

УДК: 613.84:612.396.31

## ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛАЗЫ СЛЮНЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ

Невзорова М.С., Высотин С.А., Сайфитова А.Т.

ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, России

Специальность 14.03.10

Цель исследования – установить влияние хлорида натрия в различных концентрациях на активность амилазы слюны у курящих и не курящих студентов. Для исследований были отобраны образцы слюны у 16 студентов, половина которых курит, другая половина не курит. Применялся амилотластический метод, при котором каждый образец слюны был разведен в 50 раз и по 1 мл добавлен в пять пробирок, в каждую из которых добавили по две капли раствора NaCl в концентрациях: 0,9%, 1%, 5,5%, 10% и 20% соответственно. Затем добавили 5 капель 1% раствора крахмала и через 2 минуты по 1 капли раствора йода и перемешали. После этого произвели оценку полученных данных. В результате проведенного исследования, было установлено, что хлорид натрия является активатором амилазы слюны. Различные концентрации поваренной соли по-разному влияют на активность гидролитического фермента – амилазы, при этом увеличение концентрации соли в растворе усиливает ферментативную активность амилазы. Было доказано, что никотин и табачный дым снижают активность амилазы, и как следствие могут являться причинами нарушения работы пищеварительной системы и полости рта. Определение активности  $\alpha$ -амилазы в ротовой жидкости можно использовать для лабораторного мониторинга нарушений состояния полости рта курильщиков и оценки эффективности профилактических мероприятий.

Ключевые слова: пищеварение, амилаза слюны, крахмал, катализатор.

## INFLUENCE OF SODIUM CHLORIDUM ON ACTIVITY OF PTYALIN DEPENDING ON CONCENTRATION

Nevzorova M.S., Vysotin S.A., Sayfitova A.T.

E.A. Wagner Perm State Medical University, Perm

Research objective – to establish influence of Sodium chloridum in various concentration on activity of ptyalin at smokers and not smoking students. For researches saliva exemplars were taken away from 16 students whose half smokes, other half doesn't smoke. The amiloklastichesky method at which each exemplar of saliva was divorced by 50 times was applied and on 1 ml it is added to five test tubes, added two drops of NaCl solution in concentration to each of which: 0.9%, 1%, 5.5%, 10% and 20% respectively. Then added 5 drops of 1% of solution of Amylum and in 2 minutes on 1 drops of solution of an iodine and mixed. After that made assessment of the obtained data. As a result of the conducted research, it was established that Sodium chloridum is the ptyalin activator. Various concentration of sodium chloride differently affect activity of hydrolase – an amylase, at the same time increase in concentration of salt in solution enhances enzymatic activity of an amylase. It was proved that nicotine and tobacco smoke reduce activity of an amylase, and as a result can be causes of infringement of work of the alimentary system and an oral cavity. Determination of activity of a  $\alpha$ -amylase in oral liquid can be used for laboratory monitoring of violations of a condition of an oral cavity of smokers and assessment of effectiveness of preventive actions.

Keywords: digestion, ptyalin, starch, catalyst.

Проблема сохранения здоровья населения в условиях современного общества с присущими ему особенностями социально-экономического, научно-технического развития - это проблема первостепенного значения. Ухудшение состояния здоровья подрастающего поколения и населения в целом обусловлено низкой потребностью в здоровом образе жизни, отсутствием практического опыта, а также снижением позиций профилактической медицины. Современный человек постоянно подвергается воздействию стресса, плохой экологии, вредных привычек, неправильным питанием. Окружающая среда прямо и косвенно влияет на здоровье человека. Нормально функционировать организм может лишь в заданном размахе значений различных параметров как внешней, так и внутренней среды. Чем ближе значение таких параметров к оптимальным значениям, тем меньше энергии затрачивается организмом для поддержания жизненных процессов. В основе всех жизненных процессов лежат тысячи химических и физических реакций. Они происходят в организме без применения дополнительных условий: высокой температуры и давления, в так называемых - мягких условиях. Для получения энергии в организме человека и животных, постоянно идут процессы анаболизма и катаболизма, одни вещества сгорают быстро и эффективно обогащая организм энергией, другие же наоборот используются как строительный материал. Возможность быстрого перегрева продуктов в живом организме осуществляется благодаря присутствию в клетках особых биологических катализаторов, так называемых - ферментов.

Ферменты - это обширная группа катализаторов белковой природы, ускоряющие протекание химических реакций и играющие колоссальную роль в жизнедеятельности животных, растений и микроорганизмов. Суммируя, широкое разнообразие саморегулируемых биологических процессов, реакции преобразования вещества составляет материальную и энергетическую основу непрерывного процесса создания и разрушения белковых тел, то есть самой сущности жизни. Большинство ферментов обладают весьма высокой специфичностью действия по отношению к определенным веществам, или определенным типам химических связей. Так, амилаза слюны расщепляет гликозидную связь между 1-м и 4-м атомами углерода крахмала, но не действует на другой полисахарид - целлюлозу. В своем строении  $\alpha$ -амилаза имеет ион кальция, который не только активирует молекулу, но и предохраняет от потери активности и гидролиза при действии протеолитических ферментов. Для взаимодействия молекул фермента и субстрата, на который воздействует фермент, необходимо участие неорганических ионов, они выступают в роли активаторов ферментов.

Для работы и поддержания общего состояния организма необходима энергия, которую мы получаем из пищи. Главный источник энергии в рационе питания человека являются углеводы, поэтому процесс переваривания и расщепления углеводов является жизненно необходимым. При анализе рациона питания, можно заметить, что еда современного человека слишком насыщена крахмалистыми веществами. Усваивание пищевых полисахаридов начинается с их гидролитического расщепления до моносахаридов. Расщепления углеводов идет под действием гидролитических ферментов, так называемых гликозидаз. Расщепления крахмала начинается в полости рта под действием  $\alpha$ -амилазы слюны. Хорошо измельченная пища, обильно пропитанная слюной, благодаря этому легко переваривается и усваивается; от активности ферментов слюны зависит и здоровье всего пищеварительного тракта, а также качество дальнейшей переработки пищи. Нарушение ферментативной активности слюны ведет к нарушению углеводного обмена и, как следствие, снижению активности функции печени.

Слюна представляет собой прозрачную жидкость, выделяющуюся в ротовую полость тремя парами крупных слюнных желез и множеством мелких. Слюна смачивает полость рта, обеспечивает восприятие вкусовых ощущений, обволакивает и склеивает размельченную пищу, формируя пищевой комок, что способствует глотанию. Помимо этого, слюна очищает ротовую полость, обладает бактерицидным действием, предупреждает повреждение зубной ткани. Состав представлен водой, в преобладающем количестве, муцином, ферментами  $\alpha$ -амилазой, мальтозой, различные микроэлементами, катионами некоторых металлов, витаминами и другие ферментами.

Крахмал является одним из самых распространенных запасующих полисахаридов растений. Активно образуется в результате фотосинтеза, накапливается и откладывается в семенах, клубнях и других частях растений, используемых в пищу человеком. При кислотном гидролизе крахмал распадается с образованием глюкозы. Известно, что остатки глюкозы являются структурными компонентами молекулы крахмала. Вместе с тем процесс гидролиза в присутствии специфического фермента, ускоряющего гидролитического распада крахмала, приводит к образованию дисахарида мальтозы, при этом она не считается структурным компонентом молекулы крахмала. Природный крахмал состоит из двух фракций, отличающихся по своему строению и свойствам. Примерно пятая часть составляет амилоза, остальное приходится на амилопектин. Название фракций отражает некоторые свойства веществ. Амилопектин с трудом растворяется в горячей воде, при этом образуется вязкий крахмальный клейстер и при дальнейшем охлаждении застывает в студнеобразную массу. Амилоза наоборот, хорошо растворима в теплой воде и не образует клейстера. Обе

фракции крахмала дают окрашивание с раствором йода в йодистом калии, однако амилаза окрашивается в чисто синий цвет, а амилопектин – в фиолетовый.

Активность ферментов слюны главным образом зависит от кислотности среды, на которую наибольшее влияние оказывает табачный дым. Табакокурение приобрело среди населения нашей страны характер настоящей эпидемии. Оно все увереннее выходит на одно из первых мест в списке проблем, стоящих перед российским обществом, и создает серьезную угрозу здоровью населения. С годами табакокурение для многих людей становится токсикоманией. Табачная зависимость — хроническое заболевание, которое имеет законное гражданство в «Международной статистической классификации болезней, травм и причин смерти». Группу риска по приобщению к вредным привычкам составляют дети и подростки в возрастной категории от 11 до 15 лет [9]. Однако, несмотря на серьезность данной угрозы, общество по-прежнему относится к курению и злоупотреблению алкоголем, как к социально приемлемым привычкам. При этом злоупотребление алкоголем и табака, помимо выраженного негативного влияния на состояние здоровья человека, является серьезным основанием для перехода к наркотикам, так как у детей первые пробы наркотиков, как правило, происходят на фоне потребления алкогольных напитков и табакокурения [1]. Органы и ткани полости рта, а также смешанная слюна являются местом первичного контакта организма курильщика с токсичными и канцерогенными веществами, которые входят в состав табачного дыма. Физико-химические и биохимические нарушения смешанной слюны могут отражать изменения в тканях и органах, как в полости рта, так и организма в целом. Исследование слюны является важным не инвазивным методом оценки общего состояния организма, а также органов полости рта и слюнных желез [3,5,6].

Существует несколько методик для определения активности  $\alpha$ -амилазы в биологических жидкостях, которые можно разделить на четыре основных группы. Редуктометрические (сахарифицирующие), основанные на исследовании образующихся из крахмала сахаров по редуцирующему действию глюкозы и мальтозы. Амилокластические, основанные на определении количества остатка нерасщепленного крахмала: по степени интенсивности его реакции с йодом, эти методы более чувствительны и специфичны, или по вязкости суспензии крахмала. Хромолитические, основанные на использовании комплексов субстрат – краситель, которые под действием  $\alpha$ -амилазы распадаются с образованием водорастворимого красителя. А так же методы, основанные на сопряженных ферментных реакциях, в которых активность фермента устанавливается по скорости накопления НАДФН.

**Цель исследования** – установить влияние хлорида натрия различных концентраций на активность амилазы слюны у курящих и не курящих студентов.

## Материал и методы.

Работа выполнена с соблюдением этических принципов проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов, изложенных в Хельсинской декларации Всемирной Организации Здравоохранения. Все обследованные подписали информированное согласие на проведение исследования и обработку персональных данных. Для исследований были отобраны образцы слюны у 16 студентов, половина которых курит, другая половина не курит. Для определения активности  $\alpha$ -амилазы слюны мы использовали амилокластический метод, основанный на оценке степени интенсивности реакции нерасщепленного крахмала с йодом. Каждый образец слюны был разведен в 50 раз и по 1 мл добавлен в пять пробирок, в каждую из которых добавили по две капли раствора NaCl с концентрациями: 0,9%, 1%, 5,5%, 10% и 20% соответственно. Затем добавили 5 капель 1% раствора крахмала и через 2 минуты, при экспозиции комнатной температуры, по 1 капле раствора йода и перемешали. После этого производили оценку результатов.

## Результаты исследований и их обсуждения.

Под действием амилазы крахмал гидролизуетсся с образованием продуктов не дающих цветной реакции с йодом. Интенсивность уменьшения окраски йод-крахмального комплекса в единицу времени прямо пропорциональна активности данного фермента. Данный метод оценки активности  $\alpha$ -амилазы не требует токсичных реактивов, является недорогостоящим и простым в исполнении, может использоваться как скрининговый метод у людей, подвергающихся различным факторам риска: курение, токсическое действие профессиональных вредностей, частое употребление ксенобиотиков, проживание в неблагоприятных условиях среды [3]. Данные факторы риска, в частности табачный дым, снижают активность  $\alpha$ -амилазы (таблица 1) [5]. Поскольку известно, что это многообразие факторов оказывает влияние на микробиоценоз ротовой жидкости, что приводит к формированию заболеваний ротовой полости (стоматиты, гингивиты, пародонтоз и даже рак гортани, языка) [2,4,7,8].

*Таблица 1. Зависимость активности амилазы слюны от концентрации NaCl в еде у курящих и некурящих людей.*

| № опыта          | 0,9%         | 1%           | 5,5%         | 10%          | 20%          |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Некурящие</b> |              |              |              |              |              |
| 1                | Светло-синий | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   |
| 2                | Светло-синий | Бесцветный   | Светло-синий | Светло-синий | Светло-синий |
| 3                | Бесцветный   | Светло-синий | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   |

|                |              |              |              |              |              |
|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 4              | Синий        | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   |
| 5              | Бесцветный   | Светло-синий | Светло-синий | Светло-синий | Бесцветный   |
| 6              | Светло-синий | Синий        | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   |
| 7              | Светло-синий | Светло-синий | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   |
| 8              | Светло-синий | Светло-синий | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   |
| <b>Курящие</b> |              |              |              |              |              |
| 9              | Темно-синий  | Синий        | Темно-синий  | Светло-синий | Темно-синий  |
| 10             | Темно-синий  | Синий        | Темно-синий  | Светло-синий | Бесцветный   |
| 11             | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   |
| 12             | Темно-синий  | Светло-синий | Темно-синий  | Темно-синий  | Светло-синий |
| 13             | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   | Бесцветный   |
| 14             | Темно-синий  | Темно-синий  | Темно-синий  | Светло-синий | Светло-синий |
| 15             | Синий        | Темно-синий  | Бесцветный   | Светло-синий | Светло-синий |
| 16             | Темно-синий  | Синий        | Светло-синий | Бесцветный   | Бесцветный   |

Полученные данные показывают, что при физиологической концентрации раствора поваренной соли у некурящих студентов,  $\alpha$ -амилаза слюны практически полностью справляется со своей прямой функцией – расщепление молекул крахмала. Затем с повышением концентрации соли резко возрастает активность фермента, что ведёт к полному расщеплению сложных углеводов. Аналогичная, но более выраженная реакция наблюдается у курящих студентов. При физиологической концентрации раствора соли, мы видим значительно меньшую активность  $\alpha$ -амилазы, так как цвет значительно выражен. С повышением концентрации хлорида натрия наблюдается повышение активности  $\alpha$ -амилазы, но менее выраженное повышение свидетельствует о значительном дисбалансе состава слюны у курящих студентов.

Интенсивность окраски образцов курительщиков говорит о том, что расщепление крахмала не произошло, а это значит, что никотин угнетающе действует на активность амилазы. В то время обесцвечивание образцов происходит с увеличением концентрации раствора хлорида натрия, что доказывает влияние поваренной соли на активность амилазы слюны, способствует образованию активного центра. При вдыхании смолы сигаретного дыма развивается нарушение метаболических процессов не только на уровне организма, но и в полости рта. Ионы хлора являются кофакторами активности  $\alpha$ -амилазы, при повышении концентрации этих ионов значение рН понижается, что свидетельствует о повышении кислотность ротовой жидкости.

## **Выводы.**

Таким образом, хлорид натрия является активатором амилазы слюны. Различные концентрации поваренной соли по-разному влияют на активность гидролитического фермента – амилазы слюны, при этом увеличение концентрации соли в растворе усиливает ферментативную активность амилазы. Было доказано, что никотин и табачный дым угнетающе действуют на активность амилазы, и как следствие могут являться причинами нарушения работы полости рта, в результате которого нарушается работа всей пищеварительной системы. Вследствие нарушения работы ферментных систем слюны могут развиваться различные заболевания: пародонтит, кариес, стоматит, гингивит, вплоть до рака гортани и языка.

Определение активности  $\alpha$ -амилазы в ротовой жидкости может быть использовано для лабораторного мониторинга нарушений состояния полости рта курильщиков и оценки эффективности профилактических мероприятий. Необходимо разработать четкие критерии оценки получаемых данных, для точной скрининговой диагностики состояния полости рта. Помимо этого, необходимо проводить работу в направлении повышения информированности общества, воспитания понимания значимости табакокурения, не просто вредного воздействия на органы дыхания, но и пищеварительную систему, обмена основных питательных веществ и опасности развития рака. Одним из важнейших факторов сохранения полноценного здоровья можно выделить пропаганду ЗОЖ и правила поведения для сохранения личного здоровья каждого человека, а так же введения профилактических мероприятий.

## **Список литературы.**

1. Багнетова Е.А. Влияние семейных факторов на образ жизни и здоровье и старшеклассников //Социологические исследования.-2011 – №8.– С.139-142
2. Булкина Н.В., Бородулин В.Б., Осипова Ю.Л. и соавт. Биохимические изменения в слюне больных хроническим генерализованным пародонтитом под влиянием комбинированного действия бегущего переменного магнитного поля и лазерного излучения//Саратовский научно-медицинский журнал.-2009.-Т.5.-№3.-С.390-393
3. Грачёва Н.В., Базарный В.В., Мачульская Д.В. Стаж курения и биохимические показатели смешанной слюны//Российская стоматология.-2011.-№3.-С.4-6
4. Махмудов Т.Г., Керимова Г.Э., Ибрагимова Л.К. Частота заболеваний пародонта и биохимические показатели смешанной слюны у больных диффузным токсическим зобом//Пародонтология.-2009.-№2(51).-С.11-13

5. Оксюзян А.В., Масальцева О.Г., Фатхтдинов Р.Ф. Влияние табачного дыма на активность альфа-амилазы слюны//Сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции.-2010.-Т.15.-№2.-С.45-46
6. Реут К.Д., Мурашинко Д.И. Изучение влияния табачного дыма на активность амилазы слюны//Российская стоматология.-2011.-№3.-С.186
7. Совцова К.Э., Бородулин В.Б., Бельская Клинико-биохимические показатели ротовой жидкости у больных пародонтитом//Вестник РУДН. Серия: Мкдицина.-2008.-№8.-С.162-166
8. Суханова Г.А., Мусабаева Л.И., Кувшинов Н.Н. Гидролитические ферменты слюны в оценке состояния онкологических больных//Вестник науки Сибири.-2014.-№4(14).-С.282-285
9. Уточкин Ю.А., Высотин С.А., Сайфитова А.Т. Оценка информированности о вреде психоактивных веществ и распространенности их потребления среди старшеклассников города Перми//Международный студенческий научный вестник.-2019.-№1