

Обзор молекулярных маркеров воспаления пульпы зуба

Останина Д.А., Митронин А.В., Островская И.Г., Митронин Ю.А.
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Резюме

В современной стоматологии диагностика болезней пульпы на молекулярно-биологическом уровне приобретает новый этап развития. Последние исследования свидетельствуют о том, что молекулы, экспрессируемые на разных стадиях воспалительного процесса, могут служить диагностическими биомаркерами при болезнях пульпы. В обзорной статье представлены актуальные научные данные, касающиеся изучения маркеров воспаления при различной патологии пульпы, в том числе при начальном пульпите.

Ключевые слова: маркеры воспаления пульпы, молекулярная диагностика, воспаление пульпы, начальный пульпит, анализ десневой жидкости.

Статья поступила: 14.03.2020; **исправлена:** 20.04.2020; **принята:** 27.04.2020.

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Для цитирования: Останина Д.А., Митронин А.В., Островская И.Г., Митронин Ю.А. Обзор молекулярных маркеров воспаления пульпы зуба. *Эндодонтия today*. 2020; 18 (2): Эндодонтия today. 2020; 18(2):0-0. DOI: 10.36377/1683-2981-2020-18-2-34-40.

Molecular markers of pulp inflammation (a literature review)

D.A. Ostanina, A.V. Mitronin, I.G. Ostrovskaya, Yu.A. Mitronin
Federal State Budgetary Educational Institution of the Higher Education
“A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry”
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

A new stage of development has molecular and biological diagnostics of pulp diseases in the field of modern dentistry. Recent studies indicate that molecules expressed at different stages of the inflammatory process can serve as diagnostic biomarkers of pulp diseases. The review article presents relevant scientific data regarding inflammation markers in various pulp pathologies, including initial pulpitis.

Keywords: markers of pulp inflammation, molecular diagnostics, pulp inflammation, initial pulpitis, gingival crevicular fluid analysis.

Received: 14.03.2020; **revised:** 20.04.2020; **accepted:** 27.04.2020.

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For citation: D.A. Ostanina, A.V. Mitronin, I.G. Ostrovskaya, Yu.A. Mitronin. Molecular markers of pulp inflammation (a literature review). *Endodontics today*. 2020; 18 (2): *Endodontics today*. 2020; 18(2):0-0. DOI: 10.36377/1683-2981-2020-18-2-34-40.

ВВЕДЕНИЕ

В современной стоматологии диагностика болезней пульпы на молекулярно-биологическом уровне приобретает новый этап развития. Это связано с несостоятельностью существующих клинических и аппаратных методов диагностики, что определяется несоответствием данных объективного исследования статуса пульпы с истинной гистологической картиной пульпы на момент обследования [1,2]. Ввиду того, что существующие методы диагностики ограничены определением субъективных признаков воспаления,

не предоставляется возможным правильно поставить диагноз именно на ранней стадии воспаления в пульпе, что, безусловно, требует особого внимания. Достоверная диагностика обратимости воспаления в пульпе является особенно важным этапом, который определяет дальнейший план лечения и, в частности, возможность сохранения жизнеспособности пульпы.

На сегодняшний день новым направлением развития современной медицины является применение метаболических исследований в диагностических целях. Основная идея метабомики заключается в обнару-

жении специфических маркеров в биологическом образце для ранней диагностики ряда заболеваний [3]. Идеальный биомаркер должен обладать высокой чувствительностью, специфичностью и прогностической значимостью, надежно воспроизводится у людей разного пола и разных этнических групп, а процедура его определения должна быть безопасна для здоровья пациентов [4]. Наиболее часто данные методы исследования в качестве диагностического инструмента применяются в общей медицине, например, для ранней диагностики онкологических заболеваний [5]. Однако, метаболомный анализ в стоматологии находится лишь на начальном этапе своего развития.

Анализ литературы демонстрирует, что при воспалении в пульпе зуба в ответ на вторжение микробных антигенов наблюдается строго регулируемая последовательность сосудистых и клеточных изменений, опосредованных сложными каскадами сигнальных путей [6-7]. Кречина Е.К. и Гаджиев А.К. (2018) сообщают, что активация сигнальных молекул приводит к высвобождению медиаторов воспаления, которые запускают каскад иммунных реакций и инициируют процессы де- и регенерации тканей [8]. Последние исследования свидетельствуют о том, что молекулы, экспрессируемые на разных стадиях воспалительного процесса, могут служить диагностическими биомаркерами при болезнях пульпы [9]. В исследованиях S.H. Park et. al. (2019) было доказано, что несмотря на локализацию в ограниченном замкнутом пространстве с неподатливыми, ригидными стенками, пульпа зуба способна распространять биологически активные продукты жизнедеятельности во внешнюю среду [10].

Многими авторами были предприняты попытки определить корреляционную зависимость между клиническими симптомами болезней пульпы и определенным уровнем белковых маркеров в различных биологических жидкостях зуба, которые являются потенциальными субстратами для молекулярной диагностики [11,12]. Ученые сообщают, что образцы для исследования могут быть получены инвазивным и малоинвазивным путем как из собственно тканей пульпы [13-15], так из крови пульпы [16-32], десневой жидкости [33,34,35], дентинной жидкости [36] и периапикальной жидкости зубов [12,37]. На рисунке 1 показаны потенциальные области забора проб для молекулярной диагностики начального пульпита.

В экспериментальных исследованиях для выявления биомаркеров воспаления в тканях пульпы зуба применяли мультиплексный анализ [38], полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией [39], микроматричный анализ [40], вестерн-блоттинг [41],



Рис. 1. Потенциальные области забора проб для молекулярной диагностики начального пульпита

Fig. 1. Potential sampling areas for molecular diagnosis of initial pulpitis

радиоиммунологический анализ (РИА) [42], иммуногистохимический анализ [43], твердофазный иммуноферментный анализ (твердофазный ИФА) [44], проточную цитометрию [27] и ферментативный анализ [21-22]. Другие субстраты дентинно-пульпарного комплекса анализировали с помощью радиоиммунологического анализа [14], твердофазного иммуноферментного анализа [16,17], ферментативного анализа [36] и анализа с использованием специфических сывороток [44].

По данным мировой и отечественной литературы, за весь период развития стоматологии в тканях пульпы были исследованы более 90 белковых молекул, которые экспрессируются при развитии воспаления [45]. В 2016 году Rechenberg D.K. и соавт. сообщили, что статистически значимые различия между необратимо воспаленной и здоровой пульпой могут быть обнаружены по 64 биологическим маркерам. Все идентифицированные маркеры в здоровой и воспаленной пульпе могут быть разделены на группы согласно их видовой и функциональной принадлежности:

- **цитокины** – ИЛ-1а, -1b, -2, -4, -6, -8, -12p40, -13, -15, -18, ФНО-а, МIP-1а, МIP-1β, МIP-3α, CCR6, TNF-α, TGF-α, TGF-β1, CXCL10, SDF-1, Oncostatin M, GM-CSF, GRO, Eotaxin-1, Fractalkine, sIL-2ra, IP-10, RANTES, остеокальцин;
- **протеазы и другие ферменты** – ММП-1, -2, -3, -9, t-PA, СОД, Cu, Zn-СОД, MDA, эластаза, катепсин-G, ЦЦФ, АСТ, каталаза, NADPH-diaphorase, eNOS, cGMP, PDE, TIMP-2, MPO;
- **медиаторы воспаления** – cAMP, PGE2, α-2M, TXB2, Endotoxins, COX-2, Substance P, Neurokinin A, CGRP, Neuropeptide Y, NOD2;
- **факторы роста** – VEGF, FGF;
- **антимикробные пептиды** – hBD-1, -2, -3, -4;
- **другие молекулы** – Substance P receptor, NaV 1.8 – 1.9, miRNAs, EphA7.

Еще в 2011 году в своем исследовании Zehnder M. отметил, что ткань пульпы является неоправданным субстратом для диагностики начального пульпита, поскольку предполагает предварительную экстирпацию пульпы и девитализацию зуба [36]. Последние исследования Островской И.Г. (2018) показали, что забор производных субстратов пульпы для оценки медиаторов воспаления, таких как десневая и дентинная жидкость, выполняется менее инвазивным способом и позволяет осуществлять контроль эффективности лечения и мониторинг статуса витальности пульпы без дополнительного ятрогенного вмешательства [46].

В производных субстратах пульпы были изучены 18 биомаркеров воспаления, из которых только 3 могут считаться достоверно значимыми в диагностике стадий воспалительного процесса при болезнях пульпы [14,16,17,36,47]. В таблице 1 представлены обобщающие данные о маркерах воспаления пульпы, которые были выявлены в альтернативных субстратах пульпы и могут быть получены менее инвазивным путем.

Согласно фундаментальным иммуно-биохимическим исследованиям, реакция пульпы на чужеродный агент имеет врожденный или неспецифический иммунный ответ [6,7,46]. Данные гистологических исследований свидетельствуют о том, что пульпит характеризуется воспалением тканей пульпы, которое ассоциировано с активностью полиморфноядерных лейкоцитов [23,48]. При изучении тканевых образцов пульпы было выявлено, что активность связанных с нейтрофилами ферментов, таких как эластаза,

Таблица 1. Маркеры воспаления, используемые в молекулярной диагностике пульпы зуба
Table 1. Inflammatory mediators that are used in molecular diagnostics of the dental pulp

Авторы исследования / год публикации	Субстрат исследования	Маркер воспаления	Функция маркера воспаления	Метод исследования
Lepinski и соавт. 2000 [14]; Bowles и соавт. 2003 [15]	Экстрацеллюлярная жидкость пульпы	Брадикинин	Вазодилатор; участвует в механизмах боли и воспаления	РИА
Nakanishi и соавт. 1995 [16]	Кровь пульпы	Эластаза	Расщепление эластина, коллагена, протеогликанов	Твердофазный ИФА
Nakanishi и соавт. 1995 [16]	Кровь пульпы	IL-1 α	Регуляция иммунных и воспалительных реакций; стимуляция резорбции кости	Твердофазный ИФА
		IL-1 β		
Elsalhy и соавт. 2013 [17]	Кровь пульпы	IL-2	Регуляция активности лейкоцитов	Твердофазный ИФА
Nakanishi и соавт. 1995 [16], Elsalhy и соавт. 2013 [17]	Кровь пульпы	IL-6	Регуляция созревания Т- и В-клеток; продуцирование белков острой фазы	Твердофазный ИФА
Karapanou и соавт. 2008 [47]	Кровь пульпы	IL-8	Рекрутинг и активация нейтрофилов	Твердофазный ИФА
Elsalhy и соавт. 2013 [17]	Десневая жидкость			
Elsalhy и соавт. 2013 [17]	Кровь пульпы	IL-10	Противовоспалительный интерлейкин; многофункционален в реакциях иммунорегуляции и воспаления	Твердофазный ИФА
Nakanishi и соавт. 1995 [16]	Кровь пульпы	TNF- α	Ингибитор апоптоза нейтрофилов	Твердофазный ИФА
Karapanou и соавт. 2008 [47]	Кровь пульпы			
Elsalhy и соавт. 2013 [17]	Десневая жидкость			
Elsalhy и соавт. 2013 [17]	Кровь пульпы	IFN- γ	Ключевой цитокин врожденного и приобретенного иммунитета	Твердофазный ИФА
Nakanishi и соавт. 1995 [16]	Кровь пульпы	IgG	Нейтрализация антигена	Твердофазный ИФА
Nakanishi и соавт. 1995 [16]	Кровь пульпы	IgA	Нейтрализация антигена	Твердофазный ИФА
Nakanishi и соавт. 1995 [16]	Кровь пульпы	IgM	Нейтрализация антигена	Твердофазный ИФА
Nakanishi и соавт. 1995 [16]	Кровь пульпы	Простогландин-2	Оказание провоспалительных и иммуномодулирующих эффектов	Твердофазный ИФА
Evcil и соавт. 2006 [44]	Сыворотка крови пульпы	Serum NO	Внутриклеточная сигнальная молекула; участвует во многих физиологических и патологических процессах	Анализ с использованием специфических сывороток
Zehnder и соавт. 2011 [36]; Ballal и соавт. 2017 [48]	Дентинная жидкость	MMP-9	Гидролиз межклеточного матрикса; регуляторный фактор миграции нейтрофилов через базальные мембраны	Ферментативный анализ
Ballal et al. 2017 [48]	Дентинная жидкость	MMP-2	Гидролиз межклеточного матрикса	Твердофазный ИФА
Островская и соавт. 2017 [46]	Десневая жидкость	АЛТ	Участие в метаболизме аминокислот	Ферментативный анализ
		АСТ		

катепсин-G, MMP-9, и других соединений повышается в клинически воспаленной пульпе в сравнении со здоровой пульпой. Кроме того, отмечается строгая корреляция между активностью данных ферментов и соответствующих им мРНК с воспалительными изменениями пульпы на гистологическом уровне. Вместе с тем, исследования Elsalhy и соавт. (2013) доказывают, что активность провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в крови пульпы в значительной степени различается между клинически здоровыми и воспаленными тканями пульпы, о чем также свидетельствует повышение активности интерлейкина-8 – основного хемоаттрактанта нейтрофилов – в исследованиях Abd-Elmeguid A., Abdeldayem M., Kline L.W., et al. [17]. Волгин М.А., Петин К.В., Митронин А.В. и соавт. (2016) оценивали различия профилей экспрессии генов ИЛ-1 β , циклооксигеназы (ЦОГ)-2 и коллагеназы-2 в тканях воспаленной и невоспаленной пульпы. Используя технику количественной полимеразной цепной реакции, результаты данного исследования показали статистически значимое увеличение экспрессии генов ИЛ-1-бета ($p = 0,001$) и ЦОГ-2 ($p = 0,002$) в тканях воспаленной пульпы зуба в сравнении с ее невоспаленным аналогом. Статистически значимые различия профилей экспрессии между образцами воспаленной

и невоспаленной пульпы для маркера коллагеназы-II типа ($p = 0,757$) выявлены не были [49]. В то же время, по данным исследования Caviedes-Bucheli J. et al. (2006), в пульпе зубов на ранних стадиях воспаления увеличивается активность нейропептидов по сравнению с интактными зубами. Аналогично повышается уровень VIP в пульпе зубов при обратимом воспалении. В совокупности представленные здесь данные показали, что многочисленные молекулы медиаторов могут действовать синхронно, чтобы провоцировать, стимулировать или модулировать воспалительную реакцию в пульпе на ранних стадиях заболевания. Тем не менее, анализ тканевых образцов пульпы с целью выявления маркеров воспаления не соответствует принципам и тактике лечения начального пульпита, поэтому противопоказан при диагностике пульпы на ранних стадиях воспаления. Анализ крови пульпы возможен только при вскрытии полости зуба с высоким риском инфицирования тканей пульпы, что ограничивает его применение в большинстве клинических случаев.

Десневая жидкость зуба как один из субстратов для неинвазивной диагностики воспалительного статуса пульпы

Важно отметить, что витальность пульпы при начальном пульпите диктует необходимость примене-

ния неинвазивного или малоинвазивного подхода к ее диагностике, что позволяет определять состояние пульпы на разных стадиях развития воспаления, в том числе для мониторинга состояния пульпы в динамике лечения при наличии герметичной реставрации. Существует мнение, что достоверным способом диагностики состояния пульпы является исследование десневой жидкости зуба [46]. В исследованиях Вавиловой Т.П., Островской И.Г. (2017) сообщается, что забор десневой жидкости является простой неинвазивной процедурой, которая позволяет проводить диагностику состояния тканей пульпы и периодонта в любой клинической ситуации [6, 46].

Впервые в 1964 году Simring и Goldberg сообщают, что пульпа зуба находится в непосредственном контакте с периодонтом и формирует единый пульпо-периодонтальный комплекс. Вместе с тем, нервные и сосудистые ресурсы периодонта и эндодонта функционально и анатомически связаны [7,50]. Так как десневая жидкость является транссудатом периодонтальных кровеносных сосудов, то соответственно реакция пульпы зуба будет проявляться в изменении количественных и качественных показателей десневой жидкости. Это определяет возможность использования белковых компонентов десневой жидкости в качестве диагностического критерия состояния пульпы зуба в норме и при патологии [6,7,46].

В процессе развития воспалительного процесса как в пульпе, так и в десневой жидкости появляются сигнальные молекулы, концентрация которых меняется в зависимости от стадии воспаления. В частности, Bell J. и Larmas M., (1978) в своем исследовании сообщают о изменении активности тканевого дыхания при остром воспалении в пульпе зуба, при котором наблюдается изменение активности изоферментов лактатдегидрогеназы и малатдегидрогеназы [51]. Однако, Разин А.С. в 1970 году частично опровергает эти данные, не отмечая существенных изменений в активности фермента МДГ при болезнях пульпы [52]. В 2008 году в своем исследовании Karapanou V., Kempuraj D., Theoharides T.C. обнаружили повышение активности интерлейкина – 8 в десневой жидкости зубов с необратимо воспаленной пульпой в сравнении с контрольными и соседними зубами, в то время как активность маркера воспаления фактор некроза опухоли – а при остром воспалении пульпы в десневой жидкости не определяется [47]. В недавнем исследовании в 2017 году Островская И.Г. и соавт. провели исследования по изучению активности ферментов аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспарта-

таминотрансфераза (АСТ) в десневой жидкости временных зубов у детей. Было выявлено, что при снижении активности АЛТ и АСТ в 1,5-2 раза и соотношении АСТ/АЛТ > 1,5 диагностируют воспаление пульпы [67].

Несмотря на то, что в источниках литературы были выявлены единичные научные работы, посвященные использованию десневой жидкости зуба в качестве субстрата для диагностики состояния пульпы, преобладающее большинство исследований описывают диагностическую ценность десневой жидкости для диагностики пародонтальных поражений. Одним из основных недостатков данного метода является отсутствие возможности дифференцировки пульпарного и пародонтального воспаления. Выполняя анализ десневой жидкости с целью определения статуса воспаления непосредственно в тканях пульпы, всегда будет иметь место предвзятое отношение к воспалению десен или тканей пародонта, имеющих высокую распространенность в России и мире. В частности, к 30 годам более 50% населения имеют различные клинические проявления заболеваний пародонта, а в возрасте 40 лет – более 90% населения [53,54]. Следовательно, оценка воспалительного статуса пульпы по данным десневой жидкости возможна только при диагностике зубов со здоровым, интактным пародонтом, в противном случае у пациентов с гингивитом и/или пародонтитом может наблюдаться искажение достоверности результатов исследования. Тем не менее, анализ десневой жидкости зуба является единственным неинвазивным методом диагностики зуба после лечения в аспекте молекулярной медицины.

Анализ литературных данных подтверждает ряд теоретических и практических разработок по обоснованию применения молекулярных маркеров воспаления при диагностике болезней пульпы. Вместе с тем, остается перспектива для проведения более обширных исследований по рационализации методов сбора биологических образцов и идентификации спектра биомаркеров, которые надежно коррелируют с различными стадиями воспаления пульпы. Решение вышепредставленных задач, вероятно, создаст условия для разработки новых объективных методов оценки статуса пульпы и усовершенствования уже имеющихся методов дифференциальной диагностики болезней пульпы, которые позволят с более высокой прогностической значимостью обеспечить мониторинг лечения начального пульпита с целью сохранения жизнеспособности зуба.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Эндодонтия. Под ред. К.М. Харгривз, Л.Г. Берман; И. Ротштейн; Пер. с англ.; Под ред. А.В. Митронина. Изд-во: ГЕОТАР-Медиа. 2020. С.1024.
2. Эндодонтология: клиничко-биологические аспекты. Доменико Рикуччи, Сикейра Жозе; пер. Борис Яблоновский; науч. ред. пер. Илья Мер, Владимир Аброскин. – Москва: Азбука. 2015. С. 415.
3. Мильман Б.Л., Журкович И.К. Масс-спектрометрический анализ медицинских объектов и проблемы клинической диагностики. Журнал аналитической химии. 2015. Т. 70. №10. С. 1026-1039.
4. Han L., Zhang Y.M., Song J. J. [et al.]. Automatic untargeted metabolic profiling analysis coupled with Chemometrics for improving metabolite identification quality to enhance geographical origin discrimination capability. Journal of Chromatography A. 2018. P. 12-20.
5. Якупова К.И., Князева О.А. Онкомаркеры в диагностике онкологических заболеваний. Научное обозрение. Педагогические науки. 2019. №5 (3). С. 126-129.
6. Вавилова Т.П., Островская И.Г., Митронин А.В. Реактивность пульпы зуба. Монография. Москва: МОЗАРТИКА, 2017. С. 132.
7. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека. СПб. 1999. С. 248.
8. Гаджиев А.К. Клеточные технологии в регенерации пульпы зуба (экспериментальное исследование): дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14. Гаджиев Абдулмуталип Курбанмагомедович. М., 2018. С. 86.
9. Abdin M., Hamed Y.S., Akhtar H.M.S. [et al.]. Antioxidant and anti-inflammatory activities of target anthocyanins di-glucosides isolated from Syzygium cumini pulp by high speed counter-current chromatography. Journal of Food Biochemistry. 2020. P. 24-35.
10. Park S.H., Lee Y.S., Lee D.S., [et al.]. CPNE7 Induces Biological Dentin Sealing in a Dentin Hypersensitivity Model. Journal of Dental Research. 2019. 98(11). P. 1239-1244.
11. Mente J., Petrovic J., Gehrig H., [et al.]. A Prospective Clinical Pilot Study on the Level of Matrix Metalloproteinase-9 in Dental Pulpal Blood as a Marker for the State of Inflammation in the Pulp Tissue. Journal of Endodontics. 2016. № 42. P. 190-197.

12. Rechenberg D.K., Bostanci N., Zehnder M., [et al.]. Periapical fluid RANKL and IL-8 are differentially regulated in pulpitis and apical periodontitis. *Cytokine*. 2014. №69. P. 116–119.
13. Carrouel F., Staquet M.J., Keller J.F., [et al.]. Lipopolysaccharide-binding protein inhibits toll-like receptor 2 activation by lipoteichoic acid in human odontoblast-like cells. *Journal of Endodontics*. 2013. №39. P. 1008–1014.
14. Lepinski A.M., Hargreaves K.M., Goodis H.E., [et al.]. Bradykinin levels in dental pulp by microdialysis. *Journal of Endodontics*. 2000. №26. P. 744–747.
15. Bowles W.R., Withrow J.C., Lepinski A.M., [et al.]. Tissue levels of immunoreactive substance P are increased in patients with irreversible pulpitis. *Journal of Endodontics*. 2003. №29. P. 265–267.
16. Nakanishi T., Matsuo T., Ebisu S. Quantitative analysis of immunoglobulins and inflammatory factors in human pulpal blood from exposed pulps. *Journal of Endodontics*. 1995. №21. P. 131–136.
17. Elsalhy M., Azizieh F., Raghupathy R. Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. *International Endodontic Journal*. – 2013. – №46. – P. 573–580.
18. Gusman H., Santana R.B., Zehnder M. Matrix metalloproteinase levels and gelatinolytic activity in clinically healthy and inflamed human dental pulps. *European Journal of Oral Sciences*. 2002. №110. P. 353–357.
19. Tulunoglu O., Alacam A., Bastug M., [et al.]. Superoxide dismutase activity in healthy and inflamed pulp tissues of permanent teeth in children. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 1998. №22. P. 341–345.
20. Bodor C., Matolcsy A., Bernath M. Elevated expression of Cu, Zn-SOD and Mn-SOD mRNA in inflamed dental pulp tissue. *International Endodontic Journal*. 2007. №40. P. 128–132.
21. Spoto G., Fioroni M., Rubini C., [et al.]. Alkaline phosphatase activity in normal and inflamed dental pulps. *Journal of Endodontics*. 2001. №27. P. 180–182.
22. Spoto G., Fioroni M., Rubini C., [et al.]. Aspartate aminotransferase activity in human healthy and inflamed dental pulps. *Journal of Endodontics*. 2001. №27. P. 394–395.
23. Nakanishi T., Shimizu H., Hosokawa Y., [et al.]. An immunohistological study on cyclooxygenase-2 in human dental pulp. *Journal of Endodontics*. 2001. №27. P. 385–388.
24. Guven G., Altun C., Gunhan O., [et al.]. Co-expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in inflamed human pulp: an immunohistochemical study // *Journal of Endodontics*. 2007. №33. P. 18–20.
25. Caviedes-Bucheli J., Lombana N., Azuero-Holguin M.M., [et al.]. Quantification of neuropeptides (calcitonin gene-related peptide, substance P, neurokinin A, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide) expressed in healthy and inflamed human dental pulp // *International Endodontic Journal*. 2006. №39. P. 394–400.
26. Artese L., Rubini C., Ferrero G., [et al.]. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in healthy and inflamed human dental pulps. *Journal of Endodontics*. 2002. №28. P. 20–23.
27. Caviedes-Bucheli J., Moreno G.C., Lopez M.P., [et al.]. Calcitonin gene-related peptide receptor expression in alternatively activated monocytes/macrophages during irreversible pulpitis. *Journal of Endodontics*. 2008. №34. P. 945–949.
28. Zhong S., Zhang S., Bair E., [et al.]. Differential expression of microRNAs in normal and inflamed human pulps. *Journal of Endodontics*. 2012. №38. P. 746–752.
29. Dong Y., Lan W., Wu W., [et al.]. Increased expression of EphA7 in inflamed human dental pulp // *Journal of Endodontics*. 2013. №39. P. 223–227.
30. Bhattacharyya S., Kelley K., Melichian D.S., [et al.]. Toll-like receptor 4 signaling augments transforming growth factor-beta responses: a novel mechanism for maintaining and amplifying fibrosis in scleroderma. *American Journal of Pathology*. 2013. №182. P. 192–205.
31. Villalba M., Hott M., Martin C., [et al.]. Herpes simplex virus type 1 induces simultaneous activation of Toll-like receptors 2 and 4 and expression of the endogenous ligand serum amyloid A in astrocytes. *Medical Microbiology and Immunology*. 2012. №201. P. 371–379.
32. Shi B., Huang Q., Tak P.P., [et al.]. SNAPIN: an endogenous Toll-like receptor ligand in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2012. №71. P. 1411–1417.
33. Avellan N.L., Sorsa T., Tervahartiala T., [et al.]. Experimental tooth pain elevates substance P and matrix metalloproteinase-8 levels in human gingival crevice fluid. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2008. №66. P. 18–22.
34. Bostanci N., Ilgenli T., Emingil G., [et al.]. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007. №34. P. 370–376.
35. Sorsa T., Hernandez M., Leppilahti J., [et al.]. Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Diseases*. 2010. №16. P. 39–45.
36. Zehnder M., Wegehaupt F.J., Attin T. A first study on the usefulness of matrix metalloproteinase 9 from dentinal fluid to indicate pulp inflammation. *Journal of Endodontics*. 2011. №37. P. 17–20.
37. Gomes M.S., Blattner T.C., Sant'Ana Filho M., [et al.]. Can apical periodontitis modify systemic levels of inflammatory markers? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Endodontics*. 2013. №39. P. 1205–1217.
38. Abd-Elmeguid A., Abdeldayem M., Kline L.W., [et al.]. Osteocalcin expression in pulp inflammation. *Journal of Endodontics*. 2013. №39. P. 865–872.
39. Kokkas A.B., Goulas A., Varsamidis K., [et al.]. Irreversible but not reversible pulpitis is associated with up-regulation of tumour necrosis factor-alpha gene expression in human pulp. *International Endodontic Journal*. 2007. №40. P. 198–203.
40. Zhong S., Zhang S., Bair E., [et al.]. Differential expression of microRNAs in normal and inflamed human pulps. *Journal of Endodontics*. 2012. №38. P. 746–752.
41. Suwanchai A., Theerapiboon U., Chattipakorn N., [et al.]. NaV 1.8, but not NaV 1.9, is upregulated in the inflamed dental pulp tissue of human primary teeth. *International Endodontic Journal*. 2012. №45. P. 372–378.
42. Cohen J.S., Reader A., Fertel R., [et al.]. A radioimmunoassay determination of the concentrations of prostaglandins E2 and F2alpha in painful and asymptomatic human dental pulps. *Journal of Endodontics*. 1985. №11. P. 330–335.
43. Silva A.C., Faria M.R., Fontes A., [et al.]. Interleukin-1 beta and interleukin-8 in healthy and inflamed dental pulps. *Journal of Applied Oral Science*. 2009. №17. P. 527–532.
44. Evcil M.S., Keles A., Uzun I., [et al.]. Nitric oxide levels in serum of patients with symptomatic irreversible pulpitis. *Journal of Pain and Palliative Care Pharmacotherapy*. 2006. №20. P. 15–19.
45. Rechenberg D.K., Galicia J.C., Peters O.A. Biological markers for pulpal inflammation: a systematic review. *PLOS One*. 2016. №29 (11).
46. Островская И.Г. Роль регуляторных белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов: дис. ... д-ра мед. наук: 03.01.04. Островская Ирина Геннадьевна. – М., 2017. – С. 238.
47. Karapanou V., Kempuraj D., Theoharides T.C. Interleukin-8 is increased in gingival crevicular fluid from patients with acute pulpitis. *Journal of Endodontics*. 2008. 34. P. 148–151.
48. Ballal V., Rao S., Bagheri A., et al. MMP-9 in dentinal fluid correlates with caries lesion depth. *Caries Research*. 2017. №51. P. 460–465.
49. Волгин М.А., Петин К.И., Митронин А.В., Кильбасса А.М. Сравнительный анализ профилей экспрессии генов ИЛ-1, ЦОГ-2 и Коллагеназы II типа в тканях пульпы зубов с проявлением острого воспалительного процесса. *Эндодонтия today*. 2016. №. 4. С. 16–20.
50. Geraldini S., Li Y., Hogan M.M., et al. Inflammatory mediators in fluid extracted from the coronal occlusal dentine of trimmed teeth. *Archives of Oral Biology*. 2012. №57. P. 264–270.
51. Le Bell, Y. A quantitative study of lactate and malate dehydrogenase and aspartate transaminase activities in the human dental pulp. Y. Le Bell, M. Larmas. *Arch. of Oral Biology*. 1978. Vol. 23, Iss. 10. P. 925–928.
52. Разин А.С. Активность ферментов пульпы в норме и патологии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. А.С. Разин. М., 1969. С. 21.
53. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний под ред. Грудянов, А.И. Медицинское информационное агентство. 2012. С.96.
54. Заболевания пародонта. Под общей редакцией профессора Ореховой Л.Ю. М: Поли Медиа Пресс, 2004. С. 432.

REFERENCES:

1. Endodontics. Eds. K.M. Hargrивz, L.G. Berman; I. Rotshtejn; Trans. A.V. Mitronin. GEOTAR-Media. 2020. P. 1024.
2. Endodontologia: Clinical and biological aspekts. D. Ricucci, ZH. Siqueira, Trans. Boris Yablonovsky; scientific ed. trans. Ilya Mer, Vladimir Abroskin. Moscow: ABC. 2015. P. 415.

3. Milman B.L., Zhurkovich I.K. Mass spectrometric analysis of medical facilities and problems of clinical diagnosis. *Journal of analytic chemistry*. 2015. №10. P. 1026–1039.

4. Han L., Zhang Y.M., Song J. J. [et al.]. Automatic untargeted metabolic profiling analysis coupled with Chemometrics for improving

- metabolite identification quality to enhance geographical origin discrimination capability. *Journal of Chromatography A*. 2018. P. 12-20.
5. Jakupova K.I., Knyazeva O.A. Oncomarkers in the diagnosis of cancer. Scientific review. *Pedagogical sciences*. 2019. №5 (3). P. 126-129.
 6. Vavilova T. P., Ostrovskaya I. G., Mitronin A.V. Dental pulp responsiveness. Moscow State University of Medicine and Dentistry. 2017. P. 132.
 7. Bykov V.L. Histology and embryology of the human oral cavity. Pb. 1999. P. 248.
 8. Gadjeiv A.K. Cellular technologies in tooth pulp regeneration (experimental study): PhD dissertation. 14.01.14. Gadzhiev Abdulmutalip Kurbanmagomedovich. M., 2018. P. 86.
 9. Abdin M., Hamed Y.S., Akhtar H.M.S. [et al.]. Antioxidant and anti-inflammatory activities of target anthocyanins di-glucosides isolated from *Syzygium cumini* pulp by high speed counter-current chromatography. *Journal of Food Biochemistry*. 2020. P. 24-35.
 10. Park S.H., Lee Y.S., Lee D.S., [et al.]. CPNE7 Induces Biological Dentin Sealing in a Dentin Hypersensitivity Model. *Journal of Dental Research*. 2019. 98(11). P. 1239-1244.
 11. Mente J., Petrovic J., Gehrig H., [et al.]. A Prospective Clinical Pilot Study on the Level of Matrix Metalloproteinase-9 in Dental Pulpal Blood as a Marker for the State of Inflammation in the Pulp Tissue. *Journal of Endodontics*. 2016. № 42. P. 190-197.
 12. Rechenberg D.K., Bostanci N., Zehnder M., [et al.]. Periapical fluid RANKL and IL-8 are differentially regulated in pulpitis and apical periodontitis. *Cytokine*. 2014. №69. P. 116-119.
 13. Carrouel F., Staquet M.J., Keller J.F., [et al.]. Lipopolysaccharide-binding protein inhibits toll-like receptor 2 activation by lipoteichoic acid in human odontoblast-like cells. *Journal of Endodontics*. 2013. №39. P. 1008-1014.
 14. Lepinski A.M., Hargreaves K.M., Goodis H.E., [et al.]. Bradykinin levels in dental pulp by microdialysis. *Journal of Endodontics*. 2000. №26. P. 744-747.
 15. Bowles W.R., Withrow J.C., Lepinski A.M., [et al.]. Tissue levels of immunoreactive substance P are increased in patients with irreversible pulpitis. *Journal of Endodontics*. 2003. №29. P. 265-267.
 16. Nakanishi T., Matsuo T., Ebisu S. Quantitative analysis of immunoglobulins and inflammatory factors in human pulpal blood from exposed pulps. *Journal of Endodontics*. 1995. №21. P. 131-136.
 17. Elsalhy M., Azizieh F., Raghupathy R. Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. *International Endodontic Journal*. 2013. №46. P. 573-580.
 18. Gusman H., Santana R.B., Zehnder M. Matrix metalloproteinase levels and gelatinolytic activity in clinically healthy and inflamed human dental pulps. *European Journal of Oral Sciences*. 2002. №110. P. 353-357.
 19. Tulunoglu O., Alacam A., Bastug M., [et al.]. Superoxide dismutase activity in healthy and inflamed pulp tissues of permanent teeth in children. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 1998. №22. P. 341-345.
 20. Bodor C., Matolcsy A., Bernath M. Elevated expression of Cu, Zn-SOD and Mn-SOD mRNA in inflamed dental pulp tissue. *International Endodontic Journal*. 2007. №40. P. 128-132.
 21. Spoto G., Fioroni M., Rubini C., [et al.]. Alkaline phosphatase activity in normal and inflamed dental pulps. *Journal of Endodontics*. 2001. №27. P. 180-182.
 22. Spoto G., Fioroni M., Rubini C., [et al.]. Aspartate aminotransferase activity in human healthy and inflamed dental pulps. *Journal of Endodontics*. 2001. №27. P. 394-395.
 23. Nakanishi T., Shimizu H., Hosokawa Y., [et al.]. An immunohistological study on cyclooxygenase-2 in human dental pulp. *Journal of Endodontics*. 2001. №27. P. 385-388.
 24. Guven G., Altun C., Gunhan O., [et al.]. Co-expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in inflamed human pulp: an immunohistochemical study. *Journal of Endodontics*. 2007. №33. P. 18-20.
 25. Caviedes-Bucheli J., Lombana N., Azuero-Holguin M.M., [et al.]. Quantification of neuropeptides (calcitonin gene-related peptide, substance P, neurokinin A, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide) expressed in healthy and inflamed human dental pulp. *International Endodontic Journal*. 2006. №39. P. 394-400.
 26. Artese L., Rubini C., Ferrero G., [et al.]. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in healthy and inflamed human dental pulps. *Journal of Endodontics*. 2002. №28. P. 20-23.
 27. Caviedes-Bucheli J., Moreno G.C., Lopez M.P., [et al.]. Calcitonin gene-related peptide receptor expression in alternatively activated monocytes/macrophages during irreversible pulpitis. *Journal of Endodontics*. 2008. №34. P. 945-949.
 28. Zhong S., Zhang S., Bair E., [et al.]. Differential expression of microRNAs in normal and inflamed human pulps. *Journal of Endodontics*. 2012. №38. P. 746-752.
 29. Dong Y., Lan W., Wu W., [et al.]. Increased expression of EphA7 in inflamed human dental pulp. *Journal of Endodontics*. 2013. №39. P. 223-227.
 30. Bhattacharyya S., Kelley K., Melichian D.S., [et al.]. Toll-like receptor 4 signaling augments transforming growth factor-beta responses: a novel mechanism for maintaining and amplifying fibrosis in scleroderma. *American Journal of Pathology*. 2013. №182. P. 192-205.
 31. Villalba M., Hott M., Martin C., [et al.]. Herpes simplex virus type 1 induces simultaneous activation of Toll-like receptors 2 and 4 and expression of the endogenous ligand serum amyloid A in astrocytes. *Medical Microbiology and Immunology*. 2012. №201. P. 371-379.
 32. Shi B., Huang Q., Tak P.P., [et al.]. SNAPIN: an endogenous Toll-like receptor ligand in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2012. №71. P. 1411-1417.
 33. Avellan N.L., Sorsa T., Tervahartala T., [et al.]. Experimental tooth pain elevates substance P and matrix metalloproteinase-8 levels in human gingival crevice fluid. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2008. №66. P. 18-22.
 34. Bostanci N., Ilgenli T., Emingil G., [et al.]. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007. №34. P. 370-376.
 35. Sorsa T., Hernandez M., Leppilahti J., [et al.]. Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Diseases*. 2010. №16. P. 39-45.
 36. Zehnder M., Wegehaupt F.J., Attin T. A first study on the usefulness of matrix metalloproteinase 9 from dentinal fluid to indicate pulp inflammation. // *Journal of Endodontics*. 2011. №37. P. 17-20.
 37. Gomes M.S., Blattner T.C., Sant'Ana Filho M., [et al.]. Can apical periodontitis modify systemic levels of inflammatory markers? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Endodontics*. 2013. №39. P. 1205-1217.
 38. Abd-Elmeguid A., Abdeldayem M., Kline L.W., [et al.]. Osteocalcin expression in pulp inflammation. *Journal of Endodontics*. 2013. №39. P. 865-872.
 39. Kokkas A.B., Goulas A., Varsamidis K., [et al.]. Irreversible but not reversible pulpitis is associated with up-regulation of tumour necrosis factor-alpha gene expression in human pulp. *International Endodontic Journal*. 2007. №40. P. 198-203.
 40. Zhong S., Zhang S., Bair E., [et al.]. Differential expression of microRNAs in normal and inflamed human pulps. *Journal of Endodontics*. 2012. №38. P. 746-752.
 41. Suwanchai A., Theerapiboon U., Chattipakorn N., [et al.]. NaV 1.8, but not NaV 1.9, is upregulated in the inflamed dental pulp tissue of human primary teeth. *International Endodontic Journal*. 2012. №45. P. 372-378.
 42. Cohen J.S., Reader A., Fertel R., [et al.]. A radioimmunoassay determination of the concentrations of prostaglandins E2 and F2alpha in painful and asymptomatic human dental pulps. *Journal of Endodontics*. 1985. №11. P. 330-335.
 43. Silva A.C., Faria M.R., Fontes A., [et al.]. Interleukin-1 beta and interleukin-8 in healthy and inflamed dental pulps. *Journal of Applied Oral Science*. 2009. №17. P. 527-532.
 44. Evcil M.S., Keles A., Uzun I., [et al.]. Nitric oxide levels in serum of patients with symptomatic irreversible pulpitis. *Journal of Pain and Palliative Care Pharmacotherapy*. 2006. №20. P. 15-19.
 45. Rechenberg D.K., Galicia J.C., Peters O.A. Biological markers for pulpal inflammation: a systematic review. *PLOS One*. 2016. №29 (11).
 46. Ostarovskaya I.G. The role of regulatory proteins and peptides in ensuring the resistance of tissues of the pulp-periodontium complex under the influence of various factors: Dr of medical sciences dissertation. 03.01.04. Ostrovskaya Irina Gennadevna. M., 2017. P. 238.
 47. Karapanou V., Kempuraj D., Theoharides T.C. Interleukin-8 is increased in gingival crevicular fluid from patients with acute pulpitis. *Journal of Endodontics*. 2008. 34. P. 148-151.
 48. Ballal V., Rao S., Bagheri A., et al. MMP-9 in dentinal fluid correlates with caries lesion depth. *Caries Research*. 2017. №51. P. 460-465.
 49. Volgin M.A., Petinov K.I., Mitronin A.V., Kielbassa A.M. Comparative analysis of IL-1, COX-2 and type II collagenase gene expression profile in acute inflamed pulps. *Endodontics today*. 2016. No. 4. P. 16-20.
 50. Geraldeli S., Li Y., Hogan M.M., et al. Inflammatory mediators in fluid extracted from the coronal occlusal dentine of trimmed teeth. *Archives of Oral Biology*. 2012. №57. P. 264-270.

51. Le Bell, Y. A quantitative study of lactate and malate dehydrogenase and aspartate transaminase activities in the human dental pulp [Text] / Y. Le Bell, M. Larmas. Arch. of Oral Biology. 1978. Vol. 23, Iss. 10. P. 925-928.

52. Razin A.S. The activity of pulp enzymes in normal and pathological conditions: abstract. dis. ... cand. medical science. S. Razin. M. 1969. P. 21.

53. Etiology and pathogenesis of inflammatory diseases. ed. Grudyanov, A.I. Medical News Agency. 2012. P. 96.

54. Periodontal disease / ed. professor Orekhova L.Yu. / M: Poly Media Press. 2004. P.432.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Останина Д.А. – ассистент, аспирант; ORCID ID: 0000-0002-5035-5235

Митронин А.В. – профессор, доктор медицинских наук, декан стоматологического факультета МГМСУ, заведующий кафедрой, Заслуженный врач РФ; ORCID ID: 0000-0002-3561-6222

Островская И.Г. – профессор, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биологической химии; ORCID 0000-0001-6332-6348

Митронин Ю.А. – студент, именной стипендиат Учёного совета МГМСУ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра кариесологии и эндодонтии. Москва, Россия

AUTHOR INFORMATION:

D.A. Ostanina – assistant, postgraduate student; ORCID ID: 0000-0002-5035-5235

A.V. Mitronin – professor, Doctor of Medical Sciences, Dean of the Faculty of Dentistry, Head of the Department, Honored Doctor of Russian Federation; ORCID ID: 0000-0002-3561-6222

I.G. Ostrovskaya – professor, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department biological chemistry; ORCID 0000-0001-6332-6348

Yu.A. Mitronin – student

Federal State Budgetary Educational Institution of the Higher Education “A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Department of Cariology and Endodontics. Moscow, Russia

Координаты для связи с авторами / Coordinates for communication with authors:

Останина Д.А. / D.A. Ostanina, E-mail: dianaostanina@mail.ru