УДК 616:31-02-001/-009-003
DOI https://doi.org/10.32782/2786-7684/2025-1-6

Клітинська Оксана Василівна,
доктор медичних наук, професор,
професор кафедри стоматології післядипломної освіти,
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0000-0001-9969-2833
SCOPUS ID: 57193120681
м. Ужгород, Україна

Лешко Мирослав Михайлович,
аспірант кафедри стоматології післядипломної освіти,
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0009-0005-5441-6292
м. Ужгород, Україна

Метаболом слини як інструмент діагностики в стоматології

Вступ. Карієс – етіологічно багатокомпонетний патологічний процес в твердих тканинах зубів, котрий виникає після їх прорізування та займає перше місце серед усіх захворювань, його поширеність досягає 100% серед населення всього світу. Важливу роль відіграють умови, пов'язані з раннім виявленням предикторів карієсу та створення умов для забезпечення зниження їх негативного впливу.

Мета дослідження – аналіз літературних джерел, котрий стосується ідентифікації метаболому слини, як перспективного інструменту діагностики в стоматології.

Матеріали та методи. Проведений пошук наукових досліджень, котрі містяться в базах даних PubMed, Scopus, Web of Science та Google Scholar та стосується ідентифікації метаболітів та білків слини, котрі пов'язані з карієсом зубів.

Результат. У дорослих та дітей між різними компонентами слини та карієсом зубів наявний зв'язок. Ідентифікація набору специфічних біомаркерів для населення із високим ризиком карієсу не лише важлива для ранньої діагностики, а й для запобігання та лікування карієсної хвороби. Згідно даних провідних науковців встановлено статистично значуще підвищення в слині рівнів альфа-амілази, кислого багатого на пролін протеїну-1, гістатину-5, лактопероксидази та муцину-1 було у пацієнтів з карієсом, тоді як у слині рівні карбоангідрази 6, протеїнази-3, і статерину спостерігалося суттєве збільшення у пацієнтів без карієсу.

Висновок. Дослідження метаболому слини є неінвазивним, доступним та економічно виправданим перспективним інструментом діагностики в стоматології, зокрема для виокремлення доклінічних предикторів виникнення та прогресування карієсу. Виявлені біомаркери доцільно перевірити у більших когортах і поздовжніх умовах, враховуючи вікові, гендерні відмінності та рівень гігієни ротової порожнини і дієтичні звички.

Ключові слова: біомаркери, карієс зубів, метаболом, метаболоміка, дитяча стоматологія, слина, стоматологічні пацієнти, предиктори утворення та прогресування карієсу.

Klitynska Oksana Vasylivna, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor at the Department of Dentistry of Postgraduate Education, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0001-9969-2833, Uzhhorod, Ukraine

Leshko Myroslav Michahlovych, Postgraduate Student at the Department of Dentistry of Postgraduate Education, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0009-0005-5441-6292, Uzhhorod, Ukraine

Metabolome of saliva as a diagnostic tool in dentistry

Caries is an etiologically multicomponent pathological process in the hard tissues of the teeth, which occurs after their eruption and takes the first place among all diseases, its prevalence reaches 100% among the population of the whole world. An important role is played by the conditions associated with the early detection of predictors of caries and the creation of conditions to ensure the reduction of their negative impact.

The aim of the study – analysis of literary sources, which concerns the identification of the salivary metabolome as a promising diagnostic tool in dentistry.

Materials and methods. A search was conducted for scientific studies contained in PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar databases and related to the identification of salivary metabolites and proteins associated with dental caries.

The results. In adults and children, there is a connection between various components of saliva and dental caries. Identification of a set of specific biomarkers for populations at high caries risk is not only important for early diagnosis, but also for caries prevention and treatment. According to the data of leading scientists, a statistically significant increase in the salivary levels of alpha-amylase, acidic proline-rich protein-1, histatin-5, lactoperoxidase, and mucin-1 was found in patients with caries, while the salivary levels of carbonic anhydrase 6, proteinase-3, and staterin significantly increased in patients caries free.

Conclusion. The study of the salivary metabolome is a non-invasive, affordable and economically justifiable promising diagnostic tool in dentistry, in particular for the identification of preclinical predictors of the occurrence and progression of caries. It is advisable to test the identified biomarkers in larger cohorts and longitudinally, taking into account age, gender differences and the level of oral hygiene and dietary habits.

Key words: biomarkers, dental caries, metabolome, metabolomics, pediatric dentistry, saliva, dental patients, predictors of caries formation and progression.

Вступ. Карієс – етіологічно багатокомпонетний патологічний процес в твердих тканинах зубів, котрий виникає після їх прорізування та займає перше місце серед усіх захворювань, його поширеність досягає 100% серед населення всього світу. Розроблені чіткі алгоритми профілактики карієсу як тимчасових так і постійних зубів в різних клінічних випадках, котрі базуються на застосуванні місцевих та загальних методиках і є варіабельними при різних системних захворюваннях, соціальних та екологічних умовах проживання індивідуума. Важливу роль відіграють умови, пов'язані з раннім виявленням предикторів карієсу та створення умов для забезпечення зниження їх негативного впливу [1].

Раннє виявлення захворювання є надзвичайно важливим не тільки для зменшення тяжкості захворювання та запобігання ускладненням, а й для підвищення рівня успішності терапії. Протягом останнього десятиліття слина широко вивчалася як потенційний діагностичний інструмент завдяки її легкості та неінвазивній доступності, а також великій кількості біомаркерів, таких як генетичний матеріал і білки. Ранній дитячий карієс – це термін, який використовується для опису карієсу зубів у дітей віком до 6 років. Оральні стрептококи, такі як Streptococcus mutans і Streptococcus sorbrinus, вважаються основними етіологічними агентами карієсу зубів у дітей. Інші бактерії, такі як Prevotella spp. і Lactobacillus spp., і грибок, тобто Candida albicans, пов’язані з розвитком і прогресуванням раннього дитячого карієсу.

Мета дослідження – аналіз літературних джерел, котрий стосується метаболому слини, як перспективного інструменту діагностики в стоматології.

Матеріали та методи. Проведений пошук наукових досліджень, котрі містяться в базах даних PubMed, Scopus, Web of Science та Google Scholar та стосується ідентифікації метаболітів та білків слини, котрі пов’язані з карієсом зубів.

Цікавим біологічним об'єктом для вивчення предикторів виникнення та прогресування карієсу є слина. Окрім визначенні фізико-хімічних параметрів слини, останні напрацювання провідних науковців в галузі стоматологічної профілактики важливе місце приділяють визначенню та ідентифікації молекул слини, котрі можуть надати уявлення про ризик виникнення карієсу та надати цінну інформацію для розробки моделей прогнозування карієсу. Низка досліджень присвячені пошуку універсального біомаркера карієсу, проте ці спроби виявилися невдалими через багатофакторну природу цього захворювання порожнини рота.

Робота Havsed K, Carda-Diéguez M, та співав. присвячена ідентифікації метаболітів та білків, котрі пов’язані з карієсом, у зразках слини підлітків, які мали карієс, і тих, які не мали карієсу. Авторами проведено кількісне визначення близько 100 молекул, користуючись методами метаболоміки ядерного магнітного резонансу, ELISA, Luminex або колориметричних аналізів, а також клінічних ознак, таких як накопичення зубного нальоту та ясенний індекс з урахуванням результатів анкетування щодо харчових вподобань та гігієни порожнини рота. Результати вкотре довели, що у групі респондентів, котрі належним чином відносяться до індивідуальної гігієни та не вживають солодкі газовані напої карієс зубів відсутній. Щодо виявлення сполук, котрі індивідуально забезпечують дискримінаційну здатність між особами, які мали та не мали карієс, їх виявлена незначна кількість, що можна пояснити низкою потенційних причин, які могли б лежати в основі цього відсутності зв’язку з карієсом, включаючи різницю в концентраціях метаболітів протягом дня, відсутність кореляції між концентраціями метаболітів у зубному нальоті та слині, або відмінності, пов’язані зі статтю, серед іншого. При об’єднання сполук за допомогою багатофакторного аналізу та випадкового моделювання лісу, встановлено, що комбінація з 3–5 сполук забезпечує хороші прогнозні моделі для ранкових (r=0,87) і особливо денних зразків (r = 0,93). Автори резюмували, що комбінація певних біомаркерів є ефективною, особливо у зразках після обіду. Для прогнозування ризику виникнення карієсу, виявлені біомаркери доцільно перевірити у більших когортах і поздовжніх умовах, враховуючи гендерні відмінності та рівень гігієни ротової порожнини і дієтичні звички [2].

Дослідження Laputková G, Schwartzová V, та співав. описують стан досліджень потенційного зв’язку між вмістом білка в слині людини та карієсом зубів, однак дотепер відсутні вичерпні докази цього твердження. Автори стверджують, що особливості повного протеома слини слугують етіологічним чинником виникнення карієсу на ранніх стадіях. Отже, на думку авторів протеоміка є перспективним напрямком майбутніх пошуків факторів, включаючи діагностику і профілактику в стоматологічній терапії карієсу [3].

Вивченню складу слини з метою діагностики аутоімунних захворювань (синдром Шегрена, муковісцидоз), серцево-судинних захворювань, діабету, ВІЛ, раку порожнини рота, а також основних стоматологічних захворювань, таких як карієсу та захворювань пародонту присвячена наукова праця Javaid MA, Ahmed AS, та співав. Описані діагностичні тести слини будуть доступні в стоматологічних кабінетах, так як вони є точними, ефективними, простими у використання та економічно доступними. Авторами доведена доцільність застосування останніх досягнень у біомаркерах слини для діагностики; поява чутливих і специфічних інструментів діагностики слини та встановлення визначених рекомендацій і результатів після суворого тестування дозволить використовувати діагностику слини для виявлення місцевих та системних захворювань у найближчому майбутньому [4].

Білки слини відіграють важливу роль у механізмах відновлення пошкоджених тканин і підтримці ротової порожнини здоров'я. В наукових працях Ahmad P, Hussain A. та співав. представлені результати систематичного огляду, присвяченого оцінці зв’язку між карієсом і білками слини шляхом порівняння показників у пацієнтів без карієсу (у 703 осіб 45,3%) та з активним діагностованим карієсом (у 848 осіб – 54,7%). Загальна кількість пацієнтів – 1551 особи. Встановлено статистично значуще підвищення в слині рівнів альфа-амілази, кислого багатого на пролін протеїну-1, гістатину-5, лактопероксидази та муцину-1 було у паці-

єнтів з карієсом, тоді як у слині рівні карбоангідрази 6, протеїнази-3, і статерину спостерігалося суттєве збільшення у пацієнтів без карієсу. Дані щодо рівнів імуноглобуліну А та загального білка в слині не були статистично значущі.

Автори стверджують, що рівень білків у слині є корисним біомаркером для діагностики карієсу, особливо альфа-амілази, білка-1, багатого проліном, гістатину-5, лактопероксидази, муцину-1, карбоангідрази 6, протеїнази-3 та статерин. Проте, їх діагностична цінність повинна бути підтверджена широкомасштабними проспективними дослідженнями [4].

Дослідження Pereira JL, Duarte D. та співав. стосувалися метаболому слини, як перспективного інструменту діагностики в стоматології та при системних захворювань з урахуванням статі, стадії розвитку зубощелепного апарату, наявності карієсі у когорти маленьких дітей. Стимульовану та нестимульовану слину 38 дітей піддавали аналізу за допомогою ядерно-магнітного резонансу. Оскільки не виявлено вірогідних відмінностей, була використана нестимульована слина, в якій візуалізували варіації рівнів 21 метаболіту, котрі включали амінокислоти та моносахариди, що свідчить про гідроліз білка та деглікозилювання та є доклінічною ознакою утворення карієсу [6].

Belda-Ferre P, Williamson J, та співав. представили перше метапротеомне дослідження біоплівки ротової порожнини з використанням різних підходів масспектрометрії, що дозволили кількісно оцінити певні пептиди у 17 пацієнтів з карієсом та без. Загалом ідентифіковано 7771 бактеріальний білок і 853 білка людини, котрі стали доступним білковим репертуаром зубного нальоту людини. Мікробні представники родів Actinomyces, Coryneybacterium, Rothia та Streptococcus складають 60–90% загального різноманіття. У пацієнтів без карієсу виявили значно більшу кількість L-лактатдегідрогенази та системи аргініндеімінази, які приймають участь у буферизації pH. Також виявлені значно вищі рівні білків у здорових людей, які приймали участь у синтезі екзополісахаридів, метаболізмі заліза та формуванні імунної відповіді. Авторами визначили мінімальний набір білків, котрий доцільно застосовувати для доклінічної діагностики карієсу, він включає сім бактеріальних і п'ять людських білкових функцій, які дозволяють визначити стан здоров'я досліджуваних осіб з орієнтовною специфічністю та чутливість понад 96% та висунули припущення, що майбутня перевірка цих потенційних біомаркерів у дослідженнях із більшим розміром вибірки може слугувати підставою для розробки діагностичних тестів ризику карієсу, які можна використовувати для профілактики карієсу [7].

Карієс зубів характеризується дисбіотичним зсувом на межі біоплівка-поверхня зуба, але вичерпні біохімічні характеристики біоплівки є мізерними. Heimisdottir LH, Lin BM, f співав. використали метаболоміку для визначення біохімічних особливостей над'ясенної біоплівки, пов'язаної з поширеністю та ступенем тяжкості карієсу в ранньому дитинстві. Для дослідження зібрали над'ясенний наліт, зібраний з лицьових/щічних поверхонь усіх молочних зубів у верхньому лівому квадранті 289 дітей, віком від 3 до 5 років, мешканці Північній Кароліні. Аналіз здійснювали з використанням ультраефективної рідинної хроматографії та мас-спектрометрії. Було ідентифіковано 503 метаболіти, котрі включали мікробні, екзогенні біохімічні речовини та білки макроорганізму. Виокремлені наступні: катехін, фукоза, епікатехін, імідазолу пропіонат, 9,10-DiHOME та *N* -ацетилневрамінат та визначені як найкращі та їх наявність може слугувати основою для розробки показників активності карієсної хвороби або оцінки ризик її виникнення [8].

Опису мікроорганізмів, котрі сприяють утворенню і прогресуванню карієсу у дітей та визначенню протеїнів слини, що захищають зуби, з їх потенціалом як функціональних біомаркерів для оцінки ризику раннього дитячого карієсу присвячені дослідження Hemadi AS, Huang R, та співав. Біомолекули в слині, головним чином білки, впливають на виживання ротових мікроорганізмів за допомогою багатьох вроджених захисних механізмів, таким чином модулюючи мікрофлору порожнини рота, тому білковий склад слини може бути сенситивним показником здоров'я зубів. Стійкість або сприйнятливість до карієсу може значною мірою корелювати зі змінами білкових компонентів слини. Автори стверджують, що певні мікроорганізми та білки слини з великою долею ймовірності можуть слугувати інформативними біомаркерами утворення та прогнозування карієсу. Ідентифікація біомаркерів для дітей із високим ризиком раннього дитячого карієсу не лише важлива для ранньої діагностики, а й для запобігання та лікування карієсної хвороби [9].

Науковці Mira A, Artacho A. та співав. використовуючи ELISA та колориметричні тести виміряли 25 сполук в осіб із карієсом та без в різні моменти утворення зубної біоплівки та час доби дійшли висновку, що для розробки надійного тесту ризику карієсу необхідно стандартизувати час відбору зразків слини та включити біомаркери з різних категорій. На певні сполуки впливають циркадні ритми, на інші – зрілість зубного нальоту, а інші демонструють постійні значення протягом 24 годин. Авторами виокремили шість компонентів, виміряних у певні моменти часу, які максимізують діагностичне розділення станів здоров'я та захворювань. Дві з шести вибраних сполук пов'язані з імунною компетентністю, ще дві – з адгезійною здатністю мікроорганізмів, а ще дві – з утворенням кислоти або буферизацією pH. Запропонований тест здатний забезпечити не лише загальну оцінку ризику карієсу, але й ймовірне біологічне походження цього ризику, а саме: імунний дисбаланс та/або схильність до адгезії карієсогенних мікроорганізмів та/або відсутність кислотної буферності. Після довготривалого тестування та перевірки у більших когортах це може відкрити можливість розробки профілактичного та персоналізованого лікування [10].

Оцінці біомаркерів ризику карієсу у дітей віком від 6 до 12 років присвячене дослідження, репрезентоване Angarita-Díaz MP, Simon-Soro A, та співав., зміст якого полягав у визначенні концентрації потенційних біомаркерів у дітей з карієсом та без нього. В нестимульованій слині кількісно визначено біомаркери в двох примірниках за допомогою комерційних наборів для імунофер-

ментного аналізу (ELISA) для визначення рівнів IgA, фібронектину, кателіцидину LL-37 і статерину, а також колориметричних тестів для виявлення форміату та фосфату. У дітей без карієсної хвороби встановлено вірогідно вищі концентрації стетарину, вищі середні рівні IgA та рівні LL-37 та нижча концентрація форміату порівняно з групою при карієсі. Отже, той факт, що ці сполуки були визначені як хороші маркери карієсу серед дорослих європейців, підкреслює складність ідентифікації універсальних біомаркерів, які можна застосувати до будь-якого віку або до різних груп населення [11].

Наступні науковці підтвердили, що виявлення прогностичних факторів карієсу в групі ризику є однією з передумов для розробки ефективних заходів профілактики карієсу. Пошукове дослідження Stojković B, Igić M, та співав. присвячене визначенню ролі соціально-демографічних характеристик, харчових та гігієнічних звичок, pH слини та антимікробних пептидів HNP-1, hBD-2 і LL-37 слини як потенційних предикторів ризику карієсу у дітей віком 11-13 років. Для дослідження 213 дітей віком 11-13 років проведено стоматологічний огляд, а члени їх сімей анкетовані. Наступним етапом стало визначення pH нестимульованої слини та рівнів пептидів HNP-1, hBD-2 і LL-37. Через 12 місяців реєстрували рівень захворюваності на карієс за 1 рік. Однофакторний логістичний регресійний аналіз визначив, що найбільш значущими незалежними предикторами ризику карієсу були: стать (жіноча) (OR=2,132, p=0,007), освіта матері (OR=1,986, p=0,020), pH слини (OR=0,270, p=0,043), індекс гігієни порожнини рота (OR=1,886, p=0,015) та щоденна кратність чищення зубів (OR=0,565, p=0,042). Резюме роботи було наступним: пептиди HNP-1, hBD-2 і LL-37 слини не мають значної прогностичної цінності; соціально-демографічні та гігієнічні параметри порожнини рота залишаються важливими провісниками карієсу в ранньому підлітковому віці, що свідчить про важливість механічного контролю біоплівки як ключового заходу для запобігання карієсу. Проте, потреба в ефективних біомаркерах ризику утворення та прогресування карієсу є актуальною, та потребує проведення подальших досліджень [11].

Дослідження Kim S, Song Y, та співав. Продемонстрували можливості створення метаболічних профілів слини для діагностики раннього дитячого карієсу з використанням ядерно-магнітного резонансу, зокрема ЯМР-спектроскопії. Були проведені багатофакторний та однофакторний аналізи для ідентифікації дискримінаційних метаболітів. Зразки слини дітей з карієсом характеризували підвищеними рівнями форміату, гліцерофосфохоліну та лактату та зниженими рівнями аланіну, гліцину, ізолейцину, лізину, проліну та тирозину; визначені рівні суттєво відрізнялися від контрольних та в залежності від тяжкості перебігу карієсу та корелювали з кількістю зруйнованих і пломбованих зубів або поверхонь. Дослідниками розроблена оптимальна панель біомаркерів метаболітів слини, що включає форміат, лактат, пролін і гліцин, їх поєднання демонструє кращу діагностичну ефективність, ніж один метаболіт, що вказує на те, що метаболічні ознаки слини відображають захворювання на карієс зубів, тим самим підкреслюючи важливість чітких метаболічних профілів слини як потенційних біомаркерів раннього дитячого карієсу [13].

Метою оглядової статті авторів Hegde MN, Attavar SH та ін. є створення систематичного огляду для опису ролі різних компонентів слини, таких як pH, буферна ємність, білки, електроліти, антиоксиданти, ферменти та мінерали, у виникненні карієсу зубів. Проведений пошук досліджень, котрі містяться в базах даних PubMed, Scopus, Web of Science та Google Scholar. Терміни MESH (Medical Subject Headings) були опублікованими між 2008 і 2018 роками та включені лише дослідження на людях. Отже, через електронну базу даних було отримано 150 статей, для аналізу відібрано 11, з яких у 7 було виявлено статистично значущу різницю показників у осіб з карієсом і без. Автори резюмували, що між різними компонентами слини та карієсом зубів наявний зв'язок [14].

Висновки. Дослідження метаболому слини є неінвазивним, доступним та економічно виправданим перспективним інструментом діагностики в стоматології, зокрема для виокремлення доклінічних предикторів виникнення та прогресування карієсу. Виявлені біомаркери доцільно перевірити у більших когортах і поздовжніх умовах, враховуючи вікові, гендерні відмінності та рівень гігієни ротової порожнини і дієтичні звички.

REFERENCES

1. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, Tagami J, Twetman S, Tsakos G, Ismail A. Dental caries. Nat Rev Dis Primers. 2017 May 25;3:17030. doi: 10.1038/nrdp.2017.30. PMID: 28540937.

2. Havsed K, Carda-Diéguez M, Isaksson H, Stensson M, Carlsson E, Jansson H, Malmodin D, Nord AB, Wickström C, Mira A. Salivary Proteins and Metabolites as Caries Biomarkers in Adolescents. Caries Res. 2024;58(6):573-588. doi: 10.1159/000540090. Epub 2024 Jul 17. PMID: 38972309; PMCID: PMC11651229.

3. Laputková G, Schwartzová V, Bánovčin J, Alexovič M, Sabo J. Salivary Protein Roles in Oral Health and as Predictors of Caries Risk. Open Life Sci. 2018 May 18;13:174-200. doi: 10.1515/biol-2018-0023. PMID: 33817083; PMCID: PMC7874700.

4. Javaid MA, Ahmed AS, Durand R, Tran SD. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. J Oral Biol Craniofac Res. 2016 Jan-Apr;6(1):66-75. doi: 10.1016/j.jobcr.2015.08.006. Epub 2015 Sep 9. PMID: 26937373; PMCID: PMC4756071.

5. Ahmad P, Hussain A, Carrasco-Labra A, Siqueira WL. Salivary Proteins as Dental Caries Biomarkers: A Systematic Review. Caries Res. 2022;56(4):385-398. doi: 10.1159/000526942. Epub 2022 Sep 20. PMID: 36116431.

6. Pereira JL, Duarte D, Carneiro TJ, Ferreira S, Cunha B, Soares D, Costa AL, Gil AM. Saliva NMR metabolomics: Analytical issues in pediatric oral health research. Oral Dis. 2019 Sep;25(6):1545-1554. doi: 10.1111/odi.13117. Epub 2019 May 30. PMID: 31077633.

7. Belda-Ferre P, Williamson J, Simón-Soro Á, Artacho A, Jensen ON, Mira A. The human oral metaproteome reveals potential biomarkers for caries disease. Proteomics. 2015 Oct;15(20):3497-507. doi: 10.1002/pmic.201400600. Epub 2015 Sep 22. PMID: 26272225.

8. Heimisdottir LH, Lin BM, Cho H, Orlenko A, Ribeiro AA, Simon-Soro A, Roach J, Shungin D, Ginnis J, Simancas-Pallares MA, Spangler HD, Zandoná AGF, Wright JT, Ramamoorthy P, Moore JH, Koo H, Wu D, Divaris K. Metabolomics Insights in Early Childhood Caries. J Dent Res. 2021 Jun;100(6):615-622. doi: 10.1177/0022034520982963. Epub 2021 Jan 9. PMID: 33423574; PMCID: PMC8142089.

9. Hemadi AS, Huang R, Zhou Y, Zou J. Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment. Int J Oral Sci. 2017 Nov 10;9(11):e1. doi: 10.1038/ijos.2017.35. PMID: 29125139; PMCID: PMC5775330.

10. Mira A, Artacho A, Camelo-Castillo A, Garcia-Esteban S, Simon-Soro A. Salivary Immune and Metabolic Marker Analysis (SIMMA): A Diagnostic Test to Predict Caries Risk. Diagnostics (Basel). 2017 Jun 27;7(3):38. doi: 10.3390/diagnostics7030038. PMID: 28654016; PMCID: PMC5617938**.**

11. Angarita-Díaz MP, Simon-Soro A, Forero D, Balcázar F, Sarmiento L, Romero E, Mira A. Evaluation of possible biomarkers for caries risk in children 6 to 12 years of age. J Oral Microbiol. 2021 Aug 17;13(1):1956219. doi: 10.1080/20002297.2021.1956219. PMID: 34434531; PMCID: PMC8381948.

12. Stojković B, Igić M, Jevtović Stoimenov T, Tričković Janjić O, Ignjatović A, Kostić M, Petrović M, Stojanović S. Can Salivary Biomarkers Be Used as Predictors of Dental Caries in Young Adolescents? Med Sci Monit. 2020 Jun 10;26:e923471. doi: 10.12659/MSM.923471. PMID: 32518218; PMCID: PMC7301671.

13. Kim S, Song Y, Kim S, Kim S, Na H, Lee S, Chung J, Kim S. Identification of a Biomarker Panel for Diagnosis of Early Childhood Caries Using Salivary Metabolic Profile. Metabolites. 2023 Feb 27;13(3):356. doi: 10.3390/metabo13030356. PMID: 36984796; PMCID: PMC10052657.

14. Hegde MN, Attavar SH, Shetty N, Hegde ND, Hegde NN. Saliva as a biomarker for dental caries: A systematic review. J Conserv Dent. 2019 Jan-Feb;22(1):2-6. doi: 10.4103/JCD.JCD_531_18. PMID: 30820074; PMCID: PMC6385571.