

*На правах рукописи*

**ОСТРОВСКАЯ ИРИНА ГЕННАДЬЕВНА**

**РОЛЬ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ В ОБЕСПЕЧЕНИИ  
РЕЗИСТЕНТНОСТИ ТКАНЕЙ КОМПЛЕКСА ПУЛЬПА-ПЕРИОДОНТ  
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ**

03.01.04 – Биохимия (медицинские науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Москва - 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

**Научные консультанты:**

доктор медицинских наук, профессор **Вавилова Татьяна Павловна**  
доктор медицинских наук, профессор **Митронин Александр Валентинович**

**Официальные оппоненты:**

**Бородулин Владимир Борисович**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой биологической химии;

**Давыдов Вадим Вячеславович**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры биологической химии;

**Синицкий Антон Иванович**, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, и.о. заведующего кафедрой биологической химии (биохимии) имени Р.И. Лифшица

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г. в \_\_\_ на заседании диссертационного совета Д 208.084.05 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, по адресу: 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026, г. Рязань, ул. Шевченко, 34) и на сайте [www.rzgmu.ru](http://www.rzgmu.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 года

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук, доцент

Фомина М.А

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Пульпа зуба представляет собой особый вид соединительной ткани, в которой расположен слой одонтобластических и других клеток. Она участвует в развитии, росте зубов и обладает способностью дать адекватный ответ на различные воздействия. Анатомическая изолированность от внешней среды и тесное пространство эволюционно наделили пульпу мощными механизмами специфической защиты - врождённым и приобретённым (Вавилова Т.П., Островская И.Г., 2008). Особенностью этой ткани является производство дентина и поддержание его биологической и физиологической жизнедеятельности, что выделяет пульпе основную роль в поддержании гомеостаза твердых тканей зуба, поскольку развитие патологий твердых тканей зуба напрямую связаны с витальностью пульпы (Bagramian R.A. et al., 2009). Изучаются потенциальные возможности для регенерации пульпы зуба, которые с каждым днем увеличиваются благодаря достижениям современной эндодонтии (Demarco F.F., 2011). В результате этих исследований была доказана ведущая роль пульпы в защите структур твердых тканей зуба от повреждения, что в первую очередь реализуется за счет разнообразия её клеточного состава. Морфологические исследования показали идентичность структур пульпы временных и постоянных зубов (Sari S. et al., 1999; Simsek S., Duruturk L., 2005). Считается, что в отличие от пульпы временных зубов, пульпа постоянных зубов обладает возможным потенциалом для восстановления (Monteiro J., et al., 2009).

Биохимические процессы в пульпе зуба, в основном, связаны с её клетками. Они поддерживают жизнеспособность пульпы, обновление межклеточного матрикса и способствуют ответной реакции клеток пульпы на раздражение (Bender I.V., 2000). Наряду со структурными белками в пульпе зуба присутствует большое количество ферментов, участвующих в различных реакциях (Вавилова Т.П., Островская И.Г., 2008). Метаболически активное состояние пульпы является важнейшим условием здоровья и

сохранности зуба. Она обеспечивает защиту эмали и дентина от инвазии патогенов, осуществляет доставку органических и неорганических компонентов через отростки одонтобластов в минеральную зону зуба (Вавилова Т.П., Островская И.Г., 2008). Большое количество кровеносных капилляров и нервных волокон делает пульпу зуба крайне чувствительной к различным воздействиям внешней и внутренней среды (Быков В.Л., 1998). Скоординированные реакции, протекающие в пульпе зуба и периодонте, обеспечивают динамическое равновесие в период адаптации зубочелюстной системы к изменению условий внешней и внутренней среды. Пульпа зуба является источником большого числа плюрипотентных клеток, которые могут способствовать ее регенерации (Велиханова Л.К., Фирсова И.В., 2013). Однако, несмотря на имеющийся регенеративный потенциал, патологические процессы, вызываемые бактериальной микрофлорой и изменениями параметров окружающей среды, зачастую приводят к необратимым изменениям в пульпе зуба (Островская И.Г., 2008; Сирак С.В. с соавт., 2011; Паразян Л.А., 2017).

Клиническими исследованиями установлено, что стоматологические манипуляции, анестетики и лекарственные препараты, воздействие на зуб различных видов излучений и критических температур вызывают реакцию пульпы зуба (Мороз Б.Т. с соавт., 1989; Кортников И.В., 1997; Коржукова М.В., 2001; Зюзьков Д.И., 2004; Путь В.А., 2005; Стюф Я.В. 2007; Махмудов Д.Т., 2007; Рассадина А.В., 2008; Московский А.В., 2009; Митронин А.В., Чунихин А.А., 2010; Харченко Д.А., 2013; Шамхалов Д.И., 2013). Сдвиги в метаболических процессах пульпы зуба могут вызывать попадание различных химических соединений в живой организм, как с пищей, так и в виде лекарственных средств (Краснова Е.А., Деньга О.В., 2011; Лолаева А.В., 2011). Развитие кариозного процесса сопровождается образованием полости в зубе, в которую по мере её разрастания попадают различные патогены, являющиеся причиной воспалительной реакции в пульпе зуба. Сложившаяся ситуация нередко приводит к осложнениям воспалительного характера, но

уже в тканях, окружающих зуб (Максимовский Ю.М., Митронин А.В., 2011). Поэтому необходимо исследование роли белков и пептидов в реализации ответа пульпы зуба на локальные и системные воздействия для предупреждения развития патологических изменений.

Известно, что ответ организма на любое воздействие сопровождается последовательностью реакций, как на физиологическом, так и на биохимическом уровне, которые обеспечивают устойчивость организма к факторам внешней и внутренней среды (Перцов С.С. с соавт., 2010). Под воздействием раздражающих факторов в клетках происходит изменение экспрессии генов, что приводит к изменению уровня синтеза определенных белков (Ferris D.K. et al., 1988), которые могут обеспечить защитную реакцию, запустить пролиферацию клеток или активировать апоптоз (Feng Q., et al., 2017). В последнее время особое место в реализации защитной реакции тканей полости рта отводится антимикробным пептидам, обладающим широким спектром протекторных свойств (Вавилова Т.П. с соавт., 2015).

Однако, несмотря на целый ряд исследований, единого взгляда на оценку восстановления пульпы зуба пока не существует. В связи с этим изучение роли различных белков и пептидов в реализации ответа пульпы зуба на стимулы различного характера представляется особенно важным для выявления механизмов адаптации этой ткани, как при воспалении, так и при воздействии ятрогенных факторов. Понимание этих механизмов может заложить основу для разработки новых подходов к терапии в стоматологии.

### **Степень разработанности темы**

Ранее при изучении пульпы зуба чаще затрагивались вопросы, касающиеся её структурно-функциональной организации (Hillmann G., Geurtsen W., 1997; Гемонов В.В. и др., 2002). Свой вклад в решение и изучение проблемы внес А.В. Московский (2010), который, проведя морфологические исследования, установил наличие фагоцитарной инфильтрации и дегрануляцию тучных клеток пульпы зуба при глубоком

кариесе и пульпите. Однако, эта работа уделяет внимание лишь части проблемы, а именно, роли клеточного звена в иммунном ответе пульпы зуба на повреждение.

Многие исследователи занимались изучением механизмов образования репаративного дентина, поскольку этот процесс является выражением соответствующей степени жизнедеятельности пульпы и её биологической ценности (Linde A. et al., 1989; Jaber L. et al., 1992; Tziafas D., 1995; Bjrndal L., Mjör I.A., 2001; Goldberg M. et al., 2006; Iohara K. et al., 2009).

Установлено, что, не только микробный фактор, но и локальный перегрев тканей зуба вызывает активацию лизосомальных ферментов в пульпе зуба (Большаков Г.В., Трусова Н.Ф., 1988; Паразян Л.А., 2017).

Было предложено большое количество различных методик, позволяющих провести прижизненное исследование пульпы зуба, а также лекарственных комбинаций, способствующих сохранению жизнеспособности пульпы (Жилина В.В., 1985; Комнов Д.В., 1989; Котомин Б.В., 1999 и др.). Однако, несмотря на все попытки, биологический метод лечения пульпы зуба, прошедший уже немалый путь с момента возникновения, всё ещё не находит достаточно широкого применения в лечебной практике. Поэтому, изучение активности ферментов и количества белков и пептидов в динамике развития воспалительного процесса под действием биологического фактора и его хронизации в пульпе зуба имеет важное биомедицинское значение. С одной стороны, оно позволит охарактеризовать спектр фармакологически значимых белков в новом биологическом объекте – пульпе зуба человека, а с другой – даст врачам-стоматологам новый диагностический и прогностический инструмент, использование которого позволит лучше оценить механизмы, ответственные за развитие пульпита.

### **Цель и задачи исследования**

**Цель:** изучить роль белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Сопоставить активность ряда ферментов, количество белков и пептидов, участвующих в апоптозе клеток, реакциях неспецифического иммунитета, минерального обмена и антиоксидантной защиты, а также содержание аминокислоты гомоцистеина в пульпе временных и постоянных зубов в норме и при воспалении.

2. Изучить по количеству  $\beta$ -трансформирующего фактора роста, инсулиноподобного фактора роста-1 и основного фактора роста фибробластов- $\beta$  регенераторный потенциал клеток пульпы временных и постоянных зубов в норме и при воспалении.

3. Провести сравнительный анализ белково-пептидного спектра и активности ферментов интактной пульпы временных и постоянных зубов человека и резцов крыс.

4. По активности щелочной фосфатазы и количеству кальций-связывающих белков и пептидов выявить реакцию одонтобластов пульпы резцов крыс на травму тканей полости рта.

5. Оценить реакцию клеток пульпы резцов крыс по активности ряда ферментов и количеству цитокинов на иммобилизацию, введение экзогенного мелатонина, селективных ингибиторов толл-подобного рецептора-4 и синтеза карнитина.

6. Установить влияние высокосахарозной диеты и добавок селена на активность протеиназ в пульпе развивающихся резцов крыс.

7. Разработать методы диагностики жизнеспособности клеток пульпы зуба и периодонта при воспалении и в динамике лечения пульпита с использованием показателей десневой жидкости.

### **Научная новизна исследования**

Проведены комплексные исследования по установлению роли белков и пептидов в реакции клеток пульпы человека и крыс на различные факторы, ранее не изученные в данном аспекте.

Впервые было проведено сравнительное исследование активности ферментов и содержания широкого спектра растворимых белков и пептидов в пульпе временных и постоянных зубов в норме, при глубоком кариесе и различных формах воспаления пульпы. Изучение количества основного фактора роста фибробластов- $\beta$ , инсулиноподобного фактора роста-1,  $\beta$ -трансформирующего фактора роста, остеокальцина, аннексина V, гомоцистеина, лактоферрина, каспазы-9, костного изофермента щелочной фосфатазы в пульпе временных и постоянных зубов человека в норме и при воспалении впервые показало возможности пульпы к репарации. Впервые в пульпе временных зубов при воспалении в стадию резорбции корня была выявлена активность глутатионпероксидазы, отсутствующая в пульпе интактных зубов человека и крыс. В пульпе постоянных зубов человека впервые были определены моноаминоксидазы и установлена их роль при остром пульпите. Впервые в пульпе временных и постоянных зубов при воспалении была изучена роль остеокластактивирующего фактора по коэффициенту sRANKL/OPG. Впервые было сопоставлено количество аннексина V, каспазы-9 и фактора некроза опухоли- $\alpha$  в образцах пульпы временных и постоянных зубов в норме и при хроническом пульпите с результатами электровозбудимости пульпы зуба.

Впервые в десневой жидкости по количеству провоспалительных цитокинов и лактоферрина, активности аспартильной и аланиновой трансаминаз была проведена оценка жизнеспособности клеток пульпы и периодонта временных зубов. Получен патент РФ на изобретение (№2558985 от 09.07.2015). Впервые была разработана и внедрена лечебная паста на основе оксида кальция и борнеола и биохимически подтверждена её эффективность для длительной сохранности жизнеспособности клеток корневой пульпы временных зубов. Получен патент РФ на изобретение (№2554809 от 01.06.2015).

Получены новые экспериментальные модели, позволившие изучить реакцию клеток пульпы резцов крыс на однократное и длительное действие

иммобилизации, введение экзогенного мелатонина, ингибиторов толл-подобного рецептора-4 и синтеза карнитина, высокосахарозной диеты с добавками селена. Впервые по активности щелочной фосфатазы и кальций-связывающих белков выявлена реакция одонтобластов пульпы резцов крыс на повреждение слизистой оболочки полости рта и установку силового модуля с усилием 100 г/с на резцы и моляры крыс.

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

Рассмотрена универсальность механизмов возникновения и развития патологического процесса в пульпе зубов человека в различные возрастные периоды. В основе методологии изучения проблемы воспаления пульпы зуба лежит уточнение этиологии и патогенеза отдельных нозологических форм пульпита с обсуждением характерных для них метаболических нарушений связанных с фосфорно-кальциевым обменом, иммунной защитой, апоптозом, регенерацией и каталитической активностью белков. Был использован системно-структурный подход при изучении реакции пульпы зуба на различные факторы, оказывающие действие на организм в целом.

Новые сведения об обменных процессах в пульпе зуба позволили получить значимые теоретические результаты в области прикладной биохимии, изучающей метаболические процессы в тканях полости рта. Инновационные сведения о реактивности и резистентности пульпы зуба вошли в основу учебной образовательной программы ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России по специальности 31.05.03 «Стоматология». Издано учебно-методическое пособие и монография.

Показатели десневой жидкости, наряду с клиническими параметрами, обобщены с целью их использования для диагностики обратимых и необратимых изменений в пульпе зуба и периодонте. Выявлена несостоятельность репаративных процессов при развитии пульпита постоянных зубов для восстановления пульпы до исходного уровня и благоприятный исход лечения возможен только на стадии глубокого кариеса.

В практическое здравоохранение внедрено оригинальное средство для лечения воспаления пульпы временных зубов биологическим методом (патент RU 2554809 от 01.06.2015); получен инновационный результат с коммерческим эффектом по внедрению в НИР неинвазивной методики для диагностики воспалительных процессов в пульпе временного зуба по соотношению активности аспартильной и аланиновой трансаминаз в десневой жидкости (патент RU 2558985 от 09.07.2015).

### **Методология и методы исследования**

Экспериментальная работа на животных выполнена с моделированием различных условий и сравнением данных основных и контрольных групп. Экспериментальными моделями являлись белые крысы-самцы, биоптаты пульпы временных и постоянных зубов человека и десневая жидкость, получение которых отвечало всем требованиям этического комитета по проведению научных исследований. Обработка данных исследования осуществлялась по принципу структуризации с использованием пакета прикладных программ. В исследовании использованы экспериментальные, инструментальные, лабораторные, морфологические, электронно-микроскопические, спектрофотометрический и турбидиметрический методы, иммуноферментный анализ, электрофоретическое разделение белков, клинические и статистические методы исследования.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Показан универсальный характер реакции пульпы человека и животных при воздействии разных факторов, что можно считать подтверждением общности проявлений реактивности и резистентности во всех группах исследования. Установлена разнонаправленная реакция пульпы резцов животных в зависимости от расположения на челюсти.

2. Пульпа временных зубов человека в норме и при воспалении характеризуется значительной интенсивностью обмена аминокислот, высоким содержанием белков, участвующих в апоптозе клеток и резорбции минерализованных тканей.

3. Особенностью пульпы постоянных зубов человека является высокий уровень белков, ответственных за неспецифический иммунитет, что позволяет ей длительное время противостоять действию патогенов, поступающих из кариозной полости.

4. Созданная имитационная модель травмы и иммобилизации у животных позволяет оценить реакцию пульпы зуба по активности ферментов и количеству белков, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене.

5. Введение экзогенных веществ в организм животных отражалось в пульпе резцов крыс активацией процессов окислительного дезаминирования аминокислот, гидролиза фосфатсодержащих соединений, свободнорадикального окисления, дисрегуляцией уровня цитокинов и активности лизосомальных ферментов.

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

Достоверность полученных результатов определяется достаточным количеством проведенных экспериментальных исследований на 245 белых беспородных крысах-самцах (980 образцах пульпы резцов) и 539 образцах пульпы зуба человека с использованием современных методов исследования: электронно-микроскопических, спектрофотометрических и турбидиметрических методов, иммуноферментного анализа, электрофоретического разделения белков, статистического анализа.

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на: 6-м Всероссийском стоматологическом форуме «Образование, наука и практика в стоматологии» «Дентал-Ревю» (Москва, 2009); 14-й Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 2009); Российской конференции «Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии», посвящённая 80-летию со дня рождения Р.И. Лившица (Челябинск, 2009); 8-м Всероссийском стоматологическом форуме «Образование, наука и практика в стоматологии» «Дентал-Ревю» (Москва, 2011); 16-й Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и

стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 2011); 16-й Всероссийской научно-практической конференции биохимиков и специалистов по лабораторной медицине (Омск, 2011); 4<sup>th</sup> World Astma & Copd Forum (Paris, France, 2011); 6<sup>th</sup> World Astma & Copd Forum (London, UK, 2013); 11-м Всероссийском стоматологическом форуме «Образование, наука и практика в стоматологии» «Дентал-Ревю» (Москва, 2014); 12<sup>th</sup> Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry (Sopot, Poland, 2014); Симпозиуме «Болезни твердых тканей зубов, пульпы и периодонта. Современные технологии диагностики, лечения, профилактики осложнений», посвященном 75-летию профессора Ю.М. Максимовского (Москва, 2015); VII Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в 21 веке» (Казань, 2015); Российской научно-практической конференции «Зубаировские чтения: Новое в коагулологии». «Медицинская биохимия: достижения и перспективы» (Казань, 2015); 13-м Всероссийском стоматологическом форуме «Образование, наука и практика в стоматологии» «Дентал-Ревю» (Москва, 2016); VIII Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в 21 веке» (Казань, 2016); Всероссийской научно-практической конференции «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2016); 7-й научно-практической конференции молодых ученых «Фундаментальные и прикладные проблемы стоматологии и челюстно-лицевой хирургии», ЦНИИС (Москва, 2016); IX Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в 21 веке» (Казань, 2017); совместном заседании кафедр биологической химии, общей и биорганической химии, нормальной анатомии человека, кариесологии и эндодонтии, пропедевтической стоматологии, хирургической стоматологии, ортопедической стоматологии и протетики ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России (Москва, 2017).

По теме диссертации опубликованы 42 печатных работы, из них 17 – в изданиях, включенных в перечень ВАК российских рецензируемых научных журналов, 2 патента РФ на изобретение, монография.

## **Реализация результатов исследования**

Результаты исследования внедрены и используются в учебном процессе кафедр биологической химии, кариесологии и эндодонтии, стоматологии детского возраста ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России. Полученные результаты представлены в российских и международных журналах; лекциях; методическом пособии и монографии; обучающих задачах. Диагностический метод определения состояния пульпы зуба по активности аланиновой и аспартильной трансминаз был внедрен в практическое здравоохранение с инновационным коммерческим эффектом.

## **Объем и структура диссертации**

Работа изложена на 238 страницах и состоит из введения, 3 глав, заключения, списка литературы и приложений, содержит 36 таблиц, иллюстрирована 34 рисунками и микрофотографиями. Указатель литературы содержит 475 источников, из них 106 отечественных и 369 зарубежных авторов.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **1.1. Методология и методы исследования**

#### **1.1.1. Дизайн экспериментальных исследований на животных**

Было проведено 8 серий эксперимента на 245 белых беспородных крысах-самцах. В I-ой серии эксперимента 64 белых крысят-отъемышей с массой 30-40 г. ежедневно содержали на экспериментальных диетах: 1-ая группа получала 68% сахарозы; 2-ая группа - 68% сахарозы+ 100 мкг/кг р-ра селенита натрия; 3-я группа - стандартная диета + 100 мкг/кг р-ра селенита натрия; 4-ая группа (контрольная) - стандартная диета. Во II-ой серии эксперимента использовали 30 белых беспородных крыс самцов массой 250-300 г. Опытным животным в икроножную мышцу одно, двух- и трехкратно вводили 0,15 мл 0,5% препарата Милдронат (Grindex, Латвия) - селективного ингибитора синтеза карнитина, а животным группы контроля при тех же условиях 0,9% р-р NaCl. В III-ей серии эксперимента использовали 14 белых

беспородных крыс самцов массой 250-300 г. Опытной группе животных однократно внутрибрюшинно вводили 2 мкг/кг препарата CLI-095 (InvivoGen, США) - селективного ингибитора TLR4, разведенного в 1 мл 0,9% р-ра NaCl, а животным контрольной группы вводили 1 мл 0,9% р-ра NaCl. В IV-ой серии эксперимента использовали 10 белых беспородных крыс самцов массой 250-300 г. Опытной группе животных в течение 8 дней внутрибрюшинно вводили 10 мг/кг мелатонина (Sigma, США), разведённого в 1 мл 0,9% р-ра NaCl, а животным контрольной группы - 1 мл 0,9% р-ра NaCl. В V-ой серии эксперимента использовали 60 белых беспородных крыс самцов массой 250-300 г. У животных под эфирным наркозом хирургическим инструментом проводили иссечение слизистого лоскута на внутренней стороне щеки слева. Контрольной группе животных не проводилась перфорация слизистой оболочки щеки. Животных декапитировали под эфирным наркозом на 1, 5, 8 и 15 сутки. В VI-ой серии эксперимента использовали 40 белых беспородных крыс самцов массой 300-350 г. Животным проводилось удаление моляров верхней и нижней челюсти. После операции животные в течение 7 и 14 дней получали медикаментозную терапию препаратами Амоксиклав (Лек, Словения), Лимфомиозот (Heel, Германия), Траумель С. В VII-ой серии эксперимента использовали 24 белых беспородных крыс самцов массой 250-300 г. Для моделирования ограничения подвижности животных ежедневно на 4 часа (9:00 – 13:00) помещали в индивидуальные пластиковые пеналы. В качестве контроля служили интактные особи, которых не подвергали иммобилизации. Крыс всех экспериментальных групп декапитировали на 1-е и 9-е сутки под эфирным наркозом. В VIII-ой серии эксперимента использовали 10 белых беспородных крыс самцов массой 350 г. У экспериментальных животных на нижнюю челюсть между первым левым моляром и резцом одноименной стороны под эфирным наркозом по методу Кобояши устанавливали силовую пружину с усилием 100 гс/см. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом через 9 дней после установки пружины.

### **1.1.2. Получение и подготовка образцов пульпы человека и животных для исследования**

У пациентов обоего пола в возрасте от 1 года до 58 лет в амбулаторных условиях Клинического центра Стоматологии и ЧЛХ МГМСУ им. А.И. Евдокимова по медицинским показаниям было извлечено 539 образцов пульпы зуба (306 - из постоянных и 233 из временных зубов человека). Состояние пульпы человека диагностировали по МКБ-10 (ВОЗ, 1999). Воспаленная пульпа была извлечена из зубов с кариозными полостями. Интактная пульпа была удалена из постоянных зубов по ортопедическим и ортодонтическим показаниям; временных зубов из удаленных ретинированных или сверхкомплектных зубов. Все пациенты подписывали согласие на проведение эндодонтического лечения зубов после удаления пульпы. Хранение информации о донорах пульпы зуба проводилось в условиях конфиденциальности.

У *животных* после декапитации выделяли фрагменты челюстей с зубами и помещали в лоток со льдом. Зубы извлекали из верхней и нижней челюсти, пульпу отделяли от минерализованной оболочки зуба при помощи байонетных щипцов и металлического пинцета.

У *человека* с помощью турбинного наконечника, со скоростью вращения 3000 об/мин., с непрерывным охлаждением, зуб рассверливался до вскрытия пульпарной камеры, далее пульпа извлекалась с применением пульпоэкстрактора. Перед извлечением пульпы для остановки кровотечения полость зуба обрабатывали дистиллированной водой и накладывали плотный сухой ватный шарик. При работе с интактными зубами, удалёнными по ортодонтическим показаниям, зуб фиксировался в гипсовом цоколе, пульпарная камера вскрывалась с использованием турбинного наконечника, со скоростью вращения 3000 об/мин., с постоянной подачей водяного охлаждения, и далее пульпа извлекалась при помощи пульпоэкстрактора.

Пульпу животного или человека промывали в 0,9% растворе NaCl, образец высушивали фильтровальной бумагой и взвешивали на электронных весах (вес пульпы человека колебался от 3 до 10 мг, резца крысы – от 10 до 25 мг). Ткань помещали в предварительно охлаждённую фарфоровую ступку с добавлением 5 мкг алюмосиликатного порошка и 0,5 молярного раствора трис-HCl буфера (pH=7,3) из расчёта на вес ткани 1мг/10 мкл. Смесь доводили до гомогенного состояния, затем полученный гомогенат помещали в стерильную пластиковую пробирку с плотной крышкой и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут. После центрифугирования из пробирки извлекали надосадочную жидкость (супернатант), которую использовали для дальнейшего исследования.

### **1.1.3. Методы диагностики и лечения пульпы зуба с использованием показателей десневой жидкости**

Было проведено лечение пульпита 125 временных зубов методом пульпотомии у 75 детей от 3-х до 8-и лет. Пульпит был диагностирован согласно Международной классификации ВОЗ (1999) по данным анамнеза, ЭОД и рентгенографии. Пациентам 1-ой группы (n=25) на корневую пульпу помещали лечебную пасту, состоящую из оксида кальция (группа сравнения). Пациентам 2-ой группы (n=25) в качестве лечебной прокладки использовали оксид кальция и эвгенол (группа сравнения). У пациентов 3-й группы (n=25) лечебная паста состояла из оксида кальция и борнеола (основная группа). На начальном этапе лечения пульпита проводилась девитализация коронковой части пульпы зуба. Во всех случаях реставрация после пульпотомии проводилась с помощью композита светового отверждения. Результаты лечения оценивались через 6 и 12 месяцев по данным рентгенографии, электроодонтодиагностики (ЭОД), показателям десневой жидкости (ДЖ). Для проведения ЭОД пульпы зуба использовался портативный тестер «Паркелл».

Элюаты десневой жидкости были получены следующим образом. Перед забором материала изготавливались полоски из

хроматографической бумаги длиной 15 мм, шириной 4 мм, один край полоски был заострѐн. Зубы протирали от зубного налѐта и высушивали ватными тампонами. После этого чистые полоски острым концом вводили в устье десневой борозды, продвигая на глубину до 1 мм по направлению ко дну борозды. Время забора ДЖ составляло 5 минут. Затем полоску извлекали и помещали в пробирку, содержащую 0,5 мл 0,9% р-ра NaCl, и оставляли для элюации при температуре +4°C на 4 часа при периодическом помешивании.

#### **1.1.4. Подготовка пульпы резцов животных для гистологического исследования**

Морфологическое исследование проводилось у животных VII-ой серии эксперимента. Извлекали нижнюю челюсть, выделяли резцы с фрагментами костной ткани до первого моляра с опытной и контрлатеральной сторон. Удаленные зубы раскалывали и помещали в альдегидный фиксатор, а затем подвергали деминерализации в 10% растворе ЭДТА в течение 5 недель с добавлением декстрана с молекулярной массой 40 кДа. Затем пульпу извлекали, препараты окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Маллори и Ван Гизон. С помощью электронного микроскопа с увеличением до  $\times 1000$  изучали состояние пульпы нижних резцов опытной и контрлатеральной сторон.

#### **1.1.5. Биохимические показатели, определяемые в образцах**

Спектрофотометрическим методом определяли количество общего белка по О.Н. Lowry et al. (1951), продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП) (Биоконт, Россия); активность кислых (pH=3.8) и слабощелочных протеиназ (pH=7.5) по L. Anson (1938) в модиф. Т.П. Вавиловой (1991); лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), кислой фосфатазы (КФ),  $\alpha$ -гликозидазы ( $\alpha$ -ГЛ) (ЗАО Вектор Бест, Россия); моноаминоксидазы (МАО) типа А и В, семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (SSAO) по методике М.С. Anderson, К.Ф. Tipton (1994), супероксиддисмутазы (СОД),

глутатионпероксидазы (ГПО) (Randox, Великобритания), малатдегидрогеназы (Sigma, США) и выражали в МЕ/минг ткани. Турбидиметрическим методом определяли количество иммуноглобулинов (Ig) А, G, М (Human, Германия) и выражали в мг/%. Методом ИФА количество интерлейкинов (ИЛ)-1 $\beta$ , -4, -6, -10, фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), лактоферрина (ЗАО Вектор Бест, Россия); фактора роста фибробластов- $\beta$ , основная форма (ФРФ- $\beta$ ) (BioSource, Бельгия); инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1) (Mediagnost, Германия); остеокальцина (IDS, Великобритания);  $\beta$ -трансформирующего фактора роста (ТФР- $\beta$ ), аннексина V, остеопротегерина (OPG), каспазы-9 (Bender Medsystems, Австрия); гомоцистеина (Hcy) (AXIS, Польша); костного изофермента щелочной фосфатазы (BAP) (Quidel Corporation, США); растворимого рецептора ядерного фактора транскрипции каппа В (sRANKL) (Biomedica, Австрия).

#### **1.1.6. Методы статистической обработки результатов исследования**

Для оценки правильности определяли достоверность различий результатов и наличие статистической связи при помощи теста Стьюдента. При распределении малого числа наблюдений использовали тест Вилкоксона. Для оценки статистической связи использовался метод по Спирмену. При оценке достоверности различий сравниваемых показателей принят критерий значимости ошибки  $p < 0,05$ .

## **2.1. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **2.1.1. Спектр растворимых белков в пульпе временных и постоянных зубов в норме и при пульпите**

Электрофорез в ПААГ водорастворимых белков пульпы постоянного зуба человека позволяющий разделить белки по заряду и молекулярной массе (Mr), показал присутствие в этой ткани белков в диапазоне от 32 до 407 кДа (таблица1).

В интактной пульпе постоянных и временных зубов было выявлено по 8 белковых фракций с разной степенью электрофоретической подвижности. Это высокомолекулярные белки от 407 до 251 кДа, белки со средней Mr от 135 до 89 кДа и низкомолекулярные белки от 67 до 32 кДа. При этом, доля высоко- и низкомолекулярных белков была выше в пульпе постоянных зубов, а белки со средней Mr 309 и 102 кДа преобладали в пульпе временных зубов человека.

**Таблица 1** - Распределение белковых фракций (у.е.) в пульпе временных и постоянных зубов человека в норме и при воспалении

Mr, кДа	Rf	Постоянные зубы			Временные зубы	
		Интактная	ОП	ХП	Интактная	ХП
407	0,10	6,99	---	---	5,06	---
309	0,17	---	---	---	1,77	---
275	0,20	1,11	0,52	0,42	1,24	---
251	0,21	6,11	---	---	---	---
170	0,30	1,01	---	1,17	3,83	1,25
135	0,35	2,03	---	1,50	4,87	---
102	0,40	---	1,03	2,07	1,45	---
89	0,45	---	---	---	---	3,33
67	0,50	1,74	1,6	4,05	1,67	1,11
41	0,60	0,04	---	4,00	---	---
32	0,75	3,68	1,11	4,21	1,58	1,13
Все го	-	22,71	4,26	18,77	21,47	6,82

*Обозначения:* Rf – относительная электрофоретическая подвижность; ОП – острый пульпит; ХП – хронический пульпит

При остром пульпите в пульпе постоянных зубов количество белковых фракций сократилось вдвое, и выявлен белок с Mr 102 кДа. При хроническом пульпите постоянных зубов в пульпе исчезают белки весом 407 и 251 кДа и увеличивается количество белков с Mr 67, 41 и 32 кДа. Такое расположение белковых фракций было близко к показателям здоровой пульпы, но при этом четко выявлялось увеличение протеинов с малой Mr, которое, возможно, обусловлено повышенным поступлением из плазмы крови альбуминов, которые соответствуют белковой фракции с Mr 67-69 кДа (Rf = 0,60), а также распадом высокомолекулярных белков до

низкомолекулярных. При хроническом пульпите временных зубов выявлялись 4 белковые фракции и определялся белок с Mr 89 кДа. Таким образом, выявлены различия в белковом спектре пульпы временных и постоянных зубов, который существенным образом меняется при воспалении. Это послужило поводом к проведению дальнейших исследований по изучению количественного и качественного состава индивидуальных белков и пептидов в пульпе зуба человека при воспалении.

### **2.1.2. Активность ферментов и содержание белков и пептидов в пульпе временных и постоянных зубов человека**

В каждой белковой фракции присутствуют белки с разными свойствами и биологической активностью. Была проанализирована активность белков, участвующих в реакциях окислительно-восстановительных, трансаминирования, гидролиза и иммунной защиты.

Нами были выявлены существенные различия в активности ряда ферментов и количестве иммуноглобулинов в интактной пульпе постоянных и временных зубов человека (таблица 2, 3). Нашими методами в интактной пульпе временных и постоянных зубов не была выявлена активность ГПО, а активность СОД в пульпе временных зубов была в 2 раза ниже. Установлены незначительные отличия в активности МДГ ( $p > 0,05$ ) и отсутствие разницы в активности ЛДГ ( $p > 0,1$ ). Активность ЩФ, АСТ и АЛТ в пульпе временных зубов достоверно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) выше, чем в пульпе постоянных зубов. Количество IgG было выше в интактной пульпе временных зубов, а содержание IgM превалировало в пульпе постоянных зубов.

При гиперемии пульпы постоянных зубов человека активность СОД, ЩФ и содержание IgM достоверно ( $p < 0,001$ ) повышались, активность АЛТ существенно ( $p < 0,05$ ) снижалась, а активность МДГ, АСТ, ЛДГ,  $\alpha$ -Гл и содержание IgG достоверно не отличались ( $p > 0,05$ ) от данных, полученных при исследовании интактной пульпы.

**Таблица 2 - Показатели пульпы постоянных зубов человека в норме и при воспалении (M±m)**

Состояние пульпы зуба по МКБ-10	АСТ (ммоль/ мин·г ткани)	АЛТ (ммоль/ мин·г ткани)	ЛДГ (мкмоль/ мин·г ткани)	МДГ (ммоль/ мин·г ткани)	СОД (мкмоль/ мин·г ткани)	ЩФ (ммоль/ мин·г ткани)	α-ГЛ (ммоль/ мин·г ткани)	IgM (мг/%)	IgG (мг/%)	IgA (мг/%)
Интактная пульпа (n=33)	17,1±3,14	2,40±0,79	27,2±3,11	10,2±1,41	6,30±1,26	40,2±8,45	1,20±0,07	1381±99,8	276±28,7	-
Гиперемия пульпы (K04.00) (n=12)	18,8±3,08	0,54±0,13*	20,0±4,08	12,4±0,12	42,3±5,14**	122±23,5**	1,00±0,13	1880±80,3*	297±34,5	-
Острый пульпит (K04.01) (n=11)	11,4±0,70*	0,76±0,19*	47,5±7,30**	6,90±0,33*	5,40±0,80	135±21,5**	18,0±3,80**	1378±67,8	-	-
Хроническ ий пульпит (K04.03) (n=24)	5,60±0,15**	0,01±0,006* *	1,30±0,04**	1,34±0,03**	6,30±1,40	13,0±2,30**	3,00±0,20**	1226±112	566±45,4*	-
Пульпарны й полип (K04.05) (n=5)	41,5±6,18**	18,6±4,10**	13,0±2,10**	4,53±0,09**	0,34±0,04**	9,50±1,80**	61,0±12,4**	-	-	36,3±4,56**

*Примечание:* достоверность отличий \* \*p<0,001; \*p<0,05 по сравнению с интактной пульпой

При остром пульпите наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) увеличение активности ЛДГ, ЩФ,  $\alpha$ -Гл и снижение активности МДГ, АСТ, АЛТ, практически не менялось количество IgM ( $p > 0,05$ ) и не определялся IgG. При хроническом пульпите, за исключением  $\alpha$ -Гл, выявлена достоверно ( $p < 0,05$ ) низкая активность АСТ, АЛТ, ЩФ и ЛДГ, что свидетельствует о снижении интенсивности метаболических процессов. Нами не обнаружены достоверные различия в активности СОД при остром и хроническом пульпите по сравнению с нормой. При хроническом пульпите выявлялась тенденция ( $p > 0,05$ ) к снижению уровня IgM, а количество IgG достоверно повышалось ( $p < 0,001$ ). В образцах полипа пульпы постоянного зуба человека выявлялась крайне низкая ( $p < 0,05$ ) активность ЛДГ, МДГ, СОД и ЩФ на фоне значительного повышения ( $p < 0,05$ ) активности АСТ, АЛТ и  $\alpha$ -ГЛ относительно активности этих ферментов в интактной пульпе и других форм воспаления пульпы. В пульпарном полипе не выявляли IgM и IgG, но наблюдалось появление IgA. Это свидетельствует о принципиальном морфологическом и метаболическом отличии полипа пульпы от интактной пульпы зуба.

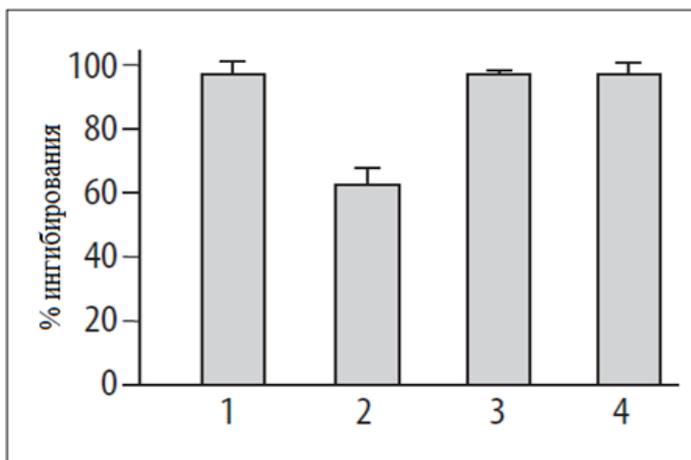
В пульпе временных зубов при воспалении активность ЛДГ, АЛТ и ЩФ достоверно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) повышалась, а активность АСТ, МДГ и СОД значимо не отличалась ( $p > 0,05$ ;  $p > 0,1$ ) от данных, полученных в интактной пульпе (таблица 3). Изучение активности ферментов в пульпе временных зубов в стадию резорбции корня выявило значимое увеличение активности ЛДГ ( $p < 0,001$ ), СОД ( $p < 0,05$ ), АСТ, АЛТ и ЩФ ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ), появление фермента ГПО и снижение активности МДГ ( $p < 0,05$ ) по отношению к показателям интактной пульпы и воспаленной пульпы в стадии физиологического покоя корня зуба. При хроническом воспалении в пульпе временных зубов количество IgG практически не менялось ( $p > 0,5$ ), а содержание IgM, напротив, достоверно возрастало ( $p < 0,05$ ). В стадию резорбции корня временного зуба при воспалении уровни IgG и IgM в пульпе не выявлялись.

**Таблица 3** - Показатели пульпы временных зубов человека в норме и при воспалении ( $M \pm m$ )

Показатели	Состояние пульпы по МКБ-10		
	Интактная (n=9)	Хронический пульпит (n=28)	Хронический пульпит в СРК (n=12)
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	30,3± 3,14	59,1±7,28*	237±26,9**
МДГ (ммоль/мин·г ткани)	7,44±2,15	8,41±2,83	4,23±1,01*
СОД (мкмоль/мин·г ткани)	2,91± 0,12	2,24±1,34	6,73± 1,33*
ГПО (ммоль/мин·г ткани)	-	-	0,39± 0,06**
АЛТ (ммоль/мин·г ткани)	84,8±10,7	233±35,4**	636±50,8**
АСТ (ммоль/мин·г ткани)	254±34,7	191±34,5	325±38,1*
ЩФ (ммоль/мин·г ткани)	72,1±9,51	365±47,4**	708±76,9**
IgM (мг/%)	254±10,2	472±48,4*	-
IgG (мг/%)	432±34,7	400±82,4	-

*Примечание:* достоверность отличий \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,001$  по сравнению с данными интактной пульпы; СРК - стадия резорбции корня зуба

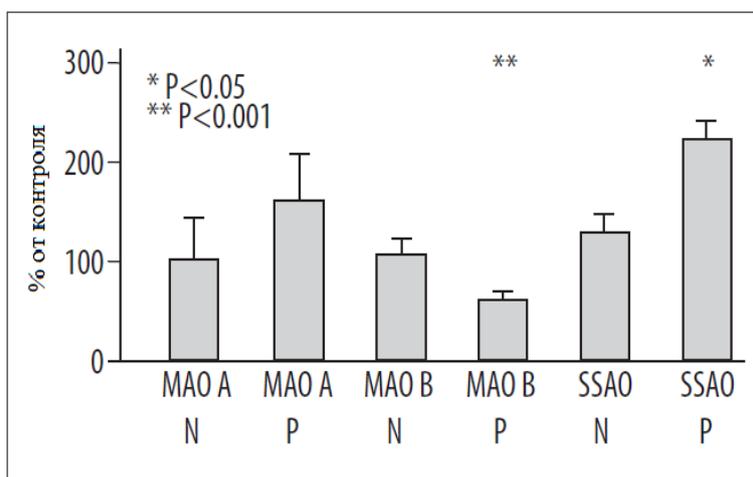
Исследование активности MAO показало, что в пульпе постоянных зубов человека, кроме MAO A и B, присутствует также SSAO (рисунок 1).



**Рисунок 1** - Проявление эффектов ингибиторов 1 mM хлоргилина (1–4) и 10 mM семикарбазида (3) на дезаминирование 5-гидрокситриптамина (4), а также низкой (10  $\mu$ M; 1) и высокой (50  $\mu$ M; 2, 3) концентрации фенилэтиламина гидрохлорида в гомогенатах пульпы (1–3, 4)

В присутствии хлоргилина активность MAO A и B в пульпе зуба человека полностью подавлялась, однако при высокой концентрации

фенилэтиламина остаточная аминоксидазная активность составила  $34,3 \pm 7,1\%$  от исходного уровня, что свидетельствовало о присутствии другой аминоксидазы, отличной от MAO A или B. Использование семикарбазида в сочетании с хлоргилином приводило к 100% ингибированию аминоксидаз в образцах пульпы. Было установлено, что в интактной пульпе постоянных зубов человека наибольшую активность проявляет MAO типа A ( $0,18 \pm 0,10$  нмоль/мин·мг ткани), достоверно ( $p < 0,05$ ) меньше MAO типа B ( $0,08 \pm 0,01$  нмоль/мин·мг ткани) и SSAO ( $0,02 \pm 0,004$  нмоль/мин·мг ткани).



**Рисунок 2** - Активность MAO в пульпе постоянных зубов человека в норме (N) и при остром воспалении (P). За 100% принимали активность MAO A и B, SSAO в интактной пульпе

При остром воспалении пульпы постоянного зуба суммарная MAO-активность была достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем в интактной пульпе ( $0,08 \pm 0,03$  против  $0,03 \pm 0,02$  нмоль/мин·мг ткани). На фоне острого пульпита активность MAO A была сопоставима с её уровнем в интактной пульпе, активность MAO B существенно снижалась ( $p < 0,001$ ), а активность SSAO достоверно возрастала ( $p < 0,05$ ) (рисунок 2).

### 2.1.3. Содержание растворимых белков и пептидов в пульпе временных и постоянных зубов при воспалении

В интактной пульпе временных и постоянных зубов человека было проведено сравнительное определение количества ряда других биологически активных растворимых белков и пептидов (таблица 4). В интактной пульпе постоянных зубов человека количество белков неспецифического иммунитета было выше – провоспалительного ИЛ-1 $\beta$ , противовоспалительного ИЛ-4 достоверно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ), а защитного белка лактоферрина недостоверно ( $p > 0,05$ ), чем в пульпе временных зубов. В

пульпе временных зубов человека, напротив, было выявлено высокое ( $p < 0,05$ ) содержание белков-маркеров апоптоза - аннексина V и ФНО- $\alpha$  и повышенное ( $p < 0,05$ ) количество костного изофермента ЩФ. В интактной пульпе постоянных зубов человека, в отличие от пульпы временных зубов, не выявлялись sRANKL и OPG. Содержание остеокальцина, факторов роста - фибробластов- $\beta$ , трансформирующего- $\beta$ , инсулиноподобного-1, а также каспазы-9 не имело достоверных отличий между изученными образцами пульпы. В интактной пульпе постоянных и временных зубов количество ТФР-1 $\beta$  превышает уровень оФРФ- $\beta$  и ИФР-1.

В пульпе временных и постоянных зубов при развитии хронического воспаления количество ИЛ-1 $\beta$  достоверно ( $p < 0,05$ ) снижалось, а содержание ИЛ-4 и лактоферрина повышалось ( $p > 0,05$ ;  $p < 0,001$ ). При хроническом воспалении в пульпе постоянных зубов не выявлялись изменения ( $p > 0,05$ ) в количестве каспазы-9, а в пульпе временных зубов наблюдалось её достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение. Хронический пульпит в постоянных и временных зубах человека сопровождался достоверным ( $p < 0,05$ ) увеличением количества аннексина V, которое было более значимым в пульпе постоянных зубов. При воспалении в пульпе постоянных зубов количество ФНО- $\alpha$  недостоверно ( $p > 0,05$ ) возрастало, а в пульпе временных зубов это увеличение было более выражено ( $p < 0,05$ ). В стадию резорбции корня зуба в воспаленной пульпе временных зубов определялось наибольшее количество ФНО- $\alpha$  и аннексина V ( $p < 0,05$ ) по сравнению со значениями, полученными в образцах пульпы временных зубов при воспалении в стадии физиологического покоя корня зуба. Корреляционный анализ показал прямую высокодостоверную взаимосвязь между повышением уровня каспазы-9 ( $R=0,63$ ;  $p=0,0002$ ), аннексина V ( $R=0,71$ ;  $p=0,0005$ ), ФНО- $\alpha$  ( $R=0,59$ ;  $p=0,006$ ) и понижением электровозбудимости ткани в пульпе зуба при воспалении.

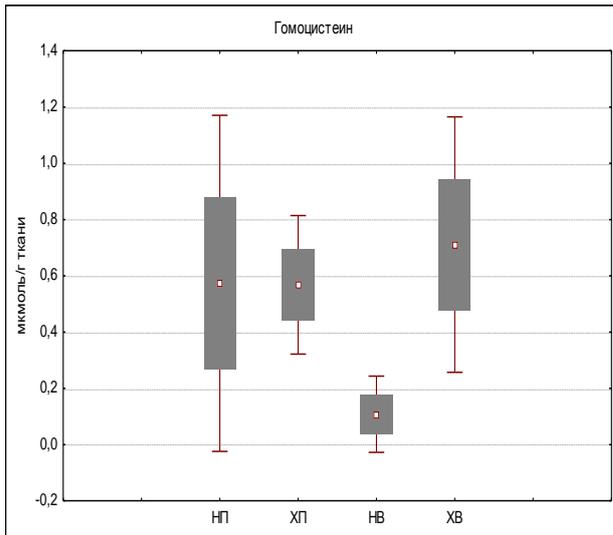
**Таблица 4** - Содержание растворимых белков и пептидов в пульпе временных и постоянных зубов в норме и при воспалении (M±m)

Показатели	Ед.изм	Постоянные зубы		Временные зубы	
		Интактная	ХП	Интактная	ХП
ИЛ-1β	пг/мг ткани	168±4,58	88,4±8,05*	10,4±0,89	1,29±0,24*
ИЛ-4	пг/ мг ткани	0,52±0,07	0,76±0,12	0,29±0,05	0,58±0,07
ЛФ	пг/ мг ткани	10,5±1,00	13,5±0,63	5,61±0,91	9,08±0,89*
Каспаза-9	нг/ мг ткани	1,53±0,31	1,02±0,10	1,37±0,70	4,71±0,54*
Аннексин V	пг/ мг ткани	0,67±0,11	0,88±0,03*	1,82±0,34	4,90±0,70*
ФНО-α	пг/ мг ткани	12,3±0,21	14,7±0,87	22,7±0,93	33,0±1,64*
ОК	нг/ мг ткани	5,11±1,27	2,12±0,62	3,71±1,12	1,77±0,39
ВAP	нг/ мг ткани	174±15,4	61,8±27,7*	199±21,8	145±52,1
sRANKL	пмоль/ мг ткани	-	3,36±0,81*	0,67±0,05	1,53±0,48
OPG	пмоль/ мг ткани	-	0,07±0,008*	0,07±0,02	0,006±0,001*
оФРФ-β	пг/ мг ткани	94,9±8,64	101±12,7	94,6±10,1	109±26,5
ИФР-1	пг/ мг ткани	5,64±0,73	9,86±1,63	3,08±0,24	6,97±2,81
ТФР-β	пг/ мг ткани	3319±400	2154±243	2500±126	1878±324

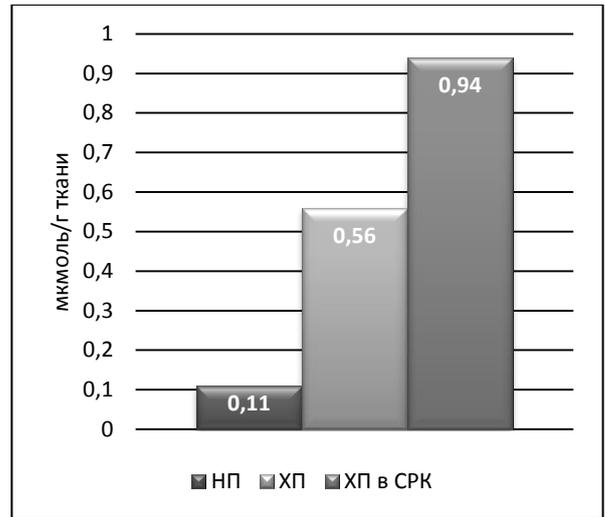
*Примечание:* достоверность отличий \* \*p<0,001; \*p<0,05 по сравнению с данными интактной пульпы; ХП – хронический пульпит.

Развитие хронического пульпита в постоянных и временных зубах человека сопровождалось недостоверным ( $p > 0,5$ ) снижением количества пептида остеокальцина относительно значений, полученных в образцах интактной пульпы. При хроническом воспалении в пульпе постоянных зубов человека наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение количества костного изофермента ЩФ, чего не обнаруживалось в пульпе временных зубов. В образцах пульпы постоянных зубов при хроническом воспалении выявлялись sRANKL и остеопротегерин. Иные изменения происходили в пульпе временных зубов. В этом случае при воспалении содержание sRANKL недостоверно ( $p > 0,05$ ) возрастало, а количество остеопротегерина, напротив, достоверно снижалось ( $p < 0,001$ ). Соотношение RANKL/OPG в пульпе постоянных зубов при воспалении составляло 48.7, а в пульпе временных зубов 12.7 (значения RANKL/OPG в интактной пульпе временных зубов равны 123). Об активации одонтокластов в пульпе временных зубов в стадию резорбции корня при воспалении свидетельствует выявленное еще большее увеличение в пульпе количество sRANKL и OPG ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ). При развитии хронического пульпита в пульпе временных и постоянных зубов количество оФРФ- $\beta$  практически не менялось ( $p > 0,5$ ), уровень  $\beta$ -трансформирующего фактора роста недостоверно понижался ( $p > 0,05$ ), а количество ИФР-1 имело тенденцию к повышению ( $p > 0,05$ ). В пульпе временных зубов в стадию резорбции корня зуба количество ФРФ- $\beta$  достоверно снижалось ( $p < 0,05$ ).

В интактной пульпе постоянных зубов содержание аминокислоты Hcy ( $0,57 \pm 0,18$  мкмоль/г ткани) было достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, по сравнению с пульпой временных зубов человека ( $0,11 \pm 0,03$  мкмоль/г ткани). При воспалении количество Hcy в пульпе временных зубов значительно ( $p < 0,05$ ) возрастало ( $0,71 \pm 0,10$  мкмоль/г ткани), а в пульпе постоянных зубов не менялось ( $p > 0,1$ ) ( $0,57 \pm 0,07$  мкмоль/г ткани) (рисунок 3). В то же время, в пульпе временных зубов при хроническом воспалении в стадию резорбции корня зуба количество Hcy было ещё выше ( $p < 0,05$ ) (рисунок 4).



**Рисунок 3** – Количество гомоцистеина (мкмоль/г ткани) в пульпе временных и постоянных зубов человека в норме и при хроническом воспалении. Примечание: НП - интактная пульпа постоянных зубов; ХП - хронический пульпит постоянных зубов; НВ - интактная пульпа временных зубов; ХВ - хронический пульпит временных зубов.



**Рисунок 4** – Количество гомоцистеина (мкмоль/г ткани) в пульпе временных зубов при хроническом воспалении в стадии резорбции корня. Примечание: НП - интактная пульпа; ХП - хронический пульпит в стадию завершеного апексогенеза; ХП в СРК - хронический пульпит в стадию резорбции корня зуба.

#### 2.1.4. Определение состояния пульпы временных зубов по показателям десневой жидкости

По показателям ДЖ изучена реакция пульпо-периодонтального комплекса на воспаление и репарацию после применения лечебных паст.

В ДЖ зубов с воспалением пульпы наблюдалась тенденция ( $p > 0,05$ ) к понижению активности АСТ и АЛТ (таблица 5).

**Таблица 5** – Показатели десневой жидкости и ЭОД в пульпе временных зубов в норме и при воспалении ( $M \pm m$  [min-max])

Показатели	Интактная (n=54)	Воспаление (n=72)
ЭОД (мкА)	4,52±0,64 [2,1;6,2]	38,0±3,57** [14,2;54,3]
АСТ (МЕ/л)	4,15±0,50 [2,6;5,7]	3,64±0,56 [2,13;7,8]
АЛТ (МЕ/л)	3,28±0,31 [2,3;4,5]	2,12±0,55 [0,94;6,4]
АСТ/АЛТ	1,26±0,03 [0,97;1,50]	1,96±0,59* [1,53;2,93]

*Примечание:* достоверность отличий \*\* $p < 0,001$ ; \* $p < 0,05$  по сравнению с данными интактной пульпы

Коэффициент, отражающий соотношение АСТ к АЛТ, в пульпе временных зубов при воспалении возрастал от 1,53 до 2,93 по сравнению с его значениями, полученными в пульпе интактных зубов ( $1,26 \pm 0,03$ ). Выявлена достоверная ( $p < 0,05$ ) отрицательная взаимосвязь между активностью АСТ, прямая положительная между активностью АЛТ и коэффициентом АСТ/АЛТ. Данная методика диагностики состояния пульпы зуба была защищена патентом (RU №2558985 от 09.07.2015).

Нами было установлено, что на фоне развития пульпита временных зубов количество ИЛ-1 $\beta$  в элюате ДЖ в 2 раза увеличивалось и выявлялся защитный белок ЛФ, который в норме в ДЖ отсутствует (таблица 6).

**Таблица 6** - Показатели десневой жидкости в пульпе временных зубов после лечения пульпита в динамике ( $M \pm m$ )

Пломбировочный материал	Сроки забора образцов ДЖ	Показатели	
		ИЛ-1 $\beta$ (пг/мл)	ЛФ (пг/мл)
Оксид кальция (n=25)	до лечения	13,9 $\pm$ 2,37*	5,43 $\pm$ 0,51**
	через 6 мес после лечения	65,4 $\pm$ 22,8**	0,003 $\pm$ 0,0004*
	через 12 мес после лечения	9,73 $\pm$ 2,03	-
Оксид кальция + эвгенол (n=25)	до лечения	13,6 $\pm$ 5,54*	5,65 $\pm$ 0,71**
	через 6 мес после лечения	33,4 $\pm$ 5,84**	-
	через 12 мес после лечения	6,47 $\pm$ 1,65	-
Оксид кальция+борнеол (n=25)	до лечения	15,4 $\pm$ 1,30*	4,39 $\pm$ 0,65**
	через 6 мес после лечения	10,8 $\pm$ 2,25**	0,002 $\pm$ 0,0007*
	через 12 мес после лечения	7,34 $\pm$ 2,03	-
Контрольные образцы (n=20)		6,68 $\pm$ 2,46	-

*Примечание:* достоверность отличий \*\* $p < 0,001$ ; \* $p < 0,05$  по сравнению с данными контроля

Лечение хронического пульпита оксидом кальция показало, что в элюате ДЖ через 6 месяцев после лечения выявлялось достоверное увеличение содержания ИЛ-1 $\beta$  ( $p < 0,001$ ) и снижение количества ЛФ ( $p < 0,001$ ), а через 12 месяцев количество исследованных показателей в элюате ДЖ практически не отличалось от данных контроля. В группах пациентов, которым проводилось лечение пульпита препаратом, содержащим оксид кальция и эвгенол, через 6

месяцев в ДЖ достоверно ( $p < 0,05$ ) возросло количество ИЛ-1 $\beta$  и исчез белок ЛФ, но через 12 месяцев уровень ИЛ-1 $\beta$  достоверно ( $p < 0,05$ ) снижался. После 6-ти месячного лечения лечения пульпита временных зубов оксидом кальция и борнеолом в элюатах ДЖ определялось наименьшее количество ИЛ-1 $\beta$ , а ЛФ не обнаруживался. Данная методика лечения пульпы зуба была защищена патентом (RU №2554809 от 01.06.2015).

### 2.1.5. Сравнительная характеристика активности ферментов и содержания ряда белков в интактной пульпе зубов человека и резцов крыс

Сравнение обменных процессов в интактной пульпе человека и крыс выявило ряд видовых особенностей (таблица 7).

**Таблица 7 - Показатели интактной пульпы зубов человека и крысы ( $M \pm m$ )**

Показатели	Временные зубы человека (n=30)	Постоянные зубы человека (n=33)	Резцы крыс (n=25)
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	30,3 $\pm$ 3,14	27,2 $\pm$ 3,11	62,4 $\pm$ 2,15**
МДГ (ммоль/мин·г ткани)	7,44 $\pm$ 2,15	10,2 $\pm$ 2,31	12,4 $\pm$ 1,21
АЛТ (ммоль/мин·г ткани)	84,8 $\pm$ 10,7	2,4 $\pm$ 0,79**	56,7 $\pm$ 3,54
АСТ (ммоль/мин·г ткани)	254 $\pm$ 34,7	17,1 $\pm$ 3,14**	41,3 $\pm$ 4,17**
ЩФ (ммоль/мин·г ткани)	72,1 $\pm$ 9,51	40,2 $\pm$ 8,45*	768 $\pm$ 84,7**
СОД (мкмоль/мин·г ткани)	2,91 $\pm$ 0,12	6,12 $\pm$ 1,54*	10,1 $\pm$ 2,13*
Аннексин V (пг/мг ткани)	1,81 $\pm$ 0,34	0,67 $\pm$ 0,11*	0,35 $\pm$ 0,18**
ФНО- $\alpha$ (пг/мг ткани)	22,7 $\pm$ 0,93	12,4 $\pm$ 0,21*	10,8 $\pm$ 0,96*
ИЛ-1 $\beta$ (пг/мг ткани)	10,4 $\pm$ 0,89	168 $\pm$ 4,58**	28,6 $\pm$ 1,90*
IgG (мг/%)	432 $\pm$ 34,7	276 $\pm$ 28,7*	25,1 $\pm$ 3,42**
IgM (мг/%)	254 $\pm$ 10,2	1381 $\pm$ 99,8**	4,31 $\pm$ 0,43**

*Примечание:* достоверность отличий при \*\* $p < 0,001$ , \* $p < 0,05$  по отношению к данным пульпы временных зубов.

Так, в пульпе зубов человека и крыс активность МДГ в 1000 раз выше, чем активность ЛДГ, что свидетельствует о преобладании в этой ткани аэробных процессов. Вместе с тем, более высокая активность ЛДГ в пульпе резцов крыс является существенным отличием от активности этого фермента в пульпе зуба человека. Активность трансаминаз в пульпе резцов крыс была достоверно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) выше по сравнению с пульпой постоянных зубов человека и достоверно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) ниже относительно пульпы временных зубов.

Другой особенностью пульпы резцов крыс, в отличие от человека, является существенно высокая активность ЩФ и СОД ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ). В то же время количество аннексина V и ФНО- $\alpha$  в пульпе постоянных зубов человека достоверно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ), а в пульпе временных зубов недостоверно ( $p > 0,05$ ) выше, чем у крыс. Исследование цитокинов показало, что количество ИЛ- $1\beta$  в пульпе резцов крыс снижено ( $p < 0,001$ ), но превышает таковое в пульпе временных зубов человека ( $p < 0,05$ ). В пульпе резцов крыс выявлялось достоверно низкое содержание IgM и IgG ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ). Выявленные отличия по количеству белков и пептидов в пульпе крыс, на наш взгляд, объясняются непрерывным ростом резцов.

#### **2.1.6. Изучение активности щелочной фосфатазы в пульпе резцов крыс после нанесения травмы в полости рта**

В данном разделе представлены результаты экспериментальных исследований, показывающих реакцию клеток пульпы резцов крыс по активности ЩФ на раневой дефект в слизистой оболочке щеки крыс, сформированный различными хирургическими инструментами – скальпелем и излучением эрбиевого лазера (таблица 8, таблица 9). При сравнении активности этого фермента в интактной пульпе верхних и нижних резцов крыс не установлено существенных отличий.

После создания раневого дефекта скальпелем на слизистой оболочке щеки крыс на 1-е сутки реакция пульпы резцов крыс верхней челюсти выражалась в достоверном ( $p < 0,05$ ) увеличении активности ЩФ, в то время

как после воздействия излучения эрбиевого лазера эти изменения отсутствовали (таблица 8). В пульпе резцов нижней челюсти опытных животных активность ЩФ не отличалась ( $p>0,5$ ) от значений, полученных в контрольной группе. На 5-е сутки заживления раны слизистой оболочки щеки достоверно ( $p<0,05$ ) высокая активность ЩФ была выявлена в пульпе резцов верхней челюсти у животных, травмированных скальпелем, а уже на 8-е и 15-е сутки заживления раны активность этого фермента в пульпе резцов, как на верхней, так и на нижней челюсти у животных всех опытных групп была сопоставима со значениями, полученными в пульпе резцов животных контрольной группы.

**Таблица 8** – Активность щелочной фосфатазы (ммоль/мин·г ткани) в пульпе резцов крыс после повреждения слизистой оболочки щеки в динамике заживления дефекта ( $M\pm m$ )

Челюсть	Верхняя			Нижняя		
	Конт-роль (n=20)	Скаль-пель (n=20)	Er:YAG лазер (n=20)	Конт-роль (n=20)	Скаль-пель (n=20)	Er:YAG лазер (n=20)
Инстру-мент						
Сроки						
1 сутки	517±76,1	1127±161*	859±169	510±82,3	498±109	451±53,0
5 сутки	647±280	1280±125*	607±163	489±129	437±136	353±175
8 сутки	585±123	678±215	614±141	614±136	645±140	540±168
15 сутки	511±164	496±70,2	500±221	555±167	469±238	597±168

*Примечание:* достоверность отличий \* $p<0,05$  по отношению к данным контрольной группы

В следующей серии эксперимента была исследована реакция пульпы на травму, созданную путем удаления соседних моляров из челюсти (таблица 9). Было установлено, что удаление моляров у крыс сопровождалось достоверным увеличением активности ЩФ ( $p<0,001$ ) в пульпе как верхних, так и нижних резцов на 7-ой и 14-ый сутки опыта.

Для ускорения заживления раны животным в переходную складку слизистой оболочки рта вводили Траумель С и и per os Лимфомиозот. Это

сопровождалось повышением активности ЩФ к 7-м суткам эксперимента в пульпе резцов верхней челюсти крыс в 3,9 раза, а в пульпе нижних резцов в 3 раза по сравнению со значениями активности данного фермента в пульпе резцов животных контрольной группы.

**Таблица 9** – Активность щелочной фосфатазы (ммоль/мин·г ткани) в пульпе резцов крыс после удаления моляров ( $M \pm m$ )

Опытные группы	Сроки эксперимента			
	7 дней		14 дней	
	Верхние резцы	Нижние резцы	Верхние резцы	Нижние резцы
0,9% NaCl (n=10)	1140±98,1**	985±35,4*	1228±67,3**	1005±83,7**
Траумель С+ Лимфомиозот (n=10)	2121±55,4**	1581±78,9**	1320±98,1**	1493±78,5**
Амоксиклав (n=10)	1302±90,3**	406±56,3	1281±108**	419±78,5
Контрольная (n=10)	546±54,7	516±27,0	528±92,4	592±51,8

*Примечание:* достоверность отличий \*\* $p < 0,001$ , \* $p < 0,05$  по сравнению с данными контрольной группы

К 14-м суткам в этой группе животных активность ЩФ в пульпе верхних резцов снижалась в 1,9 раза, но оставалась достоверно повышенной ( $p < 0,001$ ) по отношению к контролю. В пульпе нижних резцов показатели активности ЩФ на 7-е и 14-е сутки достоверно ( $p < 0,001$ ) были выше значений в пульпе зубов животных контрольной группы. Сравнение активности ЩФ в пульпе верхних и нижних резцов животных, получавших антигомтоксическую терапию с активностью этого фермента у крыс, которым по аналогичной схеме вводили 0,9% раствор NaCl и контрольной группы показало, что активность данного энзима была достоверно выше ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ).

Другой опытной группе животных после удаления моляров в челюсти вводили per os эмульсию препарата Амоксиклав. У этих животных в пульпе верхних резцов на 7-е сутки опыта выявлялся достоверный ( $p < 0,001$ ) рост активности ЩФ, который сохранялся до 14-х суток эксперимента. Вместе с тем, исследование активности ЩФ в пульпе нижних резцов, напротив, выявило недостоверное ( $p > 0,1$ ) снижение, которое было достоверным ( $p < 0,001$ ) как по отношению к данным полученным у крыс, получавших антигомтоксическую терапию, так и 0,9% раствор NaCl. В то же время показатели активности ЩФ в пульпе верхних резцов не отличались ( $p > 0,5$ ) от показателей, полученных у животных других опытных групп.

Таким образом, пульпа зуба реагирует на травму в полости рта изменением количества белков и пептидов, и активности ферментов, и эта реакция зависит как от характера полученной травмы, так и способов её лечения.

### **2.1.7. Исследование содержания белков и пептидов, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене, в пульпе резцов крыс после воздействия силового модуля**

Силовой модуль в полости рта применяется для перемещения группы зубов в процессе ортодонтического лечения. Морфологическое исследование показало, что приложение силы натяжения усилием 100 гс/см в течение 9-ти дней на нижний резец крыс сопровождалось изменениями в системе микроциркуляторного русла, структуры и клеточного состава пульпы зуба.

**Таблица 10** – Содержание белков, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене, в пульпе резцов крыс после воздействия силового модуля ( $M \pm m$ )

Показатели	Пульпа резцов крыс	
	Опытная (n=10)	Контрлатеральная (n=10)
ЩФ (ммоль/мин·г ткани)	231±9,47**	880±11,4
Остеокальцин (пг/мг ткани)	3,45±0,12*	4,84±0,33
Аннексин V (пг/мг ткани)	0,43±0,02*	0,64±0,01

*Примечание:* достоверность отличий \* $p < 0,05$  по отношению к данным, полученным из пульпы резцов с контрлатеральной стороны

Выявлялся расширенный слой неминерализованного предентина, что свидетельствует о нарушении процессов минерализации органического матрикса дентина. Это нашло подтверждение в достоверном ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ) снижении активности ЩФ, количества остеокальцина и аннексина V в пульпе резцов крыс, (таблица 10).

### 2.1.8. Исследование активности ферментов в пульпе резцов крыс, находящихся в условиях иммобилизации

В следующей серии эксперимента была изучена реакция крыс на иммобилизацию, когда животное находилось без движения в ограниченном пространстве. При воздействии на животное однократной иммобилизации выявлялось достоверное ( $p < 0,001$ ) повышение активности АСТ, как в пульпе верхних, так и нижних резцов опытных животных (таблица 11). В то же время, активность АЛТ в пульпе резцов животных в ответ на иммобилизацию не менялась ( $p > 0,1$ ).

**Таблица 11** – Активность ферментов в пульпе верхних и нижних резцов крыс после однократной иммобилизации ( $M \pm m$ , [min; max])

Ферменты	Группы			
	Пульпа верхних резцов		Пульпа нижних резцов	
	Опытная (n=7)	Контрольная (n=7)	Опытная (n=7)	Контрольная (n=7)
АСТ (ммоль/мин·г ткани)	234±53,4** [76,9;418]	73,0±30,1 [65;109]	270±39,3** [123;338]	46,2±10,5 [12,8;99,6]
АЛТ (ммоль/мин·г ткани)	24,7±1,53 [17,9;28,8]	24,4±0,65 [21,6;26,8]	20,9±2,27 [12,8;25,8]	21,6±1,76 [13,0;25,5]
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	412±108* [117;791]	293±28,3 [199;411]	299±48,2* [106;406]	339±57,0 [119;612]
ЩФ (ммоль/мин·г ткани)	761±41,7 [621;830]	751±197 [128;1520]	565±103 [165;864]	688±201 [117;1655]

*Примечание:* достоверность отличий \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,001$  по сравнению с данными контрольной группы

В пульпе верхних резцов животных, подвергнутых однократной иммобилизации, активность ЛДГ достоверно ( $p < 0,05$ ) повышалась, а в пульпе нижних резцов, напротив, снижалась. Однако, эта иммобилизация не оказывала влияние на активность ЩФ.

Множественная иммобилизация животных также приводила к изменению активности ферментов в пульпе как верхних, так и нижних резцов (таблица 12). В пульпе верхних резцов крыс выявлялся достоверный ( $p < 0,05$ ) рост активности ЛДГ и ЩФ и тенденция ( $p > 0,05$ ) к повышению активности АСТ и понижению АЛТ по сравнению с данными животных, которых не подвергали иммобилизации. В пульпе нижних резцов животных, которых подвергали длительной иммобилизации, наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение активности АЛТ и снижение активности ЛДГ по отношению к данным контроля. Таким образом, как однократная, так и множественная иммобилизация сказывалась на активности ферментов, и, как следствие, на обменных процессах в пульпе резцов крыс.

**Таблица 12** – Активность ферментов в пульпе верхних и нижних резцов крыс после множественной иммобилизации ( $M \pm m$ , [min; max])

Ферменты	Группы			
	Пульпа верхних резцов		Пульпа нижних резцов	
	Опытная (n=5)	Контрольная (n=5)	Опытная (n=5)	Контрольная (n=5)
АСТ (ммоль/мин·г ткани)	90,5±14,0 [53,0;126]	51,9±17,1 [22,0;95,7]	59,9±13,3 [23,5;106]	63,2±15,9 [25,5;94,4]
АЛТ (ммоль/мин·г ткани)	12,4±3,06 [7,20;21,1]	17,9±3,99 [7,80;27,3]	30,4±10,0* [10,6;62,6]	16,8±3,79 [9,75;23,5]
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	318±48,6* [202;497]	204±37,4 [122;291]	164±16,2* [110;208]	210±7,71 [194;226]
ЩФ (ммоль/мин·г ткани)	1049±102* [820;1420]	788±35,7 [715;865]	833±4,06 [825;845]	913±33,9 [840;1000]

*Примечание:* достоверность отличий \* $p < 0,05$  по сравнению с данными контрольной группы

### 2.1.9. Влияние ингибитора синтеза карнитина на активность НАД<sup>+</sup>-зависимых дегидрогеназ и показатели антиоксидантной защиты в пульпе резцов крыс

В нашем исследовании однократное введение этого препарата приводило к достоверному повышению ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ) активности ЛДГ, СОД и менее выраженному МДГ. Двухкратное и трехкратное введение

препаратов ещё более способствовало росту активности ЛДГ и СОД (таблица 13).

**Таблица 13** – Активность ферментов и содержание ТБК-АП в пульпе резцов крыс при введении ингибитора синтеза карнитина ( $M \pm m$ )

Ферменты	Экспериментальные группы животных			
	Однократное введение (n=8)	2-х кратное введение (n=8)	3-х кратное введение (n=8)	Контрольная (n=8)
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	55,4± 4,19 $p^1 < 0,001$	76,3±3,78 $p^1 < 0,001$ $p^2 < 0,001$	97,1± 8,21 $p^1 < 0,001$ $p^2 < 0,001$ $p^3 < 0,05$	11,3± 1,35
МДГ (ммоль/мин·г ткани)	16,4±1,52 $p^1 < 0,05$	15,2±1,14 $p^1 < 0,05$ $p^2 > 0,5$	16,6±1,87 $p^1 < 0,05$ $p^2 > 0,5$ $p^3 > 0,5$	10,2±1,18
СОД (мкмоль/мин·г ткани)	27,7±3,83 $p^1 < 0,01$	25,0±1,27 $p^1 < 0,01$ $p^2 > 0,5$	24,3±2,86 $p^1 < 0,01$ $p^2 > 0,5$ $p^3 > 0,5$	15,8±3,25
ТБК-АП (мкмоль/г ткани)	14,2±3,45 $p^1 < 0,05$	15,6±2,13 $p^1 < 0,01$ $p^2 > 0,5$	18,3±4,16 $p^1 < 0,001$ $p^2 > 0,05$ $p^3 > 0,5$	8,45±2,21

*Примечание:* достоверность отличий:  $p^1$  – с контрольной группой;  $p^2$  – с группой однократного введения ингибитора синтеза карнитина;  $p^3$  – с группой 2-х кратного введения ингибитора синтеза карнитина

При однократном введении и при последующих инъекциях ингибитора синтеза карнитина активность СОД, наряду с содержанием ТБК-АП, в пульпе резцов крыс достоверно ( $p < 0,01$ ) возрастала, что свидетельствует об активации свободнорадикального окисления.

#### **2.1.10. Влияние мелатонина и ингибитора TLR4 на активность ферментов и цитокиновый профиль пульпы резцов крыс**

Согласно полученным нами данным, внутрибрюшинное введение экзогенного мелатонина крысам в течение 8 дней приводит к достоверному ( $p < 0,001$ ) увеличению активности АСТ в пульпе верхних и нижних резцов (таблица 14). При этом активность АЛТ имела тенденцию ( $p > 0,05$ ) к

понижению в пульпе верхних резцов и повышению в пульпе нижних резцов. Активность ЛДГ в пульпе резцов животных увеличивалась, но это увеличение было достоверным ( $p < 0,05$ ) только в пульпе нижних резцов. Активность ЩФ при этом не менялась ( $p > 0,1$ ).

**Таблица 14** – Активность ферментов в пульпе верхних и нижних резцов крыс после длительного введения экзогенного мелатонина ( $M \pm m$ , [min;max])

Ферменты	Группы			
	Пульпа верхних резцов		Пульпа нижних резцов	
	Опытная (n=5)	Контрольная (n=5)	Опытная (n=5)	Контрольная (n=5)
АСТ (ммоль/мин·г ткани)	126±26,2** [49,2;186]	51,9±17,1 [22,0;95,7]	107±32,8** [32,9;223]	63,2±15,9 [25,5;94,4]
АЛТ (ммоль/мин·г ткани)	14,8±2,97 [6,89;23,8]	17,9±3,99 [7,80;27,3]	25,2±6,73 [8,54;42,7]	16,8±3,79 [9,75;23,3]
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	258±52,3 [161;414]	204±37,4 [122;291]	632±133* [169;990]	210±7,71 [194;226]
ЩФ (ммоль/мин·г ткани)	831±3,67 [825;840]	788±35,7 [715;865]	829±13,4 [785;870]	913±33,9 [840;1000]

*Примечание:* достоверность отличий \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,001$  по сравнению с данными контрольной группой

**Таблица 15** – Содержание цитокинов в пульпе верхних и нижних резцов крыс после длительного введения экзогенного мелатонина ( $M \pm m$ , [min;max])

Цитокины (пг/мг ткани)	Группы			
	Пульпа верхних резцов		Пульпа нижних резцов	
	Опытная (n=5)	Контрольная (n=5)	Опытная (n=5)	Контрольная (n=5)
ИЛ-6	25,3±1,51** [23,3;26,9]	13,9±3,81 [9,85;18,9]	18,6±1,74 [17,0;20,5]	16,4±3,37 [11,0;19,7]
ИЛ-1 $\beta$	37,4±2,38 [30,9;42,3]	30,7±3,06 [23,9;35,4]	24,2±1,47 [21,3;28,0]	27,0±2,41 [21,5;33,0]
ФНО- $\alpha$	43,8±6,62 [21,3;56,8]	52,0±5,22 [22,7;67,2]	43,1±2,77 [20,1;56,2]	45,3±2,24 [20,6;60,5]

*Примечание:* достоверность отличий \*\* $p < 0,001$  по сравнению с данными контрольной группы

На фоне введения мелатонина также выявлялось достоверное ( $p < 0,001$ ) увеличение количества ИЛ-6 в пульпе резцов верхней челюсти по отношению к данным животных, которые получали 0,9% раствор NaCl и не наблюдалось достоверных отличий ( $p > 0,05$ ;  $p > 0,1$ ) в количестве ИЛ-1 $\beta$  в пульпе зубов опытных крыс по сравнению с контролем (таблица 15). У крыс, получавших мелатонин, уровень ФНО- $\alpha$  недостоверно ( $p > 0,05$ ) снижался в пульпе верхних резцов, а в пульпе нижних зубов не отличался ( $p > 0,5$ ) от значений, полученных у животных контрольной группы.

В клетках пульпы зуба в ответ на однократное внутримышечное введение ингибитора TLR4 менялась активность ферментов и количество провоспалительных цитокинов. Так, в пульпе резцов как верхней, так и нижней челюсти выявлялась достоверно ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) высокая активность АСТ (таблица 16).

**Таблица 16** – Активность ферментов в пульпе верхних и нижних резцов крыс после однократного введения ингибитора TLR4 ( $M \pm m$ , [min;max])

Ферменты	Группы			
	Пульпа верхних резцов		Пульпа нижних резцов	
	Опытная (n=7)	Контрольная (n=7)	Опытная (n=7)	Контрольная (n=7)
АСТ (ммоль/мин·г ткани)	324±62,2** [128;521]	53,4±13,1 [34,2;109]	161±41,9* [25,9;349]	46,2±10,5 [12,8;99,6]
АЛТ (ммоль/мин·г ткани)	21,5±2,31 [15,9;32,5]	24,4±0,65 [21,6;26,8]	21,8±1,26 [16,0;24,8]	21,6±1,76 [13,0;25,5]
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	293±28,3* [199;411]	348±49,6 [128;509]	284±44,8* [130;422]	339±57,0 [119;612]
ЩФ (ммоль/мин·г ткани)	589±72,3* [350;840]	751±197 [128;1520]	994±238* [182;1710]	688±201 [117;1655]

*Примечание:* достоверность отличий \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,001$  по сравнению с данными контрольной группы

В то же время, активность АЛТ в пульпе резцов животных, получивших инъекцию ингибитора TLR4, практически не отличалась от значений

контрольной группы животных ( $p > 0,1$ ). Активность ЩФ достоверно ( $p < 0,05$ ) снижалась в пульпе верхних резцов, но повышалась в пульпе нижних резцов. При применении антагониста TLR4 активность ЛДГ сходно снижалась ( $p < 0,05$ ) в пульпе как верхних, так и нижних резцов.

Нами было показано, что введение ингибитора TLR4 вызывало в пульпе резцов верхней и нижней челюсти понижение ( $p < 0,05$ ) уровня ФНО- $\alpha$ , увеличение количества ИЛ-6 ( $p < 0,05$ ) и не оказывало влияния на содержание ИЛ-1 $\beta$  ( $p > 0,1$ ) (таблица 17).

**Таблица 17** – Содержание цитокинов в пульпе верхних и нижних резцов крыс после однократного введения ингибитора TLR4 ( $M \pm m$ , [min;max])

Цитокины (пг/мг ткани)	Группы			
	Пульпа верхних резцов		Пульпа нижних резцов	
	Опытная (n=7)	Контрольная (n=7)	Опытная (n=7)	Контрольная (n=7)
ИЛ-6	18,3 $\pm$ 1,15* [14,7;30,8]	14,9 $\pm$ 1,67 [12,8;27,5]	15,1 $\pm$ 0,50 [13,4;16,1]	14,3 $\pm$ 1,40 [11,2;26,2]
ИЛ-1 $\beta$	29,2 $\pm$ 4,15 [21,2;45,2]	30,3 $\pm$ 1,74 [27,0;33,9]	36,0 $\pm$ 4,63 [29,4;54,1]	36,9 $\pm$ 4,52 [24,4;45,0]
ФНО- $\alpha$	24,9 $\pm$ 4,63* [13,3;31,3]	53,7 $\pm$ 8,35 [31,3;76,4]	30,0 $\pm$ 2,91* [18,9;46,7]	44,2 $\pm$ 4,53 [34,1;71,2]

*Примечание:* достоверность отличий \* $p < 0,05$  по сравнению с данными контрольной группы

### 2.1.11. Влияние высокого содержания сахарозы и селена на метаболические процессы в пульпе резцов молодых крыс

У крысят-отъёмышей, получающих в течение 30 дней высокосахарозную диету, в пульпе резцов выявлена тенденция к снижению количества общего белка ( $p > 0,05$ ) и достоверно сниженная активность СЩП ( $p < 0,01$ ) (таблица 18). Введение 68% сахарозы в организм животных в течение 30 дней не оказывало влияния на гликолитические процессы, о чём свидетельствует отсутствие изменений в активности ЛДГ. В этот период наиболее выражено действие селена, как в сочетании с синтетической диетой, так и с высокосахарозной.

**Таблица 18** – Активность ферментов и содержание белка в пульпе резцов крыс, получающих различные диеты в течение 30 дней ( $M \pm m$ )

Показатели	Экспериментальные диеты			
	Синтетическая (n=8)	Синтетическая + селен (n=8)	Высоко-сахарозная (n=8)	Высоко-сахарозная +селен (n=8)
Общий белок (мг/г ткани)	58,8±3,96	67,4±7,88 $p^1 > 0,05$	53,6±2,60 $p^1 > 0,05$	66,4±3,76 $p^1 > 0,05$ $p^2 < 0,001$
КП (мкмоль/мин·г ткани)	0,17±0,03	0,05±0,007 $p^1 < 0,001$	0,14±0,01 $p^1 > 0,1$	0,04±0,009 $p^1 < 0,001$ $p^2 < 0,001$
КФ (мкмоль/мин·г ткани)	1,43±0,26	2,11±0,20 $p^1 < 0,05$	2,58±0,18 $p^1 < 0,001$	2,07±0,11 $p^1 < 0,05$ $p^2 < 0,05$
СЦП (мкмоль/мин·г ткани)	0,06±0,03	0	0,03±0,008 $p^1 < 0,01$	0
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	33,0±3,10	27,1±3,67 $p^1 > 0,1$	35,9±4,30 $p^1 > 0,5$	30,5±1,72 $p^1 > 0,5$ $p^2 > 0,1$

*Примечание:* достоверность различий  $p^1$  – по сравнению с контрольной группой;  $p^2$  – между подгруппами животных с селеном и без селена

Введение селена в диету животных способствовало недостоверному ( $p > 0,05$ ) увеличению в пульпе резцов крыс количества общего белка. Активность лизосомальных протеиназ (КП) в пульпе резцов крыс, находящихся на синтетической диете или высокосахарозной диете с добавлением раствора селенита натрия существенно ( $p < 0,001$ ) снижалась. При употреблении высоких доз селена в пульпе зубов опытных животных активность слабощелочных протеиназ полностью подавлялась, активность ЛДГ недостоверно ( $p > 0,5$ ) понижалась, а активность КФ достоверно ( $p < 0,05$ ) возрастала.

Продолжающееся потребление экспериментальных диет опытными животными в течение 60 дней несколько меняло метаболизм пульпы (таблица 19).

**Таблица 19** – Активность ферментов и содержание белка в пульпе резцов крыс, получающих различные диеты в течение 60 дней ( $M \pm m$ )

Показатели	Экспериментальные диеты			
	Синтетическая (n=8)	Синтетическая + селен (n=8)	Высоко- сахарозная (n=8)	Высоко- сахарозная +селен (n=8)
Общий белок (мг/г ткани)	70,3±6,89	74,9±7,66 $p^1 > 0,5$	63,2±8,27 $p^1 > 0,05$	63,0±3,95 $p^1 > 0,05$ $p^2 > 0,1$
КП (мкмоль/мин·г ткани)	0,12±0,01	0,08±0,003 $p^1 > 0,05$	0,10±0,01 $p^1 > 0,05$	0,10±0,03 $p^1 > 0,05$ $p^2 > 0,5$
КФ (мкмоль/мин·г ткани)	2,46±0,14	2,02±0,10 $p^1 < 0,05$	1,92±0,08 $p^1 < 0,05$	2,16±0,08 $p^1 < 0,05$ $p^2 > 0,1$
СЩП (мкмоль/мин·г ткани)	0,03±0,01	0,01±0,006 $p^1 > 0,1$	0,02±0,01 $p^1 > 0,1$	0,04±0,01 $p^1 > 0,1$ $p^2 > 0,1$
ЛДГ (мкмоль/мин·г ткани)	62,5±5,63	49,2±2,07 $p^1 < 0,05$	46,4±1,09 $p^1 < 0,05$	47,5±5,62 $p^1 < 0,05$ $p^2 > 0,05$

*Примечание:* достоверность различий  $p^1$  – по сравнению с контрольной группой;  $p^2$  – между подгруппами животных с селеном и без селена

Так, к 60-му дню у крыс, получающих синтетическую диету, по сравнению с 30-м днём возросло количество общего белка, но активность КП в пульпе резцов крыс контрольной группы не отличалась от данных, полученных на 30 день. В то же время, включение селена в пищу животных, приводило к увеличению активности кислых протеиназ, особенно в той группе животных, которым давали высокосахарозную диету в комплексе с селеном ( $p < 0,001$ ). На 60 день употребление диеты, состоящей только из сахарозы, практически не влияло на активность СЩП в пульпе резцов крыс, а активность ЛДГ в пульпе резцов всех групп животных, находящихся как на высокосахарозной диете, так и на диетах с добавлением селена, увеличилась в 1,5-2 раза по сравнению с 30 днями, но была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ) данных у животных, получающих синтетическую диету.

## Выводы

1. В интактной пульпе временных зубов человека преобладают процессы окислительного дезаминирования аминокислот и гидролиза фосфатсодержащих соединений, апоптоза клеток и резорбции минерализованных тканей. В пульпе постоянных зубов выявляется преобладание количества белков-маркеров, ответственных за неспецифический иммунитет, и гомоцистеина.
2. В пульпе постоянных зубов человека при остром воспалении наблюдается повышение активности НАД–зависимых оксидоредуктаз, аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и  $\alpha$ -гликозидазы, моноаминоксидаз типа А и семикарбазид-чувствительной. При хроническом воспалении выявлено затухание всех окислительно-восстановительных процессов. В пульпе временных зубов человека при этой форме воспаления наблюдается существенное увеличение каталитической активности белков, секреции остеокластактивирующего фактора и количества гомоцистеина.
3. Выявлена повышенная готовность клеток пульпы временных зубов человека к преждевременной реализации запуска механизма апоптоза в результате воспаления, выражающаяся в активном синтезе белков-маркеров апоптоза аннексина V, каспазы-9, фактора некроза опухоли- $\alpha$  на фоне снижения электровозбудимости пульпы зуба.
4. Несостоятельность процессов репарации в пульпе временных и постоянных зубов человека при хроническом пульпите подтверждается снижением количества  $\beta$ -трансформирующего фактора роста, участвующего в пролиферации и росте клеток, и незначительным повышением уровня инсулиноподобного-1 фактора роста и основного фактора роста фибробластов- $\beta$ .
5. В интактной пульпе резцов крыс по сравнению с интактной пульпой временных и постоянных человека выявляется высокая активность оксидоредуктаз и щелочной фосфатазы. В интактной пульпе временных зубов человека выше активность аспартильной и аланиновой трансаминаз,

количество аннексина V, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , иммуноглобулина G. В пульпе постоянных зубов человека количество интерлейкина- $1\beta$  и иммуноглобулина M значительно выше, чем в пульпе резцов крыс и временных зубов человека.

6. Травма в полости рта, вызванная удалением соседних моляров и повреждением слизистой оболочки щеки скальпелем, вызывает увеличение активности щелочной фосфатазы в пульпе верхних резцов крыс. Применение сил натяжения на резцы и моляры крыс, напротив, снижает активность щелочной фосфатазы и уровни аннексина V и остеокальцина в пульпе резцов крыс.

7. Однократная иммобилизация животных сопровождается в пульпе резцов крыс более значимым увеличением активности аспаратаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы по сравнению с многократной.

8. Введение мелатонина и ингибитора толл-подобного рецептора 4 сопровождается увеличением в пульпе резцов крыс активности аспаратаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы и количества интерлейкина-6. На фоне введения ингибитора толл-подобного рецептора 4 в пульпе резцов крыс наблюдается снижение образования фактора некроза опухоли- $\alpha$ . Ингибирование синтеза карнитина приводит к существенному увеличению в пульпе резцов крыс активности НАД<sup>+</sup>-зависимых оксидоредуктаз и показателей свободнорадикального окисления.

9. Употребление молодыми крысами субтоксических доз селена и 68% сахарозы в кормовой смеси в течение 30 дней приводило в пульпе резцов крыс к снижению активности кислых и слабощелочных протеиназ и увеличению активности кислой фосфатазы, а к 60-му дню наблюдалось только снижение активности лактатдегидрогеназы.

### **Практические рекомендации**

1. Для диагностики пульпита временных и постоянных зубов рекомендуется использовать определение количества лактоферрина, активности аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в десневой

жидкости, коэффициент соотношения которых при воспалении пульпы зуба составляет от 1,25 и выше.

2. Противовоспалительный эффект при лечении пульпита временных зубов биологическим методом при использовании лечебной пасты, содержащей оксид кальция и борнеол, был подтвержден снижением уровня интерлейкина-1 $\beta$  и отсутствием лактоферрина в десневой жидкости.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Работы, опубликованные в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России

1. Особенности метаболических процессов в пульпе зуба при воспалительном стрессе [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, Ю.Г. Гаверова, А.В. Митронин, Е.А. Савинова // **Российский стоматологический журнал**. – 2007. - №4. - С.13-14.
2. Сравнительная оценка метаболизма пульпы зуба в молочных и постоянных зубах у детей в норме и при хроническом пульпите [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, Ю.Г. Гаверова, Е.А. Савинова, О.С. Ковылина // **Стоматология детского возраста и профилактика**. – 2008. - Том VII, №4 (27).- С.17-20.
3. Исследование содержания белков-маркеров апоптоза в пульпе временных и постоянных зубов при воспалении [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Е.А. Савинова // **Эндодонтия Today**. - 2010. - №4. - С.23-25.
4. Реакция клеток пульпы временных и постоянных зубов на хроническое воспаление [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, Е.А. Савинова // **Российский стоматологический журнал**. - 2010. - №4. - С.8-9.
5. Исследование белков воспалённой пульпы временных зубов в начальной стадии резорбции корней [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Е.А. Савинова // **Эндодонтия Today**. - 2011. - №1. - С.7-9.
6. Островская И.Г. Исследование содержания белков, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене в пульпе постоянных зубов при воспалении [Текст]/ И.Г. Островская// **Эндодонтия Today**. - 2011. - №3. - С.11-13.
7. Реакция иммунокомпетентных клеток пульпы временных зубов на прямое покрытие различными лечебными прокладками [Текст]/ И.Г. Островская, И.С. Щербина, Л.П. Кисельникова, К.В. Мазур, Е.В. Савинова // **Аллергология и иммунология**. - 2013.- Том 14, №2. - С.155-155.
8. Биохимические параметры состояния периодонта при лечении пульпита временных зубов методом пульпотомии [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, И.С. Щербина, Л.П. Кисельникова, Е.А. Савинова // **Российская стоматология**. - 2013. - №4. - С.12-15.
9. Исследование реакции клеток пульпы временных зубов после лечения методом пульпотомии с применением различных препаратов [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, И.С. Щербина, Л.П. Кисельникова// **Эндодонтия Today**. - 2014. - №1(29) - С.34-37.
10. Реакция пульпы резцов крыс на силовой модуль [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, Л.М. Ерофеева, А.В. Митронин, Д.А. Селезнёв // **Эндодонтия Today**. - 2014. - №2. - С.32-35.

11. Исследование механизмов инактивации активных форм кислорода в пульпе зуба [Текст]/ И.Г. Островская, А.В. Митронин, Т.П. Вавилова, Т.П. Плюхина // **Стоматология**. - 2014. - Том 93, №6. - С.20-21.
12. Исследование ингибирования транспорта жирных кислот в матрикс митохондрий клеток пульпы резцов крыс [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Ю.Г. Гаверова // **CATEDRA. Стоматологическое образование**. - 2015. - №53. - С.12-16.
13. Антимикробные пептиды – многофункциональная защита тканей полости рта [Текст]/ Т.П. Вавилова, Н.И. Деркачева, И.Г. Островская// **Российская стоматология**. - 2015. - Том 8, № 3. - С.3-12.
14. Стоматологическая заболеваемость детей Москвы по данным детского отделения клинического центра стоматологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова [Текст]/Т.П. Плюхина, И.Г.Островская, И.И.Маланчук и др.//**Российская стоматология**. - 2016. - Том 9, №1. - С.68-69.
15. Влияние модулятора и ингибитора TLR4 на биохимические показатели пульпы резцов крыс [Текст]/И.Г.Островская, С.С.Перцов, А.Ю.Абрамова и др.//**Эндодонтия Today**. - 2016. -№4. - С.7-11.
16. Влияние экзогенного мелатонина на метаболические процессы в пульпе резцов крыс при иммобилизационном стрессе [Текст]/И.Г. Островская, С.С.Перцов, Т.П. Вавилова и др.// **Эндодонтия Today**. - 2017. -№1. - С.16-19.
17. Исследование влияния нутриентов, содержащих сахарозу и селен, на метаболические процессы в пульпе резцов крыс [Текст]/Т.П. Вавилова, И.Г.Островская, Л.Т. Малышкина, А.В. Митронин/ **Эндодонтия Today**. - 2017. -№2. - С.31-33.

**Статьи, опубликованные в рецензируемых изданиях, не входящих в перечень  
Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России**

18. Реакция пульпы интактных резцов крыс на удаление моляров и применение медикаментозной терапии [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, С.В. Шишкин // **Эндодонтия**. - 2009. - №2. - С.23-25.
19. Monoamine oxidase and semicarbazide sensitive amine oxidase activities in normal and inflamed human dental pulp [Text]/ T. Vavilova, I. Ostrovskaya, L. Axenova, O. Byneeva, A. Medvedev // **Medical Sciens Monitoring**. - 2009. - Vol. 15, №10. - P.289-292.
20. Reaction of immunocompetent cells of a pulp of milk teeth to a direct covering various medical laying [Text]/ I.G. Ostrovskaya, I.S. Shcherbina, L.P. Kiselnikova, K.V. Masur, E.A. Savinova // **International journal on immunorehabilitation**. - 2013. - Vol.15, №1. - С.52-52.
21. Роль системы «антиоксидант-прооксидант» в патогенезе пульпита у детей [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Е.А. Савинова // **Маэстро стоматологии**. - 2013. - №51. - С.38-40.
22. Островская И.Г. Реакция пульпы резцов крыс на повреждение слизистой оболочки щеки/И.Г.Островская//**Стоматология**. - 2016. - Том 95, №3. - С. 71-71.

**Тезисы в сборниках и материалах научных конференций**

23. Исследование растворимых белков пульпы зуба при пульпите [Текст]/ Т.П. Вавилова, Ю.Г. Гаверова, И.Г. Островская, А.Б. Михайлова, И.Г. Осокин, В.В. Финогенов // В сб. материалов конференции «Образование, наука и практика в стоматологии»: М., 2005. - С.41-43.
24. Влияние высокого содержания сахарозы и селена на метаболические процессы в пульпе зубов крыс [Текст]/ Т.П. Вавилова, О.Л. Евстафьева, И.Г. Островская // в сб.

- науч.-практ. конф. «Достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины»: Астрахань, 2005. - С.108-109.
25. Изменение белкового спектра в пульпе молочных и постоянных зубов детей при воспалительном стрессе [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, Е.А. Савинова // Материалы III научно-практической конференции с международным участием: Санкт-Петербург, 2007. - С.53-54.
  26. Исследование содержания иммуноглобулинов в пульпе молочных и постоянных зубов при воспалении [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, Е.А. Савинова, О.С. Ковылина // В сб. Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии, посвящённая 80- летию со дня рождения Р.И. Лившица: Челябинск, 2009. - С.142-143.
  27. Метаболизм в клетках пульпы временных зубов, находящихся в стадии резорбции корня при хронической форме пульпита [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, О.С. Ковылина, Е.А. Савинова // В сб. материалов XVI Международной конференции челюстно-лицевых хирургов «Новые технологии в стоматологии»: Санкт-Петербург, 2011. - С.44-45.
  28. Островская И.Г. Регуляторные белки и пептиды пульпы временных зубов в стадии резорбции корня при хроническом пульпите [Текст]/ И.Г. Островская // в сб. материалов Всероссийской научно-практической конференции биохимиков и специалистов по лабораторной медицине «Медицинская биохимия и клиническая лабораторная диагностика в аспекте модернизации системы научных исследований»: М., 2011. - С. 222-225.
  29. Клинико - лабораторные методы диагностики пульпита у детей [Текст]/ О.С.Ковылина, Т.П.Вавилова, И.Г.Островская, Е.А.Савинова // В сб. материалов конференции «Образование, наука и практика в стоматологии»: М., 2011. - С.122-122.
  30. Исследование состояния периодонта при лечении хронического пульпита временных зубов у детей методом пульпотомии [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, И.С. Щербина, Л.П. Кисельникова, Е.А. Савинова // В сб. материалов «Стоматология детского возраста и профилактика стоматологических заболеваний»: М., 2013. - С.15-19.
  31. Исследование защитных белков в пульпе постоянных зубов человека при хроническом воспалении [Текст]/ И.Г. Островская, А.В. Митронин, Т.П. Плюхина, Н.И. Деркачева // В сб. материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 60- летию деятельности стоматологического факультета Тверской государственной медицинской академии на Тверской земле: Тверь, 2014. - С.231-233.
  32. Kiselnikova L.P. Study of gingival fluid indices in pulpotomy treatment of primary tooth pulpitis in children [Text]/ L.P. Kiselnikova, I.S. Shcherbina, E.A. Savinova, T.P. Vavilova, I.G. Ostrovskaya // Abstract of 12<sup>th</sup> Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry: Poland, 2014. - P.124-124.
  33. Островская И.Г. Биохимические аспекты воспаления пульпы временных и постоянных зубов [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Е.А. Савинова // В сб. трудов XI Всероссийской научно-практической конференции «Образование, наука и практика в стоматологии»: М., 2014. - С.22-23.
  34. Клинико-лабораторное обоснование современных методов лечения пульпита временных зубов [Текст]/ И.С. Щербина, Т.П. Вавилова, Л.П. Кисельникова, И.Г. Островская // В сб. трудов XI Всероссийской научно-практической конференции «Образование, наука и практика в стоматологии»: М., 2014. - С.106-107.
  35. Исследование белков и пептидов пульпы зуба при хроническом воспалении [Текст]/ И.Г. Островская, Н.И. Деркачёва, Л.Т. Тянь // В сб. научных статей VII- й Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в XXI веке»: Казань, 2015. - С.692-696.

36. Островская И.Г. Исследование влияния введения избытка сахарозы и ингибитора синтеза карнитина на метаболические процессы в пульпе зубов крыс [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова // В сб. Российской научно -практической конференции «Зубаировские чтения: Новое в коагулологии» «Медицинская биохимия: достижения и перспективы»: Казань, 2015. - С.91-95.
37. Воспаление пульпы зуба: диагностика и лечение [Текст]/ А.В. Митронин, И.Г. Островская, Т.П. Вавилова// В сб. материалов Всероссийской юбилейной научно-практической конференции, посвященной 50-летию стоматологического факультета ДГМА: Махачкала, 2015. - С. 64-66.
38. Патогенетические аспекты воспаления пульпы зуба [Текст]/ Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, Ю.Г. Гаверова, А.В. Митронин // В сб. статей VIII-я Российской научно-практической конференции с международным участием: Казань, 2016. - С.373-376.
39. Влияние иммобилизационного стресса на фоне введения экзогенного мелатонина на активность щелочной фосфатазы в пульпе резцов крыс [Текст]/ А.Д. Смирнова, С.С.Перцов, И.Г. Островская и др. //В сб. конф. с международным участием «Научно-методические проблемы нормальной физиологии и медицинской физики», посвященная 80-летию кафедр нормальной физиологии и медицинской физики МГМСУ им. А.И. Евдокимова: М., 2017. - С. 129-130.

#### **Публикации Роспатента – Патенты на изобретение**

40. Патент № 2558985 Российская Федерация Способ диагностики воспаления пульпы временного зуба/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, Л.П. Кисельникова, Е.В. Холодкова; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, опубл. 09.07.2015 г. - 8 с.
41. Патент № 2554809 Российская Федерация Средство для лечения воспаления пульпы зуба/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Е.В. Холодкова; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, опубл. 01.06.2015 - 7 с.

#### **Монография**

42. Реактивность пульпы зуба [Текст]: Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, А.В. Митронин. - М.: МОЗАРТИКА, 2017. - 132 с.