

УДК 616.316.1-003.7-02:616.98:[578.825+578.828]-07

Ю.Ю. Ярославская

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина  
Кафедра стоматологии детского возраста,  
детской челюстно-лицевой хирургии и имплантологии

## ВИРУСЫ ЦИТОМЕГАЛИИ И ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА КАК ЭТИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР РАЗВИТИЯ СИАЛОЛИТИАЗА

### Аннотация

Исследования касаются 11 больных с сиалолитиазом поднижнечелюстных слюнных желез. Всем больным по показаниям проводилась экстирпация пораженных слюнных желез. Биопсийный материал изучали методом культур перевиваемых тканей на наличие персистирующей инфекции вирусов цитомегалии и эпидемического паротита. Так же всем больным проводился иммуноферментативный анализ сыворотки крови для определения специфических антител вторичного иммунного ответа к вирусам эпидемического паротита и цитомегалии. Полученные результаты свидетельствуют о наличии вышеуказанных вирусов в тканях железы и специфических антител к данным вирусам в крови пациентов.

**Ключевые слова:** сиалолитиаз, персистирующая вирусная инфекция, цитомегаловирус, вирус эпидемического паротита.

### Актуальность темы

Этиологические аспекты возникновения калькулезного сиалоаденита давно обращают на себя внимание ученых. Однако, на сегодняшний день, эта тематика в литературе представлена крайне противоречиво. Существующие данные указывают на множество причинных факторов, среди которых преобладают воспалительная теория и теория нарушения минерализации, а также микробный фактор, авитаминозы, нарушение гормональной и нервной регуляции [1, 2].

Опубликованные данные, посвященные изучению морфологического патогенеза сиалолитиаза, являются более постоянными. Патологические изменения имеют, как правило, однотипную картину, заключающуюся в различной степени выраженной лимфоцитарной инфильтрации, фиброзе и склерозе [1-3].

Современные исследования указывают также на наличие микролитов кальция и фосфора, а так же кристаллов амилазы в больших слюнных железах при сиалолитиазе, образование которых трактуют, как следствие пролиферативной или деструктивной направленности воспалительного процесса. Обеспечение такой направленности хронического воспаления тесно связано с нарушениями иммунного гомеостаза [4, 5]. Этиологическим фактором этого нарушения может являться антигенное влияние персистирующих вирусов, что уже доказано предыдущими исследованиями [6, 7, 8].

Из доступной литературы, очевидно, что бессимптомное вирусноносительство является наиболее распространенным в природе, и инфицирование не сопровождается клеточной деструкцией. При его наличии специальными методами обнаруживается сам вирус, его компонент или антигенные вирусоспецифические иммуноглобулины, продуцируемые на мембране вирусосодержащей клетки. Однако они могут реактивироваться при любом провоцирующем воздействии на организм. А так как в организме большинство клеток находятся в фазе покоя клеточного цикла, то персистирующие в соединительной ткани вирусы способны реактивироваться при контакте с делящимися клетками или при любых условиях провоцирующих пролиферацию фибробластов [9].

В связи с вышеизложенным, мы обратили внимание на вирусы тропные к железистой ткани. Вирусологи рассматривают слюнные железы как наиболее перmissive орган для репродукции цитомегаловируса (ЦМВ) и вируса эпидемического паротита (ВЭП). В литературе известны экспериментальные данные получения указанных хронических вирусных инфекций "in vitro" на культурах перевиваемых тканей животных и человека. Такой метод моделирования дает возможность исключить влияние нервных и гуморальных факторов организма на течение инфекции и выявить непосредственный ответ клетки на воздействие вируса. В результате репродукции ЦМВ и ВЭП наблюдаются характерные цитопатические эффекты [10, 11].

В литературе имеются единичные публикации о выделении ЦМВ и ВЭП при хронических заболеваниях слюнных желез. Среди больных с указанной патологией мы наблюдали 4 % пациентов с сиалолитиазом, что и побудило нас к проведению вирусологических исследований у больных с сиалолитиазом [7, 8].

Целью настоящего исследования явилось выявление персистенции ЦМВ и ВЭП у пациентов с сиалолитиазом, для уточнения патогенеза указанной патологии.

### Материалы и методы исследования

Обследовано клинически, лабораторно, рентгенологически, сиалосонографически 11 пациентов с сиалолитиазом поднижнечелюстных слюнных желез с локализацией конкрементов в теле железы, в возрасте от 13 до 70 лет, из них 8 женщин и 3 мужчины. У всех пациентов брались фрагменты железы после ее экстирпации по показаниям. Для транспортировки взятую ткань помещали в специальные стерильные контейнеры с 0,9 % раствором натрия хлорида. Исследования проводились в условиях вирусологической лаборатории. Выделяли ЦМВ и ВЭП по общепринятой методике. Для разрушения тканевых клеток и освобождения из них вирусов биоптат слюнной железы суспензировался в среде 199 и подвергался трехкратному замораживанию и оттаиванию. Полученная суспензия центрифугировалась 10 мин. при 1000 об/мин. Для дальнейших исследований отбиралась надосадочная жидкость. Уничтожение сопутствующей микрофлоры исследуемого материала осуществляли путем обработки

в течение 2-х часов раствором антибиотика широкого спектра действия – ампициллином. Проверка на стерильность осуществлялась путем посева исследуемого материала в пробирку со скошенным мясопептонным агаром (МПА). Пробирку инкубировали при температуре 37° в течение 24 часов. В тоже время пробирка с исследуемым материалом находилась в холодильнике. Отсутствие признаков роста бактерий на МПА-тест, позволяло заражать культуру ткани (фибробласты почек овцы) исследуемым материалом. Заражение культуры клеток проводилось следующим образом: из пробирок с монослоем клеток отбирали среду 199 (в которой выращивали клетки), а в пробирки вносили исследуемую надосадочную жидкость, разведенную 1:1 свежей 199 средой. Пробирки с одноразовой заменой среды 199 на 3-и сутки, инкубировали при температуре 37° в течение 5 суток. После чего клетки культуры перевиваемой ткани исследовали при малом иммерсионном увеличении. Фиксация клеток осуществлялась 20 минут смесью Никифорова (1 ч. спирта: 1 ч. эфира), и окрашивали по Романовскому-Гимза 15 минут. Признаком, свидетельствующим о присутствии вируса, было изменение формы, размеров и расположения клеток в опытных пробирках. Контролем служили клетки культуры ткани, не подвергавшиеся заражению исследуемым материалом. Через 5 суток учитывали цитопатическое действие вирусов. На присутствие ВЭП указывало наличие гигантских многоядерных клеток – симпластов, ЦМВ – наличие гигантских одноядерных клеток с внутриядерными включениями.

Всем пациентам проводилось определение специфических антител (АТ) вторичного иммунного ответа Ig G к ЦМВ и ВЭП с помощью иммуноферментативного анализа (ИФА) сыворотки крови пациента по известной методике [11]. Для проведения ИФА использовали стандартные диагностические тест-системы для определения АТ Ig G к ЦМВ и АТ Ig G +М к ВЭП, изготовленные компанией "Биосервис" (Россия). Так же проводилось изучение иммунологического статуса пациентов по иммунограммам II типа. Результаты использовали в оценке эффективности специфического иммунного ответа.

#### **Результаты исследования и их обсуждение.**

При вирусологическом обследовании культуральным методом тканей поднижнечелюстных слюнных желез во всех 11 культурах был получен цитопатический эффект. В препаратах, взятых у 10 (91 %) больных определялись гигантские одноядерные клетки с внутриядерными включениями, свидетельствующие о присутствии в этих образцах ЦМВ. В 6 (54 %) препаратах определялись многоядерные симпласты, свидетельствующие о присутствии в них ВЭП. В 5 (45 %) случаях обнаруживались оба вида измененных клеток, свидетельствующих о совмещенной вирусной инфекции.

Проведенные исследования позволили так же объективизировать у больных сиалолитиазом уровни специфического вторичного иммунного ответа организма в целом в виде присутствия Ig G к ЦМВ и Ig G +М к ВЭП. Данные о результатах ИФА представлены в таблице 1.

Таблица 1.

#### **Данные о результатах ИФА Ig G к ЦМВ и Ig G +М к ВЭП у больных с сиалолитиазом.**

№ п/п	Пол, возраст	АТ Ig G к ЦМВ		АТ Ig G + М к ВЭП	
		константа оптической плотности (Ед)	результат (Ед)	константа оптической плотности (Ед)	результат (Ед)
1	ж 18	0,22	0,28	0,20	0,23
2	м 49	0,27	0,35	-/-	0,66
3	ж 29	0,28	0,50	-/-	0,44
4	ж 61	0,25	0,52	-/-	0,77
5	ж 23	0,27	0,35	-/-	0,18
6	м 13	0,28	0,49	-/-	0,43
7	м 25	0,33	1,14	-/-	0,49
8	ж 45	0,34	0,46	-/-	0,65
9	ж 70	0,30	0,63	-/-	0,56
10	ж 67	0,28	0,37	-/-	0,42
11	ж 19	0,22	0,20	-/-	0,17

Данные представленные в таблице 1 свидетельствуют о положительном ИФА к АТ Ig G к ЦМВ и Ig G +М к ВЭП у 10 больных (91 %), у 1 больного (9 %) результат был отрицательным. В частности, у 5 пациентов (45 %) количество АТ Ig G к ЦМВ было слабоположительным, у 4 (36 %) – положительным, у 1 (9 %) – резко положительным, у 1 (9 %) – отрицательным. По отношению к Ig G к ВЭП у 2 (18 %) пациентов результат был отрицательным, у 1 (9 %) – слабоположительным, у 5 (45 %) – положительным и у 3 (27 %) – резко положительным. При оценке иммунограмм у 1 (9 %) человека отмечен вторичный иммунодефицит с угнетением клеточного и гуморального звена иммунитета; у 1 (9 %) состояние супрессии клеточного звена с явлениями сенсibilизации; у 5 (45 %) супрессия была умеренно выраженной, у 4 (36 %) – иммунограммы

свидетельствовали о наличии аутоиммунных реакций в организме.

#### **Выводы:**

В культуре перевиваемых тканей в присутствии тканей слюнных желез больных сиалолитиазом отмечалось характерное структурное изменение фибробластов в виде увеличения клетки и ее ядра, а так же образование многоядерных симпластов, что свидетельствовало о присутствии в исследуемом материале вирусов эпидемического паротита и цитомегалии.

Результаты проведенных исследований в виде иммуноферментного анализа указывают на наличие специфических антител вторичного иммунного отклика к вирусам эпидемического паротита и цитомегалии, и на присутствие в организме большинства обследованных персистенции вышеуказанных вирусов. Интенсив-

ность иммунного ответа можно объяснить уровнем индивидуальной иммунной резистентности пациентов. Так, становятся объяснимым единичные отрицательные результаты.

Таким образом, результаты проведенных исследований у больных с сиалолитиазом свидетельствуют о наличии тропных к железистой ткани вирусов цитомегалии и эпидемического паротита в форме персистенции, что подтверждает вероятность их влияния на возникновение патологии слюнных желез с явлениями камнеобразования. Исследования, проведенные в данном направлении, являются перспективными для повышения эффективности лечения больных с сиалолитиазом.

#### Литература:

1. Ромачева И.Ф., Юдин Л.А., Афанасьев В.В. Заболевания и повреждения слюнных желез. – М.: Медицина. – 1987. – 240 с.
2. Тимофеев А.А. Руководство по челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии. – Т. 2. – Киев: ООО "Червона Рута - Турс". – 1997. – 356 с.
3. Лесовая Н.Д. Клиника и лечение слюннокаменной болезни подчелюстных желез (топографоанатом. и клин. исслед.): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Киев. – 1971. – 42 с.
4. Triantafyllou A., Harrison J. D. Ultrastructural observation of arteriolar calcification in a submandibular

salivary gland. // *Ultrastruct Pathol.* – 1998. – July-August. – 22 (4):305-7

5. Lopes-Rios F., Ballestin C. Lymphoepithelial cyst with crystalloid formation. Cytologic features of two cases. // *Acta Cytol.* – 1999. – Mart-April. – 43(2): 277-80

6. Casetta I., Granieri E. Clinical infections and multiple sclerosis: contribution from analytical epidemiology. // *J. Neurovirol.* – 2000. – May. – 6 Suppl 2: S147-51

7. Лесовая И.Г. Некоторые аспекты этиологии хронических неопухолевых заболеваний слюнных желез. // *Вісник стоматології.* – 2001. - № 1. – С. 33-36.

8. Лісова І. Г. Хронічні запальні захворювання слинних залоз (етіологія, патогенез, діагностика, лікування): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Київ. – 2002. – 34 с.

9. Букринская А.Г., Жданов В.М. Молекулярные основы патогенности вирусов. – М. – 1991. – С. 239.

10. Ogino T., Kotake S., Yoshida T. Persistent infection of mous tumor cells with mumpus virus. – *Biken I.* – 1980. – V. 23. – P. 15-23

11. Ивасенко П.И., Соколова Т.Ф., Лобастов А.Ю. и др. Иммунологическая реактивность организма у больных с хроническими заболеваниями околоушных желез. // *Стоматология.* – 1992. - № 1. – С. 44-47.

12. Клиническая и лабораторная диагностика. Том II. Частные аналитические технологии в клинической лаборатории. / Под редакцией В.В. Меньшикова; М.: Лабинформ – РАМЛД. – 1999. – 352 с.

#### Summary

### CYTOMEGALOVIRUS AND MUMPS AS AN ETIOLOGICAL FACTOR IN THE DEVELOPMENT SIALOLITHIASIS

Yu.Yu. Yaroslavskaya

Kharkov National Medical University

Department of pediatric dentistry, maxillofacial surgery and implantology

Studies related to 11 patients with sialolithiasis submandibular salivary glands. All patients on the testimony conducted extirpation infected salivary glands. Material of the biopsy was studied by method of interweaving tissues cultures for presence of persisting cytomegalovirus and mumps virus. Also was conducted immunofluorescent test for defining specific immune reply by cytomegalovirus and virus mumps for all patients. The results point to availability of aforesaid viruses in salivary tissues.

**Key words:** sialolithiasis, persistent viral infection, cytomegalovirus, mumps virus.

#### Тұжырым

### СИАЛОЛИТИАЗДЫ ДАМУТУДЫҢ ЭТИОЛОГИЯЛЫҚ ФАКТОРЫ РЕТІНДЕ ЦИТОМЕГАЛИДІҢ МЕН ЭПИДЕМИЯЛЫҚ ПАРОТИТТІҢ ВИРУСТАРЫ

Ю.Ю. Ярославская

Харьков ұлттық медициналық университеті, Харьков қ., Украина

Балалар жасындағы стоматология кафедрасы,

балалар жақ- бет хирургиясы және имплантологиясы

Зерттеулер төменгі жақ асты сілекей бездері сиалолитиазымен 11 науқасқа қатысты. Көрсеткіштер бойынша барлық науқастарға зақымданған сілекей бездеріне экстирпация өткізілді. Цитомегалидің және эпидемиялық паротит вирустарының персистенген инфекциясының болуына оралынған тіндер дақылдары әдісімен биопсиялық материалды зерделеді. Сол сияқты барлық науқастарға эпидемиялық паротиттің және цитомегалидің вирустарына қайта иммундық жауаптың ерекше антиденелерін анықтау үшін қан сарысуының иммундық ферментативті талдауы өткізілді. Алынған нәтижелерге пациенттер қаны темір тіндерінде жоғарыда көрсетілген вирустардың және осы вирустарға ерекше антиденелердің болуы туралы куәлендіреді.

**Негізгі сөздер:** сиалолитиаз, персистенген вирусты инфекция, цитомегаловирус, эпидемиялық паротиттің вирусы.