

Современные молекулярно-клеточные и иммунологические механизмы в процессе деструкции различных тканей организма. Роль условно патогенных бактерий при рецидивирующем течении хронических воспалительных процессов различной локализации

Фрагменты выступлений и мнений специалиста НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗСР РФ д.м.н., профессора, зав. лабораторией генетики вирулентности бактерий, академика РАЕН и РАМТН, обладателя именной премии им. М.П. Чумакова по биотехнологии Бондаренко В. М.

25.05.2011. МГМСУ, конференц-зал КДЦ на Долгоруковской, научно-практическая конференция по «Современным аспектам озостомии» при поддержке ФПДО МГМСУ и компании Integra Medical LLC (США) (www.lorodent.ru).

1. Роль иммунопатологических механизмов в развитии и течении процессов деструкции различных тканей организма. Условно патогенная микрофлора.

1.1. Иммунопатологические механизмы играют существенную роль в развитии и течении процессов деструкции различных тканей организма, в том числе в полости рта. В тех случаях, когда местные вмешательства оказываются малоэффективными, желательно проводить дополнительные иммунологические исследования и на основании их результатов дополнять комплексное лечение средствами, оптимизирующими иммунные механизмы регуляции не только функционирования иммунной системы, но и микробного биоценоза организма человека.

1.2. В последние годы повышенный интерес у исследователей и врачей различных специальностей вызывает условно патогенная микрофлора (УПМ). Этот интерес обусловлен широким распространением микробиологических нарушений кишечника, происходящих на фоне неуклонного роста больных, страдающих так называемыми «болезнями цивилизации». Это хронические воспалительные заболевания ЖКТ (гастриты, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки и др.), атеросклероз, астма, ожирение, остеохондроз,

синдром диабетической стопы и др. Положение о том, что в основе многих хронических патологических процессов лежит воспаление, срыв оральной толерантности и цитокиновый дисбаланс, в последние годы широко обсуждается во всем мире.

Существуют два направления исследований:

1. Изучение компонентов микрофлоры в норме и при патологии, исследование состава и особенностей функционирования микробиоценоза различных биотипов организма; определение характера и механизмов межмикробных взаимоотношений в микробиоценозах; селекция перспективных кандидатов для конструирования пробиотических профилактических и лечебных препаратов.

2. Совершенствование методов диагностики дисбиотических сдвигов в микробиоценозах; конструирование и производство средств коррекции микрофлоры и применение пробиотических средств для профилактики и терапии заболеваний.

1.3. Для УПМ характерно отсутствие нозологической специфичности и локализации инфекционного процесса. УПМ поражают родильниц, новорожденных и детей раннего возраста, пациентов различных стационарных лечебных заведений, с развивающимися микробиологическими и иммунодефицитными

ми состояниями. УПМ могут вызывать гнойно-воспалительные заболевания, диагностика которых осложнена тем, что многие из возбудителей входят в состав транзитной нормальной микрофлоры (микробиоты) человека. Среди возбудителей наиболее часто встречаются представители рода *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Proteus*, дрожжевые грибы рода *Candida* и др. УПМ. Вызывая колонизацию слизистой, они являются источником инфекции, стимулируют образование медиаторов воспаления, вызывающих повреждение тканей, гипоксию, нарушение микроциркуляции и свертываемости крови; вызывают сенсibiliзирующие реакции (аллергические проявления, бронхоспазмы и пр.).

Для практической медицины важным является выявление дисбиотических состояний, часто сочетающихся с общим вариабельным иммунодефицитным состоянием.

2. Роль образования бактериальных биопленок.

2.1. Биопленка (biofilm) – живое, постоянно обновляющееся сообщество одного или нескольких видов бактерий, которое закрепилось на биогенном или абиогенном субстрате, где бактериальные клетки окружены полимерным материалом (матриком), предохраняющим их

от вредных воздействий окружающей среды. Биопленочные бактерии общаются между собой секреторными медиаторами (аутоиндукторами), которые синтезируются в окружающую среду. С биопленочными инфекциями связаны многочисленные хронические заболевания, часто обусловленные УПМ, прикрепление которых к слизистой основано на гидрофобных и электростатических контактах с поддерживающим субстратом. Взаимодействие со слизистой оболочкой опосредовано поверхностными компонентами бактерий. В прикреплении грамотрицательных бактерий участвуют пили, белки наружной мембраны и ЛПС (липополисахариды); грамположительных – белки наружной мембраны и тейхоевые кислоты. Проникая в клетки и ткани организма, инвазивные УПБ быстро покрываются растворимыми белками организма.

2.2. Исследователи полагают, что микробные сообщества – биопленки – способны формировать ассоциации резидентной и факультативной микрофлоры ЖКТ, которые наподобие бактериального газона выстилают поверхность слизистых. К биопленкам могут быть отнесены любые однородные или смешанные сообщества микроорганизмов, способные прикрепляться к плотным субстратам. С помощью биопленок бактерии колонизируют медицинские катетеры, имплантаты, протезные конструкции, а также ткани организма хозяина. Образование биопленки связано с коммуникативным проявлением «чувства кворума» (QuorumSensing) микроорганизмов в сообществах, характеризующихся большой плотностью популяции на определенную площадь и высокой физиологической активностью составляющих его особей.

2.3. Интересные данные были получены исследователями при электронной микроскопии ультратонких срезов бактериальных биопленок однородных и смешанных микробных сообществ, в том числе – энтерококков, стафилококков, различных видов энтеробактерий, дрожжей рода *Candida* и некоторых других, культивируемых на плотной питательной среде.

2.4. Было выявлено, что бактерии в составе биопленки защищены комплексом оригинальных поверхностных структур, объединяющих все клетки в единую систему. При этом те же структуры обеспечивают контакт с внешней средой – как отдельных клеток, так и бактериального сообщества в целом. Структура, находящаяся с наружной стороны биопленки (поверхностная пленка), одновременно выполняет и защитную, и объединяющую микробное сообщество функцию. Основным элементом поверхностной пленки является трехслойная мембрана, ультратонкое строение которой соответствует универсальной плазматической мембране. Поверхностная пленка, наряду с трехслойной мембраной, включает дополнительные структуры в виде аморфных полисахаридных слоев, образующихся с внутренней или внешней, а в некоторых случаях – и с обеих сторон одновременно. Было четко выявлено экранирование бактериальных клеток в биопленке полисахаридными слоями межклеточного матрикса, заполняющими толщу микробного сообщества. То есть биопленка служит универсальной защитной структурой в микробных сообществах различного типа.

2.5. В биопленочных бактериальных «сэндвичах» микробные клетки располагаются на достаточно близком расстоянии друг от друга, что обеспечивает им в первую очередь контакты для быстрого обмена продуктами метаболизма и сохранение целостности структуры вновь сформировавшегося ассоциативного микробиоценоза. Сегодня получены данные об обнаружении бактериальных биопленок при развитии хронических воспалительных процессов, вызванных различными условно патогенными микроорганизмами.

2.6. Образование бактериальных биопленок имеет важный биологический смысл, так как микробные клетки, заключенные в межклеточный матрикс, лучше защищены от бактерицидных факторов врожденного иммунитета, этиотропных препаратов и неблагоприятного воздействия окружающей среды.

Важно отметить двойственную роль биопленкообразования:

1. Для представителей нормальной микрофлоры образование биопленки играет важную роль в обеспечении колонизационной резистентности биотипа.

2. Для условно патогенных дисбиотических бактерий это определяет этап инициации инфекционно-воспалительного процесса.

3. Роль открытия «образраспознающих рецепторов» и «белков теплового шока».

3.1. Известно, что на каждом участке эпителиальных клеток покровов имеется характерная для него микрофлора, к которой организм формирует местную толерантность. Поддержание постоянства этой микрофлоры осуществляется с помощью клеток естественного и адаптивного иммунитета и эпителиальных клеток, которые активизируются через образраспознающие рецепторы.

3.2. Этот класс рецепторов открыт в последнее десятилетие и в настоящее время интенсивно изучается. Наиболее изученными из образраспознающих рецепторов являются toll-подобные рецепторы. Когда в клетку внедряется чужеродный микроорганизм, эти рецепторы распознают определенные молекулярные структуры на его поверхности, идентифицируют данный микроорганизм как чужеродный для организма хозяина, клетка активируется и синтезирует свойственный ей набор цитокинов.

3.3. Их открытие явилось очень важным основанием для формирования нового направления в иммунологии – иммунологии toll-рецепторов. Они выявлены практически на всех типах клеток организма человека. Доказана их важнейшая роль в регуляции не только функционирования иммунной системы, но и микробного биоценоза организма человека.

Становление данного направления очень важно с чисто практической стороны, поскольку позволяет объяснить хронический характер течения неспецифического воспаления и непредсказуемость возникновения периодов обострения. По данной теории, отсутствие тканевого воспалительного ответа на микрофлору со стороны клеток эпителия (что в первую очередь интересует врачей-пародонтологов) объяс-

няется фактором адаптации, или врожденной адаптации.

3.4. Согласно современным представлениям toll-рецепторы эпителиальных клеток воспринимают микроорганизмы нормальной микрофлоры как собственные структуры и не реагируют на них. Когда же возникает воспалительный ответ? Когда меняется структура этих микробных клеток? В частности, когда под влиянием либо местных, либо общих факторов микроорганизмы с целью противостояния их патогенному воздействию вырабатывают «белки теплового шока». При этом микроорганизмы распознаются как чужеродные, Toll-рецепторы активируются и запускают воспалительный ответ.

3.5. Данная теория на сегодня имеет много уязвимых мест, но очень привлекательна для клиницистов и исследователей по ряду причин: во-первых, становится ясным, почему на постоянную по своему составу микрофлору тканевый ответ периодически резко изменяется, ведь белки теплового шока возникают как ответ на медикаментозные препараты, так и на действие стрессорных факторов; во-вторых, становится понятным, почему микробный состав в одних случаях после лечения меняется очень резко, а в других почти не меняется.

3.6. Очень привлекательна эта теория и в связи с концепцией биопленок как сформировавшихся и защищенных структурно образований, внутри которых микробные колонии обмениваются между собой генетической информацией и существенно изменяют свойства. Становится объяснимым, почему на один и тот же практически микробный состав так резко может меняться реакция рецепторов эпителиальных клеток. В процессе происходящих изменений внутри тех же сапрофитов они становятся чуждыми для этих toll-рецепторов, вызывают их активацию и, соответственно, клиническое воспаление.

3.7. В связи с вышесказанным возникает перспективное направление в разработке медикаментозных или другого вида средств, подавляющих излишнюю реактивность toll-рецепторов или же «гасящих» активность белков те-

плового шока, входящих в состав биопленок микроорганизмов.

4. Гомеостаз.

4.1. В гомеостаз включены многообразные процессы, начиная с создания слизистого слоя на эпителии, регуляции реакций в эпителиальных клетках и субэпителиальной лимфоидной ткани, где синтезируются специфические молекулы IgA, которые, проходя через эпителий, присоединяют молекулу белка и превращаются в секреторные антитела, резистентные к разрушению ферментами. Активированные через образраспознающие рецепторы эпителиальные клетки продуцируют различные антимикробные соединения, главными из которых являются дефенсины. Миграция через эпителиальный слой нейтрофилов также опосредуется активацией эпителиальных клеток через образраспознающие рецепторы. Формирование местной толерантности к части нормальной микрофлоры является защитной реакцией организма, направленной на поддержание в нем стабильного микробиоценоза. В формировании местной толерантности важная роль принадлежит супрессии образраспознающих рецепторов в ответ на контакт с микробом и регуляторные Т-лимфоциты.

4.2. Тот факт, что хронические заболевания могут быть вызваны представителями нормальной микрофлоры, указывает на отмену местной толерантности, основу которой составляет изменение белкового состава микроорганизмов нормофлоры, что, в свою очередь, заставляет иммунную систему воспринимать их как чужеродное и развивать иммунный ответ.

5. Взаимодействие с антибиотиками.

5.1. Установлено, что рост эндогенных инфекций связан с массивным использованием для лечения людей антибиотиков и других антибактериальных препаратов, которые воздействуют не только на патогенные микроорганизмы, но и на нормальную микрофлору.

5.2. В результате воздействия на микроорганизмы нормальной микрофлоры неблагоприятных факторов, в том числе этиотропных средств, в них образуются стресс-индуцибельные белки,

включая белки теплового шока. Микробы, приобретшие новый набор свойств и антигенов в результате генетического обмена, воспринимаются образраспознающими рецепторами эпителиальных клеток как чужеродные. Вследствие этого эпителиальные клетки активируются и начинают продуцировать хемокины.

Поскольку эпителиальные клетки данного участка слизистой реагируют не на отдельные микроорганизмы, а на целые их колонии, входящие в состав биопленок, то в данном участке слизистой образуется высокая концентрация хемокинов, достаточная для привлечения к нему значительного числа клеток естественного иммунитета, выбрасывающих триггерную концентрацию провоспалительных цитокинов, инициирующих воспалительный ответ с повреждением слизистой.

Подробнее о молекулярно-клеточных механизмах и актуальности использования пробиотиков – см. монографию Бондаренко В. М. «Роль условно патогенных бактерий при хронических воспалительных процессах различной локализации» и статьи: «Молекулярно-клеточные механизмы терапевтического действия пробиотических препаратов» (Фарматека. 2010. №2. С. 26-32), «Генетические маркеры вирулентности условно патогенных бактерий» (Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2011. №3. С. 94-99), «Иммунобиологические особенности бактериальных клеток медицинских биопленок» (Там же. 2010. №4. С. 97-104).

*Материал для печати подготовила
Галина Масис*