

Сравнительный анализ протеомных карт дентинного ликвора: роль биомаркеров в молекулярной диагностике болезней пульпы зубов

© Митронин А.В.¹, Останина Д.А.¹, Митронин Ю.А.¹, Михайлова А.Е.¹, Волгин М.А.²

¹Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва, Россия

²Дунайский Частный Университет, Кремс, Австрия

Резюме:

Цель. Провести сравнительный анализ протеомного профиля дентинной жидкости в норме и при болезнях пульпы с целью выявления пептидных маркеров воспаления для усовершенствования методов диагностики состояния пульпы зубов.

Материалы и методы. На клиническом этапе исследования были получены 48 образцов дентинного ликвора, забор которых проводили с помощью нитроцеллюлозной мембраны по разработанной методике, и 48 соответствующих им удаленных зубов, которые подвергались гистологическому исследованию с целью подтверждения клинического диагноза. В лабораторный этап было включено 45 проб дентинной жидкости для проведения протеомного анализа хромато-масс-спектрометрическим методом.

Результаты. При протеомном анализе выявлено 206 белковых фракций в дентинном ликворе зубов. Совпадение протеомов дентинной жидкости в норме, при начальном и остром воспалении пульпы составило 19%, или 39 белковых фракций. Определен специфичный белковый маркер начальной стадии воспаления – альфа-1-антихимотрипсин, количество которого достоверно повышается в 48 раз при начальном пульпите ($p < 0,05$).

Выводы. По результатам исследования были созданы протеомные карты дентинного ликвора в норме и при воспалении пульпы. Было выявлено, что белковую фракцию альфа-1-антихимотрипсин целесообразно рассматривать в качестве специфического маркера воспаления при болезнях пульпы, в частности, для диагностики начального пульпита.

Ключевые слова: дентинная жидкость, диагностика пульпы, протеомное исследование

Статья поступила: 15.01.2023; **исправлена:** 24.02.2023; **принята:** 26.02.2023.

Конфликт интересов: Митронин А.В. и Волгин М.А. являются членами редакционной коллегии, однако, это было нивелировано в процессе двойного слепого рецензирования.

Благодарности: Финансирование и индивидуальные благодарности для декларирования отсутствуют.

Для цитирования: Митронин А.В., Останина Д.А., Митронин Ю.А., Михайлова А.Е., Волгин М.А. Сравнительный анализ протеомных карт дентинного ликвора: роль биомаркеров в молекулярной диагностике болезней пульпы зубов. *Эндодонтия today*. 2023; 21(1):10-17. DOI: 10.36377/1683-2981-2023-21-1-10-17.

Comparative analysis of proteomic profiles of dentinal liquid: the role of biomarkers in molecular diagnosis of dental pulp diseases

© Alexandr V. Mitronin¹, Diana A. Ostanina¹, Yuri A. Mitronin¹, Anastasia E. Mikhailova¹, Michael Wolgin²

¹Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

²Danube Private University, Krems, Austria

Abstract:

Aim. To conduct a comparative analysis of the proteomic profile of dentinal fluid in teeth with normal and inflamed pulp in order to identify peptide markers of inflammation and improve dental pulp diagnostics.

Materials and methods. In clinical study, 48 samples of dentinal fluid were obtained using a nitrocellulose membrane according to the developed method, and 48 corresponding extracted teeth, which were studied with histological examination to confirm the clinical diagnosis. In laboratory study, 45 samples of dentinal fluid were prepared for proteomic analysis by chromat-mass-spectrometry.

Results. Proteomic analysis revealed 206 protein fractions in the dentinal fluid samples. The coincidence of proteomes of dentinal fluid in teeth with normal pulp, initial and acute pulp inflammation was 19%, or 39 protein fractions. A specific protein marker of the initial pulp inflammation alpha-1-antichymotrypsin was determined, which significantly increased in 48 times in teeth with reversible pulpitis ($p < 0,05$).

Conclusions. Based on the results of the study, proteomic maps of the dentinal fluid in teeth with normal and inflamed pulp were created. It was found that the protein fraction alpha-1-antichymotrypsin should be considered as a specific marker of pulp inflammation, in particular, for the diagnosis of initial pulpitis.

Keywords: dentinal fluid, pulp diagnostics, proteomic study

Received: 15.01.2023; **revised:** 24.02.2023; **accepted:** 26.02.2023.

Conflict of interests: Alexander V. Mitronin and Michael A. Wolgin are the members of the editorial board, however, it was excluded in the double-blind peer review process.

Acknowledgments: There are no funding and individual acknowledgments to declare

For citation: Alexandr V. Mitronin, Diana A. Ostanina, Yuri A. Mitronin, Anastasia E. Mikhailova, Michael Wolgin. Comparative analysis of proteomic profiles of dentinal liquid: the role of biomarkers in molecular diagnosis of dental pulp diseases

Endodontics today. 2023; 21(1):10-17. DOI: 10.36377/1683-2981-2023-21-1-10-17.

ВВЕДЕНИЕ

Главным приоритетом лечения осложнений кариеса, в частности, начального пульпита, является сохранение жизнеспособности пульпы [1-2]. Очевидно, что ведущим критерием успешного лечения начального пульпита и снижения вероятности возникновения осложнений является повышение точности диагностики состояния пульпы и определение прогностических предикторов ее жизнеспособности [3]. В арсенале у стоматологов до настоящего времени всё еще недостаточно объективных прижизненных методов исследования, позволяющих оценить физиологическое состояние пульпы без инвазивных вмешательств [4-5]. В этой связи, необходим поиск альтернативных способов диагностики состояния пульпы, которые позволят достоверно оценить активность воспалительного процесса в тканях пульпы зубов с целью дифференциальной диагностики обратимой и необратимой стадии пульпита, что даёт возможность назначить адекватное лечение.

Применение современных методов молекулярного анализа позволяет по-новому взглянуть на клеточный состав пульпы на разных стадиях воспаления, провести оценку параметров активности саногенетических механизмов в пульпе, доказать ее динамичность и саморегулярность при развитии воспалительного процесса [6-7]. Протеомный анализ – это одно из ведущих направлений исследований состава биологических жидкостей [8]. Главной целью клинической протеомики является обнаружение пептидных биомаркеров, которые связаны с определенным патофизиологическим состоянием исследуемых тканей [9-10]. Было выдвинуто предположение, что протеомный анализ дентинного ликвора даст ответ на оставшиеся клинически нерешенные вопросы – возможно ли неинвазивно дифференцировать обратимое и необратимое воспаление пульпы и прогнозировать её жизнеспособность при лечении малоинвазивными методами.

Сложность осуществления протеомного исследования заключается в определенных требованиях, предъявляемых к изучаемым образцам биологических жидкостей [11]. Особенностью изучения дентинной жидкости является низкая концентрация белка в получаемом материале. Для достижения необходимой концентрации белкового спектра в изучаемых образцах нами экспериментальным путем был подобран наиболее эффективный способ получения дентинной

жидкости витальных зубов, который был представлен в ранней публикации [12].

ЦЕЛЬ

Провести сравнительный анализ протеомного профиля дентинной жидкости в норме и при болезнях пульпы с целью выявления пептидных маркеров воспаления для усовершенствования методов диагностики состояния пульпы зубов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн клиничко-лабораторного исследования состоял из трех последовательных этапов: клинический этап – предварительный забор образцов дентинного ликвора витальных зубов в полости рта с последующим удалением данных зубов; патоморфологический этап – гистологическое исследование зубов, у которых ранее был произведен забор дентинного ликвора; лабораторный этап – протеомный анализ образцов дентинного ликвора. Важно отметить, что гистологическое исследование пульпы удаленных зубов диктовалось необходимостью подтверждения клинического диагноза зубов, поставленного в ходе объективного обследования. В случае несоответствия патоморфологического и клинического диагнозов, соответствующие образцы дентинного ликвора исключались из протеомного исследования.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Московский государственный медицинско-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ.

Клинический этап. При проведении клинического этапа исследования были обследованы 48 пациентов, которым было показано удаление третьих моляров верхней и нижней челюсти по медицинским показаниям. Состояние пульпы зубов диагностировали по МКБ-10 (ВОЗ, 1999), в соответствии с которой болезни пульпы классифицировались согласно следующим нозологическим формам: интактные зубы, K04.00 Начальный пульпит [гиперемия пульпы], K04.01 Острый пульпит, K04.02 Гнойный пульпит. Диагнозы были поставлены на основании данных основных и дополнительных методов обследования согласно клиническим рекомендациям (протоколам лечения), утверждённых Постановлением № 15 Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России» от 2 августа 2018 года. В ходе лечения пациентов были собраны 48 образцов дентинного ликвора и 48 соответствующих им удаленных зубов, которые были распределены в груп-

Таблица 1. Количество образцов дентинного ликвора витальных зубов и удаленных зубов, полученных на клиническом этапе исследования

Table 1. The number of dentinal fluid samples of vital teeth and extracted teeth obtained in the clinical study

№ гр.	Состояние пульпы зуба	Код МКБ	Количество проб дентинного ликвора (n)	Количество удаленных зубов (n)
G01	Интактная пульпа	-	15	15
G02	Начальный пульпит	K04.00	18	18
G03	Острые формы пульпита	K04.01, K04.02	15	15
ВСЕГО			48	48

пы G01, G02, G03 в соответствии с поставленным диагнозом (таблица 1).

Забор образцов дентинного ликвора проводили по разработанной методике, ранее описанной в экспериментальном исследовании [12]. Забор дентинного ликвора осуществляли с помощью нитроцеллюлозной мембраны Sartorius класса 1288 с размером пор 0,45. По завершении забора пробы дентинного ликвора производили операцию удаления зуба. Затем зуб был помещён в 10% раствор изотонического формалина с целью проведения дальнейших гистологических исследований.

Патоморфологический этап. Было выполнено гистологическое исследование 48 удаленных зубов. На подготовительном этапе зубы выдерживались в формалине в течение 24 часов. Проводили их декальцинацию с помощью раствора СофтиДек (БиоВитрум) в течение 7 дней. Далее материал по общепринятой методике заливали в парафин и изготавливали гистологические срезы толщиной 3-5 мкм. Изготовленные гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Лабораторный этап. Всего было подготовлено 45 проб дентинного ликвора для проведения протеомного анализа хромато-масс-спектрометрическим методом. Хроматографическое разделение проводили на системе Ultimate 3000 RSLC Nano (Thermo Scientific) с установленным объемом петли инжектора 5 мкл и коэффициентом вымывания пробы из петли – 3. Разделение пептидов проводили в градиенте подвижной фазы «А» (водный раствор 0.01% муравьиной кислоты, 0.03% уксусной кислоты, pH = 2.63 при t = 21.4°C), и подвижной фазы «В» (90% ацетонитрила, 10% метанола, 0.01% муравьиной кислоты, 0.03% уксусной кислоты) на стационарной фазе Acclaim Pepmap® (геометрия 75 мкм x 150 мм, 1.8 мкм, 60Å). В ходе хроматографического разделения применялось динамическое изменение скорости потока до 0.45 мл/мин при высоком относительном содержании подвижной фазы «В» для увеличения эффективности промывки колонки от связанных гидрофобных компонентов.

Масс-спектрометрический анализ проводили на гибридном масс-спектрометре высокого разрешения Orbitrap Fusion (Thermo Scientific) с источником ионизации NSI в режиме положительной электростатической ионизации и динамическим потенциалом на входной S-линзе. Исходные приборные данные конвертировали в формат mgf для дальнейшего поиска сигнала пептидов против таксон-специфичной базы данных аминокислотных последовательностей белков версии Uniprot 2018.08 с использованием поискового алгоритма X!Tandem.

Статистическая обработка данных. Анализ категориальных признаков проводился по критерию Крускала-Уоллиса, и различия считались достоверными для $p < 0,05$. Смещения между группами исследования оценивались с использованием корреляционного те-

ста Кендала. Белки ранжировались в соответствии с их представленностью в группах на основе значения NSAF (Normalized Spectrum Abundancy Factor), которое было получено после идентификации белков. Распределённые значения использовались для анализа онтологии генов (GO, Gene Ontology) с помощью функционального инструмента PANTHER Overrepresentation. Для оценки значения р-достоверности и степени ложноположительного ответа (FDR, False Discovery Rate) использовали коррекцию Бонферрони для множественного тестирования.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно полученным результатам, качественное совпадение протеомов между группами исследования составило 19%, или 39 индивидуальных белковых фракций (рисунок 1). Протеом дентинной жидкости интактных зубов состоит из 71 индивидуальной белковой идентификацией. При начальном пульпите повышается белковое разнообразие до 75 белков. Наиболее обогащённый протеом представлен в группе острого воспаления пульпы, в которой было идентифицировано 173 белковые фракции.

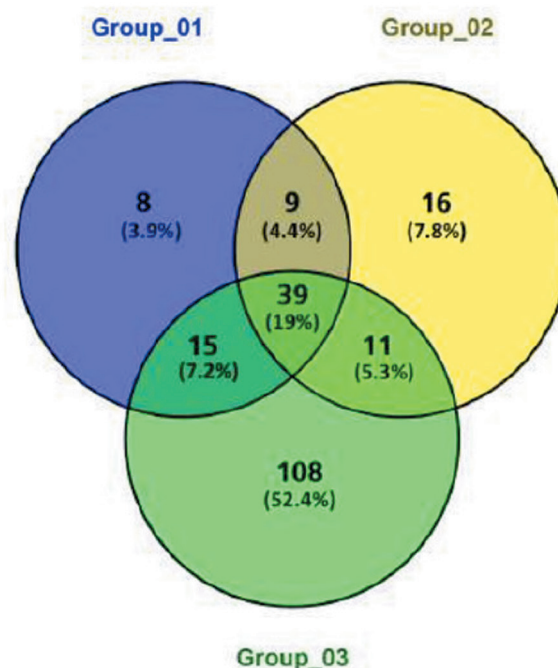


Рис. 1. Количество белковых фракций в протеомах дентинной жидкости зубов в норме, при начальном и остром воспалении пульпы и их качественное совпадение между группами исследования.

Fig. 1. The number of protein fractions in the proteomes of the dentinal fluid in teeth with normal pulp, with initial and acute pulp inflammation and their qualitative matching between the groups.

Таблица 2 – Список белков конститутивного протеома исследуемых групп, значительно изменяющихся по отношению к контрольной группе

Table 2 – List of proteins in constitutive proteome of the studied groups, significantly changing in relation to the control group

Код белка	Название белка	Название гена	MW [kDa]	G02dNSAF	G03dNSAF	G02, Ig	G03, Ig
P01011	Alpha-1-antichymotrypsin (альфа-1-антихимотрипсин)	SERPINA3	47.62054	48.289	27.051	1.684	1.432
P01871	Immunoglobulin heavy constant mu (тяжелые цепи иммуноглобулина M)	IGHM	49.40858	35.718	46.351	1.553	1.666
O75891	Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase (цитозольная 10-формил-тетрагидрофолат дегидрогеназа)	ALDH1L1	98.76656	14.861	2.943	1.172	0.469
P02671	Fibrinogen alpha chain (фибриноген альфа-цепь)	FGA	94.91441	6.346	0.830	0.803	-0.081
P01023	Alpha-2-macroglobulin (альфа-2-макроглобулин)	A2M	163.1879	5.871	1.210	0.769	0.083
P07477	Trypsin-1 (трипсин-1)	PRSS1	26.54109	5.344	0.302	0.728	-0.519
P02679	Fibrinogen gamma chain (фибриноген гамма-цепь)	FGG	51.47887	4.625	0.475	0.665	-0.323
P05062	Fructose-bisphosphate aldolase B (фруктозо-бифосфонат альдолазы B)	ALDOB	39.44806	3.817	0.302	0.582	-0.519
P00450	Ceruloplasmin (церулоплазмин)	CP	122.1276	3.817	1.554	0.582	0.192
P02675	Fibrinogen beta chain (фибриноген бета-цепь)	FGB	55.89226	3.721	0.604	0.571	-0.219
P01024	Complement C3 (комплемент C3)	C3	187.0299	3.393	1.040	0.531	0.017
P00738	Haptoglobin (гаптоглобин)	HP	45.17656	3.391	1.038	0.530	0.016
P01009	Alpha-1-antitrypsin (Альфа-1-антитрипсин)	SERPINA1	46.70702	3.371	0.404	0.528	-0.393
P02765	Alpha-2-HS-glycoprotein (Альфа-2-(HS)-гликопротеин)	AHSG	39.29971	3.053	3.759	0.485	0.575
P12277	Creatine kinase B-type (креатинин киназа типа B)	CKB	42.61732	3.053	0.302	0.485	-0.519
P01857	Immunoglobulin heavy constant gamma 1 (тяжелые цепи иммуноглобулина гамма 1)	IGHG1	36.08317	2.949	1.387	0.470	0.142
P02652	Apolipoprotein A-II (аполипопротеин A2)	APOA2	11.1679	2.799	0.756	0.447	-0.122
P02751	Fibronectin (фибронектин)	FN1	262.4601	2.252	0.454	0.353	-0.343
P68363	Tubulin alpha-1B chain (тубулин альфа-1B цепь)	TUBA1B	50.1196	2.168	0.217	0.336	-0.663
P02647	Apolipoprotein A-I (аполипопротеин A1)	APOA1	30.75893	2.154	0.527	0.333	-0.278
P01859	Immunoglobulin heavy constant gamma 2 (тяжелые цепи иммуноглобулина гамма 2)	IGHG2	35.87776	2.082	1.761	0.318	0.246
P02790	Hemopexin (гемопексин)	HPX	51.64327	1.908	2.789	0.281	0.445
P02787	Serotransferrin (сераототрансферрин)	TF	77.01363	1.774	1.667	0.249	0.222
P04350	Tubulin beta-4A chain (тубулин бета-4A цепь)	TUBA4A	49.5539	1.679	0.629	0.225	-0.201
P10909	Clusterin (кластерин)	CLU	52.46101	1.527	2.463	0.184	0.391
Q02413	Desmoglein-1 (десмоглеин-1)	DSG1	113.6759	1.432	0.053	0.156	-1.273
P04083	Annexin A1 (аннексин a1)	ANXA1	38.68998	1.405	0.332	0.148	-0.478
P04406	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (дегидрогеназа глицеральдегида-3-фосфата)	GAPDH	36.0304	1.309	0.504	0.117	-0.298
P01834	Immunoglobulin kappa constant (иммуноглобулин каппа константный)	IGKC	11.75777	1.138	1.900	0.056	0.279
P06702	Protein S100-A9 (белок S100-A9)	S100A9	13.23351	1.086	1.252	0.036	0.098
P69905	Hemoglobin subunit alpha (гемоглобин субъединица альфа)	HBA1	15.24793	1.057	2.915	0.024	0.465
P68871	Hemoglobin subunit beta (гемоглобин субъединица бета)	HBB	15.98829	1.056	1.980	0.023	0.297
P01876	Immunoglobulin heavy constant alpha 1 (тяжелые цепи иммуноглобулина альфа1)	IGHA1	37.63064	1.018	1.618	0.008	0.209
P01036	Cystatin-S (цистатин C)	CST4	16.20397	0.609	0.281	-0.215	-0.551
P02452	Collagen alpha-1 (коллаген альфа-1)	COL1A1	138.8566	0.596	1.042	-0.225	0.018
P31025	Lipocalin-1 (липокалин-1)	LCN1	19.23781	0.509	0.252	-0.293	-0.599
P12273	Prolactin-inducible protein (пролактин-индуцированный белок)	PIP	16.5618	0.305	0.312	-0.515	-0.505
P08123	Collagen alpha-2 (коллаген альфа-2)	COL1A2	129.2354	0.277	0.452	-0.557	-0.345
P25311	Zinc-alpha-2-glycoprotein (цинк-альфа2-гликопротеин)	AZGP1	34.2371	0.238	0.439	-0.624	-0.358

MW – молекулярная масса белка; dNSAF – линейная шкала, Ig – логарифмическая шкала

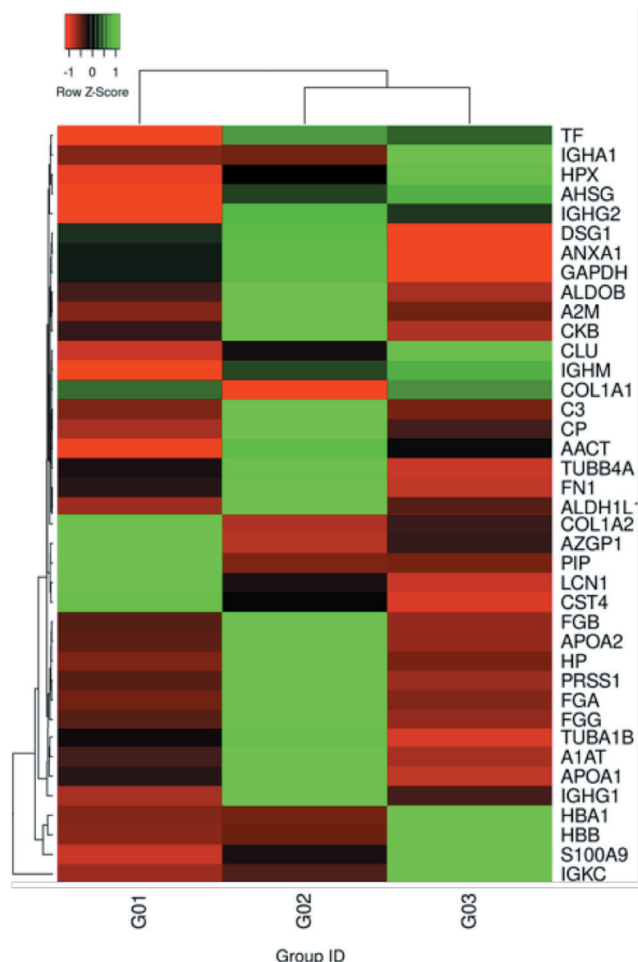


Рис. 2. Тепловая карта ранжированного распределения белков внутри каждой группы и между группами исследования

Fig. 2. Heat map of the ranked distribution of proteins within each group and between groups

Полуколичественный анализ по алгоритму dNSAF проводили на выборке конститутивного протеома из 39 белков (таблица 2). Контрольной группы сравнения выступала группа G01 – интактная пульпа. Для опреде-

ления гетерогенности исследуемых групп по ранжированному распределению белков конститутивного протеома была построена тепловая карта распределения групп и белков с их кластеризацией методом ранговой корреляции Кендалла (рисунок 2). Согласно данным тепловой карты, представленной на рисунке 2, группы G02 и G03 объединены в один кластер, тогда как группа G01 является наиболее дистальной от исследуемых групп (горизонтальная дендрограмма), что позволяет дифференцировать контрольную группу от экспериментальных путём сравнительного рангового анализа протеомов. Согласно результатам исследования, группы G01, G02 и G03 достоверно отличаются друг от друга на уровне значимости $0.0042 < 0.005$.

В таблице 2 представлены белки конститутивного протеома групп исследования со значениями полуколичественных динамических изменений. Значимыми изменениями считаются те, для которых $FC > 2$ или $FC < 0.5$ (в линейно шкале величин, FC – Fold Change) при $p < 0.005$ (с поправкой Бонферрони). Среди белков конститутивного протеома можно выделить 3 основные группы белковых фракций: структурные белки (COL1A1, COL1A2 и др.), защитные белки (IGHM, C3, ANXA1, IGHA1 и др.), белки, подавляющие протеолиз (SERPINA3, SERPINA1, CST4 и др.). У идентифицированных белков были проанализированы следующие характеристики: участие в биологических процессах, внутриклеточная локализации и их молекулярные функции (диаграмма 1, диаграмма 2).

Согласно результатам расчета непараметрического аналога дисперсионного анализа – теста Крускал-Уоллиса для несвязанных выборок, имеются существенные различия в количестве белка альфа-1-антихимотрипсин (AACT) между группой контроля и группами начального и острого пульпита на уровне $p < 0.001$. В группе образцов дентинной жидкости с начальным пульпитом был выявлен наибольший уровень экспрессии AACT ($p < 0.001$), который снижался в процессе развития воспаления. При этом, белок AACT в группе G02 в 48 раз больше, чем в контрольной группе, в то время как в группе G03 в 27 раз больше и 21 раз меньше, чем в группах G01 и G02 соответственно. Если рассмотреть функциональную активность данного бел-

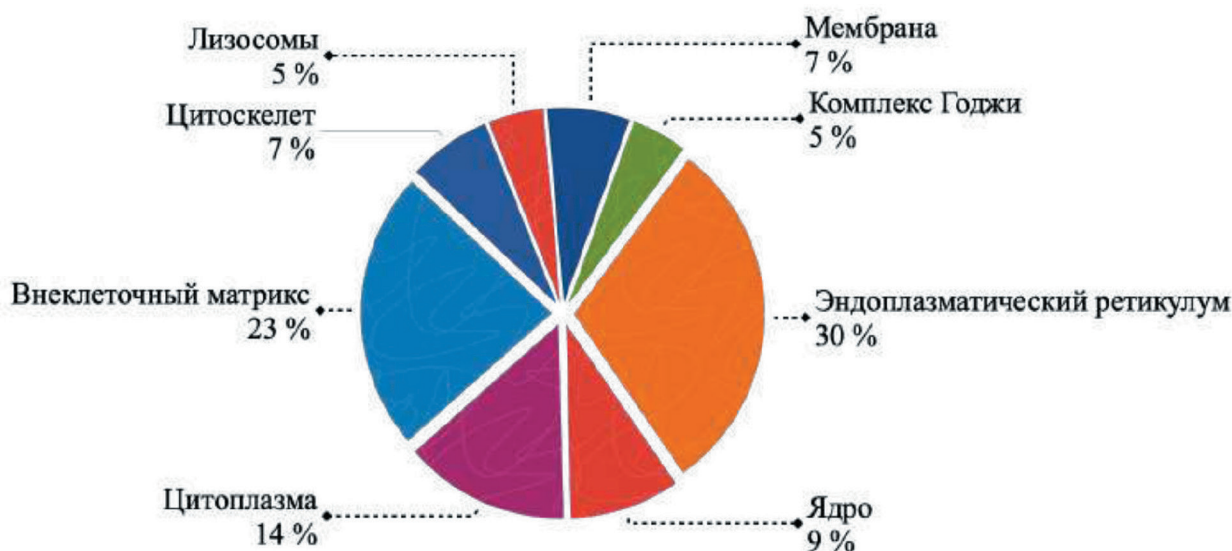


Диаграмма 1. Распределение идентифицированных белков конститутивного протеома согласно их внутриклеточной локализации

Diagram 1. Distribution of identified proteins of the constitutive proteome according to their intracellular localization

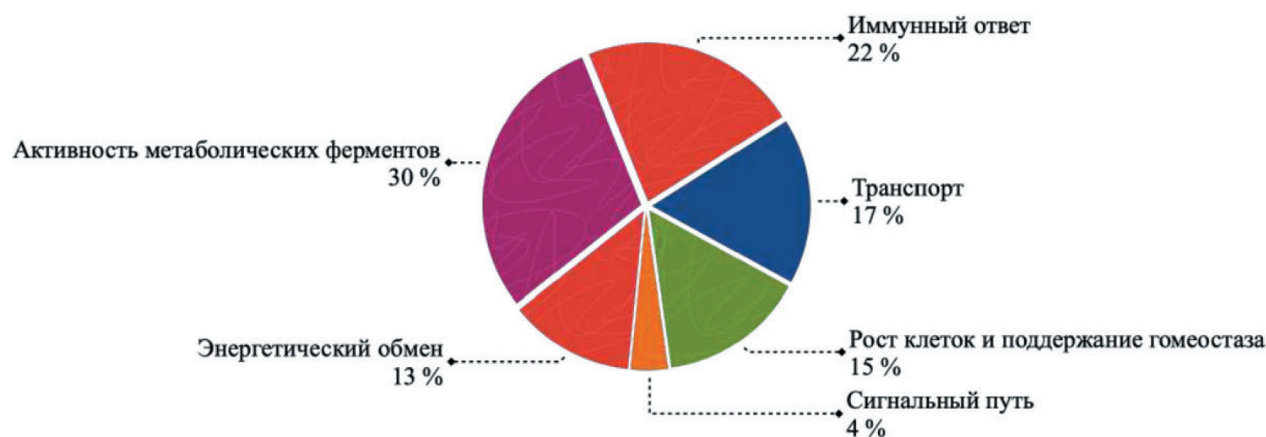


Диаграмма 2. Распределение идентифицированных белков конститутивного протеома согласно их обобщенным биологическим функциям

Diagram 2. Distribution of identified proteins of the constitutive proteome according to their generalized biological functions

ка, ААСТ – это представитель семейства белков острой фазы ингибитора сериновых протеиназ, например катепсина G, который продуцируется в нейтрофилах, что защищает ткани от повреждений, вызванных протеолитическими ферментами. Этот белок одним из первых индуцируется при воспалении [13].

При помощи хромато-масс-спектрометрического метода исследования протеома проб дентинной жидкости зубов в норме и на различных стадиях воспаления пульпы были обнаружены значительные изменения в белковом составе дентинного ликвора при начальном и остром пульпите, что связано с активацией провоспалительных и противовоспалительных каскадов. Полученные результаты убедительно доказывают, что регуляторные взаимодействия с участием белков в дентино-пульпарном комплексе при воспалении играют важнейшую роль.

Наиболее высокая активность белковых фракций при развитии воспаления в тканях пульпы была замечена в функциональных категориях белков, которые вовлечены в метаболический обмен и иммунный ответ. Так, наиболее специфичной белковой идентификацией для экспериментальных групп начального и острого пульпита оказался белок острой фазы воспаления – альфа-1-антихимотрипсин.

Важно заметить, что ААСТ – это один из первых белков острой фазы, активность которого резко повышается в ответ на воспаление [14]. Главная физиологическая функция заключается в ингибировании нейтрофильной эластазы, протеазы, гидролизующей структурные протеины. При воспалении функция белка ААСТ заключается в защите тканей от повреждений, вызванных протеолитическими ферментами [13-14].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кречина Е.К., Волков А.В., Абдурахманова З.У. Обоснование применения биоактивных цемента для сохранения жизнеспособности пульпы при ее случайном вскрытии. *Стоматология*. 2021;100(1):1114. <https://doi.org/10.17116/stomat202110001111>
2. Bjørndal L, Simon S, Tomson PL, Duncan HF. Management of deep caries and the exposed pulp. *International Endodontic Journal*. 2019;52(7):949-973. <https://doi.org/10.1111/iej.13128>
3. Ricucci D, Siqueira JF, Li Y, Tay FR. Vital pulp therapy: histopathology and histobacteriology-based guidelines to treat teeth with deep caries and pulp exposure. *Journal of Dentistry*. 2019;86: 41-52. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2019.05.022>
4. Янушевич О.О. Десневая жидкость. Неинвазивные исследования в стоматологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019.

Следует заключить, что по данным протеомного профиля дентинной жидкости зубов белковую фракцию ААСТ целесообразно рассматривать в качестве специфического маркера воспаления при болезнях пульпы. Таким образом, углубленное изучение количества белка ААСТ в образцах дентинной жидкости стало основой для создания новых методов диагностики состояния пульпы зубов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые выполненный протеомный анализ дентинной жидкости зубов человека показал наличие более 200 различных белков, при этом большинство белковых молекул встречаются в других тканях организма, и только небольшая часть уникальна для дентино-пульпарного комплекса зуба.

По результатам высокотехнологичного исследования были созданы протеомные карты дентинной жидкости зубов в норме, при начальном и остром воспалении пульпы. Всего было идентифицировано 39 белков, которые являются общими для всех групп сравнения и представляют конститутивный протеом. Было выявлено, что белковую фракцию альфа-1-антихимотрипсин целесообразно рассматривать в качестве специфического маркера воспаления при болезнях пульпы, в частности, для диагностики начального пульпита.

ВЫВОДЫ

Таким образом, исследования показали теоретическую и практическую возможность использования дентинного ликвора и содержащихся в нем маркеров воспаления для создания новых методов диагностики болезней пульпы зубов.

5. Rechenberg, DK, Zehnder M. Molecular diagnostics in endodontics. *Endodontics Topics*. 2014;30:51-65. <https://doi.org/10.1111/etp.12057>
6. Волгин М., Петин К., Митронин А., Кильбасса А. Сравнительный анализ профилей экспрессии генов ИЛ-1-бета, ЦОГ-2 и Коллагеназы II типа в тканях пульпы зубов с проявлением острого воспалительного процесса. *Эндодонтия Today*. 2016;14(4):16-20. Volgin M., Petinov K., Mitronin A., Kil'bassa A. The comparative analysis of the gene expression profiles of IL-1 β , COX-2 and Collagenase type II in inflamed dental pulps. *Endodontics Today*. 2016;14(4):16-20. (In Russ.)
7. Rechenberg DK, Galicia JC, Peters OA. Biological markers for pulp inflammation: a systematic review. *PLOS One*. 2016;29(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167289>

8. Archakov AI, Aseev AL, Bykov VA. Challenges of the Human Proteome Project: 10-Year Experience of the Russian Consortium. *Journal of Proteome Research*. 2019;18(12):4206-4214. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00358>

9. Jäger M., Eckhardt A, Pataridis S. Proteomic analysis of human tooth pulp proteomes – Comparison of caries-resistant and caries-susceptible persons. *Journal of Proteomics*. 2016;145:127-136. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.04.022>

10. Мильман Б.Л., Журкович И.К. Масс-спектрометрический анализ медицинских объектов и проблемы клинической диагностики. *Журнал аналитической химии*. 2015;70(10):1026-1039. Mil'man B.L., Zhurkovich I.K. Mass spectrometric analysis of medical samples and aspects of clinical diagnostics. *Zhurnal analiticheskoi khimii*. 2015;70(10):1026-1039. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/s0044450215100138>

REFERENCES

1. Krechina EK, Volkov AV, Abdurakhmanova ZU. Rationale for the use of bioactive cements by in vitro simulation of accidental pulp opening. *Stomatologiya*. 2021;100(1):1114. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/stomat202110001111>

2. Bjørndal L, Simon S, Tomson PL, Duncan HF. Management of deep caries and the exposed pulp. *International Endodontic Journal*. 2019;52(7):949-973. <https://doi.org/10.1111/iej.13128>

3. Ricucci D, Siqueira JF, Li Y, Tay FR. Vital pulp therapy: histopathology and histobacteriology-based guidelines to treat teeth with deep caries and pulp exposure. *Journal of Dentistry*. 2019;86: 41-52. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2019.05.022>

4. Janushevich O.O. Gingival fluid. Noninvasive studies in dentistry. Moscow: GEOTAR-Media, 2019. Rechenberg DK, Zehnder M. Molecular diagnostics in endodontics. *Endodontics Topics*. 2014;30:51-65. <https://doi.org/10.1111/etp.12057>

5. Volgin M., Petinov K., Mitronin A., Kil'bassa A. The comparative analysis of the gene expression profiles of IL-1β, COX-2 and Collagenase type II in inflamed dental pulps. *Endodontics Today*. 2016;14(4):16-20. (In Russ.).

6. Rechenberg DK, Galicia JC, Peters OA. Biological markers for pulpal inflammation: a systematic review. *PLOS One*. 2016;29(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167289>

7. Rechenberg DK, Galicia JC, Peters OA. Biological markers for pulpal inflammation: a systematic review. *PLOS One*. 2016;29(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167289>

8. Archakov AI, Aseev AL, Bykov VA. Challenges of the Human Proteome Project: 10-Year Experience of the Russian Consortium.

11. Zehnder M, Wegehaupt FJ, Attin T. A first study on the usefulness of matrix metalloproteinase 9 from dentinal fluid to indicate pulp inflammation. *Journal of Endodontics*. 2011;37:17-20. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.10.003>

12. Митронин А.В., Митронин Ю.А., Останина Д.А., Островская И.Г., Митронин В.А., Волгин М. Сравнительный анализ методов стимуляции и забора дентинной жидкости зуба: клинико-экспериментальное исследование. *Стоматология*. 2021;100(6):7-12.

13. Baker C, Belbin O, Kalsheker N, Morgan K. SERPINA3 (aka alpha-1-antichymotrypsin). *Frontiers in Bioscience*. 2007;12:2821-2835. <https://doi.org/10.2741/2275>

14. Akbor M., Kurosawa N., Nakayama H., Nakatani A., et. al. Polymorphic SERPINA3 prolongs oligomeric state of amyloid beta. *PLoS One*. 2021 Mar 4;16(3):e0248027. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248027>

Journal of Proteome Research. 2019;18(12):4206-4214. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00358>

9. Jäger M., Eckhardt A, Pataridis S. Proteomic analysis of human tooth pulp proteomes – Comparison of caries-resistant and caries-susceptible persons. *Journal of Proteomics*. 2016;145:127-136. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.04.022>

10. Mil'man B.L., Zhurkovich I.K. Mass spectrometric analysis of medical samples and aspects of clinical diagnostics. *Zhurnal analiticheskoi khimii*. 2015;70(10):1026-1039. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/s0044450215100138>

11. Zehnder M, Wegehaupt FJ, Attin T. A first study on the usefulness of matrix metalloproteinase 9 from dentinal fluid to indicate pulp inflammation. *Journal of Endodontics*. 2011;37:17-20. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.10.003>

12. Mitronin AV, Mitronin YuA, Ostanina DA, Ostrovskaya IG, Mitronin VA, Volgin M. Comparative analysis of methods to stimulate and collect dentinal fluid: a clinical and experimental study. *Stomatologiya*. 2021;100(6):7-12. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/stomat20211000617>

13. Baker C, Belbin O, Kalsheker N, Morgan K. SERPINA3 (aka alpha-1-antichymotrypsin). *Frontiers in Bioscience*. 2007;12:2821-2835. <https://doi.org/10.2741/2275>

14. Akbor M., Kurosawa N., Nakayama H., Nakatani A., et. al. Polymorphic SERPINA3 prolongs oligomeric state of amyloid beta. *PLoS One*. 2021 Mar 4;16(3):e0248027. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248027>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Митронин А.В.*¹ – профессор, доктор медицинских наук, декан стоматологического факультета МГМСУ, заведующий кафедрой кариесологии и эндодонтии, Заслуженный врач РФ; ORCID ID: 0000-0002-3561-6222.

*Останина Д.А.*¹ – кандидат медицинских наук, доцент кафедры кариесологии и эндодонтии МГМСУ, ORCID ID: 0000-0002-5035-5235.

*Митронин Ю.А.*¹ – аспирант, ассистент кафедры кариесологии и эндодонтии, ORCID ID: 0000-0002-3118-2869.

*Михайлова А.Е.*¹ – лаборант кафедры кариесологии и эндодонтии, ORCID ID: 0000-0002-9262-8051.

*Волгин М.А.*² – доктор медицинских наук, профессор кафедры терапевтической стоматологии и пародонтологии, ORCID ID: 0000-0003-3113-0804.

¹Кафедра кариесологии и эндодонтии. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 27473, Российская Федерация, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1.

²Дунайский Частный Университет, г. Кремс, 124 Steiner Landstrasse, 3500, Austria.

AUTHOR INFORMATION:

*Alexander V. Mitronin*¹ – Professor, Doctor of Medical Sciences, Dean of the Faculty of Dentistry, Head of the Department of cariology and endodontics, Honored Doctor of Russian Federation; ORCID ID: 0000-0002-3561-6222.

*Diana A. Ostanina*¹ – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of cariology and endodontics; ORCID ID: 0000-0002-5035-5235.

*Yuri A. Mitronin*¹ – postgraduate student, Assistant of the Department of cariology and endodontics; ORCID ID: 0000-0003-4732-0493.

*Anastasia E. Mikhailova*¹ – laboratory assistant, ORCID ID: 0000-0002-9262-8051.

*Michael Wolgin*² – Doctor of Medical Sciences, professor, the Centre for Operative Dentistry and Periodontology, ORCID ID: 0000-0003-3113-0804.

¹Department of Cariology and Endodontics. A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry. 20c1, Delegatskaya st, Moscow, 27473, Russian Federation.

²Danube Private University. 124 Steiner Landstrasse, 3500 Krems, Austria.

ВКЛАД АВТОРОВ:

Митронин А.В.- существенный вклад в замысел и дизайн исследования, критический пересмотр статьи в части значимого интеллектуального содержания; окончательное одобрение варианта статьи для опубликования.

Останина Д.А.- существенный вклад в замысел и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных;

Митронин Ю.А. – сбор данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи;

Михайлова А.Е. – сбор данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи;

Волгин М.А. – критический пересмотр статьи в части значимого интеллектуального содержания; окончательное одобрение варианта статьи для опубликования.

AUTHOR'S CONTRIBUTION:

Alexander V. Mitronin – has made a substantial contribution to the concept or design of the article; revised the article critically for important intellectual content; approved the version to be published;

Diana A. Ostanina – has made a substantial contribution to the concept or design of the article; the acquisition, analysis, or interpretation of data for the article.

Yuri A. Mitronin. – the acquisition, analysis, or interpretation of data for the article; drafted the article.

Anastasia E. Mikhailova – the acquisition, analysis, or interpretation of data for the article; drafted the article.

Michael Wolgin – revised the article critically for important intellectual content; approved the version to be published.

Координаты для связи с авторами/ Correspondent author:

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