

doi : 10.52485/19986173\_2021\_3\_19  
УКД 616.314-002:612.015.6

Путнева А.С., Караваева Т.М., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н.,  
Мищенко М.Н., Максименя М.В., Терешков П.П.

## СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В СМЕШАННОЙ СЛЮНЕ У ЛИЦ С КАРИЕСОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ВИТАМИНА D

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 672000, г. Чита, ул. Горького, 39а*

**Цель исследования.** Оценить содержание антимикробных пептидов (кателицидина LL-37 и  $\alpha$ -дефензинов 1-3), липополисахарид-связывающего белка и свободной фракции трансформирующего ростового фактора бета-1 в смешанной слюне у лиц с кариесом на фоне различного статуса витамина D в организме.

**Материалы и методы.** В смешанной слюне у лиц с различной интенсивностью кариеса в зависимости от уровня активной формы витамина D в организме определяли концентрацию антимикробных пептидов – кателицидина LL-37 и  $\alpha$ -дефензинов 1-3, липополисахарид-связывающего белка методом ИФА, количество свободной фракции трансформирующего ростового фактора бета-1 – с помощью проточной цитофлуометрии. Содержание метаболита витамина D – 25(OH)D<sub>3</sub> в сыворотке крови оценивали методом хемилюминесцентного иммунного анализа (Access 2). Для статистической обработки результатов применялись непараметрические методы.

**Результат.** У лиц с кариесом содержание антимикробных пептидов – кателицидина LL-37 и  $\alpha$ -дефензинов 1-3 в слюне на фоне нормального уровня 25(OH)D<sub>3</sub> в организме увеличивается, а при недостатке активной формы витамина D – существенно снижается; количество LBP увеличивается при кариесе средней степени интенсивности и нормальном значении 25(OH)D<sub>3</sub>, а при высоких цифрах индекса КПУ, вне зависимости от уровня активной формы витамина D, концентрация этого белка снижается; величины TGF- $\beta$ 1 уменьшаются с усугублением интенсивности кариеса и дефицита 25(OH)D<sub>3</sub>.

**Заключение.** При кариесе (особенно, отягощенном дефицитом 25(OH)D<sub>3</sub>) наблюдаются значительные изменения в содержании растворимых пептидных соединений, участвующих в процессах защиты зуба от кариозных патогенов.

**Ключевые слова:** кариес, ротовая жидкость, пептиды, витамин D

*Putneva A.S., Karavaeva T.M., Fefelova E.V., Tsybikov N.N.,  
Mishchenko M.N., Maksimenya M.V., Tereshkov P.P.*

## CONTENT OF SOME ANTIMICROBIAL AND REGULATORY PEPTIDES IN MIXED SALIVA IN INDIVIDUALS WITH DENTAL CARIES DEPENDING ON VITAMIN D LEVEL

*Chita State Medical Academy, 39a, Gorky's street, Chita, Russia, 672000*

**The aim of the research** is to evaluate the content of antimicrobial peptides (cathelicidin LL-37 and  $\alpha$ -defensins 1-3), lipopolysaccharide binding protein (LBP) and free fraction of transforming growth factor beta-1 (Free Active TGF- $\beta$ 1) in mixed saliva in individuals with dental caries associated with different vitamin D status in the body.

**Materials and methods.** The concentration of antimicrobial peptides-cathelicidin LL-37 and  $\alpha$ -defensins 1-3, lipopolysaccharide binding protein in mixed saliva in individuals with different dental caries intensity depending on the active form of vitamin D level in the body is determined using the ELISA method, and the amount of free fraction of transforming growth factor beta-1 is determined using flow cytometry. The content of the vitamin D – 25(OH)D<sub>3</sub> metabolite in serum is evaluated by using the chemiluminescent immunoassay method (Access 2). Non-parametric methods were used for the statistical processing of the results.

**Results.** In individuals with dental caries, the content of antimicrobial peptides – cathelicidin LL-37 and  $\alpha$ -defensins 1-3 in saliva increases against the background of a normal level of 25(OH)D<sub>3</sub> in the body, and significantly decreases with the deficiency of the active form of vitamin D; the amount of LBP increases in

case of dental caries of moderate intensity and normal range of  $25(\text{OH})\text{D}_3$ , and with a high DMFT index the concentration of this protein decreases regardless of the level of the active form of vitamin D; the values of TGF- $\beta 1$  decrease with the increase of the dental caries intensity and the  $25(\text{OH})\text{D}_3$  deficiency.

**Conclusion.** In individuals with dental caries (especially, aggravated by  $25(\text{OH})\text{D}_3$  deficiency), significant changes are observed in the content of soluble peptide compounds involved in the processes of protecting the tooth from carious pathogens.

**Key words:** caries, oral fluid, peptides, vitamin D.

Учитывая бесспорность этиологического фактора возникновения кариеса зубов – кариесогенной микрофлоры, в современной концепции патогенеза данного состояния важная роль отводится нарушениям функционирования иммунологических механизмов полости рта [1].

Кариес зубов возникает тогда, когда микроорганизмы полости рта начинают разрушать минерализованные ткани эмали и дентина, затем проникают в мягкую соединительную ткань в пульпе зуба. Тем не менее, пульпа хорошо приспособлена для обнаружения и защиты от бактерий и их продуктов и задействует различные сложные защитные механизмы [2]. По периферии пульпы располагаются в несколько слоев одонтобласты, выстилающие пульповую камеру по направлению к дентину. Эти высокоспециализированные клетки не только образуют минерализованную ткань, но и выполняют иммунные функции: распознают патогены на ранней стадии кариеса, выделяют антибактериальные соединения, нейтрализуют бактериальные токсины. По мере того, как бактерии приближаются к пульпе, дополнительные типы клеток пульпы, включая фибробласты, стволовые и иммунные клетки, а также сосудистые и нейронные сети, вносят свой вклад в различные механизмы защиты [3, 4]. При бактериальном воздействии из дентина высвобождается трансформирующий фактор роста бета-1 (TGF- $\beta 1$ ), который вызывает накопление в слое одонтобластов незрелых дендритных клеток, положительных на HLA-DR, фактор XIIIa, CD68 и TbRII. Цитокин TGF- $\beta 1$  оказывает значительное действие на функцию одонтобластов, являясь мощным иммунодепрессантом и индуктором формирования межклеточного матрикса, играя тем самым важную роль в репаративном процессе дентина, регулируя пролиферацию, дифференцировку клеток [5].

Кроме того, в иммунном ответе против кариесогенных микроорганизмов принимают участие гуморальные факторы смешанной слюны, в состав которой входят разнообразные белки и антимикробные пептиды, выделяющиеся различными клетками ротовой полости. Это прежде всего эпителиальные клетки и фагоциты подслизистого слоя – в основном, нейтрофилы [6, 7, 8]. В слизистой оболочке полости рта также имеется специфическая лимфоидная ткань – Mucosa associated lymphoid tissue, с афферентными (индуктивными) и эфферентными (эффекторными) зонами [9].

Имеются данные, что кариес активно развивается на фоне недостатка витамина D [10]. Образовавшийся из витамина D кальцитриол является одним из основных гормонов, регулирующих фосфорно-кальцевый метаболизм и обеспечивающий минерализацию твердых тканей зубов [11]. Кроме того, данное биологически активное вещество обладает иммуномодулирующей функцией, в частности, способностью стимулировать выработку антимикробных пептидов, влиять на клетки иммунной системы [12, 13].

**Цель исследования:** оценить содержание антимикробных пептидов (кателицидина LL-37 и  $\alpha$ -дефензинов 1-3), липополисахарид-связывающего белка и свободной фракции трансформирующего ростового фактора бета-1 в смешанной слюне у лиц с кариесом на фоне различного статуса витамина D в организме.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 100 человек в возрасте от 19 до 23 лет без соматической патологии, здоровых на момент осмотра. Из них 40 человек с кариесом и нормальным уровнем активной формы витамина D ( $25(\text{OH})\text{D}_3 > 30$  нг/мл) в сыворотке крови были разделены на 2 группы в зависимости от интенсивности кариозного

процесса: 1 группа – 20 обследуемых со средней (индекс КПУ 4-8), 2 группа – 20 человек с высокой интенсивностью (индекс КПУ 9 и более) кариеса.

Аналогичным образом были сформированы две группы по 20 человек в каждой с кариесом и уровнем активной формы витамина D в сыворотке крови ниже нормы ( $25(\text{OH})\text{D}_3 < 30$  нг/мл): 3 группа – лица со средней интенсивностью процесса (индекс КПУ 4-8), 4 группа – лица с высокой интенсивностью (индекс КПУ выше 9).

Группу контроля составили 20 индивидуумов со средним индексом КПУ 1,5 (от 0 до 3) и уровнем  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в крови более 30 нг/мл.

Группы были сопоставимы по возрасту, полу, социальному статусу.

От всех участников исследования было получено добровольное информированное согласие на проводимое исследование. В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2013 – поправки).

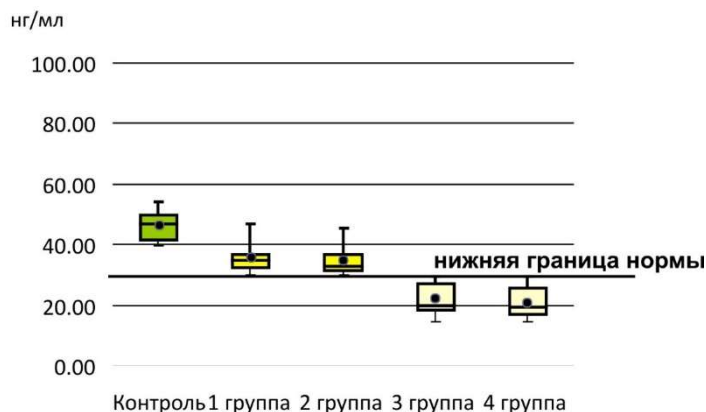
Исследование стоматологического статуса проводилось традиционными методами и инструментами по регламенту, описанному в национальном руководстве по терапевтической стоматологии и включало сбор жалоб, комплексный осмотр, индексную оценку кариеса и гингивита (КПУ, ICDAS II, УИК, Plaque Index PLI, индекс гигиены полости рта OHI-S по Green-Vermilion (1964), PMA (Parma, 1960), PBI (Muhleman, 1975).

Содержание метаболита витамина D –  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови проводилось методом хемилюминесцентного иммунного анализа (Access 2).

У всех лиц, принявших участие в исследовании, собирали ротовую жидкость, в которой определяли концентрацию антимикробных пептидов – кателицидина LL-37 и  $\alpha$ -дефензинов 1-3, липополисахарид-связывающего белка (LBP) методом ИФА с использованием наборов реактивов «Нусcult biotech», Нидерланды и Cloud-Clone Corp (USA). Для определения уровня свободной фракции трансформирующего ростового фактора бета-1 (Free Active TGF- $\beta$ 1) использовался набор мультиплексного анализа Human Immune Checkpoint Panel 1 фирмы Biolegend (США), результаты оценивали с помощью проточного цитофлуометра Cytotflex LX (Beckman Coulter, США)

Анализ полученных данных проводили с помощью программы IBM SPSS Statistics для Macintosh версии 23.0 (IBM Corp., Армонк, Нью-Йорк, США). Перед началом анализа вариационные ряды тестировались на нормальность, при помощи критерия Шапиро-Уилка. Для количественных признаков множественные сравнения выполняли с применением критерия Краскела-Уоллиса, при выявлении различий проводили попарное сравнение групп с помощью критерия Манна-Уитни. Результаты представлены в виде медианы (Me), первого и третьего квартилей. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Уровень  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови обследуемых лиц сформированных групп представлен на рисунке 1.



**Рис. 1.** Содержание  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови обследуемых лиц.

Примечание: • Медиана; □ 25-75%; ⊥ Диапазон значений

Анализ полученных данных показал, что у лиц со средней активностью кариеса при содержании 25(OH)D<sub>3</sub> более 30 нг/мл концентрация кателицидина была выше на 36,4% ( $p<0,001$ ) относительно контроля, однако в группе с высокой интенсивностью при нормальном уровне витамина D значения данного пептида не отличались ни от контрольных, ни от таковых в первой группе (Табл. 1). Тем не менее, в этой группе обследуемых выше контроля на 17,96% ( $p=0,009$ ) были концентрации дефензинов. В 3 и 4 группах (на фоне недостатка и дефицита витамина D) значения кателицидина были существенно снижены относительно контроля (на 41,94% ( $p<0,001$ ) и 47,19% ( $p<0,001$  соответственно) и относительно групп с кариесом и нормальным уровнем 25(OH)D<sub>3</sub> ( $p<0,001$ ). То же самое демонстрировали величины дефензинов, которые были ниже контрольных на 36,84% ( $p<0,001$ ) в 3 группе и на 38,16% ( $p<0,001$ ) – в 4 группе.

Таблица 1

Уровень противомикробных протеинов в ротовой жидкости у лиц в зависимости от интенсивности кариеса и содержания 25(OH)D<sub>3</sub>.

| Показатели/<br>Группы             | Контроль<br>КПУ от 0 до 3<br>(n=21) | 1 группа<br>КПУ от 4 до 8<br>(n=20) | 2 группа<br>КПУ от 9 до<br>14 (n=20) | 3 группа<br>КПУ от 4 до 8<br>(n=20) | 4 группа<br>КПУ от 9 до<br>14 (n=20) |
|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Кателицидин<br>LL-37 (нг/мл)      | 36,17<br>(18,45; 48,12)             | 49,34*<br>(45,12; 57,11)            | 41,26<br>(31,78; 51,99)              | 21,00*<br>(17,21; 23,12)            | 19,10*<br>(14,88; 26,12)             |
| $\alpha$ -дефензины<br>1-3, нг/мл | 684,2<br>(583,9; 798,9)             | 798,8<br>(674,5; 899,4)             | 807,2*<br>(684,2; 1023)              | 432,1*<br>(379,0; 569,1)            | 423,1*<br>(378,9; 567,2)             |
| LBP<br>(нг/мл)                    | 66,01<br>(54,17; 79,02)             | 94,17*<br>(54,32; 98,51)            | 21,97*<br>(18,59; 48,12)             | 55,19*<br>(34,56; 65,98)            | 16,43*<br>(13,87; 18,98)             |

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с контролем

Как кателицидины, так и дефензины проявляют широкую антибактериальную и противогрибковую активность, а также противовирусные свойства [6]. Будучи катионными пептидами, и те, и другие адсорбируются на отрицательно заряженных мембранах бактерий, это сопровождается последовательной агрегацией протеинов и их интеграцией в липидный бислой мембран, что в свою очередь приводит к формированию ионных каналов и пор в мембране, и в результате – к гибели чужеродной клетки [6]. Альфа-дефензины 1-3, продуцируемые только нейтрофилами, хотя и имеют слабую активность в отношении микрофлоры полости рта [14], проявляют свойства иммунных активаторов и модуляторов, вызывают индукцию определенных цитокинов и являются хемоаттрактантами для дендритных клеток и Т-лимфоцитов [15]. Кателицидин (LL-37), секретируемый клетками эпителия, нейтрофилами, моноцитами, Т-лимфоцитами [16], обладает иммуномодулирующим действием, которое заключается в стимуляции иммунных клеток: нейтрофилов, макрофагов, тучных клеток, дендритных клеток, моноцитов и эозинофилов. Имеются сообщения о способах влияния кателицидинов на нейтрофилы. Данные пептиды увеличивают продолжительность жизни нейтрофилов за счет экспрессии белков Bcl-XL и, таким образом, ингибируют ранний апоптоз LL-37, также они усиливают активность хемотаксиса и миграцию этих клеток за счет ингибирования экспрессии поверхностных рецепторов CXCR2 [17]. Одним из основных механизмов врожденного иммунитета является формирование внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET), а кателицидины способствуют образованию этих NET [16].

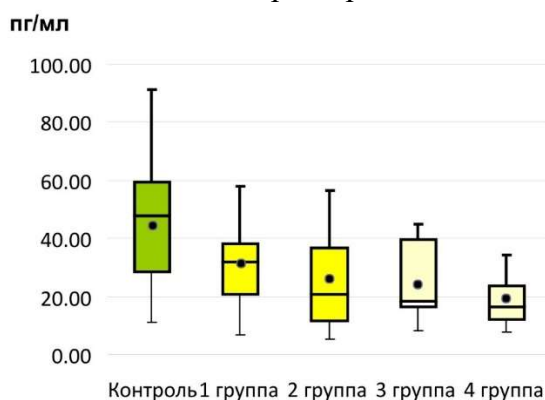
Исходя из имеющихся данных, можно сделать заключение, что на фоне нормальных значений витамина D в организме у пациентов с кариесом в ротовой жидкости повышается уровень противомикробных пептидов, возможно, как ответ на действие бактерий, вызывающих кариес. Падение же концентраций кателицидинов и дефензинов в группах с дефицитом витамина D, вероятно, свидетельствует о функциональной недостаточности эффекторных клеток врожденного иммунитета, основными из которых являются воспалительные макрофаги, именно они продуцируют катионные пептиды. Полученные результаты выглядят вполне логично, поскольку известно, что при бактериальной инфекции

на начальной стадии кальцитриол активирует дифференцировку моноцитов в макрофаги, индуцирует выработку IL-8, IL-1 $\beta$ , последний усиливает синтез антимикробных пептидов кателицидина и  $\beta$ -дефензина (DEFB4) [13]. Кроме того, известно, что связываясь с рецептором (VDR), витамин D способствует экспрессии генов *camp* и *defB2*, запускающих транскрипцию кателицидина и  $\beta$ -дефенсинов в других клетках.

Изменения значений еще одного обязательного участника врожденного иммунитета – липополисахарид-связывающего белка выглядели следующим образом: на фоне нормальных значений 25(OH)D<sub>3</sub> при средней интенсивности кариеса уровень данного белка был максимальным и превышал контроль на 36,4% ( $p=0,041$ ). В группе с высоким индексом КПУ значение этого же показателя было ниже контроля на 66,7% ( $p<0,001$ ), а также меньше, чем в первой группе на 76,7% ( $p<0,001$ ). У лиц с низким количеством 25(OH)D<sub>3</sub> и средней интенсивностью кариеса не наблюдалось роста LBP, что статистически значимо не отличалось и от контроля. В группе с низким уровнем витамина и высоким индексом КПУ значения LBP были ниже, чем в контроле на 75,1% ( $p<0,001$ ), но не отличались от таковых в группе лиц с нормальным содержанием 25(OH)D<sub>3</sub> и той же интенсивностью кариеса.

Липополисахарид-связывающий белок с высокой степенью аффинности связывается с липополисахаридами, липотейхоевой кислотой, липопептидами и пептидогликанами мембран бактерий, тем самым способен предотвращать адгезию микроорганизмов на поверхности клеток макроорганизма, что, с другой стороны, облегчает его дальнейшее соединение с CD14 моноклеарных макрофагов, с последующим TLR4/MD2-опосредованным эндоцитозом образованного протеинового комплекса [18]. LBP секретируется нейтрофилами и эпителиальными клетками слизистой оболочки, в том числе и в ротовой полости. Кроме того известно, что данный белок участвует в угнетении продукции провоспалительных цитокинов макрофагами [18]. Недостаточная секреция этого соединения у лиц с низким уровнем витамина D может привести к усугублению патологического процесса.

Как видно из рисунка 2, значения Free Active TGF- $\beta$ 1 во всех группах с кариесом были ниже контрольных: в первой группе – на 30,1% ( $p=0,040$ ), во второй – на 52,2% ( $p=0,009$ ), в третьей – на 58,7% ( $p<0,001$ ), и в четвертой – на 63,9% ( $p<0,001$ ). Хотя в 4-й группе содержание TGF- $\beta$ 1 было на 48,5% ( $p=0,005$ ) ниже, чем в первой, вероятно, интенсивность процесса деминерализации увеличивается по мере выраженности дефицита витамина D.



**Рис. 2.** уровень свободной фракции трансформирующего ростового фактора бета-1 (Free Active TGF- $\beta$ 1) в группах обследуемых лиц.

Примечание: • Медиана; □ 25-75%; ⊥ Диапазон значений.

Процесс образования репаративного дентина, формирование клеточных взаимодействий в комплексе дентин-пульпа происходит под регуляторным воздействием факторов роста. Известно, что в пульпе зуба имеется несколько изоформ трансформирующего фактора роста (TGF), которые экспрессируются одонтобластами, макрофагами, Т- и В-лимфоцитами пульпы зуба на поверхности плазматической мембраны клеток, либо связываются с межклеточным матриксом [5]. Предполагается, что физиологическая функция TGF- $\beta$  в зрелых одонтоблестах связана с образованием вторичного дентина, а также с

деградацией матрикса при повреждении зубов. Одонтобласты под влиянием TGF- $\beta$ 1 синтезируют коллаген III типа. Вероятно, TGF- $\beta$ 1 принимает участие и в антимикробной защите зуба, хотя этот механизм до конца не понятен. При повреждении пульпы TGF- $\beta$ 1 стимулирует миграцию защитных и одонтобластоподобных клеток в зону повреждения. При попадании в зону воспаления TGF- $\beta$ 1 превращается в активную молекулу и стимулирует процессы пролиферации и дифференцировки мезенхимальных клеток пульпы в одонтобласты, а при уменьшении его синтеза наблюдается некроз и апоптоз клеток пульпы [5].

Таким образом, при кариесе (особенно, отягощенном дефицитом 25(OH)D<sub>3</sub>) наблюдаются значительные изменения в содержании растворимых пептидных соединений, участвующих в процессах защиты зуба от кариозных патогенов. В связи с этим дальнейшие детальные исследования способности дентино-пульпарного комплекса и мукозального иммунитета ответить на кариозный раздражитель, даже на самой начальной стадии его прогрессирования, являются весьма актуальными.

**Вывод.** У лиц с кариесом содержание антимикробных пептидов – кателицидина LL-37 и  $\alpha$ -дефензинов 1-3 в слюне на фоне нормального уровня 25(OH)D<sub>3</sub> в организме увеличивается, а при недостатке активной формы витамина D – существенно снижается; количество LBP увеличивается при кариесе средней степени интенсивности и нормальном значении 25(OH)D<sub>3</sub>, а при высоких цифрах индекса КПУ, вне зависимости от уровня активной формы витамина D, концентрация этого белка снижается; величины TGF- $\beta$ 1 уменьшаются с усугублением интенсивности кариеса и дефицита 25(OH)D<sub>3</sub>.

#### **Конфликт интересов и вклад авторов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. Исследование не имело финансовой поддержки.

#### **Вклад авторов:**

Путнева А.С. – 40% (разработка концепции и дизайна исследования, анализ литературы по теме исследования, сбор клинического и биологического материала, написание текста статьи, утверждение окончательного варианта статьи).

Каравасева Т.М. – 20% (анализ и интерпретация данных, написание текста статьи, утверждение окончательного варианта статьи)

Фефелова Е.В. – 20% (написание текста статьи, научное редактирование статьи утверждение окончательного варианта статьи).

Цыбиков Н.Н. – 20% (разработка концепции и дизайна исследования, научное редактирование статьи и утверждение окончательного варианта статьи).

Мищенко М.Н. – 15 % (сбор клинического и биологического материала, утверждение окончательного варианта статьи).

Максименя М.В. – 15% (анализ литературы по теме исследования, статистическая обработка данных, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи).

Терешков П.П. – 15 % (научное и техническое редактирование статьи).

#### **Список литературы:**

1. Проходная В.А., Гайворонская Т.В., Ломова А.С. Прогнозирование рецидивного течения кариеса зубов у беременных женщин лабораторным методом оценки активности антимикробного иммунитета ротовой жидкости. Кубанский научный медицинский вестник. 2015. 2. 131-136.
2. Frenkel E.S., Ribbeck K. Salivary mucins protect surfaces from colonization by cariogenic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 2015. 81. 332-338.
3. Farges J.C., Alliot-Licht B., Baudouin C., Msika P., Bleicher F., Carrouel F. Odontoblast control of dental pulp inflammation triggered by cariogenic bacteria. Front. Physiol. 2013. 4. 326.
4. Galler K.M., Weber M., Korkmaz Y., Widbiller M., Feuerer M. Inflammatory response mechanisms of the dentine-pulp complex and the periapical tissues. Int. J. Mol. Sci. 2021. 22(3). 1480.

5. Takahiko Niwa, Yasuo Yamakoshi, Hajime Yamazaki, Takeo Karakida, Risako Chiba, Jan C.-C. Hu, Takatoshi Nagano, Ryuji Yamamoto, James P. Simmer, Henry C. Margolis, Kazuhiro Gomi. The dynamics of TGF- $\beta$  in dental pulp, odontoblasts and dentin. *Sci Rep*. 2018. 8(1). 4450.
6. Карпук И.Ю. Роль белков слюны в мукозальном иммунитете. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2014. 4. 79-93.
7. Лхасаранова И.Б., Пинелис Ю.И. Специфические и неспецифические факторы защиты полости рта в норме и при хроническом генерализованном пародонтите. *Забайкальский медицинский вестник*. 2018. 1. 152-163.
8. Bostanci N., Mitsakakis K., Afacan B., Bao K., Johannsen B., Baumgartner D., Müller L., Kotolová H., Emingil G., Karpíšek M. Validation and verification of predictive salivary biomarkers for oral health. *Sci. Rep*. 2021. 11. 6406.
9. Щубелко Р.В., Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е. Мукозальный иммунитет верхних дыхательных путей. *Иммунология*. 2018. 39(1). 81-88.
10. Deane S., Schroth R.J., Sharma A., Rodd C. Combined deficiencies of 25-hydroxyvitamin D and anemia in preschool children with severe early childhood caries: a case-control study. *Paediatr. Child. Health*. 2018. 23(3). e40-e45.
11. Ахполова В.О., Брин В.Б. Обмен кальция и его гормональная регуляция. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2017. 2. 38-47. [Akhplova V.O., Brin V.B. Obmen kal'tsiya i ego gormonal'naya regulyatsiya] *Zhurnal fundamental'noi meditsiny i biologii* – *Journal of fundamental medicine and biology*. 2017. 2. 38-47. (in Russ.)]
12. Bivona G., Agnello L., Ciaccio M. The immunological implication of the new vitamin D metabolism. *Cent. Eur. J. Immunol*. 2018. 43(3). 331-334.
13. Mak A. The impact of vitamin D on the immunopathophysiology, disease activity, and extra-musculoskeletal manifestations of systemic lupus erythematosus. *Int. J. Mol. Sci*. 2018. 19(8). pii: E2355.
14. Diamond D.L., Kimball J.R., Krisanaprakornkit S., Ganz T., Dale B.A. Detection of beta-defensins secreted by human oral epithelial cells. *J. Immunol. Methods*. 2011. 256. 65-76.
15. Fábíán T.K., 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.
16. Kahlenberg J.M., Kaplan M.J. Little peptide, big effects: the role of LL-37 in inflammation and autoimmune disease. *J. Immunol*. 2013. 15. 191-201.
17. Zohaib Khurshid, Mustafa Nasee, Faris Yahya I. Asiri, Maria Mali, Rabia Sannam Khan, Haafsa Arshad Sahibzada, Muhammad Sohail Zafar, Syed Faraz Moin, Erum Khan. Significance and diagnostic role of antimicrobial cathelicidins (LL-37) peptides in oral health. *Biomolecules*. 2017. 7(4). 80.
18. Kim S.J., Kim H.M. Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4/MD2 complex via LBP and CD14. *BMB Rep*. 2017 Feb. 50(2). 55-57.

### References:

1. Prohodnaja V.A., Gajvoronskaja T.V., Lomova A.S. Prediction of recurrent currents of tooth decay among pregnant women laboratory method evaluation of antimicrobial activity of immunity oral liquid. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2015. 2. 131-136. in Russian.
2. Frenkel E.S., Ribbeck K. Salivary mucins protect surfaces from colonization by cariogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol*. 2015. 81. 332-338.
3. Farges J.C., Alliot-Licht B., Baudouin C., Msika P., Bleicher F., Carrouel F. Odontoblast control of dental pulp inflammation triggered by cariogenic bacteria. *Front. Physiol*. 2013. 4. 326.
4. Galler K.M., Weber M., Korkmaz Y., Widbiller M., Feuerer M. Inflammatory response mechanisms of the dentine-pulp complex and the periapical tissues. *Int. J. Mol. Sci*. 2021. 22(3). 1480.
5. Takahiko Niwa, Yasuo Yamakoshi, Hajime Yamazaki, Takeo Karakida, Risako Chiba, Jan C.-C. Hu, Takatoshi Nagano, Ryuji Yamamoto, James P. Simmer, Henry C. Margolis, Kazuhiro Gomi. The dynamics of TGF- $\beta$  in dental pulp, odontoblasts and dentin. *Sci Rep*. 2018. 8(1). 4450.

6. Karpuk I.Yu. Role of proteins of the saliva for the mucosal immunity. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2014. 4. 79-93. in Russian.
7. Lkhasaranova I.B., Pinelis Yu.I. Specific and nonspecific protective factors of the oral cavity in health and in chronic generalized periodontitis. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2018. 1. 152-163. in Russian.
8. Bostanci N., Mitsakakis K., Afacan B., Bao K., Johannsen B., Baumgartner D., Müller L., Kotolová H., Emingil G., Karpíšek M. Validation and verification of predictive salivary biomarkers for oral health. *Sci. Rep.* 2021. 11. 6406.
9. Shchubelko R.V., Zuikova I.N., Shuljenko A.E. Mucosal immunity of the upper respiratory tract. *Immunologiya*. 2018. 39(1). 81-88. in Russian.
10. Deane S., Schroth R.J., Sharma A., Rodd C. Combined deficiencies of 25-hydroxyvitamin D and anemia in preschool children with severe early childhood caries: a case-control study. *Paediatr. Child. Health*. 2018. 23(3). e40-e45.
11. Akhpolova V.O., Brin V.B. Calcium exchange and its hormonal regulation. *Zhurnal fundamental'noj mediciny i biologii*. 2017. 2. 38-47. in Russian.
12. Bivona G., Agnello L., Ciaccio M. The immunological implication of the new vitamin D metabolism. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2018. 43(3). 331-334.
13. Mak A. The impact of vitamin D on the immunopathophysiology, disease activity, and extra-musculoskeletal manifestations of systemic lupus erythematosus. *Int. J. Mol. Sci.* 2018. 19(8). pii: E2355.
14. Diamond D.L., Kimball J.R., Krisanaprakornkit S., Ganz T., Dale B.A. Detection of beta-defensins secreted by human oral epithelial cells. *J. Immunol. Methods*. 2011. 256. 65-76.
15. Fábíán T.K., 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.
16. Kahlenberg J.M., Kaplan M.J. Little peptide, big effects: the role of LL-37 in inflammation and autoimmune disease. *J. Immunol.* 2013. 15. 191-201.
17. Zohaib Khurshid, Mustafa Nasee, Faris Yahya I. Asiri, Maria Mali, Rabia Sannam Khan, Haafsa Arshad Sahibzada, Muhammad Sohail Zafar, Syed Faraz Moin, Erum Khan. Significance and diagnostic role of antimicrobial cathelicidins (LL-37) peptides in oral health. *Biomolecules*. 2017. 7(4). 80.
18. Kim S.J., Kim H.M. Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4/MD2 complex via LBP and CD14. *BMB Rep.* 2017 Feb. 50(2). 55-57.