

**ГУ «ЛУГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ»**

Кафедра медицинской химии

**Биохимия жидкостей
полости рта
Часть 2**

Автор – ассистент Демьяненко Е.В.

Белки слюны представлены полиморфными группами:

белки, богатые
пролином

белки, богатые
гистидином
(гистатины)

белки, богатые
тирозином
(стазерины)

цистатины

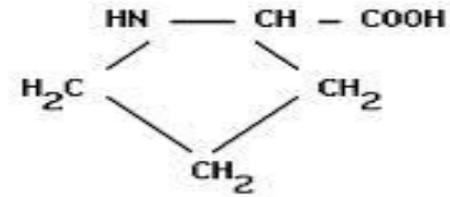
муцины

иммуноглобулины
(антитела)

ферменты
слюны

Некоторые белки существуют в единичной форме: фактор роста эпителия, фактор роста нервов, лактоферрин и др.

1. Белки, богатые пролином (ББП)



Выделяются, в основном, с секретом околоушных слюнных желез. Выполняют минерализующую и защитную функции.

ББП составляют 70% всех белков секрета и подразделяются на 3 группы:

- ❖ Кислые
- ❖ Основные
- ❖ Гликозилированные

В этих белках пролина, глицина и глутамина от 70% до 90% от всех аминокислотных остатков.

•Кислые ББП

- первыми осаждаются на эмаль и начинают формировать пелликулу зуба (т.к. связываться Ca^{++} отрицательными концами);
- регулируют поступление ионов кальция и фосфатов в эмаль (препятствуют деминерализации)
- связывают микроорганизмы полости рта и ускоряют образование зубного налета

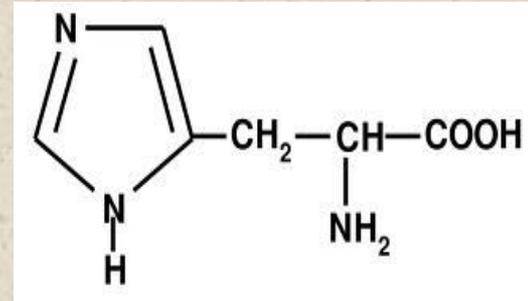
•Основные ББП

- обладают антибактериальной активностью (взаимодействуют с мембраной стрептококков, нарушают ее проницаемость и вызывают их гибель)
- защищают оболочку полости рта от танинов пищи (Таннины связывают (дубят) белки и полисахариды полости рта и мешают выполнению их функций)

•Гликозилирован-ные ББП

- выступают в роли смазки, покрывая слизистые оболочки полости рта;
- ускоряют образование пелликулы зуба и зубного налета, осаждаются на эмали зуба после кислых ББП
- способствуют образованию комка пищи

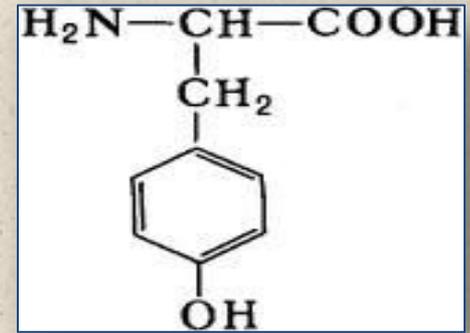
2. Гистатины - белки богатые гистидином (ББГ)



- Содержание гистидина достигает 25%, много аргинина и лизина и практически отсутствует пролин
- ББГ невелики по молекулярной массе и в растворе не имеют постоянной конформации
- Прочно связываясь с гидроксиапатитами эмали, участвуют в формировании пелликулы зуба и гомеостазе эмали
- Участвуют в защите полости рта, проявляя противогрибковое, антивирусное и антимикробное действие

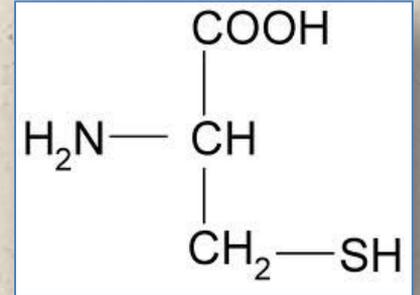
Возможно, отсутствие определенной структуры у ББГ и ББП облегчает образование с различными таннинами и белками как растворимых, так и нерастворимых комплексов.

3. Белки, богатые тирозином - стазерины (статерины)

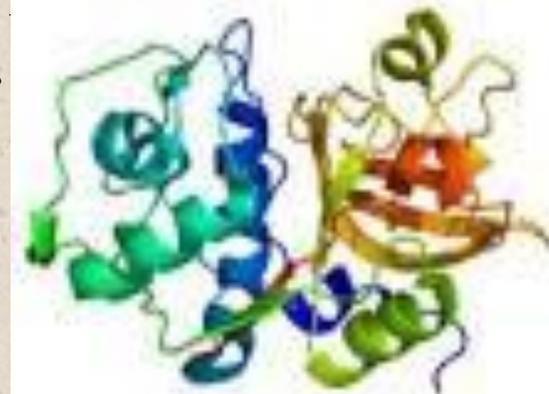


- ❖ Это гликофосфопротеины с высоким содержанием тирозина. На N-концах молекул находятся фосфорилированные остатки серина, которые связывают кальций;
- ❖ Кальций связывающие белки, препятствуют чрезмерно быстрому осаждению ионов фосфора и кальция на поверхности эмали зуба;
- ❖ Участвуют в образовании пелликулы зуба и угнетают рост бактерий (как и гистатины).
- ❖ Совместно с гистатинами они ингибируют рост как аэробных, так и анаэробных бактерий.

4. Цистатины - кислые низкомолекулярные белки полости рта



- ❖ Есть данные, что цистатины выполняют антимикробную и противовирусную функцию, через ингибирование активности ферментов – цистеиновых протеиназ, гидролизующих белки полости рта.
- ❖ Специфически связываясь в активном центре ферментов с остатками цистеина, тормозят активность цистеиновых протеиназ.
- ❖ К ним относятся - катепсины В, Н, L.

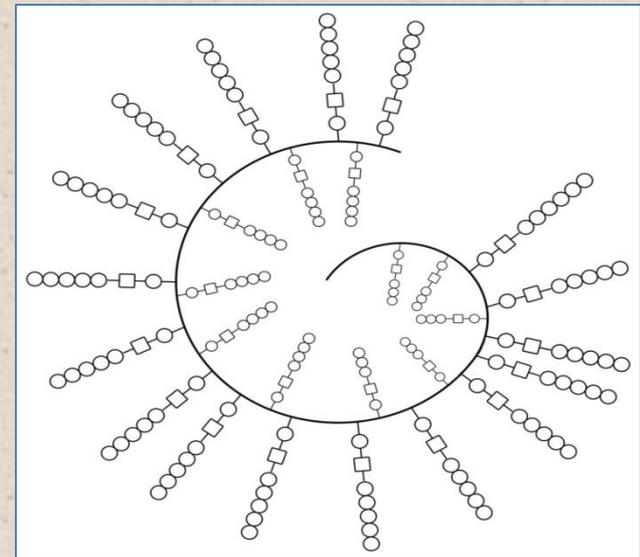
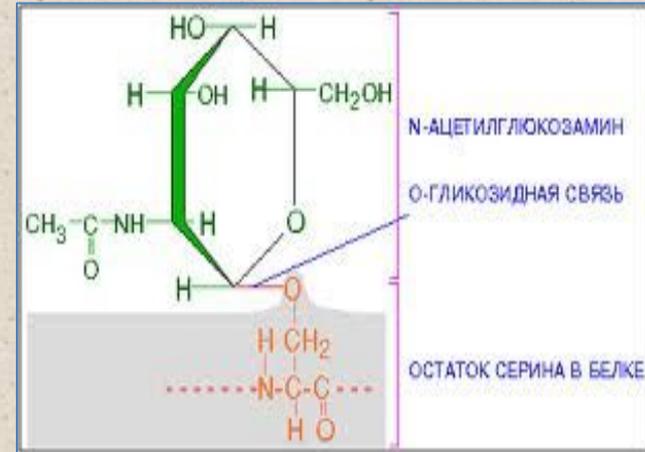


5. Муцины слюны

- ❖ Муцины – это гликопротеины, в которых много остатков пролина (до 50%), серина, треонина и углеводных цепей полисахаридов (50-70%).
- ❖ Короткие полисахаридные цепи крепятся к серину и треонину O-гликозидными связями.
- ❖ Аминокислотные остатки пролина вызывают изгибы полипептидной цепи.
- ❖ В слюне присутствует муцин-1 (Mr 250 кДа) и муцин-2 (Mr 100 кДа).

Особенности строения молекулы муцина:

Молекула муцинов похожа на гребенку и состоит из белковой части (сплошная линия) и коротких полисахаридных цепочек, состоящих из фукозы, галактозы, N- ацетилглюкозаминов и других сахаров.



Функции муцинов

Основные белки, обеспечивающие

вязкость слюны, участвуют в

образовании мицелл слюны

Молекулы муцинов вместе с ББП образуют пелликулу зуба, которая защищает

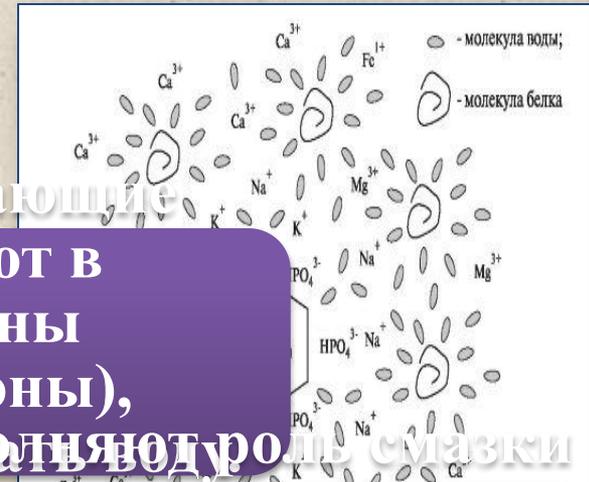
(структурной единицы слюны),

благодаря способности связывать воду.

Они выполняют роль смазки не только в полости рта, но и в кишечнике, бронхах, семенной жидкости, влагалище.

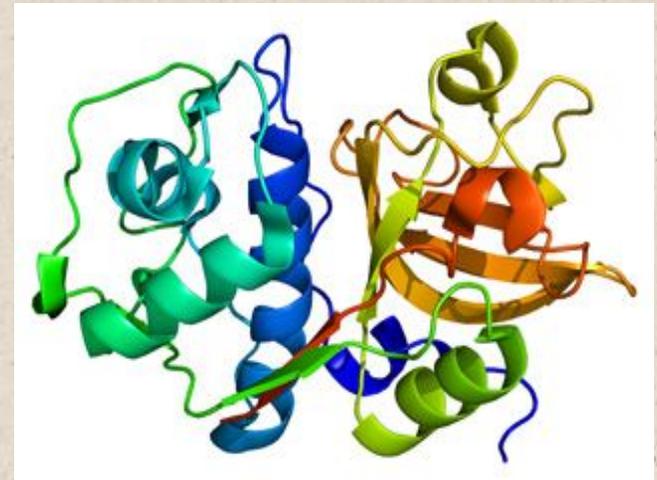
клетки ротовой полости от бактериальных, вирусных, химических и др. воздействий.

не только в полости рта, но и в кишечнике, бронхах, семенной жидкости, влагалище.



6. Ферменты слюны

- В смешанной слюне проявляют активность более 100 ферментов.
- В основном ферменты синтезируются слюнными железами, часть попадает в слюну из разрушенных клеток эпителия, бактериальных клеток, лейкоцитов или из крови.
- В слюне присутствуют:
 - ❖ гликозидазы
 - ❖ фосфатазы
 - ❖ протеазы (катепсины А, В, Н и L)
 - ❖ ДНКазы и РНКазы
 - ❖ ферменты – антиоксиданты и др.



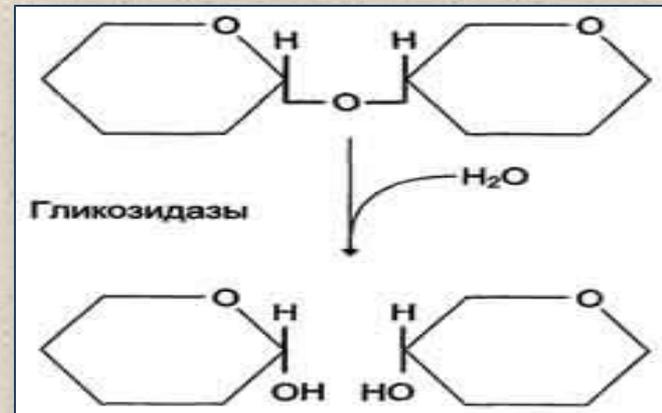
Гликозидазы слюны

К ним относятся:

- ❖ Пищеварительные ферменты слюны – сахараза, липаза, α – амилаза и др.
- ❖ Антибактериальный фермент - лизоцим
- ❖ Бактериальные ферменты: β - глюкоксидаза, нейраминидаза, гиалуронидаза.
Закисление слюны способствует активации бактериальных ферментов, что ведет к разрушению ткани зуба. Например: расщеплению муцинов β – глюкоксидазой приводит к развитию гингивита и кариеса.

α - амилаза слюны

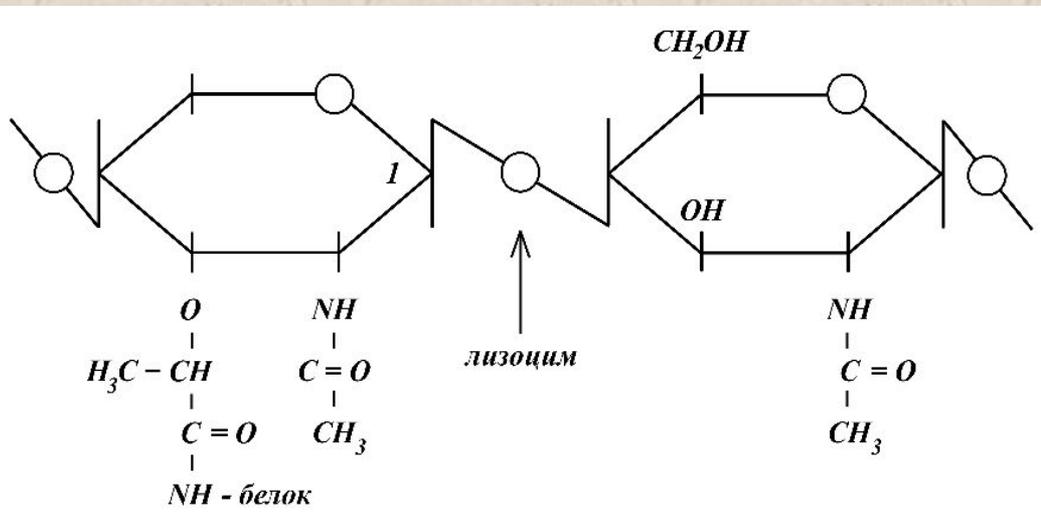
- ❖ Участвует в формировании пищевого комка.
- ❖ В крахмале и гликогене пищи гидролизует α 1- 4 гликозидные связи.
- ❖ Может разрушать полисахариды, входящие в состав мембраны гонококков, проявляя антимикробное действие.
- ❖ В пищевой промышленности зарегистрирована в качестве пищевой добавки E1100 как улучшитель муки и хлеба.



Лизоцим - антимикробный фермент

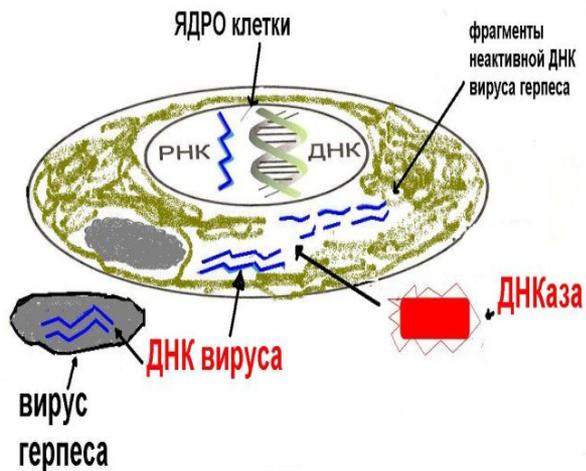
Лизоцимы – гликопротеины, молекулярная масса составляет 15 – 17 кДа, содержат до 50% углеводных компонентов.

Лизоцим катализируют реакцию гидролиза 1-4-гликозидных связей в полисахаридах бактериальных стенок.



ДНКазы и РНКазы

ДНКазы и РНКазы разрушают нуклеиновые кислоты бактерий и вирусов, т.с. проявляют противовирусное и антимикробное действие.

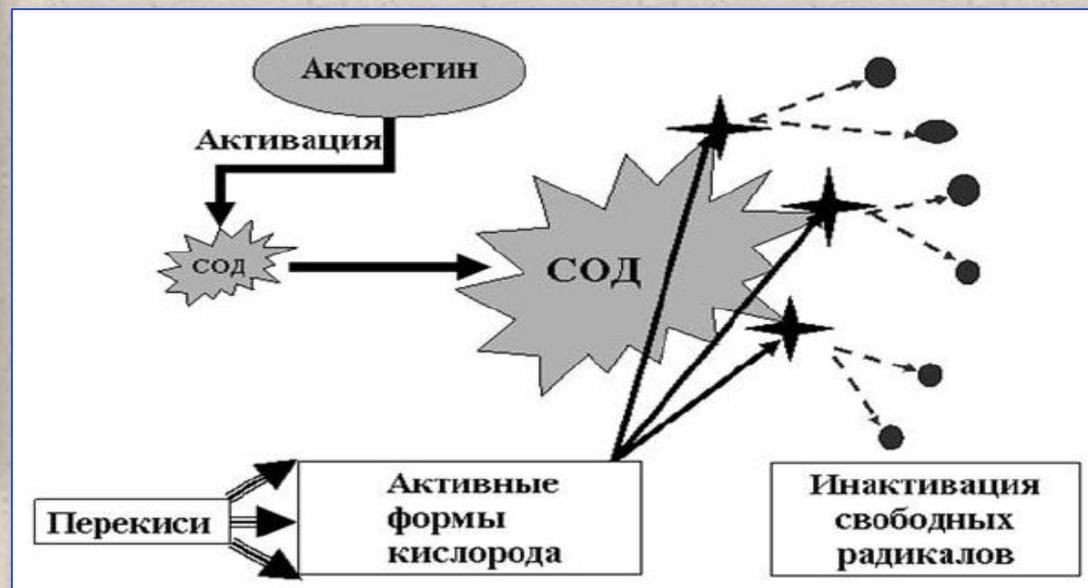


Ферменты-антиоксиданты

К ним относят ферменты, которые снижают концентрацию свободных радикалов.

- ❖ супероксиддисмутаза (СОД)
- ❖ каталаза
- ❖ глутатионпероксидаза и др.

Большое количество активных форм кислорода (АФК) оказывает губительное действие на компоненты мембран клеток тканей полости рта.



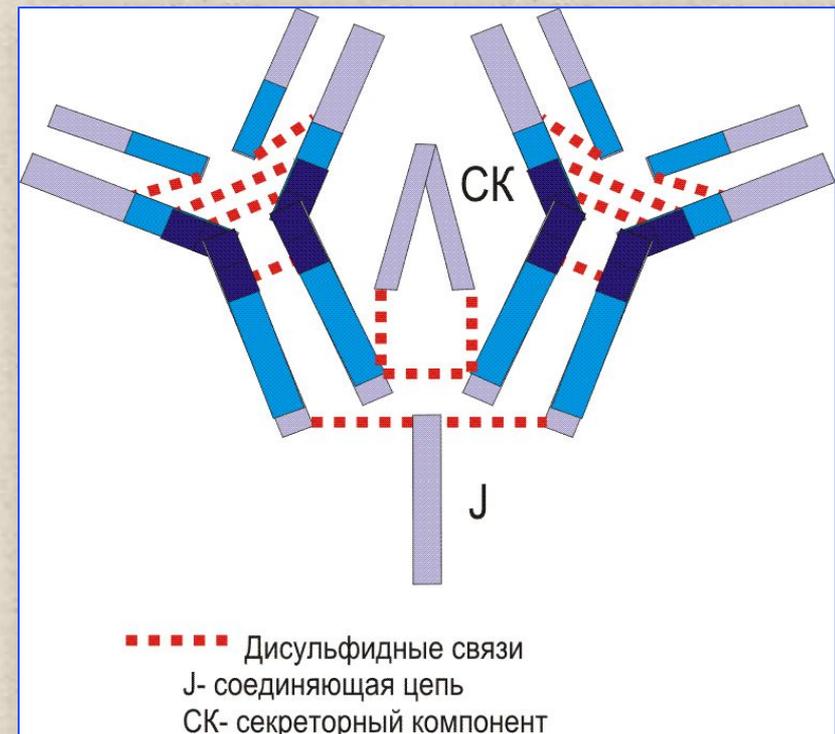
7. Иммуноглобулины слюны - факторы специфической защиты

- ❖ В слюне присутствуют все 5 классов иммуноглобулинов, а также секреторный – IgAs, продуцируемый слюнными железами.
- ❖ Секреторный IgAs подавляет прикрепление бактерий на поверхности слизистой оболочки полости рта.
- ❖ Он обладает выраженным бактерицидным, противовирусным и антитоксическим действием.



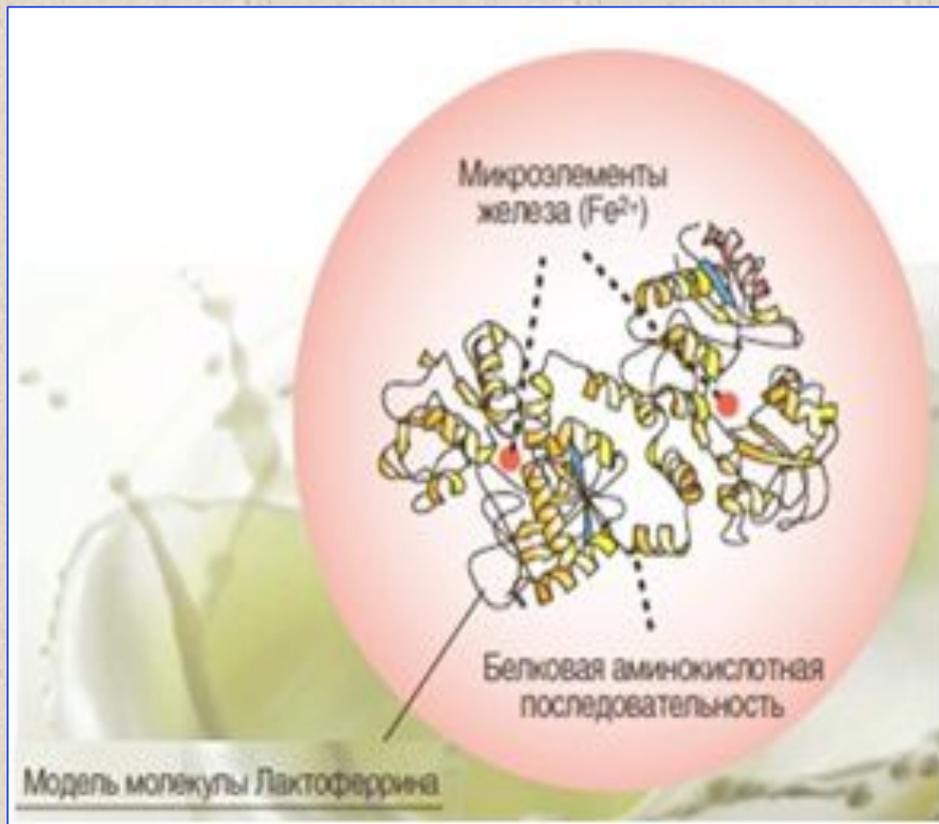
Строение IgAs

Находится в соединении с S-гликопротеином (секреторным компонентом), который предохраняет его от разрушения ферментами.



Лактоферрин - гликопротеин слюны

- ❖ Связывает ионы железа, необходимые для развития бактерий, тем самым осуществляет антимикробное действие.



- ❖ Способен напрямую взаимодействовать с липополисахаридами мембраны *Escherichia coli* и вызывать их гибель.
- ❖ Лактоферрин играет большую роль в поддержании иммунитета полости рта новорожденных.

Функции белков полости рта



БУФЕРНАЯ ФУНКЦИЯ СЛЮНЫ

На pH ротовой жидкости оказывают влияние

- ❖ **суточные биоритмы** (утром pH сравнительно ниже, чем в середине дня, и имеет тенденцию к повышению вечером; ночью ниже, чем днем). Суточные ритмы связаны с функцией слюнных желез; деятельностью микрофлоры и самоочищением полости рта; содержанием в слюне минеральных компонентов;
- ❖ **характер питания** (повышение pH при высокобелковой диете, снижение – при углеводистой);
- ❖ **возраст** (снижение pH с увеличением возраста);
- ❖ **беременность** (снижение pH);
- ❖ **стоматологические заболевания** (кариес зубов, пародонтит, гингивостоматит, афтозный стоматит, атрофия нитевидных сосочков языка, складчатый язык). При различных видах патологии полости рта может наблюдаться изменение pH ротовой жидкости как в кислую, так и в щелочную сторону;
- ❖ **соматические заболевания** (снижение pH при заболеваниях ЖКТ: язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки, хроническом гепатите, панкреатите, гастрите; гельминтозах; ревматизме; вирусном гепатите);
- ❖ **состояние вегетативной нервной системы** (pH слюны снижается при парентеральном введении препаратов, возбуждающих вегетативную нервную систему, а при введении атропина – незначительно повышается);
- ❖ **работа на химических производствах** (чаще наблюдается снижение pH, реже – сдвиг pH в щелочную сторону).

Другими факторами, повышающими рН ротовой жидкости, являются:

- ❖ мочевины слюны (многие микроорганизмы полости рта превращают ее в аммиак);
- ❖ сиалин – основной пептид, содержащий аргинин;
- ❖ амины – продукты декарбоксилирования аминокислот.
- ❖ Пищевые продукты, повышающие рН ротовой жидкости: орехи, сыр (особенно сорта «Чеддер»), ментол.

Главными факторами, приводящими к изменению рН, являются пищевые продукты и ацидогенная микрофлора полости рта. К наибольшей дестабилизации рН ведет метаболическое расщепление микрофлорой углеводовсодержащих продуктов – т.н. «метаболический взрыв». Пик этого взрыва приходится на места скопления микроорганизмов – зубной и язычный налет. Поэтому изменение рН ротовой жидкости – конечный результат при приеме пищи. Основным источником кислот в слюне – это ацидогенная микрофлора полости рта. После полоскания рта раствором сахарозы содержание лактата в слюне увеличивается в 4-5 раз.

Буферная емкость

- ❖ рН смешанной слюны варьируется в пределах 6,8-7,5
- ❖ Постоянство рН обеспечивается буферными системами слюны.
- ❖ Уплотнение или утолщение зубного налета лишает слюну возможности проявлять свое защитное действие.
- ❖ В зависимости от характера пищи и природы микроорганизмов в зубном налете могут реализоваться две противоположные ситуации: *формируется кислая среда*, в которой происходит деминерализация эмали и развитие кариеса; *формируется щелочная среда* (в ней аккумулируются высокие концентрации кальция и фосфатов и создаются условия для выпадения в осадок солей кальция и образования зубного камня).
- ❖ Буферная емкость слюны — это способность нейтрализовать кислоты и основания (щелочи), за счет взаимодействия гидрокарбонатной, фосфатной и белковой систем. Установлено, что прием в течение длительного времени углеводистой пищи снижает, а прием высокобелковой — повышает буферную емкость слюны. Высокая буферная емкость слюны относится к числу факторов, повышающих резистентность зубов к кариесу.

Изменение рН зубного налета или смешанной слюны в результате микробного гликолиза сахаров получило название *кривой Стефана* (по имени Р.Стефана, впервые в 1940 г. наблюдавшего быстрое снижение рН зубного налета и последующее медленное его восстановление после аппликации на зубные ряды растворов глюкозы и сахарозы).

где:

pH_1 – начальное значение рН;

A – амплитуда кривой;

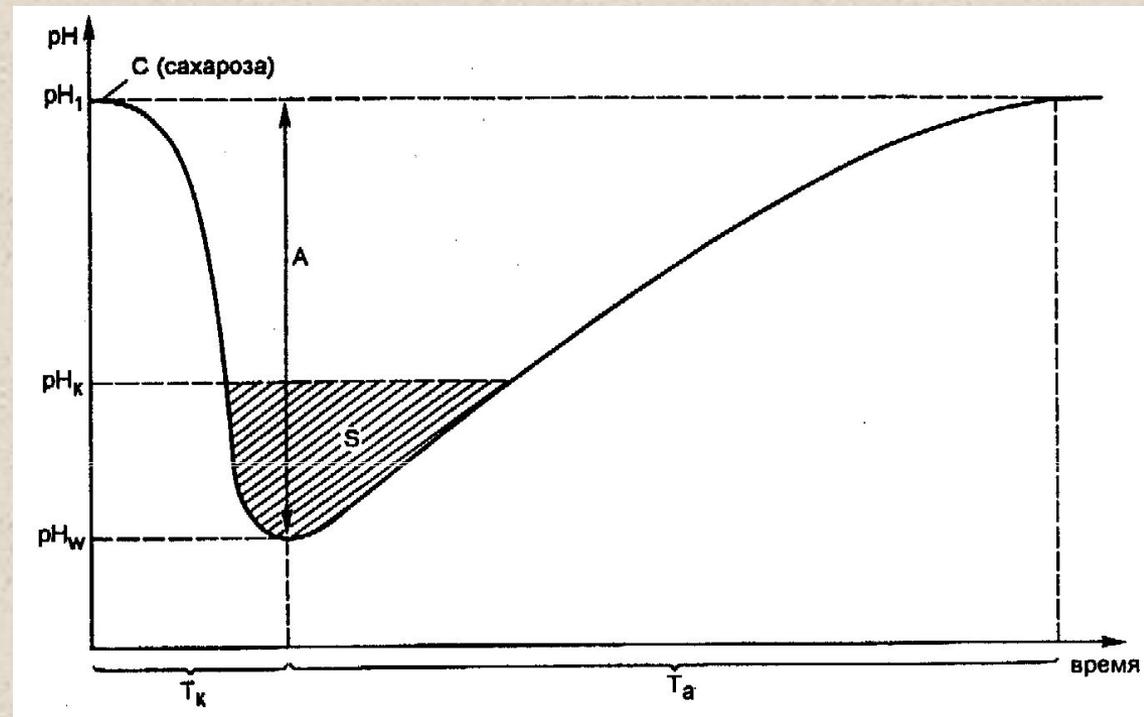
T_k – длительность катакроты;

T_a – длительность анакроты;

pH_k – критическое значение рН;

S – интенсивность критического значения рН;

pH_w – минимальное значение рН.



- ❖ **Амплитуда кривой** является наиболее информативным показателем, поскольку характеризует кислотопродуцирующую активность микрофлоры полости рта и эффективность механизмов регуляции кислотно-основного равновесия. Чем больше амплитуда кривой, тем больше вырабатывается в ответ на стимуляцию углеводом микрофлоры органических кислот (преимущественно, лактата) и тем меньше возможностей у систем регуляции рН ликвидировать ацидоз.
- ❖ **Интенсивность критического значения рН** характеризует выраженность запредельных изменений кислотно-основного равновесия, которые могут привести к развитию патологии (демнерализации твердых тканей зубов). Существуют данные о том, что суточная интенсивность критического значения рН в зубном налете в несколько раз больше у кариесвосприимчивых лиц, чем у кариесрезистентных.
- ❖ Приведенная форма кривой Стефана является типичной для большинства пациентов. Однако В.А.Румянцев (1989) после стимуляции микрофлоры полости рта раствором сахарозы в течение 20 сек. наблюдал изменение кривой рН ротовой жидкости в щелочную сторону у 12,2% обследованных (реверсивная кривая Стефана).

Факторы, влияющие на форму кривой Стефана

- ❖ вид, концентрация и экспозиция углевода (наиболее выраженными ацидогенными свойствами обладает сахароза; пищевые продукты: сахар, шоколад, сладкие сдобы, кексы, хлеб, шоколадные конфеты, пирожные, карамель, мороженое. Низкой ацидогенной активностью по сравнению с сахарами обладают коровье и человеческое молоко;
- ❖ свойства слюны: скорость слюноотделения, буферная емкость, вязкость;
- ❖ гигиеническое состояние полости рта (количество и возраст зубного налета);
- ❖ интенсивность кариеса зубов;
- ❖ наличие ретенционных пунктов зубных рядов.

ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОЛОСТИ РТА

Защитная функция слюны осуществляется благодаря наличию в ее составе:

- ❖ - защитных белков (муцинов, ББП, гистатинов, и др.)
- ❖ - лейкоцитов
- ❖ - иммуноглобулинов (связывающих и активирующих IgAs)
- ❖ - ферментов (лизоцима, α -амилаза и др.)

- Химический механизм

- Физиологический механизм

- Специфическая защита

- **Иммунная защита**
(иммуноглобулины)

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ

- ❖ **Механическая защита** осуществляет барьерную функцию неповрежденной слизистой оболочки путем смывания микроорганизмов слюной, очищения слизистой оболочки в процессе еды, адгезии на клетках слущенного эпителия. Слюна также действует бактерицидно, благодаря наличию в ней биологически активных веществ.
- ❖ **Химические и физиологические механизмы защиты.**
 - **Лизоцим (фермент ацетилмурамидаза)** — муколитический фермент. Он обнаружен во всех секреторных жидкостях, но в наибольшем количестве в слезной жидкости, слюне, мокроте. Он лизирует оболочку некоторых микроорганизмов, в первую очередь грамположительных, стимулирует фагоцитарную активность лейкоцитов, участвует в регенерации биологических тканей.
 - **Защитная роль ферментов слюны** проявляется в нарушении способности микроорганизмов фиксироваться на поверхности слизистой оболочки рта или поверхности зуба. Наибольшей активностью обладают ферменты, расщепляющие белки, нуклеиновые кислоты и углеводы (протеазы и гликолитические).
 - **Бета-лизины** — бактерицидные факторы, проявляющие наибольшую активность в отношении анаэробных и спорообразующих аэробных микроорганизмов.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ

Специфическим иммунитетом называется способность организма избирательно реагировать на попавшие в него антигены.

Главным фактором специфической антимикробной защиты являются иммунные *гамма-глобулины (иммуноглобулины, антитела)*.

Иммуноглобулины - защитные белки сыворотки крови или секретов, обладающие функцией антител и относящиеся к глобулиновой фракции. В полости рта наиболее широко представлены IgA, IgG, IgM. Соотношение иммуноглобулинов в полости рта иное, чем в сыворотке крови и экссудатах. Если в сыворотке крови в основном представлены IgG, а IgM содержатся в небольшом количестве, то в слюне уровень IgA может быть в 100 раз выше, чем концентрация IgG.

Основная роль в специфической защите в слюне принадлежит иммуноглобулинам класса А. IgA представлены в организме двумя разновидностями: *сывороточным и секреторным*.

Сывороточный IgA по своему строению мало отличается от IgG и состоит из двух пар полипептидных цепей, соединенных дисульфидными связями.

Секреторный IgA устойчив к действию различных протеолитических ферментов.

Биологически активные вещества (БАВ) слюны

БАВ слюны обладают эндокринной функцией и участвуют в регуляции гомеостаза полости рта и многих органов и тканей организма.

- ❖ **Фактор роста эпителия (ФРЭ) - усиливает резорбцию (разрушение) костной ткани и деление одонтобластов.**
- ❖ **Фактор роста нервов (ФРН) - оказывает мощное противовоспалительное действие.**
- ❖ **Паротин - способствует минерализации.**
- ❖ **Ренин – обладает сосудосуживающим действием.**

Десневая жидкость

- Десневая жидкость - биологическая жидкость полости рта, которая омывает десневую бороздку.
- Включает в себя спущенные эпителиальные клетки, лейкоциты (основной источник поступления в слюну), микроорганизмы, электролиты, белковые компоненты и ферменты.
- Имеется тесная взаимосвязь между степенью нарастания воспалительных изменений в пародонте и уровнем активности гидролитических ферментов лейкоцитов.

Наиболее характерные ферменты лейкоцитов десневой жидкости, оказывающие защитное действие на ткани пародонта

- Кислая фосфатаза (маркер лизосом);
- Щелочная фосфатаза;
- Различные гликозидазы;
- Протеиназы (катепсины, эластаза, коллагеназа);
- Лизоцим;
- Фосфолипазы;
- Миелопероксидаза и др.

Функции лизосомальных ферментов лейкоцитов

- Освобождаясь из лизосом ферменты повышают проницаемость капилляров и облегчают дальнейший выход лейкоцитов.
- Атакуют бактерии, разрушают клетку в целом (фосфолипазы, лизоцим).
- Щелочная фосфатаза необходима для выполнения фагоцитарной функции лейкоцитов.

Миелопероксидаза лейкоцитов участвует в реакции образования гипохлорита (оказывает бактерицидное действие)

Миелопероксидаза лейкоцитов катализирует реакцию:



Образующийся в реакции гипохлорит OCl^- обладает в десятки раз более сильным бактерицидным действием, чем пероксид водорода.



Спасибо за внимание