

*На правах рукописи*



Путнева Александра Сергеевна

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ D-ГИПОВИТАМИНОЗА В  
НАРУШЕНИИ ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА И РАЗВИТИИ  
КАРИЕСА**

**3.3.3. Патологическая физиология  
(медицинские науки)**

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

ЧИТА – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Цыбиков Намжил Нанзатович**

**Официальные оппоненты:**

**Савченко Андрей Анатольевич** – доктор медицинских наук, профессор. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» Министерства науки и высшего образования РФ, заведующий лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии, г. Красноярск

**Ушницкий Иннокентий Дмитриевич** – доктор медицинских наук, профессор. Медицинский институт Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» Министерства науки и высшего образования, заведующий кафедрой терапевтической, хирургической ортопедической стоматологии и стоматологии детского возраста, г. Якутск

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Владивосток

Защита состоится «20» сентября 2022 года в 12.00 на заседании диссертационного совета 21.2.077.01 (Д 208.118.02) при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, 672000, г. Чита, ул. Горького, 39 а

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России и на сайте <http://chitgma.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,

д.м.н., доцент

Мироманова Наталья Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность проблемы**

Несмотря на достижения в области профилактики и лечения, кариес зубов остается самым распространенным стоматологическим заболеванием в мире (Vos T., 2016). В различных регионах России он встречается у 60% - 98% населения (Разумова С.Н., 2019). Кариес связан с такими неинфекционными заболеваниями, как сердечно-сосудистые (Kim I.J., 2018, Kim K., 2020), заболевания желудочно-кишечного тракта и диабет, поскольку нормальное состояние полости рта – неотъемлемая часть общего состояния здоровья (Kim K., 2020).

Кариес зубов возникает, когда деминерализация твердых тканей зуба, вызванная продуктами метаболизма углеводов – кислотами, продуцируемыми микробиомой зубного налета, подавляет реминерализацию, обусловленную защитными факторами в ротовой полости. В конечном итоге за деминерализацией следует протеолитическое разрушение органических веществ тканей зуба и образуется полость (Anshida V.P., 2020).

Широкое распространение заболевания связано не только с изменением характера питания современного человека (Токмакова С.И., 2018), но и другими факторами риска, и на сегодняшний день остается потребность в выявлении этих патогенетических факторов, которые могли бы быть устранены за счет эффективных вмешательств. Особо актуальным это является для лиц молодого возраста, поскольку, в большинстве своем, еще не имея приобретенных хронических заболеваний, они служат индикаторной группой, характеризующей ситуацию здоровья полости рта всей популяции. Предполагается, что недостаток витамина D может быть одним из факторов риска развития кариеса зубов (Dodhia S.A., 2021).

### **Степень разработанности темы**

В ряде научных работ отмечено, что кариес зубов чаще развивается на фоне недостатка 25(ОН) витамина D (обычно количественно определяемый метаболит витамина D в крови) (Deane S., 2018). Имеются исследования, демонстрирующие наличие обратной корреляционной связи между 25-гидроксивитамином D в сыворотке крови и кариесом в детском возрасте (Vanherwegen A.S., 2017; Kim K., 2020), хотя другие отрицают наличие такой взаимосвязи (Johanna G., 2018).

Были предложены механизмы, с помощью которых витамин D повышает кариесорезистентность. Наиболее проработанный из них заключается в том, что активная форма витамина D (кальцитриол) является регулятором фосфорно-кальциевого гомеостаза, необходима для всасывания данных

элементов в кишечнике и их реабсорбции в почках. Во время нормального или положительного баланса кальция в организме кальцитриол обеспечивает минерализацию костей и твердых тканей зубов (Ахполова В.О, 2017). Имеются данные и о собственно антикариозной активности витамина D (Фирсова И.В., 2014). Кальцитриол вызывает геномные эффекты в одонтобластах (образование дентина) и амелобластах (образование эмали) посредством передачи сигналов через рецепторы (Zhang X., 2008). На сегодняшний день установлено, что существует около 900 генов, непосредственно или косвенно реагирующих на воздействие кальцитриола (Bikle D., Снопов С.А., 2014), поэтому, помимо принадлежащей ему ключевой роли в минеральном обмене, 1,25(OH)<sub>2</sub>D осуществляет широкий ряд биологических функций, касающихся и иммуномодуляции (Мак А., 2018). Кроме того, в лимфоцитах, моноцитах, макрофагах обнаружены рецепторы к активной форме витамина D (Hewison M., 2010). Поскольку этиологическим фактором возникновения кариеса зубов является повышенная нагрузка кариесогенной микрофлорой, которая зависит, в том числе, и от состояния иммунитета полости рта, то логично, что другой из механизмов повышения кариесорезистентности витамином D будет заключаться в усилении защитных реакций. Однако сообщения об изменениях в мукозальном иммунитете и в составе белков слюны на фоне недостатка 25(OH) витамина D весьма малочисленны (Ходжаева М. Ю., 2021). Между тем, проведенные популяционные исследования установили, что распространенность недостаточности витамина D на сегодняшний день достигает эпидемического уровня (Суплотова Л.А и соавт., 2001).

**Цель исследования:** выявить патогенетическую роль дефицита 25(OH) витамина D в изменениях мукозального иммунитета и развитии кариеса.

**Задачи исследования:**

1. Оценить содержание метаболита витамина D – 25(OH)D в крови у пациентов с кариесом различной интенсивности патологического процесса.
2. Определить уровень защитных белков слюны (секреторного IgA, кателицидина LL-37,  $\alpha$ -дефензины 1-3, LBP) у лиц с кариесом средней и высокой степени интенсивности на фоне различного содержания 25(OH) витамина D в организме.
3. Провести исследование в ротовой жидкости растворимых форм некоторых костимулирующих и коингибирующих молекул (B7.2, CTLA-4, PD-1, Tim-3, LAG-3) у лиц с кариесом различной степени интенсивности при нормальном содержании 25(OH) витамина D и на фоне недостатка/дефицита витамина D.
4. Изучить содержание белков, участвующих в процессах реализации им-

мунного ответа полости рта (Free Active TGF- $\beta$ 1, IGFBP-4, ICAM-1, MMP-9, MMP-2) у лиц с кариесом в зависимости от степени его интенсивности и от статуса 25(OH) витамина D в организме.

5. На основе регрессионного анализа и выявленных корреляционных взаимоотношений между изученными лабораторными и клиническими показателями установить основные патогенетические механизмы развития кариеса высокой степени интенсивности при дефиците и недостатке витамина D.

### **Научная новизна**

Впервые описаны закономерности изменений содержания защитных белков, растворимых форм костимулирующих и коингибирующих молекул, компонентов иммунной системы и MMP-9, MMP-2 в смешанной слюне при кариесе в зависимости от степени интенсивности и на фоне различного статуса 25(OH) витамина D в организме. Впервые выявлены существенные сдвиги в содержании растворимых форм костимулирующих и коингибирующих молекул в слюне у лиц с кариесом на фоне недостатка витамина D, характеризующиеся однотипной направленностью при средней и высокой степени интенсивности кариеса, а именно снижением уровня костимулирующей молекулы B7.2 и коингибирующих молекул PD-1, Tim-3, LAG-3.

Впервые показаны разнонаправленные изменения факторов иммунитета в ротовой жидкости при кариесе на фоне различного статуса витамина D: при нормальных значениях витамина D изменения характеризуются повышением уровня противомикробных пептидов, костимулирующей молекулы B 7.2, а при недостатке витамина D – уменьшением содержания данных соединений и существенными сдвигами в изучаемых показателях – снижением уровня секреторного IgA, кателицидина LL-37,  $\alpha$ -дефензинов 1-3, LBP, Free Active TGF-b1, значительным повышением концентраций IGFBP-4, ICAM-1, MMP-9, MMP-2 в смешанной слюне. Впервые показано, что при высокой степени интенсивности кариеса глубина сдвигов в иммунологических показателях ротовой жидкости увеличивается.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты работы свидетельствуют об отличиях в реакциях мукозального иммунитета при кариесе у лиц с различным статусом витамина D в организме. Недостаток витамина D сопровождается более выраженными изменениями содержания иммунологических показателей в смешанной слюне, что особенно проявляется при высокой степени интенсивности кариозного процесса. Это указывает на участие D-гиповитаминоза в изменении ответа мукозального иммунитета и снижении кариесорезистентности. Полученные результаты расширяют как представления о патогенезе кариеса, так и могут

послужить основой для разработки мер профилактики и комплексной терапии кариеса. Назначение витамина D, вероятно, приведет к нивелированию обнаруженных нарушений в местном иммунитете, что может позволить включить его в комплексную терапию пациентов с кариесом.

Результаты работы могут быть использованы в лекционных и практических занятиях для студентов биологических и медицинских факультетов университетов и медицинских академий.

**Методология и методы исследования.** В основу методологии диссертационного исследования положены принципы доказательной медицины. Работа выполнена в дизайне одномоментного исследования в параллельных группах, методологической базой которого явилось использование методик общенаучного познания с приемами формальной логики, а также применение актуальных клинических, современных лабораторных технологий исследования, результаты которых обрабатывались обоснованными статистическими программами. Для лабораторных исследований использовались сыворотка крови и ротовая жидкость. Объект исследования – пациент с кариесом различной степени интенсивности. Предмет исследования – патогенетические взаимосвязи между дефицитом витамина D и изменениями показателей мукозального иммунитета при кариесе.

Выводы сформулированы с позиций доказательной медицины.

**Личный вклад автора** состоит в проведении анализа литературы по основным направлениям исследования, в совместном с научным руководителем составлении плана исследования, постановке цели, задач, определении клинических и лабораторных методов исследования. Аспирантом самостоятельно выполнены: клиническое обследование пациентов, расчет индексов, анкетирование, а также забор и транспортировка в лабораторию проб ротовой жидкости и крови, проведение статистической обработки результатов исследования. Автором самостоятельно проведена систематизация данных, их анализ, обобщены полученные результаты, сформулированы выводы и практические рекомендации.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Распространенность дефицита и недостаточности 25(ОН) витамина D существенно выше среди молодых лиц со средней и высокой интенсивностью кариозного процесса, чем у лиц с низкими значениями КПУ.
2. Кариес зубов сопровождается изменениями в содержании иммунологических показателей ротовой жидкости, зависящими от степени тяжести кариозного процесса. На фоне дефицита/недостатка 25(ОН) витамина D изменения иммунологических показателей более выражены, некоторые из

них разнонаправлены с таковыми при нормальном уровне витамина D.

3. Изменения мукозального иммунитета патогенетически связаны с недостатком витамина D, о чем свидетельствуют выявленные корреляционные связи между значениями индекса КПУ, 25(ОН) витамина D и содержанием белков в смешанной слюне, участвующих в процессах иммунного ответа полости рта.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов работы обусловлена системной проработкой проблемы, достаточным объемом исследуемой выборки, использованием современных лабораторных методов обследования пациентов, а также применением адекватных методов статистического анализа.

Результаты работы представлены в материалах XXVII международной научно-практической конференции «Наука России: Цели и задачи» (г. Екатеринбург, 2021), научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии» (г. Чита, 2020), XX межрегиональной научно-практической конференции «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 2021), научно-практической конференции «Актуальные проблемы патофизиологии» (г. Чита, 2021).

#### **Внедрение результатов в практику**

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедр терапевтической стоматологии с курсом пропедевтики стоматологических заболеваний, патологической физиологии, химии и биохимии ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России.

#### **Апробация результатов**

По теме опубликовано 8 печатных работ, из них 4 в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобнауки России, 2 из которых находятся в международной базе цитирования (SCOPUS).

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста. Стоит из введения, обзора литературы, характеристики методов исследования, главы собственных исследований, обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 57 отечественных и 117 иностранных источников. Работа иллюстрирована 15 таблицами, 9 рисунками.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

#### **Дизайн исследования и характеристика обследуемых групп**

Исследование включало в себя несколько этапов.

**В первом этапе** исследования участвовали 969 студентов в возрасте от 18 до 23 лет. С помощью анкетирования у них выясняли информацию о социально-демографических факторах, о поведении в отношении здоровья полости рта, характере питания, приеме витаминов и др. При стоматологическом осмотре оценивали степень интенсивности кариеса зубов, рассчитывая индекс КПУз (К-кариес; П-пломба; У-удаленный). Индекс значимого кариеса (SiC) был рассчитан как средний индекс КПУ в группе участников с наивысшим индексом КПУ. Точка отсечения КПУ составляла 8,9, и все студенты с индексом КПУ  $\geq 9$  были помещены в группу SiC. От всех обследуемых было получено добровольное информированное согласие на проводимое исследование. Распространенность кариеса у обследуемых молодых людей составила 95,9%, средний индекс КПУ – 5,29. В ходе работы студентов разделили на 3 группы в зависимости от индекса КПУ.

**В следующий этап** не были включены лица, принимающие препараты витамина D на момент исследования, и лица с гингивитом. В связи с этим во 2-м этапе исследования приняли участие 598 человек (200 с индексом КПУ от 0 до 3; 200 человек с индексом КПУ от 4 до 8 и 198 человек с КПУ  $\geq 9$ ), у которых в сыворотке крови было определено содержание 25(OH)D. Далее, учитывая клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых (Пигарова Е.А., 2016), выделены лица с нормальным содержанием витамина D (30-100 нг/мл), недостатком (20-29 нг/мл) и дефицитом (количество 25(OH)D < 20 нг/мл). На основании полученных данных был сделан вывод об отличительных особенностях содержания 25(OH)D в крови у пациентов с кариесом различной интенсивности.

**На третьем этапе** из осмотренных лиц в исследование были включены 105 человек. Из них 42 человека с кариесом и уровнем витамина D > 30 нг/мл, разделенных на 2 группы в зависимости от интенсивности кариозного процесса.

1 группа – 21 учащийся со средней интенсивностью кариозного процесса (индекс КПУ 4-8); 2 группа – 21 пациент с высокой интенсивностью кариозного процесса (индекс КПУ – 9 и более).

Также были сформированы 2 группы по 21 человеку в каждой с кариесом и уровнем 25(OH)D ниже нормы (< 30 нг/мл).

3 группа – лица со средней интенсивностью кариозного процесса; 4 группа – лица с высокой интенсивностью кариозного процесса.

Контрольную группу составили 21 студент с индексом КПУ от 0 до 3 и уровнем 25(OH)D в крови > 30 нг/мл.



Таблица 1

Индексы гигиены, КПУ, его компоненты, вязкость слюны и некоторые особенности питания в обследуемых группах

Показатель	Исследуемые группы					Тестовая статистика
	Контрольная группа (n=21)	Группы с нормальным уровнем 25(ОН)D		Группы с низким уровнем 25(ОН)D		
		1 группа (n=21)	2 группа (n=21)	3 группа (n=21)	4 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	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	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
Индекс гигиены	0,7 (0,5; 1,3)	0,8 (0,5; 1,2)	0,8 (0,4; 1,3)	0,9 (0,6; 1,2)	0,9 (0,6; 1,1)	H=1,03 p=0,37
Вязкость слюны (ЕД)	1,30 (0,99; 1,52)	1,35 (0,98; 1,55)	1,40 (1,01; 1,56)	1,46 (1,03; 1,50)	1,45 (1,04; 1,49)	H=1,03 p=0,41
Частота употребления сладостей (в неделю)	5,0 (4,5; 5,8)	7,0* (6,1; 7,5)	8,0* (5,6; 9,5)	5,5 (4,6; 5,7)	6,0 (4,7; 7,5)	H=8,78 p=0,012
Частота употребления молочных продуктов (в неделю)	5,0 (4,2; 7,0)	4,0 (3,0; 7,5)	2,5* (1,5; 7,0)	3,0* (1,5; 6,0)	3,0* (2,0; 4,0)	H=51,49 p<0,001

*Примечание:* \* статистически-значимые различия при попарном сравнении с группой контроля с помощью критерия Манна-Уитни

Группы были сопоставимы по возрасту, полу, социальному статусу. Критериями исключения из исследования явились: гингивит, соматические острые и хронические заболевания. Краткая характеристика групп представлена в таблице 1.

Уровень 25(ОН)D в крови был выше у тех лиц, кто указал в анкете, что активно загорает.

У обследуемых на 3-м этапе был проведен сбор слюны, в которой оценивался уровень пептидов, участвующих в иммунном ответе полости рта и/или регуляции данного процесса, а также вязкость слюны (по Николаевой Л.А., 2019).

#### **Методы стоматологического обследования и забор слюны**

Исследование стоматологического статуса проводилось традиционными методами по регламенту, описанному в национальном руководстве по

терапевтической стоматологии (Леус П.Л. 2008), и включало также индексную оценку гигиены полости рта ОНI-S по Green-Vermilion.

В зубной формуле были отмечены пломбированные, требующие лечения и отсутствующие зубы. Распространенность кариеса зубов определяли как процентное отношение лиц, имеющих хотя бы один из признаков кариеса, к общему числу обследованных лиц. Интенсивность кариеса зубов определяли индивидуально с помощью индекса КПУ. Для определения степени тяжести кариозного процесса использовано понятие интенсивность кариеса.

Забор ротовой жидкости проводили натощак с 8 до 9 часов и осуществляли путем сплёвывания в стеклянную пробирку, без предварительной стимуляции. Затем образцы очищали центрифугированием при  $10000 \times g$  в течение 5 мин, замораживали и хранили при температуре  $-300$  по С, в день анализа оттаивали и дополнительно очищали от муцина путем центрифугирования при  $3000 \times g$  в течение 5 мин.

### **Лабораторные методы исследования**

Метод определения общего 25(ОН) витамина D в крови – хемилуминесцентный иммунный анализ (Access 2).

Определение концентрации растворимых мембранных белков (B7.2 (CD86), Free Active TGF- $\beta$ 1, CTLA-4, PD-1, Tim-3, LAG-3), белков IGFBP-4 и SICAM-1, а также ферментов (MMP-2, MMP-9) в ротовой жидкости проводили методом ИФА, используя наборы для мультиплексного анализа Human Immune Checkpoint Panel 1 и Human Vascular Inflammation Panel 1 фирмы Biolegend (США). Результаты оценивали с помощью проточного цитофлуориметра CytoFlex. Количество кателицидина LL-37,  $\alpha$ -дефензина 1-3, sIgA, LBP оценивали в слюне методом ИФА с использованием наборов реактивов Hycult Biotechnology (Дания), ИФА-БЕСТ (Россия) и Cloud-Clone Corp. (USA) соответственно.

### **Статистические методы обработки данных**

Анализ результатов проводили с помощью программы IBM SPSS Statistics для Macintosh версии 23.0 (IBMCorp., Армонк, Нью-Йорк, США). Перед началом анализа вариационные ряды тестировались на нормальность при помощи критерия Шапиро-Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального, полученные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей. 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 использовали коэффициент корреляции Спирмена

(р). Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока. Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных исследования проводилось при помощи критерия  $\chi^2$  Пирсона. Во всех случаях  $p < 0,05$  считали статистически значимым. Для определения силы связи между фактором риска и исходом использовался критерий Крамера (V).

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Содержание метаболита витамина D – 25(OH)D в крови у пациентов с кариесом различной степени интенсивности патологического процесса**

Анализ уровня 25(OH)D у лиц с различной интенсивностью кариозного процесса показал, что в группе с индексом КПУ от 4 до 8 концентрации метаболита витамина были на 41,1% ( $p < 0,001$ ) меньше, а в группе с высоким уровнем КПУ – на 51,3% ( $p < 0,001$ ), чем в группе с низким КПУ (табл. 2).

Как видно из рисунка 1, у лиц с низким индексом КПУ в 65% случаев содержание 25(OH)D было в пределах нормы, недостаток метаболита витамина D наблюдался в 28% случаев, а дефицит – в 7%. У лиц со средним уровнем КПУ преобладал недостаток 25(OH)D.

Таблица 2

Уровень 25(OH)D в сыворотке крови у лиц с различной интенсивностью кариозного процесса (Ме (25-й; 75-й))

Показатели	Лица с низким индексом КПУ (0-3) (n=200)	Лица со средним уровнем КПУ (4-8) (n=200)	Лица с высоким уровнем КПУ ( $\geq 9$ ) (n=198)	Тестовая статистика df=2
Индекс КПУ	1,5 (0,9; 2,2)	5,0 (4,0; 7,5)	10,2 (9,5; 11,5)	H=50,83 P<0,001
25(OH)D (нг/мл)	45,43 (37,86; 49,90)	26,75* (19,60; 39,45)	22,11* (17,99; 31,21)	H=51,69 P<0,001



**Рис. 1.** Распространенность недостатка и дефицита 25(OH) витамина D среди лиц с различной интенсивностью кариозного процесса.

Среди лиц с высоким индексом КПУ недостаточность витамина D и его дефицит были довольно распространены. Только 19,2% всей когорты исследования имели нормальный уровень сывороточного 25(OH) витамина D. Таким образом, лица с более высоким индексом КПУ имели более низкие средние сывороточные уровни 25(OH) витамина D.

### Закономерности изменений содержания молекул, участвующих в мукозальном иммунитете у лиц с кариесом различной степени интенсивности в зависимости от статуса 25(OH) витамина D

Уровень 25(OH) витамина D в сыворотке крови обследуемых лиц сформированных групп представлен на рисунке 2.

Изучение показателей гуморального иммунитета в смешанной слюне у лиц с кариесом при нормальном сывороточном уровне 25(OH)D показало следующее. В 1-й группе (средняя интенсивность кариозного процесса) значения кателицидина LL-37 и LBP превышали содержание в контроле на 14,1% ( $p < 0,001$ ) и 42,7% ( $p = 0,041$ ) соответственно (рис 3). В группе лиц с высокой интенсивностью кариеса (2 группа) выше контроля на 18,0% ( $p = 0,009$ ) были концентрации  $\alpha$ -дефензинов 1-3. Содержание LBP, напротив, снижалось относительно контроля на 66,7% ( $p < 0,001$ ) и было ниже значений 1-й группы на 76,7% ( $p < 0,001$ ). Кроме того, во 2-й группе было зарегистрировано уменьшение на 9,3% ( $p < 0,001$ ) уровня секреторного IgA по сравнению с группой относительно здоровых лиц.

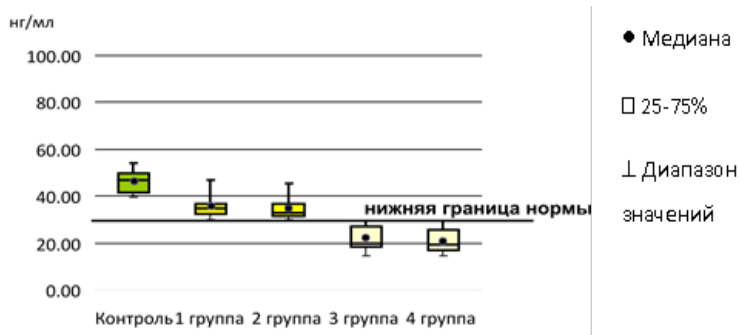
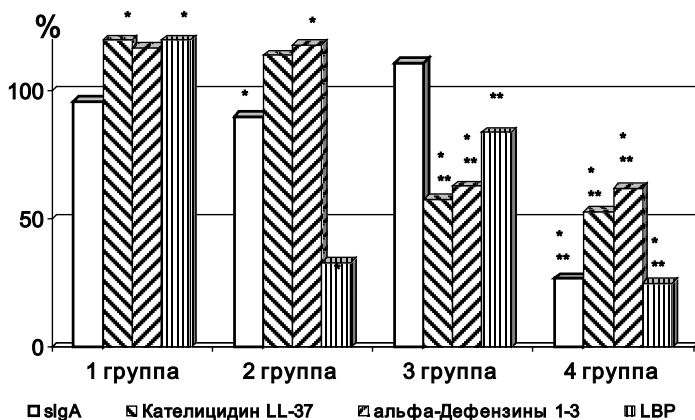


Рис. 2. Содержание 25(OH)D в сыворотке крови обследуемых лиц

У лиц 3 группы (с недостатком/дефицитом 25(OH) витамина D при средней интенсивности кариеса) меньше контроля были уровни противомикробных пептидов: кателицидина LL-37 – на 41,9% ( $p = 0,005$ ) и  $\alpha$ -дефензинов 1-3 на 36,8% ( $p < 0,001$ ).

При высоких значениях КПУ относительно контроля были снижены не только эти показатели (кателицидин LL-37 – на 47,2% ( $p<0,001$ ),  $\alpha$ -дефензины 1-3 – на 38,1% ( $p<0,001$ )), но и уровни секреторного IgA – на 73,1% ( $p<0,001$ ) и LBP – на 75,1% ( $p<0,001$ ). Причем в данной группе цифры sIgA и LBP были ниже, чем в третьей группе на 75,8% ( $p<0,001$ ) и на 70,2% ( $p<0,001$ ) соответственно.

Сравнительный анализ показателей гуморального иммунитета в ротовой жидкости при одинаковой интенсивности кариозного процесса, но при разных фоновых значениях сывороточного 25(ОН) витамина D выявил следующее. Уровень пептидов в 3-й группе был существенно ниже, чем в 1-й: для кателицидина LL-37 – на 57,4% ( $p<0,001$ ), для LBP – на 41,4% ( $p=0,006$ ), для концентрации  $\alpha$ -дефензинов 1-3 – на 45,9% ( $p<0,001$ ).



*Примечание:* \* - статистически-значимые различия при попарном сравнении с группой контроля с помощью критерия Манна-Уитни;

\*\* - значимые различия между группами с разным уровнем 25(ОН) витамина D.

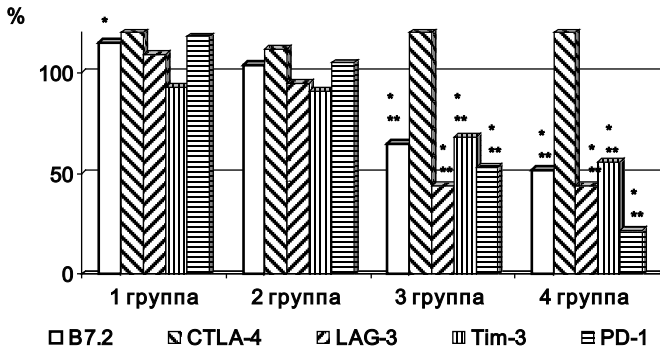
**Рис. 3.** Относительное содержание показателей врожденного иммунитета в ротовой жидкости у лиц со средней и высокой интенсивностью кариозного процесса на фоне различного уровня 25(ОН) витамина D (100% - контроль).

В группах с высокой интенсивностью кариеса, но разным статусом 25(ОН) витамина D различия наблюдались между значениями всех протеинов. На фоне низкого уровня 25(ОН)D (в 4 группе) были снижены концентрации секреторного IgA, кателицидина LL-37,  $\alpha$ -дефензинов, LBP относительно 2-й группы (рис. 3)

Анализ контрольных точек иммунитета полости рта показал, что в 1-й группе возросло количество В7.2 на 15,0% ( $p=0,019$ ) относительно контро-

ля. Во 2-й группе концентрация растворимой формы молекулы LAG-3 была ниже, чем в 1-й группе, на 12,6% ( $p=0,011$ ).

В группах с недостатком и дефицитом 25(OH) витамина D регистрировалось снижение относительно группы сравнения уровня как костимулирующих, так и коингибирующих молекул (рис 4). В группе со средней интенсивностью кариеса (3 группа) уровень В 7.2 уменьшился на 34,6% ( $p<0,001$ ), LAG-3 – на 55,8% ( $p<0,001$ ), Tim-3 – на 36,5% ( $p<0,001$ ), PD-1 – на 47,5% ( $p=0,036$ ). В группе с высокой интенсивностью кариеса (4 группа) эти же показатели были еще ниже.

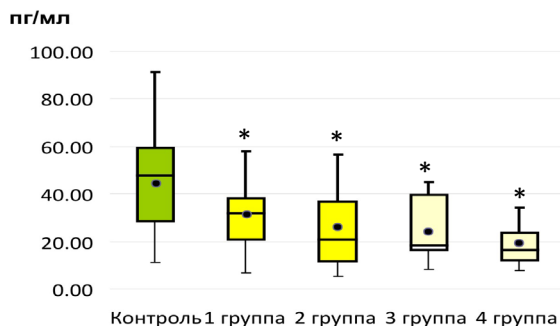


*Примечание:* \* - статистически-значимые различия с группой контроля;  
\*\* - значимые различия между группами с разным уровнем 25(OH) витамина D.

**Рис. 4.** Относительное содержание растворимых костимулирующих и коингибирующих молекул в ротовой жидкости у обследуемых групп (100% - контроль).

Уровень В7.2 отличался от контрольных значений на 48,0% ( $p<0,001$ ), LAG-3 – на 56,1% ( $p<0,001$ ), Tim-3 – на 44,4% ( $p<0,001$ ), PD-1 – на 78,2% ( $p<0,001$ ). При этом значения В 7.2, Tim-3 и PD-1 были ниже, чем у лиц 3-й группы, на 21,2% ( $p=0,004$ ), 12,0% ( $p=0,036$ ) и 58,5% ( $p=0,029$ ) соответственно. Самое главное, концентрации этих же молекул были ниже, чем у лиц с той же интенсивностью кариеса, но нормальным уровнем 25(OH) витамина D.

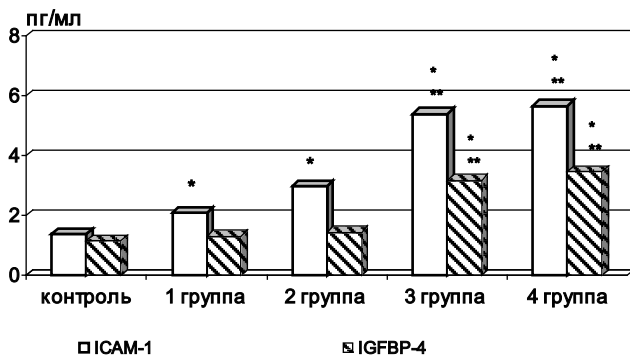
Анализ других белков, оказывающих влияние на иммунный ответ, показал, что при кариесе на фоне нормального уровня 25(OH)D снизилось количество Free Active TGF- $\beta$ 1 (рис. 5):



Примечание: \* - статистически-значимые различия с группой контроля.

**Рис. 5.** Значения Free Active TGF-β1 в группах.

Кроме того, значения ICAM-1 в 1-й группе увеличились на 50,4% ( $p=0,004$ ), во 2-й – на 115,1% ( $p<0,001$ ) (рис. 6). На фоне недостатка/дефицита 25(OH)D изменения имели ту же направленность, но были более существенны. Концентрации ICAM-1 в 3-й группе возросли относительно группы сравнения на 287,7% ( $p<0,001$ ), а в 4-й – на 307,2% ( $p<0,001$ ). Кроме того, в этих группах увеличилось содержание белка IGFBP-4; в 3-й группе его уровни превышали контроль на 153,2% ( $p<0,001$ ), в 4-й – на 174,0% ( $p<0,001$ ). В группах с недостатком/дефицитом 25(OH) витамина D цифры ICAM-1 и IGFBP-4 были практически в 2 раза выше, чем в группах с нормальным уровнем витамина и той же интенсивностью кариеса (рис. 6).

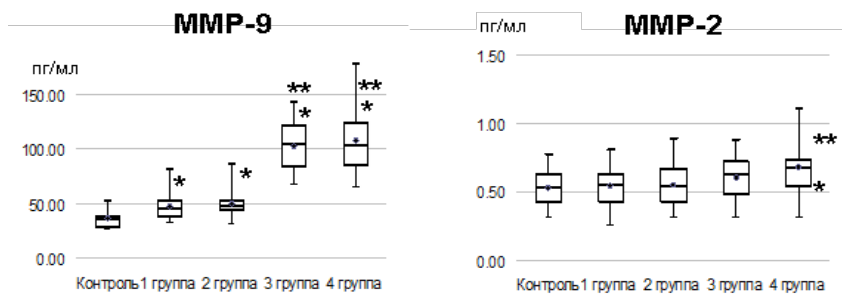


Примечание: \* - статистически-значимые различия при попарном сравнении с группой контроля с помощью критерия Манна-Уитни;

\*\* - значимые различия между группами с разным уровнем 25(OH) витамина D.

**Рис. 6.** Уровни растворимых форм ICAM-1 и IGFBP-4 в смешанной слюне у обследуемых групп.

Оценка уровня MMP в слюне показала, что в группах с кариесом и уровнем 25(OH)D >30 нг/мл регистрируется рост значений MMP-9 относительно контроля: в 1-й группе – на 29,2% (p<0,001), во 2-й – на 36,1% (p<0,001). Разницы в зависимости от интенсивности кариеса в данных группах не наблюдалось. В группах пациентов с кариесом и недостатком/дефицитом 25(OH) витамина D уровни MMP-9 были увеличены гораздо существеннее по сравнению с контролем: в 3-й группе – на 201,7% (p<0,001), в 4-й – на 191,5% (p<0,001). Кроме того, в 4-й группе была повышена концентрация MMP-2 как относительно контроля, так и относительно значений во 2-й группе.



*Примечание:* \* - статистически-значимые различия с группой контроля;  
\*\* - значимые различия между группами с разным уровнем 25(OH) витамина D

**Рис. 7.** Уровни MMP в ротовой жидкости обследуемых групп.

Таким образом, при кариесе, отягощенном недостатком/дефицитом 25(OH)D, наблюдаются значительные изменения в содержании пептидных соединений, участвующих в процессах защиты зуба от кариозных патогенов.

### **Корреляционные взаимоотношения между изученными лабораторными и клиническими показателями**

С помощью корреляционного анализа было установлено наличие заметной отрицательной связи ( $r=-0,60$ ;  $p<0,001$ ) между индексом КПУ и содержанием 25(OH) витамина D в организме. Взаимосвязи индекса КПУ с показателями ротовой жидкости характеризуются наличием отдельных заметных отрицательных связей с уровнем защитных белков: sIgA и LBP.

Умеренная обратная связь наблюдалась между индексом КПУ и уровнем B7.2 (CD86) ( $r=-0,31$ ;  $p=0,01$ ), а также между индексом КПУ и PD-1 ( $r=0,33$ ;  $p=0,01$ ). Также между индексом КПУ и уровнем Free Active TGF- $\beta$ 1 выявлено наличие умеренной обратной связи ( $r=-0,40$ ;  $p=0,001$ ). Прямые связи между индексом КПУ демонстрировали значения ICAM-1 ( $r=0,42$ ;



$p=0,001$ ) и MMP-9 ( $r=0,52$ ;  $p<0,001$ ).

Между значениями 25(OH) витамина D в крови и содержанием защитных белков в слюне регистрировались прямые связи (табл. 3): заметные – с уровнем белка кателицидина LL-37 и уровнем  $\alpha$ -дефензинов 1-3, умеренные – с уровнем белка LBP. Преимущественно заметные прямые связи наблюдались между содержанием 25(OH)D и уровнем костимулирующих и кинкибирующих молекул. Умеренная прямая связь зарегистрирована между значениями 25(OH)D и уровнем Free Active TGF-1 $\beta$ , а между метаболитом витамина и IGFBP-4 обнаружено наличие умеренной обратной связи. Заметные обратные связи с концентрацией 25(OH)D имели уровни белка ICAM-1 ( $r=-0,61$ ;  $p<0,001$ ) и уровни MMP-9 ( $r=-0,64$ ;  $p<0,001$ ). Со значениями MMP-2 концентрации 25(OH)D демонстрировали умеренную обратную связь.

Таблица 3

Оценка степени корреляции исследуемых параметров  
с уровнем 25(OH) витамина D (n=105)

Параметр	Коэффициент корреляции по Спирмену	Сила и направленность связи	Статистическая значимость
KПУ	-0,60	Заметная обратная	<0,001
Кателицидин LL-37	0,63	Заметная прямая	<0,001
$\alpha$ -дефензины 1-3	0,54	Заметная прямая	<0,001
LBP	0,41	Умеренная прямая	0,001
B7.2 (CD86)	0,56	Заметная прямая	<0,001
LAG-3	0,70	Заметная прямая	<0,001
Tim-3	0,62	Заметная прямая	<0,001
PD-1	0,58	Заметная прямая	0,001
Free Active TGF- $\beta$ 1	0,41	Умеренная прямая	0,001
IGFBP-4	-0,39	Умеренная обратная	0,01
ICAM-1	-0,61	Заметная обратная	<0,001
MMP-9	-0,64	Заметная обратная	<0,001
MMP-2	-0,40	Умеренная обратная	0,01

Таким образом, в ходе корреляционного анализа нами выявлено множество связей между значениями метаболита витамина D в крови и содержанием белков в смешанной слюне, свидетельствующих о роли недостатка витамина D в изменениях мукозального иммунитета.

На основании логистического регрессионного анализа было определено, что комплексная оценка уровня 25(OH) витамина D, секреторного IgA, LBP, MMP-9 позволит увеличить эффективность прогнозирования развития множественного кариеса.

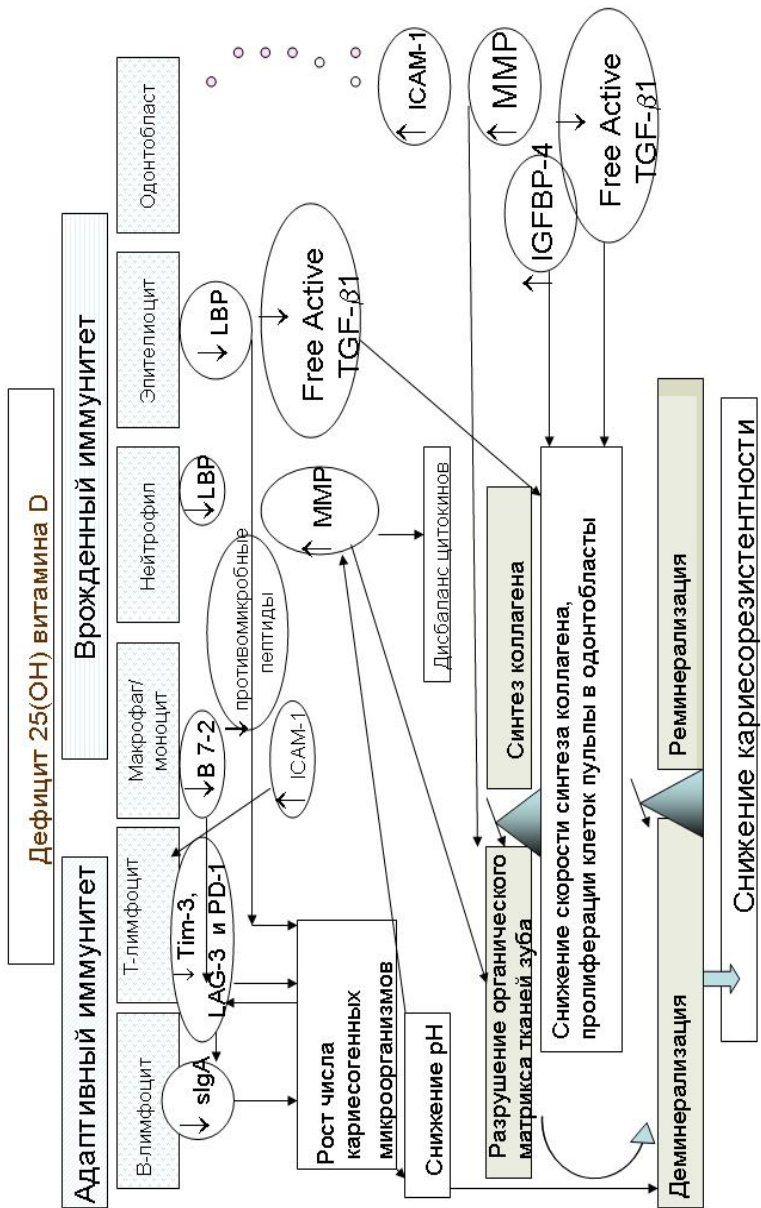
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На причастность недостатка/дефицита 25(ОН) витамина D к нарушению иммунитета полости рта, к снижению кариесорезистентности указывают наблюдаемые существенные количественные изменения белков в смешанной слюне и множественные корреляционные связи между значениями метаболита витамина, индексом КПУ и изучаемыми показателями. Учитывая данные литературы и полученные результаты, мы предлагаем схему, в которой отражено влияние D-гиповитаминоза на развитие кариеса (рис 8.), собственные данные отображены в округлых формах.

Недостаток витамина D приводит не только к снижению скорости трансляции кателицидина LL-37,  $\alpha$ -дефензинов и LBP, но и к снижению уровня sIgA. Уменьшение количества последнего может быть связано со снижением чувствительности В клеток к активационным сигналам или появлению аутоантител к sIgA (L. Rolf, 2014) на фоне уменьшения экспрессии коингибирующих молекул вследствие дефицита витамина D.

Уменьшение растворимых костимулирующих и коингибирующих молекул в слюне может свидетельствовать о снижении функциональной активности клеток иммунного ответа, что тоже приведет к росту патогенной микрофлоры. С другой стороны, поскольку одним из механизмов ускользания микрофлоры от иммунного ответа является его модуляция в сторону менее эффективного путем синтеза цитокиноподобных веществ, можно объяснить факт уменьшения числа косимулирующих и коингибирующих молекул увеличением числа патогенов (Топтыгина А.П., 2018). Уменьшение количества TGF- $\beta$ 1, стимулирующего миграцию защитных и одонтобластоподобных клеток в зону повреждения, снизит кариесорезистентность (Niwa T., 2018). Наблюдаемые значительные увеличения уровней ICAM-1 и IGFBP-4 на фоне дефицита витамина D, вероятно, связаны с усилением экспрессии данных белков. Белок IGFBP-4 подавляет действие факторов роста пульпы, в свою очередь это вызовет ингибирование роста клеток и подавление метаболических процессов. Регистрируемое увеличение уровня MMP 9 и 2 вызовет более активный протеолиз белков дентина.

Безусловно, настоящая схема представлений о последовательности событий в ротовой полости, ведущих к развитию кариеса при дефиците витамина D, является неполной, однако, проведенное нами исследование уже дает основание для постановки вопроса об определении статуса витамина D в организме и в случае его недостатка – обязательном включении препаратов витамина D в комплексную терапию кариеса высокой интенсивности.



**Рис. 8.** Схема событий в ротовой полости, приводящих к снижению кариесрезистентности на фоне недостатка/дефицита 25(OH) витамина D в организме

## ВЫВОДЫ

1. У лиц со средней степенью интенсивности кариеса (КПУ от 4 до 8) недостаток и дефицит 25(ОН) витамина D выявляется в 73% и 9,5% случаев, у лиц с высокой степенью интенсивности патологического процесса (КПУ от 9 до 14) – в 56,1% и 24,7% случаев соответственно; при низкой интенсивности кариеса (КПУ от 0 до 3) уровень 25(ОН) витамина D в 65% случаев находится в пределах нормы и лишь 35% случаях наблюдается его недостаток либо дефицит.
2. У лиц с кариесом и нормальным уровнем витамина D отмечается увеличение содержания защитных белков – кателицидина, дефензинов и рост количества LBP в слюне при средней интенсивности кариеса, а при высокой степени интенсивности патологического процесса – снижение концентрации LBP наряду с уменьшением содержания секреторного иммуноглобулина А относительно группы сравнения. На фоне низкого уровня 25(ОН) витамина D регистрируется: при средней интенсивности кариеса снижение кателицидина и дефензинов, а при высокой степени интенсивности – существенное снижение концентрации всех защитных белков ротовой жидкости.
3. При кариесе средней степени интенсивности на фоне нормального уровня 25(ОН) витамина D увеличивается уровень растворимых форм костимулирующих (B.7.2) молекул. Недостаток витамина D в организме сопровождается уменьшением уровня костимулирующих (B.7.2) и коингибирующих молекул (LAG-3, Tim-3, PD-1) в ротовой жидкости, которое в наибольшей степени проявляется при высокой степени интенсивности кариозного процесса.
4. На фоне нормального уровня витамина D кариозный процесс сопровождается уменьшением в ротовой жидкости количества Free Active TGF-b1 и увеличением концентраций ICAM-1 и MMP-9. При недостатке 25(ОН) витамина D эти изменения усугубляются при одновременном росте уровня IGFBP-4, не зависящем от степени интенсивности кариеса, и повышение содержания MMP-2 при кариесе высокой степени интенсивности.
5. Значение индекса КПУ у пациентов, страдающих кариесом зубов, связано с уровнем 25(ОН) витамина D в сыворотке крови ( $r=-0,6$ ), количеством защитных белков sIgA ( $r=-0,53$ ) и LBP ( $r=-0,56$ ), с концентрациями костимулирующей молекулы B7.2 (CD86) ( $r=-0,31$ ) и коингибирующей молекулы PD-1 ( $r=0,33$ ), фактора роста Free Active TGF-b1 ( $r=-0,40$ ), белка ICAM-1 ( $r=0,42$ ) и фермента MMP-9 ( $r=0,52$ ) слюны. Значения 25(ОН) витамина D в крови связаны с содержанием защитных белков в слюне: кателицидина LL-37 ( $r=0,63$ ), а-дефензинов 1-3 ( $r=0,54$ ), LBP ( $r=0,41$ ). Значения 25(ОН) витамина D в крови прямо связаны с количе-

ством костимулирующих и коингибирующих молекул, Free Active TGF-1b, IGFBP-4 ( $r=-0,39$ ), ICAM-1 ( $r=-0,61$ ) и MMP-9 ( $r=-0,64$ ).

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в ведущих научных рецензируемых журналах,  
определенных ВАК Минобрнауки России (4 статьи):

1. Определение некоторых показателей иммунитета и липопероксидации в ротовой жидкости у лиц с низким уровнем витамина D / Т.М. Караваева, Е.В. Фефелова, А.С. Путнева [и др.]. – DOI [10.18821/0869-2084-2019-64-12-753-757](https://doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-12-753-757) // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64, № 12. – С. 753–757.
2. Содержание некоторых противомикробных и регуляторных пептидов в смешанной слюне у лиц с кариесом в зависимости от уровня витамина D / А.С. Путнева, Т.М. Караваева, Е.В. Фефелова [и др.]. – DOI [10.52485/19986173\\_2021\\_3\\_19](https://doi.org/10.52485/19986173_2021_3_19) // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2021. – № 3. – С. 19–26. – URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-3-za-2021-god/soderzhanie-nekotoryh-protivomikrobnih-i-reguljatornyh-peptidov-v-smeshannoj-sljune-u-lic-s-kariesom-v-zavisimosti-ot-urovnja-vitamina-d> (дата обращения: дд.мм.гггг).
3. Взаимосвязь некоторых параметров мукозального иммунитета полости рта с уровнем витамина D у пациентов с множественным кариесом / А.С. Путнева, Т.М. Караваева, М.В. Максименя [и др.]. – DOI [10.20538/1682-0363-2021-4-32-38](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-32-38) // Бюллетень сибирской медицины. – 2021. – № 20 (4). – С. 32–38.
4. Изменение уровня биологически-активных веществ, участвующих в регуляции фосфорно-кальциевого обмена, как патофизиологический аспект развития кариеса / А.С. Путнева, М.Н. Мищенко, Т.М. Караваева [и др.]. – DOI [10.37903/vsgma.2021.4.22](https://doi.org/10.37903/vsgma.2021.4.22) // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2021. – Т.20, № 4. – С. 162-166.

Публикации в прочих изданиях:

1. Путнева А.С. Распространенность кариеса у студентов ЧГМА и их осведомленность о профилактической роли витамина D / А.С. Путнева, А.П. Овсепян // Медицина завтрашнего дня : материалы XX межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, 20-23 апреля 2021 г., г. Чита / ответственный за выпуск Д.М. Серкин. – Чита: РИЦ ЧГМА, 2021. – С. 60–61. – 1 CD-ROM. – Загл. с титул. экрана. – ISBN ISBN 978-5-904934-31-6.

2. Механизмы влияния витамина D на иммунитет / А.С. Путнева, М.В. Максименя, Т.М. Караваева [и др.] // Актуальные проблемы патофизиологии: научно-практическая конференция с международным участием, г. Чита, 28 окт. 2020 г. / под общей редакцией Н.В. Ларёвой. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2020. – С. 101–105. – 1 CD-ROM. – Загл. с титул. экрана.
3. Путнева А.С. Оценка уровня противомикробных пептидов в ротовой жидкости у лиц с кариесом на фоне различного статуса витамина D / А.С. Путнева, М.Н. Мищенко, Т.М. Караваева. – DOI 10.18411/sr-10-06-2021-06 // Наука России: Цели и задачи: сборник статей по материалам XXVII международной научно-практической конференции. Ч. 1, г. Екатеринбург, 10 июня 2021. – Екатеринбург: Л-Журнал, 2021. – С. 24–26.
4. Особенности содержания белка IGFBP-4 в смешанной слюне у молодых лиц с кариесом на фоне дефицита витамина D / Н.Н. Цыбиков, М.В. Максименя, А.С. Путнева, Е.В. Фефелова // Актуальные проблемы патофизиологии: научно-практическая конференция, 3 ноября 2021 г., г. Чита / под общей редакцией Н.В. Ларёвой. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2021. – С. 87–90. – 1 CD-ROM. – Загл. с титул. экрана.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

KPY	– индекс интенсивности кариозного процесса
V7.2 (CD86)	– мембранный белок суперсемейства иммуноглобулинов V7, продукт гена CD86
CTLA-4	– цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4
Free Active TGF-β1	– свободная фракция трансформирующего ростового фактора β-1
ICAM-1	– молекула межклеточной адгезии 1
IGFBP-4	– белок 4, связывающий инсулиноподобный фактор роста
Lag-3	– белок гена активации лимфоцитов-3
LBP	– липополисахаридсвязывающий белок
MMP	– матриксные металлопротеиназы
PD-1	– белок запрограммированной смерти клеток 1
SiC	– индекс значимого кариеса
Tim-3	– белок Т клеточного иммуноглобулина и муцинового домена-3

Подписано в печать 24.05.2022. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman  
Формат 60x84 1/16. Авт. л. 1,0 Тираж 100. Заказ № 58/2022.

Отпечатано в редакционно-издательском центре ЧГМА  
672000, Чита, ул. Горького, 39а.