

Лекция
Специальность «Стоматология»
3 семестр, 3 неделя

Биохимия минерализованных тканей

Профессор Е.В.Лукашева

Российский университет дружбы народов
медицинский факультет
кафедра биохимии

- Кость – это материал, который выделил позвоночных от других животных - зародилась более нескольких сотен миллионов лет назад, чтобы стать особенной, удивительной тканью. Кость – это материал, который имеет такую же прочность, как литая сталь при том, что она легка, как дерево.
- Например, нагрузка на передние ноги лошади может достигать 700 кг при том, что животное передвигается со скоростью 30 км/час.
- Крылья птиц позволяют им преодолевать расстояния более 16000 километров без приземления.
- К сожалению, в некоторых случаях, нагрузки превышают способность кости противостоять им. Падение на лед, автомобильные аварии, неудачи на горных склонах – одни из немногих причин переломов. Несмотря на весь ужас перелома, в кости, поскольку она является живой тканью, почти сразу начинаются ведущие к выздоровлению процессы.

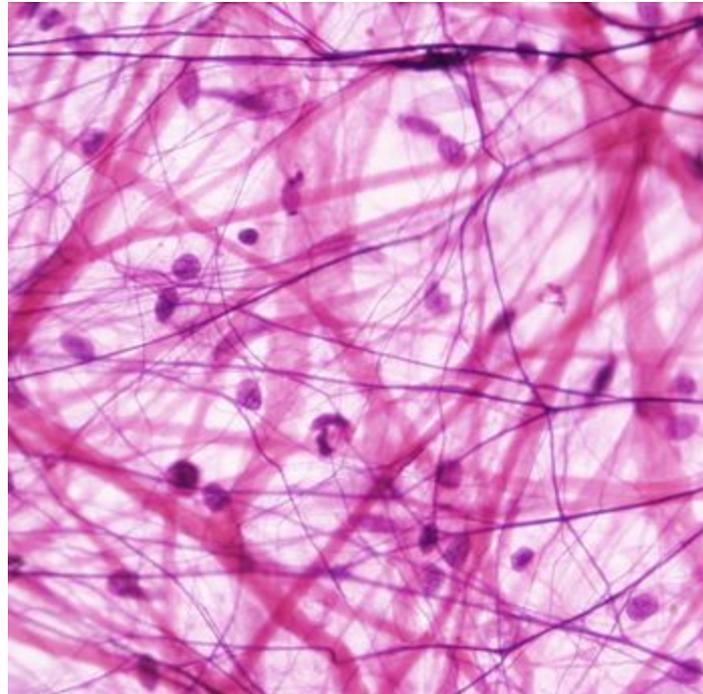
Вывод: Без сомнения, кость представляет базовый биоматериал организма. Она легкая, прочная, может адаптироваться к функциональным запросам и самовосстанавливаться.

- **Выделенный зеленым цветом текст – можно не записывать**

Специализированные виды соединительной ткани: кость, дентин, цемент, эмаль характеризуются

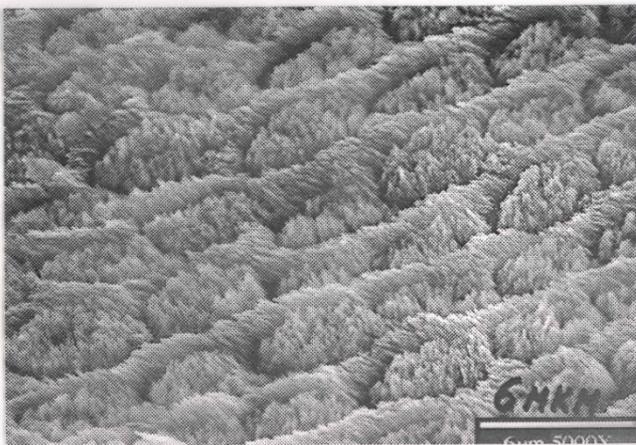
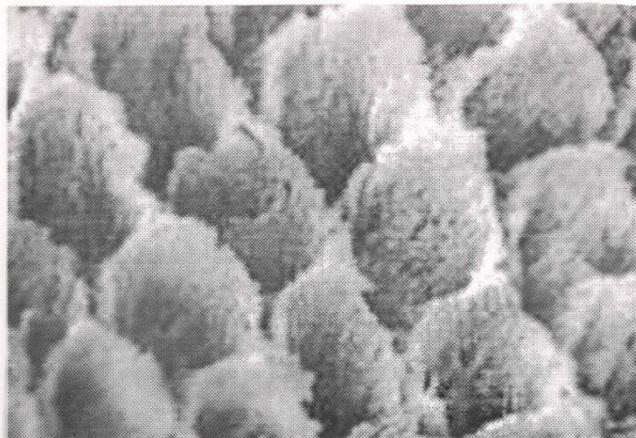
- Высоким содержанием минеральных компонентов, главным из которых является гидроксиапатит (ГАП)
- Все ткани, кроме эмали, состоят из небольшого количества клеток, погруженных в высокоорганизованный межклеточный матрикс
- Основными белками во всех тканях, **кроме эмали**, являются коллагены
- Ткани богаты протеогликанами





Соединительная ткань

В минерализованных тканях минеральные компоненты откладываются на предварительно синтезированный высокоорганизованный органический матрикс



Деминерализованный внеклеточный матрикс кости при различных увеличениях

Развитие костной системы

- В ходе эмбрионального развития костной ткани происходит замещение хрящевой ткани более твердой костной тканью, то есть новообразование кости (**оссификация**)
- После рождения рост скелета продолжается, но основная клеточная активность направлена на **ремоделирование** кости, т.е. перестройку имеющейся кости

Основные компоненты органического матрикса минерализованных тканей

- Белки и протеогликаны (ПГ)
- Углеводы - гиалуроновая кислота и гликозаминогликаны (ГАГ) в составе ПГ
- Липиды (небольшое количество)

БЕЛКИ

1. **Основные белки** - коллагены – известно около 20 типов (**В эмали их нет**)

2. Белки эмали (Э)

- **энамелины, амелогенины**

(У взрослого человека их соотношение приблизительно 1:1).

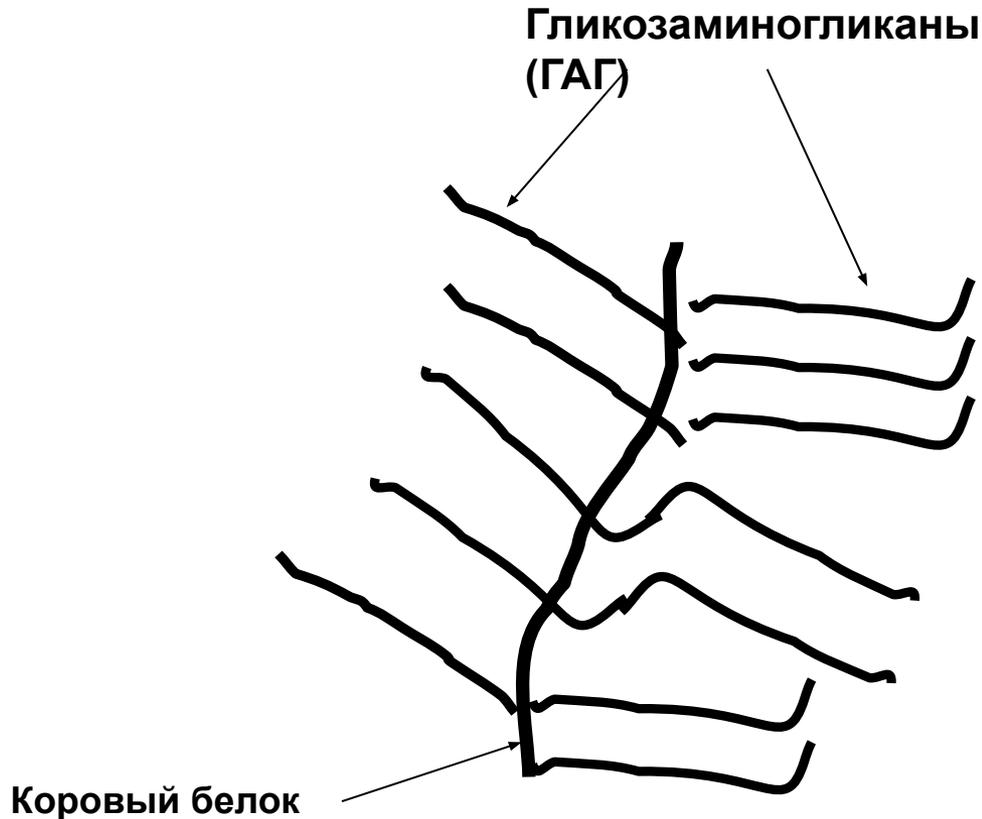
В незрелой Э. (зачаток зуба) соотношение энамелины:амелогенины = 1:9

- **кальций-связывающие белки**

В эмали нет коллагенов, фосфофорина!!!!

3. Протеогликаны

состоят из корового белка (2-5% массы) и ГАГ – гликозаминогликанов, построенных из повторяющихся дисахаридов



Схематическое изображение агрекана

4. Адгезивные белки

участвуют в связывании клеток с компонентами **ВКМ (внеклеточного матрикса)**, часто содержат последовательность **Арг-Гли-Асп (RGD)**, участвующую в присоединении к клеточным белковым рецепторам – **интегринам, которые состоят из двух субъединиц** и участвуют в передаче информации из внеклеточного пространства внутрь клетки.

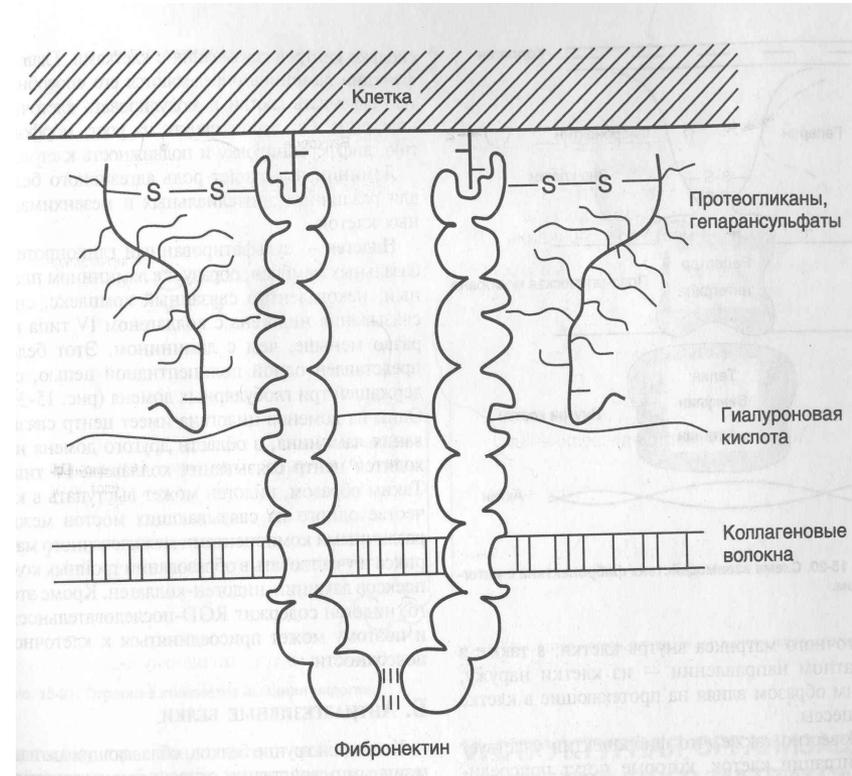
Фибронектины одни из ключевых белков ВКМ

Синтезируется, в основном, фибробластами, но также и др. клетками

Состоят из 2-х идентичных цепей, содержащих по 7-8 доменов со специфичными центрами связывания:

- 1) коллагена
- 2) протеогликанов
- 3) гиалуроновой кислоты
- 4) углеводов плазматических мембран
- 5) гепарина
- 6) трансклутаминазы
- 7) клеточных рецепторов-интегринов через RGD (арг-гли-асп)-последовательность

Функции: адгезивная, интегрирующая роль в организации ВКМ, регулятор дифференцировки и деления фибробластов,



(«Биохимия», ред. Е.С.Северина)

Фосфофорины

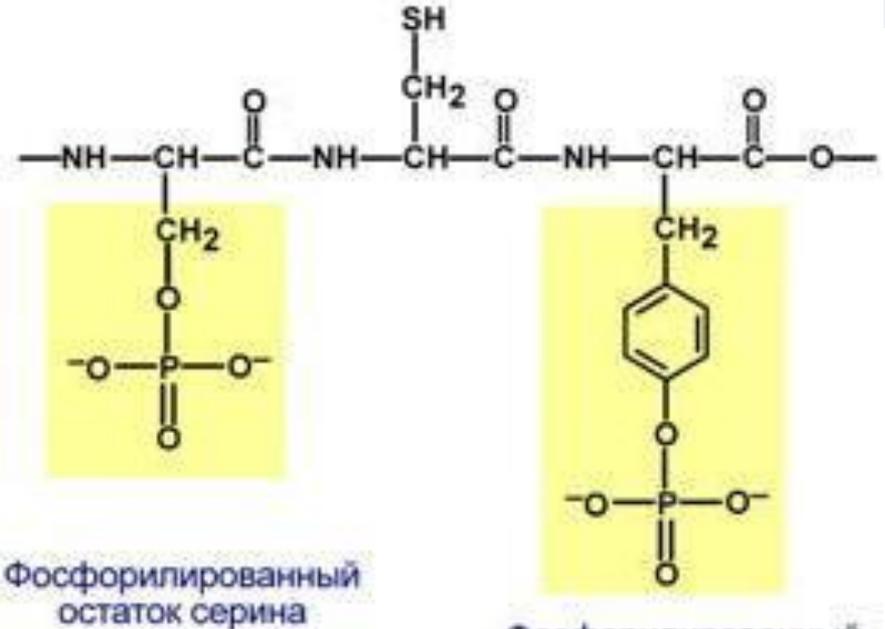
составляют 1% белков (дентина). Участвуют в адгезии клеток к матриксу.

На 1000 амк содержат:

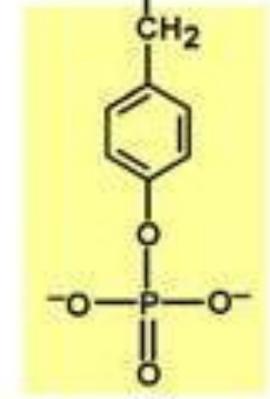
426 сер (связывают Фн)

447 асп (связывают Са)

Есть данные, что фосфофорины участвуют в инициации минерализации дентина.



Фосфорилированный остаток тирозина

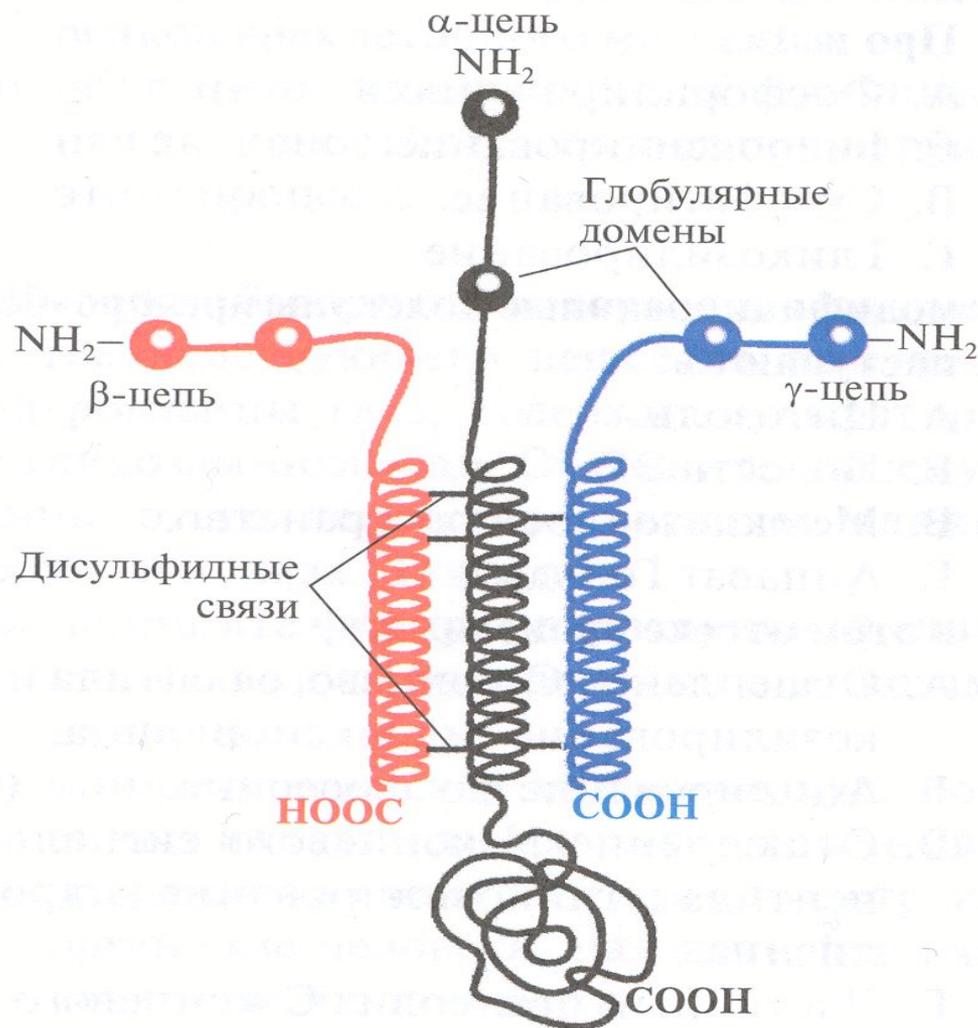


Ламинины - гликопротеины базальных мембран

Содержат 3 полипептидных цепи, крестообразно уложенных в пространстве.

Связывают компоненты базальных мембран, коллаген IV, нидоген, протеогликаны, фибронектин, клетки;

Модулируют рост, дифференцировку, подвижность клеток.



Нидогены –

сульфатированные гликопротеины базальных мембран, образуют комплекс с ламинином и коллагеном IV.



Остеонектин - гликопротеин кости и дентина.

Синтезируется, в основном, остеобластами.

Связывается с коллагеном I, ГАП и клетками.

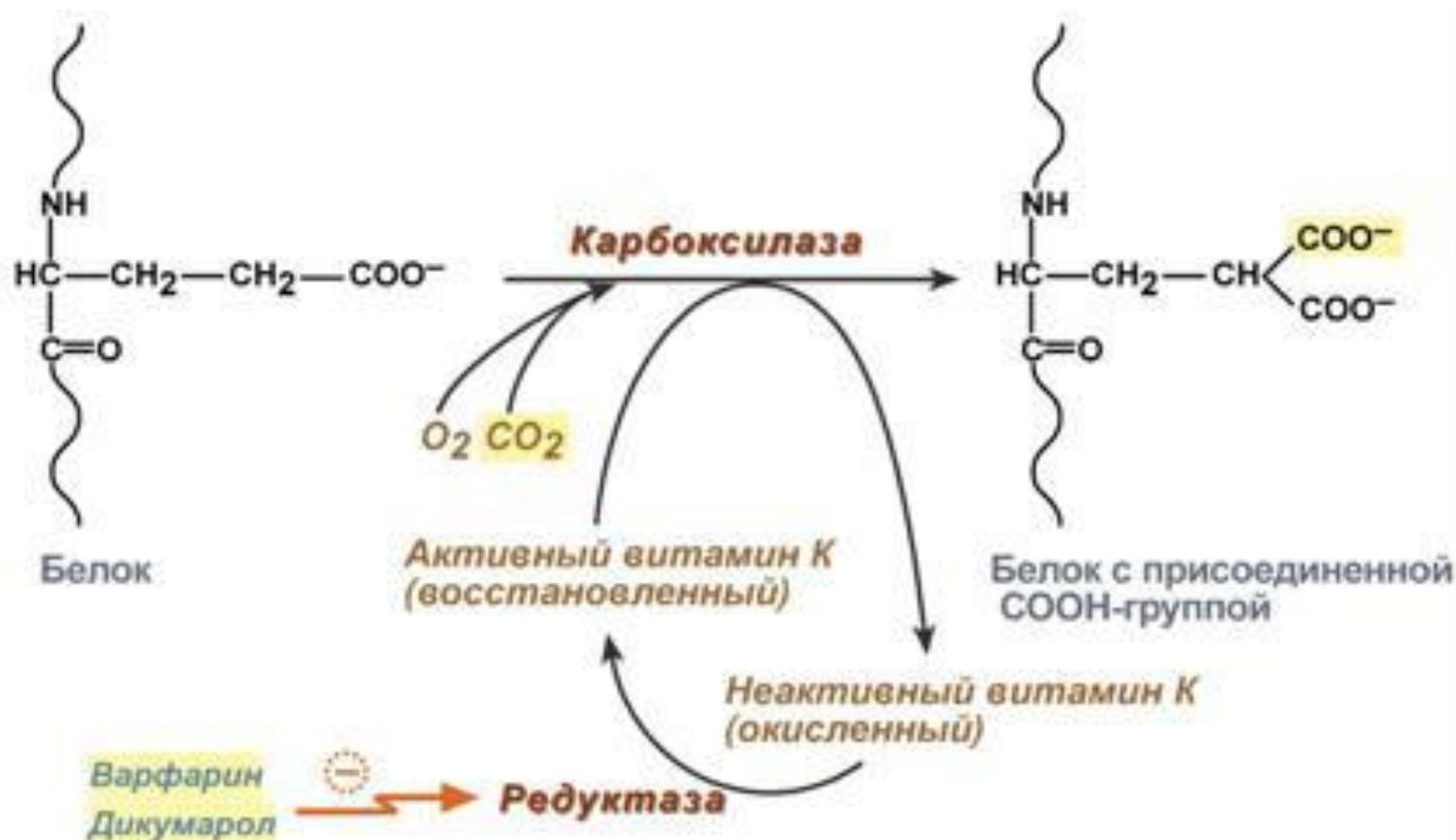
Через арг связывает Фн

Через асп и глу – ионы Са

Остеопонтин – фосфорилированный кислый гликопротеин остеобластов.

Регулирует активность рецепторов остеокластов и, т. о., участвует в адгезии клеток к матриксу, регуляции резорбции, минерализации.

5. Gla-белки содержат аминокислотные остатки гамма-карбоксиглутаминовой кислоты, которые хорошо связывают ионы Ca и возникают в результате постсинтетической модификации в присутствии **витамина К**.



Матриксный gla-белок - содержит пять гамма-карбокси-глу.

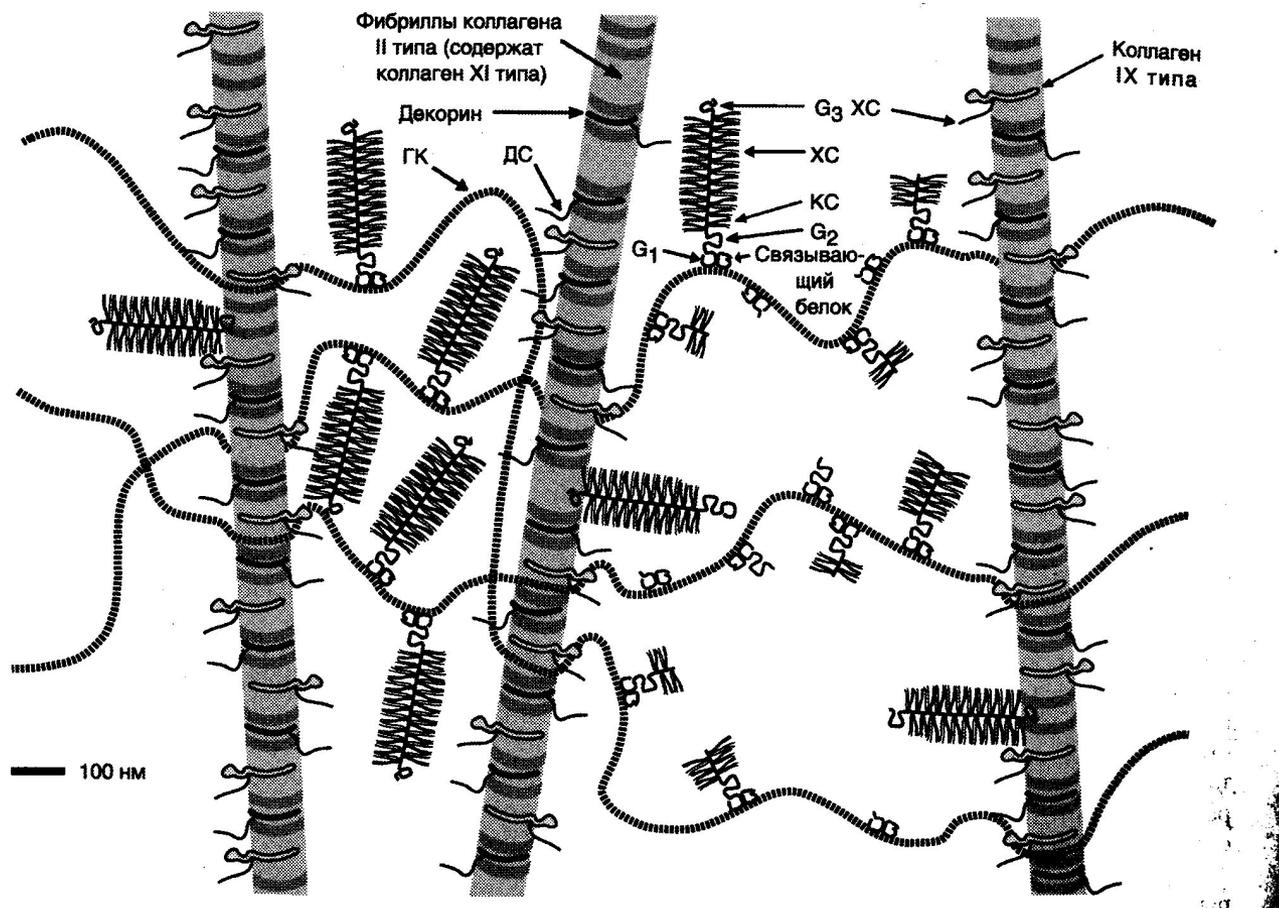
Остеокальцин (ОК) (gla-белок) – занимает второе место среди неколлагеновых белков костной ткани. Его синтез регулирует 1,25-дигидроксиголекальциферол. Состоит из 49 амк остатков. Связывает ГАП, Са. Предотвращает кости от избыточной минерализации и формирования грубых кристаллов ГАП, запускает процессы ремоделирования костной ткани.

Маркер костеобразования, поскольку в кость встраивается 90% синтезируемого ОК, а 10% попадает в кровь. ОК определяют при остеопорозе, гиперпаратиреозе, остеодистрофии.

Маркеры остеокластической резорбции костной ткани - полипептидные фрагменты ОК – метаболиты, высвобождающиеся при распаде ОК в кровь, содержащие гамма-карбокси-глу.

Организация межклеточного матрикса в суставном хряще

(«Биохимия», ред. Е.С.Северина)

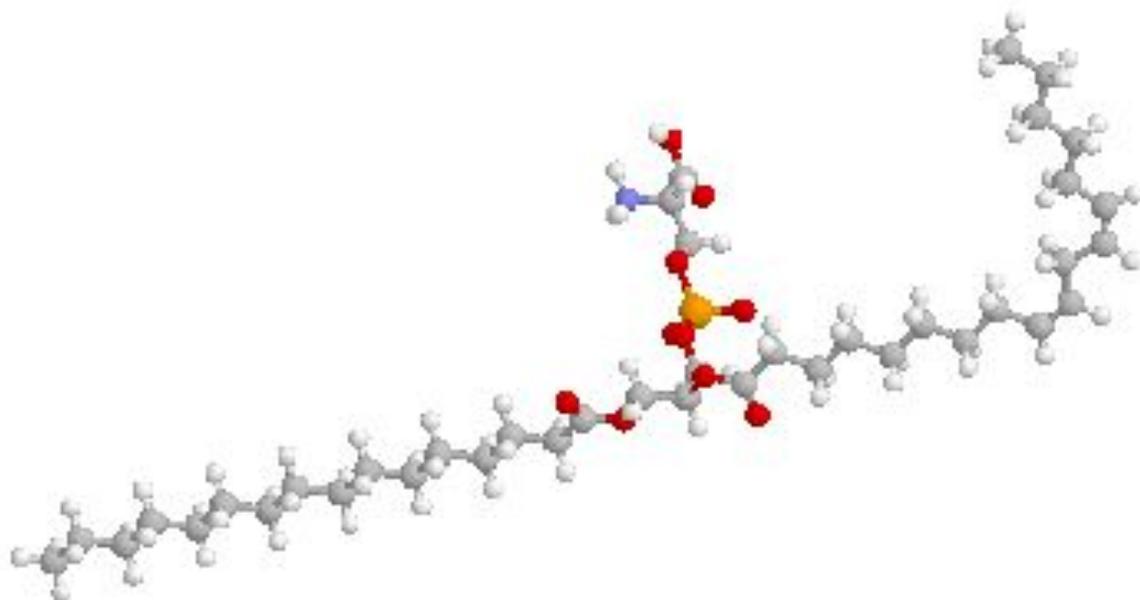
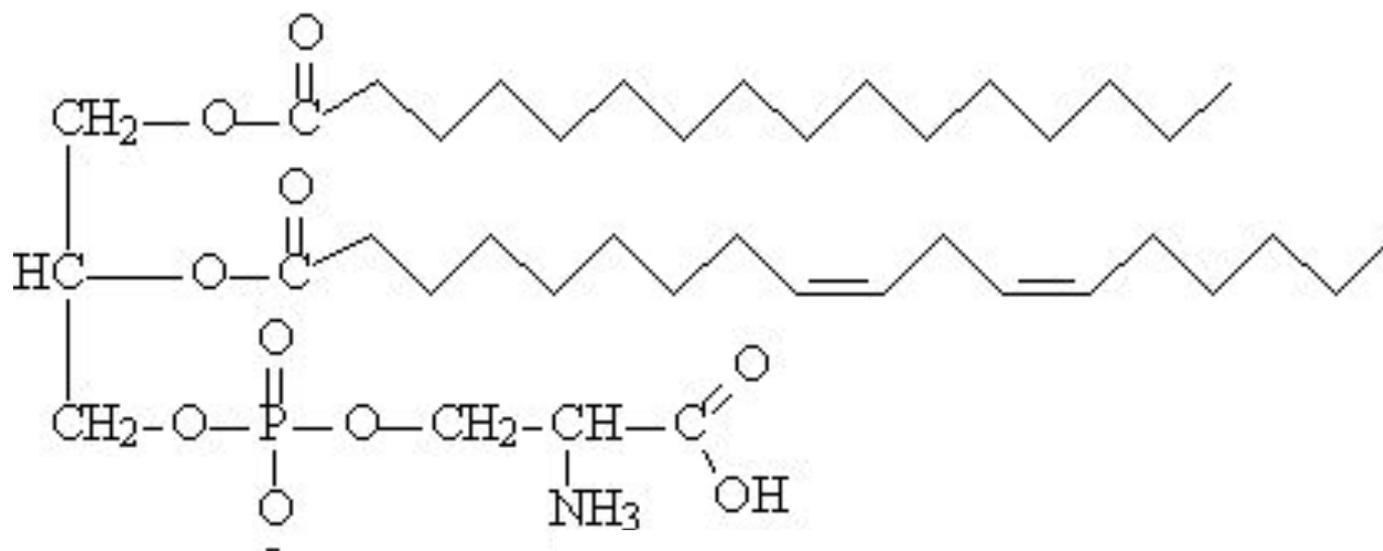


Липиды

Глицерофосфолипиды (ГФЛ) – имеют наибольшее значение для минерализации, особенно фосфатидилсерин. Связаны с белками гидрофобными взаимодействиями и ионными связями между противоположно заряженными группами.

Функции:

- 1) Участвуют в образовании центров кристаллизации
- 2) Связывают кристаллы ГАП с белковой матрицей
- 3) Являются «депо Са» и поставляют его для непрерывного роста кристаллов

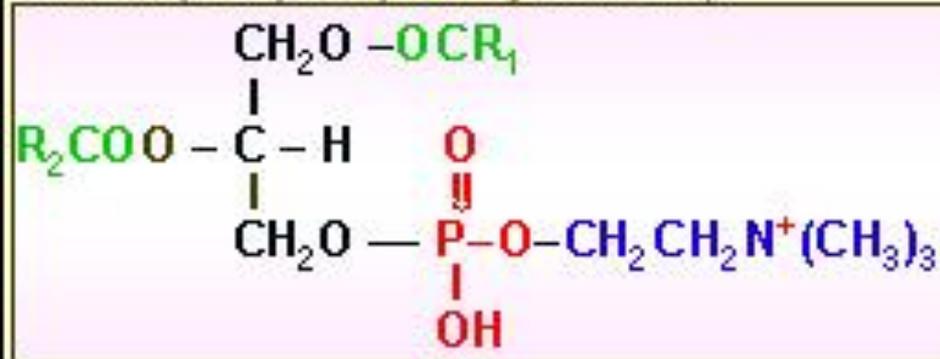


Фосфатидилсерин

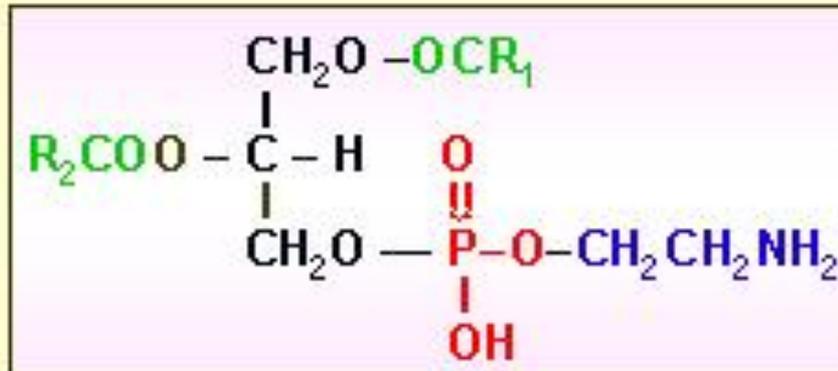
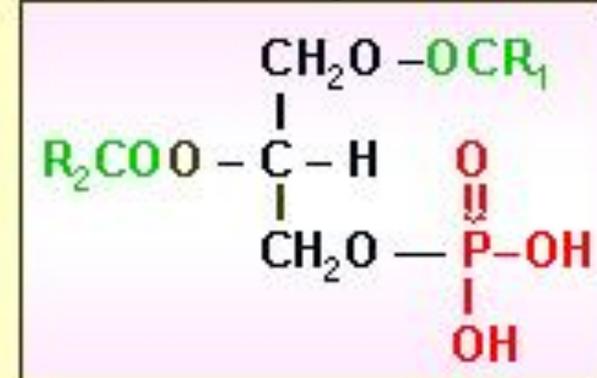
Глицерофосфолипиды

Остаток фосфата может связывать ионы Ca.

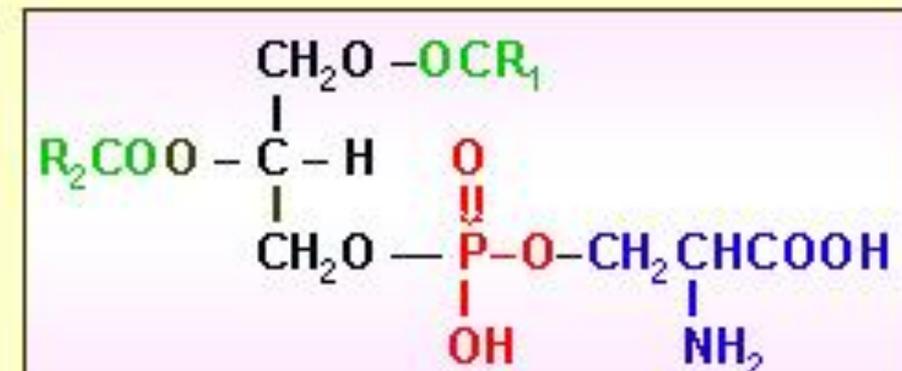
Lecithin(L-a-phosphatidyl choline)



L-a-phosphatidyl choline



L-a-phosphatidyl ethanolamine



L-a-phosphatidyl serine

**Содержание (приблизительное) минеральных,
органических компонентов и воды в
минерализованных тканях**

Ткань	Вещества		
	Минеральные,%	Органические,%	Вода, %
Эмаль	95	1,2	3,8
Дентин	70	20	10
Цемент	65	25	10
Кость	45	30	25

Процентное содержание (приблизительное) минеральных, органических компонентов и воды в минерализованных тканях

Тип ткани	Органическое вещество	Ca^{2+}	F_n	HCO_3^-	H_2O
Эмаль незрелая	15-20	следы	следы	следы	70
Эмаль зрелая	2	36-38	12-18	2-3	30
Дентин	20	26-28	12-13	3-4	40
Костная ткань	24-25	22-24	11	4	45

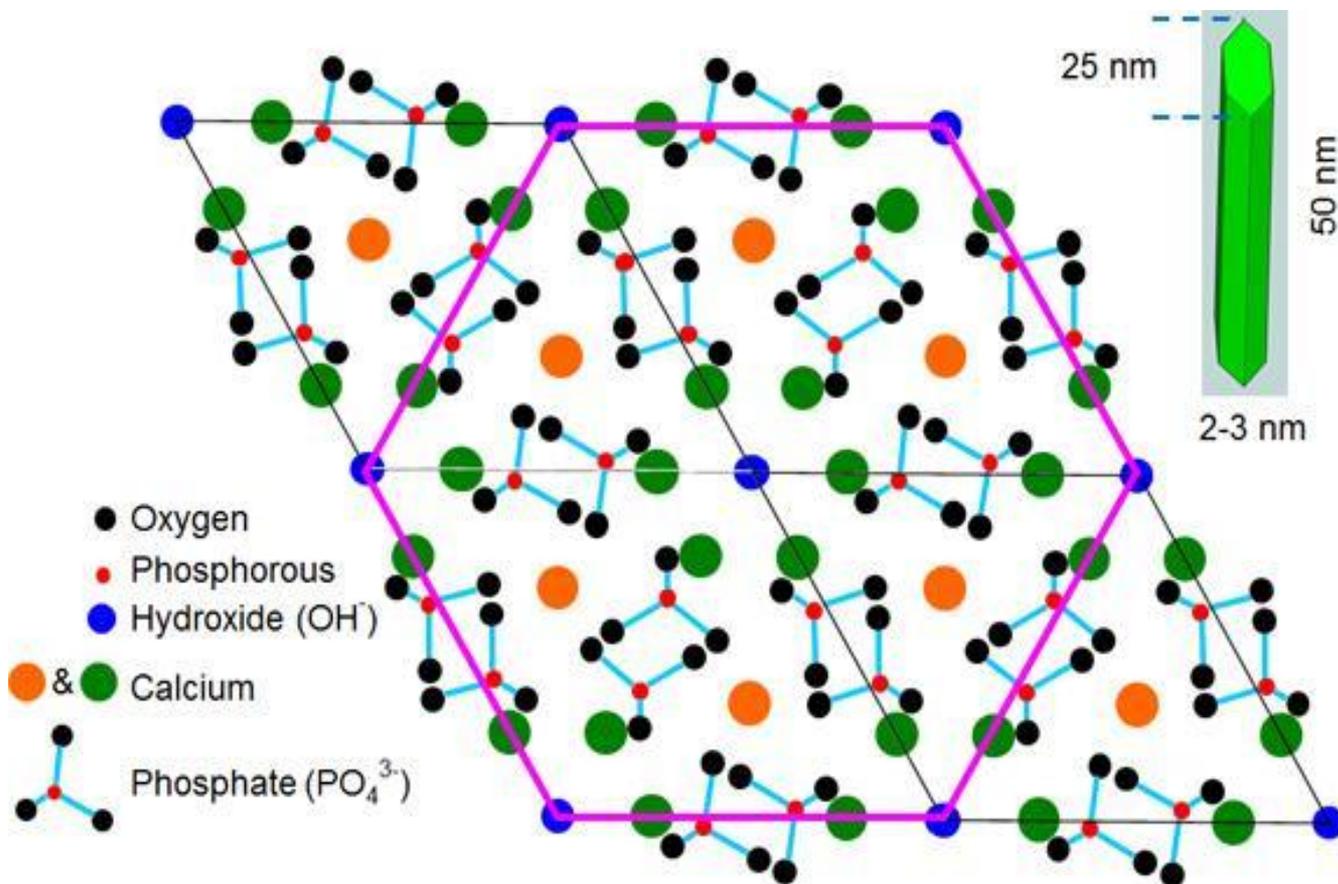
Гидроксиапатит (ГАП) – основной неорганический компонент минерализованных тканей $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

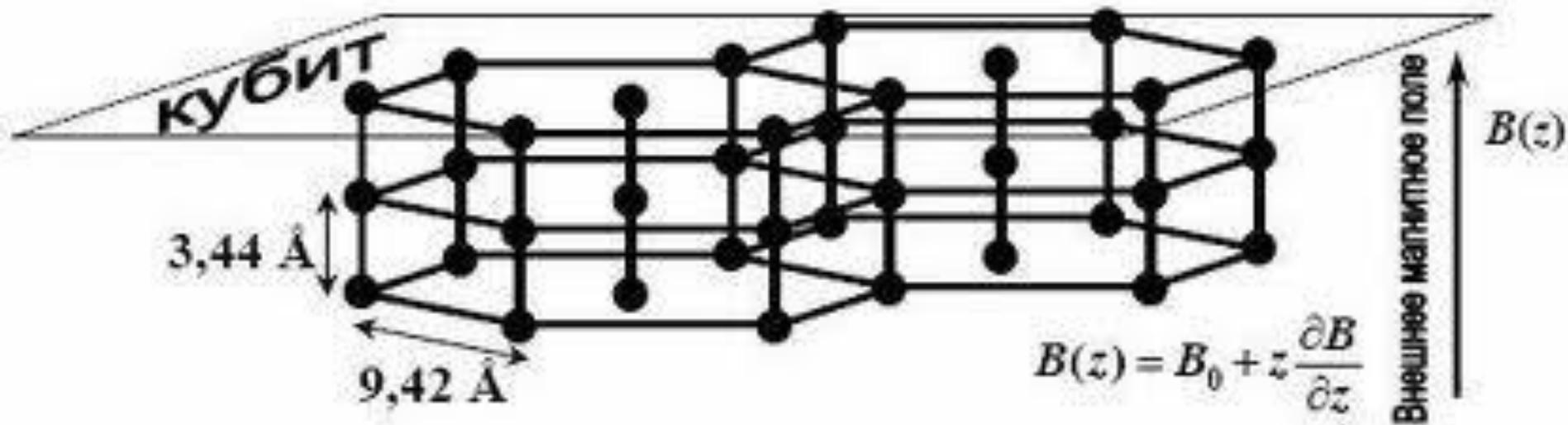
Его кристаллы имеют форму гексагональных призм.

На периферии кристаллов ГАП – молекулы воды, в которой растворены Ca^{2+} , F^- и другие ионы – эмалевый ликвор. Существует дентинный ликвор. С помощью ликвора эмаль соединена с дентином и ротовой полостью.

Кристаллическая структура ГАП

В основании скошенной призмы шестиугольник





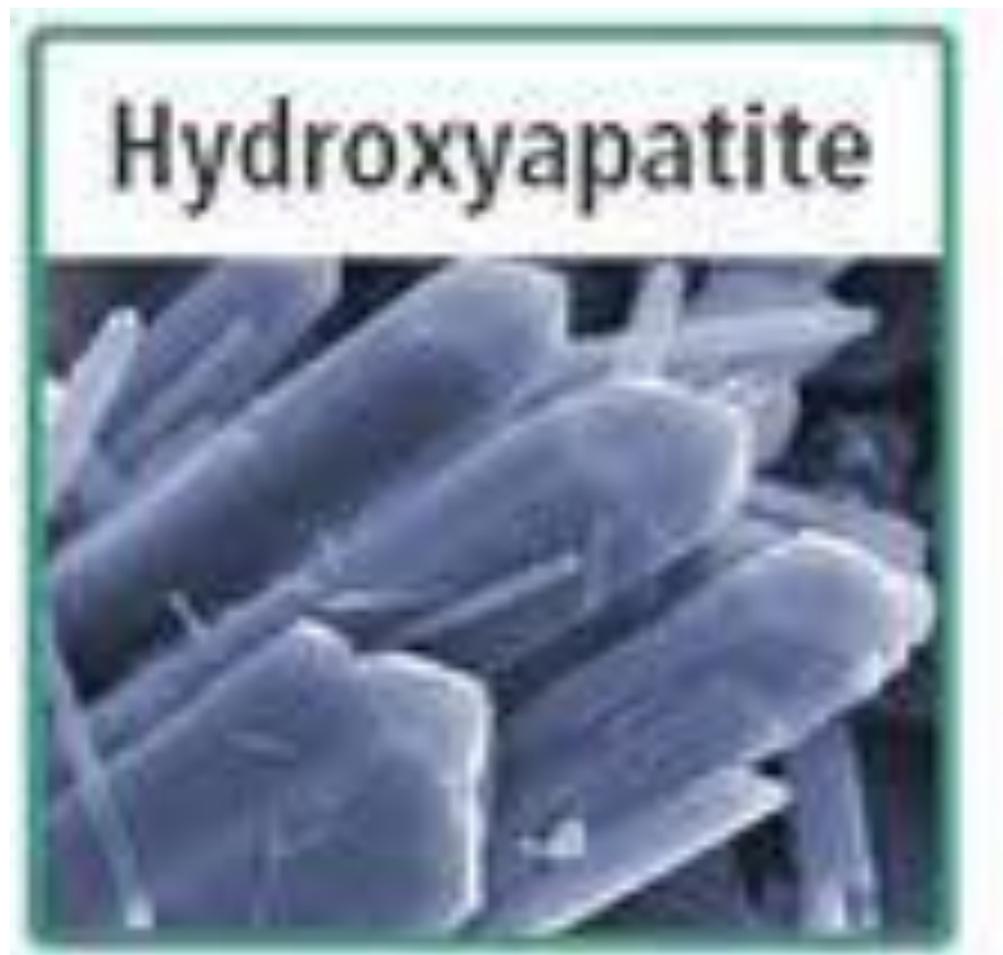
Кристаллическая структура гидроксиапатита кальция



Кристаллическая структура ГАП

Микропалочки ГАП

(В эмали призмы ГАП в 200 раз больше, чем в дентине)



Как происходит минерализация?

Ионы Ca^{2+} и Фн присоединяются к органической матрице, а затем к ним «подстраиваются» противоположно заряженные ионы

Как связывается Ca^{2+} ?

- За счет ионного взаимодействия с отрицательно заряженными карбоксильными группами - COO^- – белков и фосфатидисерина и фосфатными группами фосфопротеинов.

Как связывается Фн?

- Ковалентно. Сложноэфирной связью с гидроксильными группами остатков серина и треонина, фосфамидной связью с амидной группой аспарагина и лизина.

ИЗОМОРФНОЕ ЗАМЕЩЕНИЕ ИОНОВ В ГАП

Ионы в **кристаллической** решетке ГАП могут замещаться на **одноименно** заряженные ионы. Замены внутри кристаллов происходят медленно.

Замены ионов Ca^{2+}

Замена на Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mo^{2+} , Pb^{2+} , или Al^{3+} ,
кратковременно на Na^+ , K^+ , понижает прочность зубов,
снижает устойчивость к неблагоприятным химическим и
физическим воздействиям:



Проблемы: 1) Включение радиоактивного ^{90}Sr вместо Ca в областях с повышенной радиацией - тогда источник излучения «поселяется» в костной ткани.

2) В минерализованные ткани встраивается до 90% попавшего в организм Pb , который затем медленно вымывается, отравляя организм. В слюне он образует темный PbS , который образует «кайму» на губах.

Са заменяется на ионы водорода в кислой среде :



что, ведет к разрушению кристаллов ГАП.

Количество ионов Ca^{2+} в ГАП может колебаться, $n(\text{Ca}^{2+}) = 8 - 12$.

При n меньше 8 ГАП разрушаются и Ca^{2+} выходит из кристаллов.

Замены фосфат-ионов (Фн – фосфат неорганический)

Наиболее частая замена – на гидрокарбонат-ион приводит к образованию **карбонатов**:



Накопление карбоната свыше 3-4% снижает кариес-резистентность эмали.

Интенсивность замещения в костной ткани, дентине и прилегающей к дентину эмали зависит как от общего числа бикарбонатов в организме, так и от их продукции одонтобластами.

Основные причины повышения HCO_3^- в организме –

1) высокоуглеводная диета;

2) стресс

В поверхностных слоях эмали карбонаты образуются за счет деятельности микрофлоры зубного камня, в результате которой их концентрация значительно превышает Φ_n , что делает возможной замены.

Молярный кальцево-фосфатный коэффициент
(соотношение $Ca^{2+}/Фн$)

в норме колеблется в пределах 1,3-2,0.

Оптимальное соотношение = 1,67

В эмали коэффициент максимальный.

Поскольку в пожилом возрасте в зубах возрастает доля карбоната, соотношение $Ca^{2+}/Фн$ растет.

Поверхностное замещение Фн на арсенат (AsO_3^-) и алюминат-ионы (AlO_3^-), приводит к дестабилизации ГАП (использование препаратов As, Al, экологические аномалии в регионах с водой, насыщенной этими ионами – урвовская болезнь – Приамурье, Монголия)

Замены ионов OH^- на Cl^- , Br^- , I^- , F^-

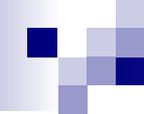
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})\text{F}$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ – фторапатиты.

Замена на F^- даже одной из 50-ти OH^- групп приводит к резкому снижению растворимости ГАП. В эмали содержание F^- выше, чем в дентине и цементе.

Для предотвращения кариеса воду фторируют.

Флуороз - заболевание зубов и костей, развивающееся при формировании минерализованной ткани в условиях избыточной концентрации F- в воде и почве и сопровождающееся разрушением ГАП.

Высокие концентрации фтора приводят к образованию на поверхности малорастворимого фторида кальция CaF_2 , который исчезает с поверхности эмали при pH больше 7.



Содержание фтора в питьевой воде, обеспечивающее **оптимальное соотношение** гидроксиапатита и фторапатита в эмали 0,5 – 1,0 мг/л.

Содержание фтора в питьевой воде, при котором развивается **флюороз** 10 – 15 мг/л.

Минерализация – отложение ГАП в специализированных тканях на белковом матриксе. (старый термин - **оссификация** - процесс образования костной ткани)

Кальцификация мягких тканей (старый термин - **эктопическая оссификация**) –
– отложение Ca^{2+} и F_n в мягких тканях (патология)

Остеопороз – нарушение формирования ВКМ

Остеомаляция – нарушение минерализации ВКМ

Этапы формирования костной ткани

Прикрепление, дифференцировка и рост и созревание клеток под действием факторов

- митогенов, усиливающих митозы клеток,
- морфогенов, ускоряющих созревание клеток,
- хемотаксиса (движения клеток)
- адгезии

Синтез клетками структурных молекул межклеточного матрикса

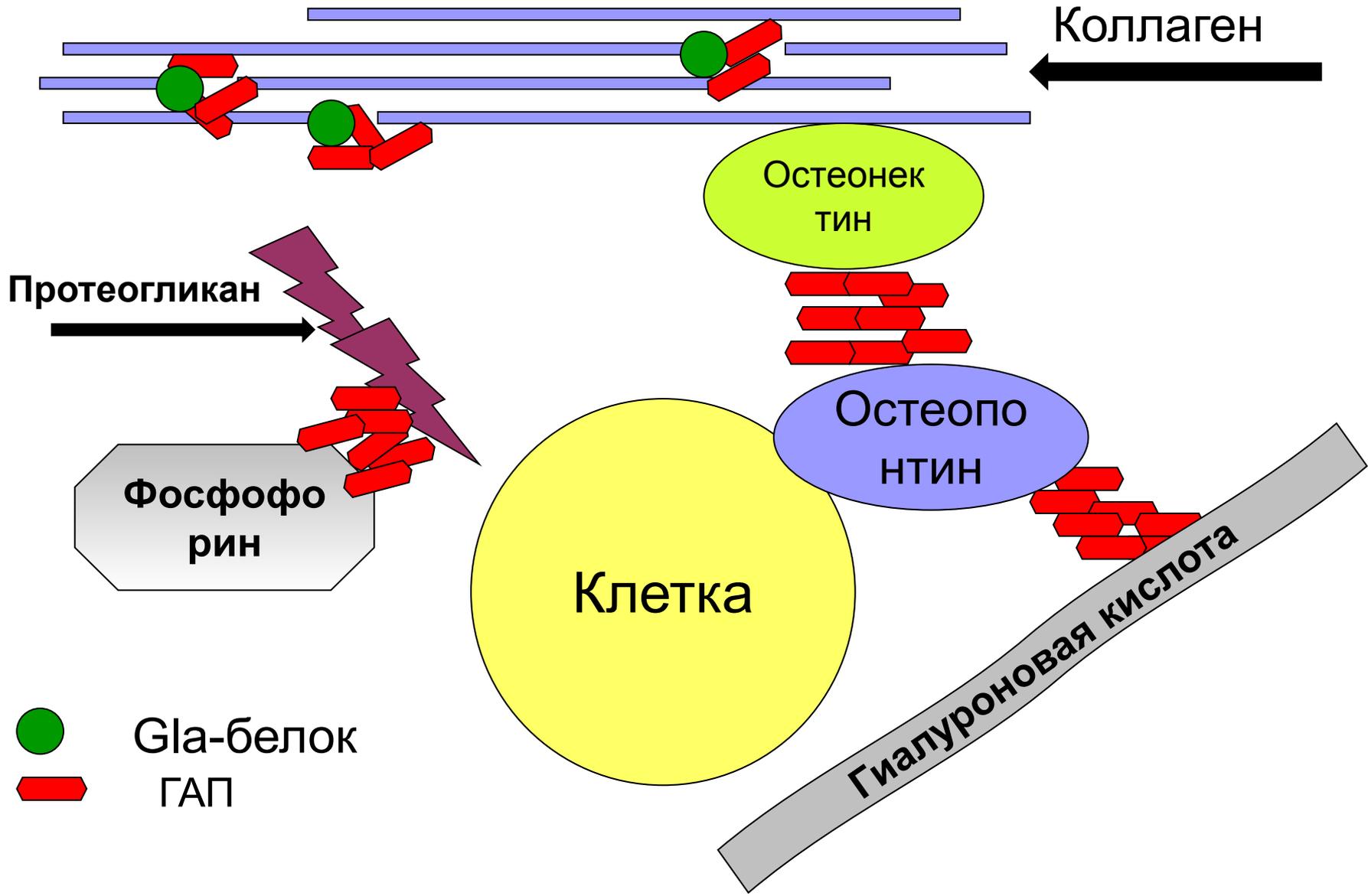
Минерализация органического матрикса

а) создание центров нуклеации

б) центров кристаллизации

б) организованный, направленный рост кристаллов

ГАП на возникших центрах кристаллизации, который называют **эпитаксия**.



Коллаген

Протеогликан

Фосфофофин

Остеонектин

Остеопонтин

Клетка

Гиалуроновая кислота

● Gla-белок
▬ ГАП

Маркеры формирования кости

- **Костная щелочная фосфатаза** – имеется связь между ее активностью и скоростью формирования кости.
- **C- и N- пропептиды, отщепляемые на концах проколлагена I типа** – отражают скорость его синтеза.
- **Остеокальцин** – 10% вновь синтезированного попадает в кровь.

Маркеры резорбции кости

- **Гидроксипролин** – распад коллагена
- **Десмозин изодесмозин (пиридинолины)** – распад эластина, высвобождаются в кровоток и секретируются с мочой, не подвергаясь катаболизму; их выведение не зависит от диеты.
- **Поперечно сшитые – N-телопептиды КНа I типа – (NTx)** -маркеры резорбции благодаря уникальной последовательности и ориентации поперечно сшитых цепей. Возникают в результате действия ферментов остеокластов.
- **Полипептидные фрагменты остеокальцина (ОК)**, содержащие гамма-карбокси-глутаминовую кислоту, высвобождающиеся при распаде ОК в кровь.

Особенности минерализации тканей зуба

Отсутствие ремоделирования –
принципиальное отличие всех
минерализованных тканей зуба от
костной ткани

Дентин

Так как в пульпе нет перицитов, МБК действует на мезенхимальные клетки пульпы, которые дифференцируются в одонтобласты в течение всей жизни.

Одонтобласты не замуровываются в образованный ими минеральный матрикс, а остаются на границе дентина и пульпарной жидкости.

На границе с пульпой нет клеток, подобно остеокластам обеспечивающих резорбцию дентина. Поэтому полость пульпы с возрастом сужается.

Самый старый дентин расположен ближе к эмали. В дентине нет матричных Gla-белков: минерализуются коллаген, остеоонектин, фосфофорин (426 сер и 447 асп из 1000 амк остатков).

Скорость обмена минеральных компонентов в дентине ↓ в 6-7 раз, чем в костях, особенно в участках, удаленных от пульпы.

Цемент

– бессосудитая минерализованная ткань. Цементобласты зрелого зуба отсутствуют в верхней части цемента. Цементобласты, подобно остеобластам, окружены минерализованным матриксом и находятся в лакунах.

Эмаль (Э)

В незрелой Э. (зачаток зуба)

соотношение

энамелины:амелогенины = 1:9

При созревании Э.:

снижается содержание амелогенинов,
воды, белков;

растет содержание минеральных
компонентов.



Дополнительная информация о строении и составе межклеточного матрикса твердых тканей зубов, минерализации, деминерализации, микробиологии и иммунологии полости рта, кариесрезистентности в книгах:

1. Е.В.Боровский, В.К.Леонтьев
БИОЛОГИЯ ПОЛОСТИ РТА
Москва МЕДИЦИНСКАЯ КНИГА
Н. Новгород, изд-во НГМА, 2001

2. Вавилова Т.П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта, М.:
Издательский дом «ГЭОТАР-МЕДИА», 2008.