

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

Кафедра медицинской химии

**Биохимия жидкостей
полости рта
Часть 2**

Автор – ассистент Демьяненко Е.В.

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 углеводсодержащих 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 слюны

- ❖ 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;

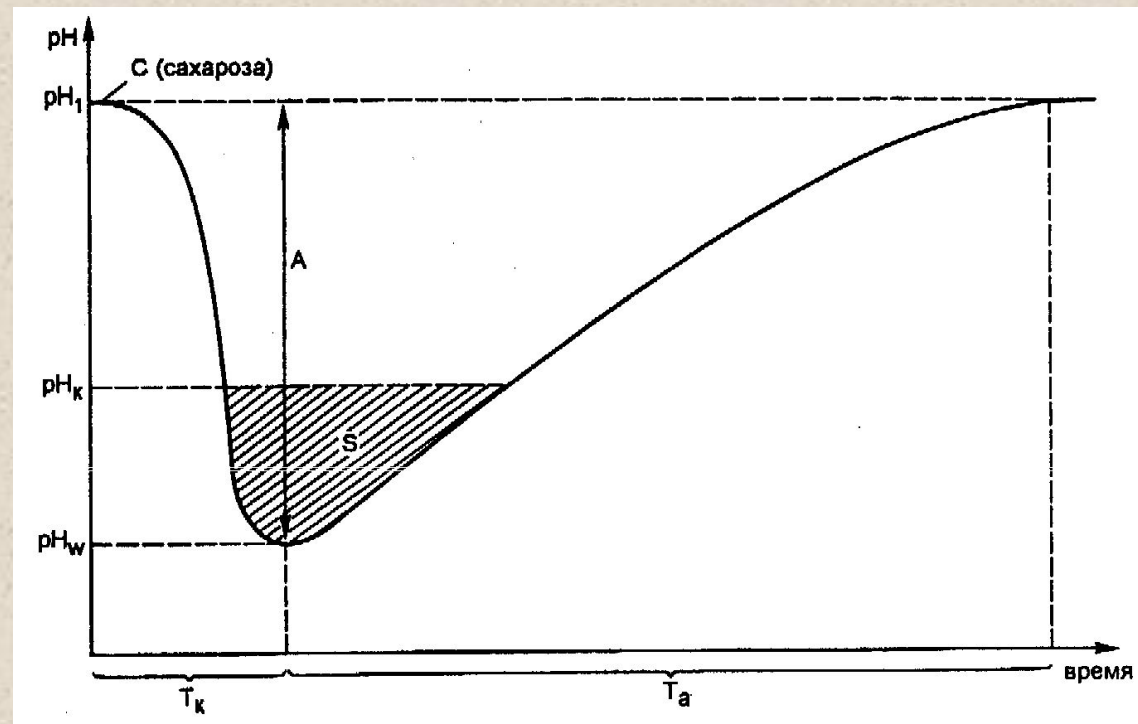
T_k – длительность катакроты;

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).

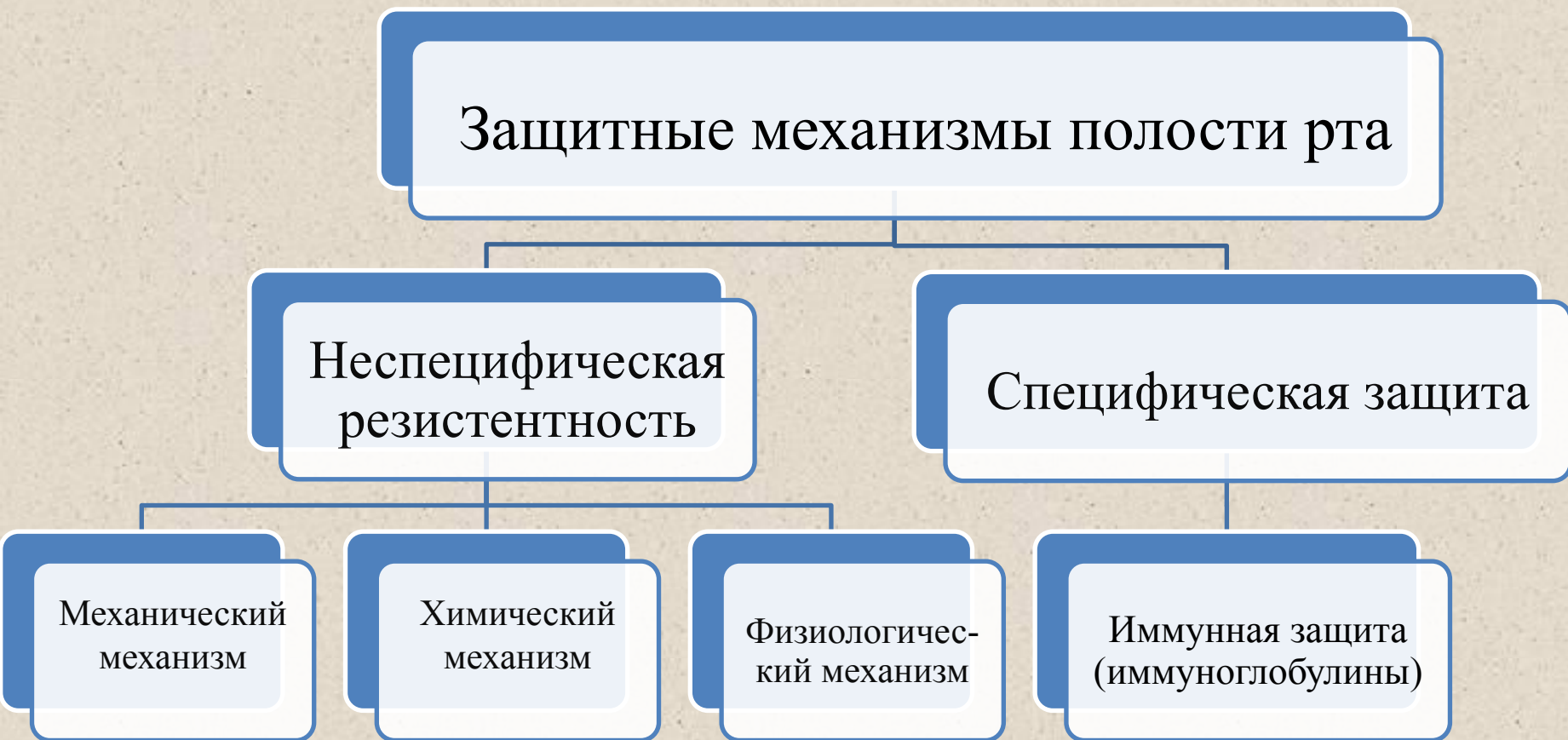
Факторы, влияющие на форму кривой Стефана

- ❖ 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 (источник лизосомальных ферментов)
- ❖ - иммуноглобулинов (особенно важен секреторный – IgAs)
- ❖ - ферментов (лизоцима, α -амилаза и др.)



НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ

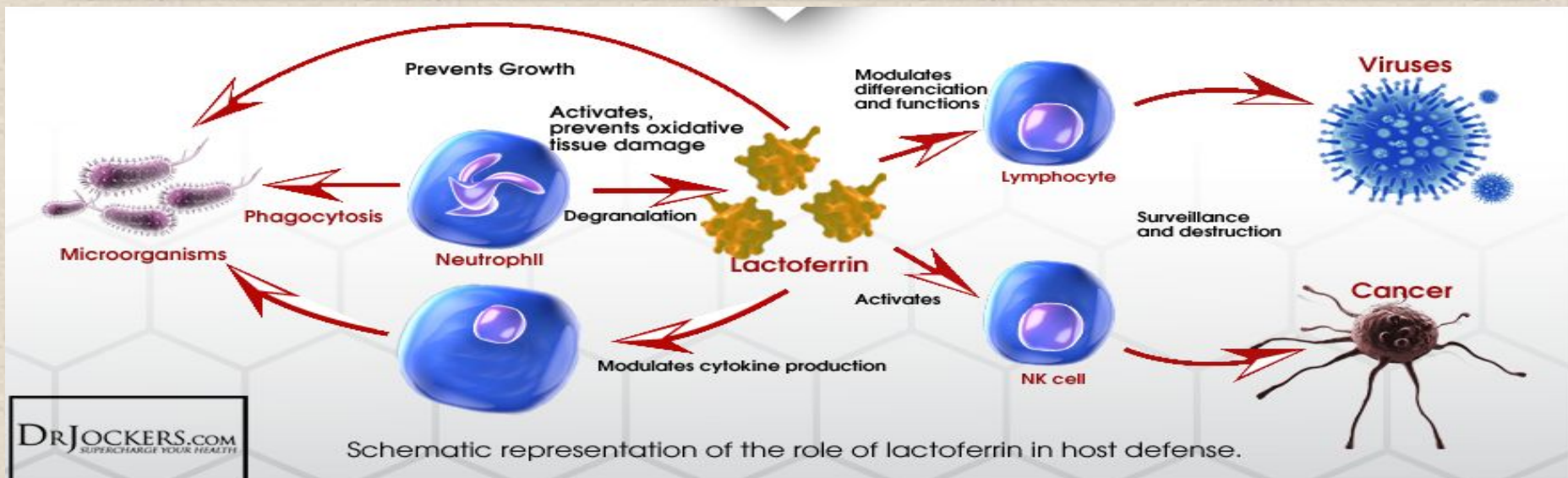
❖ *Механическая защита* осуществляет барьерную функцию неповрежденной слизистой оболочки путем смывания микроорганизмов слюной, очищения слизистой оболочки в процессе еды, адгезии на клетках слущенного эпителия. Слюна также действует бактерицидно, благодаря наличию в ней биологически активных веществ.

❖ *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. Этот фермент гидролизует 1,4-бета связи в пептидгликановых гетерополимерах прокариотических клеток, за счет чего происходит лизис оболочек некоторых микроорганизмов, в первую очередь грамположительных, стимулирует фагоцитарную активность лейкоцитов, участвует в регенерации биологических тканей. Лизоцим также стимулирует неспецифическую реактивность организма, оказывая противовоспалительное действие.

Самую высокую чувствительность проявляют к лизоциму некоторые вирусы и грамположительные микроорганизмы. При стоматитах, гингивитах и пародонтозе синтез лизоцима снижен. В организме человека обнаружен в разных тканях (легких, печени, селезенке).

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ



•Лактоферрин

Это гликопротеин, переносящий ионы железа, которое используется в делящихся клетках для синтеза рибонуклеотидредуктазы. Лактоферрин наряду с трансферрином относится к семейству железосвязывающих белков, модулирующих метаболизм железа, гемопоэз и иммунологические реакции. Оказывает мощное бактерицидное и бактериостатическое действие на целый ряд микроорганизмов, выступает как хелатор металла и связывает железо, необходимое для размножения бактерий. Лактоферрин способствует удержанию нейтрофилов в воспалительном очаге. Защищает нейтрофилы от ПОЛ. В ротовую полость лактоферрин синтезируется эпителиальными клетками протоков слюнных желез. Еще одним источником лактоферрина являются нейтрофилы.

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ

•Фибронектин.

Это гликопротеин, принимает участие в связывании бактериальных клеток, блокируя их активность. Вовлечен в процессы взаимодействия гомопоэтических клеток. В организме человека обнаружен в разных тканях и жидкостях.

•Микроглобулин.

Его функция окончательно не выяснена. Предполагается его участие в связывании бактериальных клеток и блокада их активности. В организме человека обнаружен в разных жидкостях.

•**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.

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ

• Лейкоциты

Лейкоциты поступают в слюну из десневой борозды. Перенос лейкоцитов из капилляров в десневую жидкость – энергозатратный процесс.

Миграция лейкоцитов в полость рта не наблюдается у детей до прорезывания зубов. В пожилом возрасте с уменьшением числа зубов количество лейкоцитов в слюне снижается.

Большое значение лейкоцитам десневой жидкости придается как источнику ферментов, оказывающих защитное действие на ткани пародонта. Наиболее характерными ферментами лизосом лейкоцитов являются кислая фосфатаза (маркер лизосом), щелочная фосфатаза, миелопероксидаза, гликозидазы, лизоцим, фосфолипазы, РНКазы, ДНКазы и протеиназы (катепсины G, D и E, коллагеназы, эластазы).

Гидролитические ферменты, высвобождаясь из лизосом лейкоцитов, катализируют внеклеточные реакции расщепления биополимеров (пептидов, нуклеиновых кислот, полисахаридов), что приводит к повышению проницаемости капилляров и облегчению дальнейшего выхода лейкоцитов из сосудов. Фосфолипазы, действуя на мембраны неповрежденных клеток бактерий, вызывают не только их разрушение, но и высвобождение арахидоновой кислоты, для синтеза простагландинов.

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.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ

Иммуноглобулины попадают в слюну из двух источников, а именно в результате местного синтеза плазматическими клетками и поступления из крови (транссудация), в основном, через десневую жидкость.

Секреторный иммуноглобулин (S-IgA, IgA2) продуцируется околоушными (90%) и поднижнечелюстными железами. IgAs содержится в слюне в количествах, превышающих уровни других иммуноглобулинов (13-160 мкг/мл). В слюне IgAs находится в соединении с S-гликопротеином, основной функцией которого является предохранение иммуноглобулина от разрушительного действия ферментов, а также повышение его устойчивости к воздействию денатурирующих факторов. Основной функцией IgAs в полости рта является подавление прикрепления бактерий на поверхности слизистой оболочки полости рта, а не разрушение антигенов.

Секреторный IgAs обладает выраженной бактерицидностью, антивирусными и антитоксическими свойствами, играет решающую роль в реализации резистентности к инфекции.

Регуляторная функция слюны

В слюне содержится большое количество биологически активных веществ, которые регулируют функции кровеносной, кроветворной, нервной и других систем организма.

- ❖ **Фактор роста эпителия (ФРЭ) - является биорегулятором с широким спектром действия. ФРЭ стимулирует пролиферацию и кератинизацию эпителия, угнетение желудочной секреции. ФРЭ проявляет цитопротективное действие на слизистую оболочку желудка, препятствует образованию стрессовых язв. Его протективное действие связано с регулирующим влиянием на гипоталамус, надпочечники и половые железы. ФРЭ усиливает резорбцию (разрушение) костной ткани и деление одонтобластов.**

Регуляторная функция слюны

- ❖ **Эпидермальный фактор роста (Epidermal Growth Factor — EGF) — урогастрон. Участвует в поддержании гастроинтестинальной функции; обладает ранозаживляющей активностью. Физиологическая роль секретируемого и циркулирующего EGF до конца не ясна. Рецепторы к EGF найдены во многих тканях.**
- ❖ **Фактор роста нервов (ФРН) - оказывает мощное противовоспалительное действие. ФРН стимулирует пролиферацию и кератинизацию эпителия, угнетение желудочной секреции. ФРН проявляет цитопротективное действие на слизистую оболочку желудка, препятствует образованию стрессовых язв. Его протективное действие связано с регулирующим влиянием на гипоталамус, надпочечники и половые железы.**

Регуляторная функция слюны

- ❖ **Паротин** - Паротин способствует росту и развитию мезенхимы тканей (особенно костной и дентина зубов). Паротин способствует поступлению ионов кальция в эти ткани, активизирует обмен фосфора и натрия. Наряду с этим происходит улучшение белкового обмена в слюнных железах.
- ❖ **Ренин** –гликопротеин, обладающий мощным сосудосуживающим действием и стимулирующий выделение альдостерона. Пептиды группы ангиотензина участвуют в регуляции не только уровня АД и сопряженных процессов почечной фильтрации и водно-солевого обмена, но также и в репродуктивной функции, многих процессах генерализованного характера (стресс, алкогольная мотивация, агрессивное поведение), процессах ноотропного ряда. Предполагается, что ренин является главным прессорным веществом слюны.

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

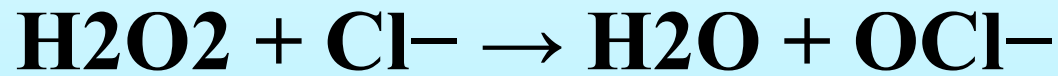
- Кислая фосфатаза (маркер лизосом);
- Щелочная фосфатаза;
- Различные гликозидазы;
- Протеиназы (катепсины, эластаза, коллагеназа);
- Лизоцим;
- Фосфолипазы;
- Миелопероксидаза и др.

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.

СЛЮНА КАК ОБЪЕКТ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Для лабораторных исследований слюну рекомендуется собирать натощак или не ранее, чем через 1-2 часа после предыдущей стимуляции секреции (приема пищи или питья), так как для не стимулированной слюны характерна низкая концентрация карбонатов, а при стимуляции секреции их содержание резко возрастает.

При инфекционных заболеваниях смешанная слюна используется для иммуноферментной диагностики гепатитов А, В, и С.

В настоящее время поставлен вопрос использования слюны для тестирования ВИЧ-инфекции.

Рекомендуется использовать исследование специфического IgA в ротовой полости для диагностики вируса гриппа.

В 85 % случаев дает положительный результат определение в слюне специфических антител (класса IgM) при лептоспирозе.

В настоящее время проводятся скрининг исследования в гастродуоденальной патологии.

СЛЮНА КАК ОБЪЕКТ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Изменения состава слюны наблюдаются при патологии слюнных желез.

Для **синдрома Шегрена** (воспаление слюнных желез, приводящее к выработке малого количества секрета) характерно повышение количества сывороточных иммуноглобулинов крови IgA и IgM, лактоферрина и лизоцима.

При **хроническом паротите** увеличивается секреция альбумина, калликреина и лизоцима.

При **пародонтите** в слюне увеличивается содержание иммуноглобулинов IgM и IgG, слабощелочных протеиназ и катепсинов D и B, росту активности аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы, гликозидаз и снижению активности лизоцима. Кроме того, усиливается свободнорадикальное окисление, характеризующееся повышением активности супероксиддисмутазы, появлением в слюне глутатионпероксидазы, а также увеличением концентрации в слюне малонового диальдегида.

Исследования слюны позволяют раскрыть биохимические механизмы заболеваний полости рта.

МИКРОКРИСТАЛЛИЗАЦИЯ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ

Петр Андреевич Леус (1977 год) впервые показал, что на предметном стекле после высушивания капли ротовой жидкости формируется осадок, имеющий различное микроскопическое строение. По данным В.К. Леонтьева образование микрокристаллов может характеризовать реминерализирующую способность слюны, а интенсивность кариеса связана с типом микрокристаллизации.

I тип - четкий тип рисунок удлинённых кристаллопризматических структур, сросшихся между собой и занимающих всю поверхность капли. Этот тип характерен для компенсированной формы течения кариеса.

II тип - в центре капли видны отдельные дендритные кристаллопризматические структуры меньших размеров чем при 1 типе. Характерен для субкомпенсированной формы течения кариеса.

III тип - по всей капле просматривается большое количество изометрически расположенных кристаллических структур неправильной формы. Этот тип микрокристаллизации характерен для декомпенсированной формы кариеса.



Спасибо за внимание