

Биохимия тканей и жидкостей полости рта. 2-е издание

Библиография Биохимия тканей и жидкостей полости рта [Электронный ресурс] : учебное пособие / Вавилова Т.П. - 2-е издание. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970418611.html>

Авторы Вавилова Т.П.

Издательство ГЭОТАР-Медиа

Год издания 2011

Прототип Электронное издание на основе: Биохимия тканей и жидкостей полости рта: учебное пособие. Вавилова Т.П. 2-е изд., испр. и доп. 2011. - 208 с. - ISBN 978-5-9704-1861-1.

Оглавление

Биохимия тканей и жидкостей полости рта. 2-е издание	1
УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ	3
ПРЕДИСЛОВИЕ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА	7
1.1. ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА	7
1.2. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА КОЛЛАГЕНОВЫХ БЕЛКОВ	9
1.3. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА НЕКОЛЛАГЕНОВЫХ БЕЛКОВ.....	20
1.4. НЕКОЛЛАГЕНОВЫЕ БЕЛКИ СО СПЕЦИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ.....	41
1.5. КАТАБОЛИЗМ БЕЛКОВ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА.....	50
ГЛАВА 2. ХРЯЩЕВАЯ ТКАНЬ.....	55
2.1. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ.....	56
2.2. ФОРМИРОВАНИЕ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ.....	60
ГЛАВА 3. МИНЕРАЛИЗОВАННЫЕ ТКАНИ	65
3.1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ТКАНЕЙ	65
3.2. БЕЛКИ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ТКАНЕЙ МЕЗЕНХИМНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ.....	72
ГЛАВА 4. СТРУКТУРА И РАЗВИТИЕ ТКАНЕЙ ПОСТОЯННЫХ ЗУБОВ.....	75
4.1. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ЭМАЛИ	75
4.2. АМЕЛОГЕНЕЗ	77
4.3. СТРУКТУРА ДЕНТИНА	85
4.4. ПУЛЬПА ЗУБА	91
4.5. ЦЕМЕНТ ЗУБА И ПЕРИОДОНТАЛЬНЫЕ ВОЛОКНА.....	97

4.6. ЗУБОДЕСНЕВОЕ СОЕДИНЕНИЕ.....	102
ГЛАВА 5 ОРГАНИЗАЦИЯ И СТРОЕНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ ОТРОСТКОВ	105
5.1. ОРГАНИЗАЦИЯ И СТРОЕНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ ОТРОСТКОВ ...	105
5.2. ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ	111
5.3. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА В КОСТНОЙ ТКАНИ	118
5.4. РЕАКЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ НА ДЕНТАЛЬНЫЕ ИМПЛАНТАТЫ	125
ГЛАВА 6. СЛЮННЫЕ ЖЕЛЕЗЫ.....	126
6.1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ СЛЮННЫХ ЖЕЛЁЗ	126
6.2. МЕХАНИЗМ СЕКРЕЦИИ СЛЮНЫ.....	127
6.3. РЕГУЛЯЦИЯ СЛЮНООТДЕЛЕНИЯ.....	132
6.4. СМЕШАННАЯ СЛЮНА.....	135
6.5. САЛИВАДИАГНОСТИКА	165
ГЛАВА 7 СЛИЗИСТАЯ ОБОЛОЧКА ПОЛОСТИ РТА	168
7.1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА	168
ГЛАВА 8 ПОВЕРХНОСТНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ НА ЗУБАХ	176
8.1. КУТИКУЛА. ПЕЛЛИКУЛА. ЗУБНОЙ НАЛЁТ	176
8.2. ЗАМЕНИТЕЛИ САХАРОВ.....	181
8.3. ЗУБНОЙ КАМЕНЬ	184
ЛИТЕРАТУРА.....	187

УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

- АДФ - аденозиндифосфорная кислота
АМФ - аденозинмонофосфорная кислота
АЛТ - аланинаминотрансфераза
АСТ - аспартатаминотрансфераза
АФК - активные формы кислорода
цАМФ - циклический аденозинмонофосфат
АТФ - аденозинтрифосфорная кислота
 α_1 -АТ - белок α_1 -антитрипсин
ББП - белки, богатые пролином
ВИП - вазоактивный интестинальный полипептид
ГАГ - гликозамингликаны
ГП 340 - гликопротеин 340
цГМФ - циклический гуанозинмонофосфат
ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
ИЛ - интерлейкин
Ig - иммуноглобулин
SIgA - секреторный иммуноглобулин А
ИФР - инсулиноподобный фактор роста
МБК - морфогенетический белок кости
 α_2 -МГ - α_2 -макроглобулин
ММП - матриксные металлопротеиназы (матриксины)
NO - оксид азота
OPG - остеопротегерин
RANK - рецепторы активатора фактора нуклеации каппа В
RANKL - лиганд рецептора активатора фактора нуклеации каппа В
RGD - пептид с аминокислотной последовательностью арг-гли-асп
мРНК - матричная рибонуклеиновая кислота
ТИМП - тканевые ингибиторы металлопротеиназ

ТИР-39 - тафтелин-интерактивный белок
SCN- - тиоционат
ТФР-β - β-трансформирующий фактор роста-β
УДФ - уридиндифосфат
ФАФС - 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат
ФНО - фактор некроза опухоли
ФРГ - фактор роста гепатоцитов
ФРН - фактор роста нервов
ФРТ - фактор роста тромбоцитов
ФРФ - фактор роста фибробластов
ФРЭ - фактор роста эндотелия
ЭФР - эпидермальный фактор роста

ПРЕДИСЛОВИЕ

Изучение макромолекул и биохимических процессов в тканях полости рта закладывает основу профессиональных знаний врач-стоматолога и является неотъемлемой частью его подготовки. Вместе с тем в последние годы накоплен огромный объём фактических сведений об особенностях метаболических процессов в мягких и твёрдых тканях полости рта, которые опубликованы в большом количестве журнальных статей, обзорах и сборниках, изданных за рубежом и в нашей стране. Однако эти материалы не нашли отражения в отечественных учебных пособиях для будущих врачей-стоматологов.

Задача настоящего издания заключается в восполнении пробелов, имеющих в учебной литературе, и в подготовке современного учебного пособия для студентов стоматологических факультетов медицинских вузов России по профильному разделу биохимии. Для освоения представленного материала необходимо знание метаболических процессов, изучаемых в общем курсе биохимии, а также некоторых аспектов молекулярной биологии.

Книга состоит из восьми разделов, отражающих общие сведения о биохимических процессах межклеточного матрикса соединительной ткани, хрящевой и костной ткани, слизистой оболочки полости рта, а также биохимические основы процессов минерализации, слюнообразования. В её основу положен материал лекций по профильным разделам курса для студентов стоматологического факультета Московского государственного

медико-стоматологического университета. Особое внимание уделено неразрывной связи строения макромолекул с их функциями, а также метаболическим превращениям этих молекул в различные возрастные периоды. В связи с тем, что пособие предназначено для студентов медицинских вузов, акцент в изложении сделан на особенностях метаболических процессов в тканях полости рта человека.

Основные понятия и термины выделены в тексте графически, а важнейшие иностранные термины переведены на русский язык; приведены принятые в современной литературе синонимы. В конце книги приведён список основной использованной литературы.

Автор приносит искреннюю благодарность сотрудникам кафедры биохимии МГМСУ И.Г. Островской и О.Н. Гева за помощь в подборе материала для настоящего пособия и участие в обсуждении работы.

ВВЕДЕНИЕ

Полость рта занимает сравнительно небольшой объём в организме человека. Она является начальным отделом пищеварительного тракта, и в ней представлены различные виды тканей, имеющие свои морфологические, функциональные и метаболические особенности. В ротовую полость открываются протоки слюнных желёз. Костная ткань зубных лунок, прилегающие участки десны и периодонт, связанный с тканями зуба, образуют *пародонт*. По физическим свойствам ткани полости рта делят на твёрдые (минерализованные): эмаль, дентин, цемент, альвеолярная кость и мягкие (неминерализованные): пульпа зуба, десна, надкостница альвеолярных отростков и периодонт. Полость рта, за исключением участков, включающих коронки зубов, выстлана слизистой оболочкой.

Структура зуба представлена на рис. 1.

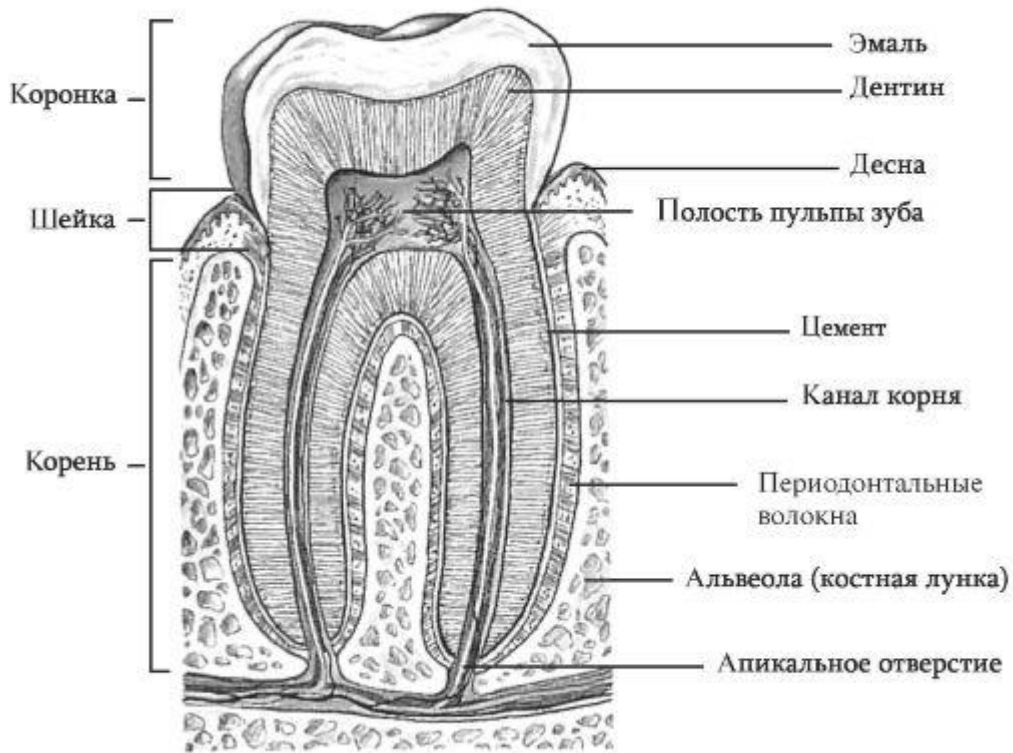


Рис. 1. Общий план структурной организации зуба [по Nanci A., 2003].

Основу зуба составляет дентин - твёрдая обызвествлённая ткань, которая образуется в процессе развития зуба. Снаружи дентин в различных отделах зуба покрыт двумя видами твёрдых минерализованных тканей: эмалью и цементом. Внутренняя часть зуба под дентином заполнена пульпой. Прикрепление зуба к костной лунке обеспечивает поддерживающий аппарат зуба, состоящий из цемента, периодонтальных волокон, стенки зубной альвеолы и десны. Коронка зуба покрыта эмалью. Большинство тканей зуба (кость, дентин и клеточный цемент, волокна периодонта, пульпа) имеют *мезодермальное происхождение*, и только эмаль и бесклеточный цемент образуются клетками *эктодермального происхождения*.

Зубы развиваются из зубных зачатков (рис. 2).

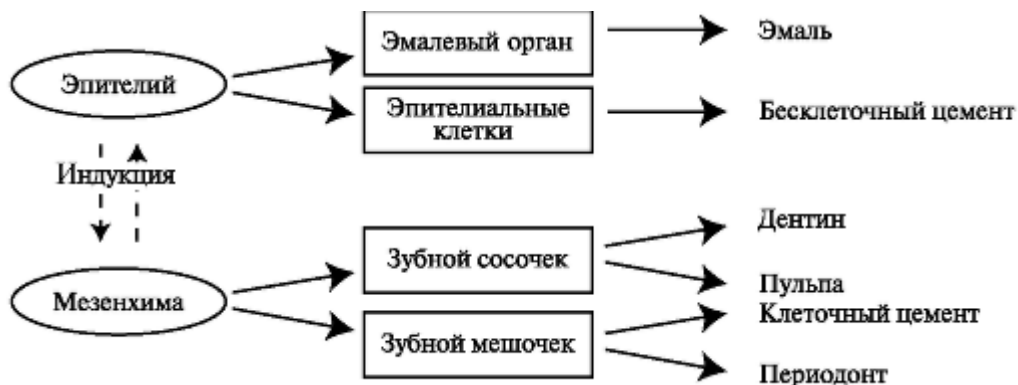


Рис. 2. Источники развития тканей зуба в эмбриогенезе [Быков В.Л., 1998].

Зубные зачатки включают три постоянно взаимодействующих компонента:

- *эмалевый орган*, который образуется из многослойного эпителия
- выстилки полости рта; *эмалевый сосочек*, образованный мезенхимой, заполняющей
- полость эмалевого органа; *зубной мешочек*, также являющийся производным мезенхимы, конденсирующейся вокруг эмалевого органа. Взаимодействие клеток эпителия и мезенхимы, их дифференцировка, пролиферация и адгезия - всё это в комплексе ведёт к формированию полноценного зуба.

По окончании морфогенеза твёрдые ткани зуба - эмаль, дентин, бесклеточный цемент на протяжении всей жизни не обновляются. Постоянство внутренней среды этих тканей поддерживается за счёт пульпы зуба, клеточного цемента, периодонтальных волокон и слюны.

Межклеточный матрикс - комплекс органических и неорганических компонентов, заполняющих пространство между клетками. Для разных тканей характерен свой межклеточный матрикс. Эпителиальные клетки преимущественно связываются с помощью гликопротеинов, кальций-связывающих белков. Особая структура межклеточного матрикса присуща тканям мезенхимного происхождения, которые выполняют механическую, защитную и трофическую функции. Они подразделяются на:

- собственно соединительную ткань - рыхлую неоформленную,
- плотную оформленную и неоформленную; ткани со специальными свойствами - жировую, пигментную,
- ретикулярную и слизистую; скелетные ткани - костную и хрящевую.

Все эти виды соединительной ткани широко представлены во всём организме, и в частности в области головы и шеи.

ГЛАВА 1. БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

1.1. ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Для соединительной ткани характерно наличие большого количества межклеточного вещества (внеклеточный матрикс), состоящего из коллагеновых белков, протеогликанов и гликопротеинов и небольшого числа

клеток, расположенных друг от друга на значительном расстоянии. В образовании межклеточного вещества участвуют фибробласты, хондробласты, остеобласты, одонтобласты, цементобласты и другие бластные клетки. Особенностью минерализованных тканей является присутствие в межклеточном веществе неорганических ионов, образующих соли и кристаллы.

Межклеточный матрикс содержит молекулы, способные путём самосборки образовывать комплексы. Благодаря определённому расположению центров связывания на молекулах и специфичности их взаимодействий формируется высокоупорядоченная трёхмерная структура межклеточного матрикса, определяющая её функциональные свойства (рис. 1.1).

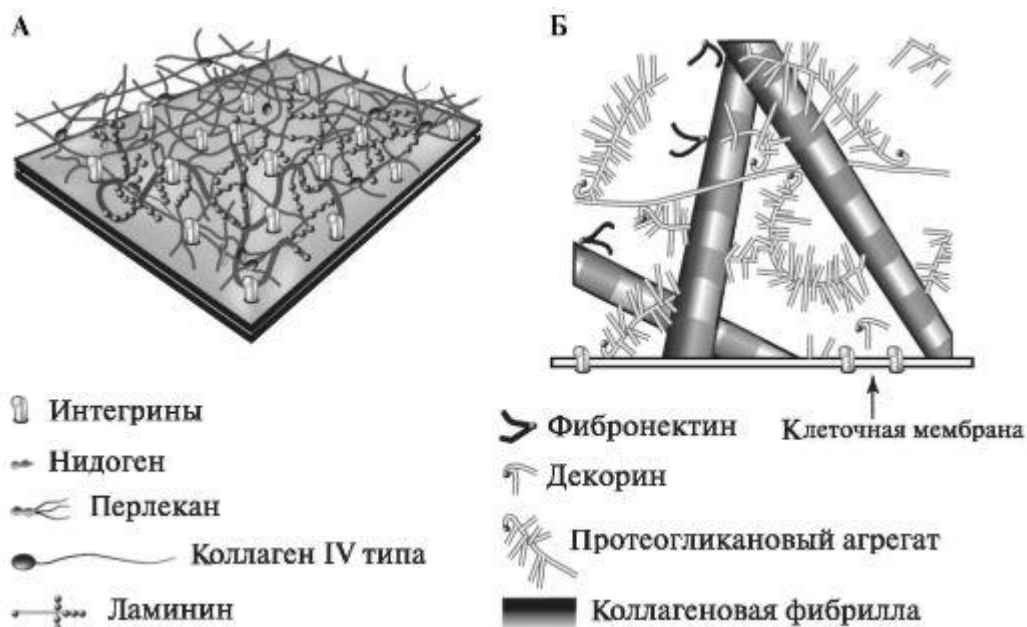


Рис. 1.1. Структурная организация межклеточного матрикса и его связи с клетками: А - базальная мембрана; Б - надмолекулярная организация матрикса в соединительной ткани [по Campbell N. A., Reece J. B., 2002, с изменениями].

Специализированной формой внеклеточного матрикса нормальной ткани является базальная мембрана, образующая дискретную структуру, которая отделяет один клеточный слой от другого. Она отвечает не только за разграничение различных структур и поддержание архитектоники тканей, но и влияет на их дифференцировку, миграцию и фенотипирование клеток. Базальная мембрана служит барьером для макромолекул.

Основными компонентами внеклеточного матрикса являются различные виды коллагена и неколлагеновые белки.

1.2. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА КОЛЛАГЕНОВЫХ БЕЛКОВ

Основу межклеточного матрикса составляет семейство коллагеновых белков, относящихся к гликопротеинам и содержащих в большом количестве остатки *глицина, пролина и гидроксипролина*. Коллагены представлены 20 белками, из которых часть является собственно коллагенами, а другие содержат только коллагеноподобные домены. Все типы коллагенов в зависимости от структуры делят на несколько групп: фибриллообразующие, ассоциированные с фибриллами коллагена, сетевидные, микрофибриллы, заякоренные фибриллы и др. Для обозначения каждого типа коллагена используют определённую формулу, в которой α -цепи записывают арабскими цифрами, а тип коллагена - римскими.

Основная масса коллагенов, присутствующих в тканях полости рта, относится к фибриллообразующим. Локализация основных типов коллагеновых белков в тканях полости рта представлена в табл. 1.1.

Таблица 1.1

Типы коллагеновых белков в тканях полости рта

Ткани полости рта	Типы коллагена
Дентин зуба	I, III, IV, V, VI
Пульпа зуба	I, III, V, VI
Цемент зуба	I, II, III, V, XII, XIV
Периодонтальные волокна	I, III, V, VI
Слизистая оболочка	III, IV, V, VI, XII
Костная ткань	I, III, IV, V, VI
Хрящевая ткань	II, VI, IX, XII, XIV

Для тканей полости рта характерно присутствие коллагена I, III, V и VI типов. Следует отметить разнообразие коллагена в цементе зуба, в котором, помимо коллагена I, III и V типов, определяются характерные для хрящевой ткани коллагены II, IX, XII, XIV типов.

Фибриллообразующие коллагены

Все фибриллообразующие коллагены отличаются по аминокислотному составу и содержанию углеводов.

Молекулы коллагенов I, II, III, V, XI типов имеют форму фибрилл и построены из структурных единиц, называемых тропоколлагенами.

Молекулы тропоколлагена (M_r 300 кДа) имеют толщину 1,5 нм и длину 300 нм. Они образованы тремя полипептидными цепями, обозначаемые как α -цепи. Каждая цепь содержит около 1000 аминокислотных остатков и представляет собой плотную левозакрученную спираль, содержащую три аминокислотных остатка на виток. Одна треть аминокислотных остатков в

коллагене представлена глицином (30%), одна пятая часть пролином в сумме с 3- и 4- гидроксипролином (21%), поэтому первичную структуру коллагена можно представить в виде схемы гли - X - γ-, где X - чаще всего пролин или гидроксипролин, а γ - другие аминокислоты (рис. 1.2). Всего в α-цепи встречается около 330 таких повторов.

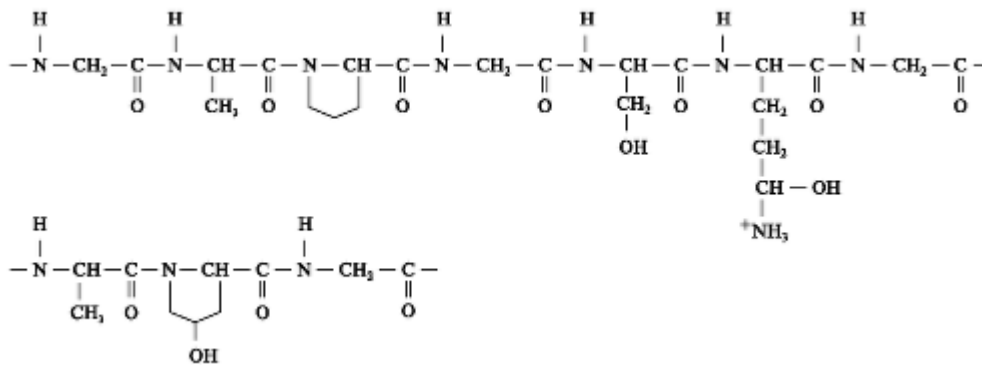


Рис. 1.2. Фрагмент первичной структуры α-цепи коллагена. В области расположения пролина и гидроксипролина происходит «пролиновый излом».

Глицин повторяющейся последовательности гли - X - γ - необходим для формирования фибриллярной структуры, так как радикал любой другой аминокислоты не помещается между тремя пептидными цепями в центре тройной спирали. Пролин и гидроксипролин ограничивает вращение полипептидной цепи. Радикалы аминокислот, располагающиеся в положении - X - и -γ-, находятся на поверхности тройной спирали. Распределение кластеров радикалов по длине коллагеновой молекулы обеспечивает самосборку многомолекулярных коллагеновых структур. Три α-цепи образуют структуру, слегка закрученную в спираль. Формируя фибриллы, молекулы тропоколлагена (тримеры) располагаются ступенчато, смещаясь относительно друг друга на одну четверть длины, что придает фибриллам характерную исчерченность. Депонируясь в тканях, сформированные фибриллы коллагена стабилизируются посредством образования ковалентных поперечных связей (рис. 1.3).

Коллаген I типа [$\alpha_1(I)$] $_2\alpha_2$ содержит 33% глицина, 13% пролина, 1% гидроксипролина и малое количество углеводов. Определяется в составе костей, дентина, пульпы зуба, цемента, периодонтальных волокон. Этот тип коллагеновых волокон участвует в процессах минерализации.

Коллаген II типа [$\alpha_1(II)$] $_3$ присутствует в хрящах и образуется в нехрящевых тканях на ранних стадиях развития. Данный тип коллагена содержит небольшое количество 5-гидроксипролина (менее 1%) и отличается высоким содержанием углеводов (более 10%).

Коллаген III типа [$\alpha_1(III)$] $_3$ присутствует в стенках кровеносных сосудов. Отличительной особенностью этого коллагена является наличие большого

количества гидроксипролина. В составе α -цепей присутствует цистеин, а сама молекула коллагена слабо гликозилирована.

Коллаген V типа [$\alpha(V)\alpha_2(V)\alpha_3(V)$] представляет собой гибридную молекулу, состоящую из различных цепей, а именно: $\alpha_1(V)$, $\alpha_2(V)$ и $\alpha_3(V)$.

Фибриллярные коллагены также могут иметь в своём составе 2 и более различных типов коллагенов. Так, в некоторых тканях присутствуют гибридные молекулы, содержащие цепи коллагена V и XI типов.

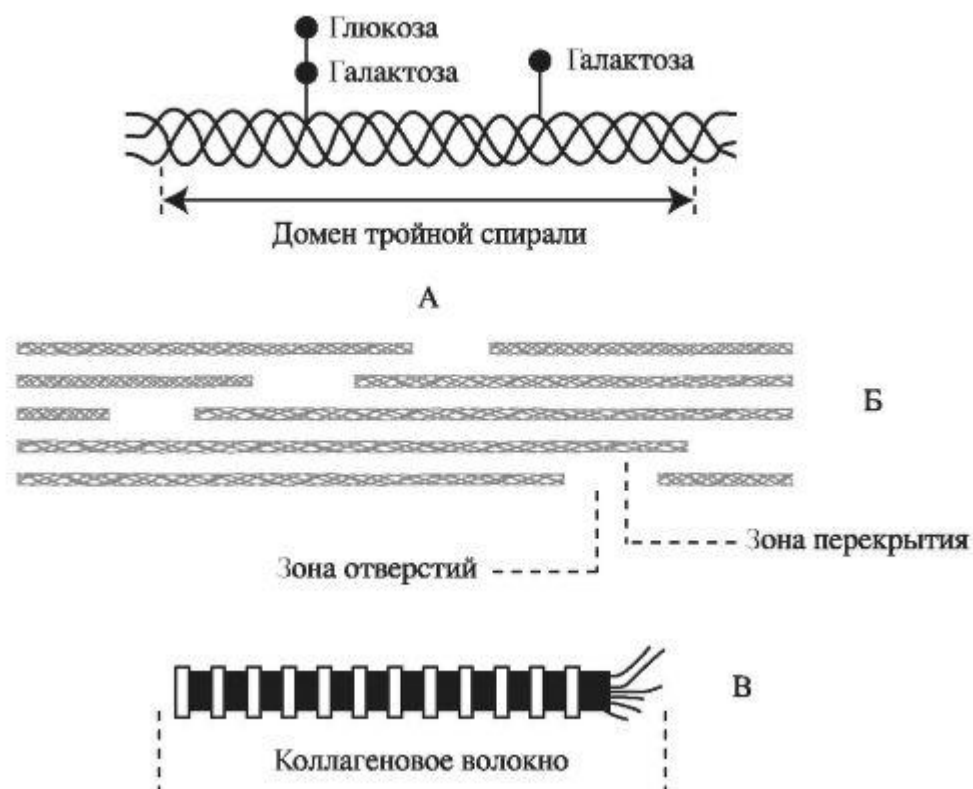


Рис. 1.3. Структура коллагеновых фибрилл: *A* - тропоколлаген, состоящий из трёх α -цепей; *B* - коллагеновые микрофибриллы из 5 рядов тропоколлагена; *C* - коллагеновые фибриллы включающие 9-12 микрофибрилл тропоколлагена.

Коллагены, ассоциированные с фибриллами

В организации межклеточного матрикса слизистой оболочки, хряща и цемента корня зуба участвуют коллагены IX, XII, XIV типов. Коллагеновые белки этого класса не способны формировать фибриллы, но, связываясь с фибриллярными коллагенами, они ограничивают длину, толщину и ориентацию фибрилл коллагенов I и II типов. Особенностью коллагенов, ассоциированных с фибриллами, является наличие в их структуре как глобулярных, так и фибриллярных доменов.

α -Цепи коллагена IX типа [$\alpha(IX)\alpha_2(IX)\alpha_3(IX)$] состоят из 3 фибриллярных и 4 глобулярных доменов. Они связаны поперечными ковалентными связями с фибриллами коллагена II типа. Молекула коллагена IX типа также содержит

боковую гликозаминогликановую цепь и большое количество положительно заряженных групп, поэтому к ней могут присоединяться отрицательно заряженные молекулы гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфата. В аналогичные взаимодействия с фибриллярными коллагенами I типа вступают коллагены XII типа. Этот тип коллагена локализуется в хряще, цементе, а также в слизистой оболочке полости рта в местах соединения эпителия с субэпителиальными слоями. Коллаген IX типа является трансмембранным белком, с помощью которого *lamina densa* (тёмная пластинка базальной мембраны, располагающаяся на границе с сосочковым слоем дермы) фиксируется к коллагеновым фибриллам сосочкового слоя дермы.

Нефибриллярные (сетевидные) типы коллагена

К группе нефибриллярных коллагенов относят коллагеновые белки IV, VIII и X типов, которые отличаются по длине и размеру и способны формировать сетевидные структуры. Наиболее распространен, в том числе и в тканях полости рта, коллаген IV типа, являющийся основным структурным белком базальных мембран. Коллаген IV типа содержит 1 α_1 (IV) и 2 α_2 (IV) цепи. Пептидные цепи коллагена IV типа после секреции не подвергаются протеолитической модификации и поэтому сохраняют структуру N- и C-концевых глобулярных доменов (NC₁, 7S и NC₂) (рис. 1.4).

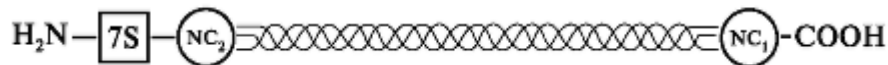


Рис. 1.4. Структура коллагена IV типа - тройная спираль мономера коллагена. В N- и C-концевых областях содержатся глобулярные домены 7S, NC₁ и NC₂.

В отличие от фибриллярных коллагенов, α -цепи молекулы коллагена IV типа содержат «неколлагеновые» аминокислотные области не только в N- и C-концевых отделах, но и на протяжении всей молекулы. Концевые домены NC₁, 7S коллагеновых мономеров в процессе самоагрегации взаимодействуют между собой и образуют связи «конец в конец», что приводит к формированию димеров и тримеров. Суперспирализацию обеспечивают боковые взаимодействия и связи «конец в конец». В результате формируются трёхмерные структуры, подобные сетке с гексагональными ячейками размерами 170 нм.

Коллаген X типа состоит из 3 идентичных цепей с мол. массой 59 кДа. Коллагены, образующие микрофибриллы

К коллагенам, образующим микрофибриллы, относят коллаген VI типа. Являясь короткоцепочечным белком, он образует микрофибриллы, располагающиеся между фибриллами интерстициальных коллагенов. Для этого типа коллагенов характерно присутствие в α -цепях больших

глобулярных доменов в N- и C-концевых областях и короткого трёхспирального домена между ними. В процессе синтеза внутри клетки 2 молекулы этого коллагена соединяются антипараллельно с образованием димера, а из димеров образуются тетрамеры, которые секретируются из клетки. Вне клетки тетрамеры связываются «конец в конец» с формированием микрофибрилл. Молекулы этого коллагена содержат многочисленные последовательности арг-гли-асп (RGD), которые обеспечивают клеточную адгезию путём присоединения к мембранным адгезивным белкам - интегринам $\alpha_1\beta_1$ и $\alpha_2\beta_1$. Кроме того, коллаген VI типа способен связываться с фибриллами интерстициальных коллагенов, протеогликанами и гликозаминогликанами.

Синтез коллагена

Коллаген синтезируют и поставляют в межклеточный матрикс почти все клетки (фибробласты, хондробласты, остеобласты, одонтобласты, цементобласты, кератобласты и др.). Синтез и созревание коллагена является сложным многоэтапным процессом, который начинается в клетке и заканчивается в межклеточном матриксе. Нарушения синтеза коллагена, обусловленные мутацией в генах, а также в процессе трансляции и посттрансляционной модификации сопровождаются появлением дефектных коллагенов. Поскольку около 50% всех коллагеновых белков содержатся в тканях скелета, а остальные 40% в дерме и 10% в строме внутренних органов, то нарушения синтеза коллагена сопровождаются патологией как костно-суставной системы, так и внутренних органов. Это неизбежно отражается на состоянии тканей челюстно-лицевой области.

Синтез коллагена включает два этапа. На *внутриклеточном этапе* происходит трансляция и посттрансляционная модификация полипептидных цепей, и на *внеклеточном* - модификации белка, завершающаяся образованием коллагеновых волокон (рис. 1.5).

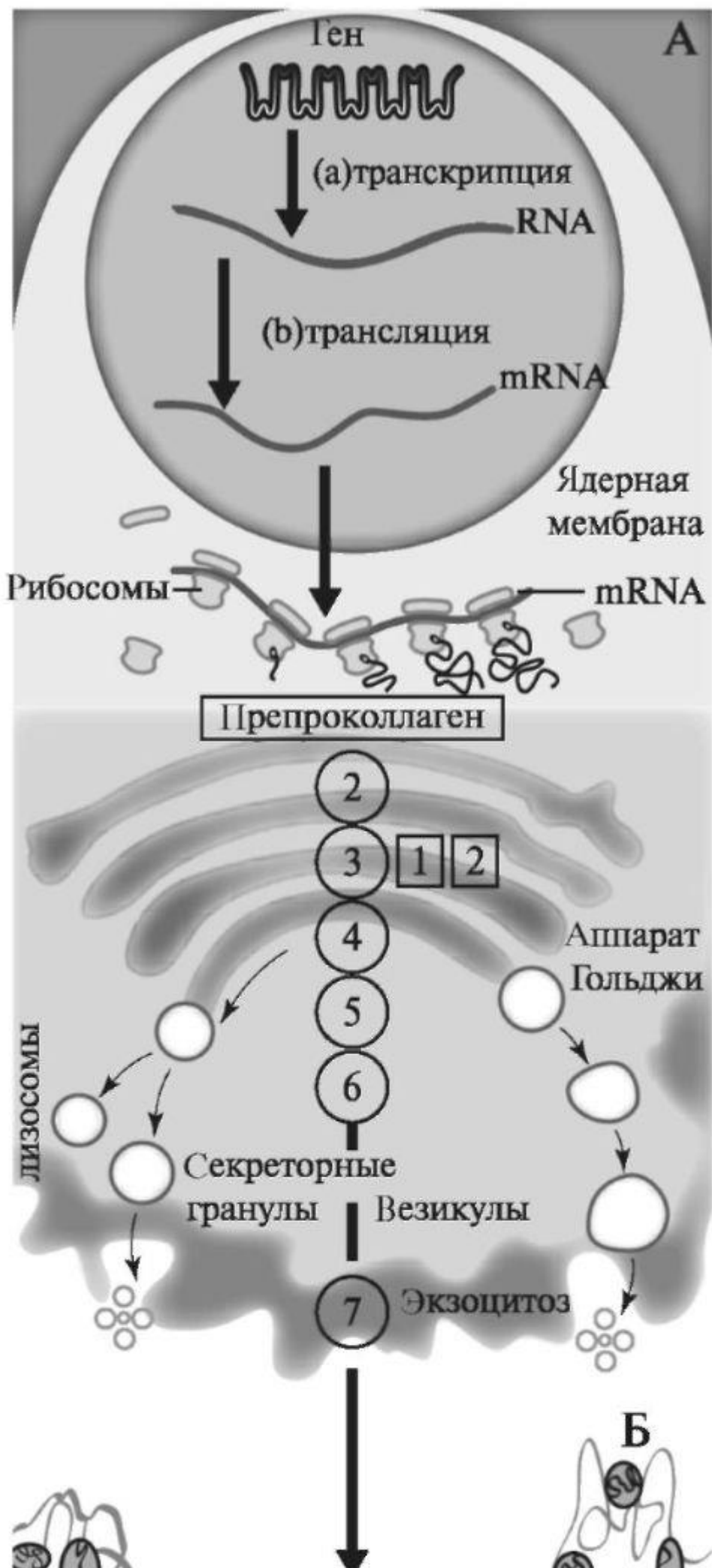


Рис. 1.5. Синтез коллагена. Схема синтеза коллагена: *A* - внут- риклеточный этап, *B* - внеклеточная модификация белка. Цифрами обозначены реакции синтеза. *1a* - транскрипция, *1b* - трансляция проколлагеновых цепей, 2 - отщепление сигнального пептида, 3 - гидроксирование остатков пролина и лизина, 4 - гликозилирование 5-гид- роксизина и аспарагина, 5 - образование дисульфидных связей в N- и C- концевых пептидах, 6 - формирование тройной спирали проколлагена, 7 - экзоцитоз белковой молекулы, 8 - отщепление N- и -концевых пептидов, 9 -регулируемая сборка фибрилл, 10 - окисление лизина и 5- гидроксизина до аллизинов, 11 - образование поперечных сшивок с формированием полимерных пептидов [по Кольман Я., Рём К.-Г., 2000, с изменениями]. Ферменты:

1 - проколлагенпролин-4-диокси- геназа;

2 - проколлагенлизин-5-диоксигеназа;

3 - протеин-лизин-6-оксидаза.

Внутриклеточный этап синтеза коллагена. Пептидные α -цепи коллагена синтезируются на полирибосомах, связанных с мембранами эндоплазматической сети. Её синтезированные пептидные цепи в цистернах подвергаются посттрансляционной модификации, которая включает:

- удаление сигнального пептида проколлагеновой цепи при участии специфической протеиназы;
- гидроксирование остатков пролина и лизина, которое начинается в период трансляции полипептидной цепи вплоть до её отделения от рибосом. Реакции гидроксирования катализируют оксигеназы: прокол-лагенпролил-4-диоксигеназа (пролил-4-гидроксилаза), проколлаген-пролил-3-диоксигеназа (пролил-3-гидроксилаза) и проколлагенлизил- 5-диоксигеназа (лизил-5-гидроксилаза). В реакции гидроксирования используются O_2 и 2-оксоглутарат, а в качестве кофактора участвует аскорбиновая кислота. Гидроксилазы пролина и лизина в активном центре содержат Fe^{2+} , а аскорбиновая кислота, которая легко окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту, необходима для сохранения атома железа в ферроформе (рис. 1.6).

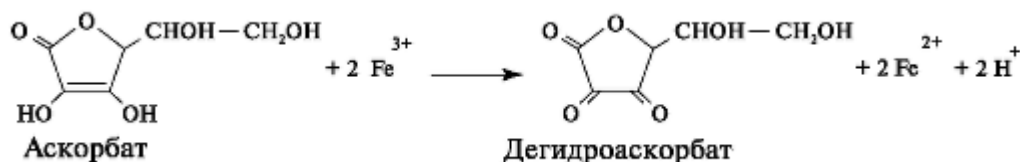


Рис. 1.6. Структурная формула аскорбиновой кислоты.

В реакциях гидроксирования один атом кислорода присоединяется к четвёртому атому углерода в остатке пролина, а второй атом кислорода включается в янтарную кислоту, которая образуется при декарбоксилировании 2-оксоглутарата (рис. 1.7).

Наряду с гидроксированием пролина происходит гидроксирование остатков лизина с образованием 5-гидроксилизина (рис. 1.8).

В дальнейшем гидроксированные остатки лизина подвергаются гликозилированию.

При участии гликозилтрансфераз образуются ковалентные O-гликозидные связи между 5-ОН группой гидроксилизина и остатком галактозы или дисахаридом галактозилглюкозой. К амидной группе аспарагина присоединяются молекулы N-ацетилглюкозамина или маннозы. Одновременно с гидроксированием пролина формируется стабильная трёхспиральная структура коллагена (рис. 1.9).

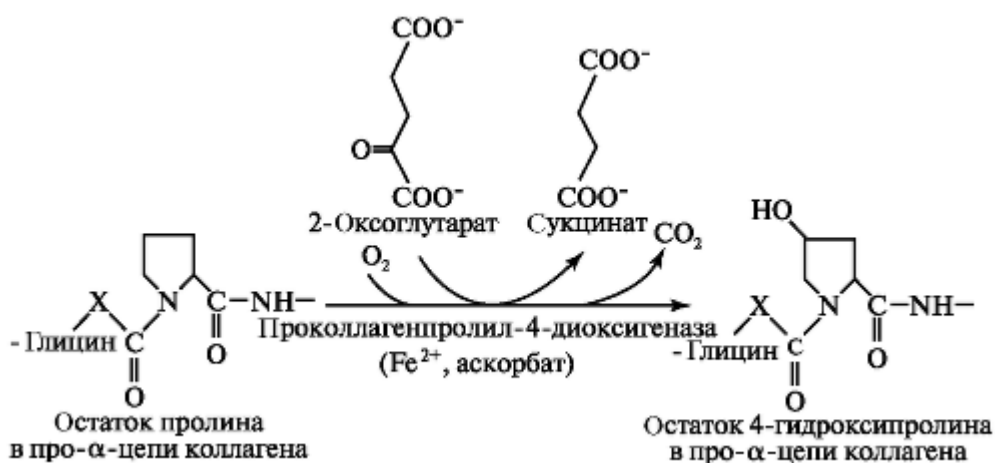


Рис. 1.7. Гидроксирование остатков пролина в проколлагеновой α -цепи с образованием 4-гидроксипролина.

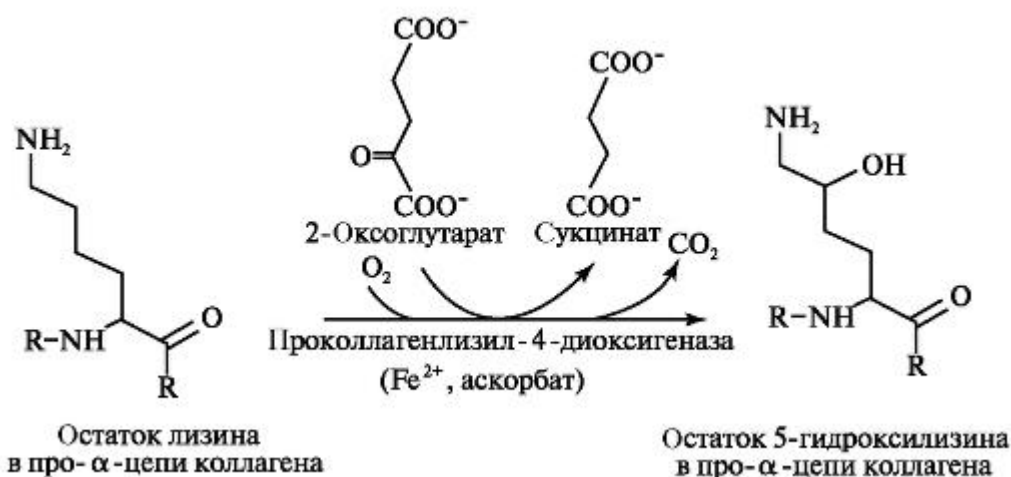


Рис. 1.8. Гидроксирование остатков лизина в проколлагеновой α -цепи с образованием 5-гидроксилизина.

Гидроксипролин необходим для стабилизации этой тройной спирали коллагена, поскольку его гидроксильные группы участвуют в образовании водородных связей между α -цепями. По окончании гидроксирования и гликозилирования все про- α -цепи соединяются между собой водородными

связями, а в области С-концевых пропептидов формируются дисульфидные мостики.

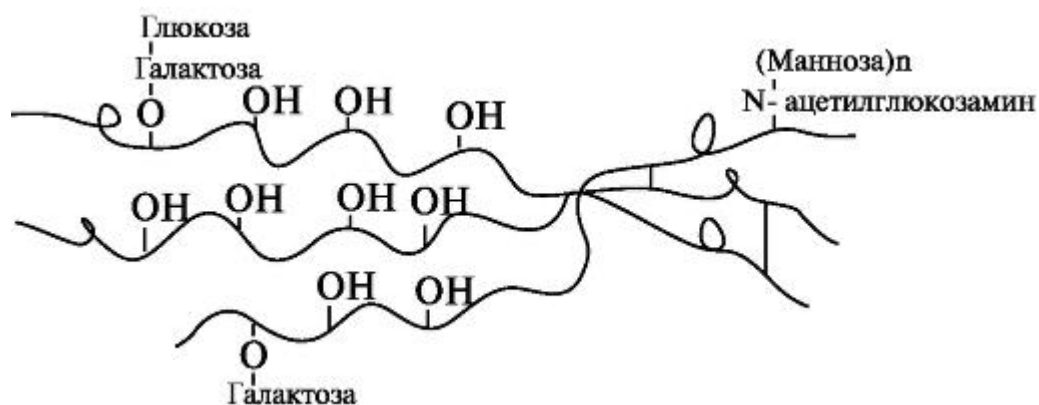


Рис. 1.9. Гликозилированные участки α -цепи молекулы проколлагена.

Из эндоплазматической сети молекулы проколлагена перемещаются в аппарат Гольджи, где они включаются в секреторные пузырьки и в их составе секретируются во внеклеточное пространство.

Внеклеточный этап - модификация молекул проколлагена. В межклеточном пространстве при участии протеолитических ферментов от молекулы проколлагена отщепляются N- и С-концевые пептиды и освобождается тройная спираль коллагена (тропоколлагена). Далее происходит процесс самосборки коллагеновых фибрилл, фиксированных межмолекулярными ковалентными связями (сшивками). В формировании этих связей участвуют остатки лизина и 5-гидроксилизина и их альдегидные производные, которые образуются вследствие окислительного дезаминирования. Окислительное дезаминирование лизина и 5-гидроксилизина происходит с участием лизилоксидазы. Особенностью этого фермента является присутствие Cu^{2+} в активном центре. Молекулы лизилоксидазы синтезируются в клетке в виде проферментов и после связывания с ионами Cu^{2+} упаковываются в везикулы, которые покидают клетку. На клеточной поверхности молекула пролизилоксидазы подвергается ограниченному протеолизу и в сформированном активном центре при участии ионов Cu^{2+} происходит окисление остатка тирозина до тирозинхинона. Образовавшаяся в активном центре хиноидная структура связывает остатки лизина в молекуле проколлагена с образованием фермент-субстратного комплекса. Дальнейшее дезаминирование лизина происходит в соответствии с реакциями, представленными на рис. 1.10.

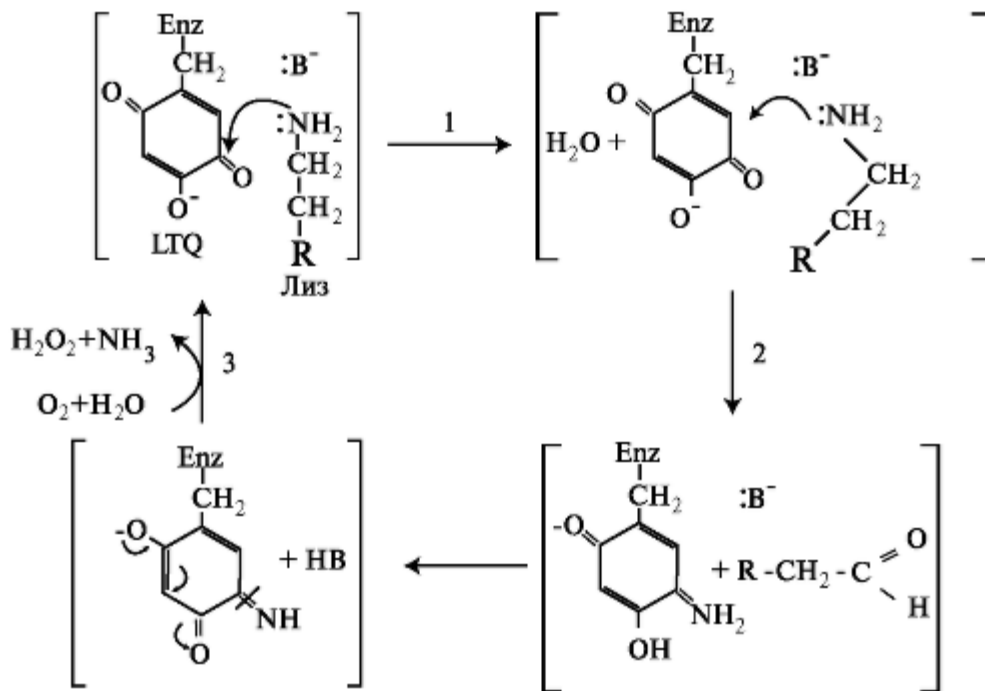
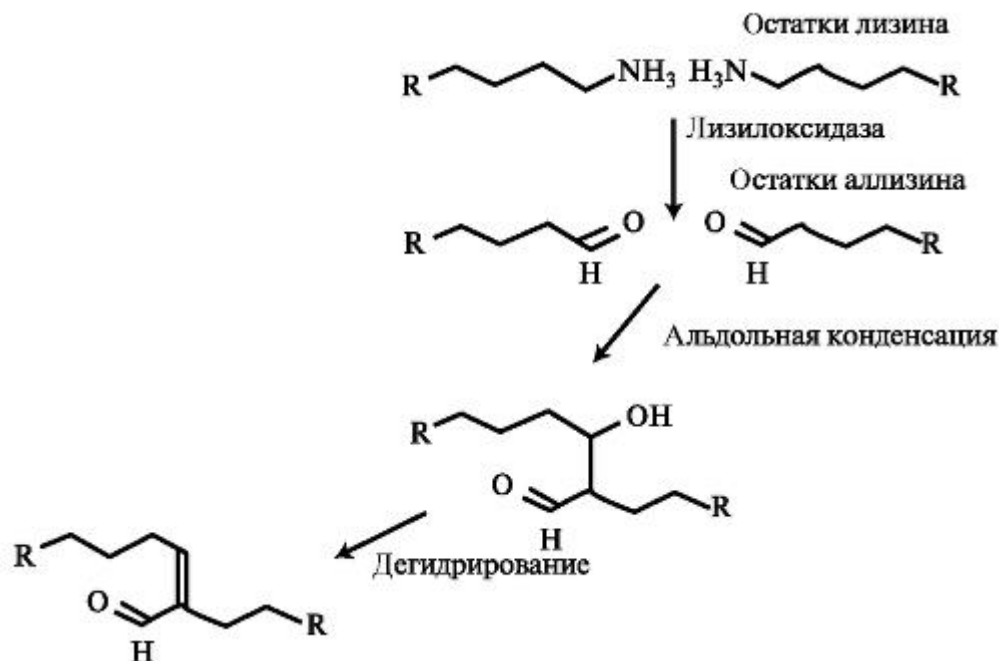


Рис. 1.10. Окисление лизина в структуре коллагена: 1 - формирование фермент-субстратного комплекса; 2 - NH³⁺ переносится на тирозинхинон (LTQ) и происходит окисление лизина с последующим вытеснением аллизина из активного центра; 3 - в активный центр фермента входят молекулы O₂ и H₂O и происходит освобождение NH₃ и H₂O₂. При этом LTQ возвращается в исходное состояние (Enz - фермент).

На следующем этапе аллизин и 5-гидроксиаллизин конденсируются вместе с лизиловыми и гидроксизизиловыми остатками; формируются внутри- и межмолекулярные поперечные связи. В реакции конденсации аллизина с остатком лизина другой цепи образуется основание Шиффа. В случае альдольной конденсации двух остатков аллизина образуются альдольные межмолекулярные связи (лизиннорлейцин). Формирование альдольных межмолекулярных связей показано на рис. 1.11.

Альдольная конденсация характерна для коллагена костной ткани и дентина, а основания Шиффа наиболее часто встречаются в коллагенах сухожилий.

Около 25% молекул тропоколлагена распадается, не образуя фибрилл. Получившиеся фрагменты выполняют сигнальные функции и стимулируют коллагеногенез. Пространственная организация фибрилл завершается при участии фибронектина, протеогликанов и коллагенов, ассоциированных с фибриллами.



Альдольные межмолекулярные связи

Рис. 1.11. Окисление лизина и формирование альдольной межмолекулярной связи в реакциях альдольной конденсации двух остатков аллизина.

Нарушение синтеза коллагеновых белков у человека

Любые нарушения в синтезе коллагеновых белков клинически проявляются, в первую очередь, изменением со стороны зубочелюстной системы в виде кровоточивости дёсен, подвижности и выпадения зубов, множественного кариеса. Причины, приводящие к нарушению синтеза коллагеновых белков, различны - недостаток в организме аскорбиновой кислоты, ионов Cu^{2+} , генетические дефекты и аутоиммунные состояния.

Гидроксирование лизина и пролина очень важный этап для последующего образования ковалентных связей между молекулами коллагена и сборкой коллагеновых фибрилл, зависящий от количества аскорбиновой кислоты. При цинге - заболевании, возникающем вследствие недостатка аскорбиновой кислоты, страдает гидроксирование остатков пролина и лизина в структуре проколлагена. В результате образуются хрупкие и ломкие сосуды.

Нарушение синтеза коллагена в пульпе и дентине приводит к развитию множественно- го кариеса, страдают периодонтальные связки.

Подобные явления встречаются при врождённом дефиците лизилгидроксилазы (синдром Элерса-Данло-Русакова, тип IV). Высокая растворимость молекул коллагена проявляется при врождённом дефекте лизилоксидазы (синдром Элерса-Данло, тип V) или нарушении обмена меди (болезнь Менкеса), что связано с нарушением образования поперечных сшивок между микрофибриллами коллагена. Это приводит к ухудшению механических свойств связок периодонта, состояния тканей пародонта,

вялости кожных покровов и возникновении дефектов в развитии скелета у людей, страдающих этим заболеванием.

При сахарном диабете вследствие неспособности клеток захватывать глюкозу из плазмы крови нарушается процесс внутриклеточного гликозилирования проколлагеновых α -цепей. При попадании проколлагена во внутриклеточное пространство углеводы присоединяются неферментативным путём, что также нарушает структуру коллагеновых фибрилл и неколлагеновых белков. Развивается тяжёлая форма пародонтита, плохо поддающаяся лечению. У детей, родившихся от матерей, страдающих инсулинозависимым сахарным диабетом, выявляется системная гипоплазия твёрдых тканей зуба.

Нарушение структуры базальной мембраны возникает при появлении антител к белкам, формирующим архитектуру базальных мембран (синдром Гудпасчера), или мутации гена, кодирующего α -цепи коллагена IV типа (синдром Альпорта). При этих формах патологии наряду с поражением почек и других органов наблюдаются некариозные поражения твёрдых тканей зуба (гипоплазия эмали, уменьшение объёма и нарушение структуры дентина) и дистрофические изменения мягких тканей полости рта.

Для исследования обмена коллагена в моче и плазме крови определяют концентрацию гидроксипролина, пролина, количество продуктов деградации коллагена I типа - N- и C-телопептиды. Характерным показателем распада коллагена является увеличение количества гидроксипролина в плазме крови и моче, а также повышение количества N- и C-телопептидов в плазме крови и содержания кальция, определяемого в моче утром до приёма пищи. О нарушении созревания коллагена свидетельствует рост количества пролина в плазме крови.

Помимо коллагеновых белков в межклеточном матриксе присутствуют и неколлагеновые - эластин, протеогликаны, гликопротеины и др.

1.3. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА НЕКОЛЛАГЕНОВЫХ БЕЛКОВ

Эластин

В межклеточном веществе стенок кровеносных сосудов, тканей периодонта, корня языка, в подслизистом слое губ и щёк, лёгких, кожи в больших количествах присутствует эластиновые волокна. Эти ткани обладают очень важными свойствами: они могут растягиваться в несколько раз по сравнению с исходной длиной, сохраняя при этом высокую прочность на разрыв, и возвращаться в первоначальное состояние после снятия нагрузки. Резиноподобные свойства названных тканей обеспечиваются основным белком эластином - гликопротеином с мол. массой 70 кДа.

Эластин содержит около 27% глицина, 19% аланина, 10% валина, 4,7% лейцина. Наличие большого количества гидрофобных радикалов

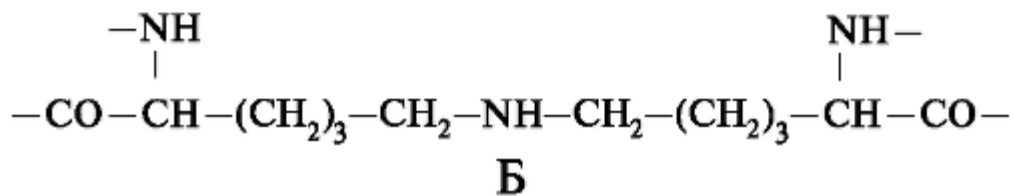
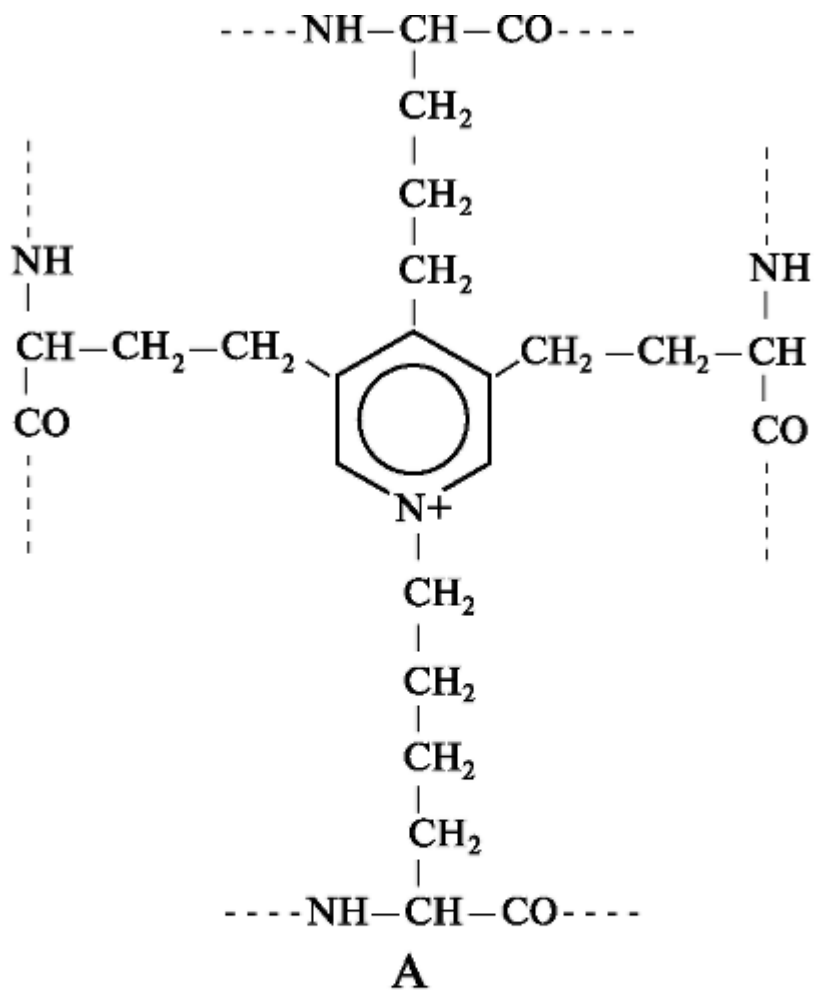


Рис. 1.13. Поперечные сшивки в структуре эластина: *A* - десмозин, образованный четырьмя остатками лизина; *B* - лизиннорлейцин, образованный двумя остатками лизина.

Образование ковалентных сшивок между пептидными цепями эластина с неупорядоченной конформацией позволяет сети волокон эластина растягиваться и сжиматься во всех направлениях, что придаёт им свойство эластичности (рис. 1.14).

Синтез и распад эластина. Синтез эластина начинается в фибробластах с образования предшественника эластина - белка тропоэластина. Тропоэластин является растворимым мономером, гидрофильные участки которого обогащены остатками лизина. В межклеточном матриксе при участии медьзависимой лизилоксидазы остатки лизина окисляются до аллизина,

которые формируют поперечные сшивки, стабилизирующие молекулу эластина. После образования поперечных сшивок эластин приобретает свою конечную внеклеточную форму, для которой характерна нерастворимость, высокая стабильность и низкая скорость метаболизма.

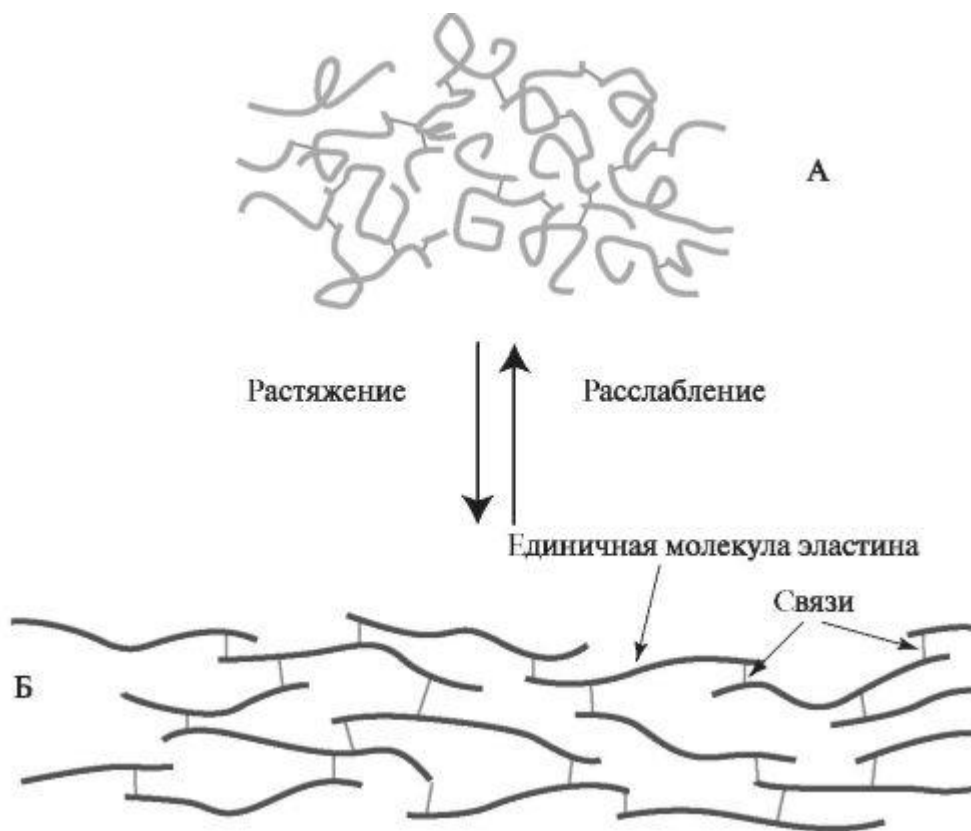


Рис. 1.14. Структурная модель эластина:

А - состояние расслабления; *Б* - состояние растяжения.

В расщеплении эластина участвует эластаза полиморфноядерных лейкоцитов, которая являясь эндопептидазой, преимущественно расщепляет связи, образованные карбоксильными группами алифатических аминокислот. Она активна в слабощелочной среде (рН 7,5-8,5) и гидролизует во внеклеточном пространстве не только эластин, но и другие белки - протеогликаны, гемоглобин, коллаген, иммуноглобулины. Активность эластазы ингибирует белок α_1 -антитрипсин (α_1 -АТ). Наибольшее количество α_1 -АТ синтезируется печенью и находится в крови. В тканях α_1 -АТ синтезируется макрофагами.

Изменения структуры эластина при патологических процессах

При нарушении образования десмозинов, изодесмозинов и лизиннорлейцина снижается предел прочности эластических тканей на разрыв, появляются такие нарушения, как истонченность, вялость, растяжимость, то есть утрачиваются их пластичные свойства. Изменения в структуре эластина могут быть обусловлены снижением активности лизилоксидазы при

наследственных и приобретённых заболеваниях, дефиците меди. Нарушения структуры эластина могут проявляться сердечно-сосудистыми изменениями в виде аневризм и разрывов аорты, дефектов клапанов сердца, частыми пневмониями и эмфиземой лёгких.

В тканях десны эластаза не активна. При развитии воспаления количество полиморфноядерных лейкоцитов увеличивается и они становятся источником эластазы. Увеличение количества последней происходит на фоне неизменённого или сниженного содержания α_1 -АТ в тканях десны.

Возникающий дисбаланс между ферментом и его ингибитором приводит к декструкции эластических волокон при гингивите и пародонтите.

Протеогликаны и гликозаминогликаны

Протеогликаны - класс сложных белков внеклеточного матрикса. Они состоят из различных стержневых (коровых) белков, к которым через N- и O-гликозидные связи присоединены олигосахариды, связанные с цепями гликозамингликанов (рис. 1.15).

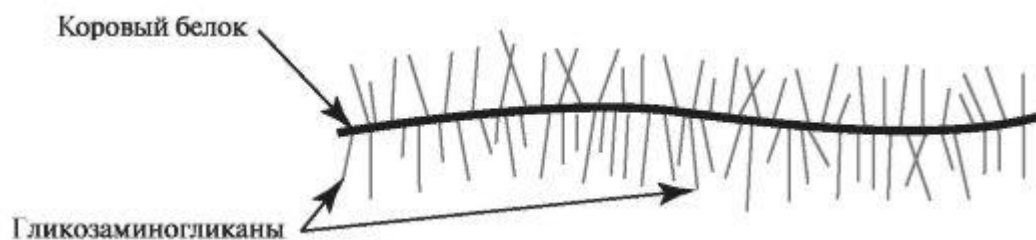


Рис. 1.15. Строение протеогликана.

Разные протеогликианы отличаются размерами молекул, относительным содержанием белка и набором гликозамингликанов. Протеогликианы в больших количествах представлены в дентине, пульпе, цементе, тканях периодонта, слизистых оболочках полости рта (табл. 1.2).

Часть протеогликианов - серглицин, матриксный протеогликиан хряща, декорин, версикан и др. находятся в растворимом состоянии и локализируются во внеклеточном матриксе. Другие протеогликианы, например, синдекан, представлены трансмембранными интегральными белками. Синдекан имеет внеклеточный трансмембранный и цитоплазматический домены и взаимодействует с актиновым цитоскелетом. Снаружи на клеточной поверхности синдекан связывается с фибронектином и другими компонентами внеклеточного матрикса.

Таблица 1.2

Протеогликаны	Гликозаминогликаны	Ткань
Версикан, декорин, бигликан, фибромодулин, люмикан	Хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, дерматансульфат	Цемент корня
Люмикан, фибромодулин, остеоадерин	Хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, дерматансульфат	Дентин, предентин
Синдекан-1, декорин, версикан, бигликан	Дерматансульфат, гиалуроновая кислота, гепарансульфат, хондроитин-4-сульфат	Слизистая оболочка
Фибромодулин, версикан, декорин	Дерматансульфат, хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, гепарансульфат	Периодонтальные связки
Версикан, бигликан, декорин	Хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, дерматансульфат, кератансульфат, гиалуроновая кислота	Пульпа зуба
Версикан, бигликан, декорин, синдекан	Хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, дерматансульфат, кератансульфат, гиалуроновая кислота	Костная ткань
Декорин, бигликан, фибромодулин,	Хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, кератансульфат, гиалуроновая кислота	Хрящевая ткань

Протеогликаны и гликозаминогликаны в тканях полости рта

В связывании протеогликанов со специфическими белками участвуют молекулы гликозаминогликанов. Их отрицательно заряженные группы взаимодействуют с положительно заряженными радикалами аминокислот лизина и аргинина, расположенными в определённых областях белковой молекулы. Таким способом связываются высокосульфатированные гликозаминогликаны с фибронектином.

Протеогликаны выполняют функции рецепторов при сборке межклеточного матрикса, облегчают клеточное прикрепление и регулируют процессы роста клеток. Они также могут образовывать комплексы с некоторыми белками, например, факторами роста. В образовавшихся комплексах белки защищены от протеолитических ферментов. Эти комплексы выполняют функцию резервуаров, и только в случае необходимости фактор роста освобождается из них и приобретает способность проявлять свою биологическую активность.

Гликозаминогликаны относятся к гетерополисахаридам. Это линейные структуры, построенные из повторяющихся дисахаридных единиц. Молекула дисахарида состоит из урановой кислоты и аминсахара, амингруппа которого обычно ацетилирована. Наличие сульфатных и карбоксильных групп в гликозаминогликанах придает им большой отрицательный заряд и способность связывать воду. Благодаря высокой плотности отрицательного заряда на своей поверхности они связывают катионы Ca^{2+} , Na^+ , K^+ и таким образом принимают участие в минеральном обмене.

Все гликозаминогликаны делят на 2 группы: сульфатированные и несulfатированные. К несulfатированным гликозаминогликанам относится *гиалуроновая кислота*. Сульфатированные гликозаминогликаны в свободном виде не встречаются; будучи связаны с небольшим количеством белка, они образуют протеогликаны. Структура дисахаридных единиц, входящих в состав гликозаминогликанов, представлена на рис. 1.16.

Гиалуроновая кислота встречается во многих органах и тканях. Она построена из дисахаридных остатков, соединенных β -(1- \rightarrow 4)-гликозидными связями. Дисахаридные фрагменты, в свою очередь, состоят из остатков β -D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил- β -D-глюкозамина, связанных между собой β -(1-3)-гликозидными связями. Гиалуроновая кислота имеет высокую мол. массу (M_r 10^5 - 10^7 Да).

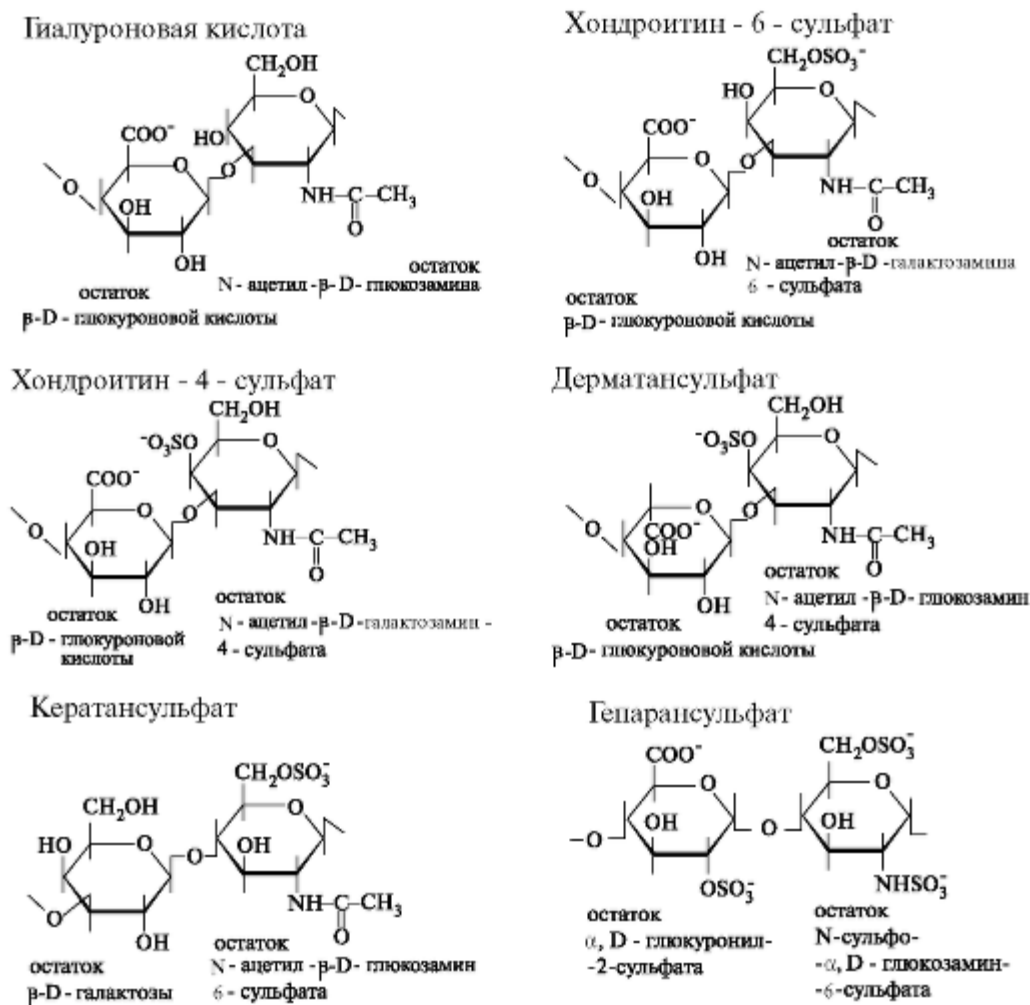


Рис. 1.16. Структура повторяющихся дисахаридных единиц в гликозаминогликанах.

В ряде органов (стекловидное тело глаза, пупочный канатик, суставная жидкость) она находится в свободном виде, а в хряще формирует протеогликановые агрегаты. В суставной жидкости гиалуроновая кислота играет роль смазочного вещества, уменьшая трение между суставными поверхностями. В процессе развития эмбриона она заполняет межклеточные пространства, облегчая перемещение клеток. В больших количествах гиалуроновая кислота синтезируется во время заживления ран. Связывая воду, она обеспечивает барьерную функцию.

Цепи гиалуроновой кислоты способны свертываться, связывая большое количество воды и формируя домен. В этот домен (определенное пространство) имеют доступ небольшие молекулы или ионы, однако крупные молекулы (альбумин, иммуноглобулины) не способны проникать в него. Домены способны контактировать, сжиматься и проникать друг в друга, что и определяет высокую вязкость раствора.

Хондроитинсульфаты содержат повторяющиеся дисахаридные единицы, соединенные β-(1→4)-гликозидными связями. Дисахариды построены из

глюкуроновой кислоты и сульфатированного N-ацетилгалактозамина, соединённых между собой β -(1-3)-гликозидными связями. В зависимости от положения сульфатной группы различают хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат. Одна полисахаридная цепь хондроитинсульфата содержит около 40 повторяющихся дисахаридных единиц. Мол. масса хондроитинсульфатов колеблется от 10 до 600 кДа. Несмотря на минимальные различия в химической структуре, хондроитинсульфаты существенно отличаются по физико-химическим свойствам и распределению в различных видах соединительной ткани. Хондроитин-4-сульфат, преимущественно встречается в составе хрящевой и костной тканей, роговице глаза, а хондроитин-6-сульфат присутствует в сухожилиях, связках, пупочном канатике, а также в костях.

Дерматансульфат - гетерополисахарид, сходный по строению с хондроитинсульфатом. В отличие от последнего дисахаридный фрагмент дерматансульфата содержит вместо D-глюкуроновой кислоты остаток L-идуроновой кислоты. Дерматансульфат присутствует в коже, хрящах, сухожилиях и межпозвоночных дисках, кровеносных сосудах и клапанах сердца. В составе малых протеогликанов (бигликакан и декорин) он содержится в межклеточном веществе костей, хрящей, межпозвоночных дисков и менисков, где участвует в стабилизации коллагеновых волокон.

Кератансульфаты - наиболее гетерогенные гликозаминогликаны; отличаются друг от друга по суммарному содержанию углеводов и распределению в разных тканях. В отличие от всех остальных гликозаминогликанов, кератансульфаты вместо уроновой кислоты содержат остаток D-галактозы. Остатки D-галактозы в дисахаридных фрагментах кератансульфата связаны β -(1->4)-гликозидными связями с остатками N-ацетил-D-глюкозамин-6-сульфата. Между собой дисахаридные фрагменты соединены β -(1->3)-гликозидными связями.

Кератансульфат-1 роговицы глаза содержит, кроме повторяющийся дисахаридной единицы, L-фукозу, D-маннозу и сиаловую кислоту. Кератансульфат-2 обнаружен в хрящевой ткани, костях, межпозвоночных дисках. Кератансульфаты входят в состав большого протеогликана - агрекана и некоторых малых протеогликанов хрящевого матрикса.

Гепарансульфат представляет собой гетерополисахарид, построенный из глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина; содержит большее количество N-ацильных групп и меньше сульфатных. Входит в состав протеогликанов базальных мембран и является постоянным компонентом клеточной поверхности.

Большие протеогликаны

К *большим протеогликанам* относят белки с большой мол. массой, содержащие свыше 100 цепей гликозаминогликанов. В эту группу входят агрекан, версикан, нейрокан, бревикан и др. Их особенностью является

способность связываться с коллагенами, гиалуроновой кислотой и образовывать протеогликановые агрегаты.

В цементе, пульпе зуба, слизистой оболочке, костной ткани и коже присутствует большой хондроитинсульфатсодержащий протеогликан - *версикан*, мол. масса которого около 1000 кДа. Стержневой белок версикана состоит из аминокислотных последовательностей, содержащих остатки глю-гли-фен. Благодаря большому содержанию сульфата, глутаминовой кислоты и связи с гиалуроновой кислотой версикан в гидратированном состоянии занимает значительное по объёму пространство.

Для матрикса хрящевой ткани характерно присутствие другого большого протеогликана - *агрекана* (см. хрящевую ткань).

Малые протеогликаны

Малые протеогликаны имеют небольшой коровий белок, к которому присоединены 1 или 2 цепи гликозаминогликанов. Среди малых протеогликанов различают протеогликаны, богатые лейцином, протеогликаны, ассоциированные с клетками, и протеогликаны базальных мембран.

Протеогликаны, богатые лейцином. Особенностью малых протеогликанов этого семейства является наличие 9-12 доменов, богатых лейцином в С-концевой области коровьего белка. Эти домены обладают свойством связывать коллаген. N-концевая область высоко вариабельна в своей аминокислотной последовательности, которая связана с гликозаминогликанами. Домены N-концевой области участвуют во взаимодействиях белков друг с другом и клетками.

Белки этого семейства представлены декорином, бигликаном, фибромодулином, люмиканом, остеоадерином, остеоглицином, окулогликаном, оптицином, аспорином.

Малые протеогликаны - фибромодулин, люмикан и остеоадерин в N-концевой области содержат цепи *кератансульфата*, которые присоединяются к *аспарагину*, а также сульфатированные остатки *тирозина*.

Фибромодулин - протеогликан с мол. массой около 40 кДа. Показано, что фибромодулин присоединяется к фибриллам коллагена II типа и ограничивает их диаметр.

Люмикан по своему строению очень сходен с фибромодулином.

Присутствует в межклеточном матриксе мышечной и хрящевой тканей, лёгких, тонкой кишки, роговой оболочки глаза. Предполагается его участие в регуляции образования сетчатой коллагеновой структуры.

Остеоадерин - белок с мол. массой 49,1 кДа. Особенностью этого белка является присутствие четырёх сульфатированных остатков тирозина, три из которых располагаются в N-концевой области. В С-концевой области присутствует большое количество отрицательно заряженных аминокислот.

Молекула остеоадерина синтезируется зрелыми остеобластами, а также одонтобластами. Он определяется в амелобластическом слое на стадии созревания эмали и участвует в процессах минерализации.

Декорин и бигликан сходны по размерам и структуре, но их синтез находится под контролем различных генов. Мол. масса декорина около 130 кДа, а бигликана - около 270 кДа. Их коровые белки содержат своеобразную 24-аминокислотную последовательность, богатую лейцином, которая тандемно повторяется 10 раз в декорине и 12 раз в бигликане. Бигликан содержит серин в положениях 5 и 11, а декорин в положении 4, что позволяет бигликану присоединять 2 полисахаридные цепи, а декорину - только одну (рис. 1.17). У этих протеогликанов полисахаридные цепи представлены *дерматансульфатом*. Декорин и бигликан участвуют в межклеточных взаимодействиях, которые могут облегчаться β -структурой в коровом белке. Показано, что декорин и, вероятно, бигликан взаимодействуют с β -трансформирующим фактором роста (ТФР- β).

Локализация декорина совпадает с расположением коллагена. Если назначение бигликана неизвестно, то декорин участвует в связывании с коллагенами I и II типов, а также ингибирует фибринолиз. Кроме того, бигликан и декорин обеспечивают взаимодействия между клетками, эластином и адгезивными белками - фибронектином и ламинином. Протеогликаны, ассоциированные с клетками

В процессе развития клеток появляются малые протеогликаны, получившие название протеогликанов, ассоциированных с клетками. Это семейство белков включает серглицины, синдеканы, бетаглицины, тромбомодулин, фосфатидилинозитол - заякоренные протеогликаны.

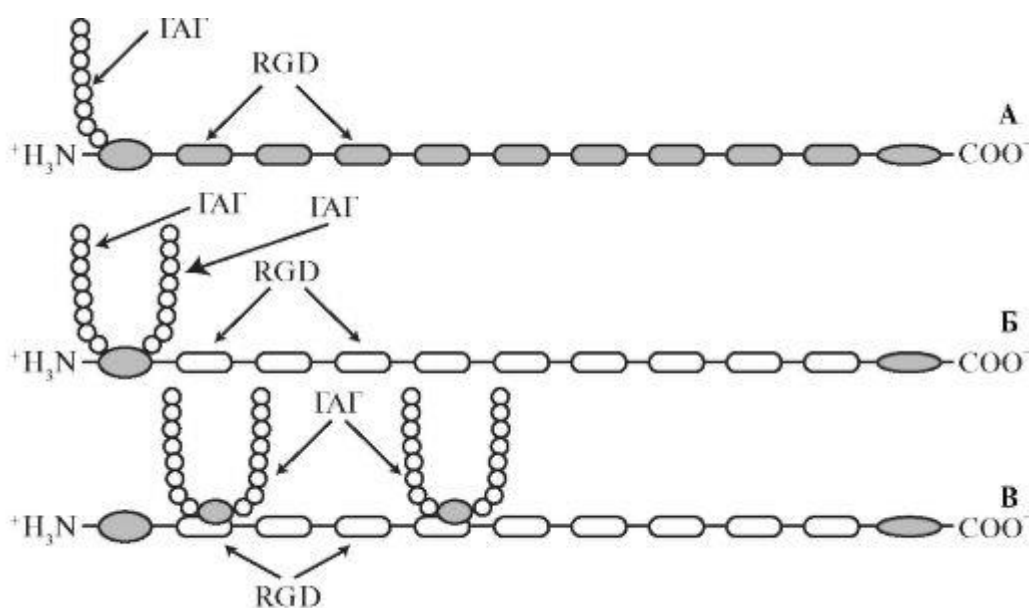


Рис. 1.17. Доменное строение малых протеогликанов: *A* - декорин; *B* - бигликан; *B* - фибромодулин.

Синдеканы включают 4 типа различных белков. Они являются интегральными протеогликанами и содержат внутриклеточный, трансмембранный и внеклеточный домены. Внеклеточный домен этих белков имеет сходство с доменом протеиназ и способен открывать мембрану клетки, а также содержит и варьирующие цепи гликозаминогликанов, соединённых с синдексаном. Так, синдеканы 1 и 3 содержат гепарансульфат и хондроитинсульфат. Синдексан-1 появляется в эпителиальных клетках в процессе развития, синдексан-2 (фиброгликан) синтезируется фибробластными клетками и гепатоцитами; синдексан-3 (N-синдексан) присутствует в нервной ткани и развивающихся хрящах, а синдексан-4 (риудокан, амфигликан) - в эндотелии, эпителии, гладкомышечных клетках и фибробластах кожи. Синдеканы через внеклеточные домены связывают коллагены, фибронектин, тромбоспондин, тенасцин и фактор роста фибробластов. Внутриклеточные домены синдексана через актин связываются с цитоскелетом.

Серглицины выделены из секреторных везикул. Их состав зависит от типа клеток и клеточной дифференцировки. С коровым белком связаны цепи хондроитин- и гепарансульфата. Особенностью молекул серглицина является высокое содержание сульфатных остатков, что придаёт им устойчивость к протеолизу. Мол. масса серглицинов варьирует в больших пределах (60-750 кДа), а мол. масса корового белка практически постоянна (16-18 кДа). Считают, что серглицины вовлечены в регуляцию ферментативной активности секреторных гранул и дифференцировку гемопоэтических клеток.

Некоторые серглицины синтезируются эндотелиальными клетками, и их синтез повышается под влиянием фактора некроза опухолей и интерлейкина 1α (ИЛ- 1α). Серглицин может принимать участие в миграции лейкоцитов при воспалительных процессах. Недавно установлено, что с другими протеогликанами они участвуют в адгезии и активации лимфоидных клеток.

Протеогликаны базальных мембран

В составе базальных мембран выделена целая группа гетерогенных протеогликанов, содержащих гепарансульфат. В структуре корового белка имеются глобулярные домены, разделённые стержневыми фрагментами. Глобулярные домены обеспечивают связь этих протеогликанов с коллагеном IV типа, ламинином и другими гликопротеинами, а также с клетками, расположенными на базальной мембране.

Основным *гепарансульфатсодержащим* протеогликаном базальных мембран является *перлекан*. Полипептидная цепь, состоящая из 3500 аминокислотных остатков, связана с тремя гепарансульфатными цепями через гидроксильные группы *серина* в N-концевой области. Каждая полисахаридная цепь содержит до 200 мономеров. В молекуле перлекана определяется около трёх десятков глобулярных доменов, разделённых короткими стержневидными фрагментами, обеспечивающих связь между клетками и компонентами межклеточного матрикса.

Сохранение биомеханических и физиологических особенностей соединительной ткани во многом определяется поддержанием баланса между процессами биосинтеза и деградации коллагенов и протеогликанов. Распад и синтез протеогликанов регулируют: 1) гормоны - соматотропин, тироксин, инсулин; 2) цитокины - ИЛ-1, кахектины; 3) витамины группы А и С; 4) микроэлементы; 5) факторы роста.

Синтез протеогликанов

Синтез протеогликанов начинается с биосинтеза корового белка на полирибосомах. Уже в процессе трансляции белка в шероховатой эндоплазматической сети происходит связывание трисахаридов через амидные группы остатков аспарагина. В качестве донора олигосахаридов выступают долихол-связанные олигосахариды с высоким содержанием маннозы. После присоединения N-сцепленных олигосахаридов стержневой белок подвергается ксилозилрованию и фосфорилированию. УДФ-ксилозатрансфераза, осуществляющая перенос остатков ксилозы на гидроксильную группу стержневого белка, является одним из ключевых ферментов биосинтеза протеогликанов. Дальнейшие процессы образования цепей гликозаминогликанов происходят в аппарате Гольджи.

Полисахаридные цепи гликозаминогликанов синтезируются путём последовательного присоединения моносахаридов, донорами которых обычно являются соответствующие УДФ - сахара. На мембранах аппарата Гольджи локализованы гликозилтрансферазы, при участии которых белковая молекула и подвергается гликозилрованию (рис. 1.18).

для сахаров выступает глутамин. Образовавшийся ами- носахар далее ацетируется с помощью ацетил-КоА (рис. 1.21).

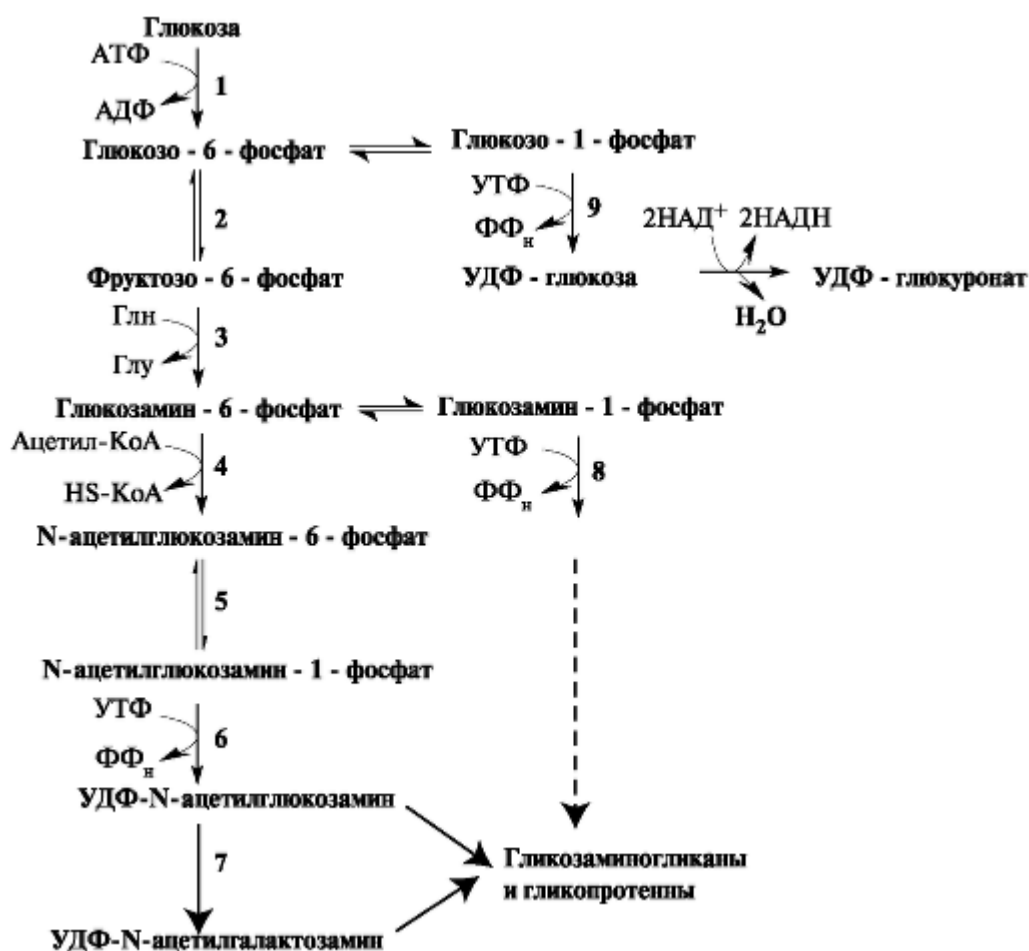


Рис. 1.21. Синтез гликозаминогликанов.

Ферменты: 1 - гексокиназа; 2 - фосфоглюкоизомераза; 3 - аминотрансфераза; 4 - ацетилтрансфераза; 5 - N-ацетилглюкозаминфосфомутаза; 6 - УДФ-N-ацетилглюкозаминпирофосфорилаза; 7 - эпимераза; 8 - УДФ-глюкозаминпирофосфорилаза; 9 - УДФ-глюкопирофосфорилаза; 10 - УДФ-глюкозо-дегидрогеназа.

В реакциях эпимеризации после включения глюкуроната в углеводную цепь из D-глюкуроновой кислоты образуется L-идуроновая кислота.

На синтез гликозаминогликанов влияют соматотропин и ретиноевая кислота, которые активируют включение сульфата в молекулы. Напротив, синтез гиалуроновой кислоты и сульфатированных глико-заминогликанов тормозят глюкокортикоиды и половые гормоны.

Модификацией цепей гликозаминогликанов является сульфатирование, то есть присоединение сульфата к С-4 и (или) к С-6 N-ацетилгалактозамина. Сульфат переносится на молекулу-акцептор с помощью специфических

сульфотрансфераз (рис. 1.20). Донором сульфатной группы выступает 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС).

Условные обозначения

—ОН - фрагмент корового белка

Кси - ксилоза

Гал - галактоза

ГлюУк - глюкоуроновая кислота

ГалНАц - N-ацетилгалактозамин

ГалНАцS - N-ацетилгалактозамин-6-сульфат

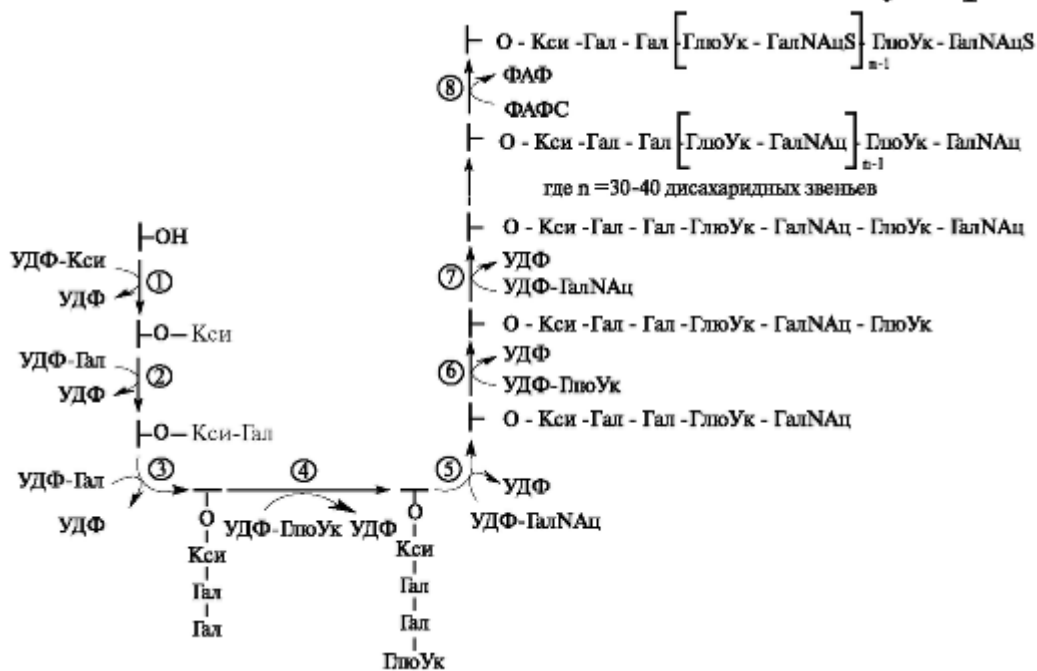


Рис. 1.19. Синтез хондроитинсульфата в составе протеогликана.

Ферменты: 1 - УДФ-ксилозилтрансфераза; 2 - УДФ-галактозилтрансфераза I; 3 - УДФ-галактозилтрансфераза II; 4 - УДФ-глюкуронилтрансфераза I; 5 - УДФ- N-ацетилгалактозаминтрансфераза I; 6 - УДФ-глюкуронилтрансфераза II; 7 - УДФ-N-ацетилгалактозаминтрансфераза II; 8 - сульфотрансфераза.

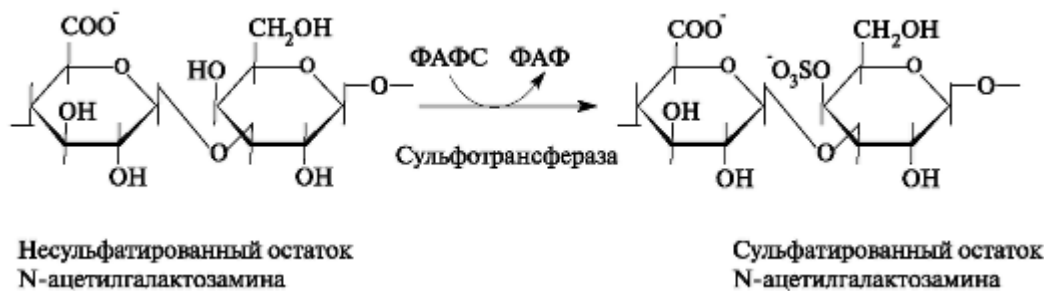


Рис. 1.20. Реакция сульфатирования остатка N-ацетилгалактозамина в процессе синтеза цепи хондроитинсульфата.

Аминосакхара и гексуроновые кислоты синтезируются из глюкозы. Непосредственным же предшественником N-ацетилглюкозамина и N-ацетилгалактозамина является фруктозо-6-фосфат. Источником NH₂-группы для сахаров выступает глутамин. Образовавшийся ами- носакхар далее ацетируется с помощью ацетил-КоА (рис. 1.21).

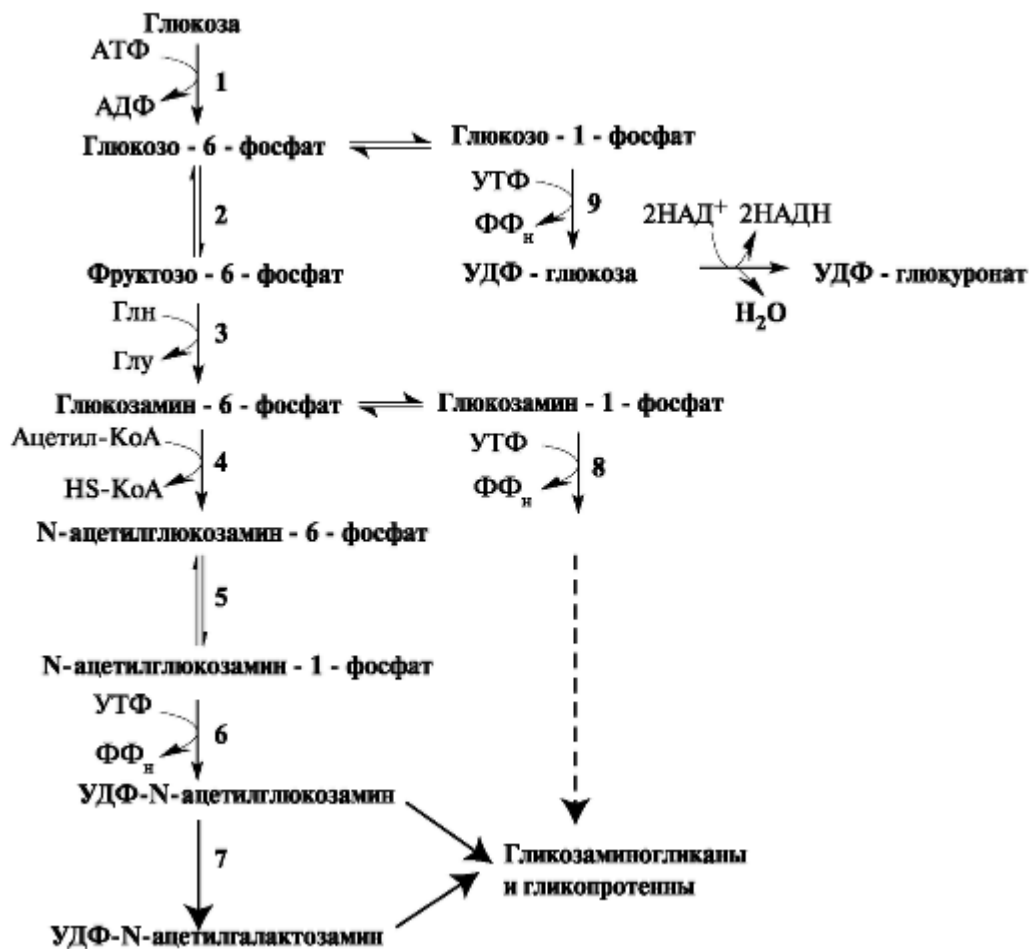


Рис. 1.21. Синтез гликозаминогликанов.

Ферменты: 1 - гексокиназа; 2 - фосфоглюкоизомераза; 3 - аминотрансфераза; 4 - ацетилтрансфераза; 5 - N-ацетилглюкозаминфосфомутаза; 6 - UDP-N-ацетилглюкозаминпирофосфорилаза; 7 - эписмераза; 8 - UDP-глюкозаминпирофосфорилаза; 9 - UDP-глюкопирофосфорилаза; 10 - UDP-глюкозо-дегидрогеназа.

В реакциях эписмеризации после включения глюкуроната в углеводную цепь из D-глюкуроновой кислоты образуется L-идуоновая кислота.

На синтез гликозаминогликанов влияют соматотропин и ретиноевая кислота, которые активируют включение сульфата в молекулы. Напротив, синтез гиалуриновой кислоты и сульфатированных глико-заминогликанов тормозят глюкокортикоиды и половые гормоны.

Модификацией цепей гликозаминогликанов является сульфатирование, то есть присоединение сульфата к С-4 и (или) к С-6 N-ацетилгалактозамина. Сульфат переносится на молекулу-акцептор с помощью специфических сульфотрансфераз (рис. 1.20). Донором сульфатной группы выступает 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС).

Условные обозначения

—ОН - фрагмент корового белка

Кси - ксилоза

Гал - галактоза

ГлюУк - глюкуроновая кислота

ГалNAц - N-ацетилгалактозамин

ГалNAцS - N-ацетилгалактозамин-6-сульфат

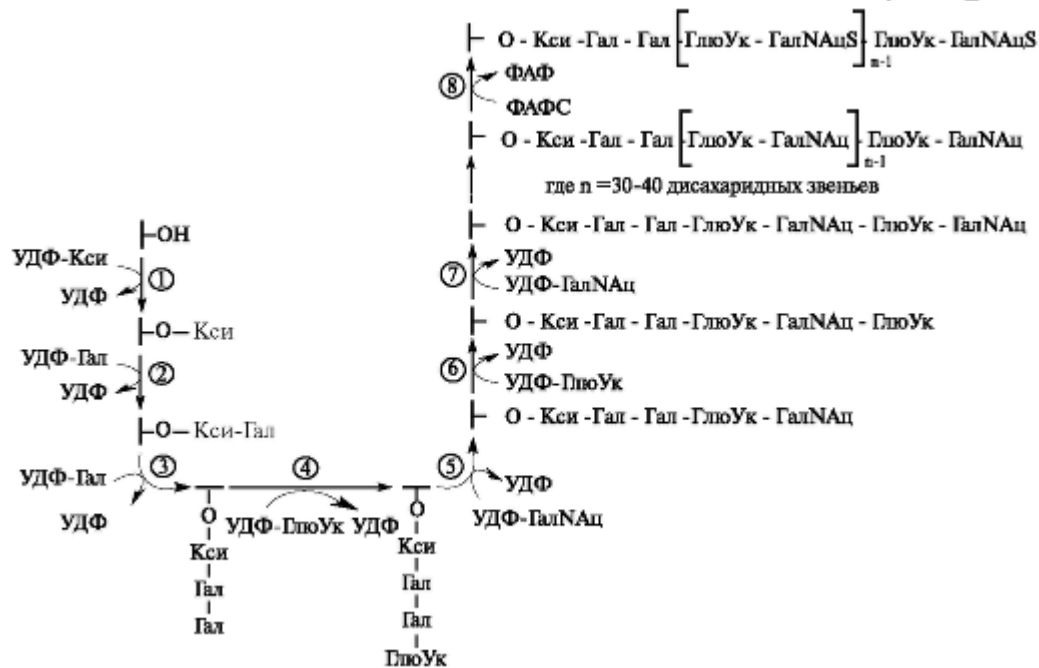
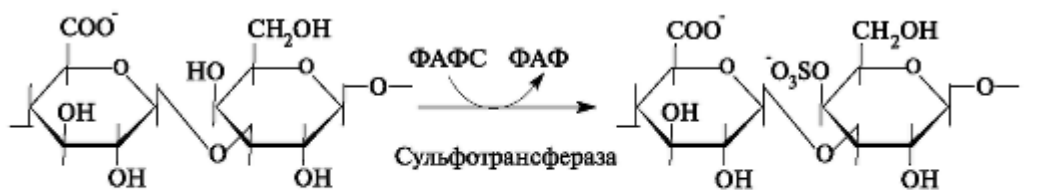


Рис. 1.19. Синтез хондроитинсульфата в составе протеогликана.

Ферменты: 1 - УДФ-ксилозилтрансфераза; 2 - УДФ-галактозилтрансфераза I; 3 - УДФгалактозилтрансфераза II; 4 - УДФ-глюкуронилтрансфераза I; 5 - УДФ- N-ацетилгалактозаминтрансфераза I; 6 - УДФ-глюкуронилтрансфераза II; 7 - УДФ-N-ацетилгалактозаминтрансфераза II; 8 - сульфотрансфераза.



Несульфатированный остаток
N-ацетилгалактозамина

Сульфатированный остаток
N-ацетилгалактозамина

Рис. 1.20. Реакция сульфатирования остатка N-ацетилгалактозамина в процессе синтеза цепи хондроитинсульфата.

Аминосакхара и гексуроновые кислоты синтезируются из глюкозы. Непосредственным же предшественником N-ацетилглюкозамина и N-ацетилгалактозамина является фруктозо-6-фосфат. Источником NH₂-группы для сахаров выступает глутамин. Образовавшийся ами- носакхар далее ацетируется с помощью ацетил-КоА (рис. 1.21).

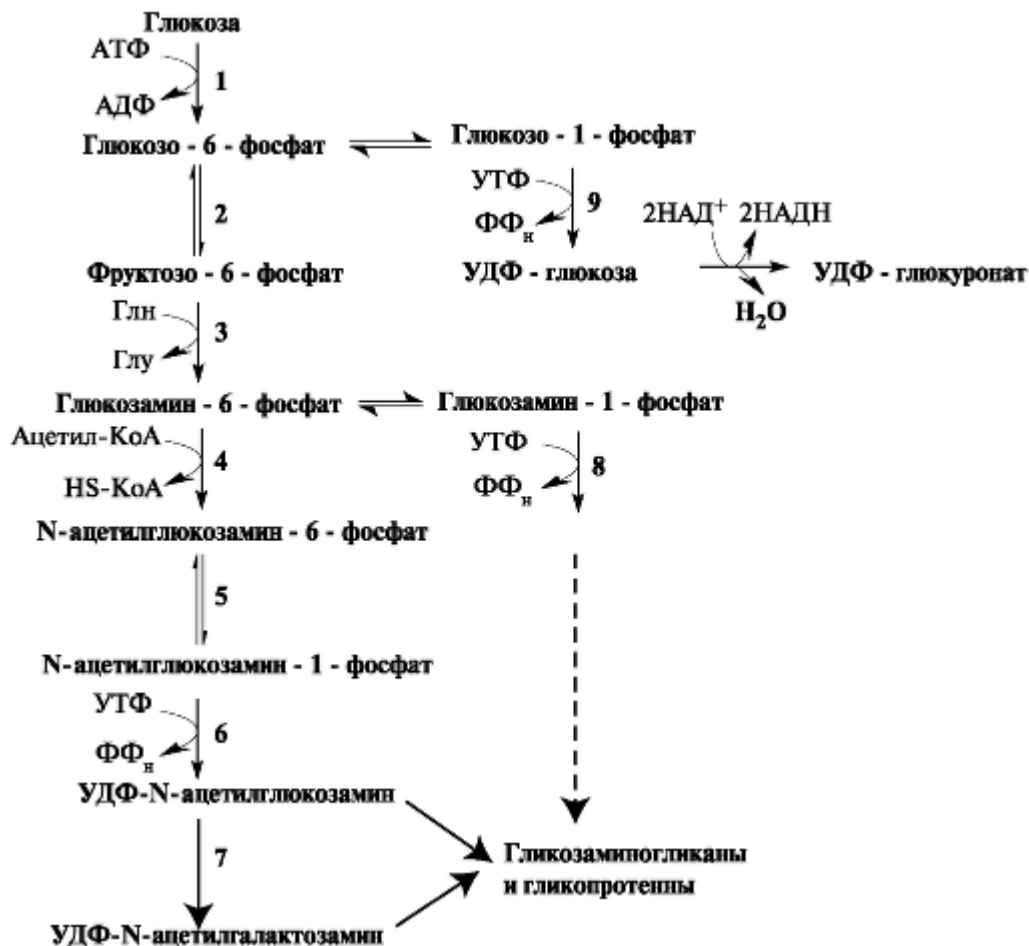


Рис. 1.21. Синтез гликозаминогликанов.

Ферменты: 1 - гексокиназа; 2 - фосфоглюкоизомераза; 3 - аминотрансфераза; 4 - ацетилтрансфераза; 5 - N-ацетилглюкозаминфосфомутаза; 6 - UDP-N-ацетилглюкозаминпирофосфорилаза; 7 - эписимераза; 8 - UDP-глюкозаминпирофосфорилаза; 9 - UDP-глюкопирофосфорилаза; 10 - UDP-глюкозо-дегидрогеназа.

В реакциях эписимеризации после включения глюкуроната в углеводную цепь из D-глюкуроновой кислоты образуется L-идуроносовая кислота.

На синтез гликозаминогликанов влияют соматотропин и ретиноевая кислота, которые активируют включение сульфата в молекулы. Напротив, синтез

гиалуроновой кислоты и сульфатированных глико-заминогликанов тормозят глюкокортикоиды и половые гормоны.

Хондронтин - 6 - сульфат

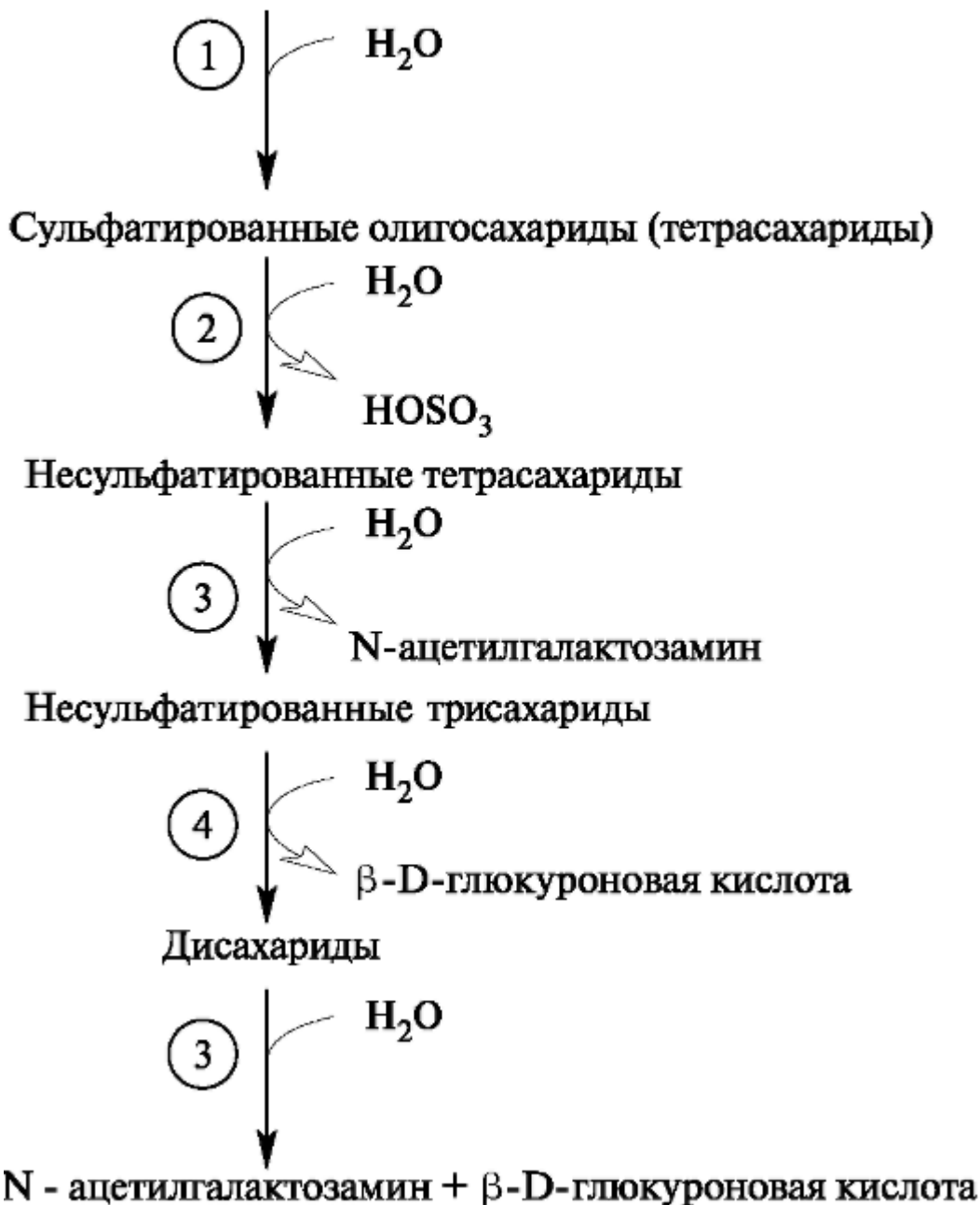


Рис. 1.22. Распад хондроитинсульфата.

Ферменты: 1 - эндогликозидаза; 2 - сульфатаза; 3 - β -N-ацетилгалактозаминидаза; 4 - β -глюкуронидаза.

В распаде гиалуроновой кислоты до олигосахаридов участвует гиалуронидаза. Гидролиз образовавшихся олигосахаридов осуществляют β -N-ацетилглюкозаминидаза и β -D-глюкуронидаза.

Внеклеточный распад гликозаминогликанов характерен только для гепарансульфата, который расщепляется гепараназой, синтезируемый тромбоцитами или Т-лимфоцитами.

Мукополисахаридозы

Мукополисахаридозы - тяжёлые наследственные заболевания, обусловленные дефектами гидролаз, участвующих в катаболизме гликозаминогликанов. В лизосомах тканей, для которых характерен синтез наибольшего количества гликозаминогликанов, накапливаются не полностью разрушенные гликозаминогликаны и с мочой выделяются их олигосахаридные фрагменты. Существует несколько типов мукополисахаридозов, вызванных дефектами разных ферментов, участвующих в расщеплении гликозаминогликанов.

Мукополисахаридозы проявляются нарушениями умственного развития у детей, поражениями сердечно-сосудистой системы, деформациями костного скелета, значительно выраженными в челюстнолицевой области, гипоплазией твёрдых тканей зубов, помутнением роговицы глаз, снижением продолжительности жизни (табл. 1.3).

В настоящее время эти болезни не поддаются лечению, поэтому при подозрении на носительство дефектных генов необходимо проводить пренатальную диагностику. В этих случаях определяют активность лизосомальных гидролаз.

1.4. НЕКОЛЛАГЕНОВЫЕ БЕЛКИ СО СПЕЦИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Адгезивные и антиадгезивные белки

Белки межклеточного матрикса выполняют самые разные функции. Часть из них обладает способностью склеивать компоненты межклеточного вещества и клеток, и эти белки получили название *адгезивных*. Другая группа белков, напротив, подавляет адгезию клеток и внеклеточных компонентов, и их называют *антиадгезивными*. Взаимодействие клеток с внеклеточным матриксом является сложным процессом и проявляется как усилением адгезии, так и её ослаблением. В адгезии мезенхимальных и эпителиальных клеток участвуют белки фибронектин, витронектин, ламинин, нидоген (энтактин) и интегрины. Напротив, антиадгезивные белки - тенасцин, тромбоспондин способны менять форму клеток и частично откреплять их от компонентов внеклеточного матрикса. Вместе с тем такое разделение белков на адгезивные и антиадгезивные является достаточно условным.

Таблица 1.3 Болезни, связанные с нарушением метаболизма гликозаминогликанов

Название болезни	Дефектный фермент	Гидролизуемые гликозаминогликаны	Симптомы болезни
Болезнь Гюнтера (MPS II)	L-идуронат-2-сульфатаза	Дерматансульфат, гепарансульфат	Врождённые физические уродства, в том числе лицевого скелета; помутнения роговицы нет; умственная отсталость; при тяжёлой форме болезни продолжительность жизни 20–60 лет
Болезнь Сан-филиппо А, В, С, D (MPS III А, В, С, D)	Гепаран N-сульфатаза; β -N-ацетил-D-глюкозаминидаза; ацетил-CoA- β -глюкозаминид-ацетилтрансфераза; N-ацетил-глюкозамин-6-сульфатаза	Гепарансульфат	Глубокая умственная отсталость; изменения кожного покрова тканей мозга, легких, сердечной и скелетных мышц; множественные поражения костного скелета
Болезнь Моркио (MPS IV A)	Галактоза-6-сульфатаза	Кератансульфат, хондроитин-6-сульфат	Гипоплазия зубных тканей; недоразвитие и уродства скелета; помутнение роговицы глаз; нарушение функционирования аортального клапана сердца
Болезнь Моркио В (MPS IV B)	β -Галактозидаза	Кератансульфат, хондроитин-6-сульфат	
Болезнь Марото-Лами (MPS VI)	N-Галактозамин-4-сульфатаза (арилеульфатаза В)	Дерматансульфат	Грубые черты лица; помутнение роговицы глаз; нарушение функционирования аортального клапана сердца; сохраняется интеллект
Болезнь Слая (MPS VII)	β -Глюкуронидаза	Гепарансульфат; дерматансульфат; хондроитин-6-сульфат	Множественные поражения костного скелета; гепатоспленомегалия

Фибронектин - высокомолекулярный гликопротеин, ключевой белок внеклеточного матрикса, синтезируемый фибробластами. В зависимости от ионной силы и pH внеклеточного матрикса форма молекулы фибронектина может меняться от глобулярной до промежуточной. Молекулы фибронектина представляют собой димеры, состоящие из двух сходных между собой полипептидных цепей, связанных гидрофобными взаимодействиями и двумя дисульфидными связями. Субъединицы подразделяются на ряд различных доменов, способных связываться с клеточными рецепторами через интегрины, а также коллагенами, фибрином и протеогликанами. Связываясь перекрёстно друг с другом через дисульфидные мостики, молекулы фибронектина образуют фибриллярные структуры (рис. 1.23).

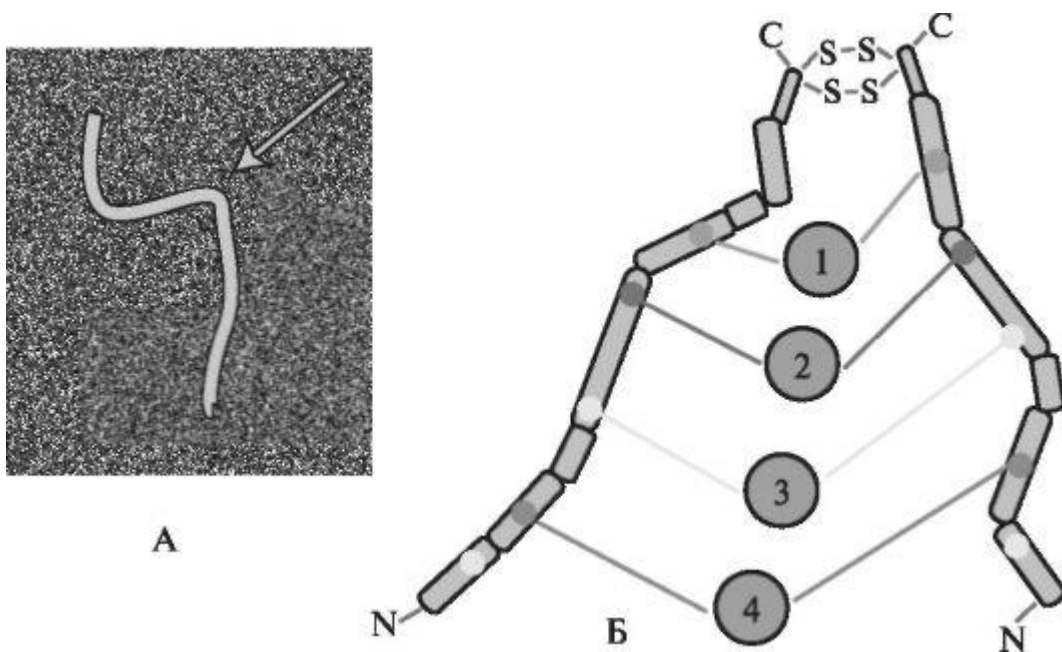


Рис. 1.23. Структура молекулы фибронектина (А). Модель молекулы фибронектина (Б). Цифрами обозначены домены, связывающие: 1 - гепарин, 2 - клетки, 3 - коллаген, 4 - другие молекулы фибронектина [по Cooper G.M., 2000, с изменениями].

На молекуле фибронектина имеется центр связывания фермента трансглутаминазы. Трансглутаминаза катализирует реакцию соединения остатков глутамина одной полипептидной цепи с остатками лизина другой белковой молекулы. Это позволяет сшивать поперечными ковалентными связями молекулы фибронектина друг с другом, коллагеном и другими протеинами. Фибронектин вовлечён во множественные клеточные процессы, включающие репарацию тканей, эмбриогенез, миграцию и адгезию клеток.

Интегрины представляют собой гетеродимерные белки с мол. массой 100-160 кДа, располагающиеся на плазматической мембране клеток и состоящие из двух нековалентно связанных трансмембранных α - и β -субъединиц. Для функционирования интегринов необходимо присутствие двухвалентных ионов (Ca^{2+} или Mg^{2+}), поскольку связывание катиона Ca^{2+} позволяет N-концевым участкам α - и β -субъединиц соединяться друг с другом и прикрепляться к внеклеточному матриксу. Они способны узнавать в матриксных белках пептид RGD (арг-гли-асп).

Семейство интегринов включает 20 видов рецепторов с разной специфичностью. Такое разнообразие обеспечивается различием в строении α - и β -цепей. Описано 9 разновидностей α -цепей и 14 β -субъединиц. Каждая цепь интегрин пересекает мембрану один раз. Обе цепи интегрин имеют большие внеклеточные домены. Эти домены обеспечивают адгезию клеток к клеткам и к компонентам внеклеточного матрикса - коллагену, фибронектину, витронектину, ламинину (рис. 1.24).

Благодаря трансмембранной ориентации интегрин переносят сигналы от внеклеточного матрикса к цитоскелету. Большинство интегринов связано с цитоплазматическими C-концевыми участками с актин-связывающими белками клеток. При связывании лиганда β -субъединицы связывающихся интегринов взаимодействуют с так называемыми белками прикрепления - талином и α -актинином, которые, в свою очередь, инициируют сборку других соединительных белков.

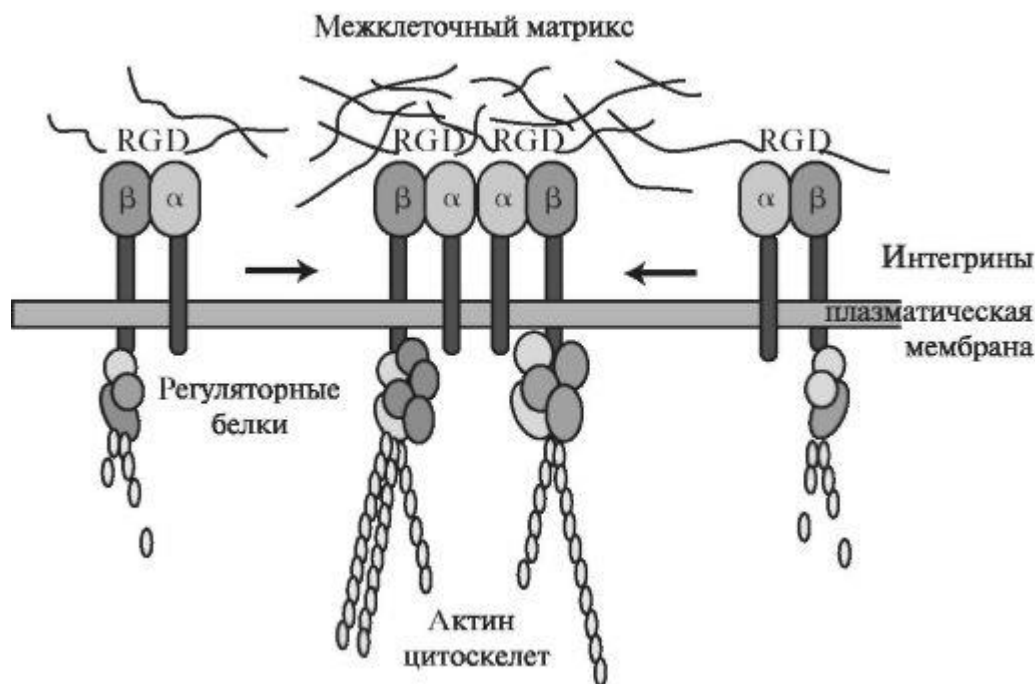


Рис. 1.24. Взаимодействие интегринов с актиновыми белками цитоскелета и межклеточным матриксом [по Campbell N. A., Reese J. B., 2002, с изменениями].

Таким образом происходит связывание интегринов с актиновыми филаментами. Актиновые филаменты через интегрины могут изменять ориентацию секретируемых молекул фибронектина во внеклеточном матриксе. В то же время внеклеточный матрикс может влиять на организацию цитоскелета в клетках-мишенях, что и обеспечивает двустороннюю передачу сигнала. Связывание интегринов с лигандами и сближение клеток необходимы для перестройки базальной мембраны.

Взаимодействие интегринов с белками внеклеточного матрикса в некоторых случаях препятствует апоптозу. Утрата некоторых интегринов (при раке молочной железы, предстательной железы, толстой кишки) или их избыток (при меланоме, плоскоклеточном раке полости рта, носоглотки, гортани) сопряжены с высокой степенью злокачественности опухоли.

Таким образом, информация, которую интегрины передают от внеклеточного матрикса внутрь клетки, в одних случаях стимулирует адгезию и миграцию опухолевых клеток, в других - приводит к их гибели. Иными словами, интегрины играют роль своеобразного «переключателя», определяющего дальнейшую судьбу опухолевой клетки.

Ламинины - представители семейства адгезивных гликопротеинов с мол. массой 850 кДа. Молекула ламинина представляет собой большой гибкий комплекс, состоящий из длинных α -, β_1 -, β_2 -полипептидных цепей, ассоциированных в форме асимметричного креста и удерживаемых вместе

при помощи дисульфидных связей. Каждая цепь содержит несколько функциональных доменов, способных связываться с коллагеном IV типа, гепарансульфатом, энтактином (нидогеном) и рецепторами на клеточной поверхности. Ламинины склеивают эпителиальные клетки с базальной мембраной (рис. 1.25).

На ранних этапах морфогенеза базальная мембрана состоит в основном из сети ламинина и не содержит (или содержит мало) коллагена IV типа.

Ламинины в базальной мембране находятся в комплексе с белком нидогеном, который соединяется С-концевым доменом с β_2 -цепью ламинина. В N-концевой области нидогена располагаются два глобулярных домена, один из которых связывается с коллагеном IV типа и коровым белком протеогликана перлекана. Таким образом, ламинин совместно с нидогеном обеспечивает структурную организацию компонентов базальной мембраны. Кроме того, глобулярные домены содержат центры связывания других лигандов вне зависимости от нидогена. Так (β_1 -цепь нидогена содержит домены, сходные со структурой белков цистатинов, обладающих способностью ингибировать цистеиновые трипсиноподобные протеиназы.

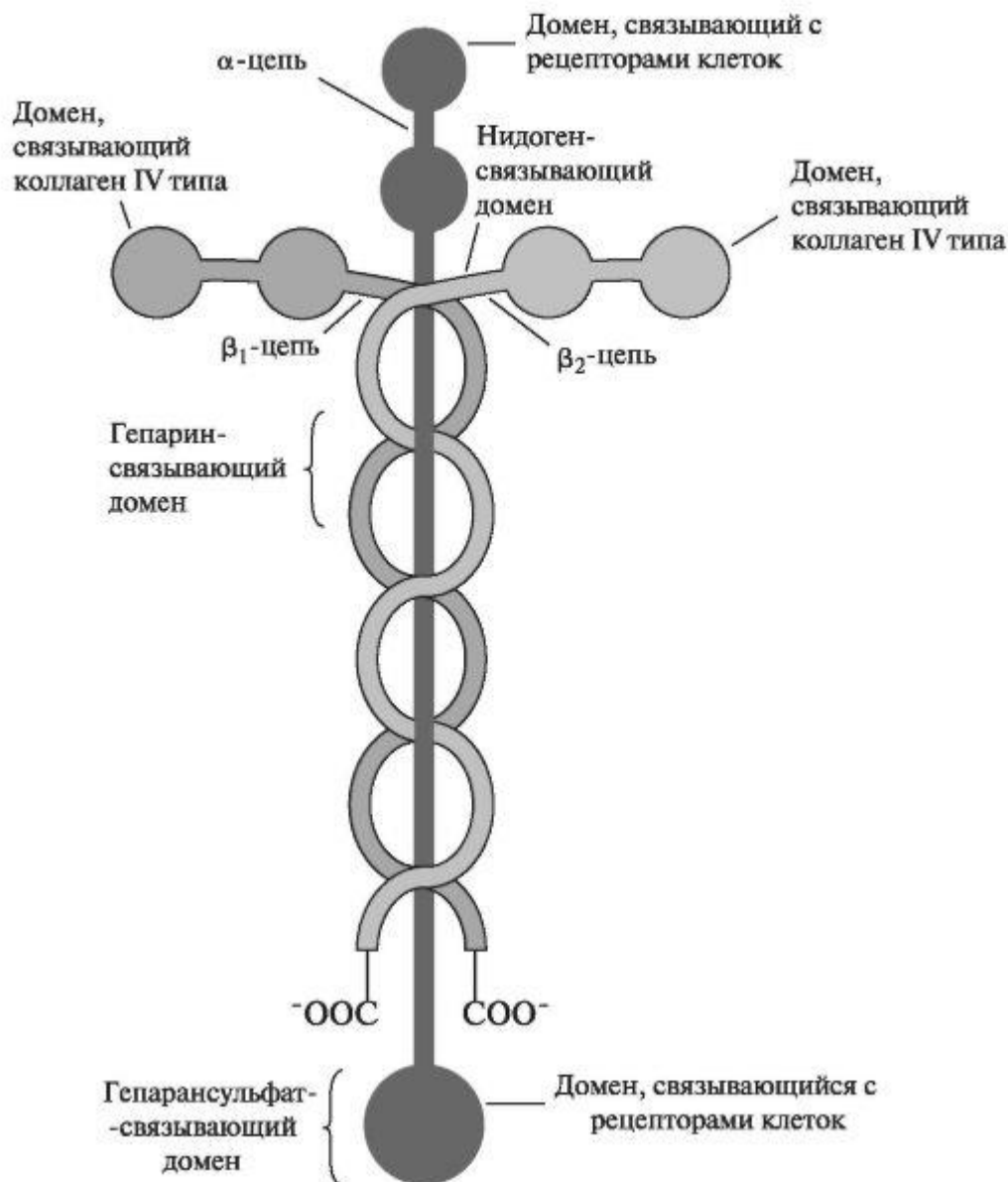


Рис. 1.25. Строение ламинина [по Cooper G.M., 2000, с изменениями].

Ламинины обеспечивают миграцию эпителиальных клеток и таким образом участвуют в одонтогенезе, связывании тканей периодонта с цементом корня зуба, построении эпителиальной оболочки на поверхности пульпарной ткани при образовании полипа пульпы.

Витронектин - гликопротеин, содержащийся в плазме крови и внеклеточном матриксе. Витронектин вступает во взаимодействие с гликозаминогликанами, коллагеном, плазминогеном, рецептором урокиназы. Стабилизируя ингибирующую конформацию ингибитора активации плазминогена 1 (протеиназы), регулирует деградацию матрикса. Через связывание витронектина с комплементом, гепарином и комплексами тромбин-антитромбин III, он участвует в иммунном ответе и регуляции

свертывания крови. В полипептидной цепи витронектина присутствует аминокислотная последовательность RGD, которая обеспечивает его взаимодействие с $\alpha_v\beta_3$ -рецептором интегрина и участие в прикреплении, распластывании и перемещении клеток.

Тенасцин и *тромбоспондин* - гликопротеины, обладающие как адгезивными, так и антиадгезивными свойствами. Тенасцин и тромбоспондин играют определённую роль в эмбрио- и морфогенезе. Эти белки обеспечивают изменение клеточной формы в условиях *in vitro*, которое, в свою очередь, приводит к сдвигам в поведении клеток в культуре. Они способствуют реорганизации актинового цитоскелета путём изменения адгезивных контактов с белковыми факторами, обеспечивающими подвижность клеток. Тенасцин и тромбоспондин формируют комплексы с протеогликанами и при связи тенасцина с хондроитинсульфатом изменяются адгезивные свойства протеогликанов.

Тенасцин - олигомерный гликопротеин с мол. массой более 100 кДа. Молекула данного белка имеет мозаичную структуру, а аминокислотная последовательность сходна с эпидермальным фактором роста. В составе тенасцина имеются кальций-связывающие домены.

Тромбоспондин - гликопротеин, который проявляет свои антиадгезивные свойства в клетках эндотелия и фибробластов, поскольку с β -трансформирующим и тромбоцитарным факторами роста ослабляют связывание матриксных молекул между собой.

Тромбоспондин проявляет и адгезивные свойства при взаимодействии с молекулами интегринов, гликопротеинов, гепарансульфата и гликолипидов. Глобулярные домены, содержащиеся в N- и C-концевых областях, способствуют связыванию кальция с гепарином, после чего тромбоспондин вступает во взаимодействие с коллагеном, фибронектином, фибриногеном, ламинином и плазминогеном.

Помимо адгезивных белков, участвующих в организации надмолекулярных комплексов межклеточного матрикса, в тканях присутствуют гликопротеины, относящиеся к факторам роста.

Факторы роста

В качестве факторов роста обычно выступают небольшие полипептиды, которые стимулируют или ингибируют пролиферацию определённых типов клеток. Как правило, они секретируются одними клетками и действуют на другие клетки, хотя иногда бывает и так, что они действуют на те же клетки, которые их секретируют. Факторы роста связываются с специфическими для них рецепторами, локализованными на поверхности клеточных мембран своих клеток-мишеней. Большинство факторов роста активируют в клетках

тирозиновые протеинкиназы и только ТФР-β активирует треониновые протеинкиназы.

Трансформирующий фактор роста (ТФР-β - семейство гликопротеинов, включающих 6 разнообразных белков. Они представляют собой димеры, состоящие из двух идентичных субъединиц. Белки ТФР-β синтезируются в виде предшественников, секретируются в неактивной форме и активируются путём ограниченного протеолиза.

На клеточной мембране бластных клеток выявлены 3 типа рецепторов к ТФР. Рецепторы третьего типа являются поверхностными протеогликанами и обеспечивают доступ ТФР-β к рецепторам первого и второго типов, которые после связывания ТФР-β образуют гетеродимер с протеинкиназной активностью. Происходит аутофосфорилирование цитоплазматического домена рецепторов по остаткам серина и треонина. Далее происходит фосфорилирование цитоплазматических белков, участвующих в передаче сигнала в ядро, где происходит активация гена транскрипции. Через такой механизм активируется синтез белков внеклеточного матрикса, например коллагена I типа и металлопротеиназ.

Кроме того, ТФР-β действует как фактор хемотаксиса для моноцитов и фибробластов. Он подавляет пролиферацию и функцию Т- и В-лимфоцитов и эндотелиальных клеток. Среди сложной сети цитокинов, которые влияют на функцию одонтобластов в процессе регенерации дентина, важную роль играют ТФР-β, который функционирует как мощный иммунодепрессант и индуктор синтеза белков внеклеточного матрикса. ТФР-β поддерживает гомеостаз в комплексе дентин-пульпа при воспалении.

Морфогенетический белок кости (МБК) - кислый гликофосфопротеин, богатый серином и глицином, содержащий три дисульфидные связи. Восстановление дисульфидных связей вызывает инактивацию МБК. В пульпе зуба секретируется в ответ на внешние раздражители одонтобластами для образования заместительного дентина. МБК очень активен в костной ткани и вызывает дифференцировку стволовых клеток в остеогенные.

Фактор роста эндотелия (ФРЭ) - гликопротеин, связывающийся только с клетками эндотелия сосудов и стимулирующий их пролиферацию.

Кроме того, ФРЭ может активировать специфический белок, включающий киназный комплекс. Образующиеся фосфорилированные белки вызывают перемещение клеток, поэтому при повреждении пульпы зуба, костной ткани, слизистой оболочки, периодонта и других тканей полости рта под влиянием ФРЭ происходит быстрое перемещение, увеличение и дифференцировка клеток с активацией щелочной фосфатазы.

ФРЭ вызывает расширение кровеносных сосудов, что является важным условием для поддержания кровотока в тканях при воспалении. Он также увеличивает синтез ИЛ-1, фактора некроза опухоли (ФНО), которые вносят существенный вклад в расширение сосудов при патологических процессах. Нарушение регуляции процессов факторов роста эндотелия сопровождается увеличением осмотического давления, болью и необратимыми изменениями в ткани.

Инсулиноподобный фактор роста (ИФР) оказывает аутокринное и паракринное действие. Предполагается его участие в быстром росте клеток, их дифференцировке и минерализации твёрдых тканей зуба.

Фактор роста фибробластов (ФРФ) - семейство структурно связанных полипептидов, представленное девятью белками. Мол. масса различных форм ФРФ колеблется от 168 до 250 кДа. До 50% аминокислотной последовательности молекулы фактора роста фибробластов соответствует структуре фактора роста эндотелия. Оба эти пептида также обнаруживают сходное сродство к гепарину и вызывают расширение сосудов. Фактор роста фибробластов участвует в росте и дифференцировке фибробластов при образовании фиброзной капсулы вокруг очага воспаления.

Фактор роста нервов (ФРН) - семейство белков, стимулирующих рост клеток нервной ткани. Практически все клетки человека синтезируют этот фактор. Фактор роста нервов участвует в быстром восстановлении повреждённого участка за счёт роста аксонов из повреждённого нервного ствола или от близлежащих неповреждённых нервных волокон. Тем самым ФРН может играть важную роль в ответе нервных клеток на повреждение. Выделение ФРН в полость рта со слюной стимулирует заживление повреждённых участков слизистой оболочки.

Фактор роста гепатоцитов (ФРГ) стимулирует пролиферацию клеток различных тканей. Возможно его участие в агрегации клеток при повреждении тканей, а также в морфогенезе тканей зуба.

Эпидермальный фактор роста (ЭФР) - белок с мол. массой 70 кДа. Различают α - и β -формы ЭФР. Оказывает действие на клетки эктодермы: кератиноциты кожи, эпителиоциты слизистой оболочки полости рта, пищевода, глотки, а также мезодермы: хондроцитов, эндотелия сосудов. Эпидермальный фактор роста стимулирует дифференцировку одонтобластов и повышает в них синтез ДНК в момент созревания зубных тканей. С возрастом ЭФР угнетает деление одонтобластов, уменьшает синтез коллагена I типа и снижает активность щелочной фосфатазы. На выработку ЭФР влияют стероидные гормоны, тироксин и прогестерон.

Фактор роста тромбоцитов (ФРТ) влияет на многие клетки. Индуцирует синтез щелочной фосфатазы и протеогликанов в одонтобластических клетках зубной пульпы и костной ткани.

1.5. КАТАБОЛИЗМ БЕЛКОВ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Ремоделирование тканей связано с дифференцировкой и миграцией клеток. Клетка, вступившая на путь дифференцировки, неизбежно погибает. Нарождающаяся новая клетка начинает синтезировать новые собственные белки, часть из которых поступает в матрикс.

В катаболизме белков клеток и межклеточного матрикса основная роль отводится матриксным металлопротеиназам (ММП, матриксины). В физиологических условиях ММП играют центральную роль в процессах морфогенеза, ремоделирования и резорбции тканей. Своё действие матриксины проявляют в межклеточном матриксе. В активном центре этих ферментов присутствуют кальций или цинк, поэтому они получили название Ca^{2+} -зависимых цинковых матриксных металлопротеиназ. Известно более 20 различных металлопротеиназ, отличающихся по субстратной специфичности и другим свойствам. На основании структурной организации и субстратной специфичности выделено четыре основных подсемейства ММП:

- *коллагеназы* - запускают гидролиз спиральной области коллагенов I, II и III типов;
- *желатиназы* - гидролизуют коллаген IV типа базальных мембран;
- *стромелизины* - расщепляют коровые белки протеогликанов и ряд адгезивных белков матрикса;
- *металлоэластаза* - расщепляет эластин.

В распаде нативного коллагена, период полужизни которого измеряется неделями или месяцами, участвуют коллагеназы, относящиеся к ММП-1 и ММП-13. Коллагеназы рассекают все три пептидные α - цепи молекулы нативного коллагена в спиральной области, примерно на 1/4 расстояния от С-конца, между остатками глицина и лейцина (или изолейцина). Образующиеся фрагменты коллагена становятся растворимыми в воде и денатурируют, после чего их пептидные связи становятся доступными для гидролиза другими пептидазами.

Гидролиз коллагенов базальных мембран происходит при участии желатиназ (ММП-2, ММП-9). В связывании желатинов и коллагенов желатиназами участвуют так называемый фибронектиновый домен, присутствующий в структуре N-концевой области фермента.

Два других фермента - стромелизин -1 (ММП-3) и стромелизин - 2 (ММП-10), расщепляют коровые белки протеогликанов и целый ряд адгезивных белков межклеточного матрикса (табл. 1.4).

Активность матриксных металлопротеиназ повышается при деструкции межклеточного матрикса, которая наблюдается при целом ряде заболеваний - пародонтите, пульпите, хронических язвах, инвазии и метастазировании опухолей и др.

Регуляция активности матриксных металлопротеиназ

Активность матриксных металлопротеиназ находится под постоянным контролем.

Во-первых, они синтезируются в виде препроферментов. Сигнальный пептид обеспечивает направленную секрецию молекулы и после его отщепления образуется профермент. Профермент содержит последовательность аминокислот, в которой остаток цистеина связывает молекулу Zn^{2+} , находящуюся в активном центре. В последующем после отщепления полипептида сформировавшаяся активная форма ММП содержит два основных домена. N-концевой домен содержит цинк-связывающий участок, в котором Zn^{2+} связывается тремя остатками гистидина и обладает каталитической активностью. В катализе, помимо цинка, принимает участие остаток глутаминовой кислоты. С-концевой домен отвечает за связывание с субстратами и ингибиторами ММП. Между N- и С-концевыми доменами располагается небольшой связывающий домен, который обеспечивает субстратную специфичность (рис. 1.26, А).

Таблица 1.4

Семейство матриксных металлопротеиназ

Тип ММП	Фермент	Мол. масса, кДа	Расщепляемые компоненты
ММП-1	Инстициальная коллагеназа	52	Коллаген I, II, III, VII, VIII, X типов, желатин, протеогликаны
ММП-2	Желатиназа А	72	Желатин, коллаген IV, V, VII, X, XI типов, фибронектин, эластин, протеогликаны
ММП-9	Желатиназа В	92	Желатин, коллаген IV, V типов, эластин, протеогликаны
ММП-3	Стромелизин-1	57	Эластин, протеогликаны, ламинин, фибронектин, коллаген IV, VII, IX типов, про ММП-1

ММП-7	Матрилизин	28	Протеогликаны, ламинин, желатин, фибронектин, коллаген IV типа, проММП-1, -7, -8, -9
ММП-12	Металлоэластаза	55	Эластин
ММП-13	Инстициальная коллагеназа-3	52	Коллаген I, II, III типов, желатин
ММП-14	Мембранный тип ММП	66	Коллаген I, II, III типов, проММП-2, -13 (мембранного типа)

В отщеплении сигнального пептида участвуют различные протеиназы. Так, в реакции активации проММП-1 и проММП-3 участвует трипсиноподобная протеиназа плазмин, проММП-2 мембранная металлопротеиназа, проММП-9 желатиназа А. Таким образом, активация ферментов происходит в виде каскада и в этот процесс вовлечены одновременно множество проферментов и вновь образующихся активных энзимов (рис. 1.26, Б).

A



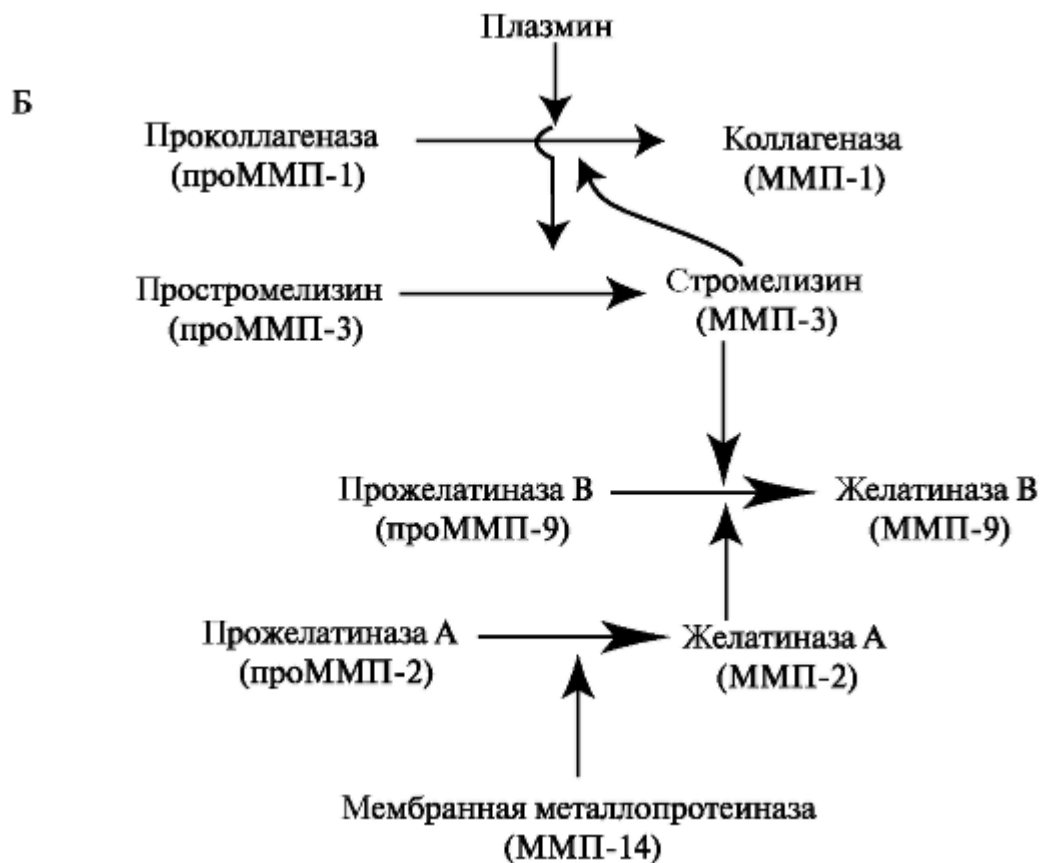


Рис. 1.26. Строение проММП-1: *А* - активация фермента происходит при отщеплении сигнального пропептида; *Б* - в ограниченном протеолизе проММП участвуют различные протеиназы.

Во-вторых, активность ферментов зависит от уровня экспрессии их генов. Большинство ММП относится к «индуцируемым» ферментам, синтез которых на уровне транскрипции контролируется рядом факторов: цитокинами и другими факторами, действующими на поверхность клетки (эстроген, прогестерон и др.). Промоторы ММП содержат общие элементы, отвечающие за механизм регуляции экспрессии генов.

В-третьих, в физиологических условиях в тканях содержится незначительное количество ММП и их активность зависит от присутствия активаторов и ингибиторов в окружающей среде. Активность ММП находится под контролем специфических белков - тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП). В настоящее время хорошо изучены четыре вида ТИМП, выделенных из различных тканей человека: ТИМП-1, ТИМП-2, ТИМП-3, ТИМП-4. ТИМП способны связываться как с активными, так и неактивными формами ММП. Эти белки различаются по их специфическому действию на металлопротеиназы. Так, ТИМП-1 значительно лучше ингибирует ММП-9, в то время как ТИМП-2 подавляет активность ММП-2. ТИМП инактивируются путём гидролиза с участием различных протеиназ - трипсина, химотрипсина, стромелизина-3 и эластазы нейтрофилов.

ГЛАВА 2. ХРЯЩЕВАЯ ТКАНЬ

Хрящевая ткань является особым видом соединительной ткани и в сформированном организме выполняет опорную функцию. В челюстно-лицевой области хрящ входит в состав ушной раковины, слуховой трубы, носа, суставного диска височно-нижнечелюстного сустава, а также обеспечивает связь между мелкими костями черепа.

В зависимости от состава, метаболической активности и способности к регенерации различают три типа хрящевой ткани - гиалиновый, эластический и волокнистый.

Гиалиновый хрящ формируется первым на эмбриональной стадии развития, и в определённых условиях из него образуются остальные два вида хряща. Эта хрящевая ткань определяется в составе реберных хрящей, хрящевого остова носа и образует хрящи, покрывающие поверхности суставов. Он обладает более высокой метаболической активностью по сравнению с эластическим и волокнистым типами и содержит большое количество углеводов и липидов. Это позволяет осуществлять активный синтез белков и дифференцировку хондрогенных клеток для обновления и регенерации гиалинового хряща. С возрастом в гиалиновом хряще происходит гипертрофия и апоптоз клеток с последующим обызвествлением внеклеточного матрикса.

Эластический хрящ имеет сходное строение с гиалиновым хрящом. Из такой хрящевой ткани сформированы, например, ушные раковины, слуховая труба и некоторые хрящи гортани. Для этого типа хряща характерно присутствие в хрящевом матриксе сети эластических волокон, содержится малое количество липидов, углеводов и хондроитинсульфатов. Ввиду низкой метаболической активности эластический хрящ не обызвествляется и практически не регенерируется.

Волокнистый хрящ по своей структуре занимает промежуточное положение между сухожилием и гиалиновым хрящом. Характерной особенностью волокнистого хряща является наличие в межклеточном матриксе большого количества коллагеновых волокон, преимущественно I типа, которые располагаются параллельно друг другу, а клетки в виде цепочки между ними. Волокнистый хрящ благодаря своему особому строению может испытывать значительные механические нагрузки как при сжатии, так и растяжении.

Хрящевой компонент височно-нижнечелюстного сустава представлен в виде диска волокнистого хряща, который располагается на поверхности суставного отростка нижней челюсти и отделяет его от суставной ямки височной кости. Так как волокнистый хрящ не имеет надхрящницы, то питание клеток хряща осуществляется через синовиальную жидкость. Состав

синовиальной жидкости зависит от трансудации метаболитов из кровеносных сосудов синовиальной оболочки в суставную полость. Синовиальная жидкость содержит низкомолекулярные компоненты - ионы Na^+ , K^+ , мочевую кислоту, мочевины, глюкозу, которые близки в количественном соотношении к плазме крови. Однако содержание белков в синовиальной жидкости в 4 раза выше, чем в плазме крови. Помимо гликопротеинов, иммуноглобулинов синовиальная жидкость богата гликозаминогликанами, среди которых первое место занимает гиалуроновая кислота, присутствующая в виде натриевой соли.

2.1. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ

Хрящевая ткань, подобно любой другой ткани, содержит клетки (хондробласты, хондроциты), которые погружены в большой межклеточный матрикс. В процессе морфогенеза хондрогенные клетки дифференцируются в хондробласты. Хондробласты начинают синтезировать и секретировать в хрящевой матрикс протеогликаны, которые стимулируют дифференцировку хондроцитов.

Межклеточный матрикс хрящевой ткани обеспечивает её сложную микроархитектонику и состоит из коллагенов, протеогликанов, а также неколлагеновых белков - в основном гликопротеинов. Коллагеновые волокна переплетены в трёхмерную сеть, которая связывает остальные компоненты матрикса.

В цитоплазме хондробластов содержится большое количество гликогена и липидов. Распад этих макромолекул в реакциях окислительного фосфорилирования сопровождается образованием молекул АТФ, необходимых для синтеза белков. Синтезируемые в гранулярной эндоплазматической сети и комплексе Гольджи протеогликаны и гликопротеины упаковываются в везикулы и выделяются в межклеточный матрикс.

Упругость хрящевого матрикса определяется количеством воды. Для протеогликанов характерна высокая степень связывания воды, чем и обусловлены их размеры. Хрящевой матрикс содержит до 75%

воды, которая связана с протеогликанами. Высокая степень гидратации обуславливает большие размеры межклеточного матрикса и позволяет осуществлять питание клеток. Высушенный агрекан после связывания воды может увеличиться в объёме в 50 раз, однако ввиду обусловленных коллагеновой сетью ограничений набухание хряща не превышает 20 % от максимально возможного значения.

При сжатии хряща вода вместе с ионами вытесняется из областей вокруг сульфатированных и карбоксильных групп протеогликана, группы

сближаются, и силы отталкивания между их отрицательными зарядами препятствуют дальнейшему сжатию ткани. После снятия нагрузки происходит электростатическое притяжение катионов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) с последующим притоком воды в межклеточный матрикс (рис. 2.1).

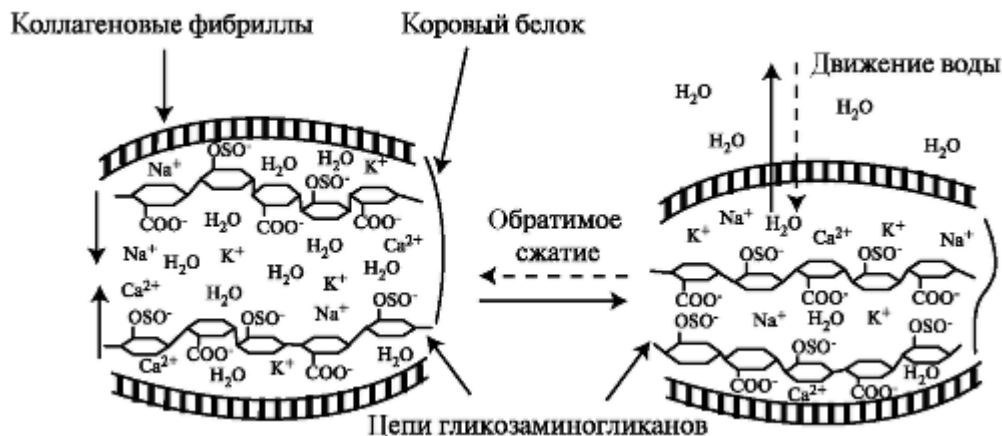


Рис. 2.1. Связывание воды протеогликанами в матриксе хряща. Вытеснение воды при его сжатии и восстановление структуры после снятия нагрузки.

Коллагеновые белки хрящевой ткани

Прочность хрящевой ткани определяют коллагеновые белки, которые представлены коллагенами II, VI, IX, XII, XIV типов и погружены в макромолекулярные агрегаты протеогликанов. На долю коллагенов II типа приходится около 80-90% всех коллагеновых белков хряща. Остальные 15-20% коллагеновых белков - так называемые минорные коллагены IX, XII, XIV типов, которые сшивают фибриллы коллагена II типа и ковалентно связывают гликозаминогликаны. Особенностью матрикса гиалинового и эластического хрящей является присутствие коллагена VI типа.

Коллаген IX типа, обнаруженный в гиалиновом хряще, не только обеспечивает взаимодействие коллагена II типа с протеогликанами, но и регулирует диаметр фибрилл коллагена II типа. С коллагеном IX типа по своей структуре сходен коллаген X типа. Этот тип коллагена синтезируется только гипертрофированными хондроцитами ростовой пластинки и накапливается вокруг клеток. Данное уникальное свойство коллагена X типа предполагает участие этого коллагена в процессах костеобразования.

Неколлагеновые белки хрящевой ткани

Протеогликаны. В целом содержание протеогликанов в хрящевом матриксе достигает 3%-10%. Основным протеогликаном хрящевой ткани является агрекан, который собирается в агрегаты с гиалуроновой кислотой. По форме молекула агрекана напоминает бутылочный ёршик и представлена одной полипептидной цепью (коровый белок) с присоединёнными к ней до 100 цепей хондроитинсульфата и около 30 цепей кератансульфата (рис. 2.2).

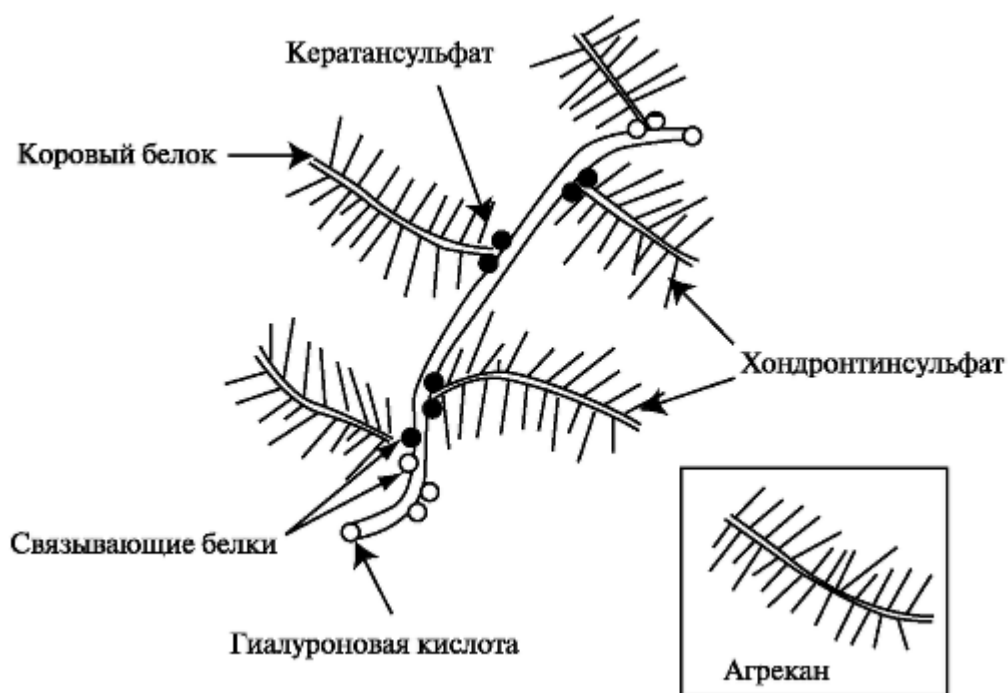


Рис. 2.2. Протеогликановый агрегат хрящевого матрикса. Протеогликановый агрегат состоит из одной молекулы гиалуроновой кислоты и около 100 молекул агрекана.

Таблица 2.1

Неколлагеновые белки хрящевой ткани

Название	Свойства и функции
Хондрокальцин	Кальций-связывающий белок, являющийся С-пропептидом коллагена II типа. Белок содержит 3 остатка 7-карбоксиглутаминовой кислоты. Синтезируется гипертрофическими хондробластами и обеспечивает минерализацию хрящевого матрикса
Gla-белок	В отличие от костной ткани в хряще присутствует высокомолекулярный Gla-белок, который содержит 84 аминокислотных остатка (в кости - 79 аминокислотных остатков) и 5 остатков 7-карбоксиглутаминовой кислоты. Является ингибитором минерализации хрящевой ткани. При нарушении его синтеза под влиянием варфарина образуются очаги минерализации с последующим обызвествлением хрящевого матрикса
Хондроадерин	Гликопротеин с мол. массой 36 кДа, богатый лейцином. Короткие олигосахаридные цепи, состоящие из сиаловых кислот и гексозаминов, присоединяются к остаткам серина. Хондроадерин связывает коллагены II типа и протеогликаны

	с хондроцитами и контролирует структурную организацию внеклеточного матрикса хрящевой ткани
Белок хряща (CILP)	Гликопротеин с мол. массой 92 кДа, содержащий олигосахаридную цепь, связанную с белком N-гликозидной связью. Белок синтезируется хондроцитами, участвует в расщеплении протеогликановых агрегатов и необходим для поддержания постоянства структуры хрящевой ткани
Матрилин-1	Адгезивный гликопротеин с мол. массой 148 кДа, состоящий из трёх полипептидных цепей, связанных дисульфидными связями. Существуют несколько изоформ этого белка - матрилин -1,-2,-3,-4. В здоровой зрелой хрящевой ткани матрилин не обнаруживается. Он синтезируется в процессе морфогенеза хрящевой ткани и гипертрофическими хондроцитами. Его активность проявляется при ревматическом артрите. При развитии патологического процесса связывает фибриллярные волокна коллагена II типа с протеогликановыми агрегатами и таким образом способствует восстановлению структуры хрящевой ткани

В структуре корового белка агрекана выделяют N-концевой домен, который обеспечивает связывание агрекана с гиалуроновой кислотой и низкомолекулярными связывающими белками, и C-концевой домен, связывающий агрекан с другими молекулами межклеточного матрикса. Синтез компонентов протеогликановых агрегатов осуществляется хондроцитами, и окончательный процесс их формирования завершается в межклеточном матриксе.

Наряду с большими протеогликанами в хрящевом матриксе присутствуют малые протеоглики: декорин, бигликан и фибромодулин. Они составляют всего 1-2% от общей массы сухого вещества хряща, однако их роль очень велика. Декорин, связываясь в определённых участках с волокнами коллагена II типа, участвует в процессах фибрилlogenеза, а бигликан участвует в формировании белковой матрицы хряща в процессе эмбриогенеза. С ростом эмбриона количество бигликана в хрящевой ткани уменьшается и после рождения этот протеогликан исчезает совсем. Регулирует диаметр коллагена II типа фибромодулин.

Помимо коллагенов и протеогликанов, во внеклеточном матриксе хряща содержатся неорганические соединения и небольшое количество неколлагеновых белков, характерных не только для хряща, но и для других тканей. Они необходимы для связывания протеогликанов с коллагеновыми волокнами, клеток, а также отдельных компонентов хрящевого матрикса в единую сеть. Это адгезивные белки - фибронектин, ламинин и интегрин.

Большинство специфических неколлагеновых белков в хрящевом матриксе присутствует только в период морфогенеза, обызвествления хрящевого матрикса или появляются при патологических состояниях (табл. 2.1). Чаще всего это кальцийсвязывающие белки, содержащие остатки 7-карбоксихлутаминовой кислоты, а также гликопротеины, богатые лейцином.

2.2. ФОРМИРОВАНИЕ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ

На ранней стадии эмбрионального развития хрящевая ткань состоит из недифференцированных клеток, содержащихся в виде аморфной массы. В процессе морфогенеза клетки начинают дифференцироваться, аморфная масса увеличивается и приобретает форму будущего хряща (рис. 2.3).

Во внеклеточном матриксе развивающейся хрящевой ткани количественно и качественно меняется состав протеогликанов, гиалуроновой кислоты, фибронектина и коллагеновых белков. Переход от прехондрогенных мезенхимальных клеток к хондробластам характеризуется сульфатированием гликозаминогликанов, увеличением количества гиалуроновой кислоты и предшествует началу синтеза специфического для хряща большого протеогликана (агрекан). На начальных этапах морфогенеза синтезируются высокомолекулярные связующие белки, которые позднее подвергаются ограниченному протеолизу с образованием низкомолекулярных белков.

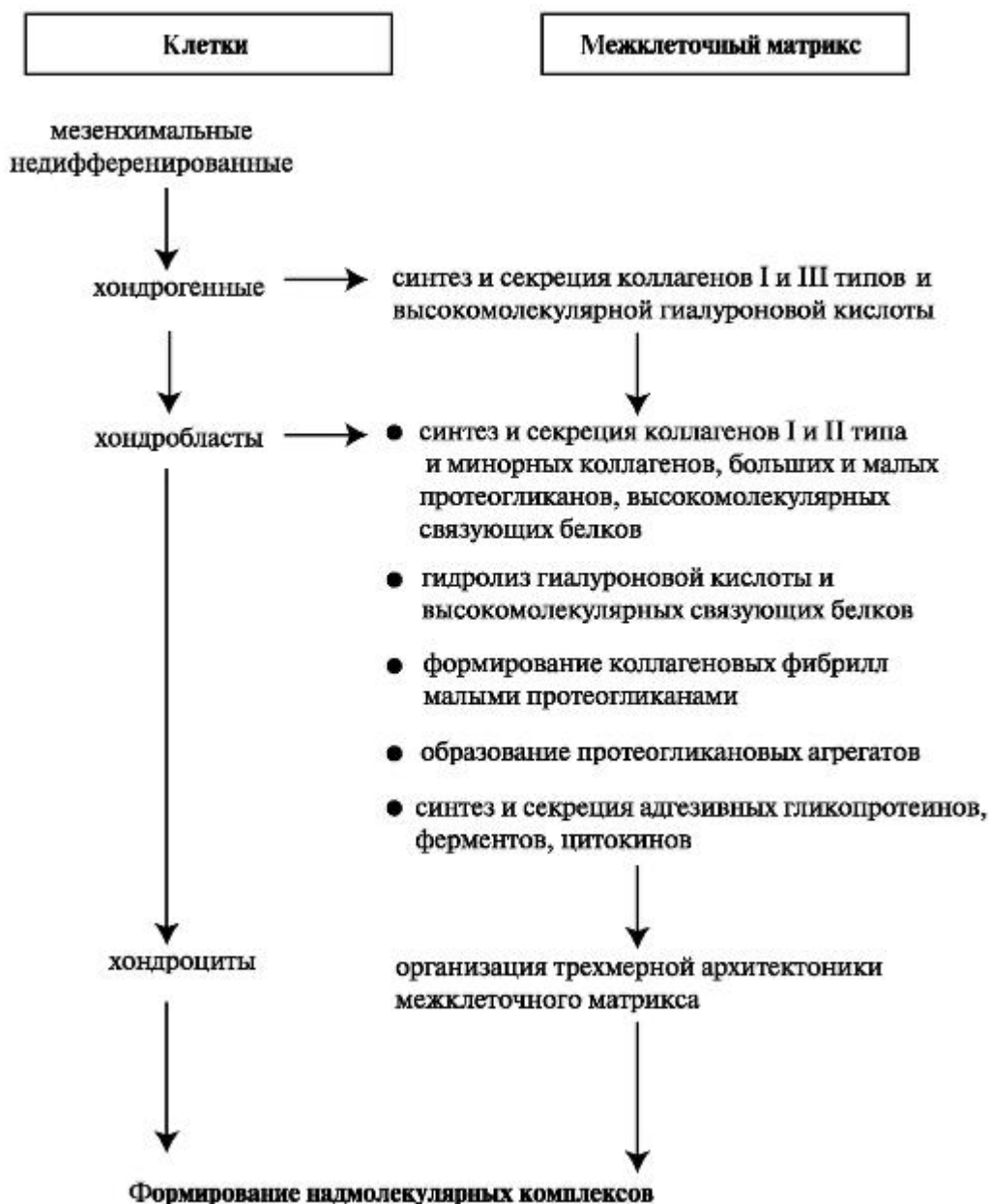


Рис. 2.3. Этапы формирования хрящевой ткани.

Молекулы агрекана при помощи низкомолекулярных связующих белков связываются с гиалуроновой кислотой и формируются протеогликановые агрегаты. В последующем количество гиалуроновой кислоты снижается, что связано как со снижением синтеза гиалуроновой кислоты, так и с повышением активности гиалуронидазы. Несмотря на снижение количества гиалуроновой кислоты, длина отдельных её молекул, необходимых для формирования протеогликановых агрегатов при хондрогенезе, возрастает. Синтез коллагена II типа хондробластами происходит позднее синтеза протеогликанов. Вначале прехондрогенные клетки синтезируют коллагены I и III типа, поэтому в цитоплазме зрелых хондроцитов обнаруживают коллаген I типа. Далее в процессе хондрогенеза происходит смена компонентов внеклеточного матрикса, контролирующего морфогенез и дифференцировку хондрогенных клеток.

Хрящ как предшественник кости

Все закладки костного скелета проходят три стадии: мезенхимную, хрящевую и костную.

Механизм обызвествления хряща является очень сложным процессом и до конца ещё не изучен. Физиологическому обызвествлению подвержены точки окостенения, продольные перегородки в нижней гипертрофической зоне зачатков хряща, а также прилегающий к кости слой суставного хряща. Вероятной причиной такого развития событий является присутствие на поверхности гипертрофических хондроцитов щелочной фосфатазы. В подверженном обызвествлению матриксе образуются так называемые матриксные пузырьки, содержащие фосфатазу. Считают, что эти пузырьки являются, по всей видимости, первичной областью минерализации хряща. Вокруг хондроцитов растёт локальная концентрация фосфатных ионов, что способствует минерализации ткани. Гипертрофические хондроциты синтезируют и выделяют в матрикс хряща белок - хондрокальцин, обладающий способностью связывать кальций. Для подверженных минерализации областей характерны высокие концентрации фосфолипидов. Их присутствие стимулирует образование кристаллов гидроксиапатита в этих местах. В зоне обызвествления хряща происходит частичная деградация протеогликанов. Те из них, которых деградация не коснулась, тормозят обызвествление.

Нарушение индуктивных взаимоотношений, а также изменение (задержка или ускорение) сроков появления и синостезирование центров окостенения в составе отдельных закладок костей, обуславливают формирование структурных дефектов черепа у зародыша человека.

Регенерация хряща

Пересадка хряща в пределах одного и того же вида (так называемые аллогенные трансплантации) обычно не сопровождается возникновением у реципиента симптомов реакции отторжения. Такого эффекта не удастся достичь в отношении других тканей, так как трансплантаты этих тканей подвергаются атакам и разрушению клетками иммунной системы. Затруднённый контакт хондроцитов донора с клетками иммунной системы реципиента, в первую очередь, обусловлен наличием в хряще большого количества межклеточного вещества.

Наибольшей регенеративной способностью обладает гиалиновый хрящ, что связано с высокой метаболической активностью хондроцитов, а также присутствием надхрящницы - плотной волокнистой неоформленной соединительной ткани, окружающей хрящ и содержащей большое количество кровеносных сосудов. В наружном слое надхрящницы

присутствует коллаген I типа, а внутренний слой сформирован хондрогенными клетками.

Благодаря таким особенностям пересадка хрящевой ткани практикуется в пластической хирургии, например, для реконструкции изуродованного контура носа. При этом аллогенная пересадка одних хондроцитов, без окружающей их ткани, сопровождается отторжением трансплантата.

Регуляция метаболизма хрящевой ткани

Формирование и рост хрящевой ткани регулируется гормонами, факторами роста и цитокинами. Хондробласты являются клетками-мишенями для тироксина, тестостерона и соматотропина, которые стимулируют рост хрящевой ткани. Глюкокортикоиды (кортизол) тормозят пролиферацию и дифференцировку клеток. Определённую роль в регуляции функционального состояния хрящевой ткани выполняют половые гормоны, которые ингибируют высвобождение протеолитических ферментов, разрушающих матрикс хряща. К тому же сам хрящ синтезирует ингибиторы протеиназ, подавляющих активность протеиназ.

Целый ряд факторов роста - ТФР- β , фактор роста фибробластов, инсулиноподобный фактор роста-1 стимулируют рост и развитие хрящевой ткани. Связываясь с рецепторами мембран хондроцитов, они активируют синтез коллагенов и протеогликанов и тем самым способствуют поддержанию постоянства хрящевого матрикса.

Нарушение гормональной регуляции сопровождается избыточным или недостаточным синтезом факторов роста, что приводит к разнообразным дефектам в формировании клеток и межклеточного матрикса. Так, ревматоидный артрит, остеоартрит и другие заболевания связаны с повышенным образованием скелетогенных клеток, и хрящевая ткань начинает замещаться на костную. Под влиянием тромбоцитарного фактора роста сами хондроциты начинают синтезировать ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , накопление которых угнетает синтез протеогликанов и коллагенов II и IX типов. Это способствует гипертрофии хондроцитов и в конечном итоге обызвествлению межклеточного матрикса хрящевой ткани. Деструктивные изменения также связаны с активацией матриксных металлопротеиназ, участвующих в деградации хрящевого матрикса.

Возрастные изменения в хрящевой ткани

При старении в хряще происходят дегенеративные изменения, меняется качественный и количественный состав гликозаминогликанов. Так, цепи хондроитинсульфата в молекуле протеогликана, синтезируемые молодыми хондроцитами, почти в 2 раза длиннее, чем цепи, вырабатываемые более зрелыми клетками. Чем длиннее молекулы хондроитинсульфата в составе

протеогликана, тем больше воды структурирует протеогликан. В связи с этим протеогликан старых хондроцитов связывает меньше воды, поэтому хрящевой матрикс пожилых людей становится менее упругим. Изменение микроархитектоники межклеточного матрикса в отдельных случаях является причиной развития остеоартрита. Также в составе протеогликанов, синтезируемых молодыми хондроцитами, содержится большое количество хондроитин-6-сульфата, а у пожилых людей, напротив, в хрящевом матриксе преобладают хондроитин-4-сульфаты. Состояние хрящевого матрикса определяется и длиной цепей гликозаминогликанов. У молодых людей хондроциты синтезируют короткоцепочечный кератансульфат, а с возрастом эти цепи удлиняются. Также наблюдается уменьшение размеров протеогликановых агрегатов за счёт укорочения не только цепей гликозаминогликанов, но и длины корового белка в одной молекуле протеогликана. При старении в хряще увеличивается содержание гиалуроновой кислоты от 0,05 до 6%.

Характерным проявлением дегенеративных изменений хрящевой ткани является её нефизиологическое обызвествление. Обычно оно встречается у пожилых людей и характеризуется первичной дегенерацией суставного хряща с последующим поражением сочленяющихся компонентов сустава. Изменяется структура коллагеновых белков и разрушается система связей между коллагеновыми волокнами. Эти изменения связаны как с хондроцитами, так и с компонентами матрикса. Возникающая гипертрофия хондроцитов приводит к росту массы хряща в области хрящевых полостей. Постепенно исчезает коллаген II типа, который замещается коллагеном X типа, принимающим участие в процессах костеобразования. Заболевания, связанные с пороками развития хрящевой ткани

В стоматологической практике наиболее часто манипуляции проводят на верхней и нижней челюстях. Существует ряд особенностей их эмбрионального развития, которые связаны с различными путями эволюции этих структур. У зародыша человека на ранних этапах эмбриогенеза в составе верхней и нижней челюстей обнаруживается хрящ.

На 6-7-й неделе внутриутробного развития в мезенхиме нижнечелюстных отростков начинается образование костной ткани. Верхняя челюсть развивается вместе с костями лицевого скелета и подвергается окостенению намного раньше, чем нижнечелюстная кость. К 3-месячному возрасту эмбриона на передней поверхности кости уже отсутствуют места слияния верхней челюсти с костями черепа.

На 10-й неделе эмбриогенеза в составе будущих ветвей нижней челюсти образуются вторичные хрящи. Один из них соответствует мышцелковому отростку, который в середине плодного развития замещается костной тканью

по принципу эндохондрального окостенения. Также вторичный хрящ образуется вдоль переднего края венечного отростка, который исчезает перед самым рождением. В месте сращения двух половинок нижней челюсти имеются один или два островка хрящевой ткани, которые окостеневают на последних месяцах внутриутробного развития. На 12-й неделе эмбриогенеза появляется мышцелковый хрящ. На 16-й неделе мышцелок ветви нижней челюсти вступает в контакт с закладкой височной кости. Необходимо отметить, что гипоксия плода, отсутствие или слабое движение зародыша способствует нарушению образования суставных щелей или полному слиянию эпифизов противоположащих закладок костей. Это приводит к деформации отростков нижней челюсти и их сращению с височной костью (анкилоз).

ГЛАВА 3. МИНЕРАЛИЗОВАННЫЕ ТКАНИ

Минерализованные ткани, к которым относятся костная ткань, дентин, клеточный и бесклеточный цемент и эмаль зуба, характеризуются высоким содержанием минерального компонента, главной составной частью которого являются фосфорнокислые соли кальция.

3.1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ТКАНЕЙ

Образование и распад минерального компонента в этих тканях тесно связан с обменом кальция и фосфора в организме. В межклеточном матриксе минерализованных тканей происходит депонирование кальция, который выполняет также структурную функцию. В клетках кальций исполняет роль вторичного посредника в механизмах внутриклеточного переноса сигналов.

Особенностью всех минерализованных тканей, за исключением эмали и бесклеточного цемента, является малое количество клеток с длинными отростками, а большой межклеточный матрикс заполнен минералами. В белках матрикса формируются центры кристаллизации для формирования кристаллов минерального компонента - апатитов. Эмаль и бесклеточный цемент зубов образуются из эктодермы, а остальные минерализованные ткани из стволовых клеток мезодермы. Насыщенность минеральными соединениями зависит от вида твёрдой ткани, топографической локализацией внутри ткани, возраста и экологических условий.

Все минерализованные ткани различаются по содержанию воды, минеральных и органических соединений (табл. 3.1).

В эмали по сравнению с другими твёрдыми тканями определяется наиболее высокая концентрация кальция и фосфатов, и количество этих минералов снижается в направлении от поверхности к эмалево-дентинной границе. В дентине, наряду с ионами кальция и фосфатов, определяется достаточно высокая концентрация магния и натрия. Наименьшее количество кальция и фосфатов присутствует в костной ткани и цементе (табл. 3.2).

В состав твёрдых тканей зубов и костей входят соли HPO_4^{2-} , или PO_4^{3-} . Ортофосфаты кальция могут быть в форме однозамещенных (H_2PO_4^-), двузамещенных (HPO_4^{2-}) или фосфат ионов (PO_4^{3-}). Пирофосфаты встречаются только в зубных камнях и костной ткани. В растворах ион пирофосфата оказывает существенный эффект на кристаллизацию некоторых ортофосфатов кальция, что выражается в регуляции величины кристаллов.

Таблица 3.1

Процентное распределение воды, неорганических и органических веществ 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

Таблица 3.2

Химический состав минерализованных тканей

Ткань	Химические элементы, в % от сухой массы					
	Ca^{2+}	PO_4^{3-}	Mg^{2+}	K^+	Na^+	Cl^-
Эмаль	32-39	16-18	0,25-0,56	0,05-0,3	0,25-0,9	0,2-0,3
Дентин	26-28	12-13	0,8-1,0	0,02-0,04	0,6-0,8	0,3-0,5
Цемент	21-24	10-12	0,4-0,7	0,15-0,2	0,6-0,8	0,03-0,08
Кость	22-24	11	0,3	0,2	0,8	0,01

Характеристика кристаллов

Большинство фосфорно-кальциевых солей кристаллизуются с образованием кристаллов разной величины и формы в зависимости от входящих элементов (табл. 3.3). Кристаллы присутствуют не только в минерализованных тканях, но и способны образовываться в других тканях в виде патологических образований.

Расположение атомов и молекул в кристалле можно исследовать при помощи рентгеноструктурного анализа кристаллических решёток. Как правило,

частицы располагаются в кристалле симметрично; их называют элементарными ячейками кристалла. Сетка, образуемая ячейками, называется матрицей кристалла. Имеется 7 разных категорий ячеек кристаллов и соответственно 7 типов кристаллов: триклинные, моноклинные, орторомбические, тригональные, тетрагональные, гексагональные и кубические.

Таблица 3.3

Кристаллические образования, присутствующие в различных тканях

Фосфаты кальция	Название	Локализация в тканях
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \cdot (\text{OH})_2$	гидроксиапатит	эмаль, дентин, кость, дентикли, камни в почках, кальцификация мягких тканей, зубной камень
$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5$	октокальцийфосфат	зубные и почечные камни
$\text{CaHPO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$	брушит	зубные камни, кальцификация хрящей, кристаллы мочи
$\text{Ca}_9\text{Mg}(\text{PO}_4)_6 \cdot (\text{OH})_2$	магниевый апатит	зубные, почечные, слюнные камни, кариес дентина, артриты, кальцификация мягких тканей
$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$	кальцийпирофосфат дигидрат	отложения солей при подагре
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_4(\text{CO}_3)_3(\text{OH})_2$	карбонатный апатит	кость, дентин, зубной камень
$(\text{CaMg})_3(\text{PO}_4)_2$	витлокит	зубной камень

В минерализованных тканях животного мира преобладают апатиты. Они имеют общую формулу $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \text{X}_2$, где \times представлен анионами фтора или гидроксильной группой (OH^-).

Гидроксиапатит (гидроксилапатит) - основной кристалл минерализованных тканей; составляет 95-97% в эмали зуба, 70-75% в дентине и 60-70% в костной ткани. Формула гидроксиапатита - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. В этом случае молярное соотношение Ca/P (кальциево-фосфатный коэффициент) равно 1,67. Решётка гидроксиапатита имеет гексагональную структуру (рис. 3.1, А). Гидроксильные группы расположены вдоль гексагональной оси, тогда как фосфатные группы, имеющие наибольшие размеры по сравнению с ионами кальция и гидроксилами, распределяются как равнобедренные треугольники вокруг гексагональной оси. Между кристаллами имеются микропространства, заполненные водой (рис. 3.1, Б). Гидроксиапатиты являются довольно устойчивыми соединениями и имеют очень стабильную

ионную решётку, в которой ионы плотно упакованы и удерживаются за счёт электростатических сил.

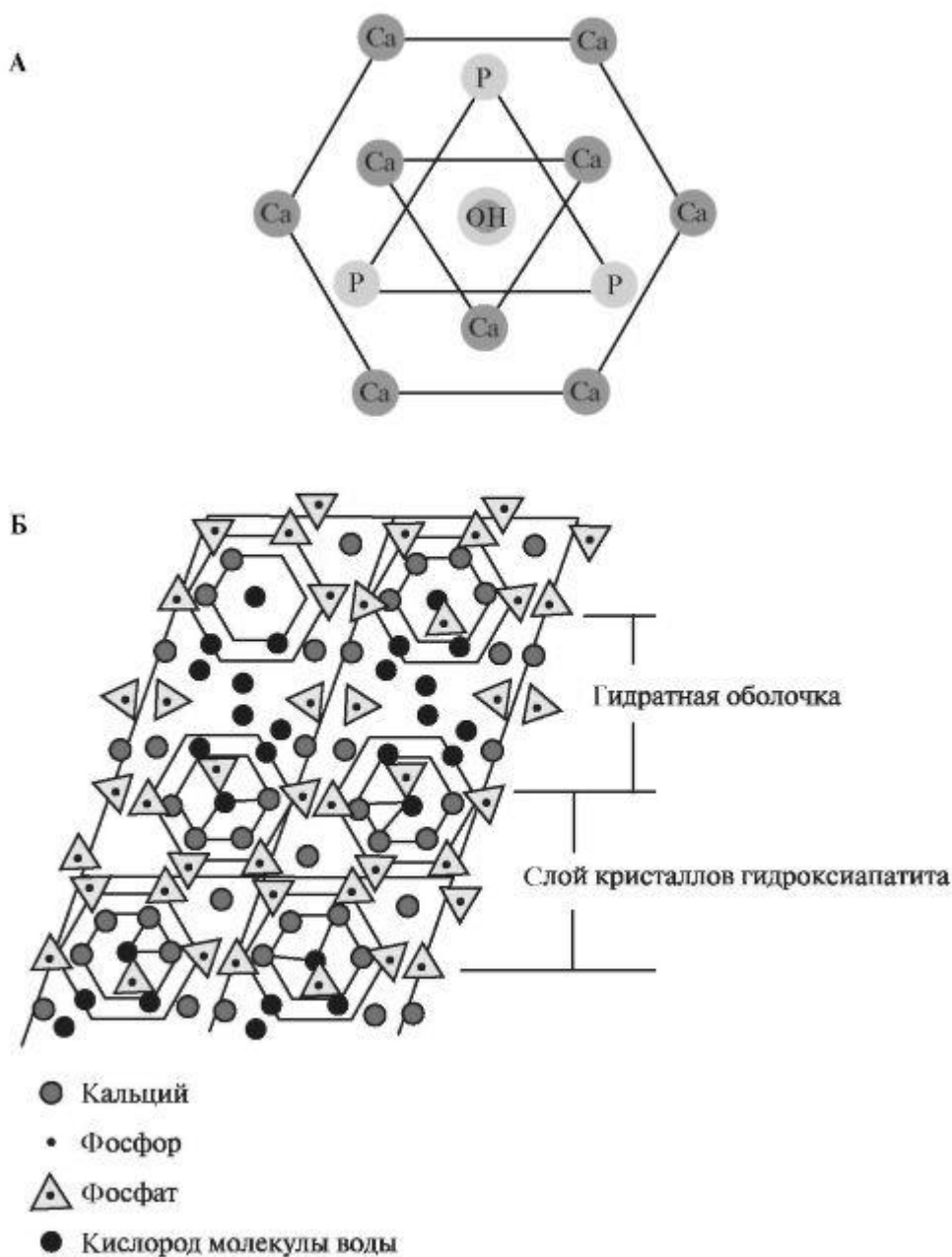


Рис. 3.1. Гидроксиапатит: *А* - гексагональная форма молекулы гидроксиапатита; *Б* - расположение кристаллов гидроксиапатита в эмали зуба.

Сила связи прямо пропорциональна величине заряда ионов и обратно пропорциональна квадрату расстояния между ними. Гидроксиапатит электронейтрален. Если в структуре гидроксиапатита содержится 8 ионов кальция, то кристалл приобретает отрицательный заряд. Он может заряжаться и положительно, если количество ионов кальция достигает 12. Такие кристаллы обладают реакционной способностью, возникает

поверхностная электро- химическая неуравновешенность и они становятся неустойчивыми.

- Гидроксиапатиты легко обмениваются с окружающей средой, в результате чего в их составе могут появляться другие ионы (табл. 3.4). Наиболее часто встречаются следующие варианты обмена ионов: Ca^{2+} замещается катионами Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mo^{2+} , реже Mg^{2+} , Pb^{2+} . Катионы Ca^{2+} поверхностного слоя кристаллов, могут на короткое время замещаться катионами K^+ , Na^+ .
- PO_4^{3-} обменивается с HPO_4^{2-} , CO_3^{2-} .
- OH^- замещается анионами галогенов Cl^- , F^- , I^- , Br^- .

Элементы кристаллической решётки апатитов могут обмениваться с ионами раствора, окружающего кристалл и изменяться за счёт ионов, находящихся в этом растворе. В живых системах это свойство апатитов делает их высокочувствительными к ионному составу крови и межклеточной жидкости. В свою очередь, ионный состав крови и межклеточной жидкости зависит от характера пищи и потребляемой воды. Сам процесс обмена элементов кристаллической решётки протекает в несколько этапов с разной скоростью.

Обмен ионов в кристаллической решётке гидроксиапатита изменяет его свойства, в том числе прочность, и существенно влияет на размеры кристаллов (рис. 3.2).

Таблица 3.4

Замещаемые и замещающие ионы и молекулы в составе апатитов

Замещаемые ионы	Замещающие ионы
PO_4^{3-}	AsO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , CO_2
Ca^{2+}	Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , H_2O
OH^-	F^- , Cl^- , Br^- , I^- , H_2O
2OH^-	CO_3^{2-} , O_2^-

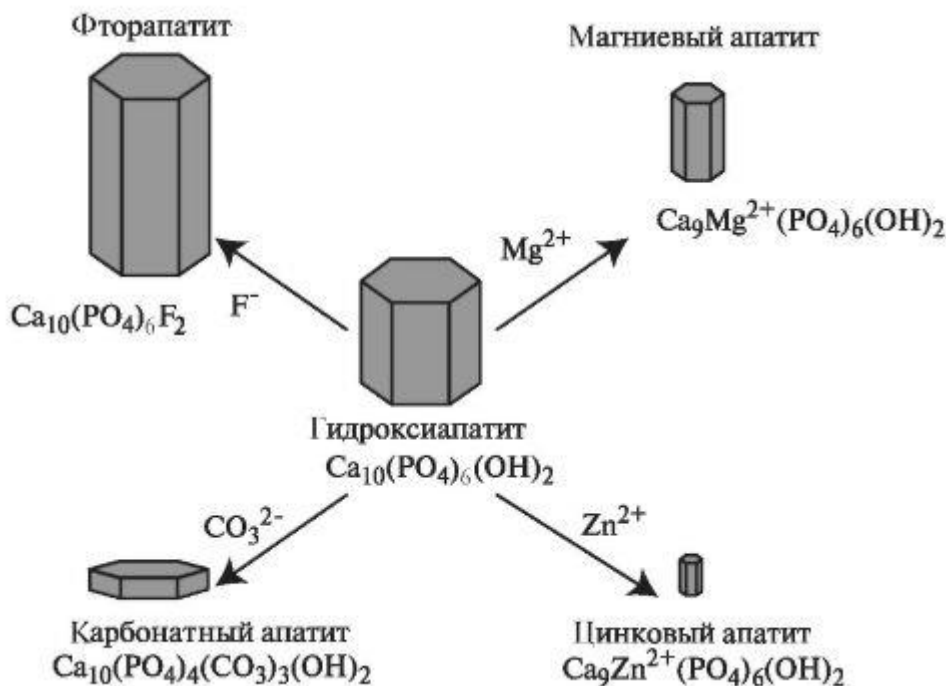
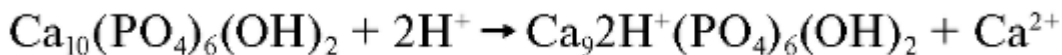
Рис. 3.2. Размеры кристаллов различных апатитов [Edwards P. A., 2005].

Некоторые ионы (K^+ , Cl^-) в течение нескольких минут путём диффузии из окружающей биологической жидкости заходят в гидратный слой гидроксиапатита, а затем также легко его покидают. Другие ионы (Na^+ , F^-) легко проникают в гидратную оболочку и, не задерживаясь, встраиваются в поверхностные слои кристалла. Проникновение ионов Ca^{2+} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , Sr^{2+} , F^- в поверхность кристаллов гидроксиапатита из гидратного слоя происходит очень медленно, в течение нескольких часов. Только немногие ионы: Ca^{2+} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , Sr^{2+} , F^- встраиваются вглубь ионной решётки. Это может продолжаться от нескольких дней до нескольких месяцев.

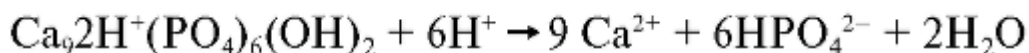
Преимущественным фак- тором, определяющим возможность замены,

является размер атома. Схожесть в зарядах имеет второстепенное значение. Такой принцип замены носит название изоморфного замещения. Тем не менее, в ходе такого замещения поддерживается общее распределение зарядов по принципу: $\text{Ca}_{10x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6x}(\text{OH})_{2x}$, где $0 < x < 1$. Потеря Ca^{2+} частично компенсируется потерей OH и частично H , присоединённых к фосфату.

В кислой среде ионы кальция способны замещаться протонами по схеме:

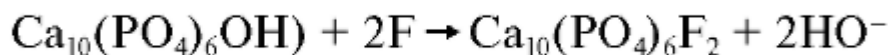


Это замещение несовершенно, поскольку протоны во много раз меньше катиона кальция.



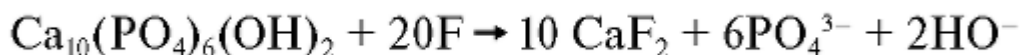
Такое замещение приводит к разрушению кристалла гидроксиапатита в кислой среде.

Фторапатиты $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ наиболее стабильные из всех апатитов. Они широко распространены в природе и прежде всего как почвенные минералы. Кристаллы фторапатита имеют гексагональную форму. В водной среде реакция взаимодействия фтора с фосфатами кальция зависит от концентрации фтора. Если она сравнительно невысока (до 500 мг/л), то образуются кристаллы фторапатита:



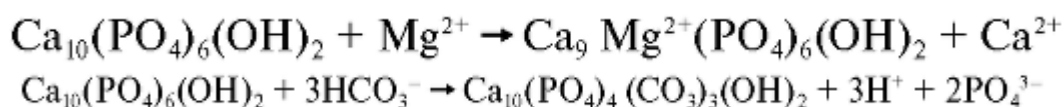
Фтор резко уменьшает растворимость гидроксиапатитов в кислой среде.

При высоких концентрациях фтора (>2 г/л) кристаллы не образуются:

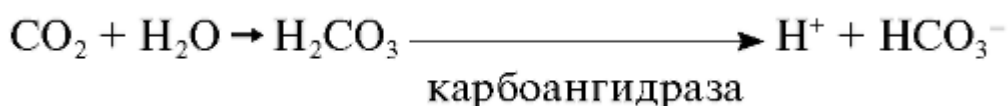


Заболевание, развивающееся при избыточной концентрации фтора в воде и почве, зубах и костях в период формирования костного скелета и зубных зачатков называется флюорозом.

Карбонатный апатит содержит в своем составе несколько процентов карбоната или гидрокарбоната. Процесс минерализации биологических апатитов в значительной степени определяется присутствием и локализацией карбонатных ионов в кристаллической решётке. Карбонатные радикалы CO_3^{2-} могут замещать как OH^- (А-узел), так и PO_4^{3-} (В-узел) в решётке гидроксиапатита. Например, около 4% апатита эмали зуба составляют карбонатные группы, которые замещают как фосфатные, так и гидроксильные ионы в пропорции 9:1 соответственно. Подобная ситуация характерна и для других гидроксиапатитов естественного происхождения. Условно химическая формула карбонированного гидроксиапатита может быть записана в виде $\text{Ca}_{10}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x][(\text{OH})_{2-2y}(\text{CO}_3)_y]$, где x характеризует В-замещение, а y - А-замещение. Для гидроксиапатита эмали зуба $x=0,039$, $y=0,001$. Карбонат уменьшает кристалличность апатита и делает его более аморфным и хрупким. Чаще всего фосфат-анионы апатитов замещаются ионами HCO_3^- по схеме:



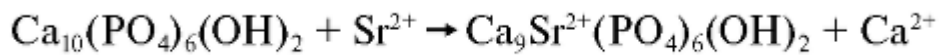
Интенсивность замены зависит от числа образующихся гидрокарбонатов. В организме постоянно происходят реакции декарбоксилирования, и образующиеся молекулы CO_2 взаимодействуют с молекулами H_2O . Анионы HCO_3^- образуются в реакции, катализируемой карбоангидразой, и замещают фосфат-анионы.



Карбонатные апатиты более характерны для костной ткани. В тканях зуба они образуются в непосредственной близости от эмалево-дентинной границы за счёт продукции анионов HCO_3^- одонтобластами. Возможно образование молекул HCO_3^- за счёт активного метаболизма аэробной микрофлоры зубного налёта. Образующееся количество HCO_3^- в этих участках может превышать PO_4^{3-} , что способствует образованию карбонатного апатита в

поверхностных слоях эмали. Накопление карбонатапатита свыше 3-4% от общей массы гидроксиапатита повышает кариесвосприимчивость эмали. С возрастом количество карбонатных апатитов увеличивается.

Стронциевый апатит. В кристаллической решётке апатитов Sr^{2+} может вытеснять или заменять вакантные места для Ca^{2+} .



Это приводит к нарушению структуры кристаллов. В Забайкалье, вдоль берегов небольшой реки Уров, описано заболевание, получившее название «уровская» болезнь. Оно сопровождается поражением костного скелета, уменьшением конечностей у людей и у животных. В местности, загрязненной радионуклидами, неблагоприятное значение стронциевого апатита для организма человека связано с возможностью депонирования радиоактивного стронция.

Магниевого апатит образуется при замещении Ca^{2+} на ионы Mg^{2+} .

Органические вещества минерализованных тканей в основном представлены белками, а также углеводами и липидами.

3.2. БЕЛКИ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ТКАНЕЙ МЕЗЕНХИМНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Белки минерализованных тканей составляют основу для прикрепления минералов и определяют процессы минерализации. Особенностью всех белков минерализованных тканей является наличие остатков фосфосерина, глутамата и аспартата, которые способны связывать Ca^{2+} и таким образом участвовать в образовании кристаллов апатита на начальном этапе. Второй особенностью является присутствие углеводов и последовательности аминокислотных остатков арг-гли-асп в первичной структуре белков, что обеспечивает их связывание с клетками или с белками, формирующими межклеточный матрикс.

Часть белков встречается в межклеточном матриксе большинства минерализованных тканей. Это белки адгезии, кальций-связывающие белки, протеолитические ферменты, факторы роста. Другие белки со специальными свойствами присущи только данной ткани и связаны с определёнными процессами, характерными для этого типа ткани.

Остеонектин - гликопротеин, присутствующий в большом количестве в минерализованной ткани. Белок синтезируется остеобластами, фибробластами, одонтобластами и в небольшом количестве хондроцитами и эндотелиальными клетками. В N-концевой области остеоネクтина

располагается большое количество отрицательно заряженных аминокислот. В сформированной α -спирали на N-концевой области имеется до 12 участков связывания Ca^{2+} , входящего в состав гидроксиапатита. Через углеводный компонент остеонектин связывается с коллагеном I типа. Таким образом, остеонектин обеспечивает взаимодействие компонентов матрикса. Он также регулирует пролиферацию клеток и принимает участие во многих процессах на этапе развития и созревания минерализованных тканей.

Остеопонтин - белок с мол. массой $\sim 32\ 000$ кДа, содержит несколько повторов, богатых аспарагиновой кислотой, которые придают остеопонтину способность связываться с кристаллами гидроксиапатита.

В средней части молекулы содержится последовательность RGD (аргглю-асп), ответственная за прикрепление клеток. Этот белок играет ключевую роль в построении минерализованного матрикса, взаимодействии клеток и матрикса и транспорте неорганических ионов.

Костный сиалопротеин - специфичный белок минерализованных тканей с мол. массой ~ 70 кДа, на 50% состоящий из углеводов (из них 12% составляет сиаловая кислота). Большинство углеводов представлены O-связанными олигосахаридами, которые содержатся в N-концевой области белка. Этот белок подвергается в реакциях сульфатирования тирозина различным модификациям. В составе костного сиалопротеина определяется до 30% фосфорилированных остатков серина и повторяющихся последовательностей глутаминовой кислоты, которые участвуют в связывании Ca^{2+} . Костный сиалопротеин выявлен в костях, дентине, цементе, гипертрофированных хондроцитах и остеокластах. Данный белок отвечает за прикрепление клеток и участвует в минерализации матрикса.

Костный кислый гликопротеин-75 - белок с мол. массой 75 кДа, по своему составу на 30% гомологичный остеопонтину. Присутствие большого количества остатков глутаминовой (30%), фосфорной (8%) и сиаловых (7%) кислот обеспечивает его способность связывать Ca^{2+} . Белок обнаружен в костной ткани, дентине и хрящевой ростовой пластинке и не определяется в неминерализованных тканях. Костный кислый гликопротеин-75 ингибирует процессы резорбции в минерализованных тканях.

Gla-белки. Отличительной особенностью семейства Gla-белков является присутствие в их первичной структуре остатков 7-карбокsigлутаминовой кислоты. Они различаются по мол. массе и количеству остатков 7-карбокsigлутаминовой кислоты. Образование 7-карбокsigлутаминовой кислоты происходит в процессе посттрансляционной модификации в витамин K-зависимой реакции карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты. Наличие дополнительной карбоксильной группы в 7-

карбоксиглутаминовой кислоте обеспечивает лёгкое связывание и отдачу ионов Ca^{2+} .

К Gla-белкам относят остеокальцин и матриксный Gla-белок.

Остеокальцин (костный глутаминовый белок) - белок с мол. массой 6 кДа. Состоит из 49 аминокислотных остатков, из которых 3 представлены 7-карбоксиглутаминовой кислотой. Белок присутствует в костной ткани и дентине зуба. Синтезируется в виде предшественника (рис. 3.3).

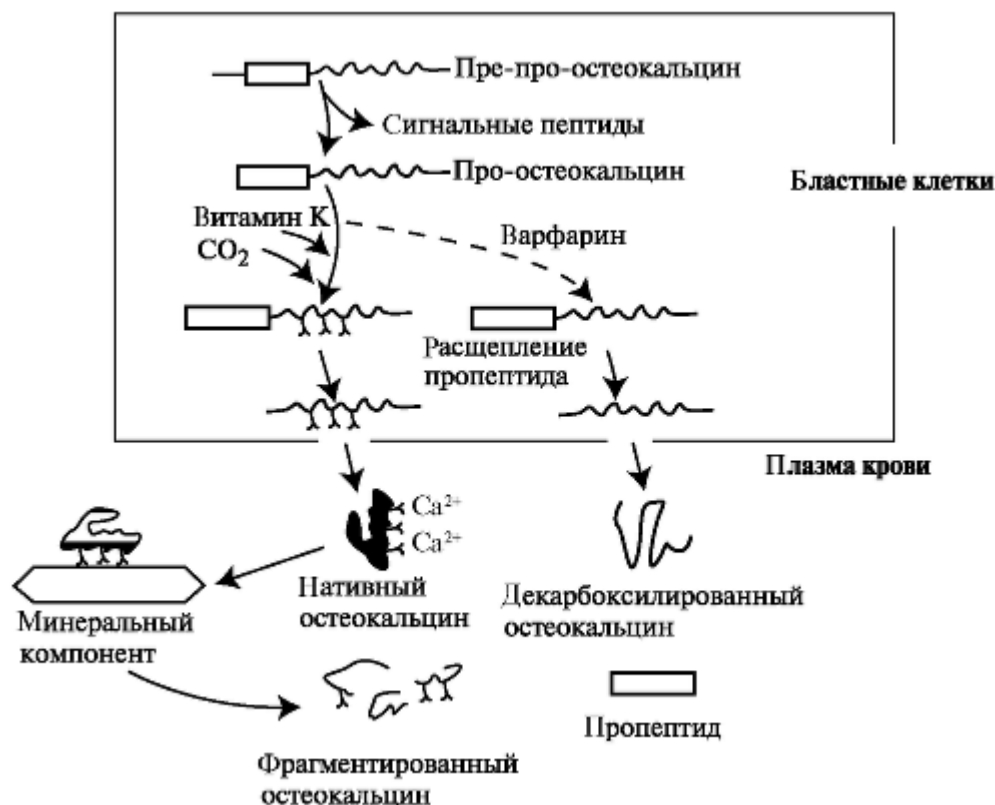


Рис. 3.3. Образование активной формы остеокальцина.

После отщепления сигнального пептида образуется про-остеокальцин, который далее подвергается посттрансляционной модификации. Вначале остатки глутаминовой кислоты окисляются, а затем происходит присоединение молекул CO_2 при участии витамин К-зависимой глутаматкарбоксилазы (рис. 3.4). Активность этого фермента снижается в присутствии варфарина - антагониста витамина К.

Нативный остеокальцин связывает Ca^{2+} , идущие на образование кристаллов гидроксиапатита. В плазме крови содержится как нативный остеокальцин, так и его фрагменты.

Матриксный Gla-белок содержит 5 остатков 7-карбоксиглутаминовой кислоты и способен связываться с гидроксиапатитом. Белок обнаружен в пульпе зуба, легких, сердце, почках, хряще и появляется на ранних стадиях развития костной ткани.

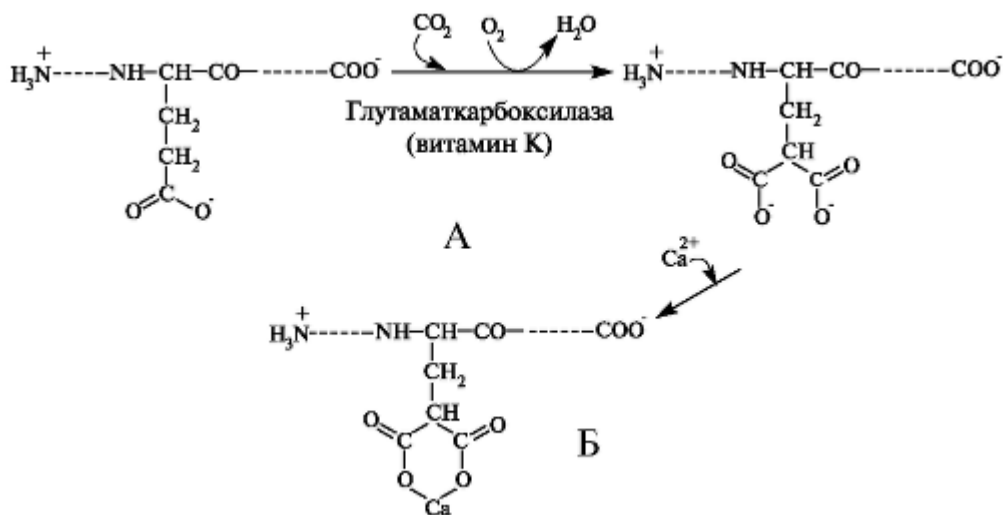


Рис. 3.4. Посттрансляционная модификация остатков глутаминовой кислоты в молекуле про-остеокальцина. А - гидроксирование глутаминовой кислоты; Б - связывание ионов кальция 7-карбокsigлутаминовой кислотой.

Протеин S содержит остатки 7-карбокsigлутаминовой кислоты и синтезируется главным образом в печени. Определяется в костной ткани, а при его дефиците обнаруживают изменения костного скелета.

ГЛАВА 4. СТРУКТУРА И РАЗВИТИЕ ТКАНЕЙ ПОСТОЯННЫХ ЗУБОВ

Эмаль зуба является уникальным сложносоставным биокерамическим материалом и самой твёрдой тканью человеческого организма. В отличие от других твёрдых тканей организма эмаль не обладает клеточной структурой.

4.1. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ЭМАЛИ

Основная масса неорганических компонентов представлена кристаллами гидроксиапатита (75%), карбонатного апатита (12%), фторапатита (1%) и других форм апатитов, прочно связанных с органической матрицей. Имеются и аморфные участки неорганического матрикса. Тонкие, длинные кристаллы гидроксиапатитов эмали имеют размеры от десятков до сотен нанометров и отличаются от кристаллов других плотных тканей своими размерами.

Основной функцией эмали является защита дентина и пульпы зуба от воздействия внешних раздражителей в окружении большого количества бактерий без катастрофических последствий для организма.

В зрелой эмали определяется до 3,8% воды, из них примерно 3,0-3,3% составляет связанная вода, присутствующая в гидратной оболочке на поверхности кристаллов. В незрелой эмали количество воды достигает 20%; с возрастом её количество уменьшается. Около 0,5% приходится на

свободную воду, располагающуюся в микропространствах. Жидкость, присутствующую в эмали и содержащую ионы, называют «эмалевым ликвором», или «эмалевой жидкостью». Кристаллы гидроксиапатита создают в эмали эффект молекулярного сита, через которое в эмалевую жидкость проникают небольшие органические молекулы и минеральные ионы. Эмалевая жидкость распределяется неравномерно. В поверхностных участках эмали жидкости немного и её количество увеличивается по направлению к эмалево-дентинной границе. В отличие от воды гидратных оболочек кристаллов, эмалевая жидкость более подвижна и её можно удалить, прогревая зубные ткани при относительно невысоких температурах. Движение жидкости обусловлено капиллярным механизмом, и по жидкости диффундируют ионы и молекулы. Хотя эмаль не содержит клеток и не способна к регенерации, однако в ней постоянно происходит обмен веществ. В эмаль поступают ионы, преимущественно из слюны, а также через дентин из пульпы зуба.

Химический состав эмали

Неорганические вещества зрелой эмали составляют 94-95%, в незрелой формирующейся эмали их намного меньше - всего 5%, а в эмали молочных зубов - 80%. После удаления минеральных компонентов остается тонкая сеть органической матрицы.

Кроме солей фосфата кальция в составе эмали обнаружены свыше 30 разных элементов. В относительно больших количествах присутствуют ионы Mg^{2+} , Na^+ , а также Cl^- , K^+ , Zn^{2+} и Fe^{2+} . Минеральный состав эмали может колебаться в зависимости от характера питания, но процентное соотношение кальция, фосфора и карбоната довольно постоянно. Содержание Sr^{2+} , Pb^{2+} и некоторых других микроэлементов в эмали колеблется значительно и зависит от их количества в почве данной местности.

Минеральные вещества в эмали распределены неравномерно. Поверхностные более плотные слои содержат меньше воды, карбонатов и больше фтора. Количество неорганических компонентов уменьшается в направлении от поверхности к зоне перехода эмали в дентин (т аб л. 4.1).

Содержание кальция и фосфора в эмали соответственно составляет 33,6-39,4 и 16,1-18,0% по отношению к остальным элементам эмали и в направлении от поверхности зуба к дентину их содержание снижается. Обычно снаружи она для ионов Ca^{2+} составляет 37,8, а внутри - 34,5% и для фосфатов - 18 и 15%. Однако при этом соотношение кальция и фосфатов остаётся постоянным (2,1 и 2,3 - весовое и 1,62-1,78 - молярное соотношение). Такая же закономерность распределения концентрационного градиента в эмали относится и к хлоридам. Напротив, содержание карбонатов, натрия, магния и железа в эмали увеличивается по направлению к дентину. Свинец

присутствует в низких концентрациях. Он накапливается в поверхностных слоях эмали, в то время как медь и стронций равномерно распределяются по всей толщине эмали.

Таблица 4.1

Распределение химических элементов в эмали зуба (по Curzon M.E.J., 1983)

Концентрация в пкмоль	Элементы
> 1000	Na, Cl, Mg
100-1000	K, S, Zn, Si, Sr
10-100	Fe, Al, Pb, B, Ba
1-10	Cu, Rb, Br, Mo, Cd, I, Ti, Mn, Cr, Sn
0,1-0,9	Ni, Li, Ag, Nb, Se, Be, Zr, Co, W, Sb, Hg
< 0,1	As, Cs, V, Au, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Tb

Органические вещества эмали

Доля органических веществ в зрелой эмали составляет 1,2-2,0%.

Органический матрикс представлен небольшим количеством углеводов и липидов, а также специфическими для данной ткани белками. Они находятся между кристаллами апатита в виде пучков, пластинок или спирали.

Количество липидов, в основном глицерофосфолипидов, достигает 540-570 мг на 100 г ткани. Помимо липидов в эмали содержатся следы углеводов, преимущественно галактозы, глюкозы, маннозы и глюкуроновой кислоты. Также определяется цитрат в количестве 0,1%.

Белки эмали в сформированных постоянных зубах образуют тонкую сетку и представлены энамелинами и амелогенинами в соотношении 1:1. Кроме этих белков в эмали определяются отдельные свободные аминокислоты (глицин, валин, пролин, гистидин, лизин и аргинин) и пептиды. Считают, что белковая матрица, окружающая апатиты, предотвращает контакт кислот с ними и тем самым смягчает воздействие этих кислот на кристаллы гидроксиапатита.

Органические компоненты эмали влияют на биохимические и физические процессы, происходящие в эмали зуба. С возрастом увеличивается уровень белка в наружном слое эмали и при этом снижается кариесрезистентность твёрдых тканей зуба.

4.2. АМЕЛОГЕНЕЗ

Образование эмали зуба (амелогенез) связано с дифференцировкой клеток внутреннего эмалевого эпителия. Преэнамелобласты начинают развиваться параллельно с преодонтобластами. Эти клетки содержат большое количество свободных рибосом, митохондрий, комплекс Гольджи и включения гликогена. Дифференцировка клеток эмалевого органа регулируется ТФР-β, инсулиноподобным-1 и эпидермальным факторами роста.

Отложение первых слоёв дентина индуцирует образование секреторно-активных энамелобластов, которые начинают продуцировать эмаль поверх образующегося слоя дентина. Амелогенез связан с секрецией энамелобластами набора специфических белков и состоит из трёх стадий.

- *Первая стадия (секреторная)* включает: инициацию формирования внеклеточного матрикса;
- постепенную деградацию органического матрикса и рост кристаллов;
- упорядочное размещение кристаллов;
- контроль за дальнейшим ростом кристаллов в длину и ширину;
- формирование призматической структуры кристаллов эмали.

Вторая стадия (созревания) состоит из:

- удаления остатков белковых молекул, при этом состав компонентов приближается к таковым зрелой эмали;
- завершения роста кристаллов;
- длительного насыщения ионами магния и фтора;
- *Третья стадия (зрелая эмаль)* заканчивается: формированием эмали;
- деградацией клеточного слоя эмалевого органа.

На первой стадии формируется органический матрикс, который лишён минералов и состоит из белков, располагающихся на наружной стороне клеток. Развитие и дальнейшее существование эмали зависит от синтетической активности клеток только на этапе формирования (рис. 4.1).

Преэнамелобласты превращаются в секреторно-активные энамелобласты. В секреторно-активных энамелобластах происходит следующее. В цистернах гранулярной эндоплазматической сети синтезируются белки, преимущественно амелогенины. Они составляют 90% от всех белков, выделяемых энамелобластами, и только 10% протеинов представлены энамелинами, кальций-связывающими и другими белками.

В настоящее время методом двухмерного электрофореза в растворимой клеточной фракции незрелой эмали грызунов было выявлено до 34 различных белков, участвующих в амелогенезе. Эти белки различаются по аминокислотному составу, мол. массе и подвижности

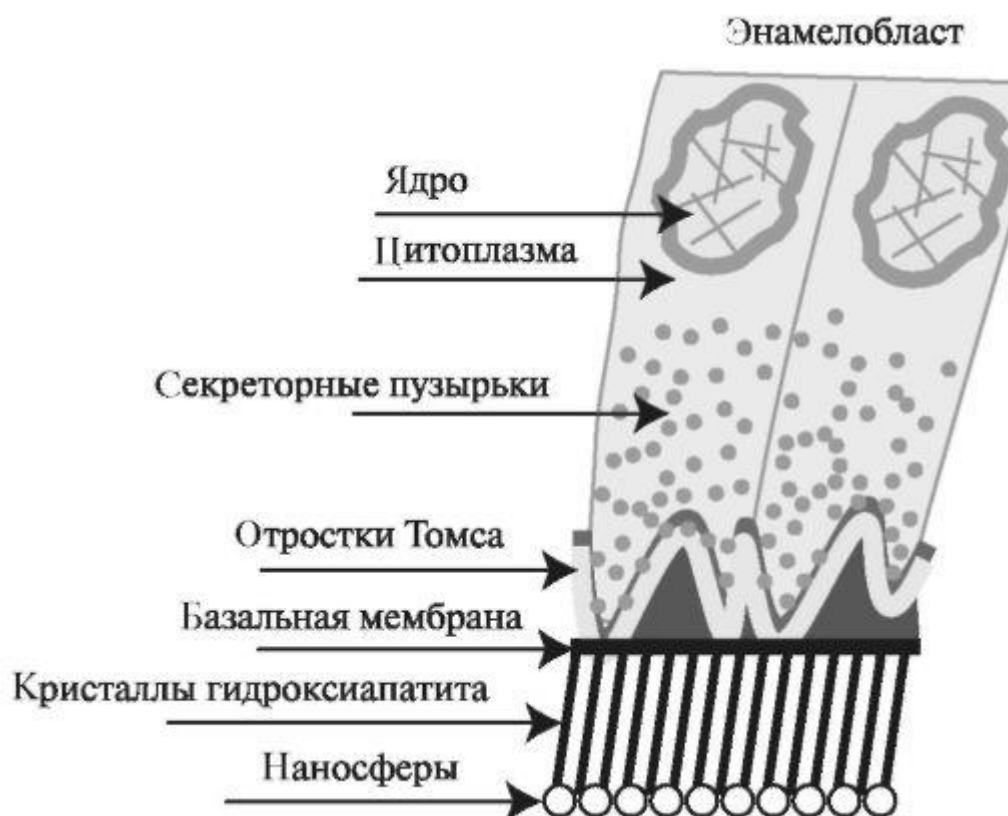


Рис. 4.1. Строение секреторного энамелобласта.

Секреторный энамелобласт содержит большое ядро, для него характерно образование отростков Томса и формирование секреторных пузырьков в электрическом поле. Некоторые из них идентифицированы. Это кальций-связывающие белки: кальбиндин, кальретикулин, аннексин V, кальмодулин и связанные с ним кальцинеитрины А и В, а также белки, участвующие в образовании цитоскелета: тропомиозин, актин, цитокератин (4 изоформы), виментин; ферменты: F^{\wedge} -субъединица АТФ-синтазы, креатинкиназа, эндоплазмин, энолаза, малатдегидрогеназа, фосфоглюкомутаза, энамелизин (ММП-20), калликреин - 4, эмалевая матриксная сериновая протеиназа-1 и белки, участвующие в формировании межклеточного матрикса. Это 6 фракций амелогенинов с мол. массой 28, 27, 25, 23, 21 и 19 кДа, альбумины, энамелины, амелобластины (шеатлины/амелин).

Помимо белков из созревающей эмали выделены пептиды, липиды, моносахариды. В процессе синтеза белки подвергаются посттрансляционной модификации, которая включает фосфорилирование и гликозилирование полипептидных цепей. Фосфат присоединяется к остаткам серила (рис. 4.2).

В комплексе Гольджи синтезированные белки подвергаются гликозилированию, то есть происходит присоединение остатков галактозамина, глюкозамина и сиаловых кислот.

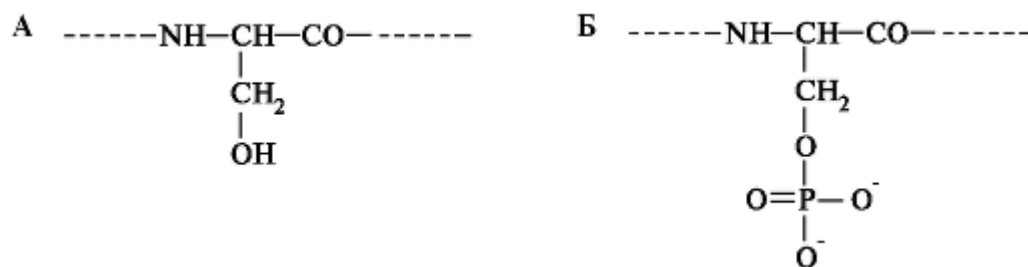


Рис. 4.2. Посттрансляционная модификация белков:

A - серил в составе белка; *B* - фосфосерил в составе белка.

Амелогенины содержат большое количество остатков пролина, лейцина, гистидина и глутаминовой кислоты. В их составе отсутствуют гидроксипролин и цистеин, которые характерны для коллагена и кератинов. Это гетерогенная фракция, состоящая из белков с различной мол. массой (19-28 кДа). Белки, выделенные у разных видов животных, имеют подобный аминокислотный состав и не имеют отличий в первых 33 аминокислотных остатках в N-концевой области. По мере созревания происходит расщепление высокомолекулярных амелогенинов и увеличивается доля низкомолекулярных амелогенинов с мол. массой 6 и 13 кДа.

В синтезе амелогенинов на ранней стадии развития зуба участвуют как амелобласты, так и одонтобласты, однако большая часть этих белков синтезируется амелобластами в соотношении 320:1. На стадии созревания эмали это соотношение меняется в сторону уменьшения (20:1).

Энамелины, как и амелогенины, относятся к гликофосфопротеинам. Это кислые белки, богатые аспарагиновой и глутаминовой кислотами, пролином и глицином. Они сильно гликозилированы и содержат до 4% гексозаминов, а также 3,8% нейраминовой кислоты.

Энамелин присутствует в развивающемся зубе в нескольких изоформах. Вначале синтезируется белок-предшественник с мол. массой 130 кДа. На разных стадиях развития эмали появляются его изоформы с меньшей мол. массой. Установлено, что энамелины с разной мол. массой выполняют различные функции. Из энамелина с мол. массой 89 кДа образуется энамелин с мол. массой 32 кДа, который является амелопроотеиназой, участвующей в деградации высокомолекулярных белков. Энамелин с мол. массой 67 кДа содержит большое количество аспарагиновой и глутаминовой кислот, аланина, лейцина и лизина. Он по аминокислотному составу близок к сывороточному альбумину.

Помимо энамелинов и амелогенинов энамелобластами синтезируются и другие белки - амелобластин и тафтелин. Тафтелин - кислый фосфорилированный гликопротеин с мол. массой 43,8 кДа. В его составе

определяется 1 гликозилированный участок и 5 остатков цистеина. Он формируется на короткое время только в процессе развития эмали.

В стадию секреции энамелобласты и преодонтобласты секретируют белок амелобластин, который также называют амелином, или шеатлином. Вначале синтезируется амелобластин с мол. массой 68 кДа, и в результате его ограниченного протеолиза появляются множество белков с мол. массой 52, 40, 37, 19, 17, 16, 15, 14 и 13 кДа. Белки с мол. массой 16-17 кДа гидрофобны и нерастворимы в воде. В стадию созревания эмали амелобластин уже исчезает.

Белки, синтезируемые энамелобластами, упаковываются в везикулы, и далее происходит перемещение секреторных гранул к апикальной поверхности клеток. Гидрофобные молекулы амелогенина агрегируют между собой и собираются в наносферы (рис. 4.3). Сборка наносфер осуществляется в цитоплазме без участия АТФ.

В момент образования наносфер осуществляется направленная поставка ионов октакальция фосфата для формирования кристаллов.

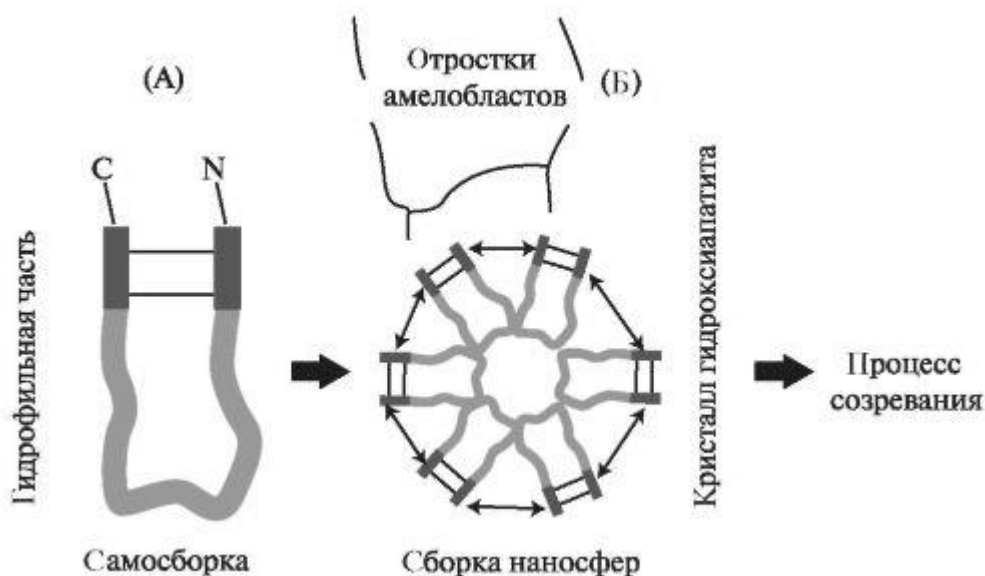


Рис. 4.3. Формирование наносфер в процессе амелогенеза: *А* - образование связи в амелогенине между аминокислотами N- и С-концевой области; *Б* - собранные из 6 амелогенинов наносферы выделяются отростками амелобластов и участвуют в процессе созревания эмали.

Неорганические ионы к поверхности эмали поступают из капилляров зубного мешочка. Поступление секреторных гранул во внеклеточное пространство обеспечивают сократительные белки цитоскелета - актин и тропомиозин. Содержимое секреторных гранул освобождается и распределяется поверх новообразованного слоя дентина.

Взаимосвязь между белками внеклеточного матрикса обеспечивает белок с мол. массой 39 кДа, сходный по строению с тафтелином и получивший название тафтелин-интерактивный белок (ТИР-39). Он синтезируется как амелобластами, так и одонтобластами. ТИР-39, как и тафтелин, способен к образованию доменов, в которых присутствуют надвторичные структуры типа спираль-петля-спираль. В С-концевой области располагается домен, обеспечивающий его связывание с клатрином, который выстилает секреторные гранулы. Предполагают, что ТИР-39 участвует в транспорте синтезированных амелобластами белков в межклеточный матрикс эмалевого органа. Этот белок также участвует во внутриклеточном переносе амелогенина. Комплексы тафтелина и ТИР-39 обеспечивают связь между дентином и амелобластами в процессе образования дентино-эмалевой границы.

Первичная минерализация эмали

Первичная минерализация эмали представляет двухступенчатый процесс, включающий инициацию и последующий рост кристаллов (эпитаксию). Для роста кристаллов необходимы белки с небольшой мол. массой, а в составе секреторных гранул содержатся высокомолекулярные гликофосфопротеины, поэтому эти белки подвергаются ограниченному расщеплению протеолитическими ферментами - энамелизинами (ММП-20), калликреином и матриксными сериновыми протеиназами. Энамелизин секретируется в начальной стадии созревания эмали как амелобластами, так и одонтобластами, а калликреин-4 - только амелобластами. Каждая протеиназа обладает субстратной специфичностью и расщепляет пептидные связи, образованные определёнными аминокислотами. Процесс протеолиза носит каскадный характер, что сопровождается образованием белков с разной мол. массой и различными функциями. Так, энамелизин гидролизует амелогенины с мол. массой 25 кДа и образуются белки с мол. массой 20 кДа, которые далее подвергаются гидролизу при участии слабощелочной протеиназы - калликреина-4. В результате протеолиза освобождаются амелогенины с мол. массой 6 и 13 кДа. Образующиеся в процессе гидролиза низкомолекулярные белки способны присоединять Ca^{2+} и PO_4^{3-} .

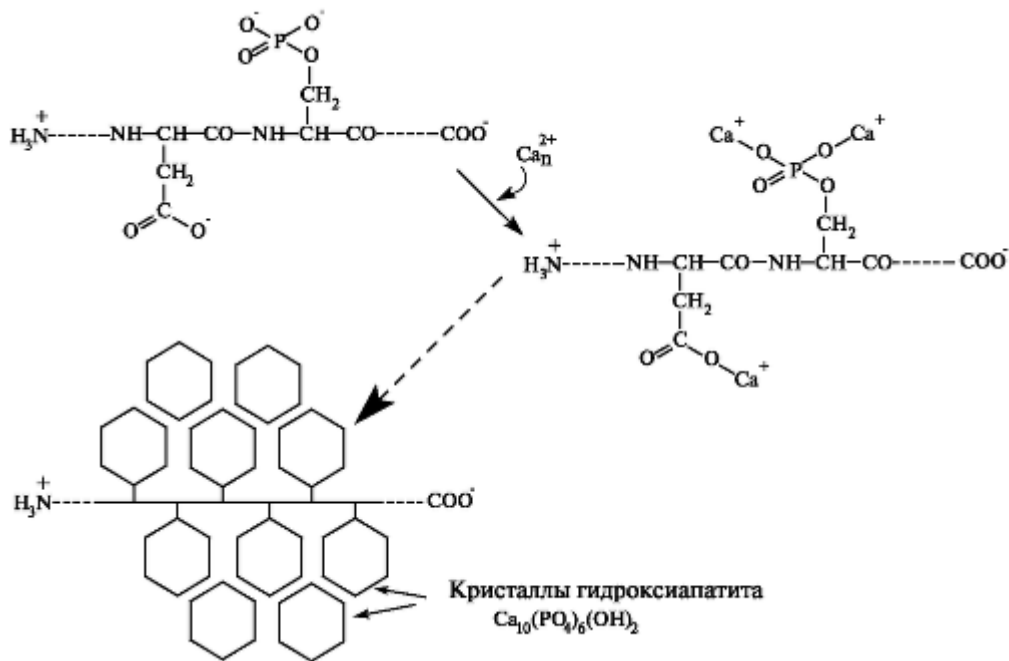


Рис. 4.4. Формирование кристаллитов гидроксиапатита.

К остаткам глутаминовой кислоты, аспарагина и фосфосерила присоединяются ионы кальция и фосфата. В процессе дальнейшей преципитации ионов формируется первичный кристалл гидроксиапатита.

Для образования кристаллов гидроксиапатита необходима высокая концентрация Ca^{2+} . В транспорте Ca^{2+} участвуют кальций-связывающие белки. Наличие большого количества глутамата и аспартата в эмалевых низкомолекулярных белках и других протеинах минерализованных тканей позволяет присоединить Ca^{2+} непосредственно к 7- и е-карбоксильным группам этих аминокислот; Ca^{2+} также связывается с остатками фосфосерила. Присоединение кальция и фосфата к белкам эмали заканчивается формированием кристаллитов гидроксиапатита.

Вначале формируются длинные и тонкие кристаллиты, которые встраиваются в органический матрикс параллельно друг другу. В более позднем периоде кристаллиты утолщаются и превращаются в плоские шестиугольные призмы (рис. 4.4). Упорядоченное построение и форма кристаллов эмали отличается от бесформенных пластинчатых призм кристаллов кости и дентина. Уникальность эмалевых кристаллов обусловлена особенностью их формирования и роста. Рост кристаллов регулируется ионами Ca^{2+} и PO_4^{3-} , которые транспортируются от амелобластического слоя в эмалевый матрикс. В свою очередь, поток жидкости, изменяющийся в течение развития эмали, регулирует эмалевый матрикс.

В регуляции роста кристалла в длину, ширину и толщину участвуют амелогенины, упакованные в наносферы (рис. 4.5).

Амелогенины подвижны и не связываются с кристаллами. Считают, что присутствие глутаминовой кислоты в составе амелогенинов позволяет связывать молекулы H_2O и Ca^{2+} , тем самым способствуя формированию кристаллов. Предполагают, что амелогенины мигрируют по формирующейся эмали и по мере роста кристаллов вытесняются в сторону энамелобластов. Эмалевые белки обнаруживают во всех участках новообразованной эмали, но наибольшая их концентрация определяется в оболочке эмалевых призм. В формирующейся эмали также обнаружены остатки отростков амелобластов, содержащих небольшое количество глицерофосфолипидов, которое сохраняется в зрелой эмали.

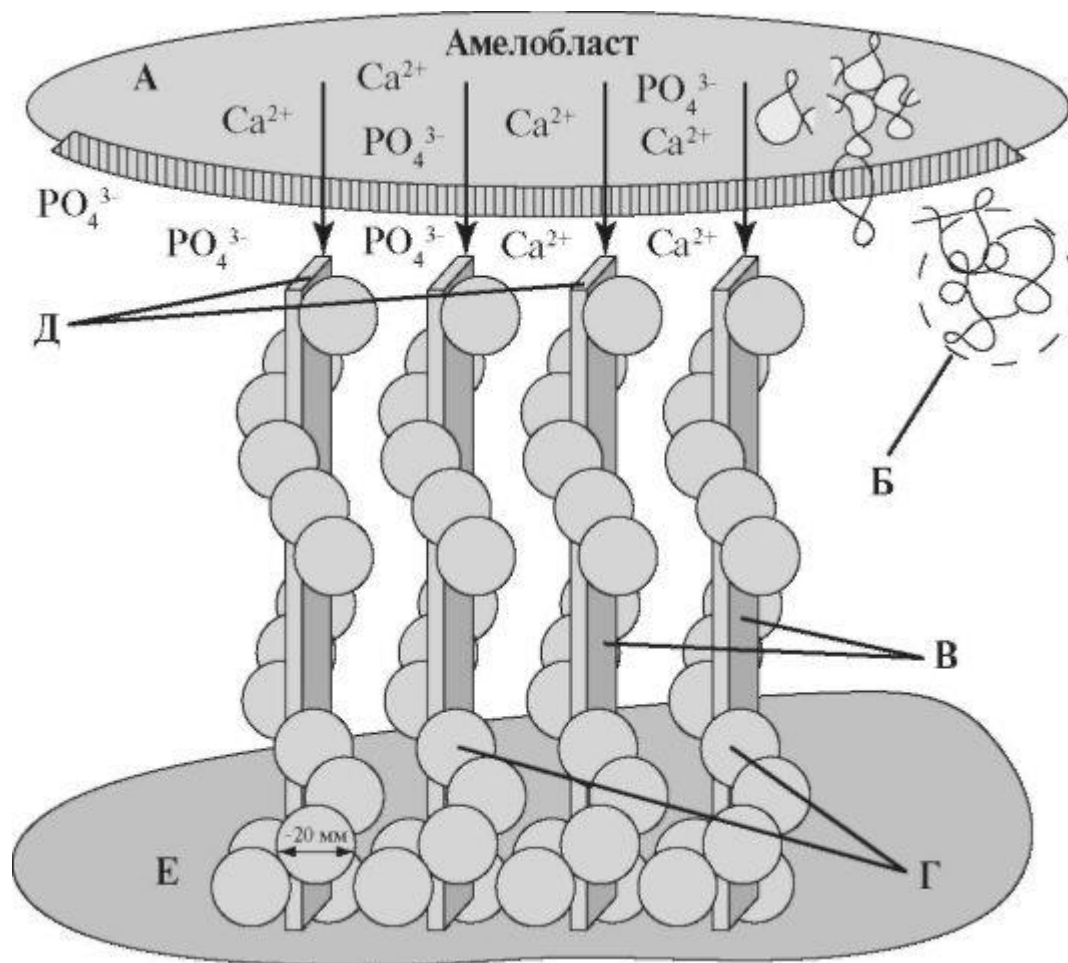


Рис. 4.5. Регуляция роста кристалла [по Ten Cate A.R., 1998]: *A* - клеточная мембрана амелобласта; *B* - собранная наносфера; *V* - начальные кристаллиты; *Г* - ансамбли из наносфер, располагающиеся на поверхности первичных кристаллов; *Д* - кристаллиты присоединяют дополнительные ионы кальция и фосфата; *E* - минерализованный матрикс дентина.

Вторичная минерализация эмали

Созревание эмали сопровождается значительным снижением содержания органических компонентов. Почти 100-200-кратное снижение содержания белков при созревании сопровождается значительным изменением их аминокислотного состава. Происходит распад амелогенинов и задерживается

деградация эмалинов, при этом эмалины прочно связываются с кристаллами апатита.

Образованная первичная эмаль является незрелой. Она состоит на 30% из органического матрикса и на 70% - из минеральных солей. Во вторичной минерализации участвуют энамелобласты стадии созревания, которые содержат большое количество кальций-связывающих белков. Через энамелобласты к эмали переносятся неорганические ионы и удаляются из созревающей эмали органические вещества и вода. Наружная поверхность эмали содержит меньше белков, чем её внутренняя часть. Белки и пептиды, расположенные снаружи, более растворимы в воде и участвуют в образовании поверхностного слоя эмали. После прорезывания зубов эмаль покрыта тонким слоем клеток (10 мкм), который быстро разрушается и сменяется органической кутикулой, образуемой белками слюны и продуктами эпителия слизистой.

Третичная минерализация эмали

Окончательная минерализация эмали происходит уже после прорезывания зуба, и особенно интенсивно - в течение первого года нахождения коронки зуба в полости рта. Часть неорганических веществ поступает со стороны дентина, но основное их количество поставляет слюна. В связи с этим для полноценной третичной минерализации очень важен минеральный состав и рН слюны.

4.3. СТРУКТУРА ДЕНТИНА

Дентин - основная составная часть зуба. Он содержит до 70% минеральных веществ, 17% органических веществ и 13% воды. Дентин является сложной гетерогенной структурой, которая граничит с эмалью в области коронки зуба и с цементом в корне зуба.

Самый глубокий слой дентина, расположенный на границе с пульпой зуба, называется преддентином. Это тонкий слой неминерализованной органической матрицы, которая состоит в основном из коллагеновых белков.

Неорганические компоненты дентина

Неорганическая часть дентина представлена кристаллами гидроксиапатитов, фторапатитов, а также аморфным фосфатом кальция. Содержание магния в дентине в три раза превышает таковое в костях. Количество карбонатов в дентине выше, чем в эмали. В области преддентина на границе с пульпой зуба определяется самое высокое содержание фтора, которое увеличивается с возрастом. Несмотря на то, что главным минеральным компонентом дентина является гидроксиапатит, суммарный химический состав его не совпадает с формулой идеального гидроксиапатита. Это обусловлено тем, что в дентине

присутствует небольшое количество воды и ионов, которые отсутствуют в гидроксиапатите.

Органические компоненты дентина

Поскольку дентин является разновидностью соединительной ткани, то он содержит присущий этой ткани органический матрикс, сформированный коллагеновыми белками I, III, IV, V, VI типов, и протеогликанами, которые постоянно с разной скоростью синтезируются одонтобластами. Основным коллагеном дентина, как и в костной ткани, относится к коллагену I типа. В дентине между коллагеновыми фибриллами расположены липидные гранулы (липосомоподобные структуры), и содержание липидов достигает 330-350 мг на 100 г ткани. Что касается других органических соединений, то их содержание довольно низкое.

Протеогликаны, присутствующие в дентине, содержат хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат. Внутреннюю поверхность дентинных трубочек покрывает гиалуроновая кислота, которая формирует защитную плёнку от проникновения микроорганизмов и регулирует поток воды и ионов. Особое место среди неколлагеновых белков дентина занимают кислые фосфопротеины, богатые аспарагиновой кислотой и фосфосерином, что придаёт этим белкам способность связываться с кальцием. По сравнению с костной тканью в дентине значительно меньше белков, содержащих γ -карбокситглутаминовую кислоту.

К семейству фосфосиалопротеинов, присутствующих в дентине, относятся *костный сиалопротеин*, *матриксный белок дентина-1*, *остеопонтин*, *дентинфосфопротеин* и *идентинсиалопротеин*. В процессе синтеза одонтобластами они подвергаются множественным посттрансляционным модификациям: гликозилированию сиаловой кислотой, сульфатированию и фосфорилированию. Это необходимо для связывания углеводных групп с коллагенами, а присутствующие отрицательно заряженные остатки сульфатов и фосфатов выступают в качестве матриц для связывания Ca^{2+} и формирования кристаллов гидроксиапатита. Считают, что эти белки контролируют участки и скорость минерализации дентина. Часть белков, синтезируемых одонтобластами (*костный сиалопротеин*, *остеопонтин*, *остеонектин*, *остеокальцин* и др.) определяются как в дентине, так и в костной ткани и пульпе зуба.

Матриксный белок дентина-1 - кислый гликофосфопротеин содержит 2 молекулы N-ацетилнейраминовой кислоты и 1 протеогликановую цепь, связанную с белком через остаток серина. В его составе определяется 8 остатков связанной фосфорной кислоты и 20 молекул сульфата, которые способны связывать Ca^{2+} . В процессе дентиногенеза матриксный белок

дентина-1 участвует в формировании и росте кристаллов апатитов дентина. Нарушение синтеза этого белка сопровождается дефектами формирования кристаллической основы дентина.

Дентинсиалопротеин - гликопротеин с мол. массой 95 кДа содержит 30% углеводов и 10% сиаловых кислот и составляет 5-8% от всех белков дентина. По своей структуре сходен с костным сиалопротеином и остеопontiном. Секретируется одонтобластами и преэнамелобластами.

Дентинфосфопротеин (фосфофорин) - главный неколлагеновый белок матрикса дентина. Синтезируется одонтобластами, и на долю этого белка приходится до 50% всех неколлагеновых протеинов дентина. Имеет высокую мол. массу 151-167 кДа. Некоторое несоответствие в значениях молекулярного веса и данных аминокислотного состава в дентинфосфопротеине объясняется способностью этого белка связываться с фрагментами коллагена. В первичной структуре дентинфосфопротеина преобладают остатки аспарагиновой кислоты и фосфосерина, которые составляют 70-80% от общего количества аминокислот. Поскольку этот белок имеет большое сродство к Ca^{2+} , считают, что он действует как нуклеатор в образовании первичных кристаллов гидроксиапатита и влияет на формирование кристаллов в процессе их роста. Связывание Ca^{2+} дентинфосфопротеином происходит на стадии минерализации дентина.

В процессах минерализации ткани дентина участвуют белки *остеоадерин*, *остеокальцин* и *остеонектин*. В дентине также обнаружен *амелогенин*, секретируемый одонтобластами. Считают, что амелогенин выступает в роли фактора, регулирующего дифференцировку клеток и рост кристаллов дентина.

На пролиферацию и дифференцировку одонтобластов, участвующих в формировании и поддержании структуры и формы минерализованного матрикса дентина, влияют различные факторы роста, которые связываются с компонентами внеклеточного матрикса. Это ФРФ, инсулиноподобный фактор роста -1, ТФР- β , морфогенетический белок кости -2 и -4, ФНО- α , ИЛ-1- β . При подавлении синтеза ТФР- β снижается синтез фосфосиалопротеинов и, как следствие, развивается гипоминерализация дентина.

Разнообразный диапазон белков дентина характеризует возможности этой ткани активно участвовать не только в процессах дентиногенеза, но и реминерализации.

Дентиногенез

Образование дентина и поддержание его состава неразрывно связано с пульпой зуба. Вместе эти ткани формируют дентино-пульпарный комплекс.

Пульпа зуба развивается из зубного сосочка, образованного эктомезенхимой. Эмбриологическое развитие пульпы сопровождается синтезом ряда белков цитоскелета - кератина, виментина, десмина и актина. В процессе эмбрионального развития взаимодействие между эпителиальными клетками внутреннего эмалевого органа и мезенхимальными клетками зубного сосочка приводят к дифференцировке одонтобластов и фибробластов, которые начинают секретировать коллагеновые белки.

Образующиеся секреторно-активные одонтобласты характеризуются присутствием обильной грубой эндоплазматической сети, хорошо развитого аппарата Гольджи, митохондрий и специальных секреторных гранул (рис. 4.6). Такая структура одонтобластов позволяет осуществлять активный синтез и транспорт белков и ионов во внеклеточный матрикс.

Первоначально секреторно-активные одонтобласты синтезируют коллагеновые и неколлагеновые белки. Синтезированные белки, подвергшиеся посттрансляционной модификации, упаковываются в аппарате Гольджи в везикулы, которые освобождаются во внеклеточное пространство путём экзоцитоза в апикальных отделах тела одонтобластов и их отростков. Содержимое везикул формирует внеклеточный матрикс дентина (предентин), который в последующем подвергается минерализации (рис. 4.7).

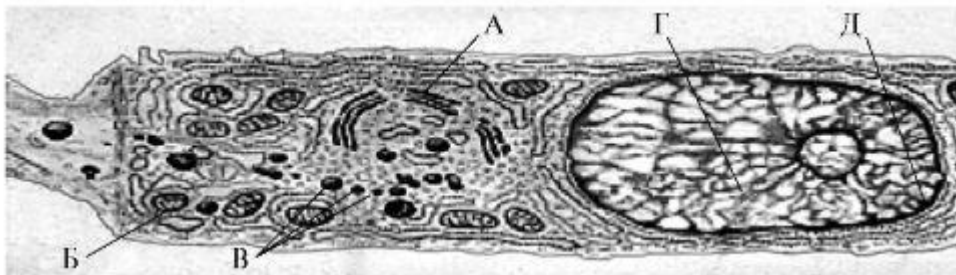


Рис. 4.6. Секреторно-активный одонтобласт [по Ten Cate A.R., 1998]:

A - аппарат Гольджи; *B* - митохондрии; *V* - секреторные гранулы; *G* - ядро; *D* - эндоплазматический ретикулум.

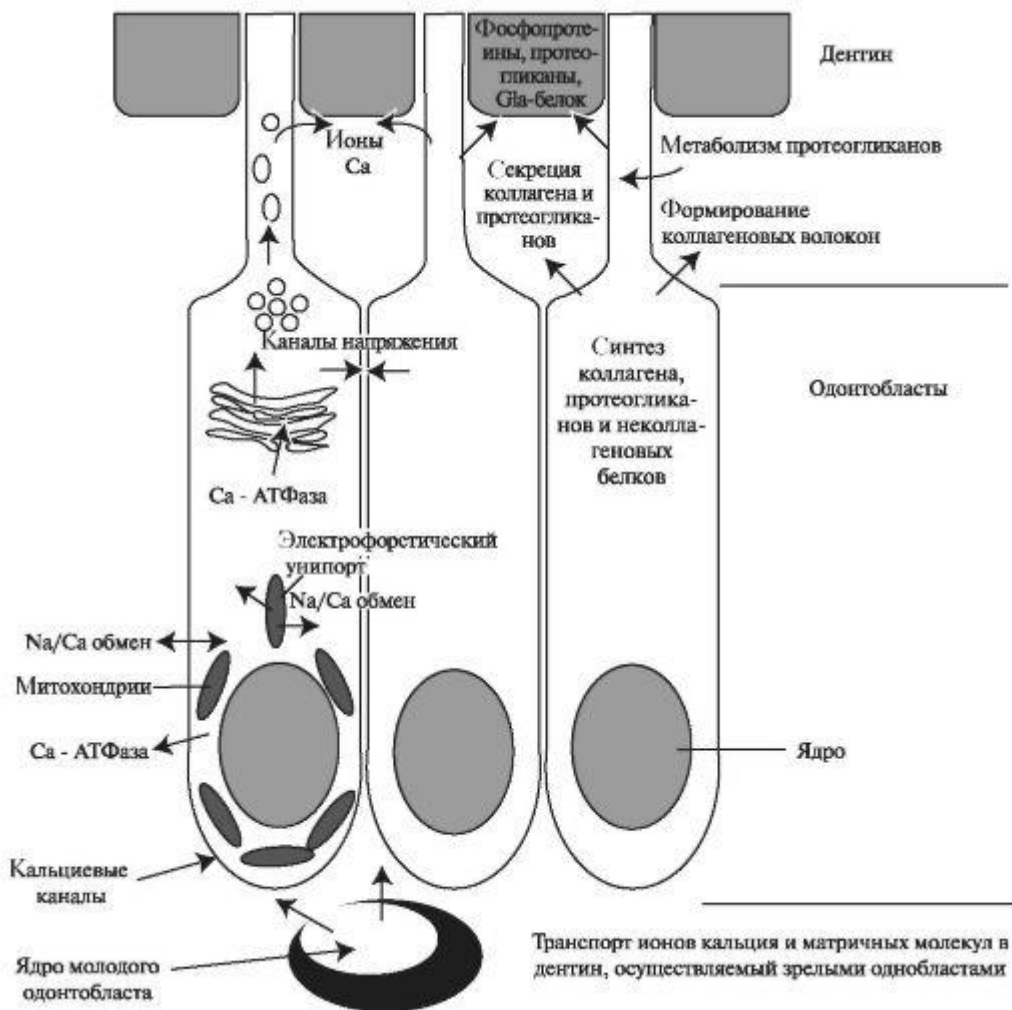


Рис. 4.7. Транспортные системы в одонтоблестах дентино-пульпарного комплекса [по Edwards P. A., 2005].

В процессе инициации минерализации, как полагают, участвуют ионы, локализующиеся в телах одонтобластов. Активный транспорт ионов происходит при участии транспортных ионов Ca^{2+} , K^+ , Na^+ -аденозинтрифосфатаз (АТФазы), локализующихся в комплексе Гольджи и кристах митохондрий по дистальному краю тел одонтобластов, за счёт энергии АТФ. Ионы Na^+ накапливаются в цитоплазме и в матричных пузырьках одонтобластических клеток, а Ca^{2+} в митохондриях и цитоплазме. Концентрация ионов Ca^{2+} во внеклеточной жидкости больше, чем в самих клетках, поэтому Ca^{2+} -АТФаза переносит ионы Ca^{2+} за счёт энергии АТФ против градиента концентрации. При этом активируется пассивный перенос ионов Na^+ и K^+ в клетки пульпы и из неё. Транспортные Na^+ , K^+ -АТФазы препятствуют росту осмотического давления в клетках пульпы зубов. Поступление ионов происходит в процессе дентиногенеза и продолжается после прорезывания зуба, поддерживая минеральный состав зрелого дентина. Нарушение структуры твёрдых тканей зуба в процессе развития

Нарушение структуры твёрдых тканей зуба в процессе развития

Нарушение развития зубных тканей на ранних стадиях приводит к разнообразным дефектам минерализованных тканей зуба. Эти нарушения носят локальный, системный или наследственный характер. К локальным факторам относятся воспалительные явления местного характера, а также травмы временных зубов в зоне зачатков постоянных зубов. Системные повреждения охватывают целый ряд зубов и возникают при различных инфекционных заболеваниях, метаболических нарушениях как у матери в период беременности, так и у ребёнка в процессе его роста после рождения. Наследственные формы дефектов твёрдых тканей зубов характеризуются их недоразвитием и передаются из поколения в поколение.

Действие повреждающих факторов внешней и внутренней среды на разных этапах морфогенеза зубных тканей приводит к разным формам патологического процесса. Это может выражаться в уменьшении толщины эмалевого слоя, изменении размера и формы кристаллов гидроксиапатита, отсутствии гидроксиапатитов и увеличении массы органического матрикса.

У человека встречается генетически обусловленный несовершенный амелогенез (*amelogenesis imperfecta*), связанный с дефектом гена AMELX в хромосомах энамелобластов. В результате изменяется аминокислотный состав синтезируемых амелогенинов и нарушается рост кристаллов на органическом матриксе.

Введение ингибиторов матричных синтезов также приводит к несовершенному амелогенезу и дентиногенезу. Так при приёме беременными женщинами и детьми младшего возраста антибиотиков тетрациклинового ряда у детей возникает множественная гипоплазия эмали (тетрациклиновые зубы). Это обусловлено тем, что тетрациклины связываются с 30S субъединицей рибосомы и блокируют присоединение аминоацил-тРНК в А-центр рибосомы, тем самым нарушая элонгацию полипептидной цепи.

Нарушение синтеза белка, в свою очередь, изменяет процессы образования первичных кристаллов гидроксиапатитов в твёрдых тканях зуба. Поступление избыточного количества фтора в организм беременной женщины и младенца сопровождается развитием другой формы несовершенного амелогенеза - флюороза зубов. Показано, что в больших дозах фтор угнетает пролиферацию амелобластов и соответственно снижает синтез актина и других белков. Он также способен связываться с гидроксильными группами серина полипептидных цепей, что приводит к нарушению образования фосфосерина, участвующего в минерализации зубных тканей. Кроме того, фтор способен связываться с активным центром сериновых протеиназ и таким образом ингибировать ограниченный протеолиз высокомолекулярных белков эмалевого матрикса. Это также не способствует открытию центров инициации минерализации и в дальнейшем

образованию кристаллов гидроксиапатитов, поэтому для флюороза характерно более высокое содержание белка в эмали зрелого зуба и уменьшение количества кальция с изменением проницаемости эмали. Для флюороза характерны множественные участки гипоминерализации, которые могут проявляться при лёгкой форме в виде меловидных пятен на поверхности эмали, а при тяжёлой форме в виде изъеденных пигментных пятен. Это объясняется тем, что ионы железа, пищевые пигменты способны связываться с белковой основой и придают эмалевым дефектам жёлто-коричневую окраску.

При метаболических нарушениях, развивающихся при гипоксии плода, не образуется достаточное количество АТФ, что сказывается на фосфорилировании амелогениновых и неамелогениновых белков, а впоследствии на связывании Ca^{2+} с белковым матриксом эмали.

Важная роль в поражении эмали и дентина отводится характеру питания будущей матери и ребёнка. Пища должна содержать большое количество витаминов и минеральных веществ и мало углеводов. В эксперименте было показано, что при кормлении крысят высокосахарозной диетой возникают сдвиги в метаболических процессах клеток дентинно-пульпарного комплекса.

Это сопровождается нарушением транспорта ионов Ca^{2+} и фосфатов и увеличением включения глицина в белки эмали. Высокосахарозная диета способствует накоплению селена в минерализованных тканях. Введение больших доз селена меняет активность ряда ферментов в пульпе зуба, что также ведёт к гипоминерализации твёрдых тканей зуба, а в дальнейшем и развитию кариеса зубов.

4.4. ПУЛЬПА ЗУБА

Пульпа зуба представляет собой рыхлую соединительную ткань, состоящую из межклеточного аморфного вещества, клеточных и волокнистых элементов (коллагеновые и аргирофильные волокна) с включёнными в них кровеносными сосудами и нервными волокнами. Она окружена дентином и повторяет анатомическую форму зуба. В составе пульпы обнаружено около 5% неорганических веществ, 40% органических и около 55% воды.

Пульпа зуба выполняет ряд важнейших функций: трофическую, защитную и пластическую.

Трофическая функция обеспечивается клеточными элементами, которые освобождают клетку от продуктов метаболизма. Твёрдые ткани зуба (дентин, цемент) не имеют кровеносных сосудов, поэтому их питание осуществляется через отростки одонтобластов.

Защитная функция осуществляется клетками ретикулоэндотелиальной системы, в частности гистиоцитами, которые играют роль фагоцитов. Эту роль также выполняют плазматические клетки пульпы, которые вырабатывают антитела. Фибробласты принимают участие в образовании фиброзной капсулы вокруг возникшего в пульпе патологического очага. Образование третичного дентина также следует рассматривать как проявление защитной функции.

Пластическая функция заключается в образовании вторичного дентина благодаря активной деятельности расположенных в пульпе одонтобластов. Клеточный состав пульпы зуба

В строме пульпы располагается множество различных клеток: одонтобласты, фибробласты, гистиоциты и гранулоциты, тучные и плазматические клетки и др. Все клетки пульпы расположены в межклеточном веществе и образуют трёхмерную сеть.

Одонтобласты представляют собой крупные вытянутые поляризованные клетки, в которых различают тело и отростки (волокна Томса). Они образуют тонкий слой на протяжении всей дентино-пульпарной границы, а отростки пронизывают весь дентин. Тела одонтобластов располагаются близко друг к другу и связаны между собой тремя типами межклеточного соединения: щелевыми, плотными и десмосомами. Благодаря этим контактам слой одонтобластов способен выполнять барьерную функцию. Плотные контакты характерны для рогов пульпы - это точечные (фокальные) соединения между наружными слоями двух соседних плазматических клеток. Щелевые контакты, состоящие из белковых каналов, обеспечивают избирательное прохождение ионов и низкомолекулярных веществ.

Отростки одонтобластов представлены в виде центральной стержневой структуры и отходящих от неё боковых ответвлений. Снаружи отростки одонтобластов ограничены плотной базальной мембраной и содержат цитоскелетные компоненты: микротрубочки, связанные актиновыми нитями. В основном стержне отростка одонтобласта расположены адгезивные белки - *виментин* и *нестин*. На поверхности базальной мембраны, покрывающей отростки, располагаются пузырьки, содержащие белок *клатрин*, который обеспечивает транспорт деградируемых или фрагментированных молекул внутриклеточного матрикса. Через отростки одонтобластов осуществляется доставка питательных компонентов к твёрдым тканям зуба, поэтому благодаря функционированию отростков одонтобластов поддерживается состав межклеточного вещества дентина на протяжении всей жизни зуба. Зрелые одонтобласты выполняют функцию образования вторичного дентина. В клетках периферического слоя одонтобластов пульпы установлено присутствие в высокой концентрации аминокислот серина, глицина,

треонина, аланина, валина, тирозина, фенилаланина, пролина, лейцина, аспартата и глутамата, необходимых для синтеза коллагеновых волокон, протеогликанов, гликопротеинов, гликозаминогликанов, фосфопротеинов и белков, контролирующих скорость минерализации дентина - остеокальцина, остеоонектина и кальцийсвязывающих. В центральном слое пульпы концентрируются гликоген и глюкоза. Присутствующие в одонтоблестах протеолитические ферменты участвуют в физиологической деградации коллагеновых волокон для последующего их обновления.

Иную функцию выполняют фибробласты. Если одонтоблесты участвуют в формировании минерализованного матрикса дентина, то фибробласты имеют отношение к синтезу гликопротеинов, гликозаминогликанов и коллагеновых волокон самой ткани пульпы.

Недавние исследования выявили наличие в пульпе клеток, обладающих высокой клоногенной и пролиферативной активностью - стволовых клеток пульпы зуба. Данный вид клеток может пролиферировать и дифференцироваться в одонтоблестоподобные клетки. Процесс активной пролиферации и дифференцировки происходит при различных физиологических состояниях, а также при кариесе, оперативных вмешательствах и ортодонтическом лечении.

Органические компоненты пульпы зуба

Межклеточное вещество пульпы включает коллагеновые волокна, погружённые в основное вещество, состоящее из различных белков, углеводов, липидов, ферментов, свободных аминокислот, гликопротеинов, протеогликанов, гликозаминогликанов и воды.

В пульпе зуба присутствует коллаген I типа (56%), III типа (41%), V типа (2%), VI типа (0,5%). Коллаген I типа образует широкие фибриллы. Коллаген III типа (ретикулярные волокна) формирует сетчатую структуру по периферии пульпы зуба. Коллагеновые волокна образуют барьер, который обеспечивает контроль над миграцией ионов и молекул как в пульпу, так и из неё. Эластические волокна имеются только в стенках сосудов. С кровеносными сосудами связаны окситалановые волокна - незрелые эластические волокна, которые находятся преимущественно в периферической части пульпы.

Липиды в пульпе зуба представлены фосфатидилхолином (45%), фосфатидилэтаноламином (24,1%), фосфатидилсерином (17,4%), сфингомиелинами (10,9%), фосфатидилинозитолом (2,4%), а также холестерином и жирными кислотами.

В пульпе зуба помимо коллагенов присутствует большое количество неколлагеновых белков. Методом двухмерного электрофореза в пульпе зуба

выявлено около 650 протеинов, из которых идентифицировано более 96. Часть из этих белков характерна только для тканей пульпы, однако большинство из них присутствуют и в других тканях (табл. 4.2).

Дентино-пульпарный комплекс

Таблица 4.2

Белки пульпы зуба

Название	Биологическая роль
Остеопонтин	Синтезируется одонтобластами и играет ключевую роль в построении минерализованного матрикса дентина, так как обеспечивает взаимодействие клеток с матриксом. Участвует в транспорте ионов
Кальцитонин	Стимулирует секрецию одонтобластов при образовании ткани дентина
Остеонектин	Взаимодействует с факторами роста и активирует синтез коллагена I типа. Этот белок необходим на этапах развития и созревания минерализованной ткани
Интегрины	Обеспечивают адгезию клеток пульпы к компонентам внеклеточного матрикса
Ламинины	Склеивает эпителиальные клетки с базальной мембраной. Участвует в одонтогенезе. Предполагается роль белка ламинина при построении эпителиальной оболочки полипа пульпы
Амелогенины	В пульпе зуба содержится около 1% амелогенинов. Обеспечивают склеивание многих типов клеток в пульпе зуба. Амелогенин является источником фосфата при построении дентинной ткани
Дентин-систофосфопротеин	Регулирует процессы дифференцировки одонтобластов, образования третичного дентина и ингибирует минерализацию пульпарной ткани
Щелочная фосфатаза	Локализована на клеточной мембране одонтобластов пульпы. Участвует в транспорте биологически важных соединений. Путём отщепления фосфатных групп от других протеинов, являющихся активаторами процессов минерализации, ингибирует минерализацию пульпарной ткани
Фибронектин	Участвует в пролиферации фибробластов в одонтобластоподобные клетки
Факторы роста	Ткань пульпы содержит большое количество ФРТ, низкие концентрации ФРЭ, плацентарного фактора роста и ФРФ, и очень низкие концентрации эпидермального фактора роста, а также морфогенетического белка кости, ТФР-β. Все факторы роста стимулируют или ингибируют пролиферацию клеток в пульпе зуба

Матриксные металлопротеиназы (ММП) и их ингибиторы (ТИМП)	В тканях пульпы и одонтоблестах обнаружены ММП-1, -2, -8, -9, -10, -11, -14, -15, -16, -19 и их ингибиторы ТИМП-1, -2, -3 и -4. Наиболее активна коллагеназа-3 (ММП-13), которая определяется в условиях патологии и при физиологических процессах. В пульпе зуба матриксные металлопротеиназы синтезируются одонтоблестами и необходимы при построении органического матрикса в дентине
Протеогликаны	В составе пульпы определяются протеогликаны – декорин, бигликан, версикан. Они придают тканям пульпы эластичность и устойчивость по отношению к сжатию
Гликозаминогликаны	Пульпа зуба содержит гликозаминогликаны – хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат (60%), дерматансульфат (34%), кератансульфат (2%) и 2% -гиалуроновой кислоты.

В отличие от эмали постоянство матрикса дентина зрелого зуба поддерживается за счёт функционирования одонтобластов пульпы зуба. Отростки одонтобластов пронизывают дентин до сочленения его с эмалью, формируя дентинные каналы. Плотность расположения дентинных трубочек различна и составляет от 18000 до 83000 на 1 мм² ткани дентина. Дентинные каналы становятся проводниками зубного ликвора. Дентинная жидкость по своему белковому составу близка к плазме крови. Кровеносные сосуды пульпы зуба отдают плазму окружающей ткани, заполняя дентинные каналы жидкостью через отростки одонтобластов. В жидкости содержатся необходимые компоненты для поддержания постоянства минерализованного матрикса дентина, которые поступают путём транскапиллярного обмена через пульпу в дентин. При нарушении транскапиллярного обмена в пульпе обнаруживается вакуолизация отдельных одонтобластов, а в дентине формируются участки пониженной кариесрезистентности. Вот почему взаимодействие пульпы и дентина зуба рассматривают в виде дентинопульпарного комплекса.

Благодаря жизнедеятельности клеток пульпы образуется вторичный дентин, который за счёт роста и минерализации зоны преддентина с возрастом уменьшает размеры пульпарной камеры. Вторичный дентин более минерализован, чем первичный дентин. Образование третичного дентина происходит в ответ на повреждение структуры твёрдых тканей зуба и формируется локально клетками пульпы, непосредственно реагирующими на раздражающее действие. Третичный дентин слабо минерализован и характеризуется неправильным образованием или отсутствием дентинных трубочек.

Таким образом дентинопульпарный комплекс обеспечивает тесную взаимосвязь между тканями дентина и пульпы зуба как в норме, так и в условиях патологии.

4.5. ЦЕМЕНТ ЗУБА И ПЕРИОДОНТАЛЬНЫЕ ВОЛОКНА

Цемент вместе с периодонтальными волокнами, альвеолой и десной формирует опорно-удерживающий аппарат зуба. Цемент - обызвествлённая часть зуба, сходная по своей структуре с костной тканью, но в отличие от неё лишена сосудов и не подвержена постоянной перестройке. Цемент прочно соединен с дентином, неравномерно покрывая его в области корня и шейки зуба. Толщина цемента минимальна в области шейки зуба (20-50 мкм) и максимальна у верхушки зуба (100-150 мкм). Самый толстый слой цемента покрывает корни жевательных зубов. Снаружи цемент прочно связан с тканями связочного аппарата зуба.

Вследствие продолжающегося в течение всей жизни ритмического отложения слоёв цемента на поверхности корня зуба его объём увеличивается в несколько раз.

- Цемент выполняет ряд функций: входит в состав поддерживающего (связочного) аппарата зуба,
- обеспечивая прикрепление к зубу волокон периодонта; защищает ткань дентина от повреждения;
- выполняет репаративные функции при образовании так называемых резорбционных лакун при переломе корня зуба.

Строение и состав цемента

Различают клеточный и бесклеточный цемент. Бесклеточный цемент развивается, как и эмаль зуба, из эктодермы. Он располагается на поверхности корня зуба и не содержит клеток. Межклеточное вещество обызвествлено и состоит из плотно расположенных коллагеновых волокон. Клеточный же цемент развивается из мезенхимы и покрывает область бифуркации корня, а также апикальную часть корня. Клеточный цемент состоит из обызвествленного межклеточного вещества и клеток. Клетки представлены цементоцитами и цементобластами.

Неорганические соединения в цементе составляют 68-70% его массы и представлены разными формами апатитов. На долю органических молекул - коллагена, протеогликанов, углеводов, липидов приходится 17-20%, остальные 10-15% занимает вода.

Органический матрикс цемента состоит главным образом из коллагенов I, II, III, V, XII, XIV типов. Из всех коллагенов цемента основным является коллаген I типа, который составляет 90%. Он выполняет структурную и морфогенетическую функции и образует плато для прикрепления минеральных кристаллов. Коллаген III типа составляет всего 5% и покрывает фибриллы коллагена I типа. В цементе также присутствуют коллагены II, XII,

XIV типов, характерные для хрящевой ткани. Эти типы коллагенов оказывают влияние на толщину и ориентацию коллагеновых фибрилл межклеточного матрикса цемента.

В цементе обнаружен специфический цементосвязывающий белок, который синтезируется цементобластами и способствует адгезии и перемещению мезенхимальных клеток.

Основой неколлагенового матрикса цемента являются два больших гликопротеина - *костный сиалопротеин* и *остеопонтин*, которые связаны с коллагеновыми белками и клетками через аминокислотные последовательности арг-гли-асп (RGD). Оба белка участвуют в процессах минерализации и играют большую роль в превращении прецементобластов в цементобласты. Костный сиалопротеин и остеопонтин секретируются клетками вдоль корневой поверхности на протяжении всего периода развития зуба. Полагают, что костный сиалопротеин выполняет преимущественно адгезивную функцию для поверхностных клеток зуба и участвует в процессах минерализации. Остеопонтин через взаимодействие с $\alpha\beta_3$ -интегрином клеточной мембраны регулирует миграцию клеток в период цементаобразующей активности. Остеопонтин также участвует в регуляции активности клеток моноцит-макрофагальной линии, фагоцитоза и образовании NO при воспалительных процессах.

В цементе присутствует фибронектин, который связывает клетки с внеклеточным матриксом. В базальной мембране гертвиговского влагалища в процессе дифференцировки одонтобластов появляется тенасцин. Позднее он участвует в связывании периодонтальных волокон с цементом зуба. Помимо этих белков цементобласты синтезируют остеоонектин, остеокальцин, ламинин и ундулин.

Ундулин локализуется между плотно упакованными зрелыми коллагеновыми фибриллами и относится к специфическим неколлагеновым фибриллярным белкам межклеточного матрикса цемента и периодонтальных связок. Различные домены в его структуре обеспечивают связывание этого белка с интерстициальными коллагенами и коллагеном I типа. Ундулин имеет сходство с тенасцином и фибронектином и вместе с этими белками участвует в развитии и дифференцировке клеток.

Таким образом, все вышеперечисленные белки участвуют в организации внеклеточного матрикса обоих видов цемента, кроме остеоонектина, который присущ только для клеточного слоя.

Цементогенез

В процессе образования цемента активно участвуют эктодермальные и мезенхимальные стволовые клетки. Цементобласты образуются из клеток-

предшественников - прецементобластов, а те, в свою очередь, от прогениторных стромальных клеток. Клетки-предшественники локализуются периваскулярно в периодонтальной связке или в эндостеальных участках альвеолярной кости.

При формировании корня зуба во внутренней поверхности эпителиального (гертвиговское) корневого влагалища откладывается дентин. В ходе дентиногенеза корневое влагалище распадается на отдельные фрагменты, и мало дифференцированные соединительнотканые клетки зубного мешочка дифференцируются в цементобласты. Цементпродуцирующие клетки формируют органический матрикс.

Пролиферацию и дифференцировку незрелых цементобластов активируют различные факторы роста, которые представлены морфогенетическим белком кости (МБК-2, -3, -4), фактором роста фибробластов, ТФР- β и инсулиноподобным фактором роста 1. Наряду с этими регуляторными факторами, была обнаружена уникальная молекула, свойственная только для ткани цемента - белок с мол. массой 14 кДа, названный фактором роста цемента. По своему аминокислотному составу он соответствует структуре инсулиноподобного фактора роста 1, но отличается по мол. массе.

Дифференцировку клеток и процессы минерализации в цементе также регулирует белок остеопонтин (схема 4.1).

Периодонтальные волокна

Периодонтальные волокна являются разновидностью соединительной ткани со специальными свойствами. Они помогают зубу прочно удерживаться в костной лунке и противостоять большим сжимающим силам в процессе жевания без разрушения смежной кости альвеолы. Периодонтальные волокна также выполняют сенсорную функцию, так как в них имеются чувствительные рецепторы, которые помогают регулировать силу жевательного давления на зуб. Это имеет большое значение, поскольку эмаль зуба лишена самостоятельных сенсорных рецепторов. Периодонтальные волокна обеспечивают питание и жизнеспособность цемента.

Регуляторные факторы

Стадии цементогенеза

факторы роста
инсулиноподобный-1
колониестимулирующий
фибробластов
тромбоцитарный

хемотаксис и адгезия
клеток предшественников



пролиферация клеток



факторы роста
инсулиноподобный-1
колониестимулирующий
фибробластов
 β -трансформирующий
морфогенетический белок кости
белки внеклеточного матрикса:
коллагены, костный сиалопротеин,
фибронектин, остеопонтин,
гидроксиапатит

дифференцировка клеток
матричный синтез, минерализация

Схема 4.1. Регуляция цементогенеза на разных стадиях развития.

Клетки периодонта - фибробласты синтезируют белки для поддержания структуры и функции клеток костной ткани, окружающей зуб. В периодонтальных волокнах содержится большое количество коллагеновых белков I, III, V и VI типов, а также различные гликопротеины, факторы роста, адгезивные белки и ферменты. В клетках периодонта активно протекают реакции трансаминирования, глюконеогенеза, синтеза белков. Это обеспечивает тканям периодонта очень высокую регенеративную способность и позволяет обновлять их каждые 10-14 дней.

Формирование периодонтальных волокон

Периодонтальные волокна начинают образовываться в момент формирования корня. Эмалевый орган и гертвиговское влагалище окружены зубным мешочком, который представляют собой уплотнённые клеточные структуры. Тонкий слой этих клеток соприкасается с эмалевым органом. Эти клетки вначале формируют конструкцию, по своей форме напоминающей стручок. Клетки этого «стручка» начинают делиться и дифференцируются в цементобласты, фибробласты и остеобласты. Фибробласты начинают синтезировать коллагеновые фибриллы, которые и составляют основу периодонтальных связей. Рост волокон периодонта продолжается

регулироваться различными факторами роста: β -трансформирующего, инсулиноподобного-1, фибробластов, тромбоцитарного, колониестимулирующего. Сформированные волокна одним концом переплетаются с отростками цементацитов, а другим концом прочно соединяются с остеобластами кости. По мере продвижения зуба и его прорезывания ориентация этих волокон приобретает определённый характер. Роль цемента и костной ткани в регенерации периодонта

Исследователями установлено, что у человека периодонтальная связка может быть источником предшественников цементобластов, так как малая часть клеточных клонов, культивированных из периодонтальной связки, формирует цементоподобные минерализованные модули в культуре и образуют специфические для цемента маркёры.

Восстановление разрушенной структуры цемента, возможно, происходит за счёт клеток периодонта, когда собственные клетки не способны к синтезу предшественников. В этом случае цементобласты образуются из стволовых клеток, присутствующих в периодонтальных волокнах, десне или альвеолярной кости. В настоящее время молекулы, отвечающие за дифференцировку, пролиферацию и перемещение цементобластоподобных клеток, не идентифицированы.

Нарушение структуры в периодонте и функции цемента нередко возникают после воспалительных явлений и оперативных вмешательств. Происходит разрушение волокон коллагена, осаждение субстанций бактериальной бляшки и бактериальных эндотоксинов, что приводит к образованию пародонтальных карманов. Деструкция коллагеновых волокон отражается на функционировании поверхностных слоёв цемента, нарушаются процессы адгезии клеток соединительной ткани и они замещаются эпителиальными клетками.

В лечении заболеваний тканей пародонта в дальнейшей перспективе можно использовать культуры клеток, а также цементосвязывающий белок. Для улучшения адгезии клеток соединительной ткани поверхность цемента зуба обрабатывают раствором фибронектина.

При частичном разрыве периодонтальных волокон клетки костной ткани синтезируют коллагеновые волокна, факторы роста и адгезивные белки, способствующие быстрому восстановлению целостности опорно-удерживающего аппарата. Извлечение зуба и трансплантация его обратно в костную лунку приводит либо к частичному восстановлению связок, либо к сращению корня зуба с альвеолой (анкилоз).

Так как ткань цемента более инертна в своей биологической активности, основная роль в возникновении заболеваний периодонта принадлежит

костной ткани. При длительной нагрузке на зуб возникает ряд изменений в дифференцировке и пролиферации клеток костной ткани. При напряжении передаётся сигнал к клеткам периодонта, которые начинают активировать синтез циклооксигеназы, провоспалительных цитокинов, протеолитических ферментов, что приводит к деградации коллагеновых фибрилл с последующим разрушением волокон периодонта. Osteoblastы, расположенные вдоль приграничной зоны костной ткани с корнем зуба, в ответ на механическое воздействие, переданное периодонтом, подвергаются апоптозу. При этом активируется работа остеокластов, которые резорбируют поверхность корня и формируют лакунарные поверхности. Клетки волокон периодонта синтезируют белок остеопротегерин, который необходим для ингибирования процессов резорбции костной ткани.

Когда сцепление волокон периодонта с костной тканью ослабевает, зуб становится подвижным, нарастают воспалительные изменения в окружающих мягких тканях и формируются периодонтальные щели.

4.6. ЗУБОДЕСНЕВОЕ СОЕДИНЕНИЕ

Десневая борозда - узкое щелевидное пространство между зубом и десной, располагающееся от края свободной десны до эпителия прикрепления. Глубина десневой борозды варьирует в пределах 0,5- 3,0 мм и составляет в среднем 1,8 мм. В десневой борозде содержится жидкость, которая выделяется через эпителий прикрепления и представляет собой физиологическую среду сложного состава. В жидкости содержатся десквамированные клетки эпителия борозды, лейкоциты, мигрировавшие в борозду сквозь эпителий прикрепления. За сутки в ротовую полость поступает 0,5-2,5 мл десневой жидкости.

В механизме образования десневой жидкости большое значение принадлежит морфологическим особенностям строения сосудов и эпителия десневой борозды. Концевые сосуды в этой области расположены под эпителием и параллельно ему, что создаёт условия для трансудации содержимого капилляров, включая даже некоторые белки, в ротовую полость.

Благодаря особенностям эпителия прикрепления, а именно широким межклеточным промежуткам и уменьшенному количеству десмосом, связывающих эпителиоциты, обеспечивается транспорт веществ через него в обоих направлениях. Многие вещества переносятся из крови в просвет десневой борозды. Таким путём транспортируются электролиты, иммуноглобулины, компоненты комплемента, белки, ферменты, антибактериальные вещества. В этих межклеточных пространствах выявляются многочисленные нейтрофильные гранулоциты, моноциты, которые мигрируют из десны в десневую борозду. В то же время из слюны и

с поверхности слизистой оболочки осуществляется массивное поступление антигенов в ткани внутренней среды, что, возможно, необходимо для адекватной стимуляции функции иммунной системы. Таким образом, у людей со здоровым пародонтом десневая жидкость представляет собой трансудат сыворотки крови.

Количество десневой жидкости в норме невелико и зависит от времени суток (утром уменьшается, а вечером увеличивается), местоположения зуба, состояния пародонта. Появление патологических пародонтальных карманов (при воспалении пародонта) сопровождается увеличением количества десневой жидкости и изменением её состава. Не следует упрощенно рассматривать десневую жидкость как среду, через которую вещества выходят только в полость рта. Скорее это водная среда, окружающая зуб, которая определяет его амортизационные свойства в ответ на жевательную нагрузку, поэтому любой сдвиг в количестве и составе десневой жидкости может сказаться в дальнейшем на функции и подвижности зубных рядов.

Состав десневой жидкости

Десневая жидкость в различных соотношениях содержит элементы плазмы крови; межклеточную жидкость тканей десны и периодонта; лейкоциты; микроорганизмы и их метаболиты.

Минеральные вещества. Хотя установлено, что десневая жидкость образуется в основном из плазмы крови всё-таки её ионный состав несколько отличается от плазмы. Так, установлено, что количество ионов Na^+ и K^+ в десневой жидкости выше, чем в тканях десны и значительно ниже, чем в плазме крови. При воспалении пародонта в десневой жидкости может меняться соотношение ионов Na^+ и K^+ , при этом может увеличиваться как количество Na^+ , так и K^+ . В целом же деструкция тканей пародонта чаще сопровождается ростом ионов K^+ . В десневой жидкости также определяются ионы Ca^{2+} , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , S^{2+} , F^- , Cl^- . Интересно, что концентрация фтора в десневой жидкости и плазме крови одинакова и предполагается, что десневая жидкость является одним из источников фтора в полости рта. Ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} в десневой жидкости вызывают адгезию микроорганизмов и осаждение гликопротеинов на поверхности эмали, что играет определённую роль в формировании зубного налёта.

Белки и ферменты десневой жидкости. Установлено, что белковый состав десневой жидкости и сыворотки крови одинаков. Количество общего белка в десневой жидкости составляет 61-68 г/л. Оно не меняется при развитии пародонтита и не зависит от степени тяжести воспаления и гигиены полости рта. В десневую жидкость из плазмы крови поступают альбумин и глобулины. Глобулиновая фракция в норме представлена ферментами,

иммуноглобулинами и рядом других белков - компонентов системы комплемента и фибринолиза, лактоферрином и др.

Изменение количества IgG, а также появление IgM и IgA, возрастание количества полиморфноядерных лейкоцитов с активацией системы комплемента следует рассматривать как часть системы клеточно-гуморального ответа в ответ на агрессивную микрофлору, появляющуюся в полости рта. Присутствующие все 9 компонентов системы комплемента играют важную роль в фагоцитозе, хемотаксисе и освобождении вазоактивных веществ.

Считается, что помимо участия в иммунном ответе, белки десневой жидкости участвуют в соединении эпителия десневого желобка с поверхностью зуба, образуя плёнку натяжения на соприкасающихся поверхностях. В формировании плёнки участвуют белки клеточной адгезии типа фибронектина, а также белок фибрин. Препятствуют образованию плотной фибриновой плёнки белки системы фибринолиза - плазмин, плазминоген и его активаторы.

В норме активность ферментов в десневой жидкости невелика. В десневую жидкость ферменты поступают из плазмы крови, клеточных элементов десны, волокон периодонта и смешанной слюны. В десневой жидкости определяется активность кислой и щелочной фосфатаз, гиалуронидазы, β -глюкуронидазы, арилсульфатазы, лизоцима, нитратредуктазы, малатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, трансаминаз, ферментов гликолиза и др.

Изменения десневой жидкости при патологии пародонта

При деструктивно-воспалительных изменениях в тканях пародонта в десневой жидкости повышается активность протеолитических ферментов - матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов. Матриксные металлопротеиназы (эластаза, коллагеназа) участвуют в гидролизе коллагена, эластина, иммуноглобулинов и многих других белков межклеточного матрикса (табл. 4.3).

При деструктивном пародонтите под действием протеиназ бактерий происходит разрастание клеток эпителия, завершающееся формированием глубокого пародонтального кармана.

Таблица 4.3

Показатели десневой жидкости при развитии воспаления в пародонте

Показатель	Гингивит	Пародонтит
Масляная кислота	++	+
Эндотоксины	++	+

Гидроксипролин	-	+
Гликозаминогликаны	-	+
Коллагеназа	+	++
Эластаза	-	++
Катепсин D	+	++
Гиалуронидаза	+	++
Арилсульфатаза	+	++
Лактоферрин	+	+
Интерлейкин 1-β	+	+
Иммуноглобулины A, G, M	+	+

Условные обозначения: «-» отсутствие; «+» небольшое количество метаболита или небольшая активность фермента; «++» большое количество метаболита или высокая активность фермента. *Гингивит* - воспаление десны; *пародонтит* - воспаление тканей пародонта.

Зубы располагаются в костных лунках - отдельных ячейках альвеолярных отростков верхней и нижней челюстей. Костная ткань - разновидность соединительной ткани, развивающаяся из мезодермы и состоящая из клеток, межклеточного неминерализованного органического матрикса (остеоид) и основного минерализованного межклеточного вещества.

ГЛАВА 5 ОРГАНИЗАЦИЯ И СТРОЕНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ ОТРОСТКОВ

5.1. ОРГАНИЗАЦИЯ И СТРОЕНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ ОТРОСТКОВ

Поверхность кости альвеолярного отростка покрыта *надкостницей (периост)*, образованной преимущественно плотной волокнистой соединительной тканью, в которой различают 2 слоя: наружный - волокнистый и внутренний - остеогенный, содержащий остеобласты. Из остеогенного слоя надкостницы в кость проходят сосуды и нервы. Толстые пучки прободающих коллагеновых волокон связывают кость с надкостницей. Надкостница осуществляет не только трофическую функцию, но и участвует в росте и регенерации кости. Вследствие этого костная ткань альвеолярных отростков обладает высокой регенеративной способностью не только в физиологических условиях, при ортодонтических воздействиях, но и после повреждения (переломы).

Минерализованный матрикс организован в трабекулы - структурно-функциональные единицы губчатой костной ткани. В лакунах

минерализованного матрикса и по поверхности трабекул располагаются клетки костной ткани - остециты, остеобласты, остеокласты.

В организме постоянно происходят процессы обновления костной ткани путём сопряженного по времени костеобразования и рассасывания (резорбция) кости. В этих процессах активно участвуют различные клетки костной ткани.

Клеточный состав костной ткани

Клетки занимают всего лишь 1-5% общего объёма костной ткани скелета взрослого человека. Различают 4 типа клеток костной ткани.

Мезенхимальные недифференцированные клетки кости находятся главным образом в составе внутреннего слоя надкостницы, покрывающей поверхность кости снаружи - периоста, а также в составе эндоста, выстилающего контуры всех внутренних полостей кости, внутренние поверхности кости. Их называют *выстилающими*, или *контурными*, клетками. Из этих клеток могут образовываться новые клетки кости - остеобласты и остеокласты. В соответствии с этой их функцией их также называют *остеогенными* клетками.

Остеобласты - клетки, находящиеся в зонах костеобразования на внешних и внутренних поверхностях кости. Остеобласты содержат достаточно большое количество гликогена и глюкозы. С возрастом это количество уменьшается в 2-3 раза. Синтез АТФ на 60% связан с реакциями гликолиза. По мере старения остеобластов реакции гликолиза активируются. В клетках протекают реакции цитратного цикла, и наибольшей активностью обладает цитратсинтаза. Синтезируемый цитрат используется в дальнейшем на связывание Ca^{2+} , необходимого для процессов минерализации. Поскольку функцией остеобластов является создание органического межклеточного матрикса кости, эти клетки содержат большое количество РНК, необходимых для синтеза белков. Остеобласты активно синтезируют и выделяют во внеклеточное пространство значительное количество глицерофосфолипидов, которые способны связывать Ca^{2+} и участвовать в процессах минерализации. Клетки сообщаются между собой через десмосомы, которые позволяют проходить Ca^{2+} и цАМФ. Остеобласты синтезируют и выделяют в окружающую среду фибриллы коллагена, протеогликаны и гликозаминогликаны. Они также обеспечивают непрерывный рост кристаллов гидроксиапатитов и выступают в качестве посредников при связывании минеральных кристаллов с белковой матрицей. По мере старения остеобласты превращаются в остециты.

Остециты - древовидные клетки костной ткани, включенные в органический межклеточный матрикс, которые контактируют друг с другом через

отростки. Остеоциты взаимодействуют и с другими клетками костной ткани: остеокластами и остеобластами, а также с мезенхимальными клетками кости.

Остеокласты - клетки, выполняющие функцию разрушения кости; образуются из макрофагов. Они осуществляют непрерывный управляемый процесс реконструкции и обновления костной ткани, обеспечивая необходимый рост и развитие скелета, структуру, прочность и упругость костей.

Межклеточное и основное вещество костной ткани

Межклеточное вещество представлено органическим межклеточным матриксом, построенным из коллагеновых волокон (90-95%) и основным минерализованным веществом (5-10%). Коллагеновые волокна в основном расположены параллельно направлению уровня наиболее вероятных механических нагрузок на кость и обеспечивают упругость и эластичность кости.

Основное вещество межклеточного матрикса состоит главным образом из внеклеточной жидкости, гликопротеинов и протеогликанов, участвующих в перемещении и распределении неорганических ионов. Минеральные вещества, размещённые в составе основного вещества в органическом матриксе кости представлены кристаллами, главным образом гидроксиапатитом $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Соотношение кальций/фосфор в норме составляет 1,3-2,0. Кроме того, в кости обнаружены ионы Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , SO_4^{2-} , HCO_3^- , гидроксильные и другие ионы, которые могут принимать участие в образовании кристаллов. Минерализация кости связана с особенностями гликопротеинов костной ткани и активностью остеобластов.

Основными белками внеклеточного матрикса костной ткани являются коллагеновые белки I типа, которые составляют около 90% органического матрикса кости. Наряду с коллагеном I типа присутствуют следы других типов коллагена, таких как V, XI, XII. Не исключено, что эти типы коллагена принадлежат другим тканям, которые и находятся в костной ткани, но не входят в состав костного матрикса. Например, коллаген V типа обычно обнаруживается в сосудах, которые пронизывают кость. Коллаген XI типа находится в хрящевой ткани и может соответствовать остаткам кальцифицированного хряща. Источником коллагена XII типа могут быть «заготовки» коллагеновых фибрилл. В костной ткани коллаген I типа содержит производные моносахаридов, имеет меньшее количество поперечных связей, чем в других видах соединительной ткани, и эти связи формируются посредством аллизина. Ещё одним возможным отличием является то, что N-концевой пропептид коллагена I типа фосфорилирован и этот пептид частично сохраняется в минерализованном матриксе.

Неколлагеновые белки костной ткани. В костной ткани содержится около 10% неколлагеновых белков. Они представлены гликопротеинами и протеогликанами (рис. 5.1).

Из общего количества неколлагеновых белков 10% приходится на долю протеогликанов. Вначале синтезируется большой хондроитинсодержащий протеогликан, который по мере формирования костной ткани разрушается и замещается двумя малыми протеогликанами: декорином и бигликаном.



Рис. 5.1. Содержание неколлагеновых белков в межклеточном матриксе костной ткани [по Gehron R. P., 1992].

Малые протеогликаны внедряются в минерализованный матрикс. Декорин и бигликан активируют процессы дифференцировки и пролиферации клеток, а также вовлечены в регуляцию отложения минералов, морфологию кристалла и объединение элементов органического матрикса. Первым синтезируется бигликан, содержащий дерматансульфат; он влияет на процессы клеточной пролиферации. В фазу минерализации появляется бигликан, связанный с хондроитинсульфатом. Декорин синтезируется позднее, чем бигликан, в стадию отложения белков для формирования межклеточного матрикса; он остаётся и в фазе минерализации. Предполагают, что декорин «отшлифовывает» молекулы коллагена и регулирует диаметр фибрилл. В ходе формирования кости оба белка продуцируются остеобластами, но когда эти клетки становятся остеоцитами, они синтезируют только бигликан.

Из костного матрикса в небольших количествах были выделены и другие типы малых протеогликанов, которые выступают в качестве рецепторов и облегчают связывание факторов роста с клеткой. Эти типы молекул находятся в мембране или прикрепляются к клеточной мембране посредством фосфоинозитоловых связей.

В костной ткани также присутствует гиалуроновая кислота. Вероятно, она играет важную роль в морфогенезе этой ткани.

Помимо протеогликанов в кости определяется большое количество разнообразных белков, относящихся к гликопротеинам (табл. 5.1).

Как правило, эти белки синтезируются остеобластами и способны связывать фосфаты или кальций; таким образом они принимают участие в формировании минерализованного матрикса. Связываясь с клетками, коллагенами и протеогликанами, они обеспечивают образование надмолекулярных комплексов матрикса костной ткани (рис. 5.2).

В остеоиде присутствуют протеогликаны: фибромодулин, бигликан, декорин, коллагеновые белки и морфогенетический белок кости. В минерализованном матриксе замурованы остеоциты, которые связаны с коллагенами. На коллагенах фиксированы гидроксиапатиты, остеокальцин, остеоадерин. В минерализованном межклеточном матриксе остеоадерин связывается с остеонектином, а остеокальцин с коллагеном. Морфогенетический белок кости располагается в приграничной зоне между минерализованным и неминерализованным матриксом. Остеопонтин регулирует активность остеокластов.

Свойства и функции белков костной ткани представлены в табл. 5.1.



Рис. 5.2. Участие различных белков в образовании матрикса костной ткани.

Таблица 5.1

Неколлагеновые белки костной ткани

Белок	Свойства и функции
Остеонектин	Гликофосфопротеин, способный связывать Ca^{2+}
Щелочная фосфатаза	Отщепляет фосфат от органических соединений при щелочных значениях pH среды
Тромбоспондин	Белок с мол. массой 145 кДа, состоящий из трех идентичных субъединиц, связанных друг с другом дисульфидными связями. Каждая субъединица имеет несколько различных доменов, которые придают белку способность связываться с другими белками костного матрикса - гепарансодержащими протеогликанами, фибронектином, ламинином, коллагеном I и V типов и остеонектином. В N-концевой области тромбоспондина содержится последовательность аминокислот, обеспечивающая прикрепление клеток. На связывание тромбоспондина с рецепторами на поверхности клетки влияет концентрация Ca^{2+} . В костной ткани тромбоспондин синтезируется остеобластами
Фибронектин	Связывается с поверхностью клеток, фибрином, гепарином, бактериями, коллагеном. В костной ткани

	фибронектин синтезируется на ранних стадиях остеогенеза и сохраняется в минерализованном матриксе
Остеопонтин	Гликофосфопротеин, содержащий N- и O-связанные олигосахариды; участвует в адгезии клеток
Костный кислый гликопротеин-75	Белок с мол. массой 75 кДа, содержит сиаловые кислоты и остатки фосфата. Способен связывать ионы Ca^{2+} , присутствующие в кости, дентину и хрящевой ростковой пластинке. Ингибирует процессы резорбции костной ткани
Костный сиалопротеин	Адгезивный гликопротеин, содержащий до 50% углеводов
Матриксный Gla-белок	Белок, содержащий 5 остатков 7-карбоксихлутаминовой кислоты; способен связываться с гидроксиапатитом. Появляется на ранних стадиях развития костной ткани; белок обнаружен также в лёгких, сердце, почках, хряще

Остеокальцин	Белок, синтезируемый остеобластами и содержащий 3 остатка 7-карбоксихлутаминовой кислоты. Связывается с гидроксиапатитом; локализуется во внеклеточном матриксе костной ткани
Протеин S	Белок, содержащий остатки 7-карбоксихлутаминовой кислоты; синтезируется главным образом в печени. До сих пор не установлено, какой тип клеток в костной ткани ответственен за синтез этого белка. Предполагается об его участии в метаболизме костной ткани. При дефиците обнаруживаются изменения костного скелета

5.2. ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

В процессе жизнедеятельности кость постоянно обновляется, то есть разрушается и восстанавливается. При этом в ней происходят два противоположно направленных процесса - резорбция и восстановление. Соотношение этих процессов называется ремоделированием костной ткани.

Известно, что каждые 30 лет костная ткань изменяется почти полностью. В норме кость «растет» до 20-летнего возраста, достигая пика костной массы. В этот период прирост костной массы составляет до 8% в год. Далее до 30-35-летнего возраста идет период более или менее устойчивого состояния. Затем начинается естественное постепенное снижение костной массы, составляющее обычно не более 0,3-0,5% в год. После наступления менопаузы у женщин отмечается максимальная скорость потери костной ткани, которая достигает 2-5% в год и продолжается в таком темпе до 60-70 лет. В итоге

женщины теряют от 30 до 50% костной ткани. У мужчин эти потери обычно составляют 15-30%.

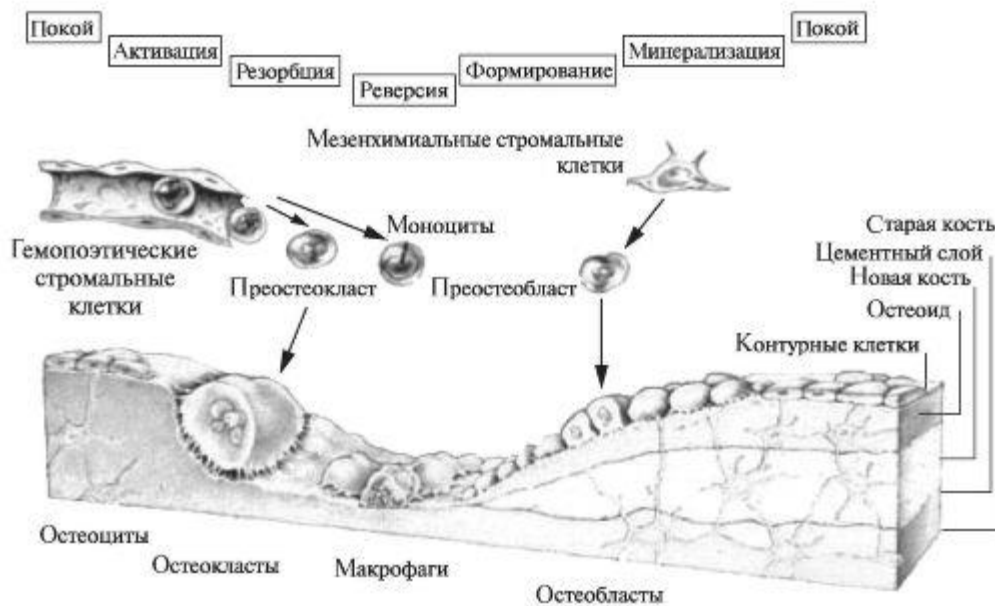


Рис. 5.3. Стадии ремоделирования костной ткани [по Martin R.V., 2000, с изменениями].

Процесс ремоделирования костной ткани происходит в несколько этапов (рис. 5.3). На первом этапе участок костной ткани, подлежащий резорбции запускают остециты. Для активации процесса необходимо участие паратиреоидного гормона, инсулиноподобного фактора роста, интерлейкинов-1 и -6, простагландинов, кальцитриола, фактора некроза опухоли. Тормозится этот этап ремоделирования эстрогенами. На данном этапе поверхностные контурные клетки изменяют свою форму, превращаясь при этом из плоских округлых клеток в кубические.

Остеобласты и Т-лимфоциты секретируют лиганды рецепторов активатора фактора нуклеации каппа В (RANKL) и до определённого момента молекулы RANKL могут оставаться связанными с поверхностью остеобластов или стромальных клеток.

Из стволовой клетки костного мозга образуются предшественники остеокластов. Они имеют мембранные рецепторы, называемые рецепторами активатора фактора нуклеации каппа В (RANK). На следующем этапе RANK-лиганды (RANKL) связываются с RANK-рецепторами, что сопровождается слиянием нескольких предшественников остеокластов в одну крупную структуру и формируются зрелые многоядерные остеокласты.

Образующийся активный остеокласт создаёт на своей поверхности гофрированный край и зрелые остеокласты начинают резорбировать костную ткань (рис. 5.4). На стороне прилегания остеокласта к разрушаемой поверхности различают две зоны. Первая зона - наиболее обширная,

называемая щеточной каемкой, или гофрированным краем. Гофрированный край - это скрученная спиралью мембрана с множественными цитоплазматическими складками, которые обращены в сторону резорбции на костной поверхности. Через мембрану остеокласта освобождаются лизосомы, содержащие большое количество гидролитических ферментов (катепсины К, D, В, кислая фосфатаза, эстераза, гликозидазы и др). В свою очередь, катепсин К активирует матриксную металлопротеиназу-9, которая участвует в деградации коллагена и протеогликанов межклеточного матрикса. В этот период в остеокластах растёт активность карбоангидразы. Ионы HCO_3^- обмениваются на Cl^- , которые накапливаются в гофрированном крае; туда же переносятся ионы H^+ . Секреция H^+ осуществляется за счёт очень активной в остеокластах H^+/K^+ -АТФазы. Развивающийся ацидоз способствует активации лизосомных ферментов и способствует разрушению минерального компонента.

Вторая зона окружает первую и как бы герметизирует область действия гидролитических ферментов. Она свободна от органелл и называется чистой зоной, поэтому костная резорбция происходит только под гофрированным краем в замкнутом пространстве.

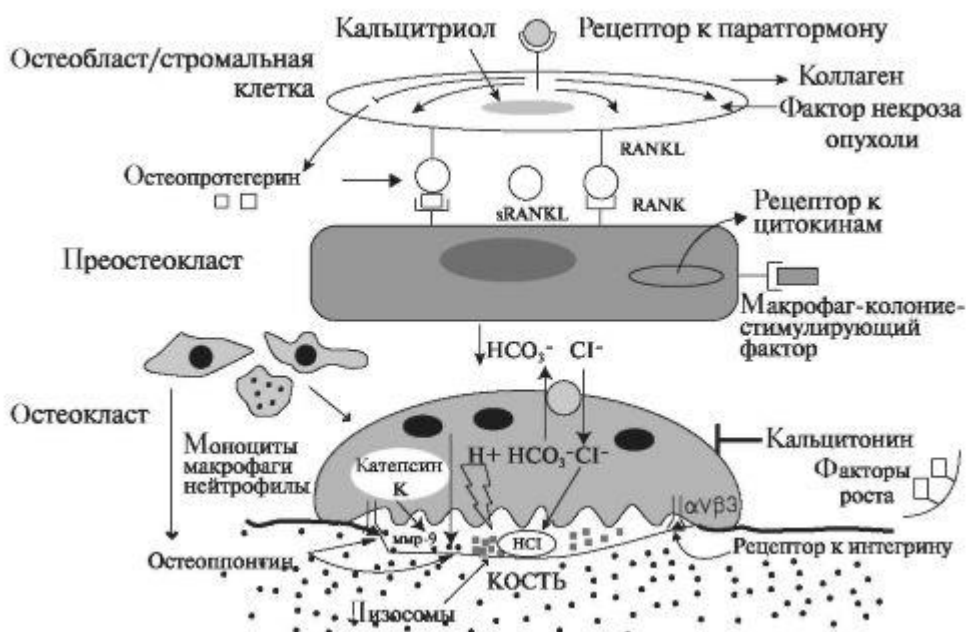


Рис. 5.4. Активация преостеокласта RANKL и формирование активным остеобластом гофрированной каймы, приводящей к резорбции костной ткани [по Edwards P. A., 2005, с изменениями].

На стадии образования остеокластов из предшественников процесс может блокироваться белком остеопротегерином, который, свободно перемещаясь, способен связывать RANKL и таким образом предотвращать взаимодействие RANKL с RANK-рецепторами (см. рис.

5.4). *Остеопротегерин* - гликопротеин с мол. массой 60-120 кДа,

относящийся к семейству рецепторов ФНО. Ингибируя связывание RANK с RANK-лигандом, остеопротегерин тем самым подавляет мобилизацию, пролиферацию и активацию остеокластов, поэтому увеличение синтеза RANKL приводит к резорбции костной ткани и, следовательно, к потере костной массы.

Характер ремоделирования костной ткани во многом определяется балансом между продукцией RANKL и остеопротегерина. Недифференцированные стромальные клетки костного мозга в большей степени синтезируют RANKL и в меньшей степени остеопротегерин. Возникающий дисбаланс системы RANKL/остеопротегерин при увеличении RANKL приводит к резорбции кости. Данное явление наблюдается при постменопаузальном остеопорозе, болезни Педжета, костных потерях при метастазах рака и ревматоидном артрите.

Зрелые остеокласты начинают активно поглощать кость, а завершают разрушение органической матрицы межклеточного вещества кости макрофаги. Резорбция длится около двух недель. Затем остеокласты в соответствии с генетической программой умирают. Апоптоз остеокластов может задерживаться при недостатке эстрогенов. На последнем этапе в зону разрушения прибывают плюрипотентные стволовые клетки, которые дифференцируются в остеобласты. В дальнейшем остеобласты синтезируют и минерализуют матрикс в соответствии с новыми условиями статической и динамической нагрузки на кость.

Существует большое число факторов, стимулирующих развитие и функции остеобластов (рис. 5.5). Вовлечение в процесс перестройки кости остеобластов стимулируется различными факторами роста - ТФР- β , морфогенетическим белком кости, инсулиноподобным фактором роста, фактором роста фибробластов, тромбоцитов, колониестимулирующим и гормонами - паратирином, кальцитриолом, а также связывающим фактором ядра α -1 и тормозится белком лептином. Лептин - белок с мол. массой 16 кДа образуется преимущественно в адипоцитах; своё действие реализует через повышение синтеза цитокинов, факторов роста эпителия и кератиноцитов.

Морфогенетический белок кости

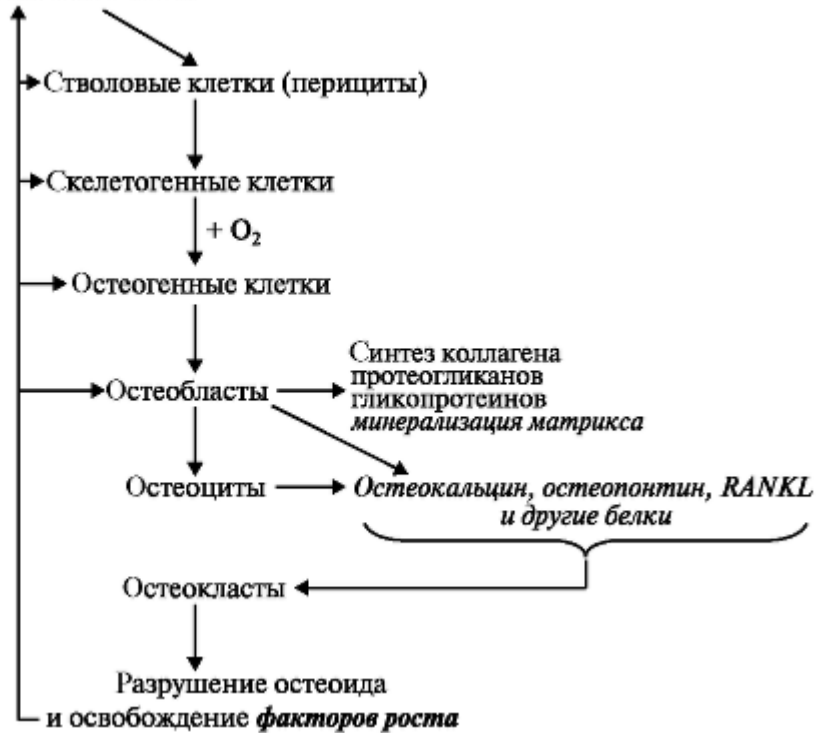


Рис. 5.5. Ремоделирование костной ткани.

Активные секретирующие остеобласты создают слои остеоида - неминерализованного матрикса кости и медленно восполняют полость резорбции. При этом они секретируют не только различные факторы роста, а также белки межклеточного матрикса - остеопонтин, остеокальцин и другие. Когда образующийся остеоид достигает диаметра $6 \cdot 10^{-6}$ м, он начинает минерализоваться. Скорость процесса минерализации зависит от содержания кальция, фосфора и ряда микроэлементов. Процесс минерализации управляется остеобластами и тормозится пирофосфатом.

Образование кристаллов минерального остова кости индуцирует коллаген. Формирование минеральной кристаллической решётки начинается в зоне, находящейся между коллагеновыми фибриллами. Затем они, в свою очередь, становятся центрами для отложения в пространстве между коллагеновыми волокнами (рис. 5.6).

Формирование кости происходит только в непосредственной близости от остеобластов, причём минерализация начинается в хряще, который состоит из коллагена, находящегося в протеогликановом матриксе.

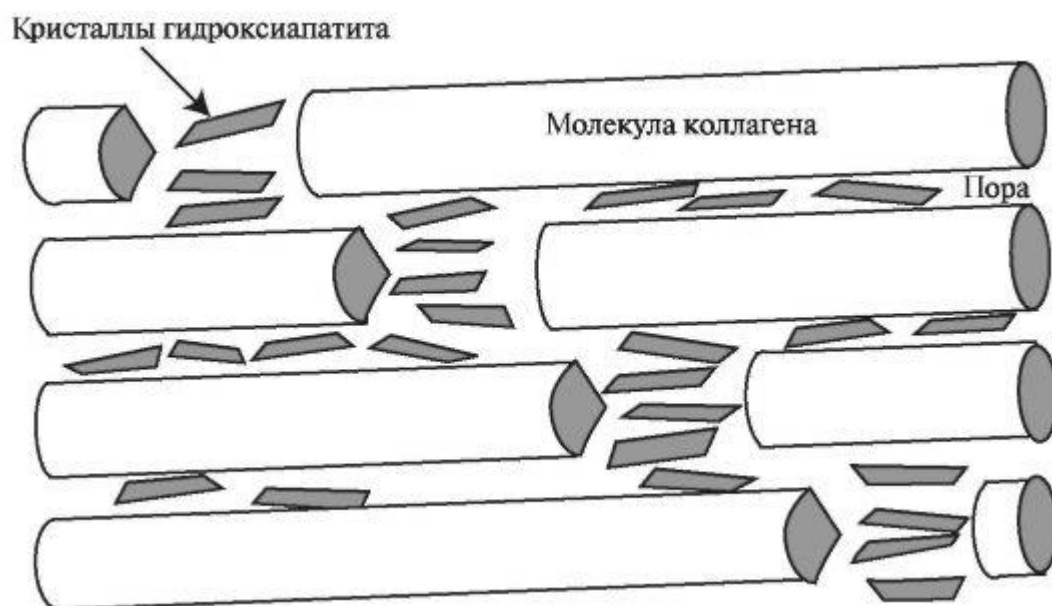


Рис. 5.6. Отложение кристаллов гидроксиапатита на коллагеновых волокнах.

Протеогликаны повышают растяжимость коллагеновой сети. В зоне кальцификации происходит разрушение комплексов белок-полисахарид в результате гидролиза белкового матрикса лизосомальными ферментами клеток кости. По мере роста кристаллы вытесняют не только протеогликаны, но и воду. Плотная, полностью минерализованная кость, практически обезвожена; коллаген составляет 20% массы и 40% объема такой ткани; остальное приходится на долю минеральной части.

Начало минерализации характеризуется усиленным поглощением остеобластами молекул O_2 , активацией окислительно-восстановительных процессов и окислительного фосфорилирования. В митохондриях накапливаются ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} . Начинается синтез коллагеновых и неколлагеновых белков, которые затем после посттрансляционной модификации секретируются из клетки. Формируются различные везикулы, в составе которых переносится коллаген, протеогликаны и гликопротеины. От остеобластов отпочковываются особые образования, называемые матриксными пузырьками, или мембранными везикулами. Они содержат в большой концентрации ионы Ca^{2+} , которая превышает в 25-50 раз содержание их в остеобластах, а также глицерофосфолипиды и ферменты - щелочную фосфатазу, пирофосфатазу, аденозинтрифосфатазу и аденозинмонофосфатазу. Ионы Ca^{2+} в мембранных везикулах связаны преимущественно с отрицательно заряженным фосфатидилсеринем. В межклеточном матриксе мембранные везикулы разрушаются с освобождением ионов Ca^{2+} , пирофосфатов, органических соединений, связанных с остатками фосфорной кислоты. Присутствующие в мембранных везикулах фосфогидролазы, и в первую очередь щелочная фосфатаза, отщепляют фосфат от органических соединений, а пирофосфат

гидролизуется пирофосфатазой; ионы Ca^{2+} соединяются с PO_4^{3-} , что приводит к появлению аморфного фосфата кальция.

Одновременно происходит частичное разрушение протеогликанов, связанных с коллагеном I типа. Освобождающиеся фрагменты протеогликанов, заряженные отрицательно, начинают связывать ионы Ca^{2+} . Некоторое число ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} образуют пары и триплеты, которые связываются с коллагеновыми и неколлагеновыми белками, формирующими матрицу, что сопровождается образованием кластеров, или ядер. Из белков костной ткани наиболее активно связывают ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} остеонектин и матриксные Gla-белки. Коллаген костной ткани связывает ионы PO_4^{3-} через ϵ -аминогруппу лизина с образованием фосфоамидной связи.

Начало минерализации характеризуется усиленным поглощением остеобластами молекул O_2 , активацией окислительно-восстановительных процессов и окислительного фосфорилирования. В митохондриях накапливаются ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} . Начинается синтез коллагеновых и неколлагеновых белков, которые затем после посттрансляционной модификации секретируются из клетки. Формируются различные везикулы, в составе которых переносится коллаген, протеогликаны и гликопротеины. От остеобластов отпочковываются особые образования, называемые матриксными пузырьками, или мембранными везикулами. Они содержат в большой концентрации ионы Ca^{2+} , которая превышает в 25-50 раз содержание их в остеобластах, а также глицерофосфолипиды и ферменты - щелочную фосфатазу, пирофосфатазу, аденозинтрифосфатазу и аденозинмонофосфатазу. Ионы Ca^{2+} в мембранных везикулах связаны преимущественно с отрицательно заряженным фосфатидилсерином. В межклеточном матриксе мембранные везикулы разрушаются с освобождением ионов Ca^{2+} , пирофосфатов, органических соединений, связанных с остатками фосфорной кислоты. Присутствующие в мембранных везикулах фосфогидролазы, и в первую очередь щелочная фосфатаза, отщепляют фосфат от органических соединений, а пирофосфат гидролизуется пирофосфатазой; ионы Ca^{2+} соединяются с PO_4^{3-} , что приводит к появлению аморфного фосфата кальция.

Одновременно происходит частичное разрушение протеогликанов, связанных с коллагеном I типа. Освобождающиеся фрагменты протеогликанов, заряженные отрицательно, начинают связывать ионы Ca^{2+} . Некоторое число ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} образуют пары и триплеты, которые связываются с коллагеновыми и неколлагеновыми белками, формирующими матрицу, что сопровождается образованием кластеров, или ядер. Из белков костной ткани наиболее активно связывают ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} остеонектин и

матриксные Gla-белки. Коллаген костной ткани связывает ионы PO_4^{3-} через ϵ -аминогруппу лизина с образованием фосфоамидной связи.

5.3. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА В КОСТНОЙ ТКАНИ

Ремоделирование костной ткани регулируется системными (гормоны) и местными факторами, которые обеспечивают взаимодействие между остеобластами и остеокластами (табл. 5.2).

Системные факторы

Образование кости в известной степени зависит от числа и активности остеобластов. На процесс образования остеобластов влияют соматотропин (гормон роста), эстрогены, $24,25(OH)_2D_3$, которые стимулируют деление остеобластов и превращение преостеобластов в остеобласты.

Глюкокортикоиды, напротив, подавляют деление остеобластов.

Таблица 5.2

Факторы, регулирующие процессы ремоделирования кости

Факторы	Резорбция	Остеогенез
Системные	Паратирин $1,25(OH)_2 D_3$ Тироксин и кортизол (повышенная концентрация)	Соматотропин Кальцитонин $24,25(OH)_2 D_3$ Тироксин и кортизол (физиологическая концентрация) Инсулин Эстрогены Андрогены
Локальные	Интерлейкины Интегрины, витамин А (повышенная концентрация)	γ -Интерферон Остеопротегерин Лактоферрин Паротин

Паратирин (паратгормон) синтезируется в паращитовидных железах. Молекула паратирина состоит из одной полипептидной цепи, содержащей 84 аминокислотных остатков. Синтез паратирина стимулирует адреналин, поэтому в условиях острого и хронического стресса количество этого гормона увеличивается. Паратирин активирует пролиферацию клеток-предшественников остеобластов, продлевает время их полужизни и ингибирует апоптоз остеобластов. В костной ткани рецепторы для паратирина присутствуют в мембранах остеобластов и остеоцитов. Остеокласты лишены рецепторов для данного гормона. Гормон связывается с рецепторами остеобластов и активирует аденилатциклазу, что сопровождается увеличением количества $3'5'$ цАМФ. Такое повышение содержания цАМФ способствует интенсивному поступлению ионов Ca^{2+} из

внечелюстной жидкости. Поступивший кальций образует комплекс с кальмодулином и далее происходит активация кальцийзависимой протеинкиназы с последующим фосфорилированием белков. Связываясь с остеобластами, паратирин вызывает синтез остеокласт-активирующего фактора - RANKL, способного связываться с преостеокластами. Введение больших доз паратирина приводит к гибели остеобластов и остеоцитов, что сопровождается увеличением зоны резорбции, повышением уровня кальция и фосфатов в крови и моче с одновременным повышением экскреции гидроксипролина вследствие разрушения коллагеновых белков.

Рецепторы к паратирину располагаются и в почечных канальцах. В проксимальных отделах почечных канальцев гормон ингибирует реабсорбцию фосфата и стимулирует образование $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. В дистальных отделах почечных канальцев паратирин усиливает реабсорбцию Ca^{2+} . Таким образом, паратирин обеспечивает повышение уровня кальция и снижение фосфатов в плазме крови.

Паротин - гликопротеин, выделяемый околоушными и поднижнечелюстными слюнными железами. Белок состоит из α -, β -, и γ -субъединиц. Активным началом паротина является γ -субъединица, которая оказывает влияние на мезенхимные ткани - хрящ, трубчатые кости, дентин зуба. Паротин усиливает пролиферацию хондрогенных клеток, стимулирует синтез нуклеиновых кислот и ДНК в одонтобластах, процессы минерализации дентина и костей. Эти процессы сопровождаются понижением содержания кальция и глюкозы в плазме крови.

Кальцитонин - полипептид, состоящий из 32 аминокислотных остатков. Секретируется парафолликулярными К-клетками щитовидной железы или С-клетками паращитовидных желёз в виде высокомолекулярного белка-предшественника. Секреция кальцитонина возрастает при увеличении концентрации ионов Ca^{2+} и уменьшается при понижении концентрации ионов Ca^{2+} в крови. Она также зависит от уровня эстрогенов. При недостатке эстрогенов секреция кальцитонина снижается. Это вызывает усиление мобилизации кальция в костной ткани и способствует развитию остеопороза. Кальцитонин связывается с специфическими рецепторами остеокластов и клеток почечных канальцев, что сопровождается активацией аденилатциклазы и повышением образования цАМФ. Кальцитонин влияет на транспорт ионов Ca^{2+} через клеточные мембраны. Он стимулирует поглощение ионов Ca^{2+} митохондриями и тем самым задерживает отток ионов Ca^{2+} из клетки. Это зависит от количества АТФ и соотношения ионов Na^+ и K^+ в клетке. Кальцитонин угнетает распад коллагена, что проявляется уменьшением экскреции с мочой гидроксипролина. В клетках почечных канальцев кальцитонин ингибирует гидроксигидроксилирование $25(\text{OH})\text{D}_3$.

Таким образом, кальцитонин подавляет активность остеокластов и ингибирует освобождение ионов Ca^{2+} из костной ткани, а также уменьшает реабсорбцию ионов Ca^{2+} в почках. В результате тормозится резорбция костной ткани, стимулируются процессы минерализации, что проявляется понижением уровня кальция и фосфора в плазме крови.

Йодсодержащие гормоны щитовидной железы - тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3) обеспечивают оптимальный рост костной ткани. Тиреоидные гормоны способны стимулировать секрецию гормонов роста. Они повышают как синтез мРНК инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1), так и продукцию самого ИФР-1 в печени. При гипертиреозе подавляется дифференцировка остеогенных клеток и синтез белка в этих клетках, снижается активность щелочной фосфатазы. За счёт усиленной секреции остеокальцина активируется хемотаксис остеокластов, что ведёт к резорбции костной ткани.

Половые стероидные гормоны участвуют в процессах ремоделирования костной ткани. Воздействие эстрогенов на костную ткань проявляется в активации остеобластов (прямое и опосредованное действие), угнетении остеокластов. Они также способствуют всасыванию ионов Ca^{2+} в желудочно-кишечном тракте и его отложению в костной ткани.

Женские половые гормоны стимулируют продукцию кальцитонина щитовидной железой и снижают чувствительность костной ткани к паратирину. Они также вытесняют на конкурентной основе кортикостероиды из их рецепторов в костной ткани. Андрогены, оказывая анаболическое действие на костную ткань, стимулируют биосинтез белка в остеобластах, а также ароматизируются в жировой ткани в эстрогены.

В условиях дефицита половых стероидов, который имеет место в менопаузе, процессы костной резорбции начинают преобладать над процессами ремоделирования костной ткани, что и приводит к развитию остеопении и остеопороза.

Глюкокортикоиды синтезируются в коре надпочечников. Основной глюкокортикоид человека - кортизол. Глюкокортикоиды скоординировано действуют на разные ткани и разные процессы - как анаболические, так и катаболические. В костной ткани кортизол тормозит синтез коллагена I типа, некоторых неколлагеновых белков, протеогликанов и остеопонтина. Глюкокортикоиды также уменьшают количество тучных клеток, являющихся местом образования гиалуроновой кислоты. Под влиянием глюкокортикоидов ускоряется распад белков. Глюкокортикоиды подавляют всасывание ионов Ca^{2+} в кишечнике, что сопровождается снижением его в сыворотке крови. Это понижение приводит к выбросу паратирину, который стимулирует образование остеокластов и резорбцию кости (рис. 5.7). Кроме

того, кортизол в мышцах и костях стимулирует распад белков, что также нарушает формирование костной ткани. В конечном итоге действия глюкокортикоидов приводят к убыли костной ткани.

Витамин D₃ (холекальциферол) поступает с пищей, а также образуется из предшественника 7-дегидрохолестерола под влиянием ультрафиолетовых лучей. В печени холекальциферол превращается в 25(OH)D₃, а в почках происходит дальнейшее гидрокселирование 25(OH)D₃ и образуются 2 гидрокселированных метаболита - 1,25(OH)₂D₃ и 24,25(OH)₂D₃. Метаболиты витамина D₃ регулируют хондрогенез и остеогенез уже в процессе эмбрионального развития. В отсутствие витамина D₃ невозможна минерализация органического матрикса, при этом не образуется сосудистая сеть, а метафизарная кость не способна сформироваться должным образом. 1,25(OH)₂D₃ связывается с хондробластами, находящимся в активном состоянии, а 24,25(OH)₂D₃ - с клетками в состоянии покоя. 1,25(OH)₂D₃ регулирует зоны роста через образование комплекса с ядерным рецептором для этого витамина. Также показано, что 1,25(OH)₂D₃ способен связываться с мембранно-ядерным рецептором, что приводит к активации фосфолипазы C и образованию инозитол-3-фосфата. Кроме того, образующийся комплекс активируется фосфолипазой A₂. Из освобождающейся арахидоновой кислоты синтезируется простагландин E₂, который также влияет на ответ хондробластов при их связывании с 1,25(OH)₂D₃. Напротив, после связывания 24,25(OH)₂D₃ со своим мембранно-связывающимся рецептором, активируется фосфолипаза C, а затем протеинкиназа C.



Рис. 5.7. Схема влияния глюкокортикоидов на обменные процессы, приводящие к убыли костной ткани

В хрящевой зоне роста эпифизов костной ткани $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ стимулирует дифференцировку и пролиферацию прехондробластов, которые содержат специфические рецепторы к данному метаболиту. Метаболиты витамина D_3 оказывают влияние на формирование и функциональное состояние височно-нижнечелюстного сустава.

Витамин А. При недостатке и избыточном поступлении витамина А в организм детей нарушается рост костей и происходит их деформация. Вероятно, эти явления обусловлены деполимеризацией и гидролизом хондроитинсульфата, входящего в состав хряща.

Витамин С. При недостатке аскорбиновой кислоты в мезенхимальных клетках не происходит гидроксилирование остатков лизина и пролина, что приводит к нарушению образования зрелого коллагена. Образующийся незрелый коллаген не способен связывать ионы Ca^{2+} и таким образом нарушаются процессы минерализации.

Витамин Е. При дефиците витамина Е в печени не образуется $25(\text{OH})\text{D}_3$ - предшественник активных форм витамина D_3 . Дефицит витамина Е также может привести к снижению уровня магния в костной ткани.

Локальные факторы

Простагландины ускоряют выход ионов Ca^{2+} из кости. Экзогенные простагландины увеличивают генерацию остеокластов, которые разрушают кость. Оказывают катаболическое воздействие на обмен белков в костной ткани и ингибируют их синтез.

Лактоферрин - железосодержащий гликопротеин, в физиологической концентрации стимулирует пролиферацию и дифференцировку остеобластов, а также ингибирует остеокластогенез. Митогенный эффект лактоферрина на остеобластоподобные клетки осуществляется через специфические рецепторы. Образовавшийся комплекс путём эндоцитоза поступает в клетку, и лактоферрин фосфорилирует митоген - активирующие протеинкиназы. Таким образом, лактоферрин выполняет роль фактора роста кости и её здоровья. Может применяться в качестве анаболического фактора при остеопорозе.

Цитокины - низкомолекулярные полипептиды, обуславливающие взаимодействие клеток иммунной системы. Они обеспечивают ответную реакцию на внедрение чужеродных тел, иммунное повреждение, а также воспаления, репарации и регенерации. Они представлены пятью большими группами белков, одной из которых являются интерлейкины.

Интерлейкины (ИЛ) - белки (от ИЛ-1 до ИЛ-18), синтезируемые в основном Т-клетками лимфоцитов, а также мононуклеарными фагоцитами. Функции ИЛ связаны с активностью других физиологически активных пептидов и гормонов. В физиологической концентрации подавляют рост, дифференцировку и продолжительность жизни клеток. Снижают продукцию коллагеназы, адгезию эндотелиальных клеток к нейтрофилам и эозинофилам, продукцию NO и, как следствие, наблюдается уменьшение деградации хрящевой ткани и резорбция кости.

Процесс резорбции костной ткани может активироваться при ацидозе и большими количествами интегринов, ИЛ и витамина А, но тормозится эстрогенами, кальцитонином, интерфероном и морфогенетическим белком кости.

Маркёры метаболизма костной ткани

Биохимические маркёры дают информацию о патогенезе заболеваний скелета и о фазах ремоделирования костной ткани. Различают биохимические маркёры формирования и резорбции кости, характеризующие функции остеобластов и остеокластов.

Прогностическая значимость определения маркёров метаболизма костной ткани:

- проведённый скрининг с использованием данных маркёров позволяет определить пациентов с высоким риском развития остеопороза;
- высокие уровни маркёров резорбции костей могут быть связаны с
- увеличением риска переломов; повышение уровня маркёров метаболизма костной ткани у пациентов с остеопорозом более чем в 3 раза по сравнению с показателями нормы предполагает иную костную патологию, включая злокачественную;
- маркёры резорбции могут быть использованы в качестве дополнительных критериев при решении вопроса о назначении специальной терапии при лечении костной патологии.

Маркёры резорбции кости. Во время обновления костной ткани коллаген I типа, который составляет более 90% органического матрикса кости и синтезируется непосредственно в костях, деградирует, а небольшие пептидные фрагменты попадают в кровь или выделяются почками. Продукции деградации коллагена можно определять как в моче, так и в сыворотке крови. Эти маркёры можно использовать при терапии препаратами, снижающими резорбцию костей, у пациентов с болезнями, связанными с нарушениями метаболизма костной ткани. В качестве критериев резорбции костной ткани выступают продукты деградации

коллагена I типа: N- и C-телопептиды и тартрат-резистентная кислая фосфатаза. При первичном остеопорозе и болезни Педжета происходит отчетливое повышение C-концевого телопептида коллагена I типа и количество этого маркера увеличивается в сыворотке крови в 2 раза.

Распад коллагена - единственный источник свободного гидроксипролина в организме. Преобладающая часть гидроксипролина катаболизируется, а часть выделяется с мочой, главным образом, в составе небольших пептидов (ди- и трипептидов). Поэтому содержание гидроксипролина в крови и моче отражает баланс скорости катаболизма коллагена. У взрослого человека в сутки экскретируется 15-50 мг гидроксипролина, в молодом возрасте до 200 мг, а при некоторых болезнях, связанных с поражением коллагена, например: гиперпаратирозидизме, болезни Педжета и наследственной гипергидроксипролинемии, причиной которой является дефект фермента гидроксипролинксидазы, количество в крови и выделяемого с мочой гидроксипролина увеличивается.

Остеокласты секретируют тартрат-резистентную кислую фосфатазу. При возрастании активности остеокластов происходит увеличение содержания тартрат-резистентной кислой фосфатазы и она попадает в повышенном количестве в кровоток. В плазме крови активность этого фермента возрастает при болезни Педжета, онкологических заболеваниях с метастазами в кость. Определение активности этого фермента особенно полезно при мониторинге лечения остеопороза и онкологических заболеваний, сопровождающихся поражением костной ткани.

Маркеры формирования кости. Формирование костной ткани оценивают по количеству остеокальцина, костного изофермента щелочной фосфатазы и остеопротегерина. Измерение количества сывороточного остеокальцина позволяет определять риск развития остеопороза у женщин, проводить мониторинг костного метаболизма во время менопаузы и гормональной заместительной терапии. Рахит у детей раннего возраста сопровождается снижением в крови содержания остеокальцина и степень снижения его концентрации зависит от выраженности рахитического процесса. У больных с гиперкортицизмом и пациентов, получающих преднизолон, значительно снижено содержание остеокальцина в крови, что отражает подавление процессов костеобразования.

Изофермент щелочной фосфатазы присутствует на клеточной поверхности остеобластов. При увеличенном синтезе фермента клетками костной ткани повышается его количество в плазме крови, поэтому определение активности щелочной фосфатазы, особенно костного изофермента, является информативным показателем костного ремоделирования.

Остеопротегерин выступает в качестве рецептора ФНО. Связываясь с преостеокластами, он ингибирует мобилизацию, пролиферацию и активацию остеокластов.

5.4. РЕАКЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ НА ДЕНТАЛЬНЫЕ ИМПЛАНТАТЫ

При различных формах адентии альтернативой съёмному протезированию являются внутрикостные дентальные имплантаты. Реакцию костной ткани на имплантат можно рассматривать как частный случай репаративной регенерации.

Различают три вида соединения дентальных имплантатов с костной тканью:

- прямое приживание - остеоинтеграция;
- фиброно-оссальная интеграция, когда вокруг дентального имплантата образуется слой фиброзной ткани толщиной около 100 мкм;
- периодонтальное соединение (самый редкий вид), образующееся в случае периодонтального связочно-подобного сращения с периимплантационными коллагеновыми волокнами или (в некоторых случаях) цементирование внутрикостного дентального имплантата.

Считают, что в процессе остеоинтеграции после постановки дентальных имплантатов образуется тонкая зона из протеогликанов, которая лишена коллагена. Зона склеивания дентального имплантата с костью обеспечивается двойным слоем протеогликанов, включающим молекулы декорина.

При фиброно-оссальной интеграции в соединении имплантата с костной тканью также участвуют многочисленные компоненты внеклеточного матрикса. За устойчивость имплантата в его капсуле отвечают коллагены I и III типа, а фибронектин играет основную роль в связывании элементов соединительной ткани с имплантатами.

Однако через какой-то период времени под действием механической нагрузки растёт активность коллагеназы, катепсина К и кислой фосфатазы. Это приводит к убыли костной ткани в периимплантационной области и происходит дезинтеграция дентального имплантата. Ранняя дезинтеграция внутрикостных дентальных имплантатов происходит на фоне сниженного количества в кости фибронектина, Gla-белка, тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ (ТИМП-1).

Установлено, что белковый спектр костной ткани верхних и нижних челюстей различен. Для нижней челюсти по сравнению с верхней характерно более низкое содержание фибронектина и Gla-белков, и наиболее часто

дизинтеграция дентальных имплантатов наблюдается именно на нижней челюсти.

ГЛАВА 6. СЛЮННЫЕ ЖЕЛЕЗЫ

Состояние твёрдых и мягких тканей полости рта определяется количеством и свойствами слюны, которая выделяется слюнными железами, расположенными в переднем отделе пищеварительного тракта человека.

В слизистой оболочке языка, губ, щёк, твёрдого и мягкого нёба расположены многочисленные мелкие слюнные железы. За пределами полости рта имеются 3 пары крупных желёз - околоушные, подъязычные и поднижнечелюстные и сообщающихся с ней при помощи протоков.

6.1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ СЛЮННЫХ ЖЕЛЁЗ

Крупные слюнные железы относятся к альвеолярно-трубчатым и состоят из секреторных отделов и системы путей, выводящих слюну в полость рта.

В паренхиме слюнных желёз выделяют концевой отдел и систему выводных протоков. Концевые отделы представлены секреторными и миоэпителиальными клетками, которые связываются через десмосомы с секреторными клетками и способствуют выведению секрета из концевых отделов. Концевые отделы переходят во вставочные протоки, а они, в свою очередь, в исчерченные протоки. Для клеток последних характерно наличие расположенных перпендикулярно к базальной мембране вытянутых митохондрий. В апикальных частях этих клеток присутствуют секреторные гранулы. Односторонний транспорт слюны обеспечивается резервуарными и клапанными структурами, а также мышечными элементами.

В зависимости от состава выделяемой слюны различают белковые, слизистые и смешанные секреторные отделы. Околоушные слюнные железы и некоторые железы языка выделяют жидкий белковый секрет. Мелкие слюнные железы вырабатывают более густую и вязкую слюну, содержащую гликопротеины. Поднижнечелюстные и подъязычные, а также слюнные железы губ, щёк и кончика языка выделяют смешанный белково-слизистый секрет. Большую часть слюны образуют поднижнечелюстные слюнные железы (70%), околоушные (25%), подъязычные (4%) и малые (1%). Такая слюна называется собственно слюной или проточной слюной.

Функции слюнных желёз

Секреторная функция. В результате секреторной деятельности больших и малых слюнных желёз увлажняется слизистая оболочка рта, что является необходимым условием для осуществления двустороннего транспорта химических веществ между слизистой оболочкой рта и слюной.

Выделительная (инкреторная) функция. Со слюной выделяются различные гормоны - глюкагон, инсулин, стероиды, тироксин, тиреотропин и др. Инкретируются мочевины, креатинин, дериваты лекарственных средств и другие метаболиты. Слюнные железы обладают избирательным транспортом веществ из плазмы крови в секрет.

Регуляторная (интегративная) функция. Слюнные железы обладают эндокринной функцией, которая обеспечивается благодаря синтезу в ней паротина и факторов роста - эпидермального, инсулиноподобного, роста нервов, роста эндотелия, роста фибробластов, которые оказывают как паракринное, так и аутокринное действие. Все эти вещества выделяются как в кровь, так и в слюну. Со слюной в незначительных количествах они выделяются в полость рта, где способствует быстрому заживлению повреждений слизистой оболочки. Паротин также оказывает действие на эпителий слюнных желёз, стимулируя синтез белка в этих клетках.

6.2. МЕХАНИЗМ СЕКРЕЦИИ СЛЮНЫ

Секреция - внутриклеточный процесс поступления в секреторную клетку веществ, образования из них секрета определённого функционального назначения и последующее выделение секрета из клетки. Периодические изменения в секреторной клетке, связанные с образованием, накоплением, выделением секрета, и восстановление путём дальнейшей секреции называется секреторным циклом. Выделяют от 3 до 5 фаз секреторного цикла, и для каждой из них характерно специфическое состояние клетки и её органелл.

Цикл начинается с поступления в клетку из плазмы крови воды, неорганических и низкомолекулярных органических соединений (аминокислоты, моносахариды и др.) путём пиноцитоза, диффузии и активного транспорта. Поступившие в клетку вещества используются для синтеза секреторного продукта, а также для внутриклеточных энергетических и пластических целей. Во второй фазе формируется первичный секреторный продукт. Эта фаза существенно различается в зависимости от вида образуемого секрета. В конечной фазе происходит выделение секреторного продукта из клетки. По механизму выделения слюны секреторными отделами все слюнные железы относятся к экзокринно-мерокриновым. В этом случае секрет выделяется из клетки без разрушения железистых клеток в растворённом виде через её апикальную мембрану в просвет ацинуса, а в дальнейшем поступает в полость рта (рис. 6.1).

Активный транспорт, синтез и секреция белков требуют затраты энергии молекул АТФ. Молекулы АТФ образуются при распаде глюкозы в реакциях субстратного и окислительного фосфорилирования.

Образование первичного слюнного секрета

Секрет слюнных желёз содержит воду, ионы и белки. Специфика и выделение разных по составу продуктов секреции позволили выявить секреторные клетки с тремя видами внутриклеточных конвейеров: белковым, слизистым и минеральным.

- Образование первичного секрета связано с рядом факторов: приток крови по кровеносным сосудам, окружающим секреторные отделы; слюнные железы даже в состоянии покоя имеют высокий объёмный кровоток

Первичная секреция ионов из плазмы крови (изотоническая слюна)

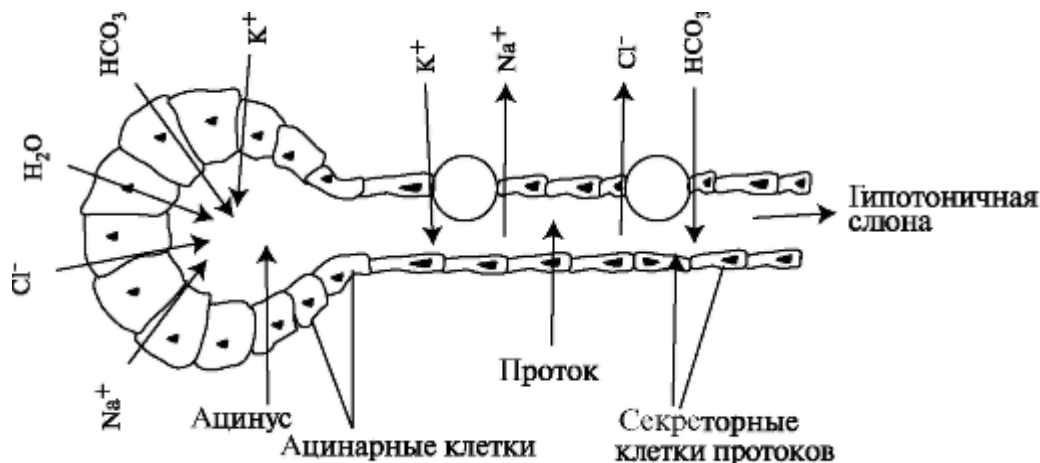


Рис. 6.1. Транспортные системы в слюнных железах, участвующие в формировании слюнного секрета.

- При секреции желёз и происходящей при этом вазодилатации кровотока возрастает в 10-12 раз. Кровеносные капилляры слюнных желёз характеризуются высокой проницаемостью, которая в 10 раз выше, чем в капиллярах скелетных мышц. Вероятно, что такая высокая проницаемость обусловлена наличием в клетках слюнных желёз активного калликреина, который расщепляет кининогены. Образующиеся кинины (каллидин и брадикинин) изменяют проницаемость сосудов; ток воды и ионов по околкеклеточному пространству, открытие каналов на базолатеральной и апикальной мембранах; сокращение миоэпителиальных клеток, расположенных вокруг секреторных отделов и выводных протоков. В секреторных клетках повышение концентрации ионов Ca^{2+} сопровождается открытием кальций-зависимых ионных каналов. Синхронное образование секрета в ацинарных клетках и сокращение миоэпителиальных клеток приводит к освобождению первичной слюны в выводные протоки.

Секреция электролитов и воды в секреторных клетках. Электролитный состав слюны и её объём определяется деятельностью ацинарных клеток и клеток протоков. Транспорт электролитов в ацинарных клетках состоит из

двух этапов: перенос ионов и воды через базолатеральную мембрану в клетку и их выход через апикальную мембрану в просвет протоков. В клетках выводных протоков осуществляется не только секреция, но и реабсорбция воды и электролитов. Транспорт воды и ионов происходит также и в околклеточном пространстве по механизму активного и пассивного транспорта.

Через базолатеральную мембрану внутрь клетки поступают ионы Ca^{2+} , Cl^- , K^+ , Na^+ , PO_4^{3-} , а также глюкоза и аминокислоты. В дальнейшем последние используются для синтеза секреторных белков. Молекула глюкозы подвергается аэробному распаду до конечных продуктов CO_2 и H_2O с образованием молекул АТФ. Большая часть молекул АТФ используется для работы транспортных систем. При участии карбоангидразы молекулы CO_2 и H_2O образуют угольную кислоту, которая диссоциирует на H^+ и HCO_3^- . Поступивший в клетку ортофосфат идет на образование молекул АТФ, а избыток выделяется через апикальную мембрану с помощью белка-переносчика.

Повышение концентрации ионов Cl^- , Na^+ внутри клетки вызывает ток воды в клетку, которая поступает через белки - аквапорины. Аквапорины обеспечивают быстрый транспорт жидкости через мембраны клеток эпителия и эндотелия. У млекопитающих идентифицировано 11 членов семейства аквапоринов с клеточным и субклеточным распределением. Часть аквапоринов является белками мембранных каналов и присутствуют в виде тетрамеров. В ряде случаев аквапорины находятся во внутриклеточных везикулах и переносятся в мембрану в результате стимуляции вазопрессинном, мускарином (аквапорин-5). Аквапорины -0, -1, -2, -4, -5, -8, -10 избирательно пропускают воду; аквапорины -3, -7, -9 не только воду, но и глицерол и мочевины, а аквапорин-6 - нитраты.

В слюнных железах аквапорин-1 локализован в эндотелиальных клетках капилляров, а аквапорин-3 присутствует в базолатеральной мембране ацинарных клеток. Приток воды в ацинарную клетку приводит к интеграции в апикальную плазматическую мембрану белка аквапорина-5, обеспечивающего выход воды из клетки в слюнный проток. Одновременно ионы Ca^{2+} активируют ионные каналы в апикальной мембране, и таким образом исток воды из клетки сопровождается выходом ионов в выводные протоки. Часть воды и ионов поступают в состав первичной слюны по околклеточному пространству. Образовавшаяся первичная слюна изотонична плазме крови и близка к ней по составу электролитов (рис. 6.2).

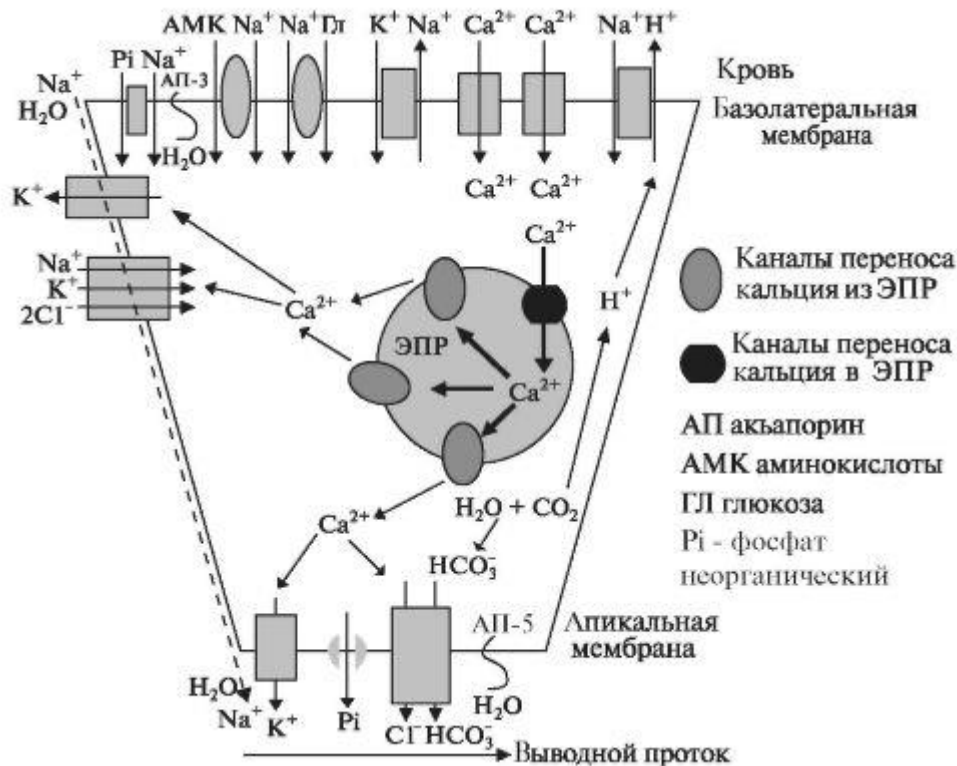


Рис. 6.2. Клеточные механизмы транспорта ионов в ацинарных клетках.

Биосинтез белкового секрета. В ацинарных клетках и клетках выводных протоков слюнных желёз осуществляется биосинтез белкового секрета. Аминокислоты поступают в клетку при помощи натрийзависимых мембранных транспортёров. Синтез секреторных белков происходит на рибосомах.

Рибосомы, связанные с эндоплазматической сетью, синтезируют белки, которые затем гликозилируются. Перенос олигосахаридов на растущую полипептидную цепь происходит на внутренней стороне мембраны эндоплазматической сети. Переносчиками липидов служит долихолфосфат - липид, содержащий около 20 изопреновых остатков. К долихолфосфатам присоединяются олигосахаридный блок, состоящий из 2 остатков N-ацетилглюкозамина, 9 остатков маннозы и 3 остатков глюкозы. Его образование идёт путём последовательного присоединения углеводов из УДФ- и ГДФ- производных. В переносе участвуют специфические гликозилтрансферазы. Затем углеводный компонент целиком переносится на определённый остаток аспарагина растущей полипептидной цепи. В большинстве случаев 2 из 3 остатков глюкозы присоединённого олигосахаридного блока быстро удаляется, когда гликопротеин ещё связан с эндоплазматической сетью. При переносе олигосахаридного блока на белок высвобождается долихолдифосфат, который под действием фосфатазы превращается в долихолфосфат. Синтезируемый начальный продукт накапливается в щелях и лакунах эндоплазматической сети, откуда перемещается в комплекс Гольджи, где заканчивается созревание секрета и упаковка гликопротеинов в везикулы (рис. 6.3).

В перемещении и выведении секрета из клетки принимают участие фибриллярные белки и белок синексин. Образовавшаяся секреторная гранула соприкасается с плазматической мембраной и образуется плотный контакт. Далее на плазмолемме возникают межмембранные глобулы и формируются «гибридные» мембраны. В мембране образуются отверстия, через которые содержимое секреторных гранул переходит во внеклеточное пространство ацинуса. Материал мембран секреторных гранул затем используется для построения мембран органелл клетки.

В аппарате Гольджи мукоцитов поднижнечелюстной и подъязычной слюнных желёз синтезируются гликопротеины, содержащие большое количество сиаловых кислот, аминокислот, которые способны связывать воду с образованием слизи. Для этих клеток характерно менее выраженная плазматическая сеть и выраженный аппарат Гольджи. Синтезируемые гликопротеины оформляются в секреторные гранулы, которые выделяются в просвет выводных протоков.

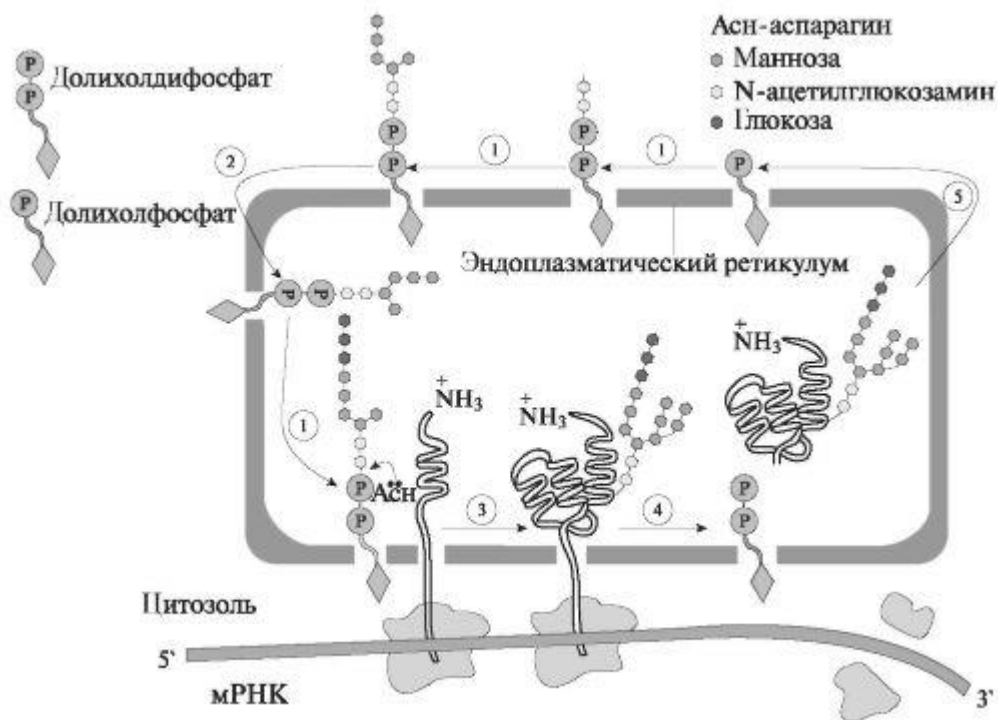


Рис. 6.3. Биосинтез гликопротеинов слюнных желёз [по Voet D., Voet J.G., 2004, с изменениями].

1 - образование олигосахаридного ядра в молекуле долихолфосфата с участием гликозилтрансфераз; 2 - перемещение долихолфосфата, содержащего олигосахарид, во внутреннюю полость эндоплазматического ретикулума; 3 - перенос олигосахаридного ядра на остаток аспарагина растущей полипептидной цепи; 4 - освобождение долихолдифосфата; 5 - рециклизация долихолфосфата.

Формирование слюны в выводных протоках

Протоковые клетки синтезируют и содержат биологически активные вещества, которые выводятся в апикальном и базолатеральном направлениях. Клетки протоков не только образуют стенки выводящих каналов, но и регулируют водный и минеральный состав слюны.

Из просвета выводных протоков, где проходит изотоничная слюна, происходит реабсорбция в клетке ионов Na^+ и Cl^- . В клетках исчерпанных протоков, где имеется большое количество митохондрий, образуется множество молекул CO_2 и H_2O . При участии карбоангидразы угольная кислота диссоциирует на H^+ и HCO_3^- . Затем ионы H^+ выводятся в обмен на ионы Na^+ , а HCO_3^- - на Cl^- . На базолатеральной мембране локализуются транспортные белки Na^+/K^+ АТФ-аза и Cl^- - канал, через которые ионы Na^+ и Cl^- поступают из клетки в кровь (рис. 6.4).

Процесс реабсорбции регулируется альдостероном. Ток воды в выводных протоках обеспечивается белками-аквапоринами. В результате формируется гипотоничная слюна, в которой содержится большое количество ионов HCO_3^- , K^+ и мало Na^+ и Cl^- .

В ходе секреции из клеток выводных протоков кроме ионов секретируются различные белки, синтезируемые также в этих клетках. Поступившие секреты из малых и больших слюнных желёз смешиваются с клеточными элементами (лейкоциты, микроорганизмы, слущенный эпителий), остатками пищи, метаболитами микроорганизмов, что приводит к формированию смешанной слюны, которую также называют *ротовой жидкостью*.

6.3. РЕГУЛЯЦИЯ СЛЮНООТДЕЛЕНИЯ

Центр слюноотделения, локализован в продолговатом мозге и контролируется супрабульбарными отделами головного мозга, включая ядра гипоталамуса и кору большого мозга. Центр слюноотделения тормозится или стимулируется по принципу безусловных и условных рефлексов.

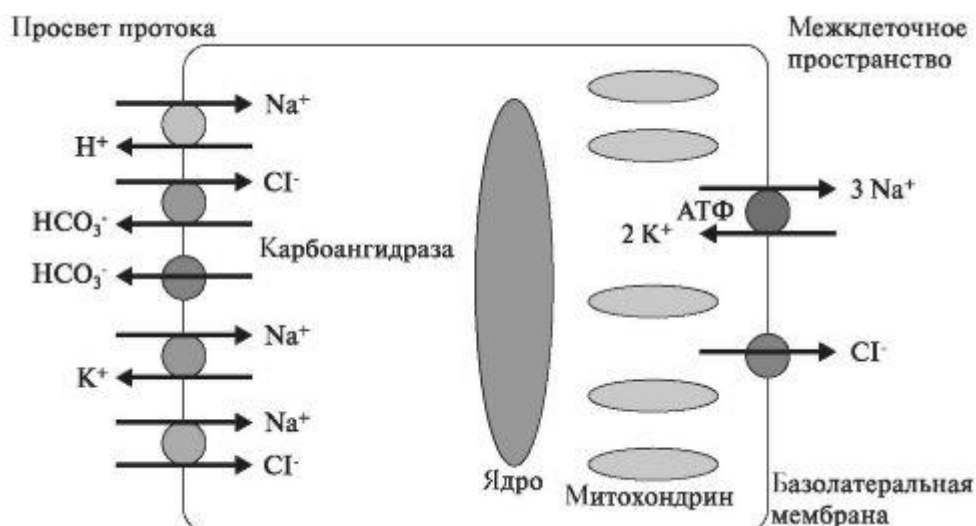


Рис. 6.4. Формирование слюны в исчерченных клетках выводных протоков слюнных желёз.

Безусловными стимуляторами слюноотделения при приёме пищи выступают раздражения 5 типов рецепторов в полости рта: вкусовых, температурных, тактильных, болевых, обонятельных.

Варьирование состава и количества слюны достигается изменением возбудимости, числа и вида возбуждённых нейронов центром слюноотделения и соответственно числа и вида инициированных клеток слюнных желёз. Объём слюноотделения определяется в основном возбуждением М-холинергических нейронов, усиливающих синтез и выделение секрета ацинарными клетками, их кровоснабжением и выведение секрета в систему протоков сокращениями миоэпителиальных клеток. Миоэпителиальные клетки прикрепляются при помощи полудесмосом к базальной мембране и содержат в цитоплазме белки-цитокератины, гладкомышечные актины, миозины, β -актинины. От тела клетки отходят отростки, охватывающие эпителиальные клетки желёз. Сокращаясь, миоэпителиальные клетки способствуют продвижению секрета из концевых отделов по выводным протокам желёз.

Ацетилхолин в миоэпителиальных и ацинарных клетках связывается с рецептором, и через G-белок активирует фосфолипазу С. Фосфолипаза С гидролизует фосфатидилинозитол - 4,5-бисфосфат, и образующийся инозитолтрифосфат повышает концентрацию ионов Ca^{2+} внутри клетки. Ионы Ca^{2+} , поступающие из депо, связываются с белком кальмодулином. В миоэпителиальных клетках активированная кальцием киназа фосфорилирует лёгкие цепи гладкомышечного миозина, который взаимодействует с актином, что вызывает их сокращение (рис. 6.5). Особенностью гладкомышечной ткани является довольно низкая активность АТФазы миозина, поэтому медленное образование и разрушение актин-миозиновых мостиков требуют меньшего количества АТФ. В связи с этим сокращение вызывается медленно и поддерживается длительно.

Слюноотделение также регулируется симпатической иннервацией, гормонами и нейропептидами. Освобождаемые нейротрансмиттеры - адреналин и норадреналин связываются со специфическими адренорецепторами на базолатеральной мембране ацинарной клетки. Образовавшийся комплекс передаёт сигналы через G-белки. Активированная аденилатциклаза катализирует превращение молекулы АТФ во второй посредник 3',5'-цАМФ, что сопровождается активацией протеинкиназы А с последующим синтезом белков и их экзоцитозом из клетки. После связывания адреналина с α -адренорецепторами образуется молекула 1,4,5-инозитолтрифосфата, что сопровождается мобилизацией Ca^{2+} и открытием

кальцийзависимых каналов с последующей секрецией жидкости. За время секреции клетки теряют ионы Ca^{2+} , что сопровождается изменением проницаемости мембран в железистых клетках.

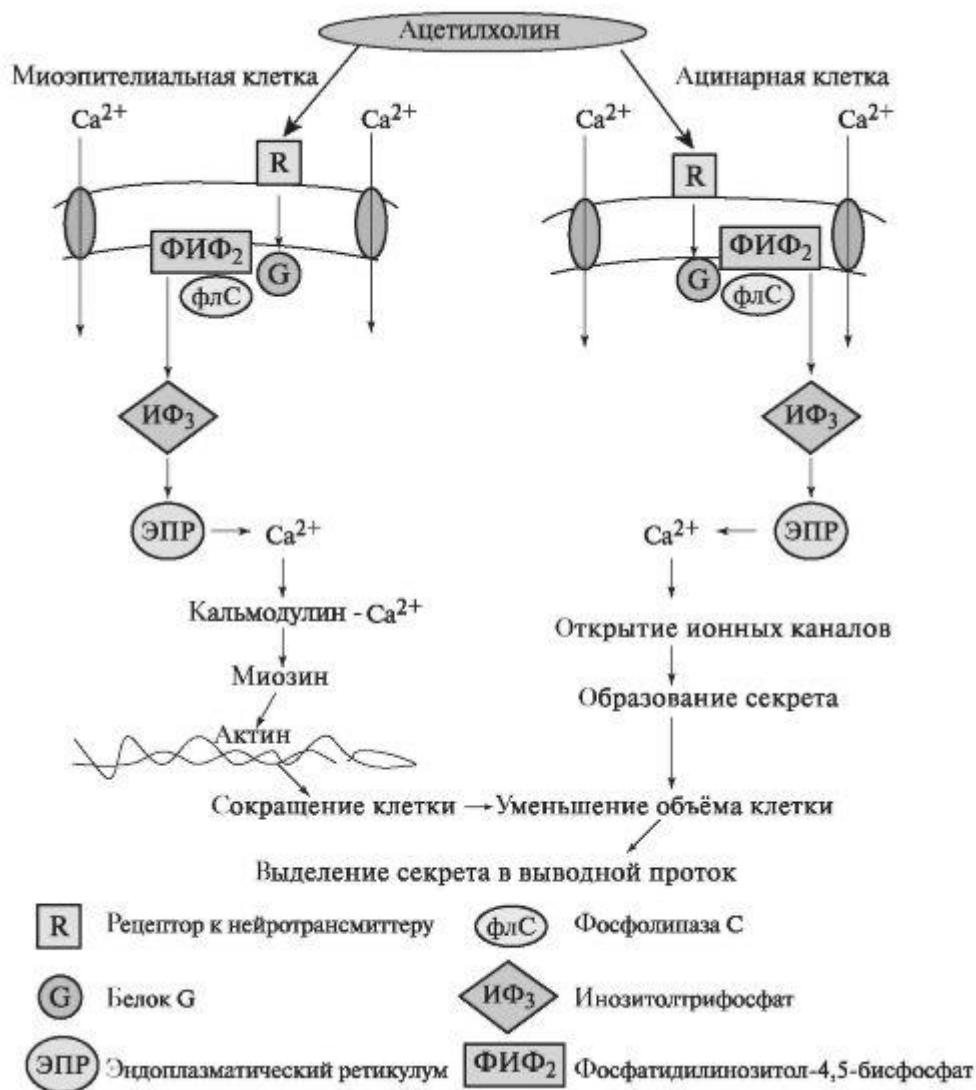


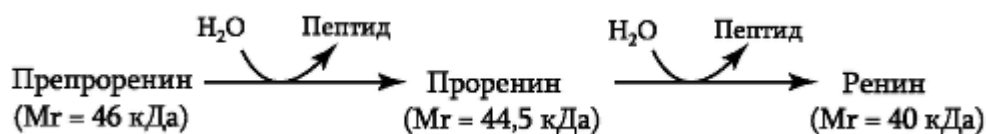
Рис. 6.5. Роль ацетилхолина в образовании и выделении секрета в секреторных отделах слюнных желёз.

Помимо нейротрансмиттеров (адреналин, норадреналин и ацетилхолин) в регуляции тонуса сосудов слюнных желёз важную роль играют нейропептиды: вещество Р, которая является медиатором повышения проницаемости для белков плазмы крови и вазоактивный кишечный (интестинальный) полипептид (ВИП), участвующий в нехолинэргическом расширении сосудов.

На кровоток и повышение проницаемости сосудов также влияют и активные пептиды каллидин и брадикинин. В образовании кининов участвует сериновая трипсиноподобная протеиназа - *калликреин*, вырабатываемая клетками исчерченных протоков. Калликреин вызывает ограниченный протеолиз глобулярных белков кининогенов с образованием биологически

активных пептидов - кининов. Брадикинин связывается с рецепторами В1 и В2, что приводит к мобилизации внутриклеточного кальция с последующим активированием протеинкиназы С, запускающей каскад передачи сигнала внутри клетки через оксид азота, цГМФ, простагландины. Образование этих вторичных посредников в эндотелиальных и гладко-мышечных клетках обеспечивает расширение сосудов слюнных желёз и слизистых оболочек. Это приводит к гиперемии, повышению проницаемости сосудов, снижению артериального давления. Синтез калликреина увеличивается под влиянием андрогенов, тироксина, простагландина, холиномиметиков и β -адреномиметиков.

В регуляции сосудистого тонуса также участвует аспартильная протеиназа - *ренин*. Ренин концентрируется в гранулярных извитых протоках поднижнечелюстных желёз, где он локализуется в секреторных гранулах вместе с фактором роста эпителия. В слюнных железах ренина синтезируется больше, чем в почках. Фермент содержит две полипептидные цепи, объединенные дисульфидной связью. Выделяется в виде препроренина и активируется путем ограниченного протеолиза.



Под действием ренина происходит расщепление ангиотензиногена и освобождается пептид ангиотензин I. Дальнейший гидролиз ангиотензина I ангиотензинпревращающим ферментом с отщеплением двух аминокислотных остатков, приводит к образованию ангиотензина II, который вызывает сужение периферических артерий, регулирует водно-солевой обмен и может влиять на секреторную функцию слюнных желёз (рис. 6.6).

Одновременно ангиотензинпревращающий фермент и аминоклотидазы выступают в качестве кининаз, расщепляющих активные кинины.

6.4. СМЕШАННАЯ СЛЮНА

Смешанная слюна (ротовая жидкость) представляет собой вязкую (в связи с присутствием гликопротеинов) жидкость с относительной плотностью 1001-1017. Колебания рН слюны зависят от гигиенического состояния полости рта, характера пищи, скорости секреции. При низкой скорости секреции рН слюны сдвигается в кислую сторону, при стимуляции слюноотделения - в щелочную.

Функции смешанной слюны

Пищеварительная функция. Слючивая и размягчая твердую пищу, слюна обеспечивает формирование пищевого комка и облегчает проглатывание пищи.

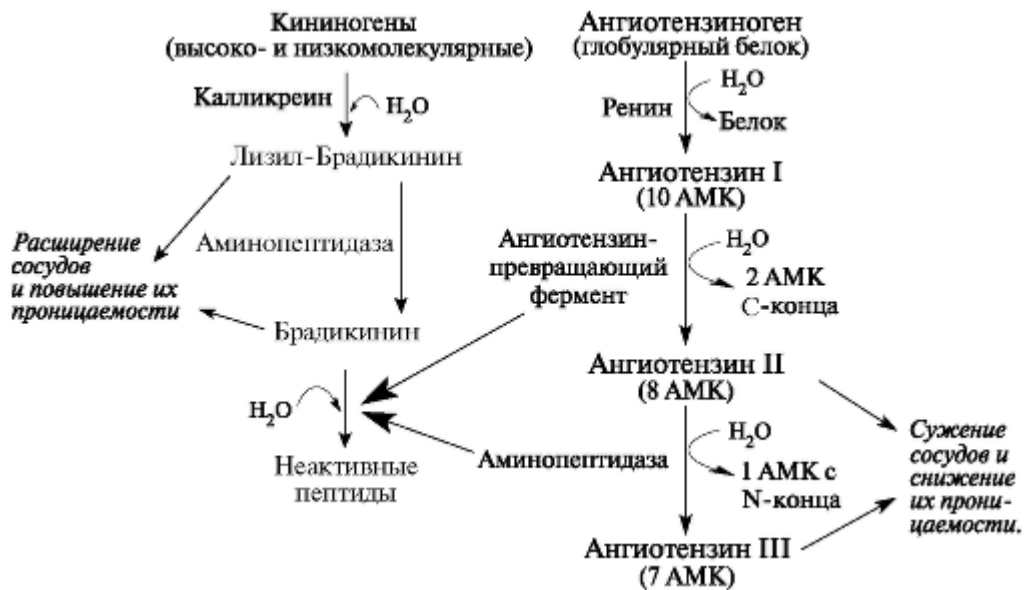


Рис. 6.6. Схема взаимосвязи ренин-ангиотензиновой и калликреин-кининовой систем на поверхности сосудистого эндотелия в слюнных железах.

После пропитывания слюной пищевые компоненты в полости рта подвергаются частичному гидролизу. Углеводы расщепляются α -амилазой до декстринов и мальтозы, а триацилглицеролы до глицерола и жирных кислот липазой, выделяемой слюнными железами, расположенными в корне языка. Растворение в слюне химических веществ, входящих в состав пищи, способствует восприятию вкуса вкусовым анализатором.

Коммуникативная функция. Слюна необходима для формирования правильной речи и общения. При постоянном потоке воздуха в процессе разговора, приёма пищи сохраняется влажность в полости рта (муцин и другие гликопротеины слюны).

Защитная функция. Слюна очищает зубы и слизистую оболочку полости рта от бактерий и продуктов их метаболизма, остатков пищи. Защитную функцию осуществляют различные белки - иммуноглобулины, гистатины, α - и β -дефензины, кателидин, лизоцим, лактоферрин, муцин, ингибиторы протеолитических ферментов, факторы роста и другие гликопротеины.

Минерализующая функция. Слюна - основной источник кальция и фосфора для эмали зуба. Они поступают через приобретённую пелликулу, которая формируется из белков слюны (статзерин, белки богатые пролином и др.) и

регулирует как поступление минеральных ионов в эмаль зуба, так и выход их из неё.

Состав смешанной слюны

Смешанная слюна состоит из 98,5-99,5% воды и сухого остатка (табл. 6.1). Сухой остаток представлен неорганическими веществами и органическими соединениями. Ежедневно у человека выделяется около 1000-1200 мл слюны. Активность секреции и химический состав слюны подвержены значительным колебаниям.

Химический состав слюны подвержен суточным колебаниям (циркадные ритмы). Скорость слюноотделения колеблется в широких пределах (0,03-2,4 мл/мин) и зависит от большого числа факторов. Во время сна скорость секреции снижается до 0,05 мл/мин, утром возрастает в несколько раз и достигает верхнего предела в 12-14 часов, к 18 часам она снижается. У людей с низкой секреторной активностью значительно чаще развивается кариес, поэтому уменьшение количества слюны в ночное время способствует проявлению действия кариесогенных факторов. Состав слюны и секреция также зависят от возраста и пола. У пожилых людей, например, значительно повышается количество кальция, что имеет значение для образования зубного и слюнного камня. Изменения в составе слюны могут быть связаны с приемом лекарственных веществ, интоксикацией и заболеваниями. Так, при обезвоживании организма, сахарном диабете, уремии происходит резкое снижение слюноотделения.

Таблица 6.1

Химический состав смешанной слюны

Компоненты слюны	Единицы измерения
Вода	97-99%
Сухой остаток	1,0-3,0%
Органические вещества	1%
Осадок	70 мг/л
Секреция	0,4 мл/мин
Хлориды	2,5-3,0 мг/л
Ионы кальция	40-50 мг/л
Фосфаты	190-200 мг/л
Фтор	0,06-1,8 мг/л
Остаточный азот	100-200 мг/л
pH	6,4-7,3

Свойства смешанной слюны меняются в зависимости от характера возбудителя секреции (например, вид принимаемой пищи), скорости секреции. Так, при употреблении в пищу печенья, конфет в смешанной

слюне временно возрастает уровень глюкозы и лактата. При стимуляции слюноотделения количество отделяемой слюны увеличивается, в ней растёт концентрация ионов Na^+ и HCO_3^- .

Неорганические компоненты, входящие в состав слюны, представлены анионами Cl^- , PO_4^{3-} , HCO_3^- , SCN^- , I^- , Br^- , F^- , SO_4^{2-} , катионами Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} и микроэлементами: Fe, Cu, Mn, Ni, Li, Zn, Cd, Pb, Li и др. Все минеральные макро- и микроэлементы находятся как в виде простых ионов, так и в составе соединений - солей, белков и хелатов (табл. 6.2).

Анионы HCO_3^- экскретируется посредством активного транспорта из околоушной и поднижнечелюстной слюнных желёз и определяет буферную ёмкость слюны. Концентрация HCO_3^- слюны «покоя» составляет 5 ммоль/л, а в стимулированной слюне 60 ммоль/л.

Таблица 6.2

Неорганические компоненты нестимулированной смешанной слюны и плазмы крови

Вещество	Слюна, моль/л	Плазма крови, моль/л
Натрий	6,6-24,0	130-150
Калий	12,0-25,0	3,6-5,0
Хлор	11,0-20,0	97,0-108,0
Общий кальций	0,75-3,0	2,1-2,8
Неорганический фосфат	2,2-6,5	1,0-1,6
Общий фосфат	3,0-7,0	3,0-5,0
Гидрокарбонат	20,0-60,0	25,0
Тиоцианат	0,5-1,2	0,1-0,2
Медь	0,3	0,1
Йод	0,1	0,01
Фтор	0,001-0,15	0,15

В смешанную слюну ионы Na^+ и K^+ поступают с секретом околоушных и подчелюстных слюнных желёз. Слюна из подчелюстных слюнных желёз содержит 8-14 ммоль/л калия и 6-12 ммоль/л натрия. Паротидная слюна содержит ещё большее количество калия - около 25-49 ммоль/л и значительно меньше натрия - всего 2-8 ммоль/л.

Слюна перенасыщена ионами фосфора и кальция. Фосфат содержится в двух формах: в виде «неорганического» фосфата и связанного с белками и другими соединениями. Содержание общего фосфата в слюне достигает 7,0 ммоль/л, из них 70-95% приходится на долю неорганического фосфата (2,2-6,5 ммоль/л), который представлен в виде моногидрофосфата - HPO_4^- и дигидрофосфата - H_2PO_4^- . Концентрация моногидрофосфата изменяется от уровня ниже 1 ммоль/л в слюне «покоя» до 3 ммоль/л в стимулированной слюне. Концентрация дигидрофосфата слюны «покоя» достигает 7,8 ммоль/л, а в стимулированной слюне его становится меньше 1 ммоль/л.

Содержание кальция в слюне различно и колеблется от 1,0 до 3,0 ммоль/л. Кальций, как и фосфаты, находится в ионизированной форме и в соединении с белками. Существует коэффициент соотношения $Ca^{2+}/Ca_{\text{общий}}$, который равен 0,53-0,69.

Такая концентрация кальция и фосфатов необходима для поддержания постоянства тканей зуба. Этот механизм протекает через три основных процесса: регуляцию рН; препятствие в растворении эмали зуба; включение ионов в минерализованные ткани.

Увеличение в плазме крови до нефизиологических величин ионов тяжёлых металлов сопровождается их выведением через слюнные железы. Поступившие со слюной в ротовую полость ионы тяжёлых металлов взаимодействуют с выделенными микроорганизмами молекулами сероводорода и образуются сульфиды металлов. Так появляется «свинцовая кайма» на поверхности эмали зубов.

При разрушении мочевины уреазой микроорганизмов в смешанную слюну освобождается молекула аммиака (NH_3). Тиоцианаты (SCN^- , роданиды) поступают в слюну из плазмы крови. Тиоцианиты образуются из синильной кислоты с участием фермента роданезы. В слюне курильщиков содержится в 4-10 раз больше роданидов, чем у некурящих. Их количество также может возрасти при воспалении пародонта. При распаде йодтиронинов в слюнных железах освобождаются иодиды. Количество иодидов и тиоцианатов зависит от скорости слюноотделения и снижается при увеличении секреции слюны. *Органические вещества* представлены белками, пептидами, аминокислотами, углеводами и в основном присутствуют в осадке смешанной слюны, сформированного микроорганизмами, лейкоцитами и слущенными клетками эпителия (табл. 6.3). Лейкоциты поглощают компоненты пищевых веществ, поступающих в ротовую полость, и образующиеся метаболиты освобождаются в окружающую среду. Другая часть органических веществ - мочевины, креатинина, гормоны, пептиды, факторы роста, калликреин и другие ферменты - эскретируется с секретом слюнных желёз.

Липиды. Общее количество липидов в слюне непостоянно и не превышает 60-70 мг/л. Большая их часть поступает в ротовую полость с секретами околоушных и поднижнечелюстных слюнных желёз, и только 2% из плазмы крови и клеток. Часть слюнных липидов представлена свободными длинноцепочечными насыщенными и полиненасыщенными жирными кислотами - пальмитиновой, стеариновой, эйкозопентаеновой, олеиновой и др. Кроме жирных кислот в слюне определяются свободный холестерин и его эфиры (около 28% от общего количества), триацилглицеролы (около 40-50%) и в очень небольшом количестве глицерофосфолипиды. Следует отметить, что данные о содержании и характере липидов в слюне неоднозначны.

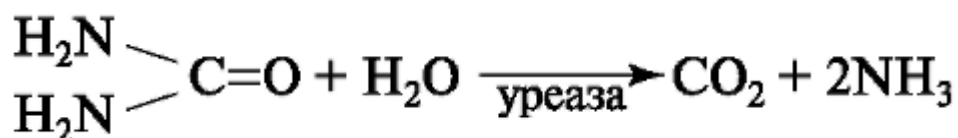
Таблица 6.3

Органические компоненты смешанной слюны

Вещества	Ед. измерения
Белок	1,0-3,0 г/л
Альбумин	30,0 мг/л
Иммуноглобулин А	39,0-59,0 мг/л
Иммуноглобулин G	11,0-18,0 мг/л
Иммуноглобулин М	2,3-4,8 мг/л
Молочная кислота	33,0 мг/л
Пировиноградная кислота	9,0 мг/л
Гексозамины	100,0 мг/л
Фукоза	90,0 мг/л
Нейраминовая кислота	12 мг/л
Общие гексозы	195,0 мг/л
Глюкоза	0,06-0,17 ммоль/л
Мочевина	200,0 мг/л
Холестерин	80,0 мг/л
Мочевая кислота	0,18 ммоль/л
Креатинин	2,0-10,0 мкмоль/л

Это связано в первую очередь с методами очистки и выделения липидов, а также способом получения слюны, возрастом обследуемых и другими факторами.

Мочевина в полость рта экскретируется слюнными железами. Наибольшее её количество выделяется малыми слюнными железами, затем околоушными и поднижнечелюстными. Количество выделяемой мочевины зависит от скорости слюноотделения и обратно пропорционально количеству выделенной слюны. Известно, что уровень мочевины в слюне повышается при заболеваниях почек. В полости рта мочевина расщепляется при участии уреолитических бактерий осадка слюны:



Количество освобождающегося NH_3 влияет на pH зубной бляшки и смешанной слюны.

Помимо мочевины в слюне определяется *мочевая кислота*, содержание которой (до 0,18 ммоль/л) отражает её концентрацию в сыворотке крови.

В слюне также присутствует креатинин в количестве 2,0-10,0 мкмоль/л. Все эти вещества определяют уровень остаточного азота в слюне.

Органические кислоты. Слюна содержит лактат, пируват и другие органические кислоты, нитраты и нитриты. В осадке слюны содержится в 2-4 раза больше лактата, чем в жидкой её части, в то время как пируват определяется больше в надосадочной жидкости. Увеличение содержания органических кислот, в частности, лактата в слюне, и зубном налете способствует очаговой деминерализации эмали и развитию кариеса.

Нитраты (NO₃-) и нитриты (NO₂-) поступают в слюну с пищей, табачным дымом и водой. Нитраты при участии нитратредуктазы бактерий превращаются в нитриты и их содержание зависит от курения. Показано, что у курильщиков и лиц, занятых в табачном производстве, развивается лейкоплакия слизистой оболочки полости рта, а в слюне растёт активность нитратредуктазы и количество нитритов. Образовавшиеся нитриты, в свою очередь, могут вступить в реакцию с вторичными аминами (аминокислоты, лекарства) с образованием канцерогенных нитрозосоединений. Эта реакция протекает в кислой среде, а ускоряют её добавленные в реакцию тиоцианаты, количество которых в слюне также растёт при курении.

Углеводы в слюне находятся преимущественно в связанном с белками состоянии. Свободные углеводы появляются после гидролиза полисахаридов и гликопротеинов гликозидазами бактерий слюны и α -амилазой. Однако образовавшиеся моносахара (глюкоза, галактоза, манноза, гексозамины) и сиаловые кислоты быстро утилизируются микрофлорой ротовой полости и превращаются в органические кислоты. Часть глюкозы может поступать с секретами слюнных желёз и отражать её концентрацию в плазме крови. Количество глюкозы в смешанной слюне не превышает 0,06-0,17 ммоль/л. Определение глюкозы в слюне следует проводить глюкозооксидазным методом, поскольку присутствие других редуцирующих веществ значительно искажает истинные значения.

Гормоны. В слюне определяется целый ряд гормонов, в основном стероидной природы. В слюну они попадают из плазмы крови через слюнные железы, десневую жидкость, а также при приеме гормонов per os. В слюне обнаружены кортизол, альдостерон, тестостерон, эстрогены и прогестерон, а также их метаболиты. Они находятся в слюне преимущественно в свободном состоянии, и только в небольших количествах в комплексе со связывающими белками. Количество андрогенов и эстрогенов зависит от степени полового созревания и может меняться при патологии репродуктивной системы. Уровень прогестерона и эстрогенов в слюне, как и в плазме крови, меняется в различные фазы менструального цикла. В норме в слюне также присутствуют инсулин, свободный тироксин, тиреотропин, кальцитриол. Концентрация этих гормонов в слюне невелика и не всегда коррелирует с показателями плазмы крови.

Регуляция кислотно-основного состояния рта

Эпителий полости рта подвергается самым различным и физическим, и химическим воздействиям, связанным с употреблением пищи. Слюна способна защитить эпителий верхней части пищеварительного тракта, а также эмаль зуба. Одной из форм защиты является сохранение и поддержание рН-среды в ротовой полости.

Поскольку смешанная слюна представляет собой взвесь клеток жидкой среды, которая омывает зубной ряд, то кислотно-основное состояние полости рта определяется скоростью слюноотделения, совместным действием буферных систем слюны, а также метаболитами микроорганизмов, количеством зубов и частотой их расположения в зубной дуге. Значение рН смешанной слюны в норме колеблется от 6,5 до 7,4 со средней величиной около 7,0.

Буферными системами называют такие растворы, которые способны сохранять постоянство рН-среды при их разбавлении или добавлении небольшого количества кислот, оснований. Уменьшение рН называют ацидозом, а увеличение - алкалозом.

Смешанная слюна содержит три буферных системы: *гидрокарбонатную*, *фосфатную* и *белковую*. Вместе эти буферные системы формируют первую линию защиты против кислотных или щелочных воздействий на ткани полости рта. Все буферные системы полости рта имеют различные пределы ёмкости: фосфатная наиболее активна при рН 6,8-7,0, гидрокарбонатная при рН 6,1-6,3, а белковая обеспечивает буферную ёмкость при различных значениях рН.

Основной буферной системой слюны является *гидрокарбонатная*, которая представляет собой сопряжённую кислотно-основную пару, состоящую из молекулы H_2CO_3 - донора протона, и гидрокарбоната HCO_3^- - акцептора протона.

Во время приёма пищи, жевания буферная ёмкость гидрокарбонатной системы обеспечивается на основе равновесия: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. Жевание сопровождается повышением слюноотделения, что приводит к увеличению концентрации гидрокарбоната в слюне. При добавлении кислоты фаза перехода CO_2 из растворённого газа в свободный (летучий) газ значительно возрастает и увеличивает эффективность нейтрализующих реакций. В силу того, что конечные продукты реакций не накапливаются, происходит полное удаление кислот. Этот феномен получил название «буфер-фаза».

При длительном стоянии слюны происходит потеря CO_2 . Эта особенность гидрокарбонатной системы называется стадией буферизации, и она

продолжается до тех пор, пока не израсходуется больше 50% гидрокарбоната.

После воздействия кислот и щелочей H_2CO_3 быстро распадается до CO_2 и H_2O . Диссоциация молекул угольной кислоты происходит в две стадии:



Фосфатная буферная система слюны представляет собой сопряжённую кислотно-основную пару, состоящую из иона дигидрофосфата $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ (донор протона) и иона моногидрофосфата - HPO_4^{3-} (акцептор протона). Фосфатная система менее эффективна по сравнению с гидрокарбонатной и не имеет эффекта «буфер-фазы». Концентрация HPO_4^{3-} в слюне не определяется скоростью слюноотделения, поэтому ёмкость фосфатной буферной системы не зависит от приёма пищи или жевания.

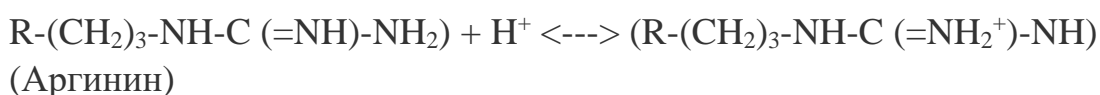
Реакции компонентов фосфатной буферной системы с кислотами и основаниями происходят следующим образом:

- При добавлении кислоты: $\text{HPO}_4^{3-} + \text{H}_3\text{O}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{PO}_4^{2-} + \text{H}_2\text{O}$
- При добавлении основания: $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-} + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{HPO}_4^{3-} + \text{H}_2\text{O}$

Белковая буферная система имеет сродство к биологическим процессам, протекающим в полости рта. Она представлена анионными и катионными белками, которые хорошо растворимы в воде. Эта буферная система включает более 944 различных белков, но до конца не известно, какие именно белки участвуют в регуляции кислотно-основного равновесия. Карбоксильные группы радикалов аспартата, глутамата, а также радикалы цистеина, серина и тирозина являются донорами протонов:



Аминогруппы радикалов аминокислот гистидина, лизина, аргинина способны присоединять протоны:



В связи с этим белковая буферная система эффективна как при pH 8,1, так и pH 5,1.

pH слюны «покоя» отличается от pH стимулированной слюны. Так, нестимулированный секрет из паротидной и поднижнечелюстной слюнных желёз имеет умеренно кислый pH (5,8), который увеличивается до 7,4 при

последующей стимуляцией. Этот сдвиг совпадает с увеличением в слюне количества HCO_3^- до 60 ммоль/л.

Благодаря буферным системам у практически здоровых людей уровень pH смешанной слюны восстанавливается после еды до исходного значения в течение нескольких минут. При несостоятельности буферных систем pH смешанной слюны снижается, что сопровождается увеличением скорости деминерализации эмали и инициирует развитие кариозного процесса.

На pH слюны в большой степени влияет характер пищи: при приеме апельсинового сока, кофе с сахаром, клубничного йогурта pH снижается до 3,8-5,5, в то время как употребление пива, кофе без сахара практически не вызывают сдвигов pH слюны.

Структурная организация мицелл слюны

Почему же кальций и фосфаты не выпадают в осадок? Это обусловлено тем, что слюна является коллоидной системой, содержащей агрегаты достаточно малых нерастворимых в воде частиц (0,1-100 нм), находящихся во взвешенном состоянии. В коллоидной системе заложено две противоположные тенденции: её неустойчивость и стремление к самоупрочению, стабилизации. Суммарная величина большой поверхности коллоидных частиц резко увеличивает её способность поглощать поверхностным слоем другие вещества, что повышает устойчивость этих частиц. В случае органических коллоидов наряду с электролитами, которые являются ионными стабилизаторами, стабилизирующую роль выполняют белки.

Вещество, находящееся в дисперсном состоянии, образует нерастворимое «ядро» коллоидной степени дисперсности. Оно вступает в адсорбционное взаимодействие с ионами электролита (стабилизатор), находящегося в жидкой (водная) фазе. Молекулы стабилизатора диссоциируют в воде и участвуют в образовании двойного электрического слоя вокруг ядра (адсорбционный слой) и диффузного слоя вокруг такой заряженной частицы. Весь комплекс, состоящий из нерастворимого в воде ядра, дисперсной фазы и слоёв стабилизатора (диффузный и адсорбционный), охватывающих ядро, получил название *мицеллы*.

Какова же вероятная структурная организация мицелл в слюне?

Предполагают, что нерастворимое ядро мицеллы образует фосфат кальция $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ (рис. 6.7). На поверхности ядра сорбируются находящиеся в слюне в избытке молекулы моногидрофосфата (HPO_4^{2-}). В адсорбционном и диффузных слоях мицеллы находятся ионы Ca^{2+} , являющиеся противоионами. Белки (в частности муцин), связывающие большое количество воды, способствуют распределению всего объёма слюны между

мицеллами, в результате чего она структурируется, приобретает высокую вязкость, становится малоподвижной.

Условные обозначения

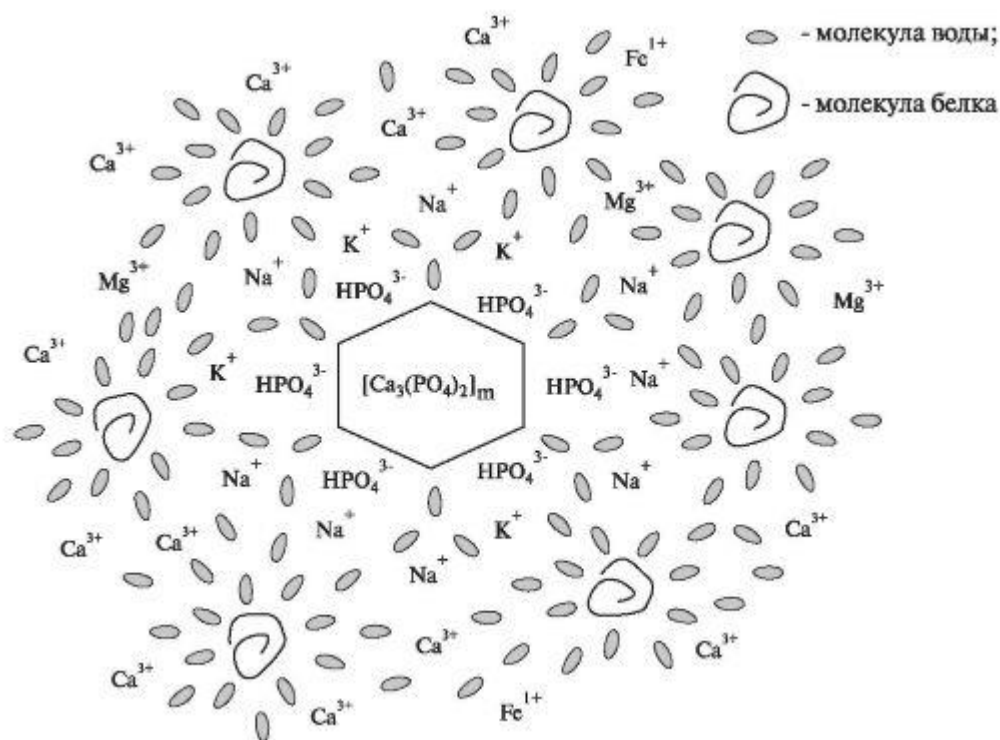


Рис. 6.7. Предполагаемая модель строения мицеллы слюны с «ядром» из фосфата кальция.

В кислой среде заряд мицеллы может уменьшиться вдвое, так как ионы моногидрофосфата связывают протоны H^+ . Появляются ионы дигидрофосфата - $H_2PO_4^-$ вместо моногидрофосфата HPO_4^- . Это снижает устойчивость мицеллы, а ионы дигидрофосфата такой мицеллы не участвуют в процессе реминерализации эмали. Подщелачивание приводит к увеличению фосфат-ионов, которые соединяются с Ca^{2+} и образуются плохо растворимые соединения $Ca_3(PO_4)_2$, осаждающиеся в виде зубного камня.

Изменение структуры мицелл слюне также приводит к образованию камней в протоках слюнных желёз и развитию слюннокаменной болезни.

Микрокристаллизация слюны

П.А. Леус (1977) впервые показал, что на предметном стекле после высушивания капли слюны формируются структуры, имеющие различное строение. Установлено, что характер микрокристаллов слюны имеет индивидуальные особенности, которые могут быть связаны с состоянием организма, тканей полости рта, характером питания и экологической обстановкой.

При высушивании слюны здорового человека под микроскопом видны микрокристаллы, имеющие характерный рисунок сформированных «листьев папоротника» или «коралловых ветвей» (рис. 6.8).

Существует определённая зависимость вида рисунка от степени вязкости слюны. При низкой вязкости микрокристаллы представлены мелкими, бесформенными, рассеянными, редко расположенными образованиями без чёткой структуры. В них включаются отдельные участки в виде тонких, слабо выраженных «листьев папоротника» (рис. 6.9, А). Напротив, при высокой вязкости смешанной слюны микрокристаллы плотно расположены и в основном хаотично ориентированы. Имеется большое количество зернистых и ромбовидных структур более тёмного цвета по сравнению с аналогичными образованиями, обнаруживаемыми в смешанной слюне с нормальной вязкостью (рис. 6.9, Б).

Употребление воды, насыщенной минералами с высокой электропроводностью (коралловая вода), нормализует вязкость и восстанавливает структуру жидких кристаллов ротовой жидкости.

Характер рисунка микрокристаллов также меняется при патологии зубочелюстной системы. Так для компенсированной формы течения кариеса характерен чёткий рисунок удлинённых кристаллопризматических структур, сросшихся между собой и занимающих всю поверхность капли. При субкомпенсированной форме течения кариеса в центре капли видны отдельные дендритные кристаллопризматические структуры небольших размеров. При декомпенсированной форме кариеса по всей площади капли просматривается большое количество изометрически расположенных кристаллических структур неправильной формы.



Рис. 6.8. Строение микрокристаллов слюны здорового человека.

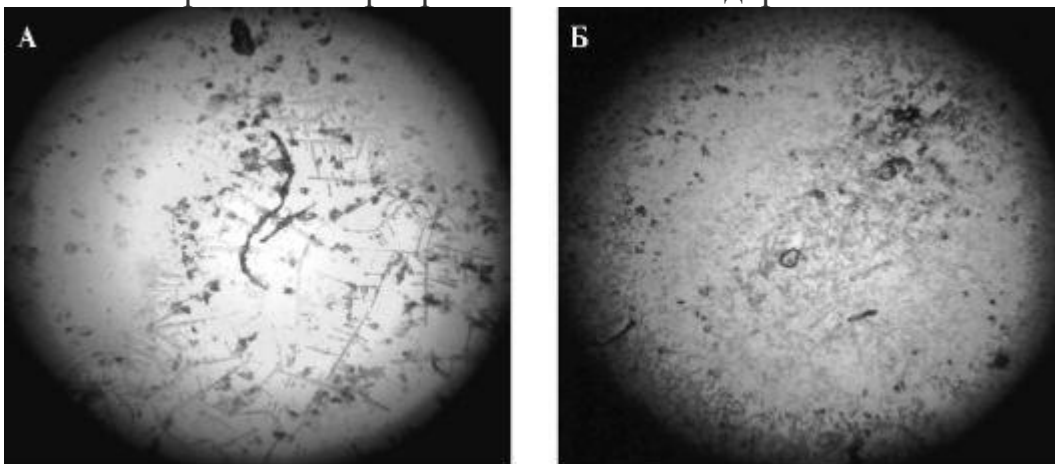


Рис. 6.9. Строение микрокристаллов смешанной слюны:

А - слюна пониженной вязкости; *Б* - слюна повышенной вязкости.

С другой стороны, имеются сведения о том, что микрокристаллизация слюны отражает состояние организма в целом, поэтому предлагается использовать кристаллообразование слюны как тест-систему для экспресс-диагностики некоторых соматических заболеваний или общей оценки состояния организма.

Белки слюны

В настоящее время методом двухмерного электрофореза в смешанной слюне обнаружено около 1009 протеинов, из них 306 идентифицировано.

Большинство белков слюны является гликопротеинами, в которых количество углеводов достигает 4-40%. Секреты различных слюнных желёз содержат гликопротеины в различных пропорциях, что и определяет разницу в их вязкости. Так, наиболее вязкая слюна - секрет подъязычной железы (коэффициент вязкости 13,4), затем подчелюстной (3,4) и паротидной (1,5). В условиях стимуляции могут синтезироваться неполноценные гликопротеины и слюна становится менее вязкой.

Слюнные гликопротеины неоднородны и различаются по мол. массе, подвижности в изоэлектрическом поле и содержанию фосфата.

Олигосахаридные цепи в слюнных белках связываются с гидроксильной группой серина и треонина O-гликозидной связью или присоединяется к остатку аспарагина через N-гликозидную связь (рис. 6.10).

Источниками белков в смешанной слюне являются:

1. Секреты больших и малых слюнных желёз;
2. Клетки - микроорганизмы, лейкоциты, слущенный эпителий;
3. Плазма крови. Белки слюны выполняют множество функций (рис. 6.11). При этом один и тот же белок может участвовать в нескольких процессах, что позволяет говорить о полифункциональности слюнных белков.

Секреторные белки

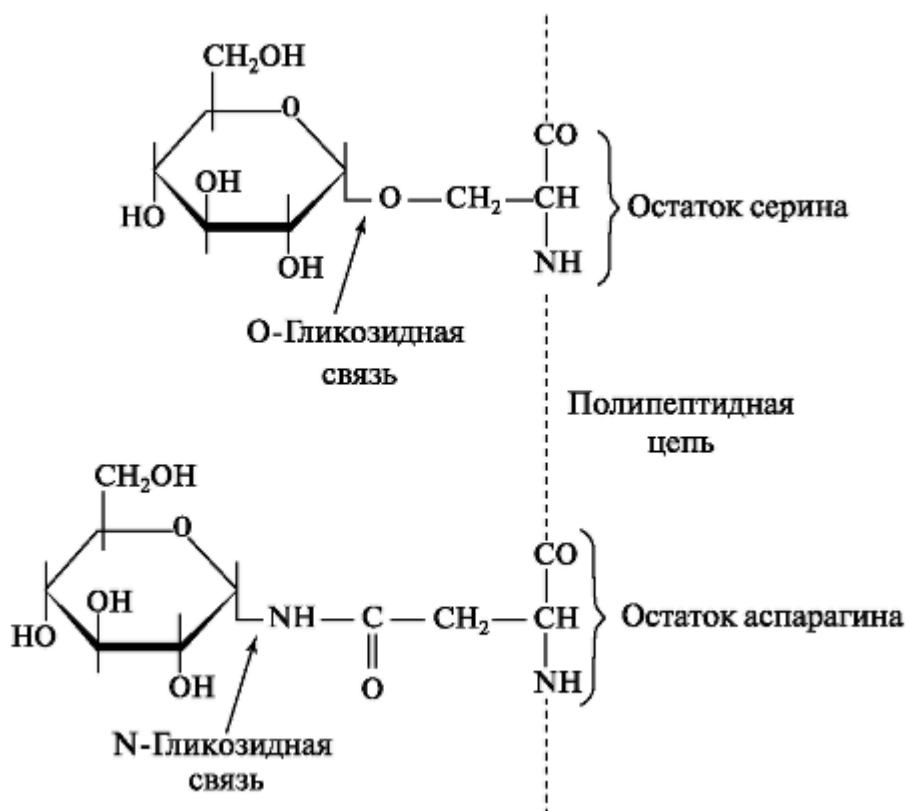


Рис. 6.10. Присоединение моносахаридных остатков в гликопротеинах через O- и N- гликозидные связи.

Ряд белков слюны синтезируются слюнными железами и представлены муцином (две изоформы M-1, M-2), белками, богатыми пролином, иммуноглобулинами (IgA, IgG, IgM), калликреином, паротинном; ферментами - α -амилазой, лизоцимом, гистатинами, цистатинами, статзерином, карбоангидразой, пероксидазой, лактоферрином, протеиназами, липазой, фосфатазами и другими. Они имеют разную мол. массу; наибольшей обладают муцины и секреторный иммуноглобулин A (рис. 6.12). Эти белки слюны на слизистой оболочке полости рта формируют пелликулу, которая обеспечивает смазку, защищает слизистую от воздействия факторов внешней среды и протеолитических ферментов, выделяемых бактериями и разрушенными полиморфоядерными лейкоцитами, а также предотвращает её высушивание.

Муцины - высокомолекулярные белки, обладающие множеством функций. Обнаружены две изоформы этого белка, которые различаются по мол. массе: муцин-1 - 250 кДа, муцин-2 - 1000 кДа. Муцин синтезируется в поднижнечелюстных, подъязычных и малых слюнных железах. В полипептидной цепи муцина содержится большое количество серина и треонина, а всего их насчитывается около 200 на одну полипептидную цепь.



Рис. 6.11. Полифункциональность белков смешанной слюны [Levine, 199].

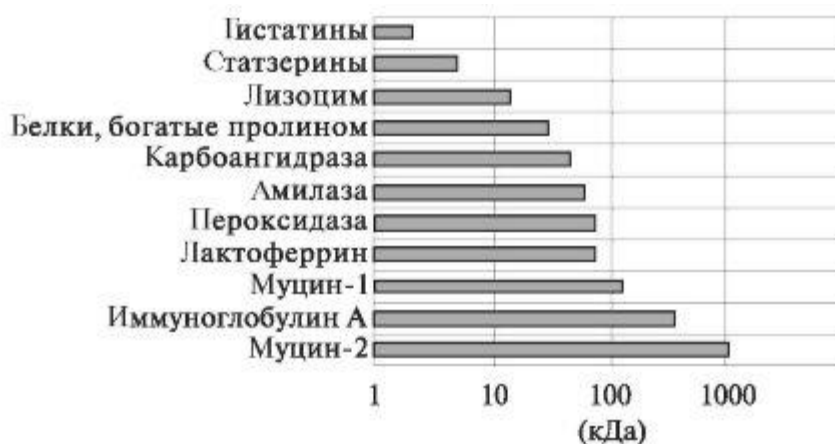


Рис. 6.12. Молекулярный вес некоторых основных секреторных белков слюны [по Levine M., 1993].

Третьей, наиболее часто встречающейся аминокислотой в муцине, является пролин. К остаткам серина и треонина через 0-гликозидную связь присоединены остатки N-ацетил-нейраминовой кислоты, N-ацетилгалактозамина, фруктозы и галактозы. Сам белок напоминает по своему строению гребенку: короткие углеводные цепи, как зубья, торчат из жесткой, богатой пролином, полипептидной основы (рис. 6.13).

Благодаря способности связывать большое количество воды муцины придают слюне вязкость, защищают поверхность от бактериального загрязнения и растворения фосфата кальция. Бактериальная защита обеспечивается совместно с иммуноглобулинами и некоторыми другими белками, присоединенными к муцину. Муцины присутствуют не только в слюне, но также в секретах бронхов и кишечника, семенной жидкости и выделениях из шейки матки, где играют роль смазки и защищают подлежащие ткани от химических и механических повреждений.

Олигосахариды, связанные с муцинами, обладают антигенной специфичностью, что соответствует группоспецифическим антигенам, которые присутствуют также в виде сфинголипидов и гликопротеинов на поверхности эритроцитов и в виде олигосахаридов в молоке и моче. Способность секретировать группоспецифические вещества в составе слюны передается по наследству.

Концентрация группоспецифических веществ в слюне равна 10-130 мг/л. Они в основном поступают с секретом малых слюнных желёз и точно соответствуют группе крови. Исследование группоспецифических веществ в слюне используется в судебной медицине для установления группы крови в тех случаях, когда это невозможно сделать иначе. В 20% случаев встречаются индивидуумы, у которых гликопротеины, содержащиеся в секретах, лишены характерной антигенной специфичности А, В или Н.

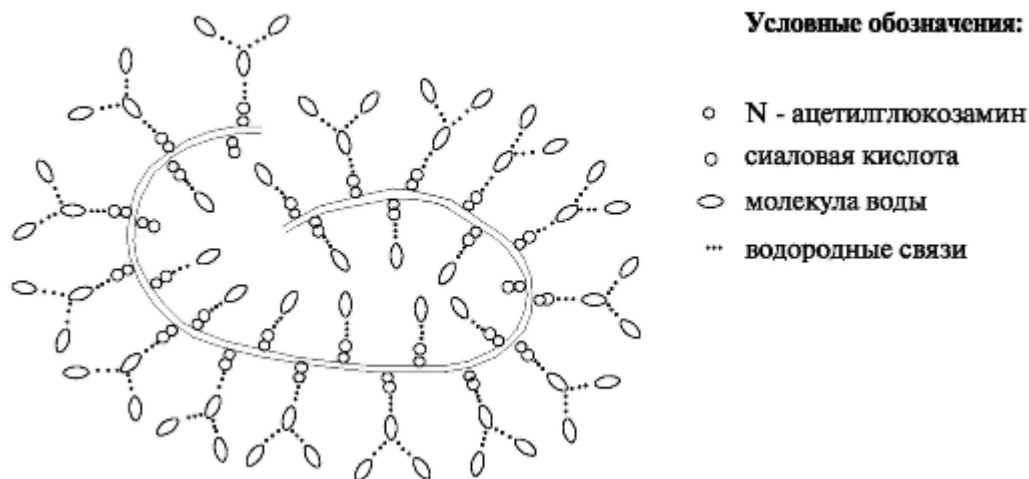


Рис. 6.13. Структура слюнного муцина.

Белки, богатые пролином (ББП). Впервые об этих белках в 1971 г. сообщил Оппенгеймер. Они были открыты в слюне околоушных желёз и составляют до 70% от общего количества всех белков в этом секрете. Мол. масса ББП колеблется от 6 до 12 кДа. Исследование аминокислотного состава выявило, что 75% от общего числа аминокислот приходится на пролин, глицин, глутаминовую и аспарагиновую кислоты. Это семейство объединяют несколько белков, которые по свойствам делят на 3 группы: кислые ББП; основные ББП; гликозилированные ББП.

ББП выполняют в полости рта несколько функций. В первую очередь, они легко адсорбируются на поверхности эмали и являются компонентами приобретенной пелликулы зуба. Кислые ББП, входящие в состав пелликулы зуба, связываются с белком статерином и препятствуют его взаимодействию с гидроксиапатитом при кислых значениях pH. Таким образом, кислые ББП задерживают деминерализацию эмали зуба и ингибируют излишнее осаждение минералов, то есть поддерживают постоянство количества кальция и фосфора в эмали зуба. Кислые и гликозилированные ББП также способны связывать определенные микроорганизмы и таким образом участвуют в образовании микробных колоний в зубном налёте.

Гликозилированные ББП участвуют в смачивании пищевого комка.

Предполагают, что основные ББП играют определённую роль в связывании танинов пищи и тем самым защищают слизистую оболочку полости рта от их повреждающего действия, а также придают вязко-эластические свойства слюне.

Антимикробные пептиды в смешанную слюну попадают с секретом слюнных желёз из лейкоцитов и эпителия слизистой оболочки. Они представлены кателидинами; α - и β -дефензинами; кальпротектином; пептидами с высокой пропорцией специфических аминокислот (гистатины).

Гистатины (белки, богатые гистидином). Из секретов околоушных и подчелюстных слюнных желёз человека выделено семейство основных олиго- и полипептидов, отличающихся большим содержанием гистидина. Исследование первичной структуры гистатинов показало, что они состоят из 7-38 аминокислотных остатков и имеют большую степень сходства между собой. Семейство гистатинов представлено 12 пептидами с разной мол. массой. Считают, что отдельные пептиды этого семейства образуются в реакциях ограниченного протеолиза, либо в секреторных везикулах, либо при прохождении белков через железистые протоки. Гистатины -1 и -2 значительно отличаются от других членов этого семейства белков. Установлено, что гистатин-2 является фрагментом гистатина-1, а гистатины-4-12 образуются при гидролизе гистатина-3 при участии ряда протеиназ, в частности, калликреина.

Хотя биологические функции гистатинов окончательно не выяснены, уже установлено, что гистатин-1 участвует в образовании приобретенной пелликулы зуба и является мощным ингибитором роста кристаллов гидроксиапатитов в слюне. Смесь очищенных гистатинов подавляет рост некоторых видов стрептококков (*Str. mutans*). Гистатин-5 подавляет действие вируса иммунодефицита и грибков (*Candida albicans*). Одним из механизмов такого антимикробного и антивирусного действия является взаимодействие гистатина-5 с различными протеиназами, выделенными из микроорганизмов ротовой полости. Также показано, они связываются с специфическими рецепторами грибов и формируют каналы в их мембране, обеспечивающий транспорт в клетку ионов K^+ , Mg^{2+} с мобилизацией АТФ из клетки. Мишенью для гистатинов в микробных клетках также являются митохондрии.

α - и β -Дефензины - низкомолекулярные пептиды с мол. массой 3-5 кДа, имеющие β -структуру и богатые цистеином. Источником α -дефензинов являются лейкоциты, а β -дефензинов - кератиноциты и слюнные железы. Дефензины действуют на грамположительные и грамотрицательные бактерии, грибы (*Candida albicans*) и некоторые вирусы. Они формируют ионные каналы в зависимости от типа клеток, а также агрегируют с пептидами мембран и таким образом обеспечивают перенос ионов через мембрану. Также в бактериальных клетках дефензины подавляют синтез белков.

Кателидины - пептиды, имеющие структуру α -спирали и не содержащие остатков цистеина; присутствуют в слюне, на поверхности слизистых оболочек и кожи. Кателидины способны связываться с липополисахаридами и двухвалентными катионами бактериальных мембран, что облегчает их встраивание в мембраны. В мембранах грамположительных и

грамотрицательных бактерий, вирусов и паразитов каталидины формируют ионные каналы или поры.

В антимицробной защите также участвует белок *кальпротектин* - пептид, обладающий мощным противомикробным действием и попадающий в слюну из эпителиоцитов и нейтрофильных гранулоцитов.

Статерины (белки, богатые тирозином). Из секрета околоушных слюнных желёз выделены фосфопротеины, содержащие до 15% пролина и 25% кислых аминокислот, мол. масса которого равна 5,38 кДа. Они вместе с другими секреторными белками ингибирует спонтанную преципитацию фосфорнокальциевых солей на поверхности зуба, в ротовой полости и в слюнных железах. Статерины связывают Ca^{2+} , ингибируя его осаждение и образование гидроксиапатитов в слюне. Также эти белки обладают способностью не только тормозить рост кристаллов, но и фазу нуклеации (образование затравки будущего кристалла). Определяются в эмалевой пелликуле и связываются N- концевой областью с гидроксиапатитами эмали. Статерины совместно с гистатинами ингибируют рост аэробных и анаэробных бактерий.

Лактоферрин - гликопротеин, содержащийся во многих секретах. Особенно его много в молозиве и слюне. Он связывает железо (Fe^{3+}) бактерий и нарушает окислительно-восстановительные процессы в бактериальных клетках, оказывая тем самым бактериостатическое действие.

Иммуноглобулины. Иммуноглобулины подразделяют на классы в зависимости от структуры, свойств и антигенных особенностей их тяжёлых полипептидных цепей. В слюне присутствуют все 5 классов иммуноглобулинов - IgA, IgAs, IgG, IgM, IgE. Основным иммуноглобулином полости рта (90%) является секреторный иммуноглобулин А (SIgA, IgA₂), который выделяется околоушными слюнными железами. Остальные 10% IgA₂ секретируются малыми и поднижнечелюстными слюнными железами. Цельная слюна у взрослых содержит от 30 до 160 мкг/мл SIgA. Дефицит IgA₂ встречается в одном случае на 500 человек и сопровождается частыми вирусными инфекциями. Все другие виды иммуноглобулинов (IgE, IgG, IgM) определяются в меньшем количестве. Они поступают из плазмы крови путём простой трансудации через малые слюнные железы и зубодесневую бороздку.

Лептин - белок с мол. массой 16 кДа участвует в процессах регенерации слизистой оболочки. Связываясь с рецепторами кератиноцитов, вызывает экспрессию факторов роста кератиноцитов и эпителия. Через фосфорилирование сигнальных белков STAT-1 и STAT-3 эти факторы роста способствуют дифференцировке кератиноцитов.

Гликопротеин 340 (gp340, ГП 340) - белок, богатый цистеином, с мол. массой 340 кДа; относится к антивирусным белкам. Являясь агглютинином ГП 340 в присутствии Ca^{2+} связывается с аденовирусами и вирусами, вызывающими гепатит, ВИЧ-инфекцию. Он также взаимодействует с бактериями ротовой полости (*Str. mutans, Helicobacter pylori* и др.) и подавляет их сцепление при образовании колоний. Ингибирует активность эластазы лейкоцитов и таким образом защищает белки слюны от протеолиза.

В слюне также обнаружены специфические белки - саливопротеин, способствующий отложению фосфорнокальциевых соединений на поверхности эмали зубов, и фосфопротеин - кальций-связывающий белок с высоким сродством к гидроксиапатиту, участвующий в образовании зубного камня и зубного налёта.

Помимо секреторных белков в смешанную слюну из плазмы крови поступают альбумины и глобулиновые фракции.

Ферменты слюны. Ведущую роль среди защитных факторов слюны играют ферменты различного происхождения - α -амилаза, лизоцим, нуклеазы, пероксидаза, карбоангидраза и др. В меньшей мере это относится к амилазе - основному ферменту смешанной слюны, участвующему в начальных этапах пищеварения.

Гликозидазы. В слюне определяется активность эндо- и экзогликозидаз. К эндогликозидазам в первую очередь относится α -амилаза слюны.

α -Амилаза. Слюнная α -амилаза расщепляет $\alpha(1-4)$ -гликозидные связи в крахмале и гликогене. По своим иммунохимическим свойствам и аминокислотному составу слюнная α -амилаза идентична панкреатической амилазе. Определенные различия между этими амилазами обусловлены тем, что слюнная и панкреатическая амилазы кодируются различными генами (AMU_1 и AMU_2).

Изоферменты α -амилазы представлены 11 белками, которые объединяют в 2 семейства: А и В. Белки семейства А имеют мол. массу 62 кДа и содержат остатки углеводов, а изоэнзимы семейства В лишены углеводного компонента и имеют меньшую мол. массу - 56 кДа. В смешанной слюне идентифицирован фермент, который отщепляет углеводный компонент и путём дегликозилирования изоамилаз, и белки семейства А превращаются в протеины семейства В.

α -Амилаза выделяется с секретом паротидной железы и губных мелких желёз, где концентрация ее составляет 648-803 мкг/мл и не связана с возрастом, но меняется в течение суток в зависимости от чистки зубов и приёма пищи.

Помимо α -амилазы в смешанной слюне определяется активность еще нескольких гликозидаз - α -L-фукозидазы, α - и β -глюкозидаз, α - и β -галактозидаз, α -D-маннозидазы, β -глюкуронидазы, β -гиалу- ронидазы, β -N-ацетилгексозаминидазы, нейраминидазы. Все они имеют различное происхождение и разные свойства. α -L-Фукозидаза выделяется с секретом околоушных слюнных желёз и расщепляет α -(1- \rightarrow 2) гликозидные связи в коротких олигосахаридных цепях. Источником β -N-D-ацетилгексозаминидазы в смешанной слюне являются секреты больших слюнных желёз, а также микрофлоры полости рта.

α - и β -глюкозидазы, α - и β -галактозидазы, β -глюкуронидаза, нейраминидаза и гиалуронидаза имеют бактериальное происхождение и наиболее активны в кислой среде. β -D-гиалуронидаза катализирует гидролиз β -(14) гликозидных связей в гиалуроновой кислоте и других гликозаминогликанов. Изменение гиалуронидазной активности в слюне коррелирует с числом грамотрицательных бактерий и возрастает при воспалении десны. Вместе с гиалуронидазной активностью возрастает активность β -глюкуронидазы, которая в норме подавляется ингибитором β -глюкокуронидазы, поступающего из плазмы крови.

Показано, что несмотря на большую активность кислых гликозидаз в слюне, эти ферменты способны расщеплять гликозидные цепи в слюнных муцинах с образованием сиаловых кислот и аminosахаров.

Лизоцим - белок с мол. массой около 14 кДа, полипептидная цепь которого состоит из 129 аминокислотных остатков и свёрнута в компактную глобулу. Трёхмерная конформация полипептидной цепи поддерживают 4 дисульфидные связи. Глобула лизоцима состоит из двух частей: в одной содержатся аминокислоты, имеющие гидрофобные группы (лейцин, изолейцин, триптофан), в другой части преобладают аминокислоты с полярными группами (лизин, аргинин, аспарагиновая кислота).

Источником лизоцима в ротовой жидкости являются слюнные железы. Лизоцим синтезируется эпителиальными клетками протоков слюнных желёз. Со смешанной слюной в ротовую полость поступает примерно 5,2 мкг лизоцима в 1 минуту. Другим источником лизоцима являются нейтрофилы. Бактерицидное действие лизоцима основано на том, что он катализирует гидролиз α (1-4)-гликозидной связи, соединяющей N-ацетилглюкозамин с N-ацетилмурамовой кислотой в полисахаридах клеточной оболочки микроорганизмов, что способствует разрушению муреина в стенке бактериальной клетки (рис. 6.14).

При размещении гексасахаридного фрагмента муреина в активном центре макромолекулы лизоцима все моносахаридные звенья сохраняют конформацию кресла, кроме кольца 4, которое попадает в слишком тесное

окружение боковыми радикалами остатков аминокислот. Кольцо 4 принимает более напряжённую конформацию полукресла и при этом уплощается. Гликозидная связь между кольцами 4 и 5 располагается в непосредственной близости с аминокислотными остатками активного центра асп-52 и глү-35, которые и принимают активное участие в ее гидролизе (рис. 6.15).

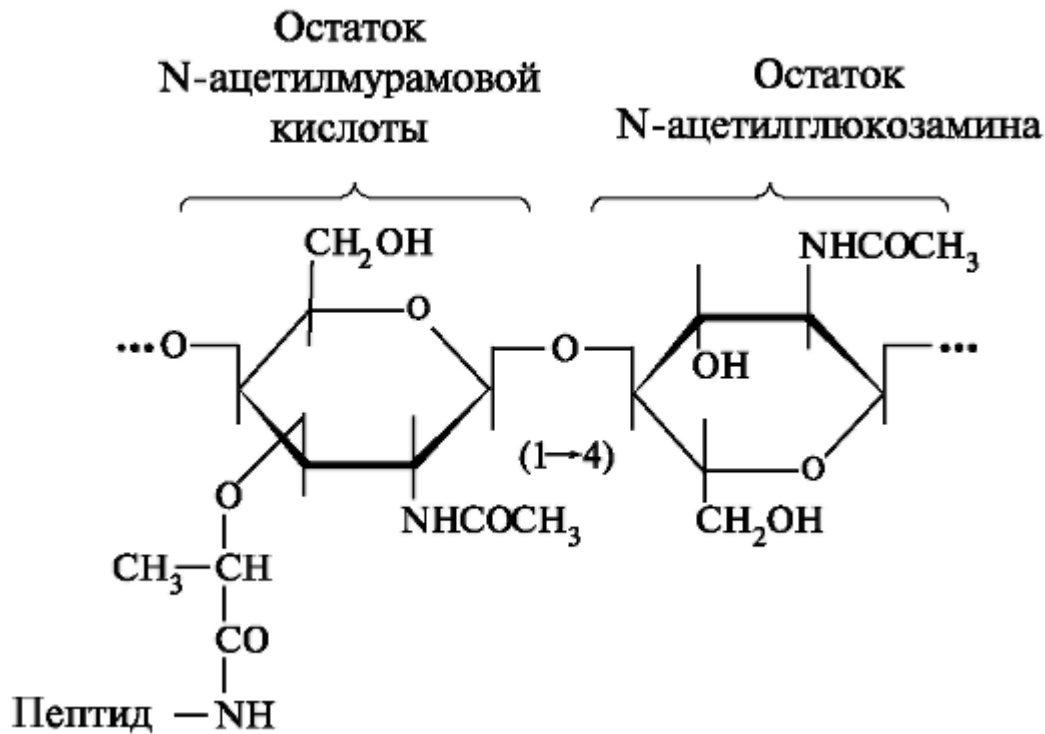


Рис. 6.14. Структурная формула муреина, присутствующего в мембране грамположительных бактерий.

Показано, что несмотря на большую активность кислых гликозидаз в слюне, эти ферменты способны расщеплять гликозидные цепи в слюнных муцинах с образованием сиаловых кислот и аminosахаров.

Лизоцим - белок с мол. массой около 14 кДа, полипептидная цепь которого состоит из 129 аминокислотных остатков и свёрнута в компактную глобулу. Трёхмерная конформация полипептидной цепи поддерживают 4 дисульфидные связи. Глобула лизоцима состоит из двух частей: в одной содержатся аминокислоты, имеющие гидрофобные группы (лейцин, изолейцин, триптофан), в другой части преобладают аминокислоты с полярными группами (лизин, аргинин, аспарагиновая кислота).

Источником лизоцима в ротовой жидкости являются слюнные железы. Лизоцим синтезируется эпителиальными клетками протоков слюнных желёз. Со смешанной слюной в ротовую полость поступает примерно 5,2 мкг лизоцима в 1 минуту. Другим источником лизоцима являются нейтрофилы. Бактерицидное действие лизоцима основано на том, что он катализирует

гидролиз $\alpha(1-4)$ -гликозидной связи, соединяющей N-ацетилглюкозамин с N-ацетилмурамовой кислотой в полисахаридах клеточной оболочки микроорганизмов, что способствует разрушению муреина в стенке бактериальной клетки (рис. 6.14).

При размещении гексасахаридного фрагмента муреина в активном центре макромолекулы лизоцима все моносахаридные звенья сохраняют конформацию кресла, кроме кольца 4, которое попадает в слишком тесное окружение боковыми радикалами остатков аминокислот. Кольцо 4 принимает более напряжённую конформацию полукресла и при этом уплощается. Гликозидная связь между кольцами 4 и 5 располагается в непосредственной близости с аминокислотными остатками активного центра асп-52 и глү-35, которые и принимают активное участие в ее гидролизе (рис. 6.15).

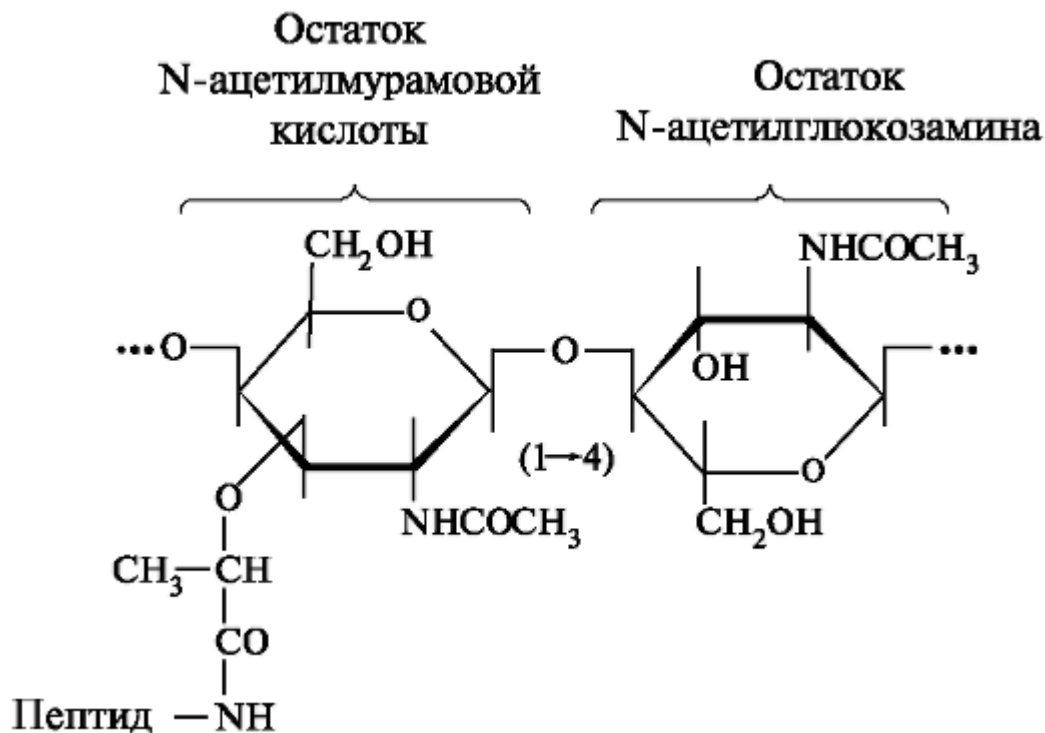


Рис. 6.14. Структурная формула муреина, присутствующего в мембране грамположительных бактерий.

Показано, что несмотря на большую активность кислых гликозидаз в слюне, эти ферменты способны расщеплять гликозидные цепи в слюнных муцинах с образованием сиаловых кислот и аминасахаров.

Лизоцим - белок с мол. массой около 14 кДа, полипептидная цепь которого состоит из 129 аминокислотных остатков и свёрнута в компактную глобулу. Трёхмерная конформация полипептидной цепи поддерживают 4 дисульфидные связи. Глобула лизоцима состоит из двух частей: в одной содержатся аминокислоты, имеющие гидрофобные группы (лейцин,

изолейцин, триптофан), в другой части преобладают аминокислоты с полярными группами (лизин, аргинин, аспарагиновая кислота).

Источником лизоцима в ротовой жидкости являются слюнные железы. Лизоцим синтезируется эпителиальными клетками протоков слюнных желёз. Со смешанной слюной в ротовую полость поступает примерно 5,2 мкг лизоцима в 1 минуту. Другим источником лизоцима являются нейтрофилы. Бактерицидное действие лизоцима основано на том, что он катализирует гидролиз $\alpha(1-4)$ -гликозидной связи, соединяющей N-ацетилглюкозамин с N-ацетилмурамовой кислотой в полисахаридах клеточной оболочки микроорганизмов, что способствует разрушению муреина в стенке бактериальной клетки (рис. 6.14).

При размещении гексасахаридного фрагмента муреина в активном центре макромолекулы лизоцима все моносахаридные звенья сохраняют конформацию кресла, кроме кольца 4, которое попадает в слишком тесное окружение боковыми радикалами остатков аминокислот. Кольцо 4 принимает более напряжённую конформацию полукресла и при этом уплощается. Гликозидная связь между кольцами 4 и 5 располагается в непосредственной близости с аминокислотными остатками активного центра асп-52 и глү-35, которые и принимают активное участие в ее гидролизе (рис. 6.15).

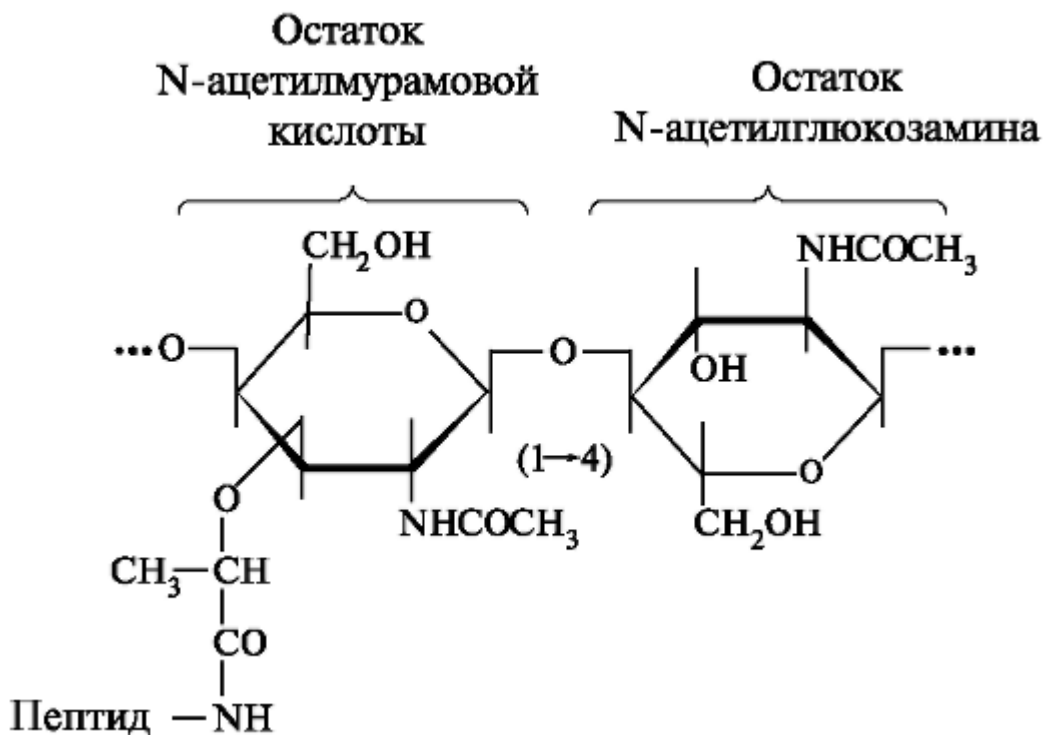


Рис. 6.14. Структурная формула муреина, присутствующего в мембране грамположительных бактерий.

Через гидролитическое расщепление гликозидной связи в полисахаридной цепи муреина разрушается бактериальная клеточная стенка, что составляет химическую основу антибактериального действия лизоцима.

Наиболее чувствительны к лизоциму грамположительные микроорганизмы и некоторые вирусы. Образование лизоцима снижается при некоторых видах заболеваний полости рта (стоматиты, гингивиты, пародонтиты).

Карбоангидраза - фермент, относящийся к классу лиаз. Катализирует расщепление связи С-О в угольной кислоте, что приводит к образованию молекул CO_2 и H_2O .

В ацинарных клетках околоушных и поднижнечелюстных слюнных желёз синтезируется карбоангидраза VI типа и в составе секреторных гранул секретируется в слюну. Это белок с мол. массой 42 кДа и составляет около 3% от общего количества всех белков в паротидной слюне.

Секреция карбоангидразы VI в слюну подчиняется циркадным ритмам: её концентрация очень низкая во время сна и растёт в дневное время после пробуждения и завтрака. Эта циркадная зависимость очень схожа с β -амилазой слюны и доказывает положительную корреляцию между уровнем активности слюнной амилазы и концентрацией карбоангидразы VI.

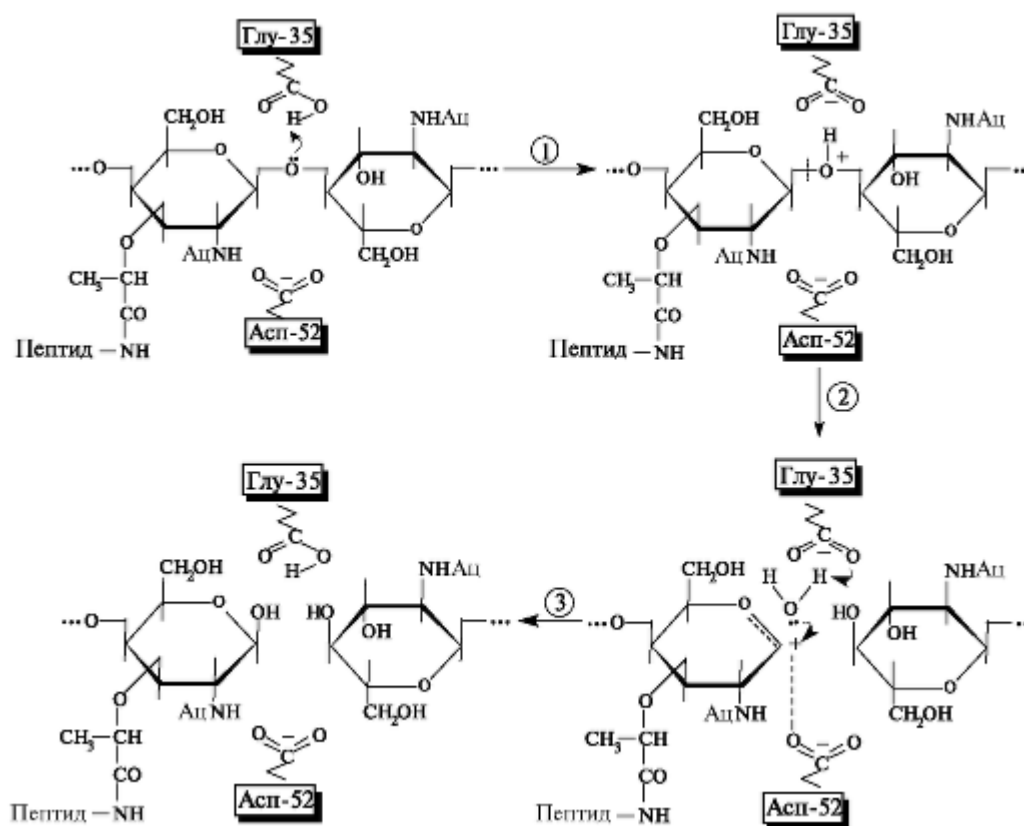


Рис. 6.15. Гидролиз $\beta(1 \rightarrow 4)$ гликозидной связи в муреине ферментом лизоцимом.

Это доказывает, что эти два фермента секретируются по схожим механизмам и, возможно, имеются в одних и тех же секреторных гранулах.

Карбоангидраза регулирует буферную ёмкость слюны. Новейшие исследования показали, что карбоангидраза VI связывается с пелликулой эмали и сохраняет свою ферментативную активность на поверхности зуба. На пелликуле карбоангидраза VI участвует в превращении гидрокарбоната и продуктов метаболизма бактерий в CO₂ и H₂O. Ускоряя удаление кислот с поверхности зуба, карбоангидраза VI защищает эмаль зубов от деминерализации. Низкую концентрацию карбоангидразы VI в слюне обнаруживают у людей с активным кариозным процессом.

Пероксидазы относятся к классу оксидоредуктаз и катализируют окисление донора H₂O₂. Последняя в полости рта образуется микроорганизмами и её количество зависит от метаболизма сахарозы и аминокислот. Катализирует образование H₂O₂ фермент супероксиддисмутаза (рис. 6.16).



Рис. 6.16. Реакция дисмутирования супероксид-аниона ферментом супероксиддисмутазой.

Слюнные железы секретируют в полость рта ионы тиоцианатов (SCN⁻), Cl⁻, I⁻, Br⁻. В смешанной слюне в норме присутствуют слюнная пероксидаза (лактопероксидаза) и миелопероксидаза, а при патологических состояниях появляется глутатионпероксидаза.

Слюнная пероксидаза относится к гемопротеинам и образуется в ацинарных клетках околоушных и поднижнечелюстных слюнных желёз. Она представлена множественными формами с мол. массой 78, 80 и 28 кДа. В секрете околоушной железы активность фермента в 3 раза выше, чем в поднижнечелюстной. Слюнная пероксидаза окисляет тиоцианаты SCN⁻. Механизм окисления SCN⁻ включает несколько реакций (рис. 6.17).

Наибольшее окисление SCN⁻ слюнной пероксидазой протекает при pH 5,0-6,0, поэтому антибактериальный эффект этого фермента увеличивается при кислых значениях pH. Образующийся гипотиоцианат (⁻OSCN) при pH <7,0 подавляет рост *Str. mutans* и оказывает в 10 раз более мощное антибактериальное действие, чем H₂O₂. Вместе с тем при понижении pH возрастает опасность деминерализации твёрдых тканей зубов.

В процессе очистки и выделения слюнной пероксидазы было обнаружено, что фермент находится в комплексе с одним из ББП, что, по-видимому, позволяет участвовать этому ферменту в защите эмали зуба от повреждения.

Из полиморфноядерных лейкоцитов освобождается миелопероксидаза, окисляющая ионы Cl⁻, I⁻, Br⁻. Результатом взаимодействия системы

«пероксидазаперекись водорода-хлор» является образование гипохлорита (HOCl).

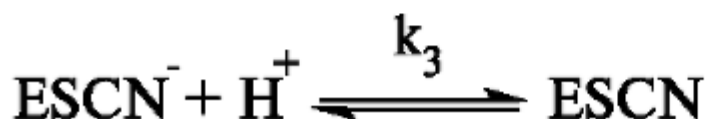
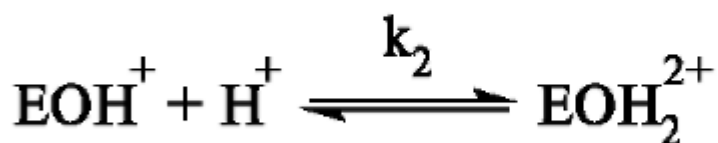
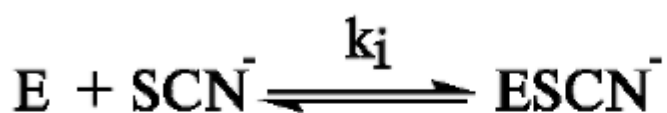
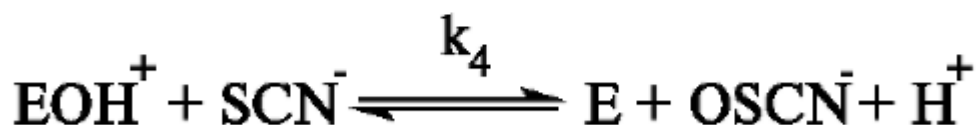
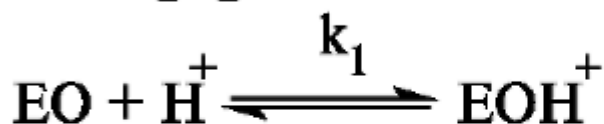
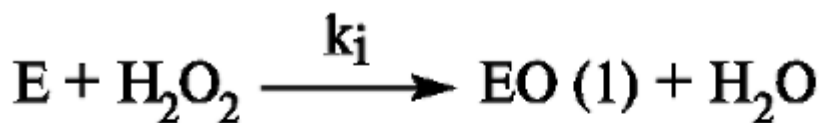


Рис. 6.17. Этапы окисления тиоцианатов слюнной пероксидазой.

Объектом действия последнего являются аминокислоты белков микроорганизмов, которые превращаются в активные альдегиды или другие токсичные продукты. В связи с этим способность слюнных желёз, наряду с пероксидазой, экскретировать в значительных количествах ионы SCN^- , Cl^- , I^- , Br^- . В также следует отнести к функции антимикробной защиты.

Таким образом, биологическая роль присутствующих в слюне пероксидаз заключается в том, что, с одной стороны, продукты окисления тиоцианатов, галогенов ингибируют рост и метаболизм лактобацилл и некоторых других микроорганизмов, а с другой стороны, предотвращается аккумуляция молекул H_2O_2 многими видами стрептококков и клетками слизистой оболочки полости рта.

Протеиназы (протеолитические ферменты слюны). В слюне отсутствуют условия для активного расщепления белков. Это обусловлено тем, что в

ротовой полости нет денатурирующих факторов, а также присутствует большое количество ингибиторов протеиназ белковой природы. Низкая активность протеиназ позволяет сохранять белки слюны в нативном состоянии и полноценно выполнять свои функции.

В слюне здорового человека определяется невысокая активность кислых и слабощелочных протеиназ. Источником протеолитических ферментов в слюне преимущественно являются микроорганизмы и лейкоциты. В слюне присутствуют трипсиноподобные, аспартильные, сериновые и матриксные металлопротеиназы.

Трипсиноподобные протеиназы расщепляют пептидные связи, в образовании которых принимают участие карбоксильные группы лизина и аргинина. Из слабощелочных трипсиноподобных протеиназ в смешанной слюне наиболее активен калликреин.

Кислый трипсиноподобный катепсин В в норме практически не определяется и его активность возрастает при воспалении. Катепсин D - кислая протеиназа лизосомного происхождения отличается тем, что в организме и в ротовой полости отсутствует специфический для неё ингибитор. Катепсин D освобождается из лейкоцитов, а также из воспалённых клеток, поэтому его активность увеличивается при гингивите и пародонтите. Матриксные металлопротеиназы в слюне появляются при разрушении межклеточного матрикса тканей пародонта, а их источником являются десневая жидкость и клетки.

Белковые ингибиторы протеиназ. Слюнные железы являются источником большого количества секреторных ингибиторов протеиназ.

Они представлены цистатинами и низкомолекулярными кислотостабильными белками.

Кислотостабильные белковые ингибиторы выдерживают нагревание до 90 °С при кислых значениях рН, не теряя при этом своей активности. Это низкомолекулярные белки с мол. массой 6,5-10 кДа, способные подавлять активность калликреина, трипсина, эластазы и катепсина G.

Цистатины. В 1984 г. две группы японских исследователей независимо друг от друга сообщили о присутствии в слюне еще одной группы секреторных белков - слюнных цистатинов. Слюнные цистатины синтезируются в серозных клетках околоушных и поднижнечелюстных слюнных желёз. Это кислые белки с мол. массой 9,5-13 кДа. Всего обнаружено 8 слюнных цистатинов, из них 6 белков охарактеризовано (цистатин S, удлиненная форма цистатина S-HSP-12, SA, SN, SAI, SAIII). Слюнные цистатины ингибируют активность трипсиноподобных протеиназ - катепсинов В, Н, L, G, в активном центре которых присутствует остаток аминокислоты цистеина.

Цистатины SA, SAIII участвуют в образовании приобретённой пелликулы зубов. Цистатин SA-III содержит 4 остатка фосфосерина, которые вовлекаются в связывание с гидроксиапатитами эмали зуба. Высокая степень адгезии этих белков, вероятно, связана с тем, что цистатины имеют сходство в аминокислотной последовательности с другими адгезивными белками - фибронектином и ламинином.

Считают, что через ингибирование активности цистеиновых протеиназ слюнные цистатины выполняют антимикробную и противовирусную функции. Они также защищают белки слюны от ферментативного расщепления, поскольку секреторные белки могут функционировать только в интактном состоянии.

В смешанную слюну человека из плазмы крови попадают α_1 -ингибитор протеиназ (α_1 -антитрипсин), и α_2 -макроглобулин (α_2 -М). α_1 -Антитрипсин определяется только в одной трети исследуемых образцов слюны. Это одноцепочечный белок, состоящий из 294 аминокислотных остатков, который синтезируется в печени. Он конкурентно ингибирует микробные и лейкоцитарные сериновые протеиназы, эластазу, коллагеназу, а также плазмин и калликреин.

α_2 -Макроглобулин - гликопротеин с мол. массой 725 кДа, состоящий из 4 субъединиц и способный ингибировать любые протеиназы (рис. 6.18). Синтезируется в печени и в слюне определяется только у 10% обследуемых здоровых людей.

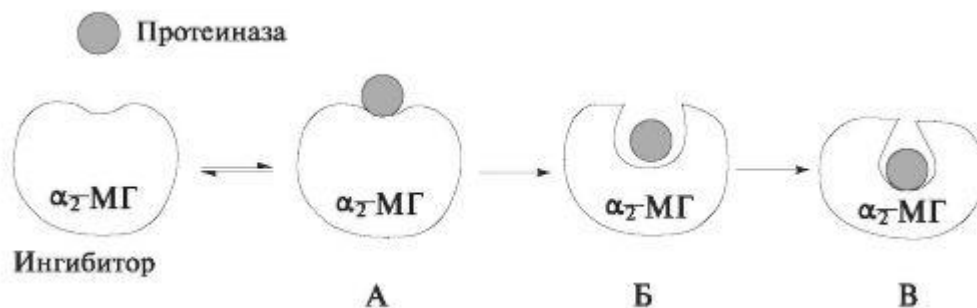


Рис. 6.18. Схема механизма ингибирования протеиназы α_2 -макроглобулином: А - активная протеиназа связывается с определенным участком молекулы α_2 -макроглобулином и образуется непрочный комплекс α_2 -макроглобулин - протеиназа; Б - фермент расщепляет специфическую пептидную связь («приманка»), что приводит к конформационным изменениям молекулы белка α_2 -макроглобулина; В - протеиназа ковалентно связывается с участком в молекуле α_2 -макроглобулина, что сопровождается образованием более компактной структуры. Образовавшийся комплекс с током слюны удаляется в желудочно-кишечный тракт.

В смешанной слюне большая часть белковых ингибиторов протеиназ находится в комплексе с протеолитическими ферментами, и только небольшое количество в свободном состоянии. При воспалении количество свободных ингибиторов в слюне уменьшается, а находящиеся в комплексах ингибиторы подвергаются частичному протеолизу и теряют свою активность.

Поскольку слюнные железы являются источником ингибиторов протеиназ, то их используют для приготовления лекарственных препаратов («Трасилол», «Контрикал», «Гордокс» и др.).

Нуклеазы (РНК-азы и ДНК-азы) играют важную роль в осуществлении защитной функции смешанной слюны. Основным источником их в слюне являются лейкоциты. В смешанной слюне обнаружены кислые и щелочные РНК-азы и ДНК-азы, отличающиеся разными свойствами. В экспериментах было показано, что эти ферменты резко замедляют рост и размножение многих микроорганизмов в ротовой полости. При некоторых воспалительных заболеваниях мягких тканей полости рта их количество увеличивается.

Фосфатазы - ферменты класса гидролаз, отщепляющие неорганический фосфат от органических соединений. В слюне они представлены кислой и щелочной фосфатазами.

Кислая фосфатаза (рН 4,8) содержится в лизосомах и попадает в смешанную слюну с секретами больших слюнных желёз, а также из бактерий, лейкоцитов и эпителиальных клеток. В слюне определяется до 4 изоферментов кислой фосфатазы. Активность фермента в слюне, как правило, увеличивается при пародонтите и гингивите. Имеются противоречивые сведения об изменении активности этого фермента при кариесе зубов. *Щелочная фосфатаза* (рН 9,1-10,5). В секретах слюнных желёз здорового человека активность щелочной фосфатазы низка и её происхождение в смешанной слюне связывают с клеточными элементами. Активность этого фермента, также как и кислой фосфатазы, увеличивается при воспалении мягких тканей полости рта и кариесе. Вместе с тем полученные данные об активности этого фермента очень противоречивы и не всегда укладываются в определенную схему.

6.5. САЛИВА ДИАГНОСТИКА

Исследование слюны относится к неинвазивным методам и проводится для оценки возрастного и физиологического статуса, выявления соматических заболеваний, патологии слюнных желёз и тканей полости рта, генетических маркёров, мониторинга лекарственных средств.

С появлением новых количественных методик для лабораторных исследований всё чаще используют смешанную слюну. Преимуществом таких методов по сравнению с исследованием плазмы крови являются:

- неинвазивный сбор слюны, что делает удобным её получение как
- у взрослых, так и детей; отсутствие у пациента стресса при проведении процедуры получения слюны;
- возможность использовать простые приборы и приспособления
- для получения слюны; отпадает необходимость присутствия врача и среднего медицинского персонала при заборе слюны;
- существует возможность повторного и неоднократного получения материала для исследований;
- слюна может определённое время сохраняться на холоде до проведения исследований.

Нестимулированную смешанную слюну получают при сплевывании после полоскания ротовой полости. Слюну крупных слюнных желёз собирают путем катетеризации их протоков и сбора в капсулы Лешли-Красногорского, фиксируемых к слизистой оболочке рта над

протоками околоушных, поднижнечелюстной и подъязычной слюнных желёз. Под влиянием стимуляторов слюнной секреции (жевание пищи, парафина, нанесение кислых и сладких веществ на вкусовые луковицы языка) образуется стимулированная слюна. В выделившейся за определенное время слюне с учётом её объема определяют вязкость, pH, содержание электролитов, ферментов, муцина и других белков и пептидов.

Для оценки функционального состояния слюнных желёз обязательно измеряют количество выделившейся стимулированной и нестимулированной слюны за определённое время; затем рассчитывают скорость секреции в мл/мин. Уменьшение количества выделяемой слюны сопровождается изменением её состава и наблюдается при стрессе, обезвоживании, во время сна, наркоза, в пожилом возрасте, при почечной недостаточности, сахарном диабете, гипотиреозе, психических нарушениях, болезни Шёгрена, слюннокаменной болезни. Значительное уменьшение количества слюны приводит к развитию сухости в полости рта - ксеростомии. Повышенная секреция (гиперсаливация) наблюдается при беременности, гипертиреозе, воспалительных заболеваниях слизистой оболочки полости рта.

Количественный и качественный состав слюны зависит от физиологического статуса и возраста; например, в слюне грудных детей до 6 мес содержится в 2 раза больше ионов Na^+ по сравнению со слюной взрослого, что связано с процессами реабсорбции в слюнных железах. С возрастом в слюне увеличивается количество IgA, тиоцианатов, быстро мигрирующих форм изоферментов амилазы.

Слюна является источником генетических маркёров. По лиморфизм белков, наличие водорастворимых гликопротеинов, обладающих антигенной специфичностью, отражает число локусов и аллелей, а также частоту аллелей у различных человеческих рас, что имеет большое значение в антропологии, популяционной генетике, судебной медицине.

Измерение концентрации гормонов в слюне позволяет оценить состояние надпочечников, гонадотропную функцию, ритмы образования и выделения гормонов. Слюну исследуют для оценки метаболизма лекарственных веществ, например, этанола, фенобарбитала, препаратов лития, салицилатов, диазепама и др. Вместе с тем корреляционная связь между количественным рядом лекарств в крови и слюне существует не всегда, что и затрудняет использование слюны в мониторинге лекарственных средств.

Определенные сдвиги в составе как смешанной слюны, так и из протоков, выявляются при различных соматических заболеваниях. Так, при уремии, возникающей при почечной недостаточности, и в слюне и в сыворотке крови увеличивается количество мочевины и креатинина. При артериальной гипертензии в паротидной слюне увеличивается уровень цАМФ, общего кальция, ионов K^+ , но снижается концентрация ионов Ca^{2+} . При поликистозе яичка, сопровождающегося бесплодием, в слюне повышается концентрация свободного тестостерона, а при поражении надпочечников и использовании в заместительной терапии кортизола в слюне увеличивается содержание 17 α -гидрокситестостерона. У пациентов с гипофункцией гипофиза, бронзовой болезни определение кортизола в слюне является более информативным, чем в моче и слюне. Для стресса тоже характерно повышение количества кортизола. Концентрация кортизола в слюне имеет циркадную ритмичность и находится в зависимости от психоэмоционального состояния. На ранних сроках беременности и при раке печени в слюне появляется хорионический гонадотропин. При опухолях щитовидной железы в слюне возрастает концентрация тиреоглобулина; при остром панкреатите увеличивается количество панкреатической и слюнной α -амилазы и липазы. У больных с гипофункцией щитовидной железы концентрация тироксина и трийодтиронина в слюне снижается почти вдвое, а тиреотропина (ТТГ) повышается в 2,8 раза по сравнению с показателями у здоровых лиц.

Изменения состава слюны наблюдаются при поражении слюнных желёз. При хроническом паротите возрастает трансудация сывороточных белков, в частности, альбумина, увеличивается секреция калликреина, лизоцима; их количество нарастает в период обострения. При опухолях желёз меняется не только количество секрета, но и в слюне появляются дополнительные фракции белков, преимущественно сывороточного происхождения. Для синдрома Шёгрена характерно снижение слюнообразования и слюноотделения, что связано с угнетением функций транспортных белков аквапоринов. Транспорт воды из ацинарных клеток снижается, что приводит к набуханию клеток и их повреждению. В слюне этих больных увеличивается количество IgA и IgM, активность кислых протеиназ и кислой фосфатазы, лактоферрина и лизоцима; изменяется содержание ионов Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} и PO_4^{3-} .

Хотя в составе слюны при кариесе не выявлено значительных отклонений (и сведения эти крайне противоречивы), всё-таки показано, что у кариесрезистентных лиц содержание амилазы значительно выше, чем у кариесвосприимчивых. Имеются также данные, что при кариесе увеличивается активность кислой фосфатазы, уменьшается количество β -дефензинов, меняется активность лактатдегидрогеназы, снижается рН слюны и скорость слюноотделения.

Воспаление пародонта сопровождается повышением в слюне активности катепсинов D и B и слабощелочных протеиназ. При этом падает свободная антитриптическая активность, но в 1,5 раза возрастает активность местно вырабатываемых кислотостабильных ингибиторов протеиназ, большая часть которых находится в комплексе с протеиназами. Меняются и свойства самих кислотостабильных ингибиторов, что связано с образованием их частично расщепленных форм под действием различных протеиназ. В слюне растёт активность АЛТ и АСТ. Для пародонтита характерно повышение активности гиалуронидазы, β -глюкуронидазы и её ингибитора. Активность пероксидазы возрастает в 1,5-1,6 раза, а содержание лизоцима снижается на 20-40%. Изменения защитной системы сочетаются с увеличением количества тиоцианатов в 2-3 раза. Содержание иммуноглобулинов колеблется неоднозначно, но всегда увеличивается количество плазменных IgG и IgM.

При воспалении пародонта и патологии слизистой оболочки полости рта активируется свободнорадикальное окисление, которое характеризуется увеличением количества в слюне малонового диальдегида и повышением активности супероксиддисмутазы. Из плазмы крови при кровоточивости дёсен, а также через десневую жидкость в слюну поступает глутатионпероксидаза, активность которой в норме не определяется.

При пародонтите также меняется активность нитратредуктазы и содержание нитритов. При легкой и средней тяжести пародонтита активность нитратредуктазы снижается, однако при обострении процесса при пародонтите тяжелой степени активность фермента возрастает по сравнению с нормой вдвое, а количество нитритов уменьшается в 4 раза.

ГЛАВА 7 СЛИЗИСТАЯ ОБОЛОЧКА ПОЛОСТИ РТА

Слизистая оболочка полости рта покрывает внутреннюю поверхность щёк, губ, альвеолярные отростки, твёрдое и мягкое нёбо, язык, дно полости рта и постоянно увлажняется секретом слюнных желёз. Она обладает рядом характерных особенностей и имеет неоднородное строение. Это разнообразие позволяет слизистой оболочке осуществлять множество функций.

7.1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Слизистая оболочка полости рта представлена двумя слоями: *эпителием* и *собственной пластинкой*, образованной соединительной тканью, между которыми располагается базальная мембрана.

В *собственной пластинке* слизистой оболочки полости рта имеются три основных типа волокон: коллагеновые, ретикулярные и эластические. Коллагеновые волокна представлены в основном коллагенами III, IV, V и VI типов. С фибриллообразующим коллагеном V типа связаны коллаген VI типа, протеогликаны, гликозаминогликаны и гликопротеины. Коллаген IV типа участвует в формировании базальной мембраны слизистой оболочки. Коллаген III типа характерен для тканей, содержащих большое количество кровеносных сосудов. Ретикулярные волокна слизистой оболочки представлены коллагеном III типа, которые обеспечивают упругость слизистой. В межклеточном веществе тканей периодонта, корня языка, в подслизистом слое губ и щёк в больших количествах присутствует эластиновые волокна, придающие устойчивость к сжатию и растяжению.

Базальная мембрана. На ультраструктурном уровне в базальной мембране выявляется светлый мелкозернистый слой, прилежащий к внешней клеточной мембране эпителиоцитов базального слоя (светлая пластинка), а также более глубоко лежащий слой, образованный мелкозернистым или фибриллярным материалом (плотная пластинка) (рис. 7.1).

Светлая пластинка образована гликопротеинами, в том числе ламинином и протеогликанами, содержащими гепарансульфаты.

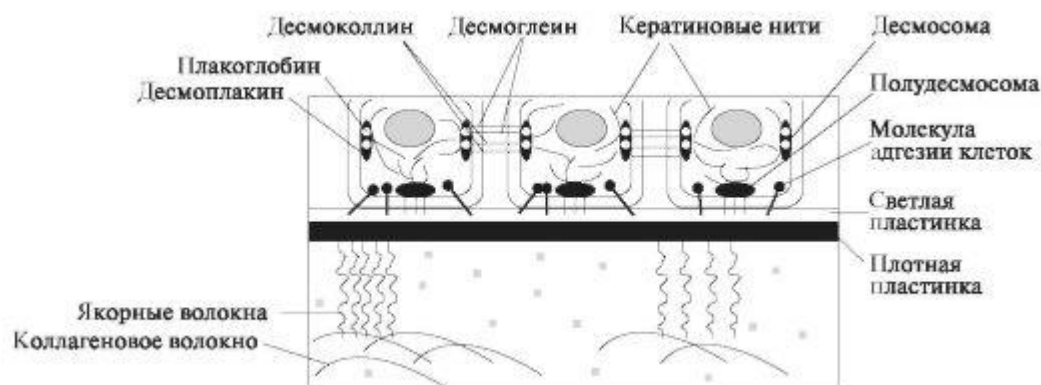


Рис. 7.1. Ультраструктурная организация слизистой оболочки полости рта.

- *Плотная пластинка* содержит коллаген IV типа и белок энтактин, через который осуществляется связь с белком ламинином. Якорные фибриллы построены из коллагена VII типа, а связанные с ними фибриллы - из коллагенов I и III типов. В составе базальной мембраны определяется адгезивный гликопротеин фибронектин. *Базальная мембрана* слизистой оболочки полости рта: обеспечивает прочную связь эпителия с подлежащей соединительной тканью: к ней с помощью полудесмосом с одной стороны прикрепляются базальные клетки эпителия, а с другой стороны посредством якорных фибрилл - коллагеновые волокна;
- способствует дифференцировке эпителия и сохраняет его архитектуру.
- осуществляет избирательное поступление веществ в эпителий. Базальная мембрана может задерживать ряд молекул с высокой мол. массой, например: комплексы антиген-антитело. Помимо описанных функций для клеток слизистой оболочки полости рта характерна высокая способность к регенерации и тесное взаимодействие эпителиальных клеток как между собой, так и с внеклеточным матриксом.

В межклеточном веществе определяются сложные надмолекулярные комплексы, состоящие из протеогликанов, гликозаминогликанов и гликопротеинов. Протеогликаны слизистой оболочки, представленные декорином, бигликаном, версиканом и синдеканом-1, связаны с дерматансульфатом (60%), гепарансульфатом и хондроитин-4-сульфатом (10%). Гиалуроновая кислота, которая содержится в достаточно большом количестве (30%), связывает воду, ионы и обеспечивает тургор слизистой, а также выполняет защитную функцию. В формировании надмолекулярных комплексов и связывании клеток участвуют фибронектин и другие гликопротеины основного вещества.

Эпителий слизистой оболочки полости рта представлен несколькими слоями (базальный, шиповатый, зернистый и роговой), и к базальной мембране присоединяются клетки базального слоя.

Помимо эпителиальных в слизистой оболочке присутствуют и неэпителиальные клетки, которые постоянно взаимодействуют друг с другом и образуют единую систему связанных элементов. Деятельность клеток каждого типа регулируется различными факторами. Так эпителиоциты синтезируют ИЛ-1 и ИЛ-6, фактор некроза опухолей, колониестимулирующий фактор роста, фактор роста эпителия, ТФР-β. ИЛ-1, синтезируемый эпителиоцитами, в свою очередь, активирует синтез Т-лимфоцитов, те, в свою очередь, секретируют ИЛ-2. Взаимодействие клеток через цитокины обеспечивает иммунную реакцию в ответ на повреждение целостности слизистой оболочки. Цитокины эпителиального происхождения также воздействуют на рост и дифференцировку фибробластоподобных клеток, участвующих в регенерации эпителия.

В эпителии слизистой оболочки полости рта клетки разных слоёв постоянно взаимодействуют. Клетки базального и шиповатого слоёв связаны с базальной мембраной с помощью полудесмосом, а между собой десмосомами. Десмосомы соединяют клеточные мембраны с промежуточными филаментами цитоскелета и формируют непрерывную сеть, которая пронизывает всю ткань и обеспечивает значительную устойчивость тканей к растяжению, а полудесмосомы облегчают взаимодействие клетки с внеклеточным матриксом.

Десмосомы - сложноорганизованная специализированная структура клеточной адгезии, которая реализуется через специальные адгезивные молекулы - гликопротеины. Десмосома представлена в виде двух форм соединений. Одна из них - цитоплазматическая пластинка - осуществляет связь промежуточных филаментов клетки с плазматической мембраной. Вторая форма связывает плазматическую мембрану с внеклеточными межмембранными молекулами. Функцию десмосом обеспечивают кальций-связывающие белки - плакоглобины, десмоплакины, десмоколлины, десмоглеины, которые относятся к семейству кадгеринов. Эти клетки оказывают специфическое воздействие друг на друга (рис. 7.2).
роме того, между эпителиоцитами имеются щелевые контакты, а также плотные соединения.

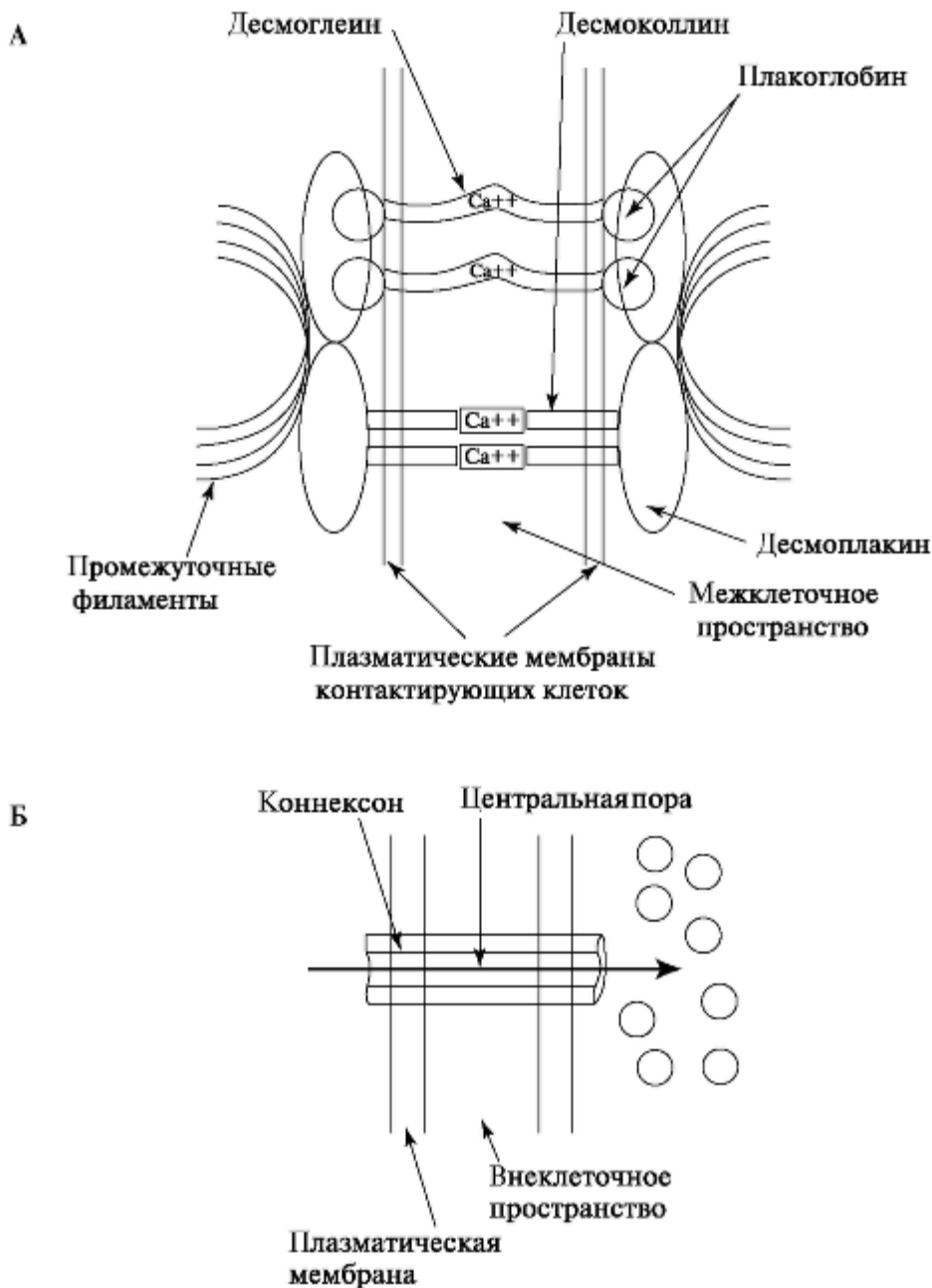


Рис. 7.2. Виды контактов в эпителии слизистой оболочки полости рта:

А - Строение и организация десмосом; *Б* - Схематичное изображение щелевого контакта, связывающих клетки в эпителиальном слое слизистой

Щелевые контакты - скопление мембранных каналов (коннексоны), соединяющих содержимое соседних клеток в тканях (то есть эти каналы соединяют две соседние плазматические мембраны). Каналы сформированы обширной группой родственных белков и обычно находятся в открытом состоянии. Они закрываются, когда снижается скорость метаболизма. Сигналом для закрытия канала является повышение концентрации ионов Ca^{2+} , изменение трансмембранного потенциала, закисление среды, а также фосфорилирование белков. Каждый канал представляет собой гексамерную

структуру с центральной порой и состоит из 12 субъединиц, по 6 от каждой клетки. Каждая субъединица имеет полый стержень, пронизывающий бислой (рис. 7.3). В присутствии ионов Ca^{2+} субъединицы располагаются параллельно центральной оси канала, а в отсутствии этих ионов они несколько наклонены и переходят в открытое состояние. По щелевым соединениям из одной клетки в другую могут поступать неорганические ионы и большинство метаболитов - моносахариды, аминокислоты, нуклеотиды.

Вместе с тем белки, нуклеиновые кислоты и полисахариды больших размеров не проходят по этим каналам. Таким образом, через щелевые соединения и десмосомы клетки слизистой оболочки объединены в единую систему и таким путём достигается быстрый и синхронный ответ на стимуляцию. Через щелевые контакты происходит также питание клеток, удалённых от кровеносных сосудов.

Исследования обменных процессов в клетках слизистой оболочки полости рта показали высокую активность окислительно-восстановительных ферментов, а источником АТФ является окислительное фосфорилирование. В клетках определяется низкая активность кислых и слабощелочных протеиназ и гликозидаз, что, по-видимому, способствует сохранению целостности слизистой оболочки.

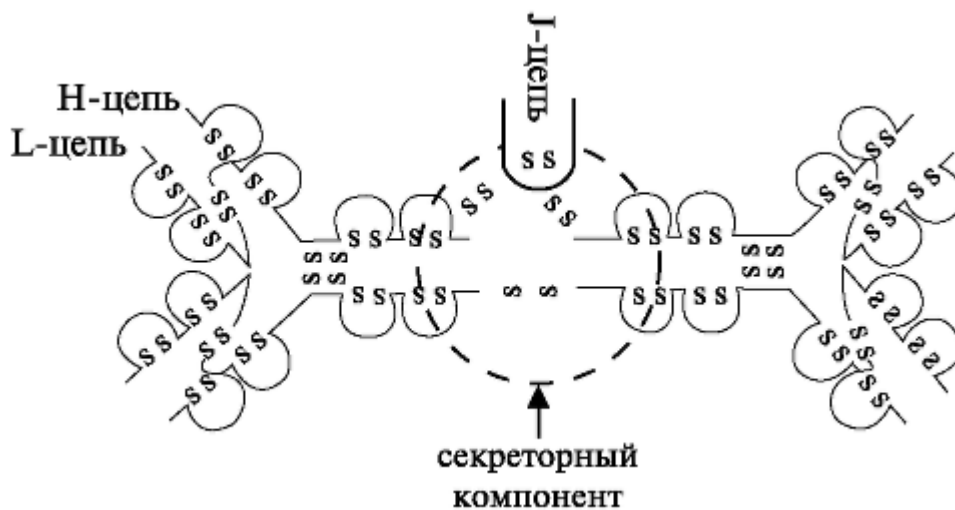


Рис. 7.3. Строение молекулы секреторного иммуноглобулина (SIgA).

Для неороговевающего эпителия ротовой полости человека характерна способность к синтезу и накоплению большого количества гликогена, преимущественно в цитоплазме клеток шиповатого слоя. Базальный слой эпителия не содержит гликогена. В эпителии твёрдого нёба и дёсен гликоген в норме отсутствует и появляется при патологических процессах.

Базальный слой. Среди клеток базального слоя имеются стволовые клетки - родоначальницы пролиферативных единиц эпидермиса. Митотическая

активность базальных клеток зависит от толщины эпителиального пласта и контролируется гормонами и факторами роста. Деление кератиноцитов стимулируют эпидермальный фактор роста и фактор роста кератиноцитов. Аналогичным действием обладает и вещество Р, выделяющееся из терминалей чувствительных нервных волокон. В этом слое клеток происходит синтез фибриллярных белков промежуточных филаментов цитоскелета - кератинов. Особенностью кератиновых белков является присутствие в их составе 10-12% остатков цистеина, защищающих клетки слизистой оболочки от воздействия АФК. Кератиновые белки формируют кератиновые филаменты, которые обеспечивают связывание клеток с базальной мембраной с помощью полудесмосом. В базальном слое эпителия располагаются клетки Меркеля, связанные с афферентным нервным волокном, и осуществляющие рецепторную функцию. Особенностью клеток Меркеля является наличие гранул, содержащих нейромедиаторы, которые при деформации отростков выделяются в синаптическую щель. В качестве медиаторов выступают ВИП, пептид гистидин-изолейцин, вещество Р, пептид связанный с кальцитониновым геном и др.

Клетки следующего слоя - *шиповатые* - содержат многочисленные отростки, которые соединяются между собой десмосомами. В отростках содержатся пучки тонофиламентов, которые представляют собой скопление белков, формирующих фибриллярные структуры, связанные с десмосомами. Для клеток этого слоя характерна высокая метаболическая и митотическая активность. В шиповатых клетках, расположенных ближе к поверхности эпидермиса, имеются гранулы, содержащие липиды и белки. Содержимое этих гранул освобождается в межклеточное пространство и скрепляет клетки между собой.

Зернистые клетки сохраняют способность к синтезу белков, который ингибируется с переходом клеток в роговой слой. Они содержат пучки промежуточных филаментов и два вида гранул: в гранулах I типа (кератиносомы) определяются гидролитические ферменты и липиды, которые выделяются в межклеточное вещество, где они образуют водонепроницаемый барьер, а гранулы II типа сформированы кератогиалином. Гранулы II типа не окружены мембраной и представляют собой скопления кератиновых белков (цитокератинов), соединённых с белками, богатыми гистидином и цистеином. В состав гранул кератогиалина входят два специфических белка - лорикрин и инволюкрин, для которых характерно малое количество пролина. Эти белки при участии фермента трансклутаминазы связывают эпителиальные клетки с базальной мембраной. В слое клеток также синтезируются белки-маркёры эпителия филлагрин и трихогиалин. Совместно с кальцием и ретиноевой кислотой путём регуляции активности различных протеиназ и протеинкиназ они участвуют в процессах

дифференцировки клеток. Таким способом обеспечивается целостность слизистой оболочки.

Определение характера синтезируемых цитокератинов имеет определённое диагностическое значение для прогнозирования развития опухолевых процессов.

Роговой слой представлен плотно упакованными роговыми чешуйками, имеющими форму 14-гранной фигуры. Они постоянно слущиваются в наружных отделах слоя вследствие разрушения десмосом и не участвуют в обменных процессах. Этот слой хорошо выражен на поверхности десны, щеки по линии смыкания зубов и твёрдого нёба. Ороговение эпителия на этих поверхностях следует рассматривать как защитную реакцию на механическое раздражение, которое испытывает слизистая в процессе жевания. Для слущиваемых клеток характерно высокое содержание белка, в том числе катионных белков, инволюкрина и кератолеина, участвующих в реакциях защиты, а также активность эстераз и кислой фосфатазы. Эти белки защищают от разрушения плазмолемму гидролитическими ферментами, освобождаемых из кератиносом и лизосом.

Слизистая оболочка выполняет множество функций

- *Защитная функция*: защищает подлежащие ткани от повреждающего действия механических сил и стирания, которые возникают при откусывании и пережевывании пищи. Эпителий слизистой оболочки защищает также от химических воздействий и препятствует внедрению микроорганизмов. Устойчивость к неблагоприятным факторам, в частности, связана с десквамацией (слущиванием) эпителия, которая компенсируется активной его регенерацией.

Важным фактором, способствующим поддержанию барьерных свойств эпителия, служит постоянное смачивание его слюной, которая содержит ряд биологически активных веществ, влияющих на скорость дифференцировки и пролиферации эпителиальных клеток.

Во всех отделах слизистой оболочки полости рта, за исключением десны и передней части твёрдого нёба, рассеяны мелкие слюнные железы, в строме которых выявляют лимфоциты, тучные клетки, макрофаги и плазматические клетки, секретирующие преимущественно IgA. Последний синтезируется в плазматических клетках, находящихся в анатомической связи с эпителием слизистых оболочек и клетками слюнных желёз. Эпителиальные клетки концевых отделов слюнных желёз и выводных протоков синтезируют секреторный компонент - гликопротеин, который обеспечивает захват и трансэпителиальный перенос иммуноглобулинов в слюну. Этот

иммуноглобулин называется секреторным IgA (SIgA). Структура его представлена на рис. 7.3.

SIgA отличается от сывороточного наличием секреторного компонента, связанного с двумя или тремя мономерами IgA. Синтезированный в плазматических клетках димер IgA, состоящий из 4H, 4L, связанных J-цепью, покидает плазматические клетки и на плазматической мембране ацинарных клеток или клеток выводных протоков связывается с рецептором - гликопротеином с мол. массой ~71 кДа и поглощается клеткой. Далее димер IgA соединяется с другим гликопротеином (секреторным компонентом) с мол. массой ~80 кДа. Образовавшийся комплекс димер - SIgA перемещается к апикальной части клеток слюнных желёз и путем пиноцитоза поступает в слюнные протоки (рис. 7.4).

Секреторный компонент SIgA защищает молекулу антитела от разрушения ферментами различных клеток, а также повышает её устойчивость к воздействию денатурирующих факторов. По своей активности SIgA превосходит все другие иммуноглобулины. Свое антибактериальное действие он оказывает связываясь с лизоцимом. SIgA препятствует адгезии микроорганизмов на слизистых оболочках полости рта, а также адсорбции и репродукции вирусов в эпителиальных клетках.

Эпителиоциты также синтезируют белок кальпротектин, который обладает мощным антимикробным действием. Все эти вышеперечисленные белки принимают также активное участие в процессах регенерации слизистой оболочки полости рта при повреждении.

- *Сенсорная функция.* На слизистой оболочке полости рта располагаются температурные, тактильные и болевые рецепторы.



Рис. 7.4. Модель селективного транспорта IgA через эпителиальную/железистую клетку.

Восприятие вкуса осуществляется благодаря специализированным вкусовым рецепторам.

- *Секреторная функция.* В толще слизистой оболочки располагаются малые слюнные железы, а в некоторых участках - сальные железы.
- *Иммунная функция* участвует в обеспечении местного иммунитета. Это связано с тем, что она содержит клетки Лангерганса, макрофаги, лимфоциты, плазматические клетки, которые участвуют в различных звеньях иммунных реакций.
- *Всасывательная функция.* Слизистая оболочка полости рта на всей своей поверхности обладает большей проницаемостью, чем эпителий кожи. В области дна ротовой полости слизистая оболочка проницаема для ряда веществ, в частности, ионов Γ , K^+ , Na^+ , некоторых аминокислот, лекарственных препаратов.

ГЛАВА 8 ПОВЕРХНОСТНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ НА ЗУБАХ

8.1. КУТИКУЛА. ПЕЛЛИКУЛА. ЗУБНОЙ НАЛЁТ

В физиологических условиях на поверхности эмали образуются кутикула и пелликула.

Кутикула

Кутикула покрывает поверхность эмали зубов после их прорезывания в виде тонкой оболочки, состоящей из двух слоёв и обозначаемых как первичная и вторичная кутикула. *Первичная кутикула* - внутренний тонкий (около 0,5-1,5 мкм) гомогенный слой гликопротеинов, являющимся последним секреторным продуктом энамелобластов. *Вторичная кутикула* образована наружным (около 10 мкм) слоем редуцированного эпителия эмалевого органа.

После прорезывания зубов кутикула стирается и частично может сохраняться на апроксимальных поверхностях.

В отличие от кутикулы на протяжении всей жизни на поверхности эмали могут формироваться пелликула зуба и зубной налёт.

Пелликула

Пелликула - приобретенная тонкая органическая пленка, которая образуется из гликопротеинов слюны на поверхности зуба. Толщина пелликулы 1-4 мкм. Является бесструктурным образованием, не содержащим бактерий, и плотно фиксирована на поверхности зуба. На формирование приобретённой

пелликулы влияет рН слюны. Пелликула формируется в течение 20-30 мин и её образование начинается с адсорбции специфических белков слюны на гидроксиапатитах эмали. Между поверхностью эмали и осаждающимися белками образуются ионные связи и гидрофобные взаимодействия.

В образовании пелликулы участвуют кислые и гликозилированные белки, богатые пролином, лактоферрин, лактопероксидаза, гистатин 1, цистатин SAIII и в более низких концентрациях - лизоцим и гистатин-5, а также аминсахара и моносахариды. Пелликула обладает избирательной проницаемостью и обеспечивает процессы диффузии ионов в поверхностный слой эмали, а также защищает эмаль зубов от воздействия химических агентов.

Зубная пелликула представляет собой барьер, через который регулируются процессы минерализации и деминерализации эмали, а также осуществляется контроль за составом микробной флоры, участвующей в образовании зубного налёта. После механической очистки пелликула восстанавливается на поверхности эмали в течение нескольких часов.

Все другие поверхностные образования на зубах, за исключением кутикулы и пелликулы, играют определённую роль в развитии стоматологической патологии.

Зубной налёт

Зубной налёт (зубная бляшка) - структура, состоящая из скопления различных видов микроорганизмов, погружённых в матрикс, образованный продуктами их жизнедеятельности, компонентами слюны и неорганическими веществами. Зубной налёт образуется путем осаждения микроорганизмов на поверхности пелликулы и растет за счет постоянного наслаивания новых видов бактерий. Определенную роль в формировании зубного налёта играют не только белки слюны и микроорганизмы, но и клетки слущенного эпителия.

Состав зубного налёта непостоянен и по мере его старения меняется.

Это зависит от состава микрофлоры и метаболических реакций, протекающих с участием микроорганизмов. По мере роста налёта начинает преобладать анаэробная флора, для которой характерно высокая ферментативная активность и образование органических кислот.

Зубной налёт на 78-80% состоит из воды. В сухом веществе определяются минеральные вещества, белки, углеводы.

Содержание макро- и микроэлементов в зубном налёте вариабельно.

Известно, что на 1 мг сухой массы зубного налёта приходится около 3,4 мкг кальция, 8,4 мкг фосфора, 4,2 мкг калия и 1,3 мкг натрия. Кальций и фосфор

в зубном налёте в основном поступает из слюны, хотя и не исключен выход этих элементов из эмали зубов. По мере созревания зубного налёта количество кальция и фосфора продолжает расти. Помимо макроэлементов в зубном налёте присутствуют микроэлементы, которые представлены ионами Ca^{2+} , Sr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{3+} , Mn^{3+} , F^- и др. Содержание фтора в зубном налёте может быть в десятки и даже в сотни раз больше, чем в слюне (6-180 мкг/г). Эта концентрация в значительной степени зависит от уровня фтора в воде. Включение фтора в зубной налёт происходит через образование фторапатита и CaF_2 и связывание фтора с белками матрикса налёта. Фтор способен проникать внутрь бактерий.

Количество липидов в зубном налёте невелико и в раннем налёте определяются триацилглицеролы, холестерин, глицерофосфолипиды. По мере созревания налёта количество липидов не уменьшается, но они образуют комплексы с углеводами.

Белки составляют около 8% от сухой массы зубного налёта.

Аминокислотный состав белков зубного налёта сходен, но не идентичен аминокислотному составу белков слюны и эпителиальных клеток. В зубном налёте также присутствуют свободные аминокислоты. По мере созревания зубного налёта аминокислотный состав меняется, исчезают глицин, аргинин, лизин и растёт количество глутаминовой кислоты. Эти изменения обусловлены тем, что микроорганизмы способны расщеплять кислыми и слабощелочными протеиназами белки с освобождением пептидов и аминокислот, которые, в свою очередь, дезаминируются и декарбоксилируются. Увеличение количества глутаминовой кислоты связано с тем, что аминокислоты подвергаются трансаминированию.

Из свободных аминокислот в анаэробных условиях образуются продукты гниения: H_2S , аммиак, крезол, фенол, метилмеркаптан, индол, скатол, а также органические кислоты и низкомолекулярные летучие альдегиды, кетоны, придающие неприятный запах дыханию (галитоз).

В зубном налёте определяются свободная фруктоза, глюкоза, гексозамины, сиаловые кислоты, глюкозаминогликаны и гомополисахариды. Всего углеводов содержится 7-14 % от сухой массы.

В зубном налёте очень высока активность гликозидаз (α - и β -глюкозидазы, β -галактозидаза, β -глюкуронидаза, гиалуронидаза и β -N-ацетилгексозаминидаза): она на порядок выше, чем в смешанной слюне.

Осаждённые гликопротеины слюны под действием гликозидаз подвергаются дегликозилированию, и освободившиеся свободные углеводы используются микроорганизмами для обеспечения энергетических затрат. Поступающая с пищей сахароза гидролизуется бактериальной сахаразой до α -D-глюкозы и β -D-фруктозы. У бактерий глюкоза превращается в пировиноградную кислоту,

которая у аэробных бактерий распадается до молекул CO_2 и H_2O , а у анаэробных микроорганизмов восстанавливается до молочной кислоты. Возможно также образование из пирувата уксусной и муравьиной кислот. Лактатдегидрогеназа бактерий активируется высокими концентрациями фруктозо-1-6-бисфосфата, в то время как образование уксусной и муравьиной ингибируется большими концентрациями глицеральдегид-3-фосфата. Этим объясняется активное образование молочной кислоты при избыточном поступлении углеводов, а при их недостатке пируват превращается в ацетат и муравьиную кислоту, но не в лактат.

Некоторые бактерии полости рта при избытке углеводов способны синтезировать гликоген. Механизм синтеза и распада гликогена бактериями подобен таковому у млекопитающих, но для синтеза гликогена используются молекулы не УДФ-глюкозы, а АДФ-глюкозы. Наиболее активны в этом отношении стрептококки. Так *Str. mitis* может синтезировать гликоген в количестве до 37% от своей сухой массы, который используется этими бактериями для жизнеобеспечения при отсутствии углеводов. Бактерии зубного налёта могут использовать сахарозу и для синтеза внеклеточных полисахаридов.

При участии бактериальных гликозилтрансфераз образуются липкие полисахариды (гликаны), которые адсорбируются на поверхности зуба и через гликан-связывающий белок связывают микроорганизмы. Гликаны в зубном налёте представлены леванами и декстранами.

Леван - полисахарид, состоящий из остатков фруктозы, связанных β (2- \rightarrow 6) - гликозидными связями и соединённый с молекулой сахарозы.

Молекула *декстрана* - разветвлённый полисахарид, образованный остатками α -D-глюкозы, соединённых α (1- \rightarrow 6) и α (1- \rightarrow 3) - гликозидными связями (рис. 8.1).

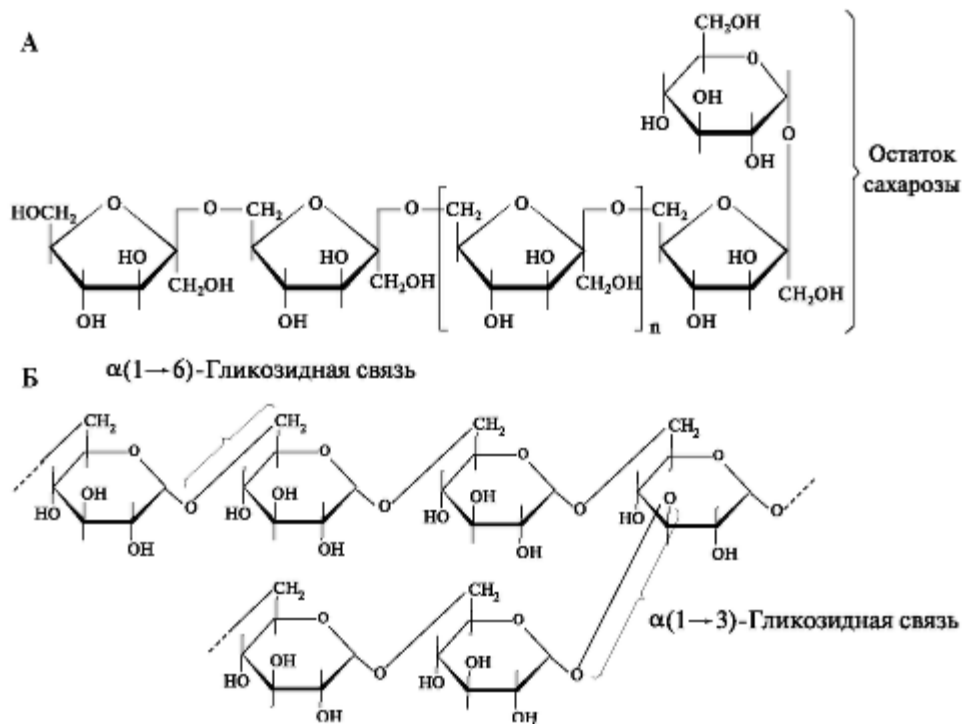


Рис. 8.1. Структурная формула молекул: *А* - Левана; *Б* - Декстрана

В синтезе леванов участвуют бактериальные фруктозилтрансферазы, а декстрана - глюкозилтрансферазы путём переноса остатков глюкозы от сахарозы. Молекулы декстрана достаточно долго сохраняются в зубном налёте, а молекулы левана легко растворимы и быстро гидролизуются леваназой некоторых стрептококков (рис. 8.2).

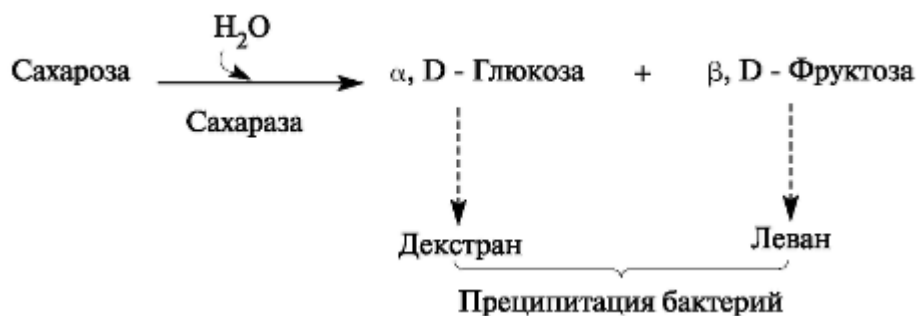


Рис. 8.2. Образование липких полисахаридов в зубном налёте.

Липкие полисахариды помогают бактериям занять определенное место в зубном налёте и обеспечивают их адгезию к эмали. Связь поверхности апатитов эмали с полисахаридами бактерий обеспечивают водородные связи, ионов Ca^{2+} и белки адгезины. К белкам адгезинам относится гликопротеин с мол. массой 200 кДа, который выделяется стрептококками.

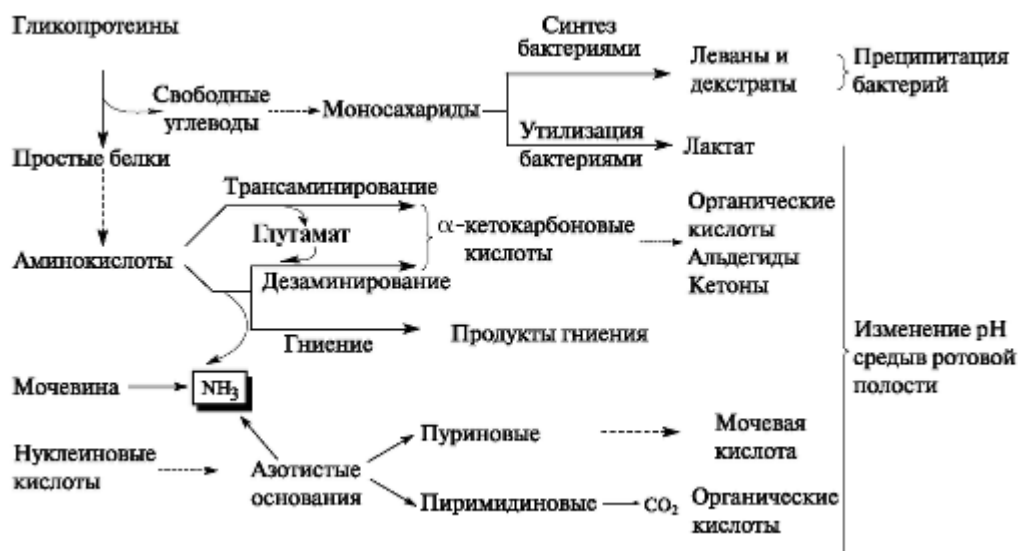


Рис. 8.3. Метаболические процессы в зубном налёте.

Зубной налёт отличается высокой метаболической активностью. В нём определяется активность свыше 50 различных ферментов, в основном бактериального происхождения. Помимо вышеуказанных гидролаз, трансфераз в зубном налёте присутствуют кислая и щелочная фосфатазы, РНК-азы и ДНК-азы, ферменты гликолиза, цикла трикарбоновых кислот, пероксидазы и другие энзимы. Активность всех ферментов возрастает при множественном кариесе и воспалении тканей пародонта (рис. 8.3).

8.2. ЗАМЕНИТЕЛИ САХАРОВ

Накопление органических кислот, образующихся при распаде сахарозы, сопровождается локальным понижением pH. Накапливающиеся протоны H^+ начинают замещать ионы Ca^{2+} в кристаллах гидроксиапатита эмали, что приводит к разрушению её минерального компонента. Результаты экспериментальных исследований показали, что протеолитические ферменты зубного налёта также способны разрушать органическую фракцию эмали с последующим освобождением фосфатов. Все эти реакции инициируют развитие кариозного процесса (рис. 8.4).

Вместе с тем полагают, что роль протеиназ зубного налёта в развитии кариеса не столь велика, но более существенна в патогенезе гингивита и пародонтита, когда активность кислых и слабощелочных протеиназ в зубном налёте и десне возрастает в 4-5 раз, что сопровождается деградацией гликопротеинов и других белков тканей пародонта. В расщеплении кислых гликозаминогликанов и гликопротеинов межклеточного вещества и мембран клеток пародонта участвуют ферменты β -глюкуронидаза, гиалуронидаза и β -N-ацетилгексозаминидаза.



Рис. 8.4. Участие органических кислот в деминерализации эмали зуба.

Полоскание полости рта 5% раствором глюкозы вызывает падение рН в течение 10-12 мин после процедуры, создавая локальные условия для деминерализации. На восстановление рН требуется более 1 ч. Динамика изменения рН у разных людей различна, что позволяет использовать этот показатель в качестве своеобразного теста для разделения людей на группы кариесрезистентных и кариесвосприимчивых.

В настоящее время выпускают большое количество разных веществ со сладким вкусом, что позволяет исключить из продуктов питания сахарозу (рис. 8.5).

Монелин	2000	>	Сахароза	>	Глюкоза	0,74
Тауматин	750		Кситол		Сорбитол	0,54
Сахарин	450		1,0		Лактоза	0,16
Аспартам	150					
Цикламат	55					
Фруктоза	1,7					
Глицерин	1,1					

Рис. 8.5. Распределение заменителей сахарозы по степени сладости.

Сорбитол - шестиатомный сахароспирт, который содержится в малых количествах во фруктах и синтезируется в печени. В слюне отсутствует сорбитолдегидрогеназа и сорбитол не метаболизируется в полости рта, поэтому его приём не вызывает значительного снижения рН в зубном налёте. В кишечнике сорбитол всасывается пассивно и не полностью. Невсосавшийся сорбитол (30%) оказывает осмотический послабляющий эффект. Максимально рекомендуемый прием сорбита составляет 150 мг/кг массы тела в день. Он используется как добавка в шоколад для больных

сахарным диабетом и в жевательной резинке для профилактики кариеса зубов.

Ксилитол - пятиатомный сахароспирт. Входит в состав овощей и фруктов, а также его получают из коры деревьев. По сладости близок к сахарозе. Ксилитол подвергается незначительному превращению под действием бактерий зубного налёта, поэтому промывание полости рта ксилитом, в отличие от глюкозы, не вызывает существенного падения pH, а у людей, употребляющих продукты с добавкой ксилита, отмечена меньшая заболеваемость кариесом.

Ксилитол приводит к лизису кариесогенных микроорганизмов. Попадая в микробную клетку, ксилитол фосфорилируется и ингибирует транспорт глюкозы и фруктозы. Нерегулируемое накопление ксилитол-5-фосфата в бактериальной клетке сопровождается осмотическим поступлением воды с последующим лизисом микроорганизмов. Подобно сорбиту ксилит вызывает осмотическую диарею.

В последнее время из плодов дикорастущих африканских растений выделены чрезвычайно сладкие на вкус белки - *миракулин*, *монелин*, *тауматин*. Они используются в жевательных резинках и зубных пастах.

Кроме белков в качестве заменителя сахарозы используют дипептиды - аспартам (метилловый эфир L-аспартил- L-фенилаланин), *аспартил* - *аланинамиды*. Они также не влияют на pH зубного налёта. При катаболизме аспартама отщепляется метиловый спирт и освобождается аспарагиновая кислота и фенилаланин.

В настоящее время достаточно часто в качестве подсластителя применяют *сахарин* - амид ортосульфобензойная кислота. Он достаточно быстро всасывается в пищеварительном тракте и 98% его выделяется с мочой. Он является слабым канцерогеном и вызывает рак мочевого пузыря у крыс.

Цикламаты - производные амино-N-сульфоновой кислоты. Часть цикламата (до 1%) в организме превращается в токсичное соединение циклогиксиламин или канцерогенный дициклогиксиламин, который вызывает развитие рака мочевого пузыря.

На устойчивость зубов к кариесу оказывают влияние микроэлементы. Так, фтор участвует в образовании кислотоустойчивых фторapatитов и ингибирует рост бактерий. Поступающие молибден и ванадий повышают кариесрезистентность, в то время, как селен, напротив её снижает.

Отложение минералов в зубном налёте приводит к формированию зубного камня.

Ксилитол приводит к лизису кариесогенных микроорганизмов. Попадая в микробную клетку, ксилитол фосфорилируется и ингибирует транспорт глюкозы и фруктозы. Нерегулируемое накопление ксилитол-5-фосфата в бактериальной клетке сопровождается осмотическим поступлением воды с последующим лизисом микроорганизмов. Подобно сорбиту ксилит вызывает осмотическую диарею.

В последнее время из плодов дикорастущих африканских растений выделены чрезвычайно сладкие на вкус белки - *миракулин*, *монелин*, *тауматин*. Они используются в жевательных резинках и зубных пастах.

Кроме белков в качестве заменителя сахарозы используют дипептиды - аспартам (метилловый эфир L-аспартил- L-фенилаланин), *аспартил - аланинамиды*. Они также не влияют на pH зубного налёта. При катаболизме аспартама отщепляется метиловый спирт и освобождается аспарагиновая кислота и фенилаланин.

В настоящее время достаточно часто в качестве подсластителя применяют *сахарин* - амид ортосульфобензойная кислота. Он достаточно быстро всасывается в пищеварительном тракте и 98% его выделяется с мочой. Он является слабым канцерогеном и вызывает рак мочевого пузыря у крыс.

Цикламаты - производные амино-N-сульфоновой кислоты. Часть цикламата (до 1%) в организме превращается в токсичное соединение циклогиксиламин или канцерогенный дициклогиксиламин, который вызывает развитие рака мочевого пузыря.

На устойчивость зубов к кариесу оказывают влияние микроэлементы. Так, фтор участвует в образовании кислотоустойчивых фторapatитов и ингибирует рост бактерий. Поступающие молибден и ванадий повышают кариесрезистентность, в то время, как селен, напротив её снижает.

Отложение минералов в зубном налёте приводит к формированию зубного камня.

8.3. ЗУБНОЙ КАМЕНЬ

Кристаллы фосфата кальция откладываются внутри зубного налёта и тесно связываются с поверхностью эмали. Процесс отложения неорганических веществ в зубном налёте занимает около 12 сут и после минерализации камень уже не так легко удаляется механическим воздействием или током слюны. Бактерии продолжают накапливаться на поверхности образующегося зубного камня, способствуя его росту. В зависимости от расположения на поверхности зуба различают над- и поддесневой зубной камень. По своему составу над- и поддесневой зубные камни сходны, однако они различаются по источникам поступления фосфорно-кальциевых соединений. В

наддесневой зубной камень они поступают из слюны, а в поддесневой зубной камень - из десневой жидкости.

Химический состав зубного камня. Большая часть зубного камня (70-90% сухого остатка) представлена неорганическими веществами. В зубном камне определяется 29-57% кальция и 16-29% неорганического фосфата и около 0,5% магния. В следовых количествах присутствует свинец, молибден, кремний, алюминий, стронций, кадмий, фтор и других химические элементы.

Кальций и фосфор осаждаются на органической матрице в виде солей. На начальных этапах в основном образуется *брушит* $[\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$, который составляет до 50% от всех видов кристаллов. Кристаллы брушита имеют клиновидную форму. Их накопление приводит к формированию слабоминерализованного, легко удаляемого зубного камня. Помимо брушита образуются другие виды кристаллов. Это витлокит, монетит, октокальций фосфат, гидроксиапатит и другие апатиты. *Витлокит* представляет собой кристаллы, имеющие форму ромба. В их структуре определяются безводный фосфат кальция $[\text{Ca}_3\text{PO}_4]_2$ и ионы Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} . *Монетит* - вторичная соль фосфорной кислоты $[\text{CaHPO}_4]$, которая кристаллизуется в виде треугольных пластинок. Растворимость кристаллов монетита быстро увеличивается при кислых значениях pH-среды. Промежуточным связующим звеном между кислыми солями - монетитом и брушитом и основной солью - гидроксиапатитом является *октокальций фосфат* - $[\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$. Он напоминает кристаллы гидроксиапатита, но имеет слоистую структуру с чередованием слоёв соли толщиной 1,1 нм и слоёв воды толщиной 0,8 нм. Кристаллы октокальция фосфата растут в форме тонких пластинок длиной до 250 мкм. Они содержат кислый фосфатный ион и не имеют гидроксильных групп. Октокальций фосфат играет важную роль в нуклеации апатитных солей и подобно монетиту и брушиту при щелочных значениях pH среды превращается в гидроксиапатит.

В составе зубного камня фтор присутствует в виде фторапатита, фторида кальция $[\text{CaF}_2]$ и комплекса с органическими соединениями в составе бактерий. Низкие концентрации фтора (20-100 мкг/л) в зубном камне ускоряют скорость образования апатитов. Применение фторсодержащих паст для чистки зубов уже в первые 10 сут приводит к накоплению фтора в составе зубного камня.

Неорганические вещества в зубном камне связываются с белками, количество которых составляет 0,1-2,5% и зависит от вида зубного камня. Наибольшее количество белка (2,5%) присутствует в светлом наддесневом зубном камне. В тёмном наддесневом камне содержание белка снижается до 0,5%, а в поддесневом зубном камне оно составляет всего 0,1-0,3%. Помимо белков в зубном камне обнаруживают различные аминокислоты. В

наибольшем количестве выявляются остатки аланина, лейцина, глицина, глутаминовой и аспарагиновой кислот, а также пролина, лизина, серина и треонина. Глутамат и аспартат способны связывать ионы Ca^{2+} , а остатки серина, треонина и лизина - PO_4^{3-} , что очень важно для инициации минерализации зубного налёта и дальнейшего образования зубного камня.

В зубном камне также присутствуют до 10% углеводов, в том числе гликозаминогликаны, галактоза, фруктоза, манноза и аминсахара. Гликозаминогликаны в основном встречаются в поддесневом зубном камне, и их источником, по всей вероятности, является деградированные протеоглики межклеточного вещества тканей пародонта.

Содержание липидов в зубном камне невелико. Присутствующие глицерофосфолипиды, освобождаемые при распаде клеточных мембран микроорганизмов, связывают ионы Ca^{2+} и инициируют образование фосфорно-кальциевых солей, а в дальнейшем гидроксиапатитов.

В образовании зубного камня участвуют молекулы АТФ, которые, с одной стороны, необходимы для фосфорилирования органических соединений, а с другой - при гидролизе АТФ освобождается ортофосфорная кислота, являющаяся компонентом различных минеральных кристаллов.

Механизм образования зубного камня. Для формирования зубного камня необходимы:

- образование органической матрицы (зубного налёта) микроорганизмами ротовой полости;
- отложение минеральных соединений на органической матрице с образованием центров кристаллизации;
- рост кристаллов в центрах минерализации.

Первичный слой бактерий, фиксированных на поверхности зуба, представлен в основном *Str. sanguis*, а на поверхности эпителиальных клеток слизистой оболочки десны *Str. salivarium*. На них оседают другие бактерии, образуется связь между множеством клеток, то есть возникают микробные ассоциации. По мере увеличения анаэробных бактерий освобождается большое количество молочной кислоты, которая поглощается и метаболизируется вейлонеллами. В этих участках происходит повышение значения рН-среды. Увеличение рН также способствует уменьшению количества молекул CO_2 и накопление в зубном налёте аммиака. Аммиак освобождается из мочевины при участии уреолитических бактерий, обладающих уреазной активностью. Кроме того, микоплазмы гидролизуют аргинин, что также увеличивает количество аммиака. В реакциях трансминирования α -кетокислоты превращаются в аспартат и глутамат. Выделившийся аммиак и образующиеся дикарбоновые кислоты активно соединяются с ионами PO_4^{3-} ,

Mg^{2+} , Ca^{2+} и формируются центры кристаллизации. Отложению фосфата способствует и изменение мицеллярной структуры слюны, когда фосфат кальция выпадает в осадок. Это возможно при изменении количества специфических белков слюны, а также количества пирофосфата. Статерины и пирофосфат являются ингибиторами образования зубного камня.

Таким образом, на поверхности и внутри бактерий образуется первичный преципитат, состоящий из брушита, невберита и струвита. Первичный преципитат затем трансформируется в пластинчатый гидроксиапатит, а в дальнейшем в гексагональный гидроксиапатит. Накопление фосфорно-кальциевых соединений и их трансформация протекает при участии щелочной фосфатазы и использовании молекул АТФ. Кристаллы зубного камня продолжают расти при послойном отложении минеральных солей и в тёмном зубном камне образуются сферолиты.

ЛИТЕРАТУРА

- Берёзов Т.Т., Коровкин Б.Ф.* Биологическая химия. - М., 1990. - С. 75-76.
- Биохимия: Учебник / Под ред. Е.С. Северина. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. - 784 с.: ил.
- Борисов Л.Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. - М.: МИА, 2002. - С. 281-285.
- Боровский Е.В., Барышева Ю.Д., Максимовский Ю.М. и др.* Терапевтическая стоматология: / Под ред. Е.В. Боровского. - 2-е изд., испр. и доп. - М.: МИА; Техлит, 1997. - 544 с.
- Боровский Е.В., Леонтьев В.К.* Биолог и я полос т и р та. - М.: Мед и ц и на, 1991. - С. 301.
- Быков В.Л.* Гистология и эмбриология органов полости рта челове- ка. - СПб., 1998. - С. 248.
- Вавилова Т.П., Марокко И.Н., Петрович Ю.А. и др.* Основы стоматологической биохимии: Учеб. пособие. - 2-е изд. - М.: МГМСУ, 2001. - 139 с.: ил.
- Гаврилов Е.И.* Биология пародонта и пульпы зуба. - М., 1969. - С. 214.
- Гемонов В.В., Лаврова Э.М., Фалин Л.И.* Развитие и строение органов ротовой полости. - М., 2002. - С. 100-104, 107-111.
- Гистология (ведение в патологию): Учебник / Под ред. Э.Г. Улумбеко ва, Ю.А. Чельшева. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 1998. - 960 с.: ил.
- Елисеева Ю.Е.* Ангиотензин-превращающий фермент, его физио- логическая роль. // Ж. Вопросы медицинской химии. - 2001. - Т. 47., Вып. 1. - С. 43-55

Кабак С.Л., Фещенко С.П., Аниськова Е.П. Костно-суставная система. Морфологические и биохимические аспекты формирования. - Минск: Навука і тэхніка, 1990. - 181 с.

Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия: Справоч. изд.: Пер. с нем. - М.: Мир, 2000. - 469 с.: ил.

Кручинина Л.А., Ершова Н.И. Водная фракция смешанной слюны и гомеостаз полости рта / Под ред. В.П. Дегтярёва. - М.: Корал Клаб, 2007. - 56 с.

Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэл В. Биохимия человека: Учебник: В 2 т.: Пер. с англ. - М.: Мир, 1993. - 799 с.: ил.

Николаев А.Я. Биологическая химия. - М.: МИА, 2004. - 565 с.: ил.

Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. - М.: Медицина, 1995. - 224 с.: ил.

Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. - 2004. - Т. 3, ? 2. - С. 16-22.

Сукманский О.И. Биологически активные вещества слюнных желёз. - Киев: «Здоровье». - 1991. - 111 с.

Филлипович Ю.Б. Основы биохимии: Учебник. - М.: Агар, Флинта, 1999. - 512 с.: ил.

Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология: Учебник: Пер. с англ. - М.: Изд. НИИ биомедицинской химии, РАМН, 1999. - 353 с.: ил.

Яровая Г.А. Калликреин-кининовая система: новые факты и концепции. // Ж. Вопросы медицинской химии. - 2001. - Т. 47., Вып.1. - С. 20-43

Ababneh K.T., Hall R.C., Embery G. Immunolocalization of glycosaminoglycans in ageing, healthy and periodontally diseased human cementum // J.Oral Biol. - 1998. - Vol. 43, N 3. - P. 235-246.

Bai X., Miao D., Panda D. et al. Partial rescue of the Hyp phenotype by osteoblast-targeted PHEX (Phosphate-Regulating Gene with Homologies to Endopeptidases on the X Chromosome) expression // J. Mol. Endocrinol. - 2002. - Vol. 16, N 12. - P. 2913-2925.

Bennick A. Interactions of plant polyphenols with salivary proteins // Crit. Rev. Oral Biol. Med. - 2002. - Vol. 13, N 2. - P. 184-196.

Beroukas D., Hiscock J., Gannon B.J. et al. Selective down-regulation.. of aquaporin-1 in salivary glands in primary Sjogren's syndrome // Lab. Invest. - 2002. - Vol. 82. - P. 1547-1552.

Borgnia M., Nielsen S., Engel A., Agre P. Cellular and molecular biology of the aquaporin water channels // Annu. Rev. Biochem. - 1999. - Vol. 68. - P. 425-458.

Boskey A.L. Osteopontin and related phosphorylated sialoproteins: effects on mineralization // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 1995. - Apr. 21. - Vol. 760. - P. 249-256.
Bosshardt D., Nanci A. Immunolocalization of epithelial and mesenchymal matrix constituents in association with inner enamel epithelial cells // *J. Histochem. Cytochem.* - 1990. - Vol. 38., N 3. - P. 319-324.

Boyer J.S. Water transport // *Annu. Rev. Plant Physiol.* - 1985. - Vol. 36. - P. 473-516.

.. *Bronckers A.L.J.J., Lyaruu D.M., Bervoets T.J.M., Woltgen J.H.M.* Fluoride enhances intracellular degradation of amelogenins during secretory phase of amelogenesis of hamster teeth in organ culture // 7th International Conference on Tooth Morphogenesis and Differentiation. - April 2002. - Vol. 43, N 2-3. - P. 456 - 465.

Bronson R.E., Treat J.A., Bertolami C.N. Fibroblastic subpopulations in uninjured and wounded rabbit oral mucosa // *Dent. Res.* - 1989. - Vol. 68, N 1. - P. 51-58.

Campbell N. A. and Reece J. B. (2002). *Biology* (sixth edition). Benjamin Cummings, San Francisco. This includes the Campbell Biology CD-ROM and Website www.cambellbiology.com

Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M., Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries // *J. Dent. Res.* - 2006. - Vol. 85, N 1. - P. 22-32.

Chen H, Banaszak Holl M., Orr B.G. et al. Interaction of dendrimers (artificial proteins) with biological hydroxyapatite crystals // *J. Dent Res.* - 2003. - Vol. 82, N 6. - P. 443-448.

Cochran D.L., Wozney J.M. Biological mediators for periodontal regeneration // *J. Periodontol.* - 2000. - Vol. 19. - P. 40-58.

Couve E. Ultrastructural changes during the life cycle of human odontoblasts // *Arch. Oral Biol.* - 1986. - Vol. 31. - P. 643-651.

Curzon M.E.J. (1983). Epidemiology of trace elements and dental caries. In: Curzon MEJ, Cutress TW, editors. Trace elements and dental disease. Bristol: John Wright & Sons Ltd., 11-30.

Denhardt D. T., Noda M., O'Regan A. W. et al. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival // *J. Clin. Invest.* - 2001. - Vol.107, N. 9. - P. 1055-1061.

Dickinson D.P. Salivary (SD-type) cystatins: over one billions years in the making - but to what purpose? // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* - 2002. - Vol. 13, N 6. - P. 485-508.

- Domon T., Yasuda M., Osanai M. et al.* Increase in odontoclast nuclei number by cell fusion: A three-dimensional reconstruction of cell fusion of human odontoclasts // *Anat. Rec.* - 1997. - Vol. 249. - P. 449-457.
- Edwards P. A.*, 2005. - Calcium. // *Molecular Cell Biology*, BC 205 Dental (Fall 2005). - P. 1-17
- Embery G., Hall R., Waddington R. et al.* Proteoglycans in dentinogenesis // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* - 2001. - Vol. 12. - P. 331-349.
- Farges J.-C., Romeas A., Melin M et al.* TGF-(31 Induces accumulation of dendritic cells in the odontoblast layer // *J. Dent. Res.* - 2003. - Vol. 82, N 8. - P. 652-656.
- Fisher C, Gilbertson-Beadling S., Powers E.A. et al.* Interstitial collagenase is required for angiogenesis in vitro // *Dev. Biol.* - 1994. - Vol. 162. - P. 499-510.
- Gautam D., Heard T. S., Cui Y. et al.* Cholinergic stimulation of salivary secretion studied with M1 and M3 muscarinic receptor singleand doubleknockout mice // *Mol. Pharmacol.* - 2004. - Vol. 66. - P. 260-267.
- Gehron R.P.* Skeletal Biology Section, Bone Research Branch, National Institute of Dental Research, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, 1992
- Geoffrey M. Cooper.* The cell: a molecular approach / Geoffrey M. Cooper. - 2nd ed. P. cm. Includes bibliographical references and index., 2000.
- Giannobile W.V., Riviere G.R., Gorski J.P., Tira D.E.* Glycosaminoglycans and periodontal disease: analysis of GCF by safranin O // *J. Periodontal Res.* - 1993. - Vol. 64, N 3. - P. 186-190.
- Goldberg M.* Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* - 2004. - Vol. 15, N 1. - P. 13-27.
- Goldberg M., Septier D.* Phospholipids in amelogenesis and dentinogenesis // *Ibid.* - 2002. - Vol. 13, N 3. - P. 276-290.
- Goldberg M., Septier D., Rapoport O. et al.* Biglycan is a repressor of amelogenin expression and enamel formation: an emerging hypothesis // *J. Dent. Res.* - 2002. - Vol. 81, N 8. - P. 520-524.
- Gresz V., Kwon T.H., Hurley P.T. et al.* Identification and localization of aquaporin water channels in human salivary glands // *J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* - 2001. - Vol. 281. - P. 247-254.
- Grzesik W.J., Narayanan A.S.* Cementum and periodontal wound healing and regeneration // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* - 2002. - Vol. 13, N 6. - P. 474 - 484.

Guedez L., Lim M.S., Stetler-Stevenson W.G. The role of metalloproteinases and their inhibitors in hematological disorders (Review) // *Crit. Rev. Oncog.* - 1996. - Vol. 7. - P. 205-225.

Guide N. Research on the biology of the pulp // *Oral Dis. Biol.* - 1994. - Vol. 23, N 34.

Guo M.K., Mes ser H.H. A comparison of Ca^{2+} -, Mg^{2+} -ATPase and alkaline phosphatase activities of rat incisor pulp // *Calcif. Tissue Int.* - 1978. - Vol. 26, N 1.

Hale J.E., Fraser J.D., Price P.A. The identification of matrix Gla protein in cartilage // *J. Biochem. Mol. Biol.* - 1988. - Vol. 263, N 12, Is. 25. - P. 5820-5824.

Hannig C., Hoch J., Becker K. et al. Lysozyme activity in the initially formed in situ pellicle // *J. Oral Biol.* - 2005. - Vol. 50, Is. 9. - P. 821-828.

Harrison S.W., Roda R.S. Intermediate cementum: development, structure, composition and potential functions // *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* - 1995. - Vol. 79. - P. 624-633.

Hu S., Denny Pol., Denny P. et al. Differentially expressed protein markers in human submandibular and sublingual secretions // *Int. J. Oncol.* - 2004. - Vol. 25. - P. 1423-1430.

Iijima M., Moradian-Oldak J. Control of octacalcium phosphate and apatite crystal growth by amelogenin matrices // *J. Materials Chem.* - 2004. - Vol. 14. - P. 2189-2199.

Iijima M., Moriwaki Y., Wen H.B. et al. Effects of ionic flow and amelogenins on the lengthwise growth of octacalcium phosphate crystals in a model system of tooth enamel formation // *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* - 2002. - Vol. 724, N 6.4.1

Jono S., Peinado C., Giachelli C.M. Phosphorylation of osteopontin is required for inhibition of vascular smooth muscle cell calcification // *J. Biol. Chem.* - 2000. - Vol. 275, Is. 26. - P. 20197-20203.

Kagayama M., Sasano Y., Misoguchi I. et al. Localization of glycosaminoglycans in periodontal ligament during physiological and experimental tooth movement // *J. Periodontal Res.* - 1996. - Vol. 31, N 4. - P. 229-234.

Karg H.A., Burger E.H., Lyaruu D.M. et al. Gene expression and immunolocalisation of amelogenins in developing embryonic and neonatal hamster teeth // *Cell Tissue Res.* - 1997. - Vol. 288, N 3. - P. 545-555.

Kavanagh E., Ashhurst D.E. Development and aging of the articular cartilage of the rabbit knee joint: distribution of biglycan, decorin, and Matrilin-1 // *J. Histochem. Cytochem.* - 1999. - Vol. 47. - P. 1603-1616.

- Kawase T., Sato S., Miake K., Saito S.* Alkaline phosphatase of human periodontal ligament fibroblast-like cells // *Dent. Res.* - 1988. - Vol. 2, N 2. - P. 234-239.
- Kosuke A., Tsuyoshi H., Hiroshi M., Yoshikazu S.* The cytokine regulation of SPARC production by rabbit corneal epithelial cells and fibroblasts in vitro // *Cornea.* - 2004. - Vol. 23, N 2. - P. 172-179.
- Krane C.M., Melvin J.E., Nguyen Ha-Van et al.* Salivary acinar cells from Aquaporin 5-deficient mice have decreased membrane water permeability and altered cell volume regulation // *Biol. Chem.* - 2001. - Vol. 276, Is. 26. - P. 23413-23420.
- Larjava H., Hakkinen L., Rahemtulla F.* A biochemical analysis of human periodontal tissue proteoglycans // *J. Biochem.* - 1992. - Vol. 284. - Pt 1. - P. 2 67-2 74 .
- Lee J.E., Nam J.H., Kim S.J.* Muscarinic activation of Na⁺-dependent ion transporters and modulation by bicarbonate in rat submandibular gland acinus // *J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* - 2005. - Vol. 288. - P. 822-831. .. *Leonora J., Tjaderhane L., Tieche J.-M.* Parotid gland function and dentin apposition in rat molars // *J. Dent. Res.* - 2002. - Vol. 81, N 4. - P. 259 -2 6 4.
- Levine M. J.* Development of artificial salivas. // *Oral Biology & Medicine*, 1993. - Vol. 4. - P. 279-286
- Linde A.* Dentin matrix proteins: Composition and possible functions in calcification // *Anat. Rec.* - 1989. - Vol. 224. - P. 154-166.
- Linde A., Goldberg M.* Dentinogenesis // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* - 1993. - Vol. 4. - P. 679-728.
- Lombardi T., Samson J., Muhlhauser J. et al.* Expression of intermediate filaments and actins in human dental pulp and embryonic dental papilla // *Anat Rec. Switz.* - 1992. - Vol. 234, N 4. - P. 587-592.
- Luo W., Wen X., Wang H.J. et al.* In vivo overexpression of tuftelin in the enamel organic matrix // *Cell Tissues Organs.* - 2004. - Vol. 177, N 4. - P. 212 -22 0.
- Lyaruu D.M., Bervoets T.J.M., Bronckers A.L.J.J.* Short exposure to high levels of fluoride induces stage-dependent structural changes in ameloblasts and enamel mineralization // *Eur. J. Oral Sci.* - 2006. - Vol. 114. suppl. 1. - P. 111-115.
- Martin R.B.* Toward a unifying theory of bone remodelling. *Bone*, 2000, 26:1-6.
- Melese T., Rothman S.S.* Increased phosphate efflux from acinar cell during protein secretion // *J. Physiol. Cell Physiol.* - 1983. - Vol. 245. - P. 121-124.

Moradian-Oldak J., Jimenez I., Maltby D., Fincham A.G. Controlled proteolysis of amelogenins reveals exposure of both carboxy and aminoterminal regions // *J. Biopolymers.* - 2001. - Vol. 58, N 7. - P. 606-616.

Moschen A.R., Kaser A., Enrich B. et al. The RANKL/OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss // *Gut.* - 2005. - Vol. 54. - P. 479-487.

Nagano T., Oida S., Ando H. et al. Relative levels of mRNA encoding enamel proteins in enamel organ epithelia and odontoblasts // *Dent. Res.* - 2003. - Vol. 82, N 12. - P. 982-986.

Nanci A. Ten Cate's Oral Histology, 6th edition. Development, Structure, and Function Pages 913. Mosby ? Published September 2003

Nauntofte B. Regulation of electrolyte and fluid secretion in salivary acinar cells // *J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* - 1992. - Vol. 263. - P. 823-837.

Pang J.L., Wu B.L., He W.X. et al. Effect of antisense oligonucleotide against mouse dentine matrix protein 1 on mineralization ability and calcium ions metabolism in odontoblast-like cell line MDPC-23 // *Int. Endodontic J.* - 2006. - Vol. 39. - P. 527.

Qin C., Baba O., Butler W.T. Posttranslational modifications of sibling proteins and their roles in osteogenesis and dentinogenesis // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* - 2004. - Vol. 15, N 3. - P. 126-136.

Qin C., Brunn J.C., Cadena E. et al. The expression of dentin sialophosphoprotein gene in bone // *J. Dent. Res.* - 2002. - Vol. 81, N 6. - P. 392-394.

Rajshankar D., McCulloch C.A., Tenenbaum H.C., Lekic P.C. Osteogenic inhibition by rat periodontal ligament cells: modulation of bone morphogenic protein-7 activity in vivo // *J. Cell Tiss. Res.* - 1998. - Vol. 294, N 3. - P. 475-483.

Ravindranath R.M., Moradian-Oldak J., Fincham A.G. Tyrosyl motif in amelogenins binds N-acetyl-D-glucosamine // *J. Biol.Chem.* - 1999. - Vol. 274, N 4. - P. 2464-2471.

Reith E. J. The binding of calcium within the Golgi saccules of the rat odontoblast // *Am. J. Anat.* - 2005. - Vol. 147, Is. 3. - P. 267-271.

Ritchie H.H., Liu J., Kasugai S., Moller PA. Mineralizing rat dental pulp cell subline expressing collagens type I and dentin sialoprotein-phosphophoryn transcripts // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* - 2002. - Vol. 38, N 1. - P. 25-29.

Romanenko V., Nakamoto T., Srivastava A. et al. Molecular identification and physiological roles of parotid acinar cell Maxi-K channels // *J. Biol. Chem.* - 2006. - Vol. 281, Is. 38. - P. 27964-27972.

- Rossman L.E., Rosenbloom J., Robinson P.* Biosynthesis of collagen in isolated periodontal ligament // *J. Dent. Res.* - 1975. - Vol. 54, N 6. - P. 1115-1119.
- Santos M., Line S.* The genetics of amelogenesis imperfecta. A review of the literature // *J. Appl Oral Sci.* - 2005. - Vol. 13, N 3. - P. 212-217
- Sawa Y, Kuroshima S., Yamaoka Y, Yoshida S.* Intracellular distribution of desmoplakin in human odontoblasts // *J. Histochem. Cytochem.* - 2005. - Vol. 53, N 9. - P. 1099-1108.
- Sche'ele S., Falk M., Franzen A. et al.* Laminin 1 globular domains 4-5 induce fetal development but are not vital for embryonic basement membrane assembly // *PNAS.* - 2005. - Vol. 102, N 5. - P. 1502-1506.
- Shi S., Robey P.G., Gronthos S.* Comparison of human dental pulp and bone marrow stromal stem cells by cDNA microarray analysis // *Bone.* - 2001. - Vol. 29. - P. 532-539.
- Shimazu Y, Nanci A., Aoba T.* Immunodetection of osteopontin at sites of resorption in the pulp of rat molars // *J. Histochem. Cytochem.* - 2002. - Vol. 50. - P. 911-921.
- Smith A.J., Cassidy N., Perry H. et al.* Reactionary dentinogenesis // *J. Dev. Biol.* - 1995. - Vol. 39. - P. 273-280.
- Stayton P.S., Drobny G.P., Shaw W.J. et al.* Molecular recognition at the protein-hydroxyapatite interface // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* - 2003. - Vol. 14, N 5. - P. 370-376.
- Steinhoff M., Buddenkotte J., Shpacovitch V. et al.* Proteinase-activated receptors: transducers of proteinase-mediated signaling in inflammation and immune response // *Endocr. Rev.* - 2005. - Vol. 26, N 1. - P. 1-43.
- Steinhoff M., Buddenkotte J., Shpacovitch V. et al.* Proteinase-activated receptors: transducers of proteinase-mediated signaling in inflammation and immune response // *Endocr. Rev.* - 2005. - Vol. 26, N 1. - P. 1-43.
- Takagi M., Hishikawa H., Hosocawa Y. et al.* Immunohistochemical localization of glycosaminoglycans and proteoglycans in predentin and dentin of rat incisors?// *J. Histochem. Cytochem.* - 1990. - Vol. 38., N 3. - P. 319 -3 2 4 .
- Ten Cate A.R.* Dentinogenesis. In: Ten Cate AR, ed. *Oral histology - development, structure, and function.* 5th ed. St Louis: Mosby-Year Book, Inc., 1998:128-49(a).
- Ten Cate A.R.* Development of the tooth and its supporting structures. In: Ten Cate AR, ed. *Oral histology - development, structure, and function.* 5th ed. St Louis: Mosby-Year Book, Inc., 1998:78-103.
- Terheyden H., Jepsen S., Rueger D.R.* Mandibular reconstruction in miniature pigs with prefabricated vascularized bone grafts using recombinant human osteogenic

protein-1: a preliminary study // J. Oral Maxillofac. Surg. - 1999. - Vol. 28. - P. 461-463.

Thesleff I., Mikkola M. The role of growth factors in tooth development // Int. Rev. Cytol. - 2002. - Vol. 217. - P. 93-135.

Thesleff I., Sharpe P. Signalling networks regulating dental development // Mech. Dev. - 1997. - Vol. 67, N 2. - P. 111-123.

Tjaderhane L., Palosaari H., Wahlgren J. et al. Human odontoblast culture method: the expression of collagen and matrix metalloproteinases (MMPs) // Adv. Dent. Res. - 2001. - Vol. 15. - P. 55-58.

Tyerman S.D., Bohnert H.J., Maurel C. et al. Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations // J. Exp. Biol. - 1999. - Vol. 50. - P. 1055-1071.

Veis A. Biomineralization: On the Trail of the Phosphate. Part II: Phosphop horyn, the DMPs, and More // J. Dent. Res. - 2004. - Vol. 83, N 1. - P. 6-10.

Vo et D., Voet J.G. Biochemistry. 3rd Edition. Wiley International Edition. USA. 2004. - 854 c.

Wang L.J., Tang R., Bonstein T. et al. Enamel demineralization in primary and permanent teeth // Ibid. - 2006. - Vol. 85, N 4. - P. 359-363.

Wassell D.T., Hall R.C., Embery G. Adsorption of bovine serum albumin onto hydroxyapatite // J. Biomater. - 1995. - Vol. 16, N 9. - P. 697-702.

Wen X., Lei Y.P., Zhou Y.L. et al. Structural organization and cellular localization of tuftelin-interacting protein 11 (TFIP11) // Cell Mol. Life Sci. - 2005. - Vol. 62, N 9. - P. 1038-1046.

Xu H., Collins J.F., Bai L. et al. Regulation of the human sodium-phosphate cotransporter NaPi-IIb gene promoter by epidermal growth factor // J. Physiol. Cell Physiol. - 2001. - Vol. 280. - P. 628-636.

Yoshida K., Yoshida N., Iwaku M. Class II antigen-presenting dendritic cell and nerve fiber responses to cavities, caries, or caries treatment in human teeth // Dent. Res. - 2003. - Vol. 82, N 6. - P. 422-427.

