

DOI: 10.14427/jipai.2014.4.79

Роль белков слюны в мукозальном иммунитете

И.Ю. Карпук

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Role of proteins of the saliva for the mucosal immunity

I.Yu. Karpuk

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Аннотация

В слюне содержатся многочисленные белки, участвующие во врожденном и приобретенном иммунитете. Их эффекты воспалительными и иммунными реакциями. Одни из них, такие как лизоцим, лактоферрин, катионные белки, пероксидазы, цистатины, муцин и другие важны для врожденного иммунитета. Главными факторами приобретенного иммунитета служат иммуноглобулины. В совокупности они обладают антибактериальными, противовирусными и противогрибковыми свойствами. В слюне присутствуют иммуноглобулины всех классов, особенно при иммуновоспалительных реакциях.

Ключевые слова

Ротовая жидкость, аллергия, иммунитет, белки слюны

Summary

The saliva contains the numerous squirrels participating in the congenital and acquired immunity. Their effects inflammatory and immune reactions. One of them, such as lizotsyme, lactoferrin, cationic proteins, peroxidases, tsistatina, mutsina and others are important for congenital immunity. As the main producers of the acquired immunity immunoglobulins serve. In total they possess antibacterial, antiviral and antifungal properties. At a saliva there are immunoglobulins of all classes, especially at immunoinflammatory reactions.

Keywords

Oral liquid, allergy, immunity, proteins of a saliva

Слюна и ротовая жидкость в иммунитете

Слюна является жидкостью организма, секретлируемой тремя парами крупных слюнных желез (околоушных, подчелюстных и подъязычных) и многими мелкими слюнными железами [1, 2]. Первичная слюна выделяется ацинусами слюнных желез. Она модифицируется серозным экссудатом в плотных контактах между некоторыми железистыми клетками (ультрафильтрация) и с помощью трансцеллюлярной диффузии через эти клетки. Первичная слюна также изменяется в добавочных, бороздчатых и выделительных (собираательных) каналах, ведущих из ацинусов в полость рта. Попадая в полость рта, слюна из протоков нескольких слюнных желез смешивается и дополняется многими компонентами, которые происходят из интактных или поврежденных клеток слизистой, иммунными клетками и микроорганизмами полости рта [1, 2]. Компо-

ненты крови также попадают в полость рта через жидкость зубодесневой борозды, слизистую и слизистый транссудат и через кровотечения, возникающие в полости рта [1, 2]. В результате этого, в ротовой полости обнаруживается огромное молекулярное многообразие, часто именуемое «смешанной слюной».

Смешанная слюна - это основное определение для характеристики среды, которой покрыты все поверхности полости рта. На поверхности зубов слюна играет большую роль в формировании приобретенной пелликулы, которая является тонким (0.5 - 1 нм) слоем некоторых белков слюны со свойствами связывания гидроксида кальция [1, 2]. Приобретенная пелликула играет основную роль для «защиты организма поверхностями» и в физико-химической защите поверхности зубов. Также приобретенная пелликула важна для бактериальной адгезии (и

колонизации) поверхности зубов, что может помимо прочего вести к развитию кариеса и воспалению тканей периодонта (особенно в отсутствие надлежащей гигиены полости рта) [1, 2]. Приобретенная пелликула, однако, может также рассматриваться как важный инструмент для борьбы с транзиторными патогенными микроорганизмами, попадающими в полость рта (например, вирусами, такими как вирус гриппа). Кроме защиты поверхности зубов, слюна играет важную роль как для физико-химической, так и для иммунной защиты слизистой полости рта и слизистой начальных отделов ЖКТ (путем непосредственной антимикробной активности и агглютинации микроорганизмов). Слюна также важна для заживления некоторых повреждений слизистой, например ран или язв [1, 2].

Многофункциональный характер защитных белков слюны

Выяснено, что большинство этих белков многофункциональны [1-3], и их действие может даже перекрываться в некоторых случаях [1, 2]. Многофункциональный характер защитных белков слюны также относится к их способности оказывать «комбинированный эффект».

Как было сказано выше, большинство (если не все) защитных белков слюны могут увеличивать концентрацию до эффективных уровней в определенных участках полости рта [1 - 4], несмотря на то, что многие из них представлены в смешанной слюне в концентрациях, недостаточных для эффекта [5]. В этих местах может возникать тип воздействия «одиночный эффект» (один тип агента воздействует на одну цель [6]). Однако, белки слюны (включая катионные) также могут обеспечивать антимикробную защиту, даже если они представлены в концентрациях меньше эффективной, но оказывая «комбинированный эффект». При этом несколько видов защитных белков атакуют микроорганизм одновременно. Хотя при этом типе воздействия от конкретного защитного белка можно ожидать лишь неполного уничтожения [6] микроорганизма, скоординированная активность нескольких белков в то же время может привести к полной элиминации атакуемого агента.

Мы можем ожидать пять основных типов совместного действия защитных белков в смешанной слюне. Первый тип взаимодействия может отвечать за агглютинацию микроорганизмов и «защиту поверхностями». Этот тип включает те слюнные белки, которые связывают бактерии с поверхностями полости рта [6], либо друг с

другом [7]. Второй тип взаимодействия может отвечать за лизис микробной стенки. Главным образом этот тип атакует бактерии и вероятно включает катионные белки и лизоцим (последний вероятно усиливает активность катионных белков, как описано ниже). Третий и четвертый типы взаимодействия могут отвечать за противогрибковые [8] и противовирусные [9] свойства слюны. Наконец, вероятен пятый, иммунный тип взаимодействия. Он подразумевает, что все защитные белки слюны проявляют свойства иммуномодуляторов/иммуностимуляторов. Этот тип взаимодействия может быть важным для регулирования активности местного иммунитета.

Иммуноглобулины слюны

Основные классы антител слюны

Антитела действуют в первой линии обороны посредством иммунного воздействия на антигены в слюне, в слизистой эпителии [10] и на приобретенной пелликуле на поверхности зубов. Они выделяются в полость рта в существенном количестве со слюной. Преобладают два основных класса антител в слюне: IgA (sIgA) и IgG [1, 2]. Секреторные иммуноглобулины sIgA происходят главным образом из слюнных желез и (в меньших количествах) из иммунных клеток слизистой [11] и в основном димерны (хотя в некоторых случаях могут быть полимерны) [12]. Слюнные IgG мономерны и выделяются либо из сыворотки, либо продуцируются местными плазматическими клетками [13]. Также в слюне существует маленькая фракция (15% от всех IgA) мономерных (несекреторных) IgA, которые выделяются из сыворотки либо локальными плазматическими клетками, как и IgG [14]. Хотя большинство антител слюны составляют IgA (90-98%) и IgG (1-10%) [14], в слюне присутствует небольшое количество IgM, IgD, и IgE [2, 18].

Выделяемые из крови IgG и мономерные (несекреторные) IgA главным образом попадают в полость рта через жидкость зубодесневой борозды [1, 2, 15], однако также в составе слизистого транссудата и в результате ультрафильтрации в ацинусах слюнных желез [1, 2, 18]. Подобно этому, мономерные (несекреторные) IgA и IgG, продуцируемые локальными плазматическими клетками, также могут попадать в полость рта в составе слизистого транссудата и путем ацинарной ультрафильтрации. Важно, что количество антител, транспортируемых вышеописанными путями, может быть в сильной зависимости от патологических состояний полости рта, таких как

воспаления десны и слизистой оболочки, а также условий целостности слизистого и ацинарного эпителиального барьера [15].

Секреторный компонент pIgR

Секреторный компонент (SC) полимерного иммуноглобулинового рецептора проявляет сильный аффинитет к J-цепи димерных и полимерных IgA и пентамерных IgM [16]. Вероятно, он имеет похожий аффинитет к обоим подтипам полимерных IgA (IgA 1 и IgA 2, последний более устойчив к определенным бактериальным протеазам [16]), поэтому оба одинаково хорошо экспортируются pIgR (содержащей SC) при секреции. Полимерный иммуноглобулиновый рецептор (pIgR) – это богатый углеводами гликопротеин массой 100 кДа, в существенном количестве присутствует на базолатеральных поверхностях эпителиальных железистых клеток [18] и эпителиальных слизистых клеток [17]. На базолатеральных поверхностях J-цепь димерных/полимерных IgA и пентамерных IgM связывается с SC, что проявляется в виде селективного взаимодействия «ключ и замок», ведя к инициализации молекулярного транспорта [18]. Этот молекулярный транспорт начинается с соединения SC с димерными/полимерными антителами на базолатеральной поверхности клетки и заканчивается экзоцитозом SC с антителами на апикальную поверхность клетки в просвет железы (или в полость рта в случае слизистого эпителиального транспорта). Процесс экзоцитоза сопровождается отщеплением секреторного компонента (SC) от pIgR. После этого SC массой 80 кДа (ранее являвшейся частью pIgR массой 100 кДа) остается теперь уже постоянно связанным с sIgA и sIgM, наделяя секреторные иммуноглобулины способностью противостоять протеолизу [19].

Экспрессия SC (pIgR) может быть усилена цитокинами [20], а избыточные, незанятые pIgR выделяются из железистых клеток (таким же отщеплением, как описано выше), что происходит в присутствии свободных секреторных компонентов (массой также 80 кДа) в слюне [18]. Можно предположить выделение свободных SC эпителиальными слизистыми клетками. Важно, что свободные SC проявляют некоторые врожденные защитные функции в полости рта, такие как ингибирование эпителиальной адгезии некоторых бактерий путем [21] связывания бактериальных фимбриальных адгезинов [26] и нейтрализация некоторых бактериальных токсинов [22]. SC, связанная с иммуноглобулином, проявляет муко-

фильные свойства и вносит значительный вклад в прикрепление sIgA к слизистой оболочке [25, 28]. Как неспецифичный микробный скавенджер [23], SC, связанный с иммуноглобулином, также может играть роль в феномене, согласно которому секреторные антитела показывают намного лучшие агглютинирующие свойства, чем мономерные антитела.

Выработка секреторных антител

Начальная стимуляция В-клеток, выделяющих секреторный иммуноглобулин (имеющих способность к дифференцировке в клетки, производящие мономерные/димерные антитела), происходит в лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой (MALT), например в лимфоидной ткани кишечника (GALT), подъязычной и глоточной миндалин, лимфоидной ткани носоглотки (NALT) и субэпителиальную ткань [24]. Активированные В-клетки могут мигрировать из этих структур в слюнные железы и субэпителиальную ткань, и способны индуцировать значительный секреторный иммунный ответ [25]. Однако ткани NALT, руководящие местными иммунными функциями в отношении как антигенов, попадающих в организм воздушно-капельным путем, так и антигенов, попадающих алиментарным путем, вероятно являются участками, индуцирующими активность В-клеток, локализованных в слюнных железах [26] и слизистой оболочке полости рта.

Секреторные sIgA, и очень маленькое количество секреторного IgM (sIgM), продуцируются специфическими плазматическими клетками, расположенными в основном в строме слюнных желез и в меньших количествах в слизистой оболочке полости рта [27]. Эти плазматические клетки продуцируют главным образом димерные (но также и полимерные) IgA и небольшое количество молекул пентамерных IgM, каждая из которых стабилизируется J-цепью массой 15 кДа [18]. И димерные, и полимерные IgA, и пентамерные IgM поступают из интерстиция и выводятся в слюну ацинарными клетками и протоковыми клетками больших и малых слюнных желез посредством обычного механизма эпителиального транспорта слюнных желез, используя полимерный иммуноглобулиновый рецептор (pIgR) и его главную цепь, секреторный компонент (SC) [16]. Важно, что sIgA (также возможно sIgM) выделяется в слюну в существенном количестве даже в отсутствие стимуляции [28]. Похожий транспортный механизм из слизистого интерстиция на поверхность слизистой оболочки очень вероятен

в случае клеток эпителия слизистой оболочки полости рта [29]. Однако, уровень слизистого эпителиального транспорта представляется намного ниже в сравнении с таковым из слюнных желез [21].

Связывание антигена, агглютинация и «защита поверхностями»

Главная функция иммуноглобулинов слюны заключается в интактивации патогенов: бактерий, грибов и вирусов, а также некоторых микробных токсинов, путем связывания и/или агглютинации таких частиц [30]. Подобное связывание может предупредить адгезию микробов и их токсинов [31] к эпителию слизистой и привести к их дальнейшему перевариванию в желудке [30]. Иммунная «защита поверхностями» (фиксация к поверхности и иммобилизация вплоть до элиминации) от патогенов в пределах полости рта путем фиксации секреторных иммуноглобулин-связывающих антигенов к поверхности слизистой оболочки является еще одним механизмом для предотвращения инвазии в подлежащие ткани [25, 32]. Так как иммуноглобулины являются компонентами приобретенной пелликулы зубов и осуществляют микробную адгезию к их поверхности, описанные выше процессы иммунной защиты также весьма вероятны на поверхности зубов. Иммунная «защита поверхностями» кажется эффективным и имеющим преимущество защитным механизмом против патогенных микроорганизмов, которые не являются опасными для тканей полости рта местно [25, 32]. Однако необходимо принять во внимание, что иммунная защита поверхностями также может вести к появлению иммобилизованных микробов, оказывающих сильный локальный патогенный эффект (кариесогенные или периодонтопатогенные бактерии). Иммобилизация микроорганизмов на поверхности зубов, связанная с иммунной защитой поверхностей, может также обеспечивать появление патогенной микробной биопленки на зубах (зубной налет) в отсутствие должной гигиены полости рта [1, 2].

Другие функции антител

Помимо сказанного, существуют некоторые механизмы, связанные с димерными/полимерными иммуноглобулинами, которые также вносят вклад в иммунную защиту слизистой от антигенов (главным образом вирусов и микробных токсинов) [25, 33]. Например, полимерный иммуноглобулиновый рецептор (pIgR) способен связывать нагруженные антигенами димерные/

полимерные иммуноглобулины на базолатеральной поверхности эпителиальных клеток и выделять экзоцитозом иммунный комплекс на апикальной стороне клетки в просвет железы (или в полость рта в случае эпителиального транспорта) [25, 34]. Возможно, что патоген нейтрализуется внутри эпителиальной клетки во время транспорта комплекса pIgR-антитела [35]. Так, димерные/полимерные антитела, будучи транспортируемыми через клетки эпителия (во время транцитоза с помощью pIgR, как описано выше) могут связывать интрацеллюлярные антигены (например внедряющиеся вирусы или бактериальные ЛПС/токсины) и таким образом осуществлять внутриклеточную антигенную нейтрализацию и очищение, что предотвращает повреждение эпителиальной клетки и развитие воспаления [36]. Описанные выше реакции делают возможными очистительные механизмы, направленные на антигены, уже проникшие в эпителиальные клетки и/или подлежащие железистые и слизистые ткани (например строма желез и собственная пластинка слизистой) [37].

Хотя IgA (включая как секреторные, так и мономерные формы) не активируют систему комплемента, однако IgG являются комплемент-активирующими [38]. Активация комплемента иммуноглобулинами IgG может встречаться в здоровом организме возле зубодесневой борозды, так как жидкость зубодесневой борозды очень похожа на серозный транссудат (даже у здоровых), имея при этом соответственно систему комплемента. В случае ран слизистой полости рта, активация системы комплемента IgG также может происходить в поврежденных участках слизистой оболочки.

Фагоцитоз, антигенное представление, дегрануляция и продукция цитокинов

Связывание антигена и агглютинация ведут к фагоцитозу (за которым следует представление антигена и лизис) [39], а также дегрануляции и выбросу цитокинов в присутствии иммунокомпетентных клеток [40]. Поверхность слизистой оболочки полости рта интенсивно населена антигенпредставляющими клетками (например клетками Лангерганса и дендритными клетками), помимо этого присутствует значительная миграция нейтрофильных гранулоцитов через зубодесневую борозду в слюну, даже в здоровом состоянии. Так как и дендритные клетки, и нейтрофильные гранулоциты имеют рецепторы [41], связывающие IgA на своих поверхностях, описанные выше защитные функции слюнных sIgA (а возможно

и других иммуноглобулинов) вероятно активно осуществляют иммунный надзор, в том числе в здоровом организме. В случае повреждений, ран слизистой другие иммунокомпетентные клетки безусловно также принимают участие в гораздо более активных иммунных защитных реакциях.

Катализируемые антителами озонные соединения

В присутствии нейтрофилов, выделяющих активные формы кислорода (ROI) [42], антитела слюны могут катализировать образование озона, что ведет к эффективному уничтожению микроорганизмов [43]. Во время этого процесса антитела ликвидируют микроорганизмы путем каталитического превращения менее токсичных ROI (а именно атомарного кислорода, производимого нейтрофилами) в смесь пероксида водорода и озона [44]. Это значительно увеличивает эффективность антимикробного воздействия, так как с одной стороны озон является очень сильным окислителем, а с другой не существует известных микробных ферментов, способных разрушать озон [45]. Важно отметить, что все иммуноглобулины, вне зависимости от их источника или антигенной специфичности [46], могут индуцировать и катализировать образование озона, таким образом антитела объединяют врожденный и приобретенный иммунитет [47]. Интересно, что не только целые антитела могут катализировать такие реакции, но и их фрагменты [39], и даже определенные аминокислоты (а именно триптофан, метионин, цистеин и гистидин) [48].

Катионные белки

Гистатины

Гистатины - это маленькие катионные пептиды, богатые гистидином, включающие от 7 до 38 аминокислот. Гистатины выделяются околоушной слюнной железой, а также подъязычной и подчелюстной [49]. Существует около дюжины гистатинов (HRP), наиболее важными из которых являются гистатин-1, гистатин-2, гистатин-3 [13], которые составляют 85-90% всего семейства. Гистатины проявляют широкую антибактериальную и противогрибковую активность [50]. Они имеют противовирусные свойства [17]. Будучи катионными пептидами, гистатины адсорбируются на отрицательно заряженных мембранах бактерий, это сопровождается последовательной агрегацией гистатинов и их интеграцией в липидный бислой [51]. Интеграция на поверхности

мембраны приводит к формированию ионных каналов, трансмембранных пор, мембранных разрывов [52], результатом чего является гибель бактерии. Гистатины также связывают и образуют комплексы с ионами Cu^{2+} и Ni^{2+} [53], что приводит к поглощению данных ионов металлов с последующим ингибированием ферментов, их кофакторов и остановке микробного роста [54]. Гистатины проявляют противогрибковую активность (в частности против *Candida albicans*) [55]. Эта противогрибковая активность инициируется связыванием гистатина с определенными HSP70-подобными белками (*Ssa1p*, *Ssa2p*) грибка *Candida albicans*, что приводит к экзоцитозу гистатина с последующей гибелью клетки [56]. HRP-5 способен ингибировать трипсиноподобную протеазу *Bacteroides gingivalis* [57]. Гистатины (особенно гистатин-1) также встраиваются в приобретенную пелликулу зубов и таким образом участвуют в бактериальной колонизации поверхности зубов. С другой стороны, гистатин-1 значительно ингибирует абсорбцию высокомолекулярных гликопротеинов (HMWGP) к поверхности зубов, и тем самым подавляет адгезию HMWGP-связывающихся кариесогенных бактерий (например *Streptococcus mutans* [58]) к поверхности зуба [59]. Гистатины (особенно гистатин-2, но также и гистатины-1 и -3) были охарактеризованы как чрезвычайно важные факторы слюны для заживления ран [60]. HRP также ингибируют (преципитируют) танины - широко распространенные флавоноиды [61].

Кателицидины (LL-37)

Кателицидины характеризуются сохраненным N-терминальным доменом, который образовался в результате протеолитического расщепления [62]. Человеческий кателицидин - это катионный белок массой 18 кДа, именуемый hCAP-18 [63]. Его наиболее важный активный фрагмент - это белок массой 16 кДа - LL-37 [64]. LL-37 - это катионный антимикробный белок в виде α -спирали, который может быть далее расщеплен с образованием меньших фрагментов (RK-31, KS-30), которые обладают еще большей антимикробной активностью [53]. LL-37 слюны вероятно происходит из нейтрофилов [64]. Помимо этого LL-37 присутствует в жидкости зубодесневой борозды [13]. Так как LL-37 (и его производные) также являются катионными пептидами, их антибактериальный эффект основывается на их агрегации на мембране бактерии и ее разрушении путем образования ионных каналов, трансмембранных пор и разрывов мембраны [65]. LL-37 связывает и

нейтрализует бактериальные ЛПС [13], и весьма вероятно участвует в реэпитализации ран и язв в полости рта [66]. LL-37 и его производные могут иметь свойства иммуномодуляторов/иммуоактиваторов [67].

Лактоферрин

Лактоферрин - связывающий ионы металлов катионный гликопротеин массой 80 кДа, который присутствует в большинстве секретов, включая слюну [67]. Основными источниками лактоферрина являются слюнные железы, нейтрофилы [68] и клетки эпителия слизистой. Лактоферрин также присутствует в жидкости зубодесневой борозды, что является значительным источником лактоферрина в слюне [13]. Лактоферрин активен против бактерий, грибов и вирусов [69]. Лактоферрин имеет положительный заряд, и это катионное свойство является важным фактором, который может приводить к связыванию с мембранами клеток бактерий и их дальнейшим разрушением [70], как было описано выше. Протеолитическое расщепление производит меньшие катионные пептиды из 25 аминокислот (или меньше), которые проявляют сильные (независимые от связывания ионов металлов) бактериолитические свойства [71], очень вероятно путем электростатических взаимодействий, за которыми следует адгезия на мембране бактерии и ее разрушение. Мелкие пептиды вероятно имеют противогрибковую активность [72]. Кроме активности катионных пептидов, лактоферрин является известным скавенджером ионов Fe³⁺ [73]. Он связывает железо, лишая микроорганизмы этого элемента, необходимого для их роста [74]. Лактоферрин также связывает бактериальные фимбриальные адгезины и таким образом ингибирует эпителиальную адгезию определенных бактерий [26]. Противовирусная активность лактоферрина [75] базируется на связывании (и блокировке) определенных клеточных гликозамингликанов, используемых вирусами при адсорбции [63]. Лактоферрин может нейтрализовать вирусы прямым связыванием [63]. Иммуномодуляторные и противораковые свойства лактоферрина представляются вполне вероятными [63].

Секреторный ингибитор лейкоцитарной протеиназы

Секреторный ингибитор лейкоцитарной протеиназы (SLPI) является сериновым протеиназным ингибитором массой 117 кДа (107 аминокислот), который контролирует чрезмерный

протеолиз, вызванный протеазами (например эластазой, катепсином G) нейтрофилов [76]. Поэтому SLPI также называется антилейкопротеазой (ALP). SLPI, представленный в слюне, вырабатывается кератиноцитами слизистой полости рта [13, 63, 80], а также нейтрофилами полости рта [77]. SLPI - это негликозилированный основной одноцепочечный богатый цистеином катионный полипептид [63]. Из-за своего катионного характера он может агрегироваться на мембране бактерии и разрушать ее путем образования ионных каналов, трансмембранных пор и разрывов мембраны. SLPI проявляет антимикробную активность как против бактерий (*P. aeruginosa*, *S. aureus*), так и против грибов (*C. albicans*) [78] и проявляет противовирусную активность [79].

Дефензины

Дефензины - это «прототипы» катионных пептидов. Они характеризуются как «шпилькообразные» глобулярные структуры, стабилизируемые тремя внутримолекулярными дисульфидными мостиками, связывающими шесть цистеиновых аминокислот. Выделяют два основных подсемейства, а именно α -дефензины и β -дефензины [80]. α -Дефензины (HNP1, HNP2, HNP3, HNP4) продуцируются нейтрофилами [13, 63], в то время как β -дефензины (hBD1, hBD2, hBD3, hBD4) продуцируются клетками слизистой [81]. Помимо смешанной слюны, α -дефензины и β -дефензины представлены в жидкости зубодесневой борозды. Как α -дефензины, так и β -дефензины имеют широкую антибактериальную активность, основанную на характере катионных пептидов [13, 63]. Их первое взаимодействие с бактерией типично связано с приобретением положительного заряда. В отличие от эукариотических клеток, имеющих маленький заряд либо не имеющего его вовсе, мембраны бактериальных клеток заряжены отрицательно [82]. Катионные пептидные дефензины адсорбируются благодаря своему положительному заряду на отрицательно заряженной мембране бактерии, затем агрегируются и интегрируются в липидный бислой [83]. Интеграция дефензинов на поверхности мембраны приводит к формированию ионных каналов, трансмембранных пор, мембранных разрывов [84], результатом чего является гибель бактерии. На данный момент до конца не выяснено, как катионные пептиды (включая дефензины) проходят через полисахаридную капсулу бактерии и пептидогликановые слои мембраны, однако переваривание пептидогликанов лизоцимом слюны рассматривается как вероятная

помощь в преодолении пептидогликановых слоев. Важно, что антибактериальная активность большинства дефензинов (кроме hBD3) может быть нейтрализована в больших концентрациях соли (например 100мМ моновалентных или 2мМ дивалентных катионов) [85], что может происходить в стимулированной слюне [2]. Кроме своей широкой антибактериальной активности, дефензины также проявляют противогрибковые и противовирусные свойства [86]. Противогрибковый эффект β -дефензинов вероятно проявляется связыванием грибковых HSP70-подобных поверхностных протеинов (в частности Ssa1p *Candida albicans* [86]), что может сопровождаться процессом интернализации наподобие такового при гистатин-3-зависимой противогрибковой активности. Дефензины имеют свойства иммунных активаторов и модуляторов, включая индукцию определенных цитокинов и будучи хемоаттрактантами для дендритных клеток и Т-лимфоцитов [87].

Адреномедуллин

Адреномедуллин – это полипотентный гормоноподобный катионный белок, состоящий из 52 аминокислот. Он содержится в жидкости зубодесневой борозды, слюне из желез и смешанной слюне. Вероятно, он выделяется в слюну эпителиальными клетками слизистой полости рта. Из-за своих катионных свойств адреномедуллин может уничтожать бактерии [88], как описано выше. Он способен предотвращать бактериальный рост (*S. aureus*) путем создания ненормальной перегородки во время деления клетки [85]. Адреномедуллин в зависимости от дозы ингибирует рост некоторых других бактерий по неизвестному механизму [88]. Протеолитическое расщепление адреномедулина может привести к образованию белков с еще большей противомикробной активностью [85].

Шаперикины слюны HSP70/HSPA

Связывание бактерий, агглютинация и «защита поверхностями»

Шаперикины HSP70/HSPA могут захватывать и агглютинировать бактерии [89]. Результаты недавних исследований показали, что HSP70/HSPA связывают как грамположительные (*Streptococcus mutans* и *mitis*), так и грамотрицательные (*Escherichia coli*) бактерии [90]. Так как HSP70/HSPA способны образовывать димеры и олигомеры, агглютинирующая функция HSP70/HSPA может быть эффективной. Возможно, что

HSP70/HSPA слюны появляются в мицеллах и/или меньших гомо/гетеролитических комплексах, которые также усиливают агглютинацию в слюне [91]. Важно, что HSP70/HSPA связывают гидроксиапатиты – главный неорганический компонент зубов [92]. Таким образом, вероятно, что HSP70/HSPA могут играть роль в формировании приобретенной пелликулы, за которым следует адгезия бактерий на поверхности зубов. Способность принимать участие в формировании приобретенной пелликулы и связывать бактерии соотносится со способностью HSP70/HSPA опосредованно приводить к развитию кариеса и заболеваний периодонта. С другой стороны, связывание бактерий на поверхности зубов приводит к инактивации тех бактерий, которые не являются патогенными в данном месте, но вызывают заболевания всего организма.

Происхождение HSP70/HSPA слюны

Слюнные железы – одни из главных источников HSP70/HSPA в слюне. Хотя это еще не исследовано детально, очень вероятно, что HSP70/HSPA железистого происхождения являются смесью выделяемых в норме и индуцируемых стрессом HSP70/HSPA [3, 43, 44]. Уровень слюнных HSP70/HSPA показывает большие различия между таковым в смешанной слюне и слюне, полученной при канюлировании Стенонова протока [46]. Внутри каждого уровня в отдельности также существуют различия, возможно из-за быстрой индукции слюнных HSP70/HSPA несколькими стимулами [43, 44]. Весьма вероятно, что HSP70/HSPA не выделяются классическим секреторным экзоцитозом в ацинарных клетках [43, 44]. Транспорт HSP70/HSPA может включать пассивный транспорт в слюнных железах (и их протоках) из сыворотки крови [3, 43, 44] и/или возможен в небольшом объеме активный транспорт из клеток бороздчатых протоков слюнных желез [3, 43, 44]. Альтернативный транспорт HSP70/HSPA может также протекать в липидных рафтах или через экзостомы [93].

Кроме слюнных желез, существует другие важные источники слюнных HSP70/HSPA, такие как клетки слизистой [3, 43, 44], жидкость зубодесневой борозды [3, 43, 44], слизистый трансудат полости рта [2, 4], а также внутриротовые кровотечения (например кровоточащие периодонтальные карманы, раны, язвы) [2, 4]. Помимо этого идентифицированы бактериальные, микотические гомологи HSP70/HSPA в ротовой полости. Их источники – бактерии полости рта и другие микроорганизмы [2, 4, 46].

Семейство белков HSP70/HSPA

Белки типа HSP70/HSPA - это молекулярные шапероны массой 70 кДа и цитокиновые шаперокины [42] большинства клеток и тканей, внеклеточных и интерстициальных жидкостей, крови, синовиальной жидкости и также выделяемых организмом жидкостей, таких как слюна [43 - 45]. Внеклеточные HSP70/HSPA проявляют цитопротекторные свойства путем ассоциации клеточных мембран. Экстрацеллюлярные HSP70/HSPA также вовлечены в ряд физиологических и патологических явлений, включая модуляцию выброса цитокинов, иммунитет и модуляцию нервных функций [42, 45]. Кроме того, HSP70/HSPA способны попадать в кровоток и могут работать в отдаленных участках тела как сигнал об опасности, активируясь повреждением клеток, иммунно-воспалительными реакциями и физическим или психологическим [44] стрессом организма.

Очень вероятно, что выделяемые в норме и индуцируемые стрессом формы HSP70/HSPA также представлены в слюне (смотри ниже) [43, 44, 46]. Присутствие HSP70/HSPA в полости рта относится к внеклеточным функциям HSP70/HSPA, что должно рассматриваться в связи с защитными механизмами полости рта.

Механизмы иммунологической защиты

Три основных аспекта иммунной активации описаны для HSP70/HSPA [3, 43, 44]. Первый включает внеклеточные HSP70/HSPA как сигнал опасности клеточного стресса, смерти или лизиса. Важно, что как «свободные», так и прикрепленные к мембранам (липидные плоты, экзосомы) HSP70/HSPA работали в качестве сигнала опасности [49]. Иммунная активация в данном случае была очень похожа на таковую с бактериальными липополисахаридами, и эффекты ЛПС и внеклеточной HSP70/HSPA кажутся добавочными [49]. HSP70/HSPA как сигнал опасности может индуцировать выброс провоспалительных цитокинов некоторыми иммунными клетками (моноцитами, дендритными клетками, макрофагами, Т-лимфоцитами), выброс NO макрофагами, активация НК-клеток и активация системы комплемента альтернативным путем [49 - 51]. HSP70/HSPA также действуют как цитокины и хемикины в присутствии иммунных клеток. Эти аспекты иммунной функции могут быть эффективными в случае повреждения слизистой полости рта (ран или язв), так как воспалительный серозный экссудат, содержащий большое количество компонентов системы комплемента,

антител, иммунных/воспалительных медиаторов, а также полиморфноядерных лейкоцитов и моноцитов-макрофагов обычно представлены на поверхности поврежденной слизистой оболочки [3, 43, 44].

Второй аспект активации иммунной системы включает комплексы внеклеточных HSP70/HSPA и других пептидов. Благодаря шаперонной активности, несвязанные HSP70/HSPA связывают другие белки и как сложные рецептор-медиаторные структуры соединяются с антигенпредставляющими клетками (например макрофагам, клеткам Лангерганса или дендритным клеткам), чтобы представить данный комплекс как антиген (в сопровождении молекул МНС-I или МНС-II) Т-киллерам или НК-клеткам [52]. Этот механизм важен для защиты от бактерий (и других микроорганизмов) и также является инициатором иммунного ответа в отношении опухолевых клеток и клеток, пораженных вирусами. Так как слизистая полости рта (особенно неороговевающие части) интенсивно населена антигенпредставляющими и дендритными клетками [53], этот аспект иммунной функции может быть эффективным в полости рта.

Третий аспект основывается на недавнем исследовании, согласно которому HSP70/HSPA проявляют опсонизирующий эффект на бактерии, что активировало киллерную активность полиморфноядерных нейтрофилов [47, 48]. Хотя существует существенное движение нейтрофилов через зубодесневую борозду в слюну, даже в здоровом организме, эта функция может быть особенно эффективной в условиях воспаления (например, гингивит) и в случаях повреждений слизистой полости рта (раны, язвы) [46].

Другие защитные функции слюнных HSP70/HSPA

Помимо вышперечисленного, могут существовать прочие защитные функции слюнных HSP70/HSPA [55, 56], основанные на известных цитопротекторных свойствах внеклеточных HSP70/HSPA. Предполагают, что цитопротекторные свойства базируются на трех разных механизмах. Неспецифическое связывание HSP70/HSPA на поверхности клеток слизистой [55] может вести к защите слизистой от токсинов [55]. Более специфическое связывание по типу адгезинов с сульфогликолипидными структурами клеток слизистой [57] может предотвращать бактериальную колонизацию поверхности слизистой путем занятия связывающих мест для HSP70/HSPA-подобных бактериальных адгези-

нов. В настоящий момент снижение склонности клеток к некрозу и апоптозу [58] и выделение некоторых цитокинов [59, 60] являются наиболее важными доказанными механизмами клеточной защиты белками HSP70/HSPA.

Другой защитный механизм рассматривается как гипотеза [46], основанная на открытии, согласно которому фунгицидная активность гистатина-3 инициируется связыванием с поверхностью HSP70/HSPA гомологов *Candida albicans*, что приводит к гибели клетки [61, 62]. Это открытие может говорить о том, что гистатин-3 может также связывать HSP70/HSPA. Хотя нет доказательств того, что такой комплекс слюнной HSP70/HSPA-гистатин-5 сможет уничтожать *Candida albicans*, такая возможность должна рассматриваться [46].

Прочие защитные белки врожденного иммунитета

Кальпротенин – это димер кальгранулина-А и кальгранулина-В со свойствами связывания ионов металлов [13]. Кальпротенин ингибирует микробный рост, действуя как скавенджер дивалентных катионов. Основными источниками слюнного кальпротенина являются эпителиальные клетки полости рта и нейтрофилы полости рта [13]. Кальпротенин присутствует в жидкости зубодесневой борозды [128]. Существуют три бактерио- и ЛПС-связывающих белка, а именно индуцируемый пролактином протеин (PIP), липокалин (LCN) и подчелюстной андроген-регулируемый протеин (SMR). Эти белки связывают бактерии, бактериальные ЛПС и токсины [92].

Амилаза

В слюне амилаза содержится в очень большом количестве. Наибольшие концентрации α -амилазы были найдены в слюне околоушной железы и малых слюнных железах неба [86, 91]. Восемь изоформ содержат углеводные цепи, связанные аспарагином, и имеют массу около 61-63 кДа [6,], в то время как другие восемь изоформ не имеют таких цепей и имеют массу 56-59 кДа [6, 98, 99]. Наиболее широкоизвестная функция амилазы - эндогликозидазная активность. Расщепляя β -1,4-гликозидные связи гликанов, например крахмал (амилопектин), амилаза образует олигосахариды, дисахариды и моносахариды. Кроме ферментной активности амилаза принимает участие в образовании приобретенной пелликулы на поверхности зубов. Амилаза также связывается с бактериями, а именно с некоторыми бактериальными пилиями [92], которые

являются важными факторами бактериальной адгезии. Амилаза осуществляет бактериальную адгезию на поверхности зубов [90], что может одновременно приводить как к полезной поверхностной иммунной защите организма, так и к вредной адгезии кариесогенных или периодонтопатогенных бактерий на поверхности зубов. В противоположность этому связывание бактерий может также приводить к предотвращению адгезии бактерий к поверхности зубов путем насыщения и занятия бактериальных факторов адгезии, за чем следует поступление бактерий в желудок [91] и их кислотное разрушение. Было также продемонстрировано, что амилаза проявляет прямой ингибиторный эффект в отношении роста некоторых бактерий [76]. Амилаза, также связывает бактериальные ЛПС [92] и бактериальные токсины и может проявлять вирусингибиторные свойства [44].

Муцины слюны

Существуют два основных подтипа муцинов, а именно – мембраноассоциированные и секреторируемые [11]. В полости рта мембраноассоциированные муцины (например MUC-1) в первую очередь выделяются эпителиальными клетками слизистой. Эти белки могут оставаться на поверхности клетки после секреции и главным образом участвуют в защите поверхности эпителия [11]. В полости рта существует также гораздо большее количество муцинов секреторируемого типа, среди которых наиболее важными подтипами являются MUC5b и MUC7 (старые название MG1 и MG2) [25]. Слюнные муцины довольно большие и высокогликозилированные протеины [12]. MUC5b имеет молекулярную массу выше 1000 кДа и состоит из субъединиц [12], соединенных дисульфидными мостиками, в то время как MUC7 является мономером массой около 180-200 кДа [112]. Слюнные муцины вырабатываются главным образом подъязычной слюнной железой, а также малыми слюнными железами нижней губы и неба [86]. Наибольшая концентрация слюнных муцинов обнаружена в слюне подъязычной железы (MG1, MG2) и малых небных слюнных желез (муцины с высокой молекулярной массой) [86]. Помимо принятия участия в образовании приобретенной пелликулы (особенно муцины MUC5b [2, 11]), слюнные муцины покрывают все поверхности полости рта слоем толщиной как минимум 10-22 μ m [2, 13]. Вдобавок к этому, MUC5b образуют вязкоэластический гель (в малых концентрациях), что формирует вязкую матрицу слюны [2, 13]. Слюн-

ные муцины, особенно MUC7, имеют высокий аффинитет к микроорганизмам, и захватывают и агглютинируют бактерии, грибы и вирусные частицы [2, 13]. MUC5b обладает также противовирусными свойствами [17]. Сообщалось и о бактерицидных и противогрибковых свойствах пептидов MUC7, оставшихся от N-терминального региона MUC7 [14].

Агглютинин слюны (SAG, gp-340)

Слюнной агглютинин (SAG) - это белок-скавенджер-рецептор, богатый цистеином [123]. Он также именуется легочным гликопротеином-340 (gp-340) и протеином, отсутствующим в злокачественных опухолях мозга (DMBT1) [23]. В слюне SAG действует как скавенджер-рецептор, узнающий паттерны, и, являясь таковым, связывает большое количество патогенов полости рта, включая бактерии и вирусы. Подобным образом SAG также связывает белки слюны, включая IgA и муцин MUC5b [123]. Основываясь на вышеперечисленных свойствах, SAG эффективно агрегирует бактерии и вирусы и значительно увеличивает их клиренс из полости рта в желудок, где они подвергаются кислотному разрушению [126]. SAG также присутствует в приобретенной пелликуле и на поверхности слизистой [26]. Так, он может обеспечивать бактериальную или вирусную адгезию на поверхностях полости рта [26], что может приводить либо к патогенной инвазии, либо «защите организма поверхностями». Однако большинство SAG обнаруживаются в слюне в растворенном состоянии, таким образом эффекты на поверхностях менее значимы [26]. Помимо эффективных антибактериальных и противовирусных свойств [17, 24, 25], SAG имеет свойства иммунного активатора/модулятора [23].

Статерины

Статерин – это фосфопротеин массой 5.4 кДа, богатый тирозином, глутамином и пролином. Он ингибирует преципитацию фосфатов кальция в слюне, которая является перенасыщенной ими [20, 21]. Более того, статерин не только ингибирует рост кристаллов фосфата кальция, но также спонтанную преципитацию из перенасыщенных растворов фосфата кальция, каковым является слюна. Далее, статерин связывает гидроксипатиты [21], проявляя роль в образовании приобретенной пелликулы и зубного налета. С другой стороны, статерин полностью ингибирует абсорбцию высокомолекулярных гликопротеинов (HMWGP) к поверхности зубов, и таким

образом может ингибировать адгезию HMWGP-связывающих кариесогенных бактерий, включая *S. mutans* [70]. Примечательно, что статерин вероятно обогащается в присутствии воздуха в слюне полости рта [22], что также может свидетельствовать о том, что связывание бактерий статеринами ведет к их агрегации и продвижению к желудку. Кроме антибактериальных свойств, статерин также индуцирует разрушение гиф *C. albicans* [16].

Белки, богатые пролином (PRP)

Белки, богатые пролином образуют основную фракцию белков слюны (примерно 20-30%), молекулярная масса кислотных и основных PRP обычно колеблется между 10-40 кДа, в то время как большие гликозилированные PRP обычно имеют массу 60-70 кДа [10]. PRP - высокофосфорилированные белки [73]. Основными источниками слюнных PRP являются слюнные железы [2], наибольшие концентрации PRP были обнаружены в слюне околоушной железы [86]. PRP кодируются семью генами, и многие из них последовательно расщепляются пропротеиновыми конвертазами перед выделением. Существует большое количество PRP (более 20). Кислотные PRP содержат более длинный и сильнокислотный N-терминальный регион и другие повторяющиеся последовательности в сравнении с основными PRP [73]. Кислотные PRP проявляют способность в связывании гидроксида кальция, и таким образом принимают участие в формировании приобретенной пелликулы на поверхности зубов [2, 9]. Основные PRP также присутствуют в приобретенной пелликуле [9]. Кислотные PRP связывают бактерии, основные PRP связывают грибы (например *C. albicans*) и вирусы, в то время как гликозилированные PRP связывают бактерии и вирусы, что показывает роль PRP для перемещения этих микроорганизмов в сторону желудка [2, 30,]. PRP могут преципитировать танины, как и гистатины [73].

Пероксидазы

Существуют две основных пероксидазы слюны, а именно лактопероксидаза и миелопероксидаза [15]. Лактопероксидаза продуцируется слюнными железами, в то время как миелопероксидаза продуцируется нейтрофилами полости рта [13]. Миелопероксидаза также присутствует в жидкости зубодесневой борозды [13]. Как лакто-, так и миелопероксидазы катализируют окисление ионов тиоцианатов (SCN⁻) пероксидом водорода, что ведет к образованию гораздо более активного

в отношении бактерицидных [16] и фунгицидных свойств агента, а именно гипотиоцианата (OSCN-) [17]. Важно, что эта функция пероксидазы слюны вероятно облегчается Duox-2, гомологом каталитического центра (gp91) НАДФ [19]. Duox-1 локализован в просветной плазматической мембране эпителиальных клеток основных (терминальных) собирательных протоков слюнных желез [19] и предоставляет пероксид водорода для пероксидаз слюны перед тем, как попасть в полость рта [19].

BPI, BPI-подобные белки и белки PLUNC

Эти белки принадлежат к одному семейству липидсвязывающих белков и имеют более или менее похожие молекулярные структуры. Бактерицидный протеин, увеличивающий проницаемость мембран (BPI) - это катионный белок массой 55 кДа. Главными источниками слюнных BPI являются нейтрофилы [63] и эпителиальные клетки слизистой оболочки полости рта [63]. BPI проявляет бактерицидные, токсинейтрализующие и опсонизирующие свойства. BPI демонстрирует высокий аффинитет к липидам-A бактериальных ЛПС-структур. Антибактериальное и токсинейтрализующее свойства BPI - это заслуга ЛПС-связывающего N-терминального домена, в то время как опсонизирующие свойства принадлежат C-терминальному домену [63]. Наиболее важным представителем BPI-подобных белков в слюне является паротидный секреторный протеин (PSP) [13]. PSP выделяется слюнными железами, а также кератиноцитами слизистой полости рта [13, 93]. Этот белок вероятно имеет бактериостатический эффект, связывает бактериальные ЛПС и осуществляют агглюцинацию бактерий [13]. Слюнные белки PLUNC (протеины субсемейства продуктов небно-легочно-назального эпителиального клона) главным образом выделяются большими и малыми слюнными железами [63, 96]. Существуют восемь функциональных PLUNC-белков, которые могут быть разделены в две подгруппы: короткого типа (SPLUNC-1, SPLUNC-2, SPLUNC-3) и длинного типа (LPLUNC-1, LPLUNC-2, LPLUNC-3, LPLUNC-4, LPLUNC-6) [63]. Белки короткого типа состоят только из одного домена, соответствующего ЛПС-связывающему N-терминальному домену BPI, в то время как белки длинного типа содержат два домена, напоминая целую молекулу BPI [63]. Белки PLUNC маловероятно проявляют непосредственную киллерную активность (скорее она является бактериостатической, подобно PSP) [63]. Белки PLUNC также вероятно осу-

ществляют агглюцинацию бактерий и изменение продукции цитокинов [63].

Цистатины

Генное семейство цистатинов включает 14 генов (включая два псевдогена), из которых 7 цистатинов присутствуют в слюне [13], а именно цистатин-A, цистатин-B, цистатин-C и цистатин-D, цистатин-S и цистатин-SN [13]. Наибольшая концентрация цистатинов была обнаружена в слюне подчелюстной слюнной железы [86], но также (в гораздо меньшей концентрации) в слюне околоушной железы [15]. Цистатины также присутствуют в жидкости зубодесневой борозды [16]. Цистатины - это цистеиновые протеазные ингибиторы, блокирующие действие эндогенных [13, 15], бактериальных [13] и протозойных протеаз [15]. Цистатин-C и цистатин-S показали ингибируют рост бактерии *P. gingivalis* [17]. Цистатин-SN и цистатин-S присутствуют в приобретенной пелликуле [9] и также связывают бактерии [92] и бактериальные ЛПС [92] и токсины. Цистатины имеют прямые иммуномодуляторные свойства [15] и вероятно они обладают определенным противовирусным эффектом [105].

Лизоцим - это небольшой белок (145 кДа), представленный в жидких средах организма, в том числе в слюне. Лизоцим слюны вырабатывается слюнными железами (самый высокий уровень был обнаружен в слюне подъязычной железы [86]), а также нейтрофилами [63]. Он также содержится в жидкости зубодесневой борозды [13]. Лизоцим проявляет мурамидазную активность посредством гидролиза β -1,4-гликозидных связей между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетил-д-гликозаминами пептидогликанов бактериальной мембраны. Главным образом лизоцим уничтожает грамположительные бактерии, что повреждает расположенный на поверхности пептидогликан. Сниженная восприимчивость большинства грамположительных бактерий может развиваться из-за внешней мембраны этих бактерий, которая защищает пептидогликановый слой от окружающей среды [63]. Переваривание пептидогликановых структур лизоцимом слюны также может помогать катионным белкам слюны преодолеть пептидогликановые слои мембран бактерий. Также можно предположить, что катионные белки могут осуществлять ликвидацию внешней мембраны грамотрицательных бактерий, что поможет лизоциму достичь пептидогликанового слоя мембраны бактерии. Важно, что уничтожение бактерии лизоцимом во многих

случаях не зависит от его энзимной активности [87, 88]. В этих случаях, свойство лизоцима в повышении проницаемости мембран вероятно играет роль. Неэнзимное антимикробное свойство лизоцима вероятно активно против как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [88], а также грибов [88, 89]. Кроме вышеперечисленного, лизоцим обнаруживает противовирусные свойства и также может индуцировать лизис опухолевых клеток [90]. Помимо этого лизоцим связывает бактериальные ЛПС и бактериальные токсины, часто ответственные за воспалительные реакции, разрушающие ткани. Предполагается, что лизоцим может влиять на функции гранулоцитов и лимфоцитов, а также инактивировать вирусы [91].

Заключение

Таким образом, смешанная слюна – это совокупность разнообразных веществ, находящихся на поверхности слизистой оболочки полости рта. На поверхности зубов слюна играет важную роль как в образовании приобретенной пелликулы, что в свою очередь важно для регулирования кристаллического роста и физико-химической защиты зубов, так и для бактериальной адгезии (колонизации) поверхности зубов, что может приводить к развитию кариеса и периодонтального воспаления. Приобретенная пелликула однако может быть рассмотрена как важный инструмент для «защиты организма поверхностями» от транзиторных патогенных микробов, попадающих в полость рта. Слюна также играет важную роль в физико-химической и иммунной защите слизистой полости рта (путем как прямого антимикробного действия и агглютинации, так и «защиты поверхностями»). Слюна также

необходима для тонкого регулирования (активации/модуляции) иммунных реакций слизистой оболочки и заживления поврежденной слизистой. В слюне присутствуют многочисленные защитные белки. Некоторые из этих защитных белков, такие как слюнные иммуноглобулины и слюнные шаперонины HSP70/HSPA, вовлечены в реакции как врожденного, так и приобретенного иммунитета, в то время как катионные белки и другие слюнные защитные белки главным образом ответственны за врожденный иммунитет. Несмотря на это, многие из этих молекул представлены в весьма малых концентрациях в смешанной слюне, однако локальные концентрации этих белков вблизи поверхности слизистой оболочки (слизистый трансудат), зубодесневой борозды (десневая жидкость из зубодесневой борозды), а также ран и язв полости рта (трансудат) могут быть значительно большими. Более того, их эффект во многих случаях оказывается усиленным иммунными и/или воспалительными реакциями слизистой оболочки полости рта. Их локальная концентрация может также быть высокой на поверхности слизистой или зубов, в составе слюнных мицелл и возле мест, где иммунные клетки попадают в полость рта. Их эффекты также взаимодополняющие и/или синергичные, что проявляется в эффективной защите полости рта на молекулярном уровне. В последнем случае, можно ожидать тип взаимодействия «множественный удар», во время которого защитные белки разных видов атакуют микроорганизм-мишень одновременно. Большинство слюнных защитных белков многофункциональны, и их действия перекрываются в некоторых случаях, что является хорошим основанием для описания взаимодействий типа «множественный удар».

Литература

1. Fábíán T.K., Fejérdy P., Csermely P. Salivary genomics, transcriptomics and proteomics: The emerging concept of the oral ecosystem and their use in the early diagnosis of cancer and other diseases. *Curr. Genomics*. 2008;9:11–21.
2. Новикова Н.Д., Новиков П.Д. Спектр антител к бытовым и эпидермальным аллергенам в слюне и сыворотке крови детей с бронхиальной астмой. *Имунопатология, аллергология, инфектология* 2003; №4: 46–51.
3. Fábíán T.K., Fejérdy P., Nguyen M.T., Söti C., Csermely P. Potential immunological functions of salivary Hsp70 in mucosal and periodontal defense mechanisms. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2007;55:91–98.
4. Fábíán T.K., Gótai L., Beck A., Fábíán T.K., Fejérdy P. The role of molecular chaperones (HSPAs/HSP70s) in oral health and oral inflammatory diseases: A review. *Eur. J. Inflamm.* 2009;7:53–61.
5. Madhwani T., McBain A.J. Compositional modification of nascent in vitro dental plaques by human host-defence peptides. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2011 6. Yao Y., Berg E.A., Costello C.E., Troxler R.F., Oppenheim F.G. Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches. *J. Biol. Chem.* 2003;278:5300–5308.
6. Hannig C., Hannig M., Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur. J. Oral Sci.* 2005;113:2–13.
7. Lee J.-Y., Chung J.-W., Kim Y.-K., Chung S.-C., Kho H.-S. Comparison of the composition of oral mucosal residual saliva with whole saliva. *Oral Dis.* 2007;13:550–554. 9. Vitorino R.,

- Calheiros-Lobo M.J., Duarte J.A., Domingues P.M., Amado F.M.L. Peptide profile of human acquired enamel pellicle using MALDI tandem MS. *J. Sep. Sci.* 2008;31:523–537.
8. McDonald E.E., Goldberg H.A., Tabbara N., Mendes F.M., Siqueira W.L. Histatin 1 resists proteolytic degradation when adsorbed to hydroxyapatite. *J. Dent. Res.* 2011;90:268–272.
9. Soares R.V., Lin T., Siqueira C.C., Bruno L.S., Li X., Oppenheim F.G., Offner G., Troxler R.F. Salivary micelles: Identification of complexes containing MG2, sIgA, lactoferrin, amylase, glycosylated proline-rich protein and lysozyme. *Arch. Oral Biol.* 2004; 49:337–343.
10. Ogawa Y., Miura Y., Harazono A., Kanai-Azuma M., Akimoto Y., Kawakami H., Yamaguchi T., Toda T., Endo T., Tsubuki M., et al. Proteomic analysis of two types of exosomes in human whole saliva. *Biol. Pharm. Bull.* 2011;34:13–23.
11. Gorr S.-U. Antimicrobial peptides of the oral cavity. *Periodontology* 2000. 2009;51:152–180.
12. Csermely P., Ágoston V., Pongor S. The efficiency of multi-target drugs: The network approach might help drug design. *Trends Pharmacol. Sci.* 2005;26:178–182. [PubMed]
13. Vylkova S., Li X.S., Berner J.C., Edgerton M. Distinct antifungal mechanisms: β -defensins require *Candida albicans* Ssa1 protein, while Trk1p mediates activity of cysteine-free cationic peptides. *Antimicrob. Agents Chemoter.* 2006;50:324–331.
14. Leito T.D., Ligtenberg A.J.M., Nazmi K., Veerman E.C.I. Identification of salivary components that induce transition of hyphae to yeast in *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res.* 2009;9:1102–1110.
15. White M.R., Helmerhorst E.J., Ligtenberg A., Karpel M., Teclé T., Siqueira W.L., Oppenheim F.G., Hartshorn K.L. Multiple components contribute to ability of saliva to inhibit influenza viruses. *Oral Microbiol. Immunol.* 2009;24:18–24.
16. Brandtzaeg P. Do salivary antibodies reliably reflect both mucosal and systemic immunity? *Ann. NY Acad. Sci.* 2007;1098:288–311.
17. Bandtzaeg P., Korsund F.R. Significance of different J chain profiles in human tissues: Generation of IgA and IgM with binding site for secretory component is related to the J chain expressing capacity of the total local immunocyte population, including IgG and IgD producing cells, and depends on the clinical state of the tissue. *Clin. Exp. Immunol.* 1984;58:709–718.
18. Kinane D.F., Lappin D.F., Koulouri O., Buckley A. Humoral immune responses in periodontal disease may have mucosal and systemic immune features. *Clin. Exp. Immunol.* 1999;115:534–541.
19. Mestecky J., McGhee J.R., Arnold R.R. Selective induction of an immune response in human external secretions by ingestion of bacterial antigen. *J. Clin. Invest.* 1978;61:731–737.
20. Proctor G.B., Carpenter G.H., Segawa A., Garrett J.R., Ebersole L. Constitutive secretion of immunoglobulin A and other proteins into lumina of unstimulated submandibular glands in anaesthetized rats. *Exp. Physiol.* 2003;88:7–12.
21. Carpenter G.H., Proctor G.B. Double electrophoretic separation and lectin analyses of the component chains of secretory immunoglobulin A from human saliva. *Electrophoresis.* 2000;21:1446–1453.
22. Johansen F.-E., Brandtzaeg P. Transcriptional regulation of the mucosal IgA system. *Trends Immunol.* 2004;25:150–157.
23. Phalipon A., Cortésy B. Novel functions of the polymeric Ig receptor: Well beyond transport of immunoglobulins. *Trends Immunol.* 2003;24:55–58.
24. De Oliveira I.R., de Araújo A.N., Bao S.N., Giugliano L.G. Binding of lactoferrin and free secretory component to enterotoxigenic *Escherichia coli*. *FEBS Microbiol. Lett.* 2001;203:29–33.
25. Dallas S.D., Rolfe R.D. Binding of *Clostridium difficile* toxin A to human milk secretory component. *J. Med. Microbiol.* 1998;47:879–888.
26. Phalipon A., Cardona A., Kraehenbuhl J.-P., Edelman L., Sansonetti P.J., Corthésy B. Secretory component: A new role in secretory IgA-mediated immune exclusion in vivo. *Immunity.* 2002;17:107–115.
27. Brandtzaeg P., Fjellanger I., Gjeruldsen S.T. Adsorption of immunoglobulin A onto oral bacteria in vivo. *J. Bacteriol.* 1968;96:242–249.
28. Shugars D.C., Wahl S.M. The role of the oral environment in HIV-1 transmission. *J. Am. Dent. Assoc.* 1998;129:851–858.
29. Carrero J.C., Cervantes-Rebolledo C., Aguilar-Diaz H., Diaz-Gallardo M.Y., Lacleste J.P., Morales-Montor J. The role of secretory immune response in the infection by *Entamoeba histolytica*. *Parasite Immunol.* 2007;29:331–338.
30. Brandtzaeg P. Induction of secretory immunity and memory at mucosal surfaces. *Vaccine.* 2007;25:5467–5484.
31. Wines B.D., Hogarth P.M. IgA receptors in health and disease. *Tissue Antigens.* 2006;68:103–114.
32. Babior B.M., Takeuchi C., Ruedi J., Gutierrez A., Wentworth P., Jr Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003;100:3031–3034.
33. Wentworth P., Jr., Jones L.H., Wentworth A.D., Zhu X., Larsen N.A., Wilson I.A., Xu X., Goddard W.A., III, Janda K., Eschenmoser A., et al. Antibody catalysis of the oxidation of water. *Science.* 2001;293:1806–1811.
34. Wentworth P., Jr., McDunn J.E., Wentworth A.D., Takeuchi C., Nieva J., Jones T., Bautista C., Ruedi J.M., Gutierrez A., Janda K.D., et al. Evidence for antibody-catalyzed ozone formation in bacterial killing and inflammation. *Science.* 2002;298:2195–2199.
35. Nieva J., Wentworth P., Jr The antibody-catalyzed water oxidation pathway—A new chemical arm to immune defense? *Trends Biochem. Sci.* 2004;29:274–278.
36. Nathan C. Catalytic antibody bridges innate and adaptive immunity. *Science.* 2002;298:2143–2144.
37. Nieva J., Kerwin L., Wentworth A.D., Lerner R.A., Wentworth P., Jr Immunoglobulins can utilize riboflavin (Vitamin B2) to activate the antibody-catalyzed water oxidation pathway. *Immunol. Lett.* 2006;103:33–38.
38. Yamashita K., Miyoshi T., Arai T., Endo N., Itoh H., Makino K., Mizugishi K., Uchiyama T., Sasada M. Ozone production by amino acids contributes to killing of bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008;105:16912–16917.
39. Fernandez M.I., Pedron T., Tournebize R., Olivo-Marin J.-C., Sansonetti P.J., Phalipon A. Anti-inflammatory role for intracellular dimeric immunoglobulin A by neutralization of lipopolysaccharide in epithelial cells. *Immunity.* 2003;18:739–749.
40. Asea A. Stress proteins and initiation of immune response: Chaperone activity of Hsp70. *Exerc. Immunol. Rev.* 2005;11:34–35.
41. Fábán T.K., Gáspár J., Fejérdy P., Kaán B., Bálint M., Csermely P., Fejérdy P. Hsp70 is present in human saliva. *Med. Sci. Monitor.* 2003;9:BR62–65.
42. Fábán T.K., Tóth Z., Fejérdy L., Kaán B., Csermely P., Fejérdy P. Photo-acoustic stimulation increases the amount of 70 kDa heat shock protein (Hsp70) in human whole saliva. A pilot study. *Int. J. Psychophysiol.* 2004;52:211–216.
43. Calderwood S.K., Mambula S.S., Gray P.J., Jr, Theriault J.R. Extracellular heat shock proteins in cell signaling. (Minireview) *FEBS Lett.* 2007;581:3689–3694.
44. Fábán T.K., Solti C., Nguyen M.T., Csermely P., Fejérdy P. Expected functions of salivary HSP70 in the oral cavity. In: Morel E., Vincent C., editors. *Heat Shock Proteins: New Research.* 1st ed. Nova Science Publishers, Inc.; New York, NY, USA: 2008. pp. 321–340.
45. Anand P.K., Anand E., Bleck C.K.E., Anes E., Griffiths G. Exosomal Hsp70 induces a pro-inflammatory response to foreign

- particles including mycobacteria. *PLoS One*. 2010;5 doi: 10.1371/journal.pone.0010136
46. Nguyen M.T., Fábán T.K., Singh M., Csermely P., Söti C. Bacterial binding and opsonizing effect of extracellular Hsp70. (Abstract No: YSF-85) *FEBS J*. 2008;275:460.
47. Campisi J., Leem T.H., Fleshner M. Stress-induced extracellular Hsp72 is a functionally significant danger signal to the immune system. *Cell Stress Chaperones*. 2003;8:272–286.
48. Multhoff G. Activation of natural killer cells by heat shock protein 70. *Int. J. Hyperth*. 2002;18:576–585.
49. Prohászka Z., Sing M., Nagy K., Kiss E., Lakos G., Duba J., Füst G. Heat shock protein 70 is a potent activator of the human complement system. *Cell Stress Chaperones*. 2002;7:17–22.
50. Srivastava P.K. Heat shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol*. 2002;2:185–194.
51. Cutler C.W., Jotwani R. Dendritic cells at the oral mucosal interface. *J. Dent. Res*. 2006;85:678–689.
52. Ito H., Takekoshi T., Miyauchi M., Ogawa I., Takata T., Nikai H., Takemoto K. Three-dimensional appearance of Langerhans cells in human gingival epithelium as revealed by confocal laser scanning microscopy. *Arch. Oral Biol*. 1998;43:741–744.
53. Johnson A.D., Tytell M. Exogenous Hsp70 becomes cell associated, but not internalized by stressed arterial smooth muscle cells. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim*. 1993;29:807–812.
54. Guzhova I., Kislyakova K., Moskaliyeva O., Fridlanskaya I., Tytell M., Cheatham M., Margulis B. In vitro studies show that Hsp70 can be released by glia and that exogenous Hsp70 can enhance neuronal stress tolerance. *Brain Res*. 2001;914:66–73.
55. Boulanger J., Faulds D., Eddy E.M., Lingwood C.A. Members of the 70 kDa heat shock protein family specifically recognize sulfoglycolipids: Role in gameterecognition and mycoplasma-related infertility. *J. Cell. Physiol*. 1995;165:7–17.
56. Guzhova I.V., Arnoldt A.C., Darieva Z.A., Kinev A.V., Lauskaia E.B., Nilsson K., Bozhkov V.M., Voronin A.P., Margulis B.A. Effects of exogenous stress protein 70 on the functional properties of human promonocytes through binding to cell surface and internalization. *Cell Stress Chaperones*. 1998;3:67–77.
57. Asea A., Kraeft S.K., Kurt-Jones E.A., Stevenson M.A., Chen L.B., Finberg R.W., Koo G.C., Calderwood S.K. Hsp70 stimulates cytokine production through a CD14-dependent pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nat. Med*. 2000;6:435–442.
58. Asea A., Rehli M., Kabling E., Boch J.A., Bare O., Auron P.E., Stevenson M.A., Calderwood S.K. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: Role of toll like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J. Biol. Chem*. 2002;277:15028–15034.
59. Li X.S., Reddy M.S., Baev D., Edgerton M. *Candida albicans* Ssa1/2p is the cell envelope binding protein for human salivary histatin 5. *J. Biol. Chem*. 2003;278:28553–28561.
60. Li X.S., Sun J.N., Okamoto-Shibayama K., Edgerton M. *Candida albicans* cell wall Ssa proteins bind and facilitate import of salivary Histatin 5 required for toxicity. *J. Biol. Chem*. 2006;281:22453–22463.
61. Wiesner J., Vilcinskas A. Antimicrobial peptides. The ancient arm of the human immune system. *Virulence*. 2010;1:440–464.
62. Diamond D.L., Kimball J.R., Krisanaprakornkit S., Ganz T., Dale B.A. Detection of beta-defensins secreted by human oral epithelial cells. *J. Immunol. Methods*. 2011;256:65–76.
63. Brodgen K.A. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol*. 2005;3:238–250.
64. Jenssen H., Hamill P., Hancock R.E. Peptide antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*. 2006;19:491–511.
65. Johnson D.A., Yeh C.K., Dodds M.W.J. Effect of donor age on the concentration of histatins in human parotid and submandibular/sublingual saliva. *Arch. Oral Biol*. 2000;45:731–740.
66. Oudhoff M.J., Bolscher J.G., Nazmi K., Kalay H., van't Hof W., Nieuw Amerongen A.V., Veerman E.C.I. Histatins are the major wound-closure stimulating factors in human saliva as identified in cell culture assay. *FASEB J*. 2008;22:3805–3812.
67. Grogan J., McKnight C.J., Troxler R.F., Oppenheim F.G. Zinc and copper bind to unique sites of histatin 5. *FEBS Lett*. 2001;491:76–80.
68. Gusman H., Travis J., Helmerhorst E.J., Potempa J., Troxler R.F., Oppenheim F.G. Salivary histatin 5 is an inhibitor of both host and bacterial enzymes implicated in periodontal disease. *Infect. Immun*. 2001;69:1402–1408.
69. Nishikata M., Kanehira T., Oh H., Tani H., Tazaki M., Kuboki Y. Salivary hystatin as an inhibitor of protease produced by the oral bacterium *Bacteroides gingivalis*. *Biochem. Biophys. Res. Comm*. 1991;174:625–630.
70. Shimotoyodome A., Kobayashi H., Tokimitsu I., Matsukoba T. Statherin and histatin 1 reduce parotid saliva promoted *Streptococcus mutans* strain MT8148 adhesion to hydroxyapatite surfaces. *Caries. Res*. 2006;40:403–411.
71. Bennick A. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit. Rev. Oral Biol. Med*. 2002;13:184–196.
72. Van der Kraan M.I., Groenink J., Nazmi K., Veerman E.C., Bolscher J.G., Nieuw Amerongen A.V. Lactoferrampin: A novel antimicrobial peptide in the N-1-domain of bovine lactoferrin. *Peptides*. 2004;25:177–183.
73. Bolscher J.G., Adao R., Nazmi K., van der Keybus P.A., van't Hof W., Nieuw Amerongen A.V., Bastos M., Veerman E.C.I. Bactericidal activity of LFchimera is stronger and less sensitive to ionic strength than its constituent lactoferricin and lactoferrampin peptides. *Biochimie*. 2009;91:123–132.
74. Välimaa H., Tenovuo J., Waris M., Hukkanen V. Human lactoferrin but not lysozyme neutralizes HSV-I and inhibits HSV-I replication and cell-to-cell spread. *Virology*. 2009;6:53.
75. Boman H.G. Antibacterial peptides: Basic facts and emerging concepts. *J. Intern. Med*. 2003;254:197–215.
76. Heilborn J.D., Nilsson M.F., Kratz G., Weber G., Sorensen O., Borregaard N., Stale-Backdahl M. The cathelicidin anti-microbial peptide LL-37 is involved in re-epithelialization of human skin wounds and is lacking in chronic ulcer epithelium. *J. Invest. Dermatol*. 2003;120:379–389.
77. Moreau T., Baranger K., Dadé S., Dallet-Choisy S., Guyot N., Zani M.L. Multifaceted roles of human elafin and secretory leukocyte proteinase inhibitor (SLPI), two serine protease inhibitors of the chelonianin family. *Biochimie*. 2008;90:284–295.
78. Jana N.K., Gray L.R., Shugars D.C. Human immunodeficiency virus type 1 stimulates the expression and production of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in oral epithelial cells: A role of SLPI in innate mucosal immunity. *J. Virol*. 2005;79:6432–6440.
79. Williams S.E., Brown T.I., Roghanian A., Sallenave J.-M. SLPI and elafin: One glove, many fingers. *Clin. Sci*. 2006;110:21–35.
80. Gröschl M., Wendler O., Topf H.-G., Bohlender J., Köhler H. Significance of salivary adrenomedullin in the maintenance of oral health: Stimulation of oral cell proliferation and antibacterial properties. *Regul. Peptides*. 2009;154:16–22.
81. Kapas S., Bansal A., Bhargava V., Maher R., Malli D., Hagi-Pavli E., Allaker R.P. Adrenomedullin expression in pathogen-challenged oral epithelial cells. *Peptides*. 2001;22:1485–1489.
82. Allaker R.P., Kapas S. Adrenomedullin and mucosal defense: Interaction between host and microorganism. *Regul. Peptides*. 2003;112:147–152.
83. Allaker R.P., Grosvenor P.W., McAnerney D.C., Sheehan B.E., Srikanta B.H., Pell K., Kapas S. Mechanisms of adrenomedullin antimicrobial action. *Peptides*. 2006;27:661–666.
84. Veerman E.C., van den Keybus P.A., Vissink A., Nieuw Amerongen A.V. Human glandular salivas: Their separate collection and analysis. *Eur. J. Oral Sci*. 1996;104:346–352.

85. Laible N.J., Germaine G.R. Bactericidal activity of human lysozyme, muramidase-inactive lysozyme and cationic polypeptides against *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus faecalis*: Inhibition by chitin oligosaccharides. *Infect. Immun.* 1985;48:720–728. [PMC free article] [PubMed]
86. Ibrahim H.R., Thomas U., Pellegrini A. A helix-loop-helix peptide at the upper lip of the active site cleft of lysozyme confers potent antimicrobial activity with membrane permabilization action. *J. Biol. Chem.* 2001;276:43767–43774.
87. Marquis G., Garzon S., Strykowski H., Auger P. Cell walls of normal and lysozyme-damaged blastoconidia of *Candida albicans*: Localization of surface factor 4 antigen and vicinal-glycol staining. *Infect. Immun.* 1991;59:1312–1318.
88. Lee-Huang S., Huang P.L., Sun Y., Huang P.L., Kung H.-F., Blithe D.L., Chen H.-C. Lysozyme and RNases as anti-HIV components in β -core preparations of human chorionic gonadotropin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999;96:2678–2681.
89. Sava G., Benetti A., Ceschia V., Pacor S. Lysozyme and cancer: Role of exogenous lysozyme as anticancer agent (review) *Anticancer Res.* 1989;9:583–591.
90. Choi S., Baik J.E., Jeon J.H., Cho K., Seo D.-G., Kum K.-Y., Yun C.-H., Han S.H. Identification of Porphiromonas gingivalis lipopolysaccharide-binding proteins in human saliva. *Mol. Immunol.* 2011;48:2207–2213.
91. Gasiór-Chrzan B., Falk E.S. Lysozyme and IgA concentrations in serum and saliva from psoriatic patients. *Acta Derm. Venereol. (Stockh.)* 1992;72:138–140.

Сведения об авторах:

Карпук Иван Юрьевич – докторант кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК «УО» ВГМУ, к.м.н, доцент.

Контакты: 210029, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. Правды, д. 66, кв. 112., тел. раб.: +375 212 22-53-80, тел. моб.: +375 29 711-97-36, e-mail: ikarpuk@mail.ru, Карпук Иван Юрьевич.

Поступила 25.11.2014 г.