

Проблема инфицирования эндодонта: современный взгляд на микробную биопленку (обзор литературы)

Л.А. ДМИТРИЕВА*, д.м.н., проф., зав. кафедрой

К.Г. ГУРЕВИЧ**, д.м.н., проф., зав. кафедрой

Л.М. ТЕБЛОЕВА*, к.м.н., докторант кафедры

З.З. РЕВАЗОВА*, к.м.н., доц. кафедры

*Кафедра терапевтической стоматологии ФПДО ГОУ ВПО МГМСУ

**Кафедра ЮНЕСКО «Здоровый образ жизни – залог успешного развития» МГМСУ

The problem of endodontic infection. The modern view of bacterium biofilm. The view of medical literature

L.A. DMITRIEVA, K.G. GUREVICH, L.M. TEBLOEVA, Z.Z. REVAZOVA



Л.А. ДМИТРИЕВА



К.Г. ГУРЕВИЧ



Л.М. ТЕБЛОЕВА



З.З. РЕВАЗОВА

Резюме

Бактериальное биопленочное формирование – преобладающий процесс в жизнедеятельности микроорганизмов. Формирование биопленки происходит в несколько этапов под влиянием различных параметров и служит защитной нишей для специфических болезнетворных микроорганизмов. Несмотря на то что биопленки встречаются повсеместно в природе, их роль в клинических проявлениях недооценивается. Было обнаружено, что некоторые аспекты патогенеза непосредственно связаны с развитием биопленки, способствующие увеличению риска заболеваний. Этот обзор описывает процесс формирования биопленки, выдвигает на первый план важность бактериальных ассоциаций и описывает различные методы для визуализации и контроля биопленки.

Представленные здесь проблемы связаны с микробными биопленками: биопленочное формирование, персистенность, взаимодействие с иммунной системой хозяина, развивающиеся технологии для осуществления контроля и воздействия на биопленку.

Ключевые слова: микробные биопленки, иммунно-воспалительный ответ, нозокомиальные инфекции.

Abstract

Bacterial biofilm formation is the prevailing microbial lifestyle in natural and manmade environments and occurs on all surface types. Biofilm formation develops in several phases and is influenced by various parameters, both environmental and inherent to the attaching cell. Biofilms also serve as protective niches for particular pathogens when outside a host. Although it is accepted that biofilms are ubiquitous in nature, the significance of biofilms in clinical settings, especially with regard to their role in medical-related infections, is often underestimated. It has been found that several aspects of human pathogenesis within a clinical context are directly related to biofilm development. Various types of surfaces in clinical settings are prone to biofilm development and an increased risk of disease may be a direct consequence of their formation. This review describes the process of biofilm formation, highlights the importance of bacterial associations with surfaces in clinical settings and describes various methods for biofilm visualization and control.

Presented here are the current problems related to bacterium biofilms; current concepts of biofilm formation, persistence, and interactions with the host immune system; and emerging technologies for controlling medical biofilms.

Key words: bacterium biofilms, nosocomial infections, host immune response.

В последние годы появились публикации, касающиеся различных аспектов биопленки.

Интерес представляют вопросы: образования биопленки и инфицирования (Donlan, 2002; Hall-Stoodley and Stoodley, 2005; Hall-Stoodley et al., 2004; Parsek and Singh, 2003; Reisner et al., 2005), диагностики и лечения (Fux et al., 2003), основные стратегии выживания инфекционных биопленок (Foster, 2005; Fux et al., 2005), резистентности биопленки к антибиотикам и противомикробным средствам (Dzuring et al., 2000; Mah and O'Toole, 2001; Stewart, 2002), контроля чувствительности биопленки (Bjarnsholt and Givskov, 2007; Harraghy et al., 2007; Smith and Iglewski, 2003), и вопросы, связанные со специфическими инфекциями, такими как: кистозный фиброз (Høiby, 2002), остеомиелит (Brady et al., 2007; Wagner et al., 2005; Bakaletz, 2007; Post et al., 2007), кариес и заболевания полости рта (Bryers and Ratner, 2006; Offenbacher et al., 2007; Selwitz et al., 2007; Slayton et al., 2006).

Образование биопленки и ее персистенция, значительно влияют на пациента, так как микроорганизмы, формирующие биопленку, значительно менее восприимчивы к антибиотикам и защитным силам организма. Известно, что большинство биопленочных инфекций сложно поддаются лечению, и в итоге они определили себя как хронические рецидивирующие инфекции, порождающие огромное количество клинических проявлений заболевания, хроническое воспаление, замедленное ранозаживление, быстро приобретаемую резистентность к антибиотикам.

Основными движущими силами этого процесса являются матрица металлопротеиназы (MMP), катепсины и ферменты остеокластов (Kinney J. S., Ramseier C. A., Giannobile W. V., 2007). В последнее время было проведено много фундаментальных и клинических исследований, основывавшихся на важнейших механизмах этого ферментативного агрессивного разрушения тканей (Woodward J. K., Holen I.,

2007). Выступая в качестве прототипа эндотоксина, липополисахариды (ЛПС), являющиеся основным компонентом наружной мембраны грамотрицательных бактерий, способны инициировать каскад событий, которые могут привести к разрушению тканей пародонта (Pussinen P. J., Paju S., Mantyla P., Sorsa T., 2007). Таким образом, ЛПС, полученные от биопленки с поверхности корня зуба, приводят к набору полиморфноядерных лейкоцитов (PMNS) на данном участке. Активированные моноциты и макрофаги начинают продуцировать различные провоспалительных цитокинов, включая интерлейкин (IL)-1 β и фактор некроза опухолей (ФНО)-альфа, которые в дальнейшем влияют на деструктивные процессы. Наряду с катепсинами и остеокластами формируется мощная группа эндопептидаз фибробластов и полиморфноядерных лейкоцитов (Doucet A., Overall C. M., 2007).

Протеолитические ферменты принимают участие как в ремоделировании, так и в резорбции костной ткани (Ra H. J., Parks W. C., 2007). Активизация остеокластов, продуцирующих протеолитическими ферментами, такими как матриксные металлопротеиназы (ММП), несет ответственность за разрушение минерализованных клеток в костной ткани альвеолярного отростка. В отличие от этого, остеобласты образуют ММП, которая наносит ущерб неминерализованному слою (Tester A. M., Cox J. H., Connor A. R. et al., 2007).

Мультиген ММП кодирует 22 структурно связанные эндопептидазы по отношению к большей части внеклеточного матрикса (Gill S. E., Parks W. C., 2007). ММП играет ключевую роль в разрушении внеклеточных молекул, в том числе коллагена, эластина, протеогликинов (López-Otín C., Matrisian L. M., 2007).

Роль ММП, которая способна активировать скрытые формы белков, антимикробных пептидов, хемокинов и цитокинов, а также их роль в изменении функционирования белка (Herr A. E., Hatch A. V., Giannobile W. V. et al., 2007), имеет большое клиническое значение при заболевании эндодон-

та. Также ММП может влиять на деятельность различных эффекторов и других биологически активных молекул с помощью таких методов, как прямое расщепление, модификация или инактивация ингибиторов (Kirkwood K. L., Cirelli J. A., 2007). Тем не менее, поскольку ММП остается одним из ключевых медиаторов воспаления, было проведено исследование (Golub L. M., Payne J. B., Reinhardt R. A., 2007), позволившее изучить потенциал в качестве биомаркеров, являясь модулятором прогрессирования заболевания.

Очевидно, что ММП представляется перспективным кандидатом для прогнозирования, диагностики и, возможно, является более важным, для оценки прогрессирования воспалительных процессов.

Образование биопленки включает множество физических, биологических и химических процессов, посредством транспорта клеток (диффузия, конвекция), (Bryers, 2000). Находясь на поверхности субстрата, бактериальные клетки прикрепляются посредством неспецифического рецептора (An and Friedman, 1998; Busscher et al., 1992; Glantz et al., 1999). За короткое время плотно-прилегающие клетки активируют секрецию молекул, которые организуют общую фенотипическую ответную реакцию (Bjarnsholt and Givskov, 2007; Camilli and Bassler, 2006; Davies et al., 1998; Harraghy et al., 2007; Hodgkinson et al., 2007; Horswill et al., 2007; Pritchard, 2006; Rumbaugh, 2007). Подобные реакции популяции включают активацию факторов вирулентности (Branda et al., 2005; Otto, 2006) и секрецию экстрацеллюлярных полимеров (Davies and Geesey, 1995; Davies et al., 1993; Hall-Stoodley and Stoodley, 2005).

Биопленочные образования продолжают расти, поглощая растворимые питательные вещества и присоединяя к себе другие бактериальные виды. Набор воспалительных клеток требует усиленного лейкоцитного хемотаксиса на имплантируемом месте, так же как и лейкоцитное перемещение через эндотелий. Различные молекулярные сигналы на им-

планируемом месте могут действовать для первичного набора воспалительных клеток. Активированные тромбоциты высвобождают несколько факторов роста и активированные тучные клетки также выделяют гистамин, протеогликаны, протеолитические ферменты и цитокины, фактор некроза опухолей (TNF) и интерлейкин IL-16 (Mekori and Metcalfe, 2000). Тучные клетки могут инициировать производство других цитокинов и хемокинов, таких как гранулоцитарно-макрофагально-колониально-стимулирующий фактор (GM-CSF), IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, воспалительный белок макрофаг (MIP) и хемотактический белок моноцита (MCP)-1. Скопление лейкоцитов на одном месте сопровождается продуцированием различных факторов роста и цитокинов, привлекающих больше воспалительных клеток.

Функция макрофагов – это динамичный процесс, который зависит от модуляции состояний активации макрофагов либо посредством смены местной микрофлоры, либо самими макрофагами, провоцирующими огромное число цитокинов, протеинов экстрацеллюлярного матрикса и факторов роста (Stout and Suttles, 2005). В стадии воспалении макрофаги могут активироваться способом поляризации посредством местных факторов, таких как цитокины (Mantovanni 2002; Mosser, 2003).

M2-макрофаги, выполняющие ангиогенезис, ремодуляцию ткани, паразитарную инкапсуляцию, могут действовать как иммунорегуляторы, подавляя воспалительную реакцию. В то время как M2-макрофаги могут активироваться посредством различных механизмов, они главным образом характеризуются низкими уровнями интерлейкинов IL-12 and IL-23 наряду с высокими уровнями IL-10. M1-макрофаги могут отличаться от M2-макрофагов экспрессией набора хемокинов (Anderson and Mosser, 2002; Gordon, 2003). Поляризация макрофагов по отношению к M2-форме может создать среду, благоприятную для ранозаживления, тканевой регенерации и имплантируемых материалов. Следовательно, и

идентификация путей метаболизма, которые могут быть с модифицированы с целью регуляции поляризации макрофагов, будет полезной для подавления воспаления в патологических стадиях.

Исторически сложилось несколько научных взглядов, фокусирующихся на взаимодействии биопленкосвязующих бактериальных клеток с иммунной системой, но ситуация меняется. Появляется динамичная обратная связь между иммунными клетками и бактериями. Биопленочные микроорганизмы тонко манипулируют иммунными реакциями, тогда как реакции иммунных клеток способны усугубить образование биопленок и повысить вирулентность.

Механизм укрепления биопленки посредством нейтрофилов связан с нейтрофилогенерирующими полимерами, в составе которых есть актин и DNA. Бактерия, связанная с F-актином и свободным DNA, способствует стабильности биопленочной матрицы. Разрыв полимеров с DNA ведет к рассеиванию бактерии или ослаблению развития биопленки. Наличие таких актин-DNA-полимеров, с сожжением *P. Aeruginosa*, было подтверждено в нейтрофильных лизатах (Walker et al., 2005).

Chandra et al. (2007) показал, что мононуклеары периферической крови (PBMCs) усилили способность дрожжей, *Candida albicans*, участвовать в формировании биопленки и что подавляющее большинство PBMCs были локализованы на базовом и среднем слоях биопленки. Они также обнаружили, что только жизнеспособные PBMCs укрепили образование *Candida* биопленки и что компоненты поверхности мононуклеаров PBMCs не участвовали в укреплении биопленки; эффект укрепления биопленки опосредован стойким фактором, выделенным в субстрат, и что супернатант, собранный из сокультур, содержал различные уровни про- и противовоспалительных цитокинов.

Zimmermann et al. (2006) отмечает, что молекула, вовлеченная в кворум ощущения N-(3-оксододецил)-L-гомосерин лактон (3OC12-HSL), синтезируемый *P. Aeruginosa*,

вызывает направленную миграцию (хемотаксис) нейтрофилов в анализе *in vitro*. Они выдвинули мысль о том, что ранее привлечение PMN могло поспособствовать предотвращению образования биопленки, что возможно является ошибочным выводом.

Таким образом, за 10 лет увеличивающийся исследовательский опыт в формировании биопленок обеспечил многообразие возможных задач для предотвращения уничтожения биопленочных инфекций. Преимущество в понимании процесса образования биопленки в сочетании с появившимися биоматериалами обеспечиваются множеством стратегий, направленных на подавление биопленочной инфекции в восприимчивых популяциях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kinney J. S., Ramseier C. A., Giannobile W. V. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis // Ann N Y Acad Sci. 2007. №1098. P. 230-251.
2. Albandar J. M. Periodontal diseases in North America // Periodontol. 2000-2002. №29. P. 31-69.
3. Woodward J. K., Holen I., Coleman R. E., Buttle D. J. The roles of proteolytic enzymes in the development of tumour-induced bone disease in breast and prostate cancer // Bone. 2007. №41. P. 912-927.
4. Pussinen P. J., Paju S., Mantyla P., Sorsa T. Serum microbial- and host-derived markers of periodontal diseases: A review // Curr Med Chem. 2007. №14. P. 2402-2412.
5. Keller U., Doucet A., Overall C. M. Protease research in the era of systems biology // Biol Chem. 2007. №388. P. 1159-1162.
6. Ra H. J., Parks W. C. Control of matrix metalloproteinase catalytic activity // Matrix Biol. 2007. №26. P. 587-596.
7. Tester A. M., Cox J. H., Connor A. R. et al. LPS responsiveness and neutrophil chemotaxis *in vivo* require PMN MMP-8 activity // PLoS ONE. 2007. №2. P. 312.
8. Gill S. E., Parks W. C. Metalloproteinases and their inhibitors: Regulators of wound healing // Int J Biochem Cell Biol. 2007. №40. P. 1334-1347.
9. Lypetz-Othn C., Matrisian L. M. Emerging roles of proteases in tu-

mour suppression // *Nat Rev Cancer*. 2007. №7. P. 800-808.

10. Sorsa T., Tjäderhane L., Konttinen Y. T. et al. Matrix metalloproteinases: Contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation // *Ann Med*. 2006. №38. P. 306-321.

11. Golub L. M., Lee H. M., Greenwald R. A. et al. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis // *Inflamm Res*. 1997. №46. P. 310-319.

12. Herr A. E., Hatch A. V., Giannobile W. V. et al. Integrated microfluidic platform for oral diagnostics // *Ann N Y Acad Sci*. 2007. №1098. P. 362-374.

13. Herr A. E., Hatch A. V., Throckmorton D. J. et al. Microfluidic immunoassays as rapid saliva-based clinical diagnostics // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007. №104. P. 5268-5273.

14. Kinane D. F., Darby I. B., Said S. et al. Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance // *J Periodontol Res*. 2003. №38. P. 400-404.

15. Kirkwood K. L., Cirelli J. A., Rogers J. E., Giannobile W. V. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases // *Periodontol* 2000-2007. №43. P. 294-315.

16. Golub L. M., Payne J. B., Reinhardt R. A., Nieman G. Can systemic diseases co-induce (not just exacerbate) periodontitis? A hypothetical two-hit model // *J Dent Res*. 2006. №85. P. 102-105.

17. Golub L. M., Suomalainen K., Sorsa T. Host modulation with tetracyclines and their chemically modified analogues // *Curr Opin Dent*. 1992. №2. P. 80-90.

18. Williams R. C. Periodontal disease // *N Engl J Med*. 1990. №322. P. 373-382.

19. Olsen N. J., Stein C. M. New drugs for rheumatoid arthritis // *N Engl J Med* 2004. №350. P. 2167-2179.

20. Ashley R. A. Clinical trials of a matrix metalloproteinase inhibitor in human periodontal disease. SDD Clinical Research Team // *Ann N Y Acad Sci*. 1999. №878. P. 335-346.

21. Ciancio S., Ashley R. Safety and efficacy of sub-antimicrobial-

dose doxycycline therapy in patients with adult periodontitis // *Adv Dent Res*. 1998. №12. P. 27-31.

22. Caton J. G., Ciancio S. G., Blieden T. M. et al. Treatment with subantimicrobial dose doxycycline improves the efficacy of scaling and root planing in patients with adult periodontitis // *J Periodontol*. 2000. №71. P. 521-532.

23. Reddy M. S., Geurs N. C., Gunsolley J. C. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review // *Ann Periodontol*. 2003. №8. P. 12-37.

24. Preshaw P. M., Novak M. J., Mellonig J. et al. Modified-release subantimicrobial dose doxycycline enhances scaling and root planing in subjects with periodontal disease // *J Periodontol*. 2008. №79. P. 440-452.

25. Gapski R., Barr J. L., Sarment D. P., Layher M. G., Socransky S. S., Giannobile W. V. Effect of systemic matrix metalloproteinase inhibition on periodontal wound repair: A proof of concept trial // *J Periodontol*. 2004. №75. P. 441-452.

26. Payne J. B., Stoner J. A., Nummikoski P. V. et al. Subantimicrobial dose doxycycline effects on alveolar bone loss in post-menopausal women // *J Clin Periodontol*. 2007. №34. P. 776-787.

27. Reinhardt R. A., Stoner J. A., Golub L. M. et al. Efficacy of sub-antimicrobial dose doxycycline in post-menopausal women: Clinical outcomes // *J Clin Periodontol*. 2007. №34. P. 768-775.

28. Golub L. M., Lee H. M., Stoner J. A. et al. Subantimicrobial-dose doxycycline modulates gingival crevicular fluid biomarkers of periodontitis in postmenopausal osteopenic women // *J Periodontol*. 2008. №79. P. 1409-1418.

29. Nuti E., Tuccinardi T., Rossello A. Matrix metalloproteinase inhibitors: New challenges in the era of post broad-spectrum inhibitors // *Curr Pharm Des*. 2007. №13. P. 2087-2100.

30. Tenenbaum H. C., Shelemay A., Girard B., Zohar R., Fritz P. C. Bisphosphonates and periodontics: Potential applications for regulation of bone mass in the periodontium and other therapeutic/diagnostic uses // *J Periodontol*. 2002. №73. P. 813-822.

31. Kamel H. K. Update on osteoporosis management in long-

term care: Focus on bisphosphonates // *J Am Med Dir Assoc*. 2007. №8. P. 434-440.

32. Jeffcoat M. K., Reddy M. S. Alveolar bone loss and osteoporosis: Evidence for a common mode of therapy using the bisphosphonate alendronate. In: Davidovitch Z., Norton L. A., eds. *Biological mechanisms of tooth movement and craniofacial adaptation*. Vol. 1. Cambridge, MA // Harvard Society for the Advancement of Orthodontics. 1996. P. 365-373.

33. Rocha M., Nava L. E., Vázquez de la Torre C., Sánchez-Marín F., Garay-Sevilla M. E., Malacara JM. Clinical and radiological improvement of periodontal disease in patients with type 2 diabetes mellitus treated with alendronate: A randomized, placebo-controlled trial // *J Periodontol*. 2001. №72. P. 204-209.

34. Takaishi Y., Miki T., Nishizawa Y., Morii H. Clinical effect of etidronate on alveolar pyorrhea associated with chronic marginal periodontitis: Report of four cases // *J Int Med Res*. 2001. №29. P. 355-365.

35. Lane N., Armitage G. C., Loomer P. et al. Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment: Results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study // *J Periodontol*. 2005. №76. P. 1113-1122.

36. Wang H. L., Weber D., McCauley L. K. Effect of long-term oral bisphosphonates on implant wound healing: Literature review and a case report // *J Periodontol*. 2007. №78. P. 584-594.

37. Ficarra G., Beninati F., Rubino I. et al. Osteonecrosis of the jaws in periodontal patients with a history of bisphosphonates treatment // *J Clin Periodontol*. 2005. №32. P. 1123-1128.

38. Khosla S., Burr D., Cauley J. et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: Report of a task force of the American society for bone and mineral research // *J Bone Miner Res*. 2007. №22. P. 1479-1491.

Поступила 11.03.2010

Координаты для связи с авторами
127006, Москва,
ул. Долгоруковская, д. 4, стр. 2
МГМСУ, кафедра «Факультет
повышения квалификации
стоматологов»