym występowaniem próchnicy i jej większym zaawansowaniem u ich dzieci. Wskazują to na ciągłą potrzebę edukacji opiekunów dzieci w zakresie nawyków żywieniowo - higienicznych.

## **Cele pracy**

1. Ocena poziomu wydzielniczej immunoglobuliny klasy A i katelicyny LL-37 w ślinie, pH oraz pojemności buforowej śliny dzieci w wieku przedszkolnym o różnej aktywności próchnicy.
2. Ocena wpływu przebiegu ciąży, nawyków żywieniowo-higienicznych oraz świadomości prozdrowotnej opiekunów dziecka na zaawansowanie procesu próchnicowego u dzieci w wieku 4-6 lat.
3. Analiza wpływu lakieru fluorkowego na zmiany poziomu immunoglobuliny klasy A w ślinie.

## **Materiał:**

Przed przystąpieniem do badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi Uchwała Nr RNN/86/12/KE.

- Badaniami podmiotowymi i przedmiotowym objęto 121 dzieci z 4 łódzkich przedszkoli.
- Do badania laboratoryjnego wykorzystano ślinę, pobraną dwukrotnie w odstępach trzy miesięcznych, od wszystkich zakwalifikowanych do badań dzieci. Pobraną ślinę wykorzystano do oznaczenia pH i wyliczenia pojemności buforowej, a także do oznaczenia stężenia wydzielniczej immunoglobuliny klasy A i katelicyny LL-37.
- W zabiegach fluoryzacji kontaktowej zastosowano lakier Duraphat.
- Uzyskane od rodziców dane ankietowe wykorzystano do oceny wpływu nawyków żywieniowo - higienicznych na intensywność próchnicy.

## Metody:

- Badanie podmiotowe przeprowadzono za pomocą ankiet skierowanych do rodziców dzieci.
- Badanie stomatologiczne wstępne i kontrolne przeprowadzono w czterech łódzkich przedszkolach (3 publicznych i 1 prywatnym). Badanie miało na celu ocenę wskaźnika puw, na podstawie wartości którego dokonano podziału dzieci na 3 grupy. Grupę I utworzyły dzieci bez próchnicy (puw=0), grupę II dzieci z puw  $\geq 1$  i  $\leq 2$ , dzieci z puw większym od 3 zakwalifikowano do grupy III. W celu porównania między grupą dzieci wolnych od próchnicy a dziećmi, u których stwierdzono ubytki próchnicowe lub następstwa próchnicy (niezależnie od wysokości wskaźnika puw) utworzono grupę IV z połączenia grupy II i III.
- Po pierwszym pobraniu śliny przeprowadzone zostały zabiegi profilaktyki fluorkowej, które wykonano trzykrotnie w odstępach tygodniowych.
- Do badań laboratoryjnych wykorzystano ślinę mieszaną. Metodę pobierania materiału do badań poddano standaryzacji: ślinę pobierano w godzinach dopołudniowych między 10 a 11 w zależności od czasu spożywania przez dzieci posiłków w przedszkolach. Kierowano się tym, żeby zachować 1 godzinę przerwy od ostatniego posiłku, po którym bezpośrednio przeprowadzano nadzorowane szczotkowanie zębów pastą z fluorem (1000 ppm F).
- Badania laboratoryjne przeprowadzono w Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Oceniano wartość pH śliny przed (badanie wstępne) i po poddaniu kwasu solnego, celem oceny zdolności buforowych śliny, używając pH-metru ELMETRON CP-401 z elektrodą IJ44C i czujnikiem temperatury (Elmetron, Polska).
- Odpowiednio poporcjowane i opisane próbówki zabezpieczono przez zamrożenie w temperaturze  $-70^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania oznaczeń stężenia wydzielniczej immunoglobuliny klasy A oraz katelicydyny LL-37 w ślinie.
- Wyniki badań ankietowych, przedmiotowych oraz laboratoryjnych zostały poddane analizie statystycznej.

## **Wyniki:**

1. Średnie wartości pH śliny u dzieci z obecnymi ogniskami próchnicy były niższe niż u dzieci bez próchnicy, wyższe średnie wartości pojemności buforowej obserwowano w grupie dzieci bez próchnicy ( $p_{uw}=0$ ) niż u dzieci z grupy II dzieci z próchnicą ( $p_{uw} \geq 1$  i  $\leq 2$ ) i z grupy III ( $p_{uw} \geq 3$ ).
2. U dzieci z wyższymi wartościami wskaźnika  $p_{uw}$  stwierdzono wyższe stężenie wydzielniczej immunoglobuliny klasy A i katelicydyny LL-37 w ślinie w porównaniu do dzieci bez próchnicy.
3. Na podstawie uzyskanych wyników badań ankietowych stwierdzono, że w sposób istotny na intensywność próchnicy wpływało częste spożywanie słodczy między posiłkami, zwiększające ryzyko próchnicy o 108%, oraz przedłużone karmienie butelką i podawanie pokarmów mieszanych powyżej 12. miesiąca życia - zwiększające ryzyko próchnicy o 64%.

## **Wnioski:**

1. Wyższe wartości pH oraz pojemności buforowej śliny występujące u dzieci bez próchnicy w porównaniu z dziećmi z próchnicą, potwierdzają istotną, neutralizującą kwaśne produkty metabolizmu drobnoustrojów, funkcję śliny, odgrywającą tym samym znaczącą przeciwpróchnicową rolę.
2. Wraz ze wzrostem intensywności próchnicy wzrost poziomu wydzielniczej IgA oraz katelicydyny LL-37 ślinie, szczególnie obserwowany u dzieci z wysokimi wartościami  $p_{uw}$ , może świadczyć o odpowiedzi układu odpornościowego na próchnicotwórcze bakterie.
3. Niewłaściwe nawyki żywieniowo - higieniczne dzieci mają znaczący wpływ na większe nasilenie próchnicy u dzieci w wieku przedszkolnym, zatem rodzice / opiekunowie dzieci ciągle wymagają edukacji prozdrowotnej w tym zakresie.
4. Spadek stężenia immunoglobuliny A w ślinie po serii zabiegów fluoryzacji może przypuszczalnie przemawiać za zmniejszeniem się liczby bakterii na

skutek kariostatycznego działania fluoru, a tym samym o obniżeniu odpowiedzi immunologicznej w odniesieniu do poziomu s-IgA.

## Summary

Dental caries is the most common chronic disease of oral cavity affecting children, teenagers and adults in most communities. It is considered to be a social problem present globally. It is estimated that oral diseases create between 5-10 % of health care costs in industrialized countries. Oral cavity, the initial part of the digestive system, is constantly at risk of developing bacterial, viral and fungal infections. The human body has developed many defensive mechanisms aiming at protection against the possible infections. One of such mechanisms is saliva that constantly rinses oral mucosa and teeth surfaces. The amount and diversity of saliva components directly affects its function. Saliva performs the defensive function which is associated with the proteins that it contains such as immunoglobulins (acquired defense) , cathelicidin, defensins, lactoferrin, lysozyme, histatins, mucins or salivary peroxidase (innate defense). It also has buffer, remineralizing, protective , digestive, nutritional, excretory functions and, additionally, it takes part in sound articulation. Saliva, due to an easy and non-invasive sampling, constitutes an important part of diagnostics and its analyses are used in various screening tests. Due to the fact that saliva contains a large amount of organic and non-organic components and that its composition differs in good health and a disease, it reflects changes in the human body. Analysis of saliva pH, its buffer capacity or concentration of specific proteins contained in it, may indicate the susceptibility to carious lesions. Due to caries etiology complexity, an important role in its development have specific behavioral patterns associated with oral cavity. Epidemiological research conducted worldwide commonly confirm that low socio-economic family status together with insufficient level of education of the parents are related to more prevalent caries incidence and also with greater caries advancement in their children. This, in turn, indicates the constant need to educate children guardians as regards dietary and oral hygiene habits.

## **Aim of the study**

1. Evaluation of the level of secretory immunoglobulin A and cathelicidin LL-37 in saliva, pH and buffer capacity of saliva in pre-school children with different caries activity.
2. Evaluation of the effect of pregnancy , dietary and hygiene habits and pro-health awareness of children guardians on carious process advancement in children aged 4-6.
3. Analysis of the effect of fluoride on immunoglobulin A level in saliva.

## **Material**

Before conducting the research, the approval issued by the Bioethics Committee at Medical University of Lodz was obtained (RNN/86/12/KE).

- 121 children from 4 Lodz kindergartens were subjected to physical examination and their medical histories were taken
- Saliva samples were collected twice with a 3-month interval from all the children qualified for the study to perform diagnostic laboratory tests. The obtained saliva was used to mark pH level, evaluate buffer capacity and to mark concentration of secretory immunoglobulin A and cathelicidin LL-37
- In fluoridation procedures Duraphat varnish was used
- Survey data obtained from the parents was used to evaluate the effect of dietary and hygiene habits on caries rates

## **Methods**

- The anamnesis was taken with the use of survey directed to the parents
- Preliminary and check-up dental examinations were performed in four Lodz kindergartens (3 public and 1 private). The examination aimed at evaluation of DMF index, on the basis of which the children were

subdivided into 3 groups. Group I constituted children without caries (DMF=0), group II included children with  $DMF \geq 1$  and  $\leq 2$ , children with  $DMF \geq 3$  were classified as group III. In order to compare the group without caries with children diagnosed with carious lesions or other caries effects (regardless the DMF index) group IV was formed that included children from groups II and III.

- After first saliva sampling, fluoride prophylactic procedures were performed three times at 1-week intervals.
- For laboratory tests mixed saliva was used. The method of material collection for the study was standardized: saliva was collected in the morning hours, between 10 and 11 a.m., depending on the time the children consumed their meals in kindergartens. The important criterion was a minimum of 1 hour time after the meal followed by immediate and supervised tooth brushing with fluoridated toothpaste (1000 ppm F).
- The laboratory tests were performed at Microbiology and Laboratory Immunology Department at Medical University of Lodz. Saliva pH was evaluated before (preliminary test) and after hydrochloric acid administration to assess saliva buffer capacity with the use of pH-meter ELMETRON CP-401 with IJ44C electrode and temperature sensor (Elmetron, Poland).
- Properly divided and labeled samples were refrigerated at  $-70^{\circ}C$  before secretory immunoglobulin A and cathelicidin LL-37 concentration in saliva was marked.
- The results of the survey, medical histories and laboratory tests were statistically analyzed.

## Results

1. The mean values of saliva pH in children with active caries foci were lower than in children without caries. Higher mean values of buffer capacity were observed in children without caries (DMF=0) than in children from group II with caries ( $DMF \geq 1$  and  $\leq 2$ ) and group III ( $DMF \geq 3$ ).

2. The obtained data demonstrated that in children with higher DMF index values a higher concentration of secretory immunoglobulin A and cathelicidin LL-37 in saliva was observed as compared to the children without caries.

3. Based on the results of the survey it was noted that caries intensity was significantly affected by frequent consumption of sweets between the meals, which increases the risk of caries development by 108% and by prolonged bottle-feeding and administration of mixed foods after the 12<sup>th</sup> month of life , which increases the risk of tooth decay by 64%.

## **Conclusions**

1. Higher values of saliva pH and buffer capacity present in children without caries compared to children diagnosed with caries confirm that saliva has a significant function of neutralizing acidic metabolic products of microorganisms thus performing an important cariostatic role.

2. Increased caries intensity rates resulted in an increase in secretory IgA and cathelicidin LL-37 in saliva, especially in children with significantly higher DMF values, which may suggest the immune system response to cariogenic bacteria.

3. Improper dietary and oral hygiene habits significantly affect greater caries intensity in pre-school children. Thus, the children's parents/guardians require constant pro-health education in this respect.

4. The decrease in immunoglobulin A in saliva after a series of fluoridation procedures may possibly account for a decrease in the number of bacteria due to cariostatic effect of fluoride and as a result it may also be responsible for lower immune system response in relation to the level of s-IgA.