

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ ПРИ ОДОНТОГЕННЫХ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Акмырадов Кемал – Врач стоматолог

Резюме. Представлены результаты исследования ПЦР ротовой жидкости пациентов с инфекционно-воспалительными заболеваниями челюстей, лиц контрольной группы. Вирусы выявлены у 58,3% пациентов с хроническим апикальным периодонтитом – преимущественно вирус папилломы человека, 66,7% – с острым одонтогенным периоститом челюстей, преобладал цитомегаловирус, 16,7% (вирус простого герпеса) лиц контрольной группы.

Ключевые слова: вирусная инфекция, ПЦР, одонтогенные инфекционно-воспалительные заболевания.

Summary. The article presents the results of a PCR study of the oral fluid of patients with infectious inflammatory diseases of the jaws, persons in the control group. Viruses were detected in 58.3% of patients with chronic apical periodontitis – mainly human papillomavirus, 66.7% – with acute odontogenic periostitis of the jaws, cytomegalovirus prevailed, 16.7% (herpes simplex virus) of the control group.

Keywords: viral infection, PCR, odontogenic infectious inflammatory diseases.

Известно, что полость рта может выступать источником инфицирования макроорганизма в целом, а также отдельных органов и систем-мишеней. К тому же токсины, вырабатываемые бактериями в полости рта, попадая в системный кровоток, могут изменять нормальную

реактивность организма человека, приводя к развитию осложнений имеющихся заболеваний.

Следует отметить также, что инфекционная патология всовременной цивилизации, учитывая ее мобильность и экономическую взаимозависимость, чрезвычайно значима при оценке

ее опасности для здравоохранения отдельно взятой страны и мирового сообщества в целом, учитывая риски возникновения пандемий. Рост населения, глобализация и урбанизация, ухудшение состояния окружающей среды, необоснованное масштабное применение антибактериальных пре-

паратов отражается и на нарушении равновесия в популяции микроорганизмов, активизируя латентные инфекции, в том числе вирусной и грибковой этиологии. Соответственно на первый план в клинических манифестациях инфекционно-воспалительных заболеваний выходят длительно персистирующие инфекции, имеющие неспецифические проявления с гипозергической симптоматикой, этиологические возбудители которых к тому же могут явиться триггерами в развитии неврологических, онкологических, гематологических, стоматологических заболеваний, поражать почки, печень, суставы [12, 16]. В связи с перечисленным выше необходимость понимания важности вопросов инфекционной патологии и безопасности врачами различных специализаций, в том числе и стоматологами является жизненно важной проблемой [12].

Качественный и количественный состав микробиоты полости рта, интенсификация современной стоматологии с повышением инвазивности манипуляций привели к повышению риска инфицирования пациентов аутофлорой. К тому же следует помнить, что в настоящее время доля лиц с отягощенным преморбидным фоном среди стоматологических пациентов составляет 93,3% [12], среди которых индивидуумы с острыми и хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями, в том числе вирусными гепатитами, герпесвирусной инфекцией, ВИЧ-инфекцией, микозами, часто длительно болящие острыми респираторными вирусными инфекциями [5, 12, 17]. И в ряде клинических ситуаций пациенты не знают о наличии у них того или иного заболевания, а в условиях амбулаторного стоматологического приема у врача не всегда имеется информация об общесоматическом здоровье пациента. Соответственно,

каждый пациент, который обратился за стоматологической помощью, должен рассматриваться врачом-стоматологом любой специализации как источник эпидемиологической опасности.

Абсолютное большинство пациентов на амбулаторном хирургическом стоматологическом приеме – это лица с диагнозом хронический апикальный периодонтит, среди лиц с острыми инфекционно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области, требующими проведения первичной хирургической обработки гнойного очага – острые одонтогенные периодонтиты челюстей. Данные заболевания этиологически преимущественно связывают только с бактериальной микрофлорой, которая приводит к деструкции костной ткани, однако в настоящее время определяется тенденция к росту числа заболеваний этиологически достоверно связанных с вирусами, в том числе и в стоматологии [6, 13, 14].

Для определения возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний используются различные методы диагностики, одним из которых является проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР – метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определенных фрагментов нуклеиновой кислоты (дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) или рибонуклеиновой кислоты (РНК)) в биологическом материале (пробе). В основе метода ПЦР лежит многократное удвоение определенного участка ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях (*in vitro*). В результате нарабатываются количества ДНК, достаточные для визуальной детекции. При этом происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце.

Чувствительность метода значительно превосходит таковую у иммунохимических и микробиологических методов, а принцип метода позволяет диагностировать наличие инфекций со значительной антигенной изменчивостью [2, 3].

Если рассматривать методы лабораторной диагностики для определения этиологического агента методом ПЦР, то следует отметить, что их подразделяют на две основные группы: прямые, направленные на непосредственное выявление возбудителя в образце (бактериологический, бактериоскопический, вирусологический), его антигенов (иммунофлуоресцентный) или генетического материала (ПЦР); не прямые (серологические) методы, направленные на выявление антител, вырабатываемых в качестве ответа макроорганизма, в биологическом материале (например, иммуноферментный анализ).

Для прямых методов диагностики инфекционных заболеваний важной особенностью является необходимость строгого соответствия места взятия биоматериала локализации процесса и соблюдение технологии взятия материала на исследование. Даже при правильном определении места взятия материала необходимо учитывать тот факт, что он должен содержать максимальную концентрацию искомым микроорганизмов и должен быть максимально лишен нежелательных примесей, ингибирующих ПЦР. Например, при вирусологическом исследовании на наличие внутриклеточных патогенов проба должна содержать максимальное количество клеток, например, эпителиальных (что важно для определения вируса папилломы человека (ВПЧ)). При исследовании на наличие вируса Эпштейна – Барр (ВЭБ) и цитомегаловируса (ЦМВ) целесообразно использовать лейкоцитарную массу крови.

Проблема диагностики и лечения заболеваний, ассоциированных с вирусами, в последние годы становится все более актуальной в связи с ростом заболеваемости и их высоким онкологическим потенциалом в различных возрастных группах. Хроническое носительство онкогенных вирусов (доказано для вируса папилломы человека (ВПЧ) и вируса Эпштейна – Барр) является существенным фактором риска возникновения рака ротоглотки и гортани. Клетками-мишенями для ВПЧ являются эпителиальные клетки кожи и слизистых оболочек, где вирус оказывает на эпителий продуктивное или трансформирующее действие, в результате их трансформирующего воздействия возникают дисплазии, развитие которых может привести к малигнизации [9–11]. Также одним из самых распространенных вирусных агентов, способных поражать все ткани человеческого организма, что подтверждается результатами морфологических и вирусологических исследований, является вирус простого герпеса 1-го и 2-го типа. Заболевания, вызываемые вирусом простого герпеса, принято называть герпетической инфекцией. Данная инфекция занимает одно из ведущих мест среди всех вирусных болезней человека. ВПГ проникает в организм человека через поврежденные кожные покровы и слизистые оболочки, а в ряде случаев и трансплацентарно [2, 7]. Также одним из распространенных вирусных инфекционных заболеваний является цитомегаловирусная инфекция, которая длительное время может не иметь клинических проявлений, вызывая поражение внутренних органов и центральной нервной системы. Распространение цитомегаловируса может происходить через сперму, слюну, кровь, грудное молоко, а также в быту при использовании одной посуды, зубной щетки и предметов гиги-

ены, что обуславливает актуальность цитомегаловирусной инфекции для стоматологов. Заражение происходит при контакте инфицированным человеком. К тому же, цитомегаловирус, попав в организм, остается в нем навсегда, длительно персистируя, однако при развитии дисфункции иммунной системы вирус активизируется и развивается цитомегаловирусная инфекция разной степени тяжести. Тяжелая форма заболевания возникает у ВИЧ-инфицированных, у больных СПИДом, при химиотерапии у онкобольных, а также у лиц, перенесших трансплантацию органов и во время беременности. У большинства лиц цитомегаловирусная инфекция протекает без каких-либо симптомов либо отмечаются признаки схожие с ОРЗ.

Цель работы – провести исследование ДНК вирусов методом ПЦР для их выявления в ротовой жидкости при инфекционно-воспалительных процессах челюстно-лицевой области и у здоровых лиц.

Объекты и методы

Исследования проводили на клинических базах кафедры хирургической стоматологии Белорусского государственного медицинского университета в 5-й городской клинической поликлинике и во 2-м стоматологическом отделении 31-й городской поликлиники Минска.

Верификация генома вирусов в ротовой жидкости и интраоперационном материале – содержимом дна лунки после удаления зуба проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Забранный материал оперативно в течение часа доставлялся в лабораторию медицинского центра, где проводили исследование ПЦР по выявлению ДНК возбудителей в качественном формате детекции.

Проведено 27 исследований. Пациенты с хроническим апикальным гранулематозным периодонтитом

(12 человек) составили группу сравнения 1, забор материала на исследование осуществлялся интраоперационно из лунки зуба после удаления последнего. Лица с острым одонтогенным периоститом челюстей (9) – группу сравнения 2, забор материала осуществлялся до проведения первичной хирургической обработки гнойного очага. Пациенты (6 человек), пришедшие к врачу-стоматологу для прохождения медицинского осмотра, составили группу 3 – контрольную, забор биологического материала осуществлялся из зубодесневой борозды.

Определяли ДНК следующих вирусов: *Human papilloma virus* 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, *Herpes simplex virus I*, *Herpes simplex virus II*, ДНК *Cytomegalovirus*.

Критерием включения пациентов в исследование было наличие верифицированного диагноза хронического апикального периодонтита, подтвержденного рентгенологически с определением очагов деструкции костной ткани у верхушек корней удаляемых зубов, наличие диагноза острого одонтогенного гнойного периодонтита челюсти, а также отсутствие в анамнезе общесоматических заболеваний в стадии суб- или декомпенсации, наличие информированного добровольного согласия пациента на участие в исследовании; возраст пациента не моложе 18 лет.

Критерии исключения: отказ пациента от участия в исследовании, возраст младше 18 лет, наличие общесоматических заболеваний в стадии суб- или декомпенсации, острых стоматитов.

Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета прикладных таблиц STATISTICA 10.0 и Excel. Вычисляли медиану (Me), нижний 25-й (LQ) и верхний 75-й квартили (UQ).

Результаты и обсуждение

Среди всех обследованных стоматологических пациентов у 51,9%

(14) выявлены вирусы, среди лиц с одонтогенными инфекционно-воспалительными заболеваниями – у 61,9% (13). Верифицированы ДНК вирусов простого герпеса 1-го типа – в 21,4% (3) исследований, вирус папилломы человека – в 53,8% (7), цитомегаловирус – в 28,6% (4).

Среди лиц группы 1 с хроническим апикальным гранулематозным периодонтитом вирусы определялись в 58,3% (7) исследований, среди которых преобладали вирусы папилломы человека – 71,4% (5), также определялся вирус простого герпеса 1-го типа – 28,6% (2), который был подтвержден морфологически [8].

Бактерии, обнаруживаемые в корневых каналах при периодонтите, объединяются в биопленку и встречаются в составе ассоциаций, что обуславливает хронизацию патологического инфекционно-воспалительного процесса, а состав биопленок изменяется в зависимости от течения патологического процесса и характеризуется его увеличением и сложностью, в том числе ряд исследователей отмечают возможность образования вирусных биопленок [4–6, 15].

Среди лиц группы 2 с острым одонтогенным периоститом челюстей вирусы определялись в 66,7% (6) исследований, среди которых преобладали цитомегаловирусы – в 66,7% (4), также определялся вирус папилломы человека – в 33,3% (2).

Цитомегаловирус является распространенным ДНК-содержащим вирусом, который по данным различных авторов встречается у 50–80% взрослого населения. Входными воротами для цитомегаловируса является слизистая оболочка, преимущественно верхних дыхательных путей и ротоглотки. Как правило, иммунная система здорового индивидуума не позволяет цитомегаловирусу вызывать заболевание, однако у лиц

с ослабленной иммунной системой инфекция может спровоцировать серьезные проблемы со здоровьем. В месте внедрения не наблюдается структурных изменений. После проникновения в макроорганизм, цитомегаловирус начинает атаковать моно- и лимфоциты, эпителий слюнных желез, почек, легких и других внутренних органов. При этом наблюдается цитомегалия (увеличение пораженных клеток в размерах в 3–4 раза). В ядрах клеток происходит формирование незрелых вирионов. В результате клеточные структуры приобретают вид «совиного глаза». Активное течение болезни приводит к развитию депрессии большей части звеньев иммунитета. В ответ на проникновение наблюдается развитие защитной реакции – образуются специфические антитела, и отмечается гиперчувствительность замедленного типа. Данный процесс сопровождается появлением узелковых образований лимфоцитарных инфильтратов. Клетки, которые были инфицированы, продолжают функционировать, выделяя специальный секрет, обеспечивающий маскировку вируса от защитных функций организма человека [1, 3].

Среди лиц группы 3 (контрольной) в 16,7% (1) исследований был определен вирус простого герпеса 1-го типа.

При инфицировании вирус герпеса встраивается в клетку человека с изменением ее генетического аппарата. После чего, используя ферментативные возможности клетки, вирус переключает ее на синтез своих зрелых вирусных частиц – вирионов, которые в свою очередь лавинообразно поражают все новые и новые клетки организма, что приводит к развитию заболевания [2].

Следует отметить, что наличие нарушений в системном и локальном иммунитете приводит к повышенной чувствительности к вирусной инфек-

ции. При попадании в полость носа и рта вирусы проникают в клетки эпителия, в процессе репродукции в эпителии они высвобождаются из клеток в окружающие ткани, слизистое отделяемое, приводят к резкому увеличению секреции эпителиальными клетками компонентов слизи. Вирусы взаимодействуют с белками и клетками секретов слизистых оболочек, повреждают эпителий, оказывают общетоксическое действие на организм. В результате формируется воспаление, эпителиальные и мононуклеарные клетки синтезируют провоспалительные цитокины – ИЛ-1, ФНО- α , ИЛ-8, интерферон- γ , ИЛ-10 [7].

В большинстве клинических наблюдений после видимого выздоровления вирусы остаются персистировать в клетках организма человека.

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования верифицируют наличие вирусной инфекции у 61,9% пациентов с одонтогенными инфекционно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области, что подтверждает сочетанную вирусно-бактериальную инфекцию в том числе и у пациентов с гнойным инфекционно-воспалительным процессом.

Среди лиц с хроническим апикальным гранулематозным периодонтитом вирусы определялись в 58,3% исследований, среди которых преобладали вирусы папилломы человека – в 71,4% случаев. Среди пациентов с острым одонтогенным периоститом челюстей вирусы определялись в 66,7% исследований, преобладали цитомегаловирусы – в 66,7%.

Идентификация вирусов, анализ их роли в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и шеи позволит улучшить лечение данной группы пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванькова, О.Е. К вопросу генотипирования цитомегаловирусов (обзор) / О.Е. Ванькова, Н.Ф. Бруснигина, Г.И. Григорьева // Медиаль. – 2017. – №2. – С.65–72.
2. Гузов, С.А. Патологическая анатомия герпетической инфекции: диагностика, формы, место в диагнозе: учеб.-метод. пособие / С.А. Гузов, М.К. Недзьведь. – Минск: БГМУ, 2015. – 20 с.
3. Ершов, Ф.И. Цитомегаловирусная инфекция. Современные представления об эпидемиологии, клинике, диагностике и терапии / Ф.И. Ершов, Н.В. Касьянов // Инфекция и антимикробная терапия. – 2002. – №4. – С.116–119.
4. Кабанова, А.А. Гнойно-воспалительные процессы челюстно-лицевой области и шеи. Современный подход к диагностике, прогнозированию и лечению / А.А. Кабанова, И.О. Походенько-Чудакова // Военная медицина. – 2013. – №3. – С.125–129.
5. Кабанова, А.А. Современные представления об этиологии инфекционно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области. Аналитический обзор литературы / А.А. Кабанова, И.О. Походенько-Чудакова, Ф.В. Плотников // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Т.1, вип.4. – С.21–26.
6. Клиническое руководство: диагностика, прогнозирование и лечение тяжелых осложнений инфекционно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области и шеи: Моногр. / И.О. Походенько-Чудакова [и др.]; под ред. И.О. Походенько-Чудаковой. – Минск: Изд. центр БГУ, 2016. – 398 с.
7. Ламонт, Р.Дж. Микробиология и иммунология для стоматологов / Р.Дж. Ламонт, М.С. Лантц, Р.А. Бернэ, Д.Дж. Лебланк. – М.: Практическая медицина, 2010. – 502 с.
8. Максимович, Е.В. Морфологическая верификация вируса герпеса в грануляционной ткани при хроническом апикальном периодонтите / Е.В. Максимович, С.О.А. Саид, С.Ф. Кураленя // Современная стоматология. – 2022. – №2. – С.36–40.
9. Осипов, В.Д. Вирус папилломы человека и вирус Эпштейна – Барр в диагностике и клиническом течении хронического гиперпластического ларингита / В.Д. Осипов, Г.С. Суржикова, С.Н. Филимонов, С.А. Клочкова-Абельянц // Медицина в Кузбассе. – 2019. – Т.18, №4. – С.43–45.
10. Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии; под ред. Л.П. Титова. – Минск: ГУ РНМБ, 2014. – Вып.7. – 326 с.
11. Титов, Л.П. Противовирусный иммунитет: молекулярно-клеточные механизмы, закономерности развития и иммунопатология Текст. / Л.П. Титов, И.А. Карпов // Белорусский медицинский журнал. – 2008. – №3. – С.28–35.
12. Шестакова, И.В. Инфекции в стоматологии / И.В. Шестакова, Н.Д. Ющук, И.П. Балмасова // Стоматология. – 2014. – №93 (1). – С.64–71.
13. Deep sequencing of the oral microbiome reveals signatures of periodontal disease / B. Liu, et al. // PLoS ONE. – 2012. – Vol.7. – P.1–16. doi.org/10.1371/journal.pone.0037919
14. Kabanova, A.A. The ability to form a biofilm by odontogenic infectious agents obtained from patients with odontogenic pyoinflammatory processes of various prevalence / I.O. Pohodenko-Chudakova, A.A. Kabanova // Europ. J. of Biomed. and Life Scien. – 2015. – Vol.2. – P.60–65.
15. Microbial analysis in primary and persistent endodontic infections by using pyrosequencing / B.Y. Hong, et al. // J. Endod. – 2013. – Vol.39, N9. – P.1136–1140. doi:10.1016/j.joen.2013.05.001
16. Serum markers of infections in patients with primary biliary cirrhosis: evidence of infection burden / Y. Shapira, et al. // Exp Mol Pathol. – 2012. – Vol.93, N3. – P.386–390. doi: 10.1016/j.yexmp.2012.09.012
17. The human oral microbiome / F.E. Dewhirst, et al. // J. Bacteriol. – 2010. – Vol.192. – P.5002–5017. doi: 10.1128/JB.00542-10