Локота Е.Ю., Локота Ю.Е., Вончок Р.В., Кухарчук Л.И., Локоы М I , Мпинр Л И, 1кчрн Л.В. Ужгородский национальный университет, Ужюрод, Украина

Lokota Е., Lokota Yu., Vovchok R., Kukharchuk L., Lokota М., Malyar A., Negrya A.

Uzhhorod National University, Uzhhorod, Ukraine

Формирование биопленок на протезном ложе пациентов со съемными ортопедическими конструкциями

Formation of biofilms on the prosthetic bed of patients with removable orthopedic constructions

 Резюме ——

Микробном - это совокупность всех микроорганизмов с их особенностями и взаимосвязя­ми, населяющих организм человека. В ротовой полости находится второй по количеству и раз­нообразию микроорганизмов микробиом, который включает в себя более 700 видов бакте­рий. Оральный микробиом является уникальным для каждого индивидуума. Колонизация ро­товой полости микробными биопленками возрастает при использовании съемных протезов. Биопленка - это трехмерное скопление микроорганизмов, которые прикреплены к поверх­ности или друг к другу, погруженных в матрикс (экстрацеллюлярные полимерные веще­ства) и демонстрирующих изменение фенотипа, то есть параметры роста и экспрессии ге­нов. При формировании биопленок на протезном ложе пациентов со съемными ортопеди­ческими конструкциями в слюне определяется высокий уровень таких микроорганизмов, как Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Streptococcus mutans, Streptococcus pyogenes, Helicobacter pylori, Candida albicans, Escherichia coli; и таких вирусов, как вирус герпеса, вирус папилломы человека и др. Инфекция, вызванная биопленками, редко может быть устранена иммунной системой хозяина: бактерии выделяют антигены, стимулируют продукцию антител и приобретают устойчивость к защитным меха­низмам. Даже у практически здоровых людей иммунная система не способна противостоять инфекциям, ассоциированным с биопленками. Данная статья обосновывает необходимость дальнейшего изучения орального микробиома и формирования биопленок для понимания этиологии и патогенеза воспалительных процессов в ротовой полости, ведь изучив их в со­вершенстве, мы сможем прицельно проводить лечебные мероприятия, разрывая сложные цепочки жизнедеятельности и взаимоотношений микроорганизмов.

**Ключевые слова:** ортопедическая стоматология, протезирование, полные протезы, биоплен­ки, микробиология, оральный микробиом.

 Abstract —

Microbiome is a complex of all microorganisms with their peculiarities and interrelations that inhabit the human body.The human oral cavity contains a number of different habitats, including the teeth, gingival sulcus, tongue, cheeks, hard and soft palates, and tonsils that are colonized by bacteria. The oral microbiome is comprised of over 700 prevalent taxa at the species level, with distinct subsets…

* ВВЕДЕНИЕ

Для улучшения качества лечения важным аспектом в работе врача- I тматолога является четкая оценка процессов, происходящих в ротовой полости. Долгое время микробиология и иммунология широко не применялась в клинической работе, однако с внедрением в биологию и медицину инновационных методов исследования - на молекулярном уровне, ученые добились значительных достижений в изучении подсистемы человеческого организма, которая получила название микроби­ом |8, 23].

В данной статье собраны материалы, на основе которых были проведены исследования, обосновывающие необходимость дальнейшего изучения биопленок для понимания этиологии и патогенеза процессов в ротовой полости пациентов, пользующихся съемными ортопедическими конструкциями.

В Течение последних 120 лет исследователи-стоматологи пытались понять микробную природу болезней ротовой полости. Их взгляды на зубную бляшку и составляющие ее микроорганизмы менялись от ги­потез о специфичности бляшки к предположениям об ее неспецифичности и снова возвращались к теории о наличии специфических пародонтальных патогенов в бляшке. Изменения во взглядах на бляшку и образующие ее микроорганизмы влияют на стратегию профилактики заболеваний пародонта и контроля за ними. Со временем ученые ста­ли рассматривать зубную бляшку как биопленку [21]. Такое изменение взгляда на микробный состав зубной бляшки, ротовой жидкости и ми­кробную колонизацию ротовой полости оказывается важной основой будущей стратегии профилактики и лечения.

Исследования биопленок улучшили технику лечения в стоматоло­гии и микробиологии. Полученные данные позволили детально изучить патогенез воспалительный заболеваний в ротовой полости. Научные исследования показали, что более 80% инфекционных воспалительных процессов вызваны микробной биопленкой

• ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Повысить эффективность ортопедического лечения пациентов, пользующихся съемными протезами. Исследовать роль биопленок в этиологии заболеваний тканей ротовой полости и тем самым уменьшить риск возникновения непосредственных и отдаленных осложнений.

* РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Микробном - это совокупность всех микроорганизмов с их особен­ностями и взаимосвязями, населяющих организм человека [10]. В рото­вой полости находится второй по количеству и разнообразию микро­организмов микробиом, который включает в себя более 700 видов бактерий [19].

Оральный микробиом является уникальным для каждого пациента. В ротовой полости имеются достаточное количество влаги и благопри­ятный температурный режим, обогащенный питательными веществами (белки, гликопротеины слюны), которые создают оптимальные условия для колонизации. Лучше всего для этого подходят поверхности зубов, зубные фиссуры, десневые борозды, десны, язык, щеки, твердое и мяг­кое небо, губы [9]. При этом только 20-25% микроорганизмов находятся на поверхности зубов, другие - на слизистой оболочке полости рта [4].

Биопленка - это трехмерное скопление микроорганизмов, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, погруженных в матрикс (экстрацеллюлярные полимерные вещества) и показывающих измене­ния фенотипа, то есть рост и экспрессии генов [15]. Внутри биоплен­ки создаются оптимальные условия взаимодействия между микро­организмами - близкий контакт резко усиливает обмен генетической информацией.

На сегодня выделяют пять основных стадий развития биопленки:

1. Стадия адгезии - первичная седиментация и крепления клеток к субстрату [17].
2. Стадия фиксации - формирование прикрепленными клетками диф­фузного слоя на поверхности субстрата, начало структурно-функци­ональных перестроек.
3. Стадия микроколоний - агрегация клеток и формирование основ­ных структурно-функциональных единиц биопленки, запуск меха­низмов биосинтеза матрикса.
4. Стадия зрелой биопленки - формирование соответствующей струк­туры, реализация процессов межклеточной коммуникации и др.
5. Стадия распада - деградация матрикса биопленки, гибель клеток или переход их на автономное существование [9].

Биопленки - это высокоорганизованные бактериальные ассоциа­ции, образованные бактериями одного или нескольких видов, которые могут быть как активными, так и находиться в состоянии покоя. Сейчас известно, что бактериальные клетки, которые являются элементом био­пленки, подлежат структурным изменениям для надежного прикрепле­ния к поверхности, имеют разнообразную функциональную активность».

Колонизация ротовой полости микробными биопленками возрастает при использованиее сьемных протезов. Это происходит в связи с нали­чием зон, очистка которых затруднена, и вследствие этого накапливаются остатки пищи. Поэтому протезы, как и естественные зубы, нуждаются в постоянном уходе не только с использованием обычных средств для чистки зубов, но и с помощью специальных средств дезинфекции и удаления микробных биопленок. Отсутствие соответствующего гигиенического ухода за протезами и полостью рта нередко вызывает воспаление слизистой оболочки под протезом и прилегающих к нему тканей - протезный стоматит [5]. По данным англоязычных изда­нии, биопленки, которые образуются на зубных протезах у пациентов со стоматитами, в основном были бактериальной природы. Белки ротовой жидкости на поверхности слизистой оболочки полости рта и съемных ортопедических конструкций играют роль специфических рецепторов для условно-патогенных микроорганизмов.

Ортопедическое лечение пациентов с полным отсутствием зубов является важным направлением в работе ученых и врачей-стоматологов учитывая, что уровень потребности населения в съемном протезировании достаточно высок - 76%, а у пожилых людей достигает почти 100%. По другим данным, среди всех пациентов, обращающихся за ортопедической помощью, более 60% требуют изготовления съемных протезов [25].

Несмотря на это недостаточно разработанным можно считать про­филактическое направление, а именно обеспечение оптимального уровня гигиены полости рта у пациентов с дефектами зубных рядов [2]. Ортопедическое лечение должно рассматриваться не только как метод | оррекции и восстановления анатомической формы и функции жевательного аппарата, но и как средство, которое может предупредить развитие патологических процессов в полости рта и нарушение функ­ции других органов. В клинике ортопедической стоматологии важную роль отводят профилактике осложнений со стороны тканей протезного ложа, возникающих при недостаточной гигиене полости рта [5].

Адгезия микробных биопленок к слизистой оболочке рта и съемного протеза усиливается под действием благоприятных условий ротовой полости (температура, pH, концентрация углеводов, белков, липидов). Также токсическое воздействие различных видов базиса протеза на слизистую оболочку усиливает адгезию патогенных микроорганизмов [12]. Взаимодействие между бактериальной клеткой и поверхностью проис­ходит с помощью физических, химических и биологических процессов. На абиотических поверхностях взаимодействие бактериальных клеток с поверхностью происходите помощью сил Ван-дер-Ваальса, электростатических и гидрофобных связей, в то время как адгезия к биотической поверхности осуществляется посредством не физических и химических взаимодействий, а с помощью специфического молекулярного взаимо­действия [13]. Формирование микробной биопленки на биотических поверхностях зависит не только от природы прикрепления к поверх­ности, но также и от характеристики бактериальной клетки и факторов окружающей среды [19]. Совместное существование микроорганизмов позволяет использовать индивидуальную способно! и. дли выживания всего бактериального общества.

Основной клинической проблемой является устойчивость бактерий биопленки к антибактериальным препаратам. Формирование мукополисахаридного матрикса препятствует проникновению биоцидов к бактериям, стандартные пероральные дозы антибиотиков могут оказаться неэффективными. Антибиотики, как правило, имеют большую молекулярную массу, что затрудняет их попадание к бактериям, более того, затруднено проникновение антител и фагоцитов [3]. В биопленке осуществляется передача генов, что формирует перекрестную устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Большинство микробных клеток в условиях биопленки не получают достаточного количества питательных веществ и кислорода, а это вызывает метаболический сон или, другими словами, гибернацию, что приводит к низкой эффективности антибиотиков.

Доказанную резистентность биопленки к антибиотикам связывают с тремя факторами:

1.Возможность экстрацеллюлярного матрикса приостанавливать проникновения антибиотика.

2.Изменение микроорганизмов на генном уровне.

3.Активизируется распространение клеток с замедленным ростом и ограниченным питанием [14,16].

Научно доказано, что бактерии, содержащиеся в биопленке, в 1000 раз более устойчивы к действию антибиотиков, чем планктонные формы. Есть данные о несостоятельности местной и системной антибиотикотерапии при заболеваниях тканей ротовой полости. Инфекция, вызванная биопленками, редко может быть устранена иммунной системой хозяина: бактерии выделяют антигены, стимулируют продукцию антител и приобретают устойчивость к защитным механизмам. Даже у практически здоровых людей иммунная система не способна противостоять инфекциям, ассоциированным с биопленками [18]. В современном мире пока не существует средств, обеспечивающих полное и окончательное удаление биопленки со съемного протеза и из полости рта. Однако патогенность можно значительно уменьшить нарушением целостности структуры и восстановлением микрофлоры при применении профессиональных средств и мер, применяемых в стоматологии. Данная статья содержит обзор литературы, посвященный современным представлениям о биопленках в ортопедической стоматологии, их развитию и связям, их значению в патогенезе заболеваний ротовой полости и основным методам их устранения. Также в статье обоснована необходимость дальнейшего изучения биопленок в этиологии и патогенезе воспалительных процессов в ротовой полости, а также возможность проводить лечебные мероприятия, разрушая сложные цепочки жизнедеятельности микроорганизмов [16,21].

Особенности микробной колонизации съемных ортопедических конструкций определяют дальнейший качественный состав формирующейся протезной биопленки и повышают вероятность развития воспалительного процесса в слизистой оболочке рта и тканях пародонта. Оральные биопленки очень разнородны по структуре, и современные молекулярно-биологические методы идентифицировали около 1000 различных бактерий и биопленок, вдвое больше, чем можно культивировать. Бактерии в биопленке имеют физиологию, которая отличается от физиологии клеток планктона. Они ограничены в питательных веществах и часто находятся в состоянии покоя, поэтому биопленка организована таким образом, чтобы максимизировать энергию, пространственные механизмы и движение питательных веществ и побочных продуктов с преимуществами, которые включают более широкий диапазон обитания для роста, повышенную устойчивость к противомикробным агентам и защите хозяина и увеличенную способти вызывать заболевание. Исследование микробных биопленок - это исследование по многим параметрам с особым упором на выяснение генов, специфически выраженных организмами, связанными с биопленкой, оценка различных подходов к контролю для предотвращения или исправления колонизации биопленками медицинских устройств и разработки новых методов оценки эффективности этих обработок [9].

В изученной нами научной публикации было исследовано состояние протезного ложа у 61 пациента (средний возраст - 66 лет, 54% мужчины 46%женщин) с имеющимися съемными ортопедическими конструкциями на верхнюю и нижнюю челюсть [16]. Образцы биопленок были взяты с поверхностей протезного ложа, спинки и корня языка, слизистых оболочек ротовой полости, с последующим анализом роста на селективных средах. Род Bacteroides был выделен у 95% испытуемых, грибы рода Candida - у 49%, род Streptococcus - у 84%, род Lactobacillus выделен у 92%. Обзор литературы показал, что такие виды, как Streptococcus mulcins, требуют твердых поверхностей для устойчивой колонизации. Также было обнаружено, что Streptococcus mutans практически исчезли их ротовой полости при полном отсутствии зубов. Они снова появились, когда были предоставлены твердые поверхности в виде полных съемных ортопедических конструкций. Литературные источники указывали и на то, что Aggregatibacter actinomycetemcomitans и Porphyromonas Linglvalis исчезли из ротовой полости после экстракции всех зубов и не появились даже тогда, когда были предоставлены твердые поверхни для колонизации (протезы). Однако указано, что данные виды имеют значительное влияние на различные системные заболевания у лиц с имеющимися зубами [16]. Микробиом исследуемых образцов был представлен средними показателями родов Actinomyces, Veilonella видов стрептококков, за исключением Streptococcus intermedius, Eikenella mrrodens, Neisseria mucosa и Streptococcus mutans были достаточно высокими, тогда как «красные» патогенные виды были относительно низкими [12]. При формировании биопленок на протезном ложе пациентов со съемными ортопедическими конструкциями в слюне определится высокий уровень таких микроорганизмов, как Porphyromonas linglvalis, Treponema denticola, Aggregatibacter (Actinobacillus) и actynomycetemcomitans, Streptococcus mutans, Streptococcus pyogenes, Helicobacter pylori, Candida albicans, Escherichia coli; и таких вирусов, как вирус герпеса, вирус папилломы человека и др.

■ ВЫВОДЫ

Данная статья обосновывает необходимость дальнейшего изучения Биопленок для понимании всех процессов их формирования в ротовой полости, а также дальнейшей возможности прицельно проводить лечебные мероприятия, разрывая сложные цепочки жизнедеятельности и взаимоотношений микроорганизмов, так как важными признаками хронических инфекций на основе биопленки являются экстремальная устойчивость к антибиотикам и многим другим противомикробным агентам, а также исключительная способность уклоняться от защитных мероприятий хозяев. Учитывая обработанные данные литературных источников и клинические исследования, мы доказываем, что возникает необходимость тчательного изучения биопленок, поскольку они дают полную картину этиологии и патогенеза заболеваний ротовой полости.

Изучение формирования биопленок на протезном ложе пациентов со съемными ортопедическими конструкциями должно внести значительный вклад в поиск новых стратегий и средств профилактики и защиты от патогенов, создание нового класса антимикробных препаратов.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. BjarnsholtT. (2013) The role of bacterial biofilms in chronic infections. APMIS Suppl., 136.

2. Chaminda Jayampath Seneviratne, Tanujaa Suriyanarayanan (2017) Microbiomics of Oral Biofilms: Driving The Future of Dental Research. Scientific Dental Journal, 1 (1), 25.

3. Coker E„ Ploeg J., Kaasalainen Sh„ Carter N. (2017) Observations of oral hygiene care interventions provided by nurses to hospitalized older people. Geriatric Nursing, 38 (1), 17.

4. Corvee S., Portillo M.E., Pasticci B.M., Borens 0., Trampuz A. (2012) Epidemiology and new developments in the diagnosis of prosthetic joint infection. Int J Artif Organs., 35 (10), pp. 923-934.

5. DeSalle R., Perkins ST (2015) Welcome to microbiota. Copyright, 375.

6. Filoche S., Wong L„ Sissons C.H. (2010) Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. J Dent Res., 89 (1), pp. 8-18.

7. Floyd K.A., Eberly A.R., Hadjifrangiskou M. (2017) Biofilms and Implantable Medical Devices, 47.

8. Jorth P., Turner K.H., Gumus P. (2014) Metatranscriptomics of the human oral microbiome during health and disease. MBio, 5 (01012), 14.

9. Marchesi J.R. (2014) Human microbiota and microbiome. CAB Internationale, 197.

10. Marchi-Alves L.M., Freitas D„ Andrade D., Godoy S., Costa Mendes I.A. (2017) Characterization of Oral Microbiota in Removable Dental Prosthesis Users. BioMed Research International, 1,32.

11. Marsh Ph.D., Moter A., Devine D.A. (2011) Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. Periodontology 2000, 55 (1), 16.

12. Masako Yasui, Masahiro Ryu, Kaoru Sakurai, Kazuyuki Ishihara (2012) Colonisation of the oral cavity by periodontopathic bacteria in complete denture wearers. Gerodontology, 29 (2), 494.

13. Mcgowan Troy, Mcgowan Kelly, Ivanovski Saso, Novel A. (2017) Evidence-Based Periodontal Prognosis Model. Journal of Evidence Based Dental Practice.

14. Nyvad B„ Crielaard W„ Mira A.,Takahashi N„ Beighton D. (2013) Dental Caries from a Molecular Microbiological Perspective. Caries Research, 47 (2), 89.

15. Pereira-Cenci Т., da Silva W.J.; Cenci M.S.; Cury A.A. (2010) Temporal changes of denture plaque microbiologic composition evaluated in situ. Journal of Prosthodontics, 23, pp. 239-242.

16. Philip D. Marsh, Annette Moter, Deirdre A. (2011) Devine, Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. Periodontology 2000, 55 (1), 16.