

## БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Путнева А.С., Максименя М.В., Караваева Т.М., Коцюржинская Н.Н., Цыбиков Н.Н.

### ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ MMP-9 И MMP-2 В СМЕШАННОЙ СЛЮНЕ У МОЛОДЫХ ЛИЦ С КАРИЕСОМ НА ФОНЕ РАЗЛИЧНОГО УРОВНЯ 25(OH) ВИТАМИНА D В ОРГАНИЗМЕ

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, 672000, Чита, Россия

*Изучено содержание MMP-9 и MMP-2 в ротовой жидкости у 105 человек в возрасте от 19 до 23 лет. Из них 42 человека были лица с кариесом и нормальным уровнем активной формы витамина D (25(OH)D >30 нг/мл) в сыворотке крови и 42 – с уровнем 25(OH)D <30 нг/мл. Контрольную группу составили 21 человек с низким индексом КПУ (1,5) и нормальным уровнем 25(OH)D в крови. Установлено, что при кариесе в смешанной слюне увеличивается уровень MMP-9, на фоне недостатка и дефицита 25(OH)D в организме содержание MMP-9 и MMP-2 существенно возрастает. Выявлены обратные корреляционные связи между уровнем 25(OH)D в сыворотке крови и величинами матриксных металлопротеиназ в слюне: заметные – с количеством MMP-9 и умеренные – с концентрацией MMP-2.*

**Ключевые слова:** ротовая жидкость; матриксные металлопротеиназы; 25(OH) витамин D; кариес.

**Для цитирования:** Путнева А.С., Максименя М.В., Караваева Т.М., Коцюржинская Н.Н., Цыбиков Н.Н. Особенности содержания матриксных металлопротеиназ MMP-9 и MMP-2 в смешанной слюне у молодых лиц с кариесом на фоне различного уровня 25(OH) витамина D в организме. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (6): 325-329. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-6-325-329>

**Для корреспонденции:** Караваева Татьяна Михайловна, ст. науч. сотр. лаб. клин. и эксперимент. биохимии и иммунологии НИИ мол. медицины, доц. каф. химии и биохимии; e-mail: [KaTany1@yandex.ru](mailto:KaTany1@yandex.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 17.12.2021

Принята к печати 31.01.2022

Опубликовано 20.06.2022

*Putneva A.S., Makximenya M.V., Karavaeva T.M., Kotsyurzhinskaya N.N., Tsybikov N.N.*

#### FEATURES OF THE CONTENT OF MATRIX METALLOPROTEINASES MMP-9 AND MMP-2 IN MIXED SALIVA OF YOUNG INDIVIDUALS WITH DENTAL CARIES AGAINST THE BACKGROUND OF DIFFERENT LEVEL OF 25(OH) VITAMIN D IN THE BODY

The Chita State Medical Academy, Healthcare Ministry of Russia, 672000, Chita, Russia

*The content of MMP-9 and MMP-2 in oral fluid of 105 individuals between the ages of 19 and 23 has been researched. Of these, 42 people are individuals with dental caries and normal level of the active form of vitamin D in serum (25(OH)D >30ng/mL) and 42 people – with 25(OH)D <30 ng/mL level. The control group was composed of 21 individuals with low DMFt index (1,5) and a normal level of 25(OH)D in blood. It has been established that the level of MMP-9 in mixed saliva increases against the background of dental caries, while the content of MMP-9 and MMP-2 increases significantly amid the lack and deficiency of 25(OH)D in the body. Inverse correlations between the 25(OH)D level in serum and the value of matrix metalloproteinases in saliva have been revealed: noticeable – with the amount of MMP-9 and moderate – with the concentration of MMP-2.*

**Key words:** oral fluid; matrix metalloproteinases; 25(OH) vitamin D; dental caries.

**For citation:** Putneva A.S., Makximenya M.V., Karavaeva T.M., Kotsyurzhinskaya N.N., Tsybikov N.N. Features of the content of matrix metalloproteinases MMP-9 and MMP-2 in mixed saliva of young individuals with dental caries against the background of different level of 25(OH) vitamin D in the body. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (6): 325-329 (in Russ). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-6-325-329>

**For correspondence:** Karavaeva T.M., Candidate of Medical Sciences., Senior Researcher of Laboratory of Clinical and Experimental Biochemistry and Immunology of Research Institute of Molecular Medicine, assistant professor of Department chemistry and biochemistry; e-mail: [KaTany1@yandex.ru](mailto:KaTany1@yandex.ru)

#### Information about authors:

Putneva A.S., <https://orcid.org/0000-0003-3225-1333>;  
Maximenya M.V., <https://orcid.org/0000-0001-6308-3411>;  
Karavaeva T.M., <https://orcid.org/0000-0002-0487-6275>;  
Kotsyurzhinskaya N.N., <https://orcid.org/0000-0003-0061-8014>;  
Tsybikov N.N., <http://orcid.org/0000-0002-0724-0352>.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 17.12.2021

Accepted 31.01.2022

Published 20.06.2022

**Введение.** Изучение состава слюны при патологических состояниях, прежде всего в полости рта, весьма актуально в настоящее время. Это связано с тем, что забор слюны неинвазивен, а определение концентрации веществ, находящихся в ней, активно используется для изучения патогенеза заболеваний, их ранней диагностики, оценки прогноза течения и эффективности лечения [1–5].

Самым распространенным недугом, с которым на протяжении жизни сталкивается до 98% населения, является кариес зубов [6–10]. Данная патология, способствующая формированию очагово-обусловленных заболеваний организма, признана мультифакторной [11]. В ряде научных работ отмечено, что кариес зубов чаще развивается на фоне недостатка витамина D (25(OH)D) [12]. Активная форма витамина D – гормон кальцитриол, кроме принадлежащей ему ключевой роли в минеральном обмене, осуществляет широкий ряд биологических функций [13–16]. Установлено, что существует около 900 генов, непосредственно или косвенно реагирующих на воздействие кальцитриола [17]. Имеются сведения, что витамин D может влиять и на выработку матриксных металлопротеиназ (ММП) – ферментов, вовлеченных в кариозный процесс [18–20].

Интерес к изучению ММП связан с новыми доказательствами того, что они катализируют гидролиз широкого спектра молекул, потенциально могут регулировать ряд биохимических реакций. Сложность функций этих энзимов в «протеазной сети» имеет решающее значение для многих физиологических и патологических процессов, включая иммунитет, воспаление, резорбцию костной ткани. Данные ферменты подвергаются каскадной активации и, помимо своих классических субстратов внеклеточного матрикса, расщепляют некоторые сигнальные молекулы, такие, как цитокины, хемокины и факторы роста, регулируя их биологические функции и/или биодоступность при стоматологических заболеваниях [21].

В связи с этим целью работы являются оценка изменения концентраций ММП в смешанной слюне у лиц с кариесом на фоне различного содержания 25(OH) витамина D в организме и выявление взаимосвязи между изученными показателями.

**Материалы и методы.** Были проанализированы образцы слюны, собранной у 105 человек – студентов ВУЗов в возрасте от 19 до 23 лет без соматической патологии и известным содержанием уровня 25(OH) витамина D в крови, который оценивали методом хемилюминесцентного иммунного анализа (Access 2). Степень интенсивности кариеса зубов оценивали при стоматологическом осмотре, рассчитывая индекс КПУз (К-кариес; П-пломба; У-удаленный). Были сформированы 5 групп, 1-я и 2-я группы (по 21 человеку в каждой) включали студентов с кариесом разной степени интенсивности и нормальным уровнем активной формы витамина D (25(OH)D >30 нг/мл) в сыворотке крови: 1-я группа – обследуемые с индексом КПУ от 4 до 8, 2-я группа – обследуемые с индексом КПУ более 9 (высокая интенсивность кариеса); 3-я и 4-я группы состояли из 21 пациента с кариесом и уровнем активной формы витамина D в сыворотке крови ниже нормы (25(OH)D <30 нг/мл): 3-я группа – лица со средней интенсивностью процесса (индекс КПУ 4-8), 4-я группа – лица с высокой интенсивностью (индекс КПУ выше 9). Группу контроля составили 21 человек со средним индексом КПУ 1,5 (от 0 до 3) и

уровнем 25(OH)D 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).

Слюну собирали с 8 до 9 ч утра натощак в стеклянную пробирку без предварительной стимуляции, очищали путем центрифугирования при  $10000 \times g$  в течение 5 мин, затем замораживали и после оттаивания снова очищали от муцина. Для определения уровня ММП-9 и ММП-2 использовался набор для мультиплексного анализа Human Vascular Inflammation Panel 1 (фирма Biologend, США), результаты оценивались с помощью проточного цитофлуометра Cytotflex LX (Beckman Coulter, США).

При проведении статистического анализа авторы руководствовались едиными требованиями для рукописей, подаваемых в биомедицинские журналы, и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Анализ нормальности распределения признаков проводился путем оценки критерия Шапиро-Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального, полученные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей: Me [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]. Сравнение количественных признаков выполняли с применением критерия Краскела-Уоллиса (H). При наличии статистически значимых различий с учетом поправки Бонферрони, проводилось попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни (U). Для определения корреляционных связей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (ρ). Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока. Во всех случаях  $p < 0,05$  считали статистически значимым.

**Результаты и обсуждение.** Значения индекса КПУ и его компонентов, а также содержание 25(OH)D, представлены в таблице, из которой видно, что уровень активной формы витамина у лиц с кариесом даже в 1-й и 2-й группах статистически значимо ниже, чем в контрольной. Доля удаленных зубов и число пораженных кариесом зубов в группах относительно невелики.

Содержание ММП в слюне представлены на рис. 1 и 2. Смешанная слюна включает в себя секрет слюнных желез, детрит полости рта, десневую жидкость, зубной ликвор, слущенный эпителий и лейкоциты, а при патологических состояниях – большое количество нейтрофилов, вырабатывающих целый ряд медиаторов воспаления и факторов повреждения тканей, поэтому происхождение матриксных металлопротеиназ в слюне неоднозначно, а их концентрация может зависеть от метода очистки слюны. ММП-9 в основном синтезируется нейтрофилами и хранится во внутриклеточных вторичных гранулах в виде профермента.

После стимуляции, в том числе после бактериального воздействия, активированные лейкоциты мигрируют в область воспаления и выделяют ММП-9 в виде латентной формы, которая локально активируется путем частичного протеолиза другими протеазами (эластазой, ММП-1) и миелопероксидазой. Помимо нейтрофилов, ММП-9 секретируется макрофагами, эпителиальными клетками и одонтобластами. ММП-2 прежде всего экспрессируется в фибробластах, а также синтезируется

**Индекс КПУ, его компоненты и содержание 25(ОН) витамина D в сыворотке крови у лиц обследуемых групп**

Показатель	Исследуемые группы					Тестовая статистика Df=4
	Контрольная группа (n=21)	Группы с нормальным уровнем 25(ОН)D		Группы с низким уровнем 25(ОН)D		
		1-я группа (n=21)	2-я группа (n=21)	3-я группа (n=21)	4-я группа (n=21)	
КПУ	1,0 [1,0; 1,7]	5,0* [4,5; 6,5]	9,5* [9,0; 11,0]	5,0* [4,6; 6,7]	9,5* [9,1; 11,5]	H=51,49 p<0,001
К (кариес)	0,0 [0,0; 0,0]	1,5* [1,0; 2,5]	2,0* [1,0; 4,0]	2,0* [1,0; 3,5]	2,5* [1,0; 3,5]	H=48,25 p<0,001
П (пломба)	1,0 [1,0; 1,7]	4,0* [3,0; 5,1]	7,0* [5,5; 8,0]	4,0* [4,0; 5,2]	7,5* [7,0; 8,3]	H=47,26 p<0,001
У (удаленный)	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,1]	0,0* [0,0; 0,2]	0,0* [0,0; 0,4]	H=7,91 p=0,02
Уровень 25 (ОН) витамина D (нг/мл)	47,2 [41,6; 50,2]	34,7* [32,2; 38,3]	32,8* [31,2; 39,1]	20,3* [18,4; 26,9]	19,3* [17,5; 25,4]	H=86,02 p<0,001

Примечание. \* – статистически значимые различия при попарном сравнении с группой контроля с помощью критерия Манна-Уитни, n – число обследуемых.

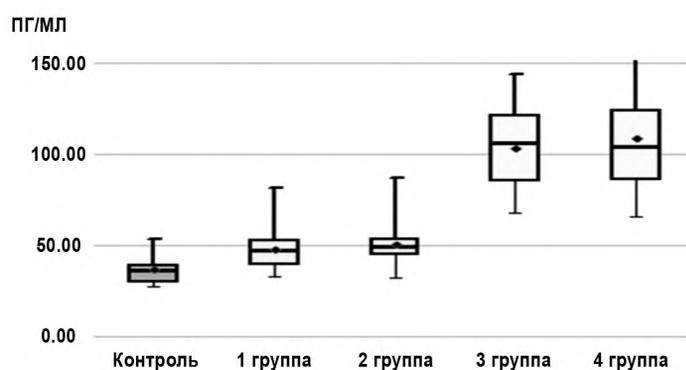


Рис. 1. Содержание ММР-9 в смешанной слюне в группах обследуемых лиц. Здесь и на рис. 2: • – медиана; ◼ – 25-75%; ⊥ – диапазон значений.

остеобластами, одонтобластами, нейтрофилами, макрофагами и моноцитами [22].

Оценка уровня металлопротеиназ в смешанной слюне показала, что в группах с кариесом и нормальным уровнем 25(ОН) витамина D регистрируется увеличение концентраций ММР-9 относительно контроля: в 1-й группе – на 29,2% ( $p<0,001$ ), во 2-й – на 36,1% ( $p<0,001$ ) (рис. 1). Разницы в зависимости от интенсивности кариеса в данных группах не наблюдалось.

Полученные результаты в этом случае, на наш взгляд, выглядят вполне логично. Литературные данные свидетельствуют о том, что эти литические ферменты играют роль в прогрессировании кариеса зубов, запуская деградацию белков дентина, который менее минерализован, чем эмаль и содержит 19-20% органического компонента, главным образом представленного коллагеном I типа [23]. ММР, присутствующие в дентине [24, 25], продуцируются одонтобластами и могут вовлекаться в формирование дентина. После минерализации коллагенового матрикса они остаются в неактивной проформе в кальцифицированном матриксе [26]. По мнению С. Chaussain и соавт. [27], каскад событий, вовлекающих эти протеазы в кариозный процесс, может быть следующим: деминерализация происходит под действием органических кислот, которые секретируются кариесогенными микроорганиз-

мами, ММР, в норме находясь в латентной форме как в слюне, так и в дентине, при низком значении рН активируются и деминерализованный матрикс в свою очередь подвергается их протеолитическому действию, что усугубляет кариозный процесс. С другой стороны, имеются исследования, указывающие на то, что и металлопротеиназы, секретируемые нейтрофилами, тоже вносят свой вклад в деградацию дентина [28, 29].

В группах пациентов с кариесом и недостатком/дефицитом 25(ОН) витамина D уровни ММР-9 были увеличены гораздо существеннее по сравнению с контрольной группой: в третьей группе – на 201,7% ( $p<0,001$ ), в четвертой – на 191,5% ( $p<0,001$ ) (см. рис. 1). Кроме того, в четвертой группе была повышена концентрация ММР-2 на 33,5% ( $p<0,001$ ) относительно контроля, а также на 27,0% ( $p=0,049$ ) относительно значений во второй группе (рис. 2).

Сравнительный анализ в группах с одинаковым индексом КПУ, но различным статусом 25(ОН) витамина D, показал, что недостаток/дефицит 25(ОН) витамина D сопровождается повышением концентрации ММР-9 (практически в два раза), которое не зависит от интенсивности кариеса, а также ростом уровня ММР-2 на 27,7% ( $p=0,049$ ), наблюдаемым в группе с высоким индексом КПУ.

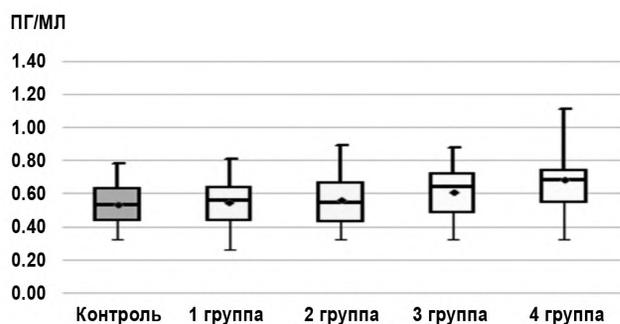


Рис. 2. Содержание MMP-2 в смешанной слюне в группах обследуемых лиц.

Проведенный корреляционный анализ выявил наличие заметной прямой связи между величинами MMP-9 и индексом КПУ ( $r=0,52$ ;  $p<0,001$ ) и заметной обратной связи между уровнем MMP-9 слюны и содержанием 25(OH) витамина D в сыворотке крови ( $r=-0,64$ ;  $p<0,001$ ). Между количеством MMP-2 и уровнем 25(OH) витамина D регистрировалась умеренная обратная связь ( $r=-0,40$ ;  $p=0,001$ ). Похожие взаимосвязи между концентрациями MMP-9 и 25(OH)D<sub>3</sub> обнаружены в исследовании Н. Wasse и соавт. [30]. Известно, что некоторые цитокины, например TNF- $\alpha$ , стимулируют избыточную продукцию MMP-9. Витамин D подавляет активацию фактора транскрипции NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), вызванную TNF- $\alpha$ , что устраняет пагубное действие TNF- $\alpha$  за счет угнетения образования MMP-9 [18].

Таким образом, в ходе проведенного исследования было установлено, что статус 25(OH) витамина D в организме влияет на уровень MMP в смешанной слюне при кариесе, что подтверждает значимость дефицита витамина D в патогенезе данного заболевания. Полученные результаты повышенного содержания MMP в ротовой жидкости молодых лиц с кариесом на фоне недостатка 25(OH) витамина D можно расценивать как фактор, приводящий в последующем к прогрессированию кариеса зубов. Выявленные изменения концентрации MMP при множественном кариесе могут служить дополнительными критериями, указывающими на активность течения заболевания. Кроме того, на наш взгляд, проведенное исследование дает основание для постановки вопроса оценки статуса витамина D в организме с целью своевременной терапевтической коррекции кариеса высокой степени интенсивности с включением препаратов витамина D в комплексное лечение.

#### Выводы:

1. При кариесе в смешанной слюне увеличивается уровень MMP-9. Недостаток/дефицит сывороточного 25(OH)D сопровождается более интенсивным ростом концентрации MMP-9 и MMP-2 в слюне при кариесе.

2. Концентрация 25(OH)D находится в обратной заметной корреляционной зависимости с величинами MMP-9 и в обратной умеренной зависимости с уровнем MMP-2.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бельская Л.В. Возможности применения слюны для диагностики онкологических заболеваний. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(6): 333-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-6-333-336>.

2. Колсанов А.В., Чаплыгин С.С., Соколов А.В., Власов М.Ю., Мьякишева Ю.В. Экспресс-методы определения показателей метаболизма в ротовой жидкости (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(8): 489-95.

3. Кочурова Е.В., Козлов С.В. Диагностические возможности слюны. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2014; 59(1): 13-5.

4. Кушлинский Н.Е., Соловых Е.А., Караогланова Т.Б., Баяр У., Герштейн Е.С., Трошин А.А. и др. Матриксные металлопротеиназы и воспалительные цитокины в ротовой жидкости больных хроническим генерализованным пародонтитом с различными конструкционными материалами. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012; 153(1): 72-6.

5. Цыбиков Н.Н., Пинелис Ю.И., Малежик М.С., Малежик Л.П. Выявление иммуноглобулинов, антител против белков теплового шока и цитокина IL-8 в слюне больных хроническими заболеваниями пародонта. *Медицинская иммунология*. 2010; 12(4-5): 421-4. DOI:10.15789/1563-0625-2010-4-5-421-424.

6. Токмакова С.И., Бондаренко О.В., Шевцова А.А., Сгибнева В.А., Жукова Е.С., Воблова Т.В. Оценка распространенности и интенсивности кариеса и некариозных поражений у взрослого населения города Барнаул. *Современные проблемы науки и образования*. 2018; 4: 226.

7. Леонтьев В.К. Кариес зубов – болезнь цивилизации. *Биосфера*. 2010; 3: 392-6.

8. Шадрин А.С., Плиева Я.З., Кушлинский Д.Н., Морозов А.А., Филипенко М.Л., Чанг В.Л., Кушлинский Н.Е. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии. *Альманах клинической медицины*. 2017; 45(4): 266-79. DOI: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279.

24. Македонова Ю.А., Поройская А.В., Чурсина Т.К., Венскель И.В. Морфологические особенности и роль дентин-матриксной металлопротеиназы в деградации дентинного матрикса (обзорная статья). *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2019; (4): 25-8.

25. Хабазде З.С., Генералова Ю.А., Шубаева В.С., Шерозия М.Г., Недашковский А.А., Негорелова Я.А. Актуальность применения хлороксидина в адгезивном протоколе в девитальных зубах. *Эндодонтия Today*. 2020; 18(4): 26-31. DOI: 10.36377/1683-2981-2020-18-4-26-31.

#### REFERENCES

1. Bel'skaya L.V. Possible applications of saliva for the diagnosis of cancer. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2019; 64(6): 333-6. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-6-333-336. (in Russian)

2. Kolsanov A.V., Chaplygin S.S., Sokolov A.V., Vlasov M.Yu., Myakishcheva Yu.V. Express methods for detection the indicators of metabolism in the oral liquid (a review). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2018; 63(8): 489-95. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-8-489-495. (in Russian)

3. Kochurova E.V., Kozlov S.V. The diagnostic possibilities of saliva. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2014; 59(1): 13-5. (in Russian)

4. Kushlinskii N.E., Solovykh E.A., Karaoglanova T.B., Boyar U., Gershtein E.S., Troshin A.A., Maksimovskaya L.N., Yanushevich O.O. Matrix metalloproteinases and inflammatory cytokines in oral fluid of patients with chronic generalized periodontitis and various construction materials. *Bulleten` eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2012; 153(1): 72-6. (in Russian)

5. Tsybikov N.N., Pinelis Yu.I., Malezik M.S., Malezik L.P. Detection of immunoglobulins, antibodies to heat-shock proteins and IL-8 cytokine in saliva from the patients with chronic periodontal diseases. *Meditsinskaya immunologiya*. 2010; 2(4-5): 421-4. DOI:10.15789/1563-0625-2010-4-5-421-424. (in Russian)

6. Bostanci N., Mitsakakis K., Afacan B., Bao K., Johannsen B., Baumgartner D., Müller L., Kotolová H., Emingil G., Karpišek M. Validation and verification of predictive salivary biomarkers for oral health. *Sci. Rep.* 2021; 11: 6406.

7. Tokmakova S.I., Bondarenko O.V., Shevtsova A.A., Sgibneva V.A., Zhukova E.S., Voblova T.V. Estimation of prevalence and intensity

- of caries and non-caries lesions in the adult population of Bar-naul. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2018; 4: 226. (in Russian)
8. Kazeminia M., Abdi A., Shohaimi S., Jalali R., Vaisi-Raygani A., Salari N., Mohammadi M. Dental caries in primary and permanent teeth in children's worldwide, 1995 to 2019: a systematic review and meta-analysis. *Head Face Med*. 2020; 16(1): 22. DOI: 10.1186/s13005-020-00237-z
  9. Pandey P., Nandkeoliar T., Tikku A.P., Singh D., Singh M.K. Prevalence of dental caries in the indian population: a systematic review and meta-analysis. *J. Int. Soc. Prev. Community Dent*. 2021; 11(3): 256-65. DOI: 10.4103/jispcd.JISPCD\_42\_21.
  10. Soltani M.R., Sayadzadeh M., Raeisi Estabragh S., Ghannadan K., Malek-Mohammadi M. Dental caries status and its related factors in iran: a meta-analysis. *J. Dent (Shiraz)*. 2020; 21(3): 158-176. DOI: 10.30476/DENTJODS.2020.82596.1024.
  11. Leontiev V.K. Dental caries as a civilization disease. *Biosfera*. 2010; 3: 392-6. (in Russian)
  12. 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. DOI: 10.1093/pch/pxx150.
  13. Naeini A.E., Moeinzadeh F., Vahdat S., Ahmadi A., Hedayati Z.P., Shahzeidi S. The effect of vitamin D administration on intracellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 levels in hemodialysis patients: a placebo-controlled, double-blinded clinical trial. *J. Res. Pharm. Pract*. 2017; 6(1): 16-20. DOI: 10.4103/2279-042X.200994.
  14. Umar M., Sastry K.S., Chouchane A.I. Role of vitamin D beyond the skeletal function: a review of the molecular and clinical studies. *Int. J. Mol. Sci*. 2018; 19(6): 1618. DOI: 10.3390/ijms19061618.
  15. Habib A.M., Nagi K., Thillaiappan N.B., Sukumaran V., Akhtar S. Vitamin D and Its potential interplay with pain signaling pathways. *Front Immunol*. 2020; 28(11): 820. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00820.
  16. Bivona G., Agnello L., Ciaccio M. The immunological implication of the new vitamin D metabolism. *Cent. Eur. J. Immunol*. 2018; 43(3): 331-4.
  17. Mak A. The impact of vitamin D on the immunopathophysiology, disease activity, and extra-musculoskeletal manifestations of systemic lupus erythematosus. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(8): pii: E2355. DOI: 10.3390/ijms19082355.
  18. Oh C., Kim H.J., Kim H.M. Vitamin D maintains E-cadherin intercellular junctions by downregulating MMP-9 production in human gingival keratinocytes treated by TNF- $\alpha$ . *J. Periodontal. Implant. Sci*. 2019; 49(5): 270-286. DOI: 10.5051/jpis.2019.49.5.270.
  19. Coussens A., Timms P.M., Boucher B.J., Venton T.R., Ashcroft A.T., Skolimowska K.H., et al. 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits matrix metalloproteinases induced by *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Immunology*. 2009; 127(4): 539-48. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2008.03024.x.
  20. Sundar I.K., Hwang J.W., Wu S., Sun J., Rahman I. Deletion of vitamin D receptor leads to premature emphysema/COPD by increased matrix metalloproteinases and lymphoid aggregates formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2011; 406(1): 127-33. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.02.011.
  21. Shadrina A.S., Plieva Ya.Z., Kushlinskiy D.N., Morozov A.A., Filipenko M.L., Chang V.L., Kushlinskii N.E. Classification, regulation of activity, and genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in health and disease. *Almanakh klinicheskoy meditsiny*. 2017; 45(4): 266-79. DOI: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279. (in Russian)
  22. Cortes-Vieyra R., Rosales C., Uribe-Querol E. Neutrophil functions in periodontal homeostasis. *J. Immunol. Res*. 2016; 10: 1396106. DOI:10.1155/2016/1396106.
  23. Mazzoni A., Tjäderhane L., Checchi V., Di Lenarda R., Salo T., Tay F.R., Pashley D.H., Breschi L. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J. Dent. Res*. 2015; 94(2): 241-51. DOI: 10.1177/0022034514562833.
  24. Makedonova Yu.A., Poroykaya A.V., Chursina T.K., Venskel I.V. Morphological features and role of dentine matrix metalloproteinases in the degradation of the dentinal matrix. *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2019; (4): 25-8. (in Russian)
  25. Khabadze Z.S., Generalova Yu.A., Shubaeva V.S., Sheroziia M.G., Nedashkovsky A.A., Negorelova Ya.A. The relevance applying in the adhesive protocol in devital teeth. *Endodontiya Today*. 2020; 18(4): 26-31. DOI: 10.36377/1683-2981-2020-18-4-26-31. (in Russian)
  26. Femiano F., Femiano R., Femiano L., Jamilian A., Rullo R., Perillo L. Dentin caries progression and the role of metalloproteinases: an update. *European Journal of Paediatric Dentistry*. 2016; 17(3): 243-7.
  27. Chaussain-Miller C., Fioretti F., Goldberg M., Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J. Dent. Res*. 2006; 85(1): 22-32. DOI: 10.1177/154405910608500104.
  28. Anshida V.P., Kumari R.A., Murthy C.S., Samuel A. Extracellular matrix degradation by host matrix metalloproteinases in restorative dentistry and endodontics: An overview. *J. Oral. Maxillofac. Pathol*. 2020; 24(2): 352-60. DOI: 10.4103/jomfp.JOMFP\_34\_20.
  29. Gitalis R., Zhou L., Marashdeh M.Q., Sun C., Glogauer M., Finer Y. Human neutrophils degrade methacrylate resin composites and tooth dentin. *Acta Biomater*. 2019; 88: 325-31. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.02.033.
  30. Wasse H., Cardarelli F., De Staercke C., Hooper C., Veledar E., Guessous I. 25-hydroxyvitamin D concentration is inversely associated with serum MMP-9 in a cross-sectional study of African American ESRD patients. *BMC Nephrol*. 2011; 12: 24. DOI: 10.1186/1471-2369-12-24.