

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Принятые сокращения .....	5
Предисловие .....	7
Введение .....	8
<b>Глава 1. БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА.....</b>	<b>10</b>
1.1. Организация межклеточного матрикса.....	10
1.2. Структура и свойства коллагеновых белков.....	11
1.3. Структура и свойства неколлагеновых белков.....	23
1.4. Неколлагеновые белки со специальными свойствами.....	41
1.5. Катаболизм белков межклеточного матрикса .....	49
<b>Глава 2. ХРЯЩЕВАЯ ТКАНЬ .....</b>	<b>53</b>
2.1. Структура и свойства хрящевой ткани .....	54
2.2. Формирование хрящевой ткани .....	58
<b>Глава 3. МИНЕРАЛИЗОВАННЫЕ ТКАНИ .....</b>	<b>64</b>
3.1. Химический состав минерализованных тканей.....	64
3.2. Белки межклеточного матрикса минерализованных тканей мезенхимного происхождения.....	71
<b>Глава 4. СТРУКТУРА И РАЗВИТИЕ ТКАНЕЙ ПОСТОЯННЫХ ЗУБОВ .....</b>	<b>75</b>
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.....	95
4.6. Десневая жидкость .....	101
<b>Глава 5. БИОХИМИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ.....</b>	<b>105</b>
5.1. Организация и строение костной ткани челюстей .....	105
5.2. Физиологическая регенерация костной ткани .....	111
5.3. Регуляция метаболизма в костной ткани .....	117
5.4. Реакция костной ткани на дентальные имплантаты.....	124
<b>Глава 6. СЛЮННЫЕ ЖЕЛЕЗЫ .....</b>	<b>126</b>
6.1. Строение и функции слюнных желёз .....	126
6.2. Механизм секреции слюны.....	127
6.3. Регуляция слюноотделения.....	134
6.4. Смешанная слюна.....	137
6.5. Саливадиагностика.....	164

---

Глава 7. СЛИЗИСТАЯ ОБОЛОЧКА ПОЛОСТИ РТА .....	168
7.1. Строение и функции слизистой оболочки полости рта .....	168
7.2. Механизмы транспорта веществ в слизистой оболочке полости рта .....	175
7.3. Метаболические процессы в слизистой оболочке полости рта...	177
7.4. Защитные системы слизистой оболочки полости рта .....	178
Глава 8. ПОВЕРХНОСТНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ НА ЗУБАХ.....	184
8.1. Кутикула. Пелликула. Зубной налёт .....	184
8.2. Заменители сахаров .....	189
8.3. Зубной камень .....	192
Литература .....	195

## ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

- АДФ** — аденозиндифосфорная кислота  
**АМФ** — аденозинмонофосфорная кислота  
**АЛТ** — аланинаминотрансфераза  
**АСТ** — аспаргатаминотрансфераза  
**АФК** — активные формы кислорода  
**цАМФ** — циклический аденозинмонофосфат  
**АТФ** — аденозинтрифосфорная кислота  
 $\alpha_1$ -**АТ** —  $\alpha_1$ -антитрипсин  
**ББП** — белки, богатые пролином  
**ВИП** — вазоактивный интестинальный полипептид  
**ГАГ** — гликозаминогликаны  
**ГП 340** — гликопротеин 340  
**цГМФ** — циклический гуанозинмонофосфат  
**ГДФ** — гуанозиндифосфат  
**ДНК** — дезоксирибонуклеиновая кислота  
**ИЛ** — интерлейкин  
**Ig** — иммуноглобулин  
**SIgA** — секреторный иммуноглобулин А  
**ИФР** — инсулиноподобный фактор роста  
**МБК** — морфогенетический белок кости  
 $\alpha_2$ -**МГ** —  $\alpha_2$ -макроглобулин  
**ММП** — матриксные металлопротеиназы (матриксины)  
**NO** — оксид азота  
**OPG** — остеопротегерин  
**RANK** — рецепторы активатора ядерного фактора транскрипции каппа В  
**RANKL** — лиганд рецептора активатора ядерного фактора транскрипции каппа В  
**RGD** — аминокислотная последовательность арг-гли-асп  
**мРНК** — матричная рибонуклеиновая кислота  
**ТИМП** — тканевые ингибиторы металлопротеиназ  
**ТТГ** — тиреотропный гормон  
**ТИР-39** — тафтелининтерактивный белок с м.м. 39 кДа  
**SCN<sup>-</sup>** — тиоцианат  
**ТФР- $\beta$**  —  $\beta$ -трансформирующий фактор роста  
**УДФ** — уридиндифосфат  
**ФАФ** — 3'-фосфоаденозин-5'-фосфат  
**ФАФС** — 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат  
**ФИФ** — фосфатидилинозитолбисфосфат

- 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  
**ЭПР** — эндоплазматический ретикулум

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Изучение макромолекул и биохимических процессов в тканях полости рта закладывает основу профессиональных знаний врача-стоматолога и является неотъемлемой частью его подготовки. В последние годы накоплен огромный объём фактических сведений об особенностях метаболических процессов в мягких и твёрдых тканях полости рта, опубликованных в различных специальных изданиях. Однако эти материалы не нашли достаточного отражения в отечественных учебных пособиях для будущих врачей-стоматологов.

Задача настоящего третьего издания заключается в восполнении пробелов, имеющих в учебной литературе, и в стремлении обобщить имеющуюся информацию 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, основы всех тканей ротовой полости, слизистой оболочки полости рта, а также биохимические основы процессов минерализации, слюнообразования и слюновыделения. В её основу положен материал лекций по профильным разделам курса для студентов стоматологического факультета Московского государственного медико-стоматологического университета и предыдущих изданий данного пособия. Особое внимание уделено неразрывной связи строения макромолекул с их функциями, а также метаболическим превращениям этих молекул в различные возрастные периоды. Акцент в изложении сделан на особенностях метаболических процессов в тканях полости рта человека, которые неразрывно связаны с обменом веществ в других органах человека. Пособие предназначено для студентов, ординаторов и аспирантов медицинских вузов.

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 литературы.

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

## ВВЕДЕНИЕ

Полость рта в организме человека является начальным отделом пищеварительного тракта, в которой 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.

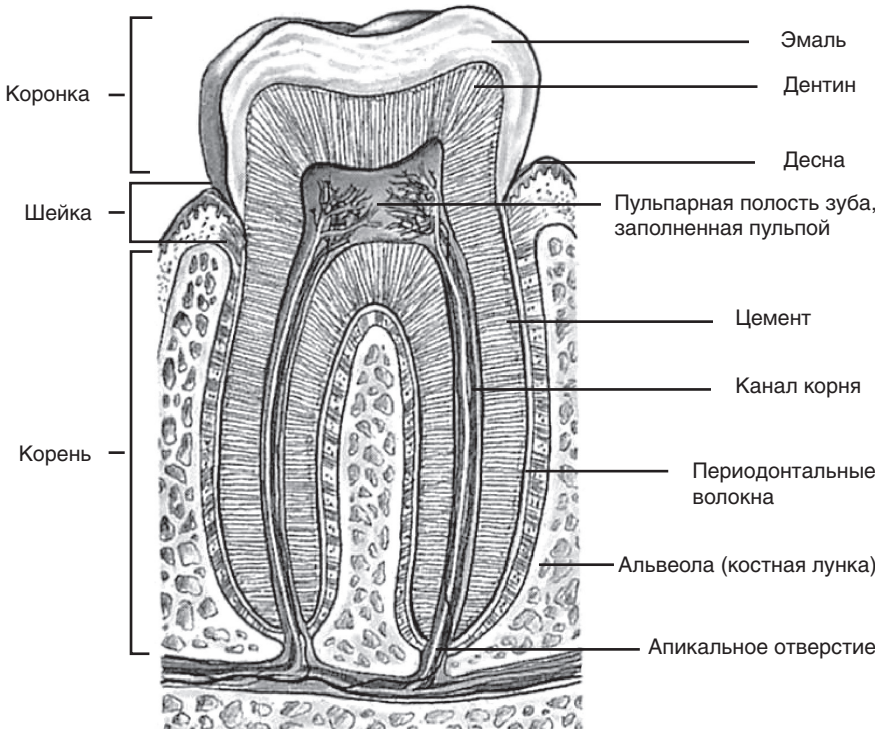
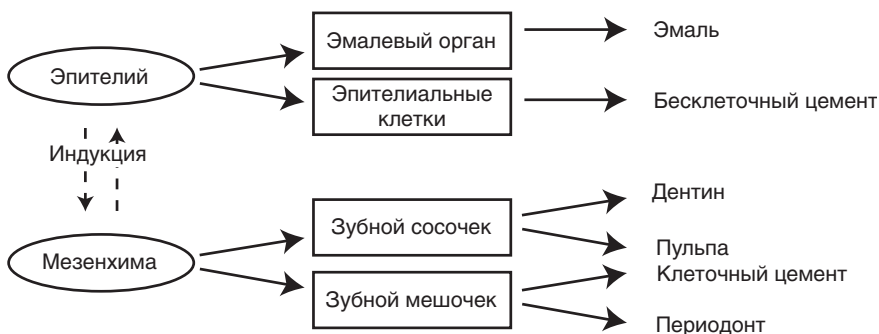


Рис. 1. Общий план структурной организации зуба [по Nanci A., 2003]

Основу зуба составляет дентин — твёрдая обызвествлённая ткань, которая образуется в процессе развития зуба. Снаружи дентин в различных отделах покрыт двумя видами твёрдых минерализованных тканей: эмалью и цементом. Внутренняя часть зуба под дентином заполнена пульпой. Прикрепление зуба к костной лунке обеспечивает поддерживающий его аппарат, состоящий из цемента, периодонтальных волокон, стенки зубной альвеолы и десны. Большинство его тканей (дентин, клеточный цемент, волокна периодонта, пульпа), а также кость 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.

## Глава 1

# БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

**Межклеточный матрикс** — комплекс органических и неорганических компонентов, заполняющих пространство между клетками. Для разных тканей характерен свой межклеточный матрикс. Эпителиальные клетки преимущественно объединяются 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;
- скелетные ткани — костную и хрящевую.

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

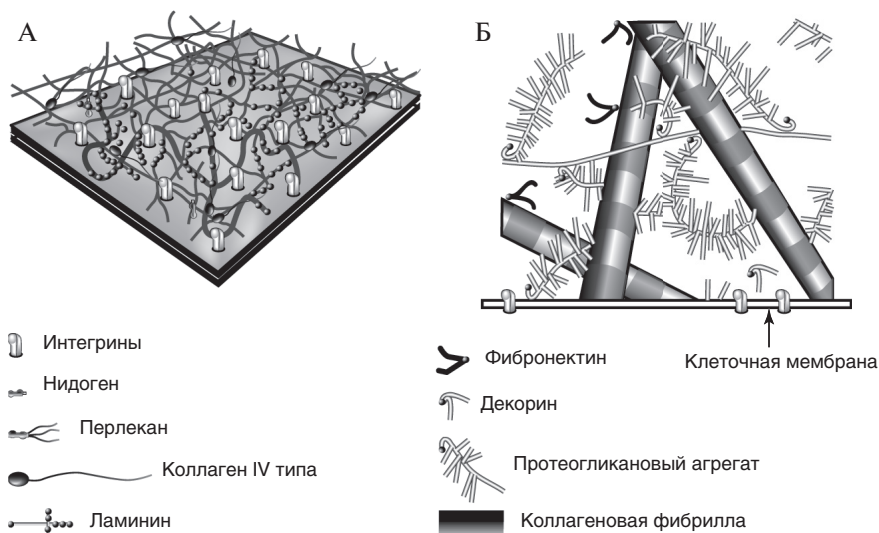
## **1.1. ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА**

Для соединительной ткани характерно наличие большого количества межклеточного вещества (внеклеточный матрикс), состоящего из коллагеновых белков, протеогликанов и гликопротеинов, а также 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., Reese 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 одна часть является собственно коллагенами, а другая содержат только коллагеноподобные домены. Все типы коллагенов в зависимости от структуры делят на несколько групп: фибриллообразующие, ассоциированные с фибриллами коллагена, сетевидные, микрофибриллы, закоренные фибриллы и др. Для обозначения каждого типа коллагена используют определённую формулу, в которой  $\alpha$ -цепи записывают арабскими цифрами, а тип коллагена — римскими.

Значительная 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

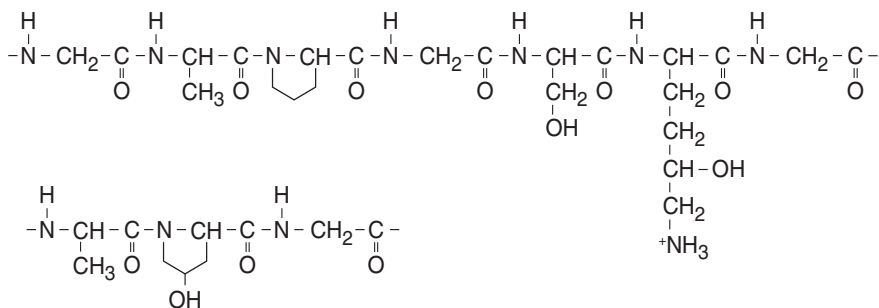
Для тканей полости рта характерно присутствие коллагена I, III, V и VI типов. Следует отметить разнообразие коллагена в цементе зуба, в котором, помимо коллагена I, III и V типов, определяются характерные для хрящевой ткани коллагены II, IX, XII, XIV типов.

### 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  $\alpha$ -цепи. Каждая из них содержит около 1000 аминокислотных остатков и представляет собой плотную левозакрученную спираль, заключающую в себе три аминокислотных остатка на виток. Одна треть

аминокислотных остатков в коллагене представлена глицином (30%), пятая часть — пролином в сумме с 3- и 4- гидроксипролином (21%), поэтому первичную структуру коллагена можно представить в виде схемы *гли — x — y-*, где *x* — чаще всего пролин или гидроксипролин, а *y* — другие аминокислоты (рис. 1.2). Всего в  $\alpha$ -цепи встречается около 330 таких повторов.

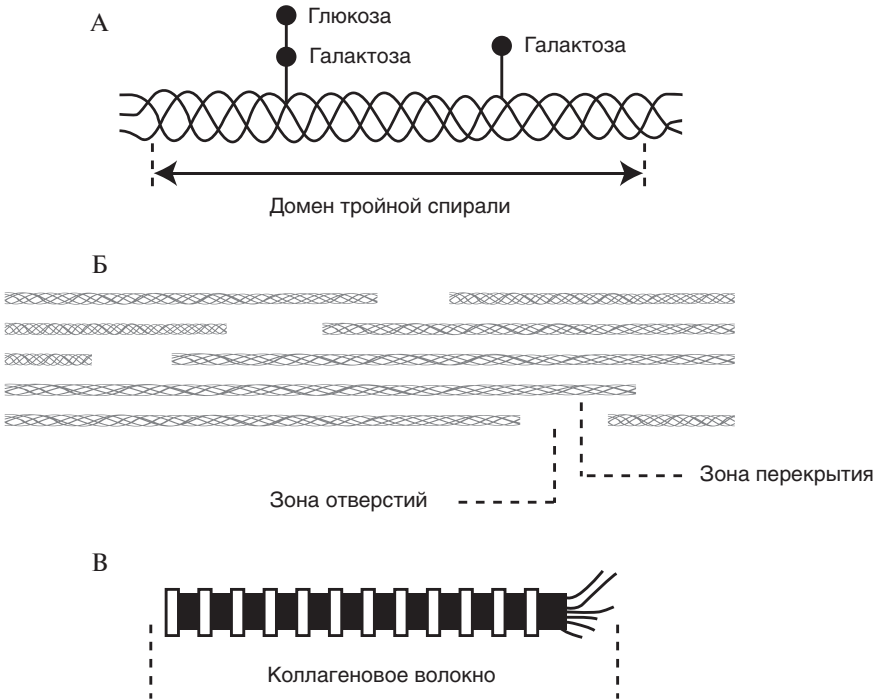


**Рис. 1.2.** Фрагмент первичной структуры  $\alpha$ -цепи коллагена. В области расположения пролина и гидроксипролина происходит «пролиновый излом»

Глицин повторяющейся последовательности *гли — x — y-* 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, расположенные в положении  $-x-$  и  $-y-$ , находятся на поверхности тройной спирали. Распределение кластеров радикалов по длине коллагеновой молекулы обеспечивает самосборку многомoleкулярных коллагеновых структур. Три  $\alpha$ -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* [ $\alpha_1(I)$ ]<sub>2</sub>  $\alpha_2$  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* [ $\alpha_1(\text{II})$ ] $_3$  присутствует в хрящах и образуется в нехрящевых тканях на ранних стадиях развития. Данный тип коллагена содержит небольшое количество 5-гидроксилизина (менее 1%) и отличается высоким содержанием углеводов (более 10%).



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

*Коллаген III типа* [ $\alpha_1(\text{III})$ ] $_3$  присутствует в стенках кровеносных сосудов. Отличительной особенностью этого коллагена является наличие большого количества гидроксипролина. В составе  $\alpha$ -цепей присутствует цистеин, а сама молекула коллагена слабо гликозилирована.

*Коллаген V типа* [ $\alpha_1(\text{V})\alpha_2(\text{V})\alpha_3(\text{V})$ ] представляет собой гибридную молекулу, состоящую из различных цепей:  $\alpha_1(\text{V})$ ,  $\alpha_2(\text{V})$  и  $\alpha_3(\text{V})$ .

Фибриллярные коллагены 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.

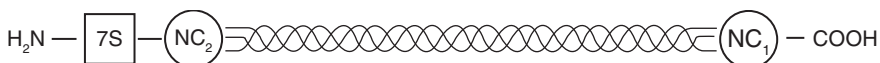
### Коллагены, ассоциированные с фибриллами

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.

$\alpha$ -Цепи коллагена IX типа [ $\alpha_1(\text{IX})\alpha_2(\text{IX})\alpha_3(\text{IX})$ ] состоят из 3 фибриллярных и 4 глобулярных доменов. Они объединены 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 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) прикрепляется 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. Он содержит 1  $\alpha_1(\text{IV})$  и 2  $\alpha_2(\text{IV})$  цепи. Пептидные цепи коллагена IV типа после секреции не подвергаются протеолитической модификации, и поэтому сохраняют структуру N- и C-концевых глобулярных доменов (NC<sub>1</sub>, 7S и NC<sub>2</sub>) (рис. 1.4).



**Рис. 1.4.** Структура коллагена IV типа — тройная спираль мономера коллагена. В N- и C-концевых областях содержатся глобулярные домены 7S, NC<sub>1</sub> и NC<sub>2</sub>

В отличие от фибриллярных коллагенов,  $\alpha$ -цепи молекулы коллагена IV типа содержат «неколлагеновые» аминокислотные области не только в N- и C-концевых отделах, но и по всей длине молекулы. Концевые домены NC<sub>1</sub>, 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 молекулярной массой 59 кДа.

### **Коллагены, образующие микрофибриллы**

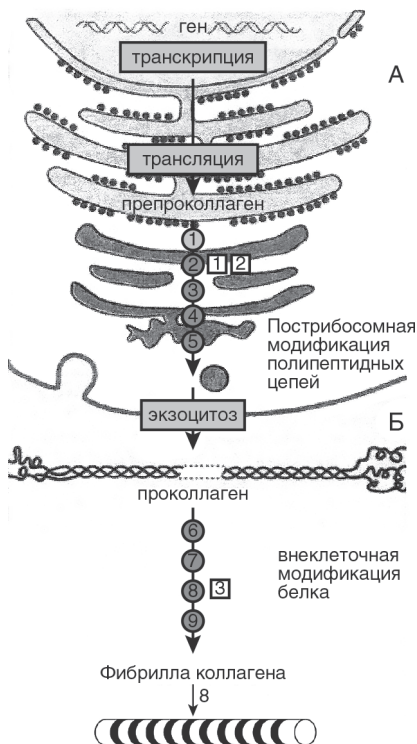
К этой группе относят коллаген VI типа. Являясь короткоцепочечным белком, он образует микрофибриллы, располагающиеся между фибриллами интерстициальных коллагенов. Для него характерно присутствие в  $\alpha$ -цепях больших глобулярных доменов в N- и C-концевых областях и короткого трёхспирального домена 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 как и коллаген IV типа 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 бластные клетки. 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, 40% в дерме и 10% в строме внутренних

органов, нарушения синтеза коллагена сопровождаются патологией как костно-суставной системы, так и внутренних органов. Это неизбежно отражается на состоянии тканей челюстно-лицевой области.

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

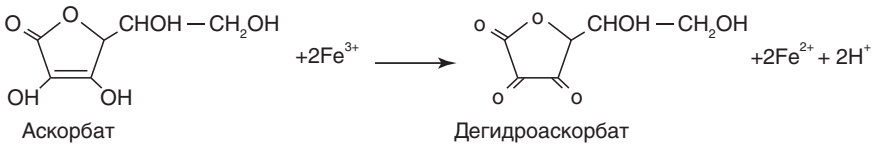


**Рис. 1.5.** Синтез коллагена: А — внутриклеточный этап, Б — внеклеточный этап. Цифрами обозначены реакции синтеза. 1 — отщепление сигнального препептида, 2 — гидроксирование остатков пролина и лизина, 3 — гликозилирование 5Нul и Asp, 4 — окисление цистеина в пропептиде, 5 — образование тройной спирали, 6 — отщепление концевых пептидов, 7 — окисление Lys и 5Нlys до альдегидов, 8 — регулируемая сборка фибрилл, 9 — сшивание с образованием полимерной структуры. Ферменты: [1] — проколлагенпролил-4-диоксигеназа 1.14.11.2 [аскорбат, Fe]; [2] — проколлагенлизил-5-диоксигеназа 1.14.11.4 [аскорбат, Fe]; [3] — протеин-лизил-6-оксидаза 1.4.3.13 [Cu]

**Внутриклеточный этап синтеза коллагена.** Пептидные  $\alpha$ -цепи коллагена синтезируются на полирибосомах, связанных с мембранами эндоплазматической сети. 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: проколлагенпролил-4-диоксигеназа (пролил-4-гидроксилаза), проколлагенпролил-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.** Формула восстановленной и окисленной аскорбиновой кислоты

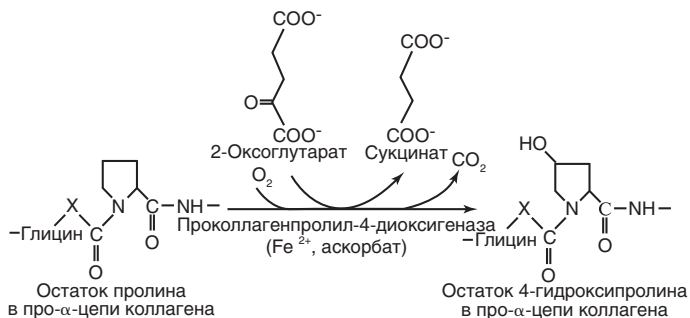
В реакциях гидроксирования один атом кислорода присоединяется к четвёртому атому углерода в остатке пролина, а второй атом кислорода включается в янтарную кислоту, которая образуется при декарбоксилировании 2-оксоглутарата (рис. 1.7).

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

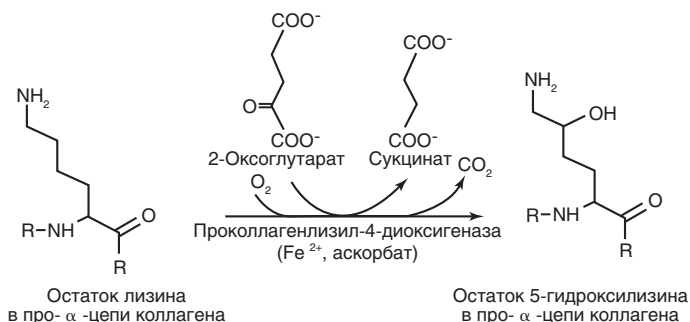
В дальнейшем гидроксированные остатки лизина подвергаются гликозилированию.

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

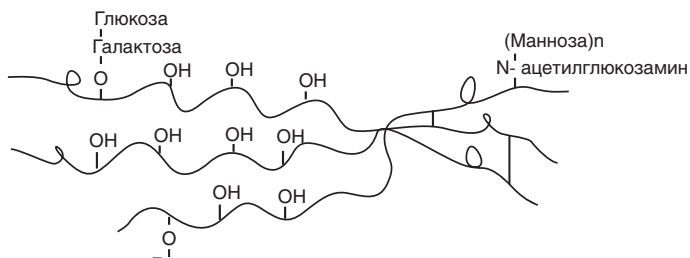




**Рис. 1.7.** Гидроксилирование остатков пролина в проколлагеновой  $\alpha$ -цепи с образованием 4-гидроксипролина



**Рис. 1.8.** Гидроксилирование остатков лизина в проколлагеновой  $\alpha$ -цепи с образованием 5-гидроксилизина. R-аминокислоты в  $\alpha$ -цепи



**Рис. 1.9.** Гликозилированные участки  $\alpha$ -цепи молекулы проколлагена

Гидроксипролин необходим для стабилизации этой тройной спирали коллагена, поскольку его гидроксильные группы участвуют в образовании водородных связей между  $\alpha$ -цепями. По окончании

гидроксилирования и гликозилирования все про- $\alpha$ -цепи соединяются между собой водородными связями, а в области С-концевых пропептидов формируются дисульфидные мостики.

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

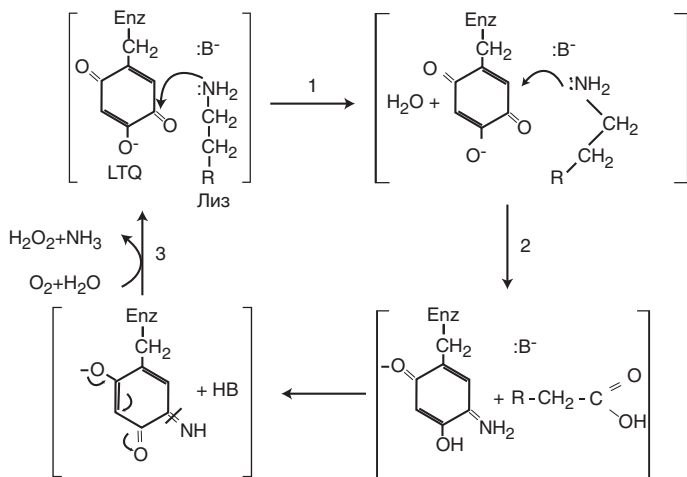
**Внеклеточный этап — модификация молекул проколлагена.** В межклеточном пространстве при участии протеолитических ферментов от молекулы проколлагена отщепляются N- и С-концевые пептиды и освобождается тройная спираль коллагена (тропоколлагена). Далее происходит процесс самосборки коллагеновых фибрилл, 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  $\text{Cu}^{2+}$  в активном центре. Молекулы лизилоксидазы синтезируются в клетке в виде проферментов и после связывания с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  упаковываются в везикулы, которые покидают клетку. На клеточной поверхности молекула пролизилоксидазы подвергается ограниченному протеолизу, и в сформировавшемся активном центре при участии ионов  $\text{Cu}^{2+}$  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.

На следующем этапе аллизин и 5-гидроксиаллизин конденсируются вместе с лизиловыми и гидроксилизиловыми 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 возникают альдольные межмолекулярные связи. Формирование межмолекулярных связей показано на рис. 1.11.

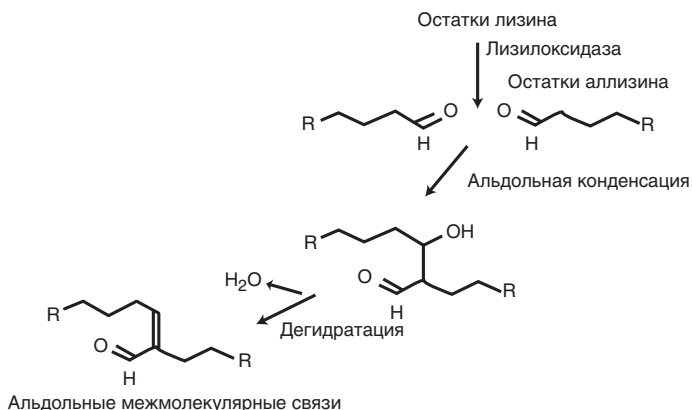
Альдольная конденсация характерна для коллагена костной ткани и дентина, а основания Шиффа наиболее часто встречаются в коллагенах сухожилий.

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.



**Рис. 1.10.** Окисление лизина в структуре коллагена: 1 — формирование фермент-субстратного комплекса; 2 — NH<sup>3+</sup> переносится на тирозинхинон (LTQ) и происходит окисление лизина с последующим вытеснением аллизина из активного центра; 3 — в активный центр фермента входят молекулы O<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O и происходит освобождение NH<sub>3</sub> и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. При этом LTQ возвращается в исходное состояние (Enz-фермент)



**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 ним, различны — недостаток в организме аскорбиновой кислоты, ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , генетические дефекты и аутоиммунные состояния.

Гидроксилирование 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 гидроксилирование остатков пролина и лизина в структуре проколлагена. В результате образуются хрупкие и ломкие сосуды. Нарушение синтеза коллагена в пульпе и дентине приводит к развитию множественного кариеса, страдают периодонтальные связки.

Подобные явления встречаются при врождённом дефиците лизил-гидроксилазы (синдром Элерса—Данло—Русакова, тип IV). Высокая растворимость молекул коллагена проявляется при врождённом дефекте лизилоксидазы (синдром Элерса—Данло, тип V) или расстройстве процесса обмена меди (болезнь Менкеса), что связано с нарушением образования поперечных швов между микрофибриллами коллагена. Это приводит к ухудшению механических свойств связок периодонта, состояния тканей пародонта, вялости кожных покровов и возникновению 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  $\alpha$ -цепей. При попадании проколлагена во внеклеточное 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 ее архитектуру (синдром Гудпасчера), или мутации гена, кодирующего  $\alpha$ -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-телопептидов. 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

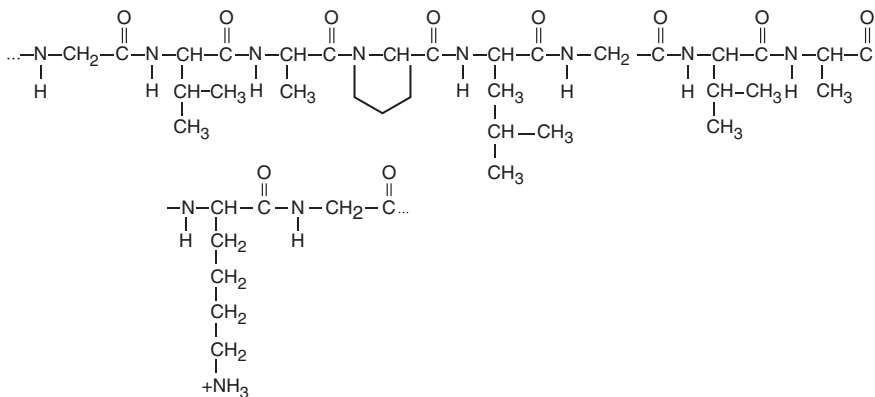
#### Эластин

В межклеточном веществе стенок кровеносных сосудов, тканей периодонта, корня языка, в подслизистом слое губ и щёк, в лёгких, коже в больших количествах присутствуют эластиновые волокна. Они обладают очень важными свойствами: 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 молекулярной массой 70 кДа.

Эластин содержит около 27% глицина, 19% аланина, 10% валина, 4,7% лейцина. Наличие большого количества гидрофобных радикалов препятствует созданию стабильной глобулы, в результате полипептидные цепи эластина не формируют регулярные вторичную и третичную структуры, а принимают в межклеточном матриксе различные конформации с примерно равной свободной энергией (рис. 1.12).

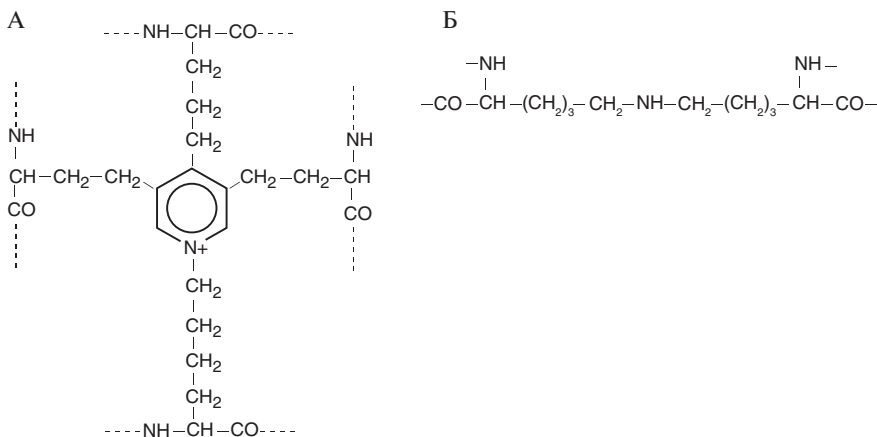
Нативные волокна эластина построены из относительно небольших, почти сферических молекул, соединённых в волокнистые тяжи с помощью жёстких поперечных швов, — десмозина и изодесмозина, а также лизиннорлейцина. В образовании поперечных швов участвуют 4 остатка лизина, 3 из которых предварительно окисляются до соответствующих альдегидов при участии лизилоксидазы. Десмозин

и изодесмозин формируются остатками, принадлежащими, по крайней мере, двум, реже трём и четырём цепям. В образовании лизиннорлейцина участвуют 2 остатка лизина (рис. 1.13).



**Рис. 1.12.** Фрагмент полипептидной цепи эластина: глицил-валил-аланил-пролил-лейцил-глицил-валил-аланил-лизил-глицил

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).



**Рис. 1.13.** Поперечные сшивки в структуре эластина: *А* — десмозин, образованный четырьмя остатками лизина; *Б* — лизиннорлейцин, L-аминокислота, представляющая собой гибрид лизина с норлейцином