



Полтавський державний медичний університет
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології



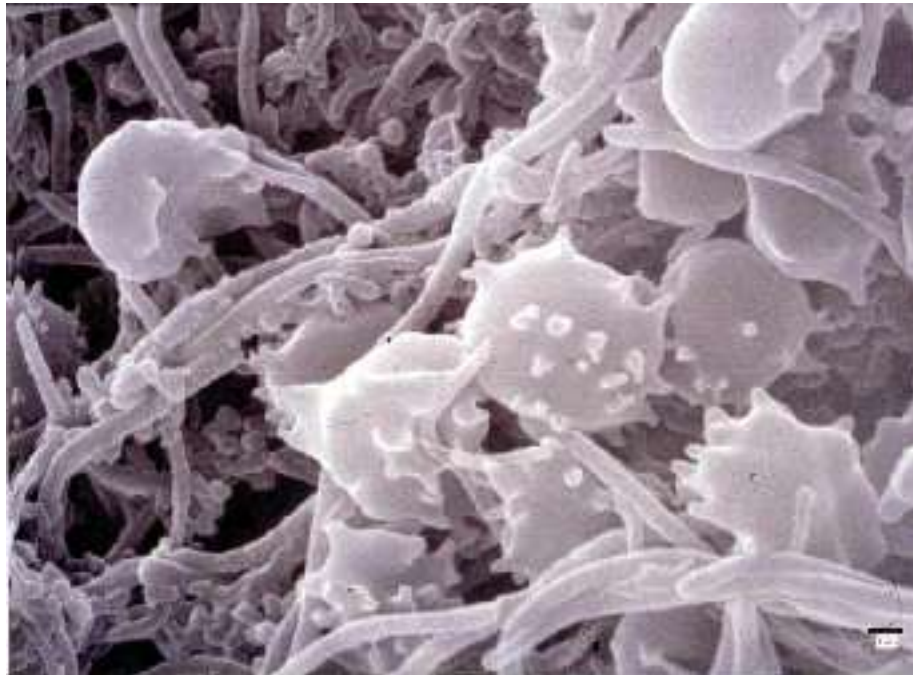
Роль мікроорганізмів та стан імунітету за умов карієсу та пародонтиту

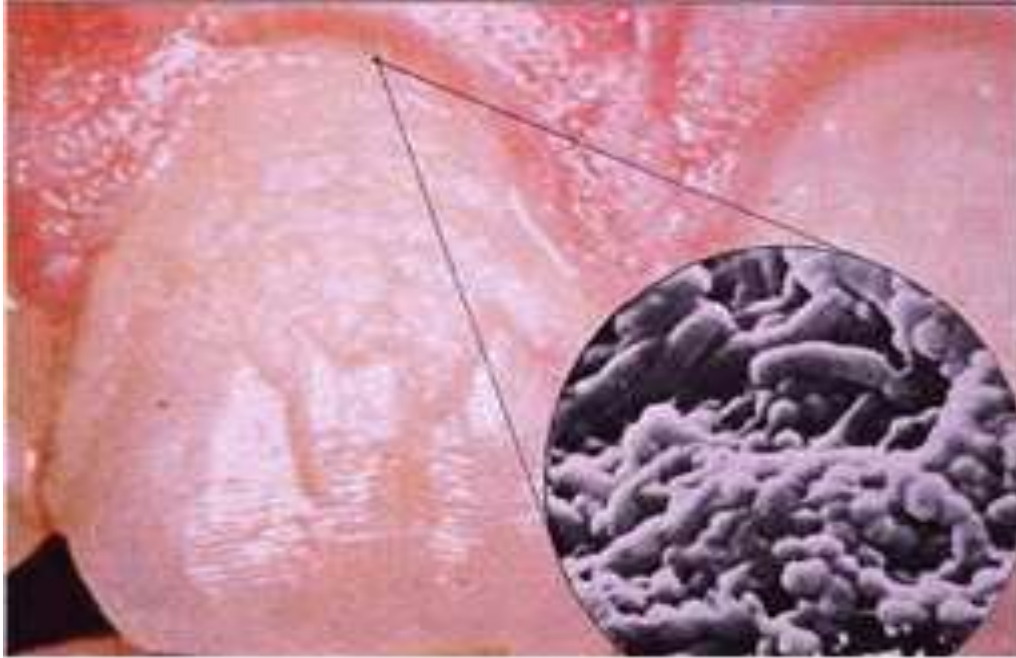


Згідно з сучасними уявленнями на поверхні зубної емалі знаходяться:

- 1 – кутикула, що є редукованим епітелієм емалі;
- 2 – пелікула – органічна полімерна плівка, що утворюється при контакті емалі зі слиною;
- 3 – зубний наліт, або зубна бляшка.

- Зубна бляшка складається переважно із мікроорганізмів з незначним включенням безструктурної речовини органічної природи.



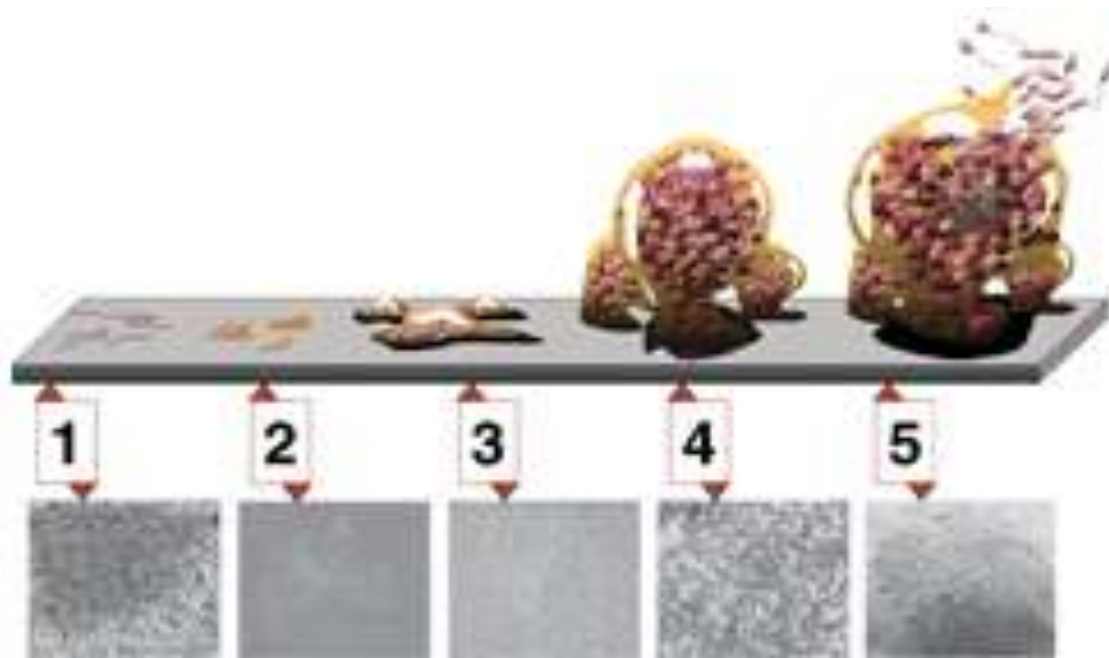


Зубний наліт або зубна бляшка

- структурно і функціонально організована **біоплівка**, що прикріплена до твердої поверхні зуба та покрита матриксом з полімерів бактеріального походження і утворених організмом хазяїна.

Особливості біоплівки:

- метаболічна кооперація;
- обмін генетичної інформації (утворення резистентних штамів мікроорганізмів);
- резистентність до антибіотиків за рахунок зв'язування з екстрацелюлярним матриксом;
- зміни у поведінці мікроколоній (швидкість розмноження мікробів, ріст патогенності);
- резистентність до фагоцитозу.



Стадии образования биопленки:

1 - первичное прикрепление

2 – необратимое прикрепление

3 – созревание

4 – стадия полного созревания

5 - распространение

Quorum Sensing (відчуття кворуму) – сигнальна система, за допомогою якої бактерії сприймають зміни в чисельності популяції і реагують на ці зміни.

Кожна клітина синтезує сигнальні молекули, які накопичуються у міжклітинному середовищі і взаємодіють з рецепторами клітин. За умов збільшення кількості клітин концентрація сигнальних молекул досягає порогового рівня, з якого запускаються зміни в експресії генів.

Узгоджена діяльність безлічі клітин обумовлює колективну реакцію бактеріальної популяції на зовнішні фактори – надходження харчових макромолекул або поява джерела агресії.

У цих випадках одночасне виділення великої кількості позаклітинних ферментів і факторів вірулентності визначає успішність (або неуспішність) відповіді бактеріального співтовариства у змінених умовах.

Механізми формування зубної бляшки (біоплівки) :

- 1 – адгезія до емалі епітеліальних клітин, інвазованих бактеріями, із наступним ростом мікроколоній;
- 2 – преципітація позаклітинних гліканів, що продукуються *Streptococcus mutans*;

3 – осад глікопротеїнів слини, що формують пелікулу із наступною адгезією до неї бактерій;

4 – аглютинація бактерій антитілами з наступною фіксацією на поверхні емалі.

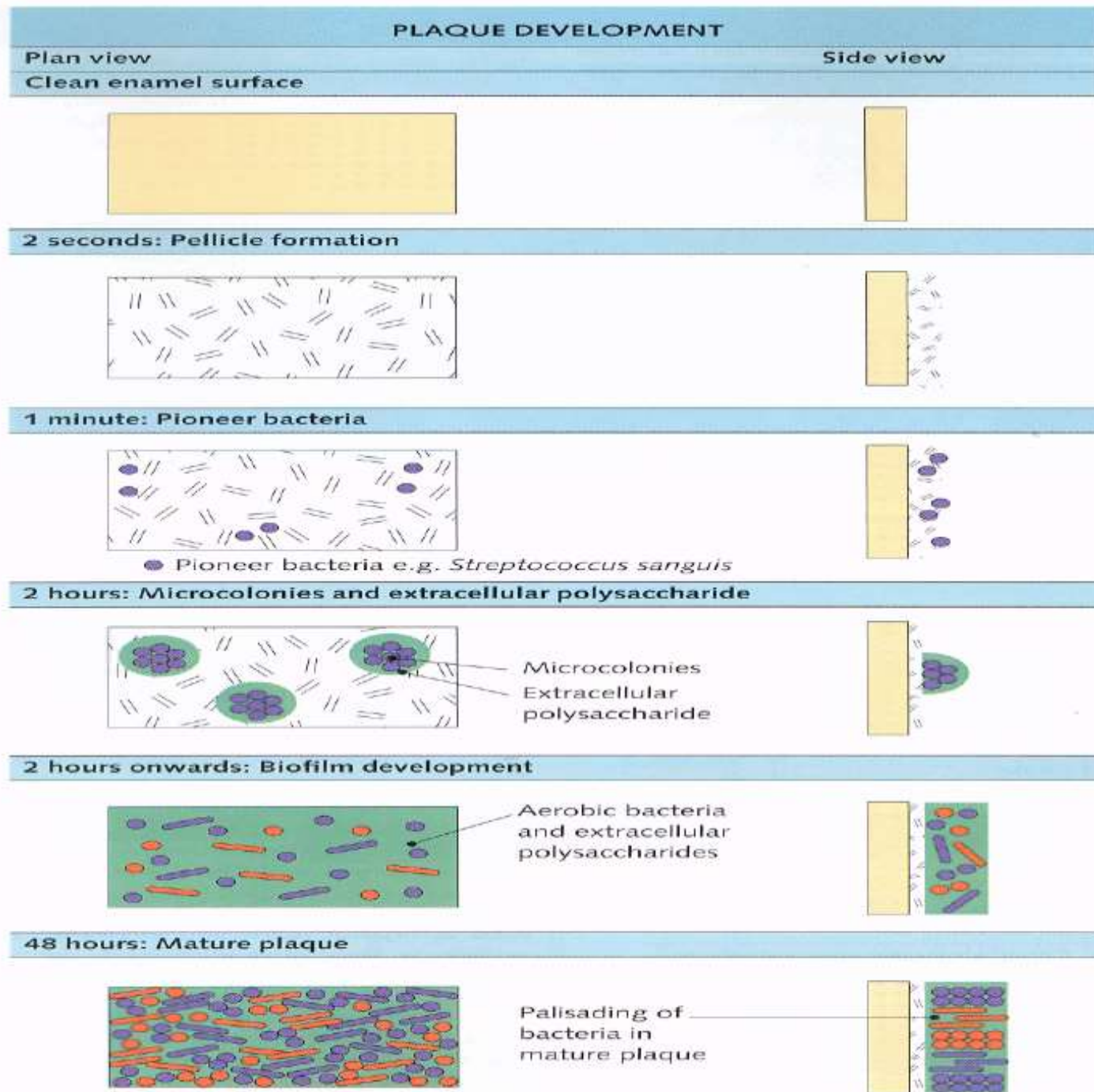


Fig. 21.11 Summary of dental plaque development on a clean enamel surface.

Фази формування зубної бляшки

1 фаза

- утворення пелікули – від декількох хвилин до 2-х годин;
- 1-ий день: грам+ коки (стрептококи) і палички (актиноміцети), позаклітинні полісахариди.

Це так звана **рання** зубна бляшка.

2 фаза – динамічна бляшка – до 4-5 днів.

- зменшення кількості грам+ коків
- зростання кількості грамваріабельних ниткоподібних лептотрихій, грам– вейлонел і фузобактерій.

У людей з гарною адаптивною здатністю, так званою «високою природною санацією», мікробіоценоз зубної бляшки може підтримуватись в цьому стані протягом значних проміжків життя.

Така **зубна бляшка** називається **рівноважною**, адже співвідношення мікроорганізмів не змінюється навіть за відсутності систематичного чищення зубів.

3 фаза – зріла зубна бляшка – від 6-7 днів і більше.

Зубна бляшка приймає остаточний по складу симбіонтів вигляд, хоча кількісні зрушення в ній відбуваються постійно.

У **зрілій** зубній бляшці різко знижується кількість аеробних видів – нейсерій, ротій, факультативно-анаеробних стрептококів. Переважають анаеробні ниткоподібні бактерії і палички.

Така бляшка може довгий час залишатись рівноважною, її слід називати зрілою **стабільною** зубною бляшкою

За умов неправильної і нерегулярної чистки зубів в зубній бляшці:

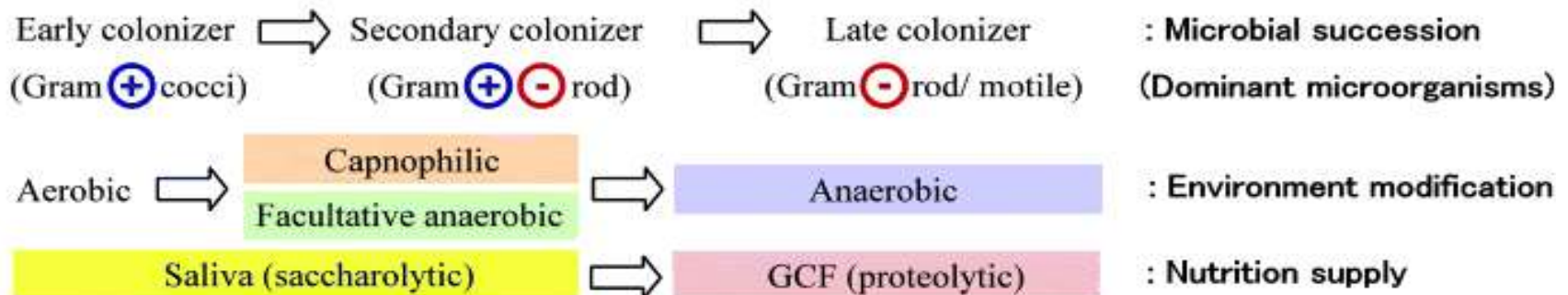
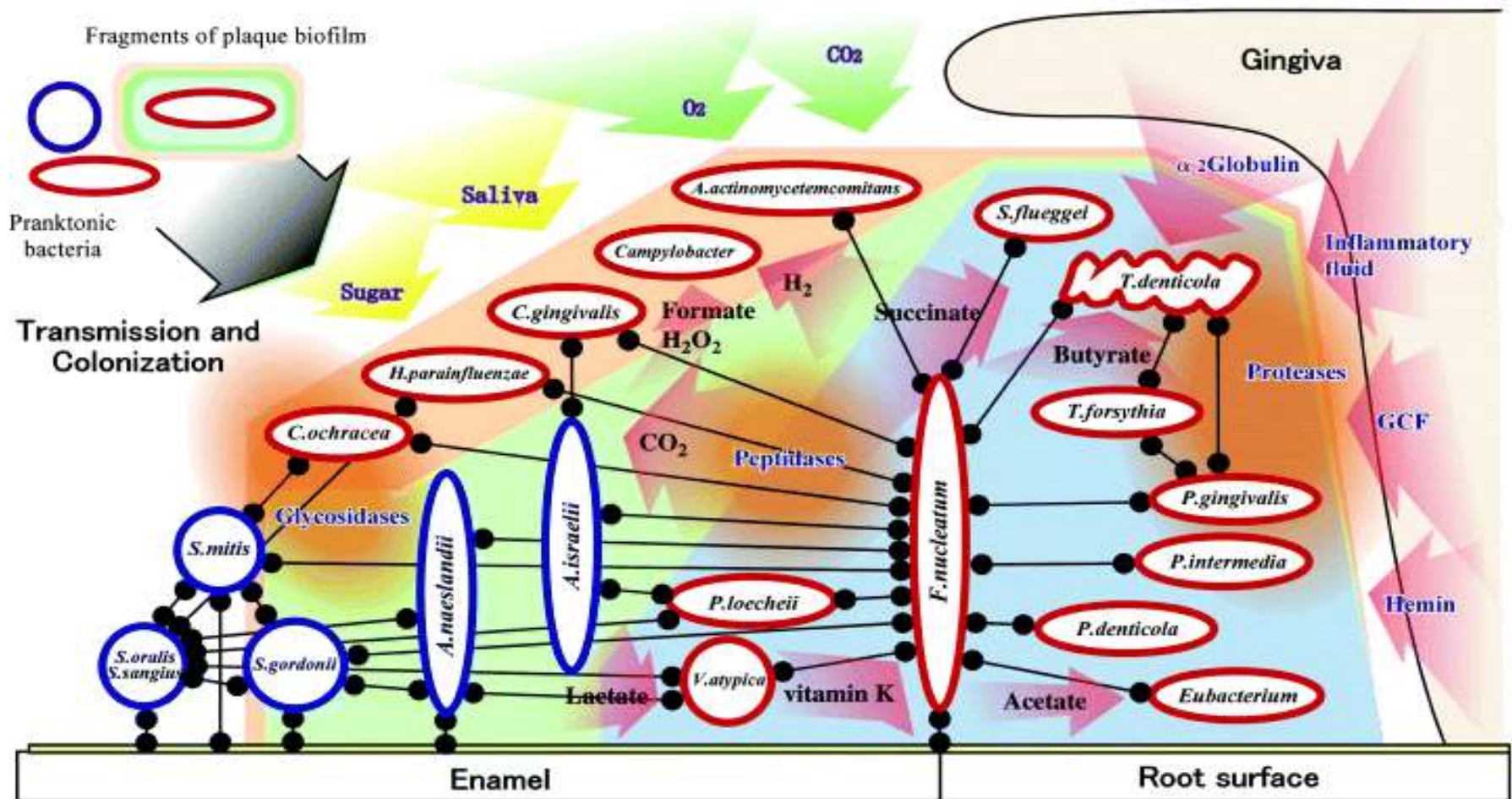
- різко збільшується кількість облігатно-анаеробних бактерій (бактероїди, фузобактерії, превотели, спірохети).

Таку бляшку називають **зрілою нестабільною** або **прогресуючою**.

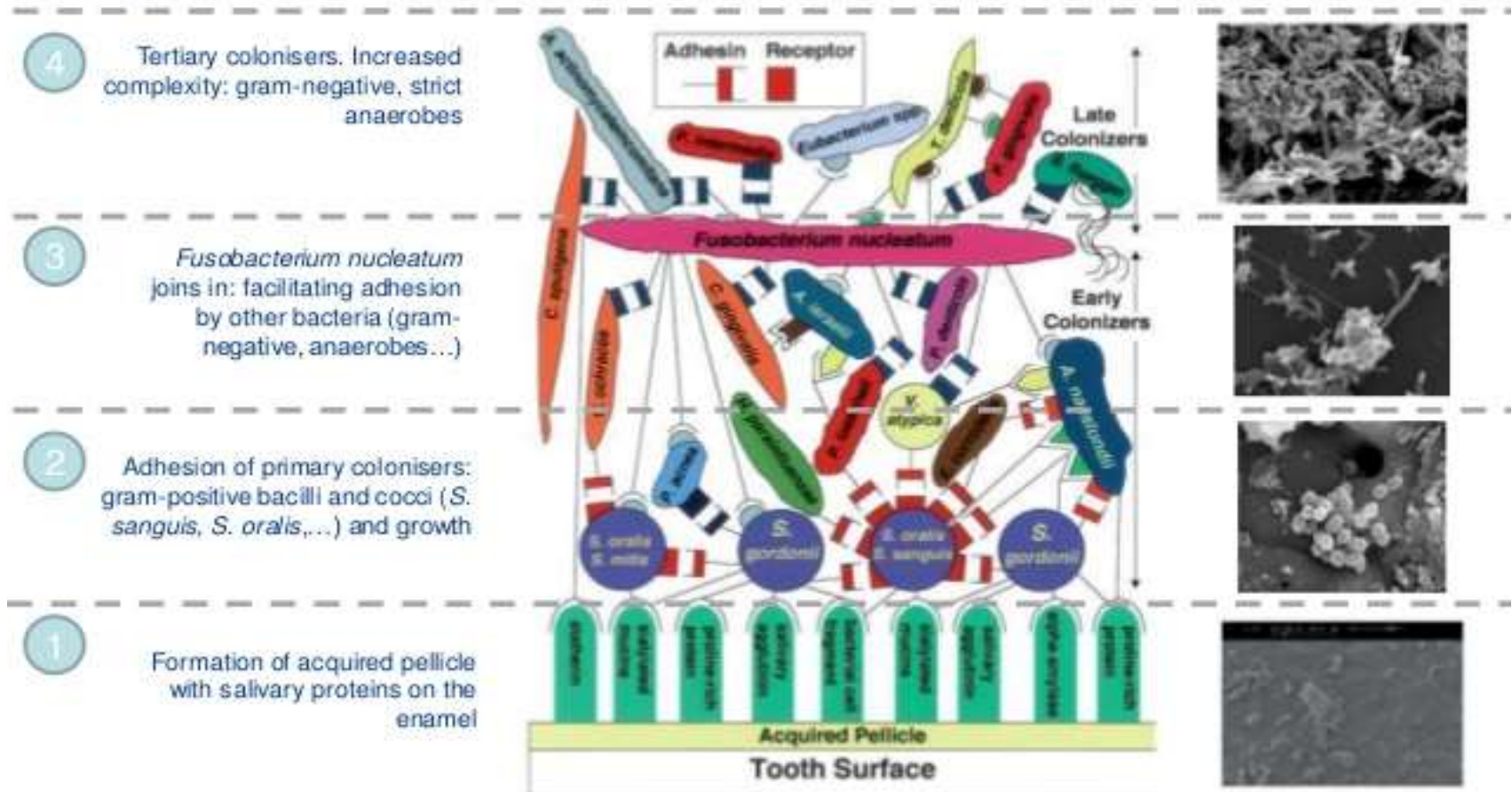
Вона характеризує негативний стан гігієни порожнини рота і може індукувати розвиток **гінгівіту** і **пародонтиту**.

Просторово-часова модель формування мікробіоценозу –

поділ представників бактеріального співтовариства залежно від часу, що пройшов з моменту початку колонізації



BIOFILM FORMATION





Фрагменти ясенної біоплівки.
Скануюча електронна мікроскопія.



Коагрегація *F.nucleatum* і *P.gingivalis*

Зміна складу мікрофлори зубної бляшки (біоплівки):

домінування аеробних і факультативно-анаеробних форм, переважно грам+ коків



переважання облігатно-анаеробних
грам– паличок і звивистих форм

Зубний камінь – кальцифікована зубна бляшка

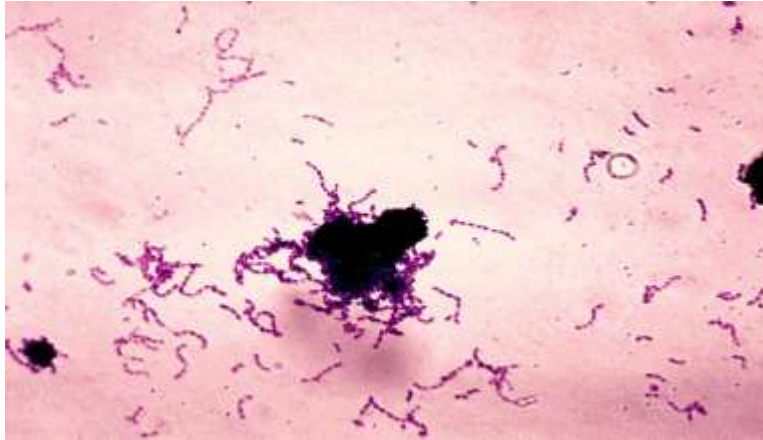
склад: фосфат кальцію, загиблі клітини і мікроорганізми

На поверхні зубного каменю знаходиться біоплівка, утворена живими бактеріями і їх позаклітинними полімерами.



Карієсогенна мікрофлора

З карієсом асоційовані:



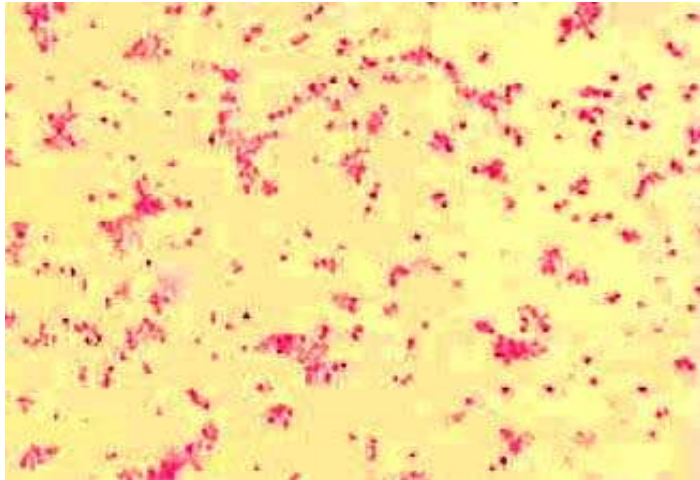
Streptococcus mutans,
S.sobrinus,
S.gordonii,
Actinomyces spp.,
Lactobacillus spp.

Streptococcus spp.

Фактори патогенності *S.mutans*, що сприяють адгезії до емалі зуба, процесу демінералізації і деструкції органічної основи зуба:

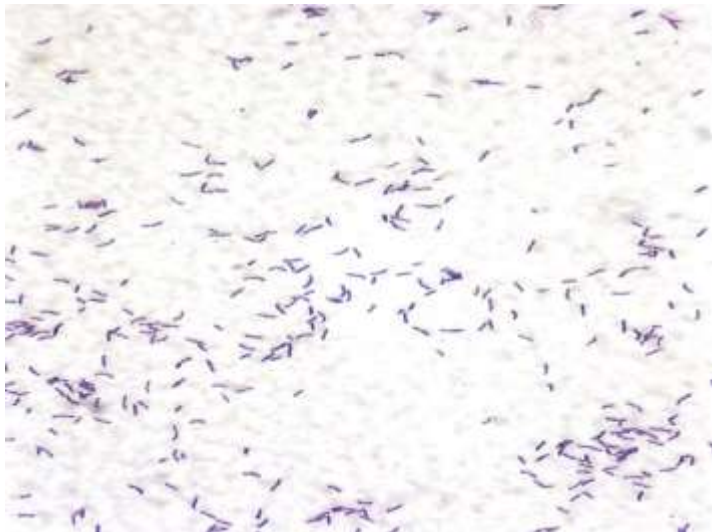
- здатність утворювати із сахарози нерозчинні полімери, що сприяють постійній колонізації емалі зуба;
- виживання у кислому середовищі, токсичному для більшості інших мікроорганізмів порожнини рота.

Карієслімітуюча мікрофлора



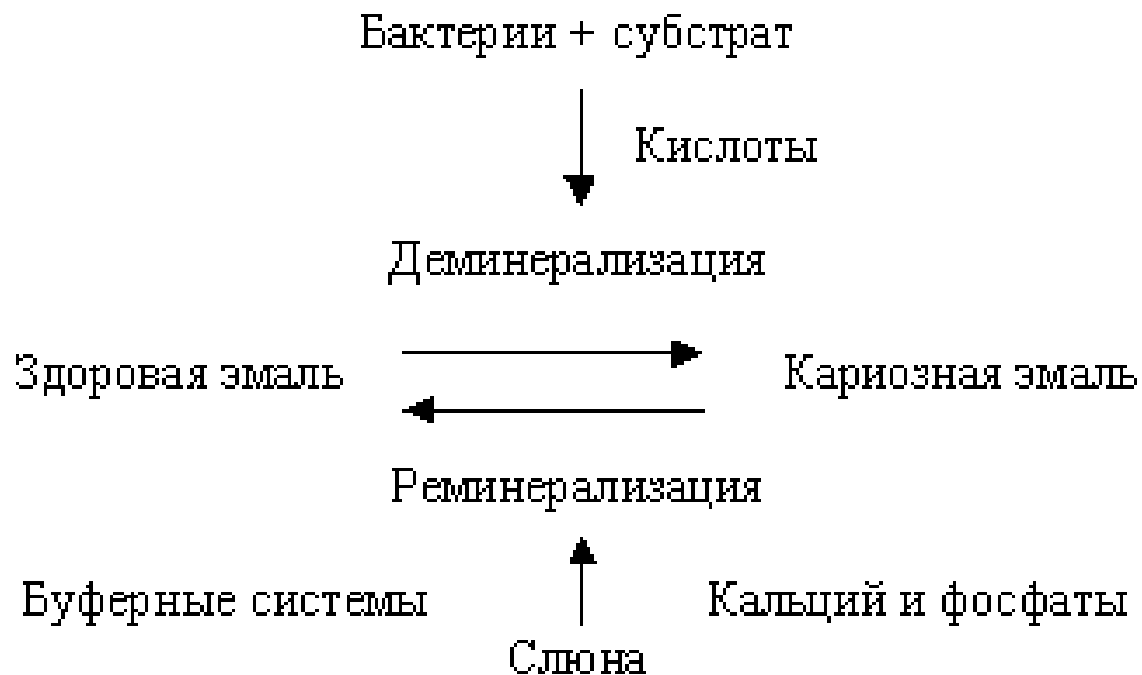
Veillonella parvula

- **Вейлонели** володіють антикаріозним потенціалом:
- - використовують кислоти для свого метаболізму, зміщуючи середовище біоплівки у лужний бік
- - гальмують процеси демінералізації емалі.



Corynebacterium spp.

- **Дифтероїди**
- - грають важливу роль у порожнині рота, як стабілізуючий фактор орального мікробіоценозу, так як синтезують вітаміни, зокрема вітамін К
- грають антагоністичну роль як конкуренти за розміщення у процесі колонізації на емалі зуба (сайтспецифічна конкуренція)



Карієс являє собою розчинення зубної емалі під тривалим впливом органічних кислот, що утворюють бактерії.

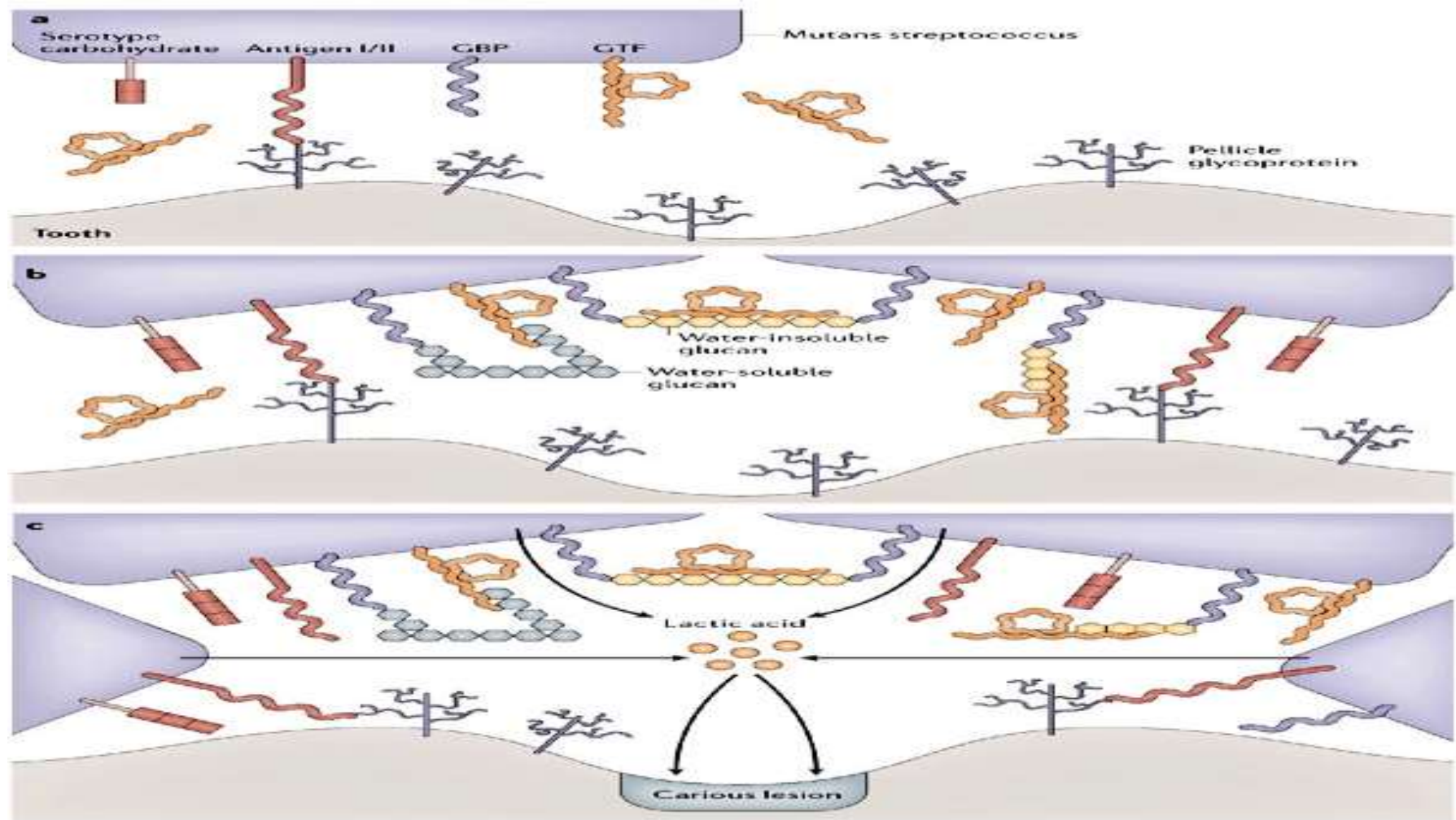


В нормі емаль омивається слиною, яка при фізіологічних значеннях рН пересичена кальцієм і фосфатом.

При високому вмісті цукру у їжі стрептококи синтезують молочну кислоту.

Якщо рН у зубній бляшці опускається нижче критичного рівня (біля 5,5), то баланс між ремінералізацією і демінералізацією порушується, і починається карієс.

Тривалі періоди закислення сприяють розчиненню мінеральної речовини і постійному руйнуванню зуба.



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Immunology

Метаболізуючи сахарозу їжі, *S. mutans* утворює глікани (декстран і леван). Водонерозчинні полімери глікану допомагають бактеріям прикріпитися до поверхні зубів. Молочна кислота, що утворюється, викликає руйнування твердих тканин зуба.

Імунне регулювання резидентної мікрофлори порожнини рота

Імунітет до бактерій порожнини рота опосередковується секреторними (sIgA) або циркулюючими у крові антитілами, що потім проникають у ясенну рідину (IgG і IgM).

У різних дослідженнях показані і прямі і зворотні зв'язки між чутливістю до карієсу і рівнем імуноглобулінів.

Склад резидентної мікрофлори порожнини рота контролюється комбінацією імунних механізмів і бактеріального антагонізму.

Карієс і захворювання пародонта – це результат екологічного дисбаланса між компонентами резидентної мікрофлори та імунним захистом хазяїна.

Етіологія та патогенез гінгівіту

Загальна кількість мікроорганізмів за умов гінгівіту у 10-20 разів більша, ніж у здоровому пародонті.

У **період перед розвитком гінгівіту** у зубо-ясенній борозні виявлено превалювання **актиноміцетів**.

За умов **тривалого гінгівіту** у під'ясенній флорі виявляли збільшену кількість грамнегативних паличок – **фузобактерії, бактероїди, гемофільні палички, кампілобактер**, які складали **45%** усієї мікрофлори, що культивується.

Грампозитивні палички, здебільшого, **актиноміцети**, виявляли з частотою **25%, у 27%** виділяли грампозитивні стрептококи.



Вплив бактеріальних токсинів обумовлює запальну реакцію з набряком ясенних сосочків, гіперемією та лейкоцитарною інфільтрацією.

Гіпотези виникнення пародонтиту

Неспецифічна: Всі бактерії бляшки однаково можуть бути збудниками захворювання. Воно розвивається після того, як розміри бляшки досягнуть порогового рівня і захисні механізми макроорганізму будуть неспроможні нейтралізувати бактерії бляшки і їх токсичні продукти.

Специфічна: Патогенність зубної бляшки пов'язана з наявністю або збільшенням у її складі “пародонтопатогенних” мікроорганізмів.

Екологічна: Зовнішні впливають на екологію зубної бляшки, запускаючи зміни складу резидентної мікрофлори бляшки, що призводить до переваги патогенних мікроорганізмів над коменсальними.

Гіпотези виникнення пародонтиту

На сьогодні **об'єднують специфічну і екологічну гіпотези:**

Специфічність бактерій стимулюється тим, що мікроорганізми біоплівки розвиваються під екзогенним або ендогенним впливом і витісняють інші бактерії. Тому запальні захворювання розглядають як **оппортуністичну інфекцію**, що залежить не тільки від присутності пародонтопатогенних бактерій, але і від середовища, яке сприяє їхньому розмноженню (локальні зміни рН, анаеробна ніша, зміни імунного захисту та ін.).

Мікрофлору пародонтальної кишені розцінюють як **зумовлюючий фактор** виникнення пародонтиту, який діє в умовах імунної відповіді організма-хазяїна і певних умовах зовнішнього середовища.

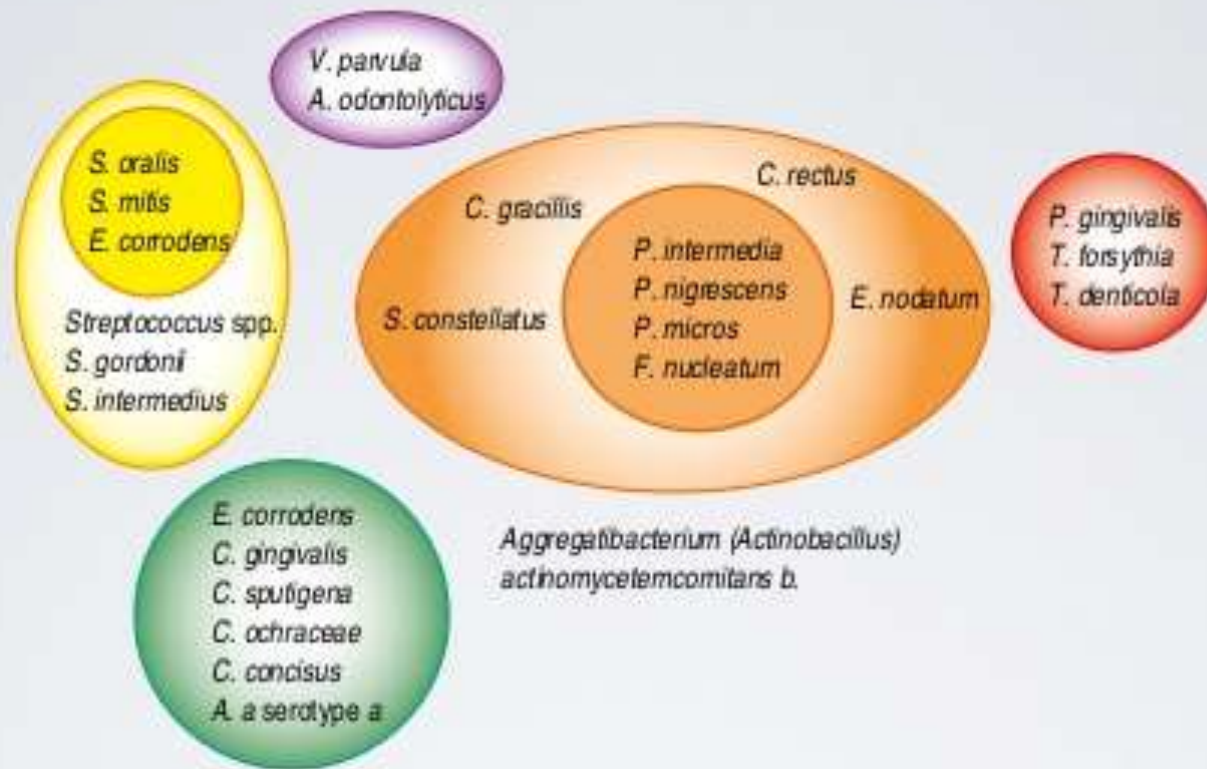
Роль мікрофлори у розвитку запальних захворювань пародонта

Основні **пародонтопатогени** заселяють ротову порожнину починаючи з періоду новонародженості (методом ПЛР виявили у **40–45%** здорових дітей та підлітків).

Передаються **контактним шляхом** із слиною від батьків до дитини, від чоловіка до дружини.

Найважливіше значення має **порушення асоціативних взаємовідносин представників резидентної мікрофлори порожнини рота: часткове або повне витіснення облігатних видів, посилене розмноження факультативних специфічних грамнегативних анаеробів.**

Мікробні комплекси дентальної біоплівки (Socransky S.S.,1998)



Purple, Yellow, Green: Healthy Gingival sulcus

Red, Orange: Periodontal pockets

Характеристика пародонтопатогенної мікрофлори

Пародонтопатогени першого порядку:

- **Porphyromonas gingivalis** облигатно анаеробна бактерія, експресує три сильних фактори вірулентності (фимбрії, гінгіпаїни і ліпополисахарид), що безпосередньо беруть участь в деструкції тканин пародонта.
- **Aggregatibacter actinomycetemcomitans**, грамотрицательная нерухома факультативно анаеробна кокобацила. Виробляє сильний лейкотоксин (екзотоксин), що руйнує лейкоцити, моноцити і нейтрофіли, таким чином, атакуючи фактори вродженої імунної відповіді. Лейкотоксин викликає утворення пор у клітинних мембранах і у високих концентраціях викликає лізис клітин.
- **Tannerella forsythia** продукує протео- і гліколітичні ферменти, активність яких корелює з клінічними ознаками пародонтиту.

Характеристика пародонтопатогенної мікрофлори

Пародонтопатогени другого порядку:

- **Treponema denticola** - спирохета, що має високі адгезивні властивості, токсичність, рухливість. Здатні утворювати асоціації з іншими бактеріями, сприяючи поширенню запального процесу. Присутність у пацієнта, окрім інших пародонтопатогенів *T.denticola* - сигнал того, що процес з локального може перейти до генералізації.
- **Prevotella intermedia** - нерухома паличкоподібна бактерія, має потужні адгезивні властивості, що дозволяє їй швидко колонізувати ділянки тканин. Ці мікроби першими колонізують ротову порожнину спочатку інфекційного процесу. Якщо *P.intermedia* виявляється у пацієнта як моноінфекція, як правило, це означає саме початок захворювання. Якщо вона виявляється з іншими пародонтопатогенами, це вказує на прогресування захворювання, в той час як при стабілізації процесу вона, як правило, відсутня.

Всі мають здатність до інвазії, утворення токсинів, внутрішньо-клітинного паразитування в ясенному епітелії і тканинах пародонта.

У розвитку пародонтиту приймають участь

Коінфікуючі агенти:

- гриби (*Candida albicans*),
- віруси (*Herpes simplex virus*, *Cytomegalovirus*),
- хламідії (*Chlamydia trachomatis*),
- найпростіші

Опортуністичні мікроорганізми:

- зустрічаються в організмі постійно, але кількість їх значно збільшується за умов розвитку пародонтиту.

На сприйнятливість до інфекцій пародонта впливають деякі генетичні фактори. До них відносяться поліморфізм генів, контролюючих хемотаксис нейтрофілів, утворення IL-1 та TNF, а також Fc-рецепторів фагоцитів.

Утворення цитокінів, їх типи, локалізація і кількість регулюються індивідуальними особливостями хазяїна (спадковість + спосіб життя) і взаємодією бактерій з клітинами хазяїна.

За умов різного поєднання цих факторів – умов середовища, фізіологічних особливостей індивідуума, характеру інфекції – результуюче утворення цитокінів спрямоване на імунний захист або, навпаки, на деструктивну (патологічну) відповідь.

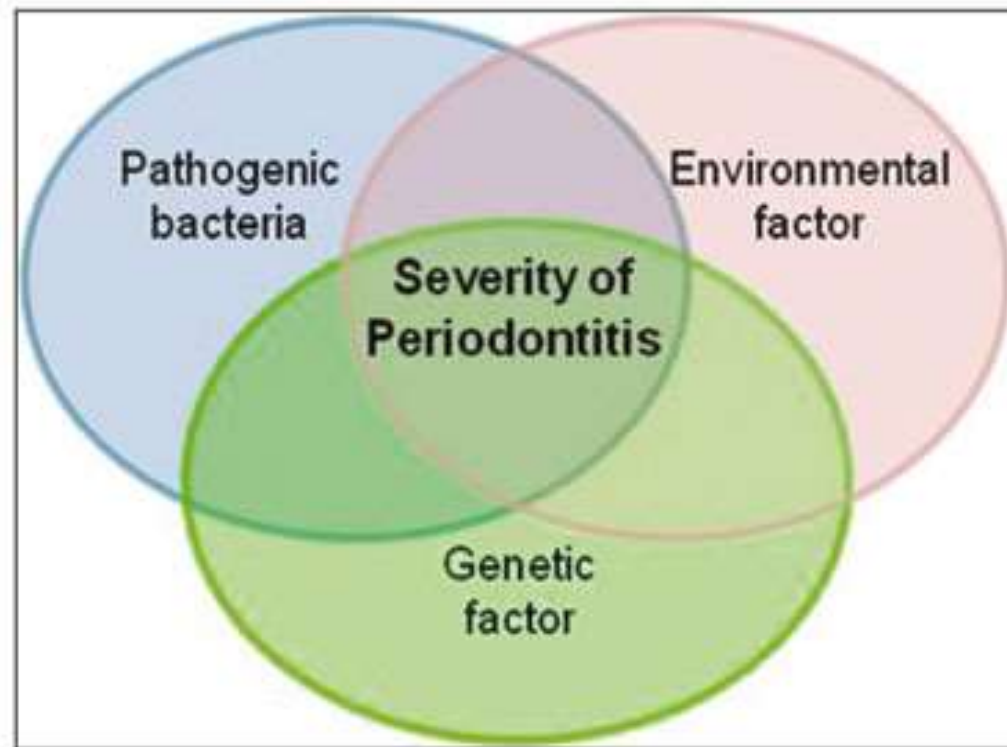
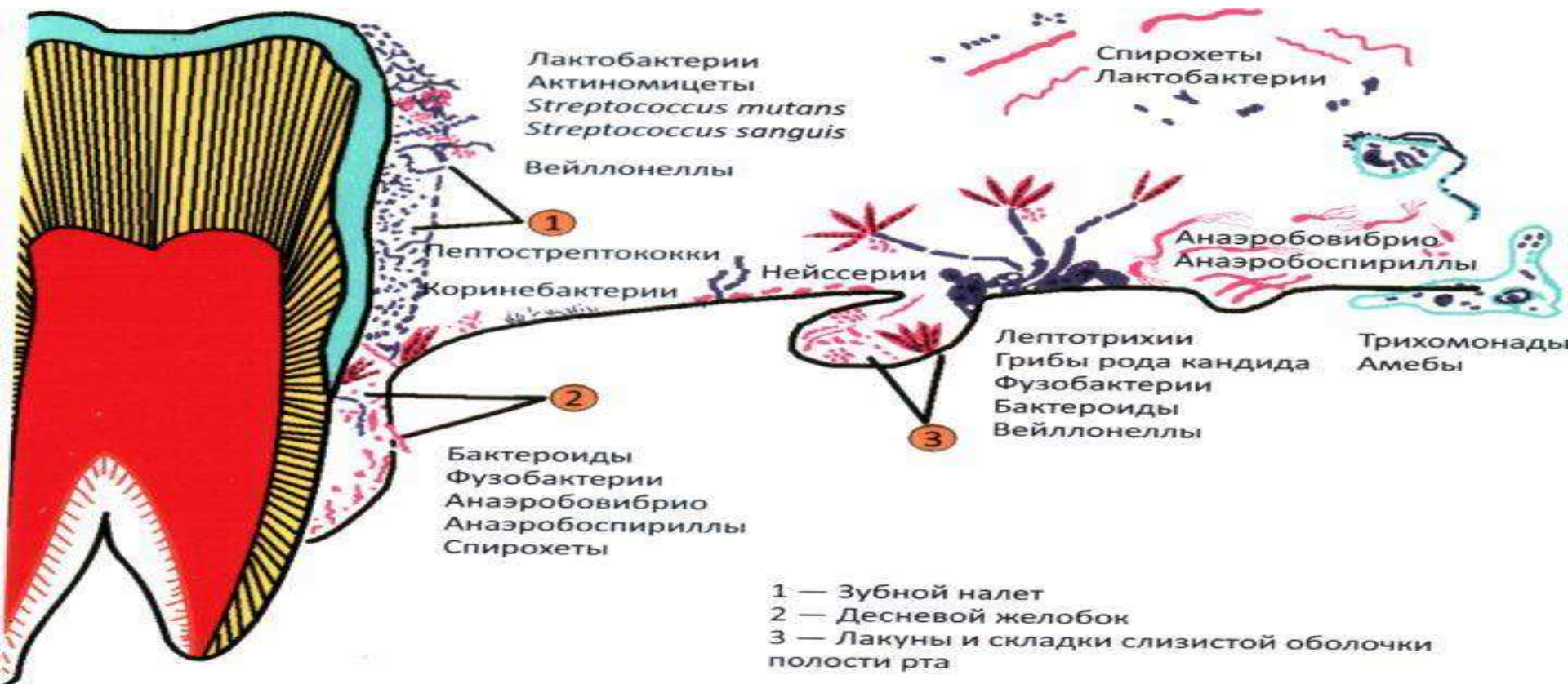


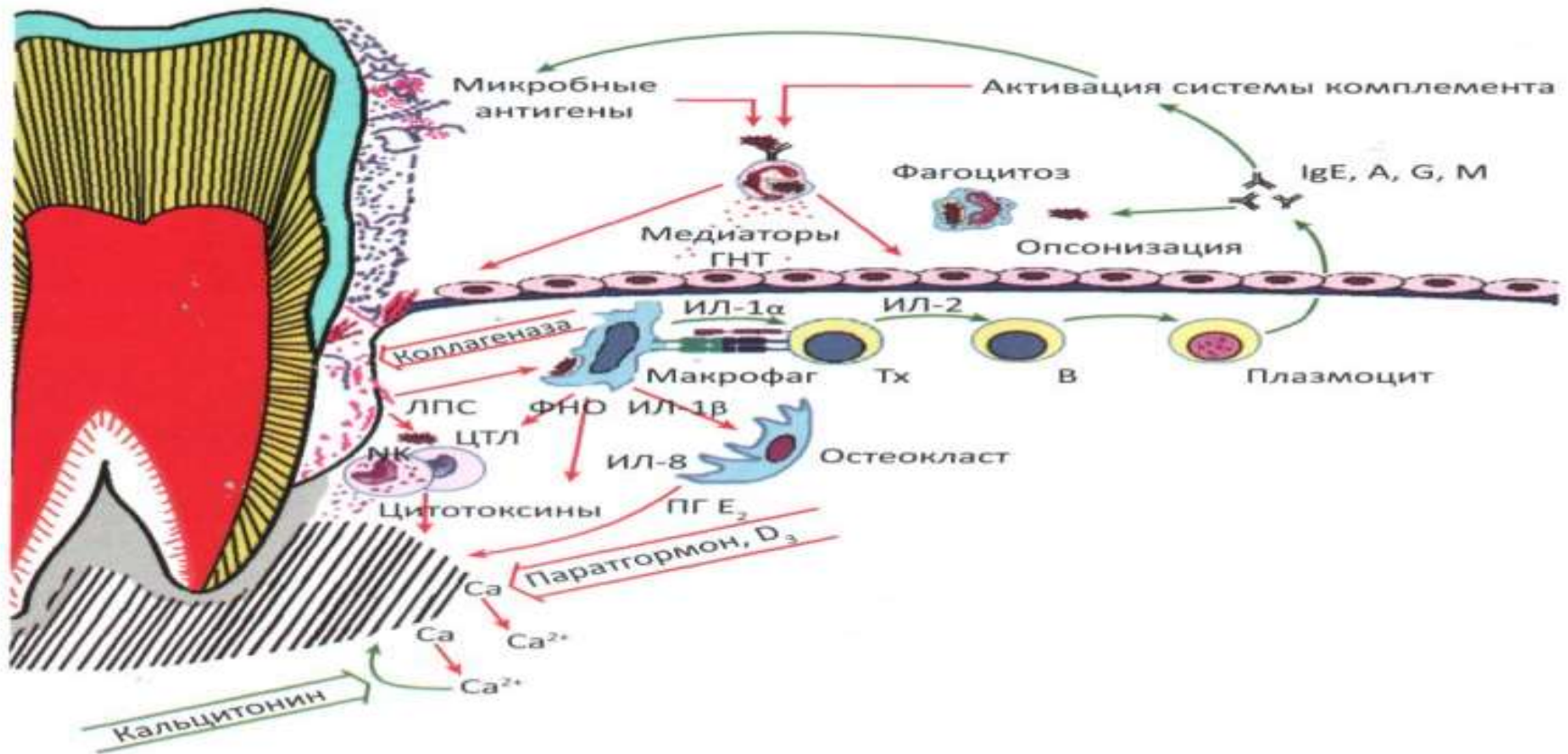
Fig. 1. Factors involved in the severity of periodontitis.

Вірулентні властивості бактерій та їх здатність ухилятися від імунного захисту



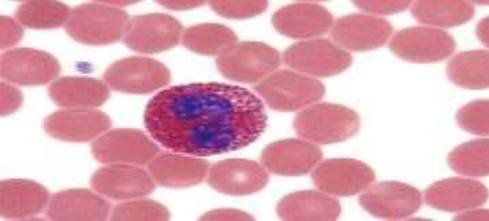
Деструкція тканин пародонта може бути обумовлена здатністю вірулентних бактерій викликати гіперімунну відповідь організму і послаблювати імунний захист.

Для цього бактеріям достатньо мати чисельну перевагу, яку вони досягають завдяки своїй здатності до активного росту і накопиченню у біоплівці.



Виділяючи субстанції, що уражують тканини, стимулюючи власний ріст (за рахунок поживних речовин із зруйнованих клітин) і отримуючи чисельну перевагу над нейтрофілами (захисним бар'єром), мікроорганізми сприяють розвитку захворювання.

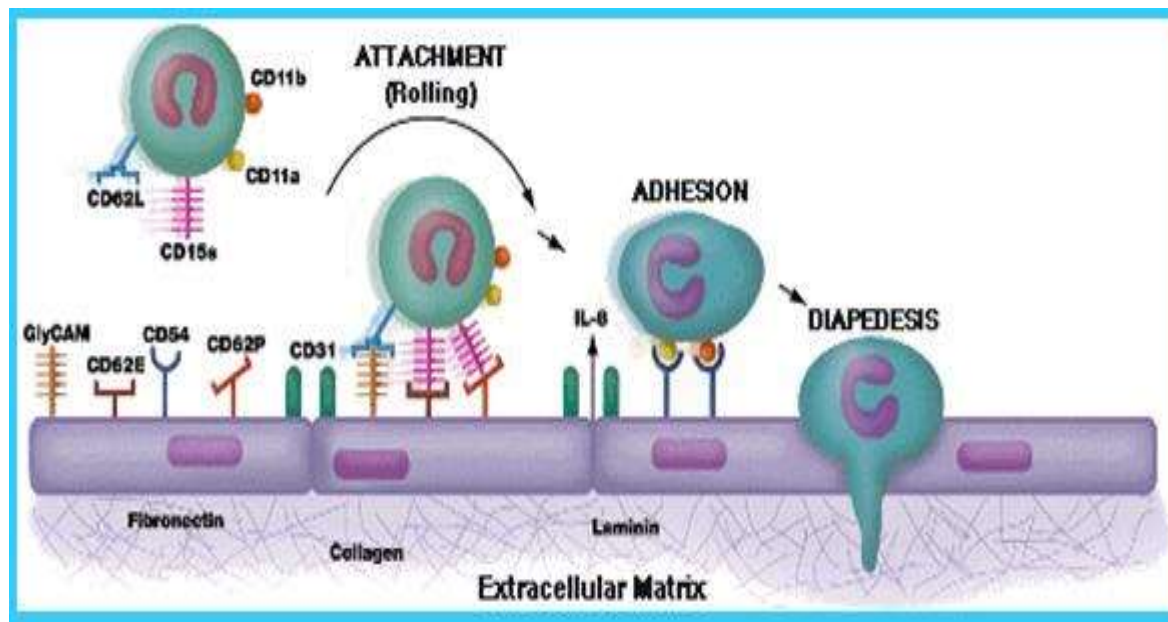
Ухиляння від імунного захисту (продукція ISF, інвазія епітеліоцитів) дозволяє мікроорганізмам довести свою чисельність до таких рівнів, які здатні ініціювати деструктивні процеси.



Роль окремих факторів імунного захисту: нейтрофіли і антитіла

За умов пародонтиту, як і гінгівіту, нейтрофіли створюють бар'єр уздовж сполучнотканинного епітелію і всередині ясенної борозни або пародонтальної кишені. Вони виконують функцію першої лінії захисту від мікроорганізмів дентальної біоплівки.

В осіб з дефіцитами функції нейтрофілів спостерігаються ранні форми пародонтиту, що важко перебігають. Правильне функціонування нейтрофілів є дуже важливим для стримування патологічних змін у пародонті. Бактерії зубної бляшки можуть долати цей бар'єр у випадку функціональної недостатності нейтрофілів.

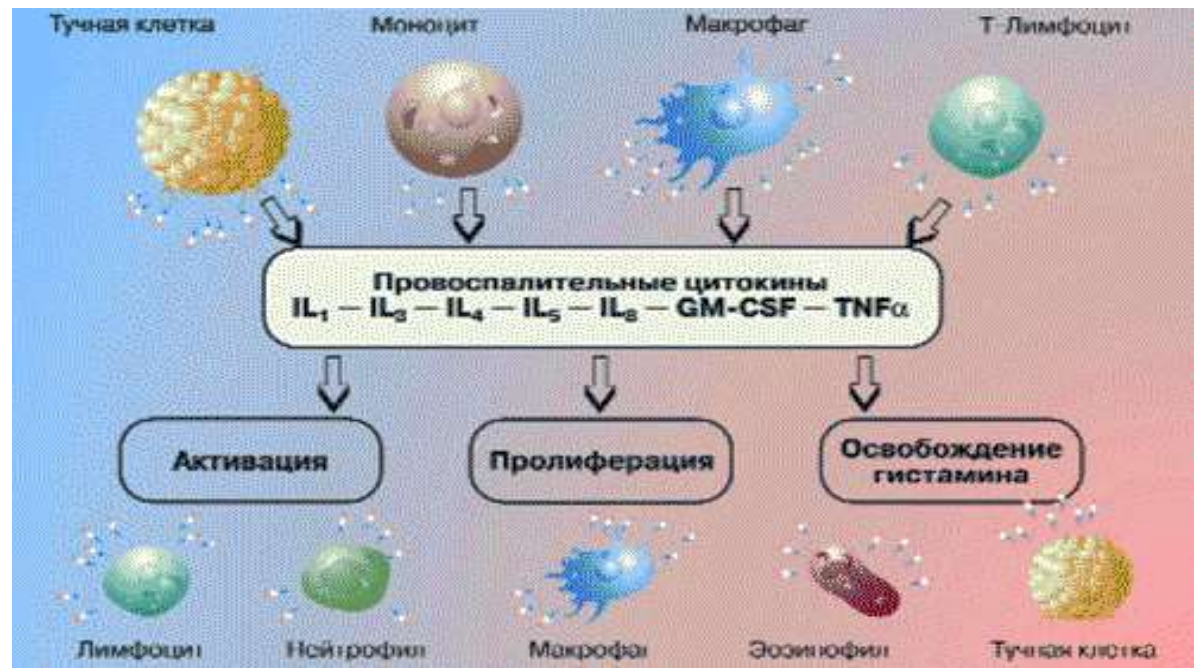
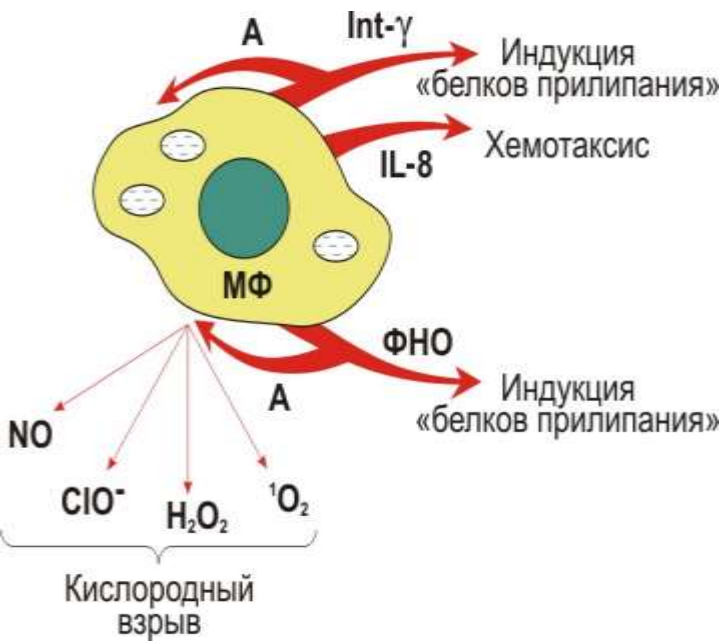


Роль окремих факторів імунного захисту: нейтрофіли і антитіла

Надлишкова присутність нейтрофілів у вогнищах запалення може призводити до деструкції тканин пародонта. Під час взаємодії з бактеріями нейтрофіли синтезують і виділяють цитокіни, які уражують клітинні компоненти пародонта: ендотеліоцити, кератіноцити, фібробласти.

Виділення простагландинів може сприяти ферментативному ушкодженню тканин і резорбції кістки.

У сироватці і ясенній рідині хворих на пародонтит виявляються антитіла до пародонтопатогенних мікроорганізмів.



Неспроможність факторів захисту ясенної борозни

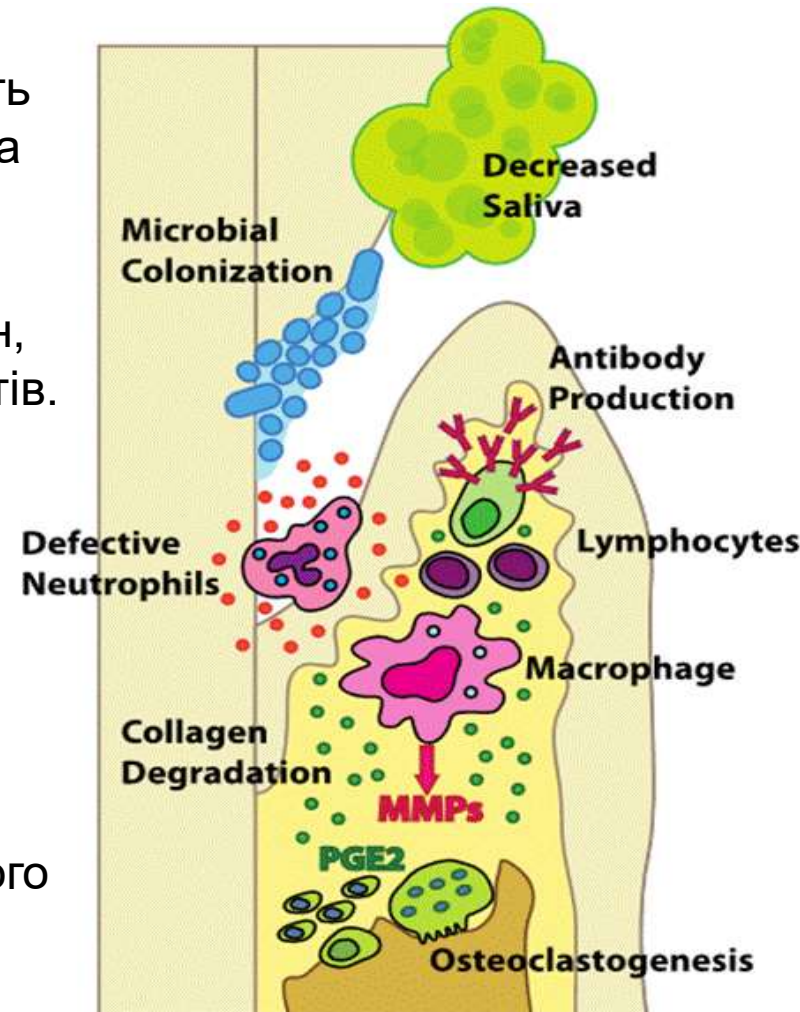
Під час дозрівання зубної біоплівки збільшується видовий і кількісний склад грамнегативних бактерій. Зросла чисельність в безліч факторів вірулентності сприяють подоланню місцевих механізмів захисту хазяїна.

P.gingivalis секретують ферменти, що викликають руйнування компонентів системи комплемента та антитіл. Це зменшує опсонізацію бактерій у ясенній борозні та пародонтальній кишень.

A.Actinomycetemcomitans секретує лейкотоксин, що викликає загибель нейтрофілів та моноцитів.

Ці вірулентні фактори підвищують виживання патогенних бактерій у біоплівці і сприяють вражаючій дії бактеріальних компонентів на довколишні тканини.

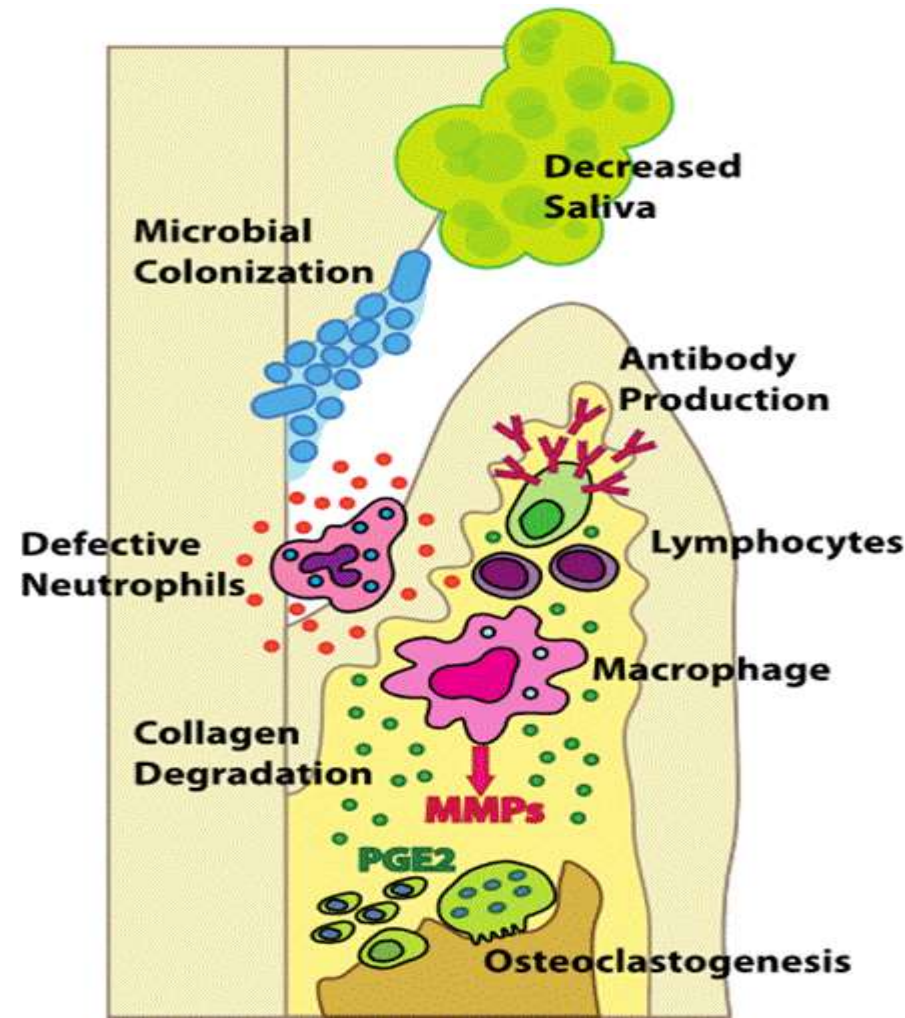
Виявлення у ясенній рідині специфічних IgG свідчить про те, що фактори вірулентності мікроорганізмів в достатній кількості і досить довго контактували з компонентами вродженого і адаптивного імунітету.



Неспроможність факторів вродженого імунітету

Ліпополісахариди пародонтопатогенних бактерій взаємодіють з макрофагами, що індукує утворення цитокінів і медіаторів запалення. Головний з них IL-1 пов'язаний з механізмами деструкції кісткової тканини та лізісом колагену.

Окрім цього ліпополісахариди бактерій індукують синтез і секрецію простагландину E2, який приймає участь у резорбції кісткової тканини.



Неспроможність факторів адаптивного імунітету

Раннє ураження пародонта характеризується присутністю макрофагів і Т-лімфоцитів.

Для стійкого ураження притаманне збільшення кількості В-лімфоцитів і плазматичних клітин.

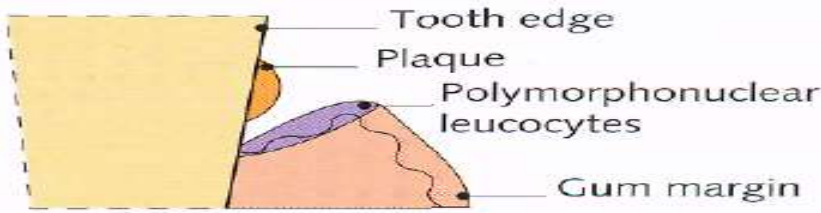
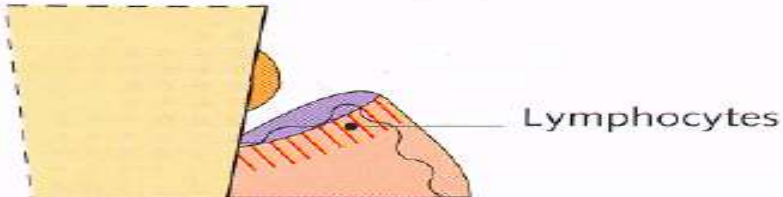
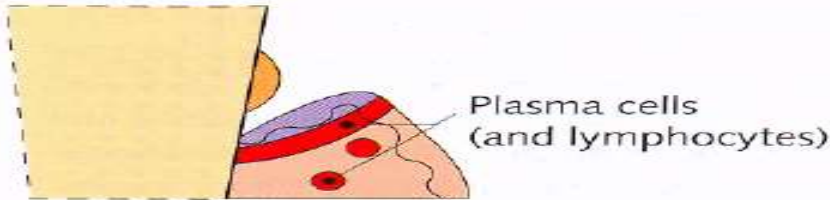
THE DEVELOPING PERIODONTAL LESION	
The initial lesion	
Within 4 days of plaque accumulation Acute inflammation Inflammatory cells occupy 5–10% of gingival connective tissue	 Labels: Tooth edge, Plaque, Polymorphonuclear leucocytes, Gum margin
The early lesion	
After 7 days of plaque accumulation Predominance of lymphocytes and macrophages Inflammatory cells occupy 15% of gingival connective tissue Early collagen destruction	 Label: Lymphocytes
The established lesion	
Predominance of plasma cells Proliferation of dentogingival epithelium to form pocket epithelium	 Label: Plasma cells (and lymphocytes)

Fig. 24.5 Summary of the histological features of the developing periodontal lesion.

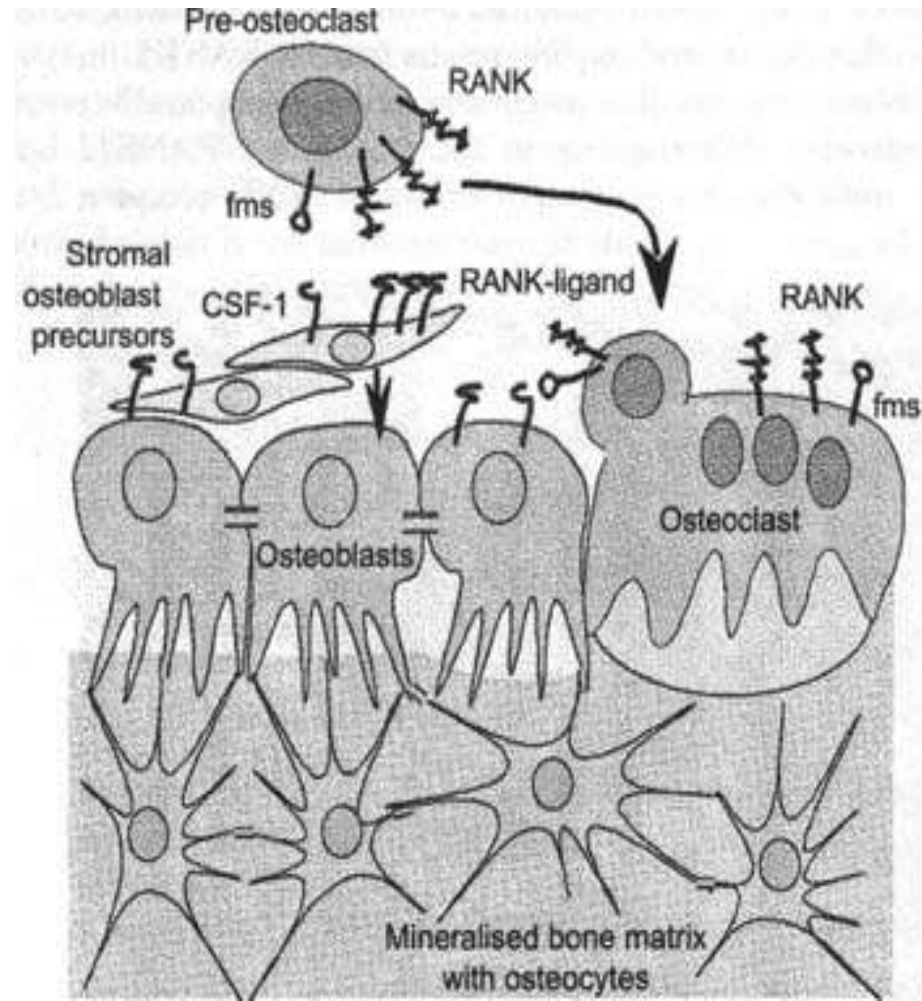
Роль клітин імунної системи у резорбції кістки

У процесах резорбції і перебудови кісткової тканини приймають участь білки RANK-L, RANK та інгібіторний білок остеопрогерін (OPG).

Рецептором RANK-L є білок RANK на поверхні попередників остеокластів.

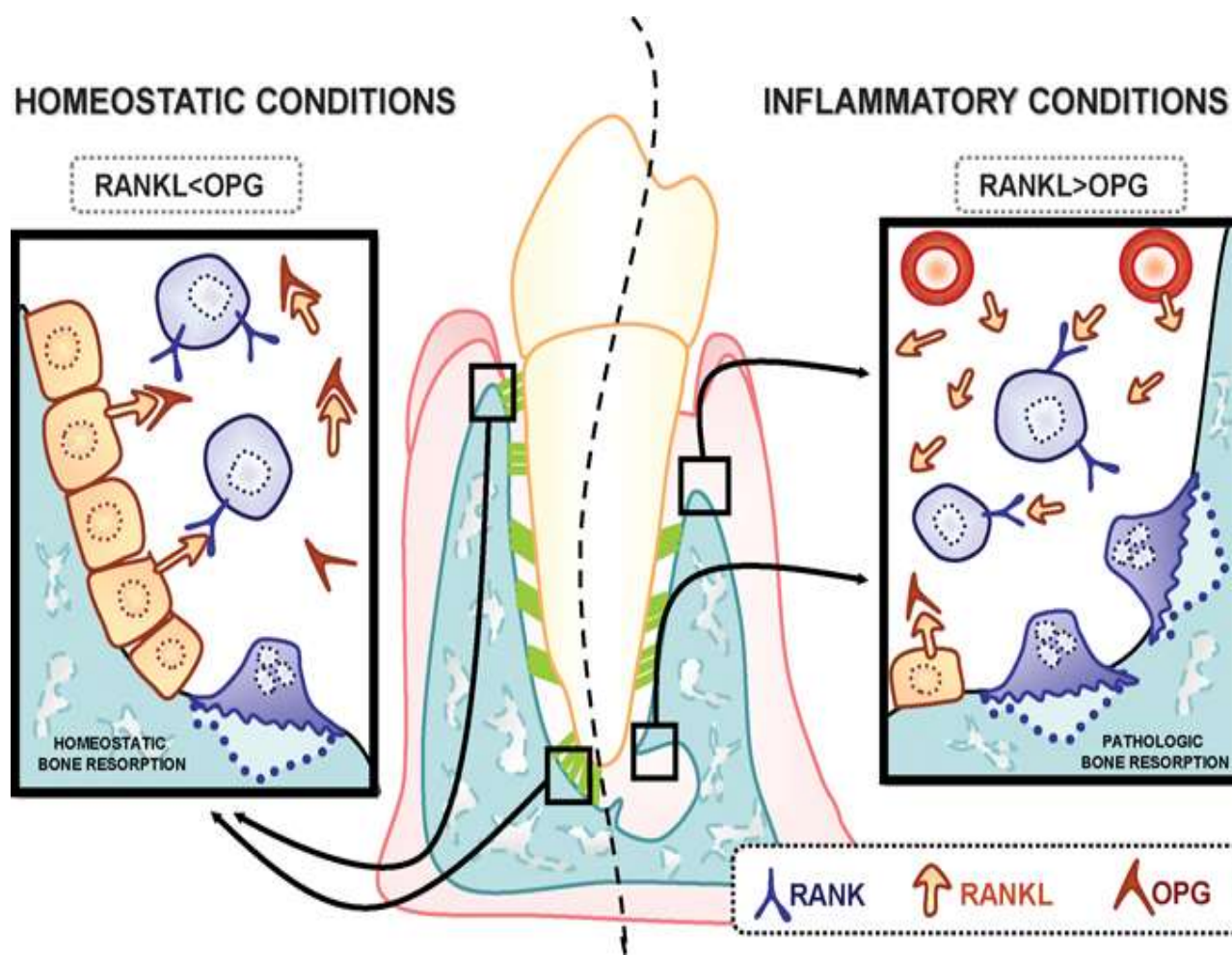
У кістковій тканині RANK-L експресується остеобластами і може активуватися прозапальними цитокінами, зокрема, IL-1, IL-6, IL-11, IL-17, TNF- α та простагландином E2.

Активація RANK-L призводить до продукції і активації остеокластів.

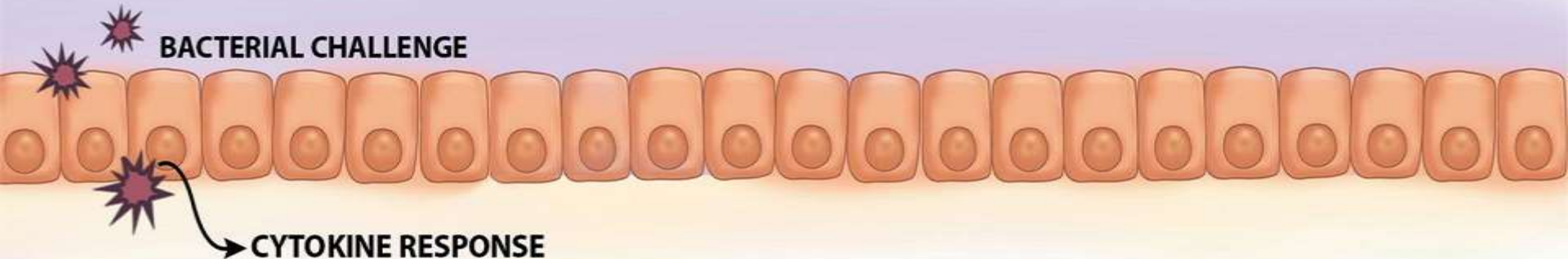


Роль клітин імунної системи у резорбції кістки

Перебудова і резорбція кістки залежить від балансу між RANKL/RANK та інгібіторним білком OPG.



Cytokines & Periodontal Disease



INNATE IMMUNITY

PMN



MØ



TNF- α , IL-1, IL-6

ADAPTIVE IMMUNITY

Th1



IFN- γ

Th17



IL-17

Th2



IL-4

Tregs



IL-10, TGF- β

CHARACTERISTIC
CYTOKINES

PROTECTIVE
FEATURES

No literature
evidence

Anti-osteoclastogenic
IFN- γ *in vitro*

No literature evidences
Th1/Th2 inhibition (?)

Anti-osteoclastogenic
IL-4 and IL-10 - *in vivo* & *in vitro*

DESTRUCTIVE
FEATURES

Pro-inflammatory
RANKL inducers

Pro-inflammatory
Th1 cells: RANKL+

Pro-inflammatory
Th7 cells: RANKL+
& RANKL inducers

B-cell lesion hypothesis
B cells: RANKL+

No literature
evidence

Роль клітин імунної системи у резорбції кістки

Т-лімфоцити експресують RANK-L і індукують остеокласти.

Утворення прозапальних цитокінів і активація лімфоцитів посилюється експресія RANK-L на клітинах у вогнищі запалення, що створює умови для кісткової резорбції.

Periodontal Disease Osteoimmunology

