

СОЗДАНИЕ СРЕДСТВ ДЛЯ ГИГИЕНЫ ПОЛОСТИ РТА С ФЕРМЕНТАМИ, НАПРАВЛЕННЫХ НА РАЗРУШЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК**Мешечко М. И.** (Университет ИТМО), **Микеная О. С.** (Университет ИТМО)**Научный руководитель – к. б. н. Аль-Шехадат Р. И.**

(Университет ИТМО)

Введение. Бактериальные биопленки, формируемые кариесогенными бактериями, участвуют в формировании кариеса зубов — патологического процесса, характеризующегося деминерализацией и разрушением твердых тканей зуба и способного приводить, помимо потери пораженного зуба, к заболеваниям периодонта и пульпы. Кариес может быть излечен следующими способами: реминерализацией эмали путем приема препаратов на ранних стадиях развития заболевания, когда отсутствуют поражения эмали; применением композитов, блокирующих развитие бактерий в порах эмали пораженного участка, при незначительных поражениях эмали; инвазивными методами лечения, включающими в себя препарирование пораженных тканей с последующим запечатыванием полученной полости пломбировочным материалом, в тяжелых случаях [1, 2]. Для профилактики кариозного поражения могут применяться различные методы: фторирование зубов, не подразумевающее борьбу с возбудителями кариеса; применение вакцин, действующих избирательно против одного вида/одного штамма [3]. В качестве решения также могут быть использованы средства для гигиены полости рта в форме пасты и спреев, содержащих ферменты, способные разрушать бактериальные биопленки. В работе отражены подходы к подбору компонентов средств, включению ферментов в состав и способу определения активности средства на модельных биопленках.

Основная часть. Матрикс биопленок состоит из полимеров, производимых бактериями: нуклеиновых кислот, белков, полисахаридов [4]. Для удаления биопленок применяется механическое воздействие, очистка поверхности зубов при помощи ирригатора. Обработка биопленок ферментами класса гидролаз позволяет расщепить компоненты матрикса — биополимеры — до их субъединиц — мономеров, которые не способны участвовать в создании объема матрикса и, следовательно, давать возможности бактериям размножаться в условиях защиты матриксом биопленок. Ферменты, в отличие антибиотиков, не влияют на симбиотическую микрофлору организма человека, так как инактивируются собственными защитными системами организма (соляной кислотой в желудке, пептидазами). Для использования в средствах гигиены полости рта (пастах, спреях и др.) приоритетно применение нуклеаз и гликозил-гидролаз: нуклеазы, расщепляющие нуклеиновые кислоты, которые в ротовой полости содержатся в биопленках и внеклеточной ДНК человека, не имеющей функциональной нагрузки при поддержании нормального метаболизма; гликозил-гидролазы, разрушающие полисахариды, характерные для бактерий ротовой полости и их биопленок, а также входящие в состав остатков пищи. Применение пептидаз, направленных на гидролиз молекул белков и полипептидов, нежелательно по причине влияния на белки, содержащиеся в ротовой полости (амилазу, лактоферрин, пероксидазы, глюкозидазу, муцин). Для проведения исследования были выбраны рекомбинантные ферменты: β -N-ацетилгексозаминидаза *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, расщепляющая поли-N-ацетилгексозамин — основу матрикса биопленок многих грамположительных бактерий, и эндонуклеазу первого типа *Serratia marcescens*, способная лизировать до моно- и олигонуклеотидов как одно-, так и двуцепочечные нуклеиновые кислоты с высокой эффективностью и низкой специфичностью (~1.944.444 ед/мг).

Включение ферментов в состав средств, имеющих активность против биопленок, должно сопровождаться модификациями состава во избежание влияния на состав активных компонентов — ферментов, направленных на разрушение биопленок. К примеру, в качестве абразива в некоторых пастах используются соли кальция, способные как сорбировать, так и высаливать при частичном растворении ферменты, имеющие белковую природу, поэтому в

ходе проведения исследований был использован диоксид кремния марки Аэросил-200, незначительно меняющий pH своего водного раствора; опытным путем было показано, что использование в качестве жидкой составляющей средств гигиены полости рта фосфатного буферного раствора концентрацией 0.05 М позволяет поддерживать требуемый pH в составе средства как в форме пасты, так и в форме спрея; в качестве поверхностно-активного вещества в зубных пастах, как правило, применяется лаурилсульфат натрия, анионоактивный ПАВ, влияющий на нековалентные связи в белках и разрушающий тем самым структуру активного центра и центра связывания фермента, используемого в качестве активного компонента пасты. Вместо лаурилсульфата натрия был использован неионный ПАВ, имеющий высокое пенообразование и безопасный для здоровья человека, — кокамидопропил бетаин. Использование в качестве влагоудерживающего агента и растворителя глицерина вместо часто применяемого в производстве стоматологических паст и спреев сорбитола позволяет сохранить активность термолабильных ферментов, увеличив тем самым эффективность применения средств в форме пасты и спрея против биопленок.

Для оценки активности против биопленок применяется методика оценки на искусственных биопленках, культивируемых *in vitro*. Инокулят бактерий вносился в жидкую среду, находящуюся в лунках планшета для культивирования; клетки культивировались в планшете, после чего следовала окраска гистологическим красителем (кристаллическим фиолетовым), связывающимся с веществами матрикса биопленки; фиксация этанолом и химический лизис клеток. Количественная оценка эффективности удаления определялась по оптической плотности, измеряемой на длине волны, соответствующей максимуму поглощения кристаллического фиолетового, — 630 нм [5]. Преимуществами метода является простота получения биопленок и количественной оценки, высокая сходимость (96.7% – 101.4%), полученная экспериментально и находящаяся в диапазоне 95% – 105%, принятом для метрологической оценки биологических величин.

Вывод. Расщепление гидролитическими ферментами для удаления биопленок эффективно и безопасно по причине расщепления различных групп субстратов, против которых направлены используемые ферменты и которые могут быть локально инактивированы организмом человека после выполнения их функции. Подбор компонентов состава должен отвечать целям сохранения активности ферментов и, по возможности, повышения активности за счет применения кофакторов, входящих в состав средства. Оценка активности средств против биопленок может проводиться *in vitro* с высокой степенью точности.

Источники информации:

1. Основные технологии лечения кариеса зубов: учебное пособие для самостоятельной работы ординаторов по специальности Стоматология терапевтическая / сост.: С.И. Бородовицина, Е.А. Глухова, Е.А. Лавренюк; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: ОТСиОП, 2019. – 100 с.
2. Основные технологии лечения кариеса зубов: учебное пособие для самостоятельной работы ординаторов по специальности Стоматология терапевтическая / сост.: С.И. Бородовицина, Е.А. Глухова, Е.А. Лавренюк; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: ОТСиОП, 2019. – 100 с.
3. Veiga N. [и др.]. Methods of Primary Clinical Prevention of Dental Caries in the Adult Patient: An Integrative Review // Healthcare. 2023. № 11 (11). С. 1635.
4. Donlan R. M. Biofilms: microbial life on surfaces // Emerging Infectious Diseases. 2002. № 9 (8). С. 881–890.
5. Lee G. Development of Dextranase for Toothpaste Supplement for Efficient Removal of Dental Biofilm. | EBSCOhost [Электронный ресурс]. URL: <https://openurl.ebsco.com/contentitem/doi:10.36838%2Fv4i5.3?sid=ebsco:plink:crawler&id=ebsco:doi:10.36838%2Fv4i5.3> (дата обращения: 12.01.2025).