

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

**Herpesvírusok előfordulása és aktivitása apikális
periodontitiszben**

Dr. Hernádi Katinka

Témavezető: Dr. Kónya József



**DEBRECENI EGYETEM
GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

Debrecen, 2011

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
1. BEVEZETÉS	5
1.1. Célkitűzések	6
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
2.1. Periodontium felépítése	7
2.2. Az apikális periodontium gyulladásos kórfolyamatai	7
2.2.1. Akut apikális periodontitisz (<i>Periodontitis apicalis acuta</i>)	8
2.2.2. Krónikus apikális periodontitisz (<i>Periodontitis apicalis chronica</i>)	9
2.2.3. A periapikális granulómák szövettani felépítése	11
2.2.4. A periapikális gyulladások kezelési lehetőségei	12
2.3. A herpesvírusok általános jellemzése és osztályozása	13
2.4. Az Epstein-Barr vírus	14
2.4.1. Típusok, transzmisszió, gazdasejtek	14
2.4.2. Lítikus életciklus	15
2.4.3. Látens életciklus, a látens fertőzés típusai	15
2.4.4. A látens EBV fertőzések során expresszálandó virális gének	16
2.4.5. EBV-asszociált kórfolyamatok	17
2.4.6. Az EBV által kiváltott immunmoduláns hatások	18
2.4.7. Az EBV előfordulása szájüregi kórképekben	19
2.5. Humán herpesvírus 6	20
2.5.1. Típusok, gazdasejtek, transzmisszió	20
2.5.2. HHV-6 reaktiváció	21
2.5.3. Az HHV-6 által kiváltott immunmoduláns hatások	21
2.5.4. Az HHV-6 előfordulása marginális periodontitiszben	22
2.6. Humán cytomegalovírus	22
2.6.1. Transzmisszió, gazdasejtek	22
2.6.2. Lítikus életciklus	23
2.6.3. HCMV-asszociált kórfolyamatok	24
2.6.4. A HCMV által kiváltott immunmoduláns hatások	24
2.6.5. A HCMV előfordulása apikális periodontitiszben	25

3.	METODIKÁK	26
3.1.	A mintagyűjtés körülményei	26
3.2.	Betegkiválasztás	26
3.3.	A minták osztályozása	27
3.4.	Apikális periodontitiszes minták gyűjtése	27
3.5.	Kontroll minták gyűjtése	28
3.6.	RNS izolálás	28
3.7.	DNS izolálás	29
3.8.	Polimeráz láncreakció (PCR)	29
3.9.	Statisztikai analízis	32
4.	EREDMÉNYEK	33
4.1.	Az EBV előfordulása és aktivitása	33
4.2.	A panaszos periapikális léziók kockázati tényezői	34
4.3.	A HHV-6 előfordulása és aktivitása	37
4.4.	A HCMV előfordulása és aktivitása	38
4.5.	Virális koinfekciók	39
4.6.	Betegek többszörös peripikális léziókkal	40
5.	MEGBESZÉLÉS	41
5.1.	Az EBV előfordulása és aktivitása	41
5.2.	A HHV-6 előfordulása és aktivitása	42
5.3.	A HCMV előfordulása és aktivitása	43
5.4.	Virális koinfekciók megbeszélése	43
5.5.	Betegek többszörös peripikális léziókkal	44
5.6.	Következtetések	45
6.	ÖSSZEFOGLALÁS	46
7.	SUMMARY	47
8.	TÁRGYSZAVAK	48
9.	IRODALOMJEGYZÉK	49
9.1.	Hivatkozott közlemények jegyzéke	49
9.2.	Az értekezés alapjául szolgáló közlemények	57
9.3.	Az értekezéshez kapcsolódó előadások, posztterek	57
10.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	58
11.	FÜGGELÉK	59

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

BL	Burkitt limfóma
E	„early”-korai
EBER	EBV által kódolt RNS
EBNA	EBV nukleáris antigén
EBV	Epstein-Barr vírus
GCF	„gingival crevicular fluid”- sulcusfolyadék
GMCSF	granulocita-monocita kolóniastimuláló faktor
HD	Hodgkin-kór
HCMV	humán cytomegalovírus
HHV-6	humán herpesvírus 6
IE	„immediate early”-azonnali korai
IFN	interferon
IL	interleukin
L	„late”-késői
LMP	látens membrán protein
MHC	major hisztokompatibilitási komplex
MI	mononucleosis infectiosa
NK cells	„natural killer cells”-természetes ölősejtek
NPC	nasopharyngealis karcinóma
PCR	polimeráz láncreakció
PDL	periodontális ligamentum
PTLD	poszttranszplantációs lymphoproliferatív betegség
TCR	T-sejt receptor komplex
TGF	tumor nekrosis faktor
TNF	transzformáló növekedési faktor

1. BEVEZETÉS

Periodontiumnak, azaz fogágnak a fogak megtámasztásában és rögzítésében résztvevő kemény- és lágyyszöveteket nevezzük. A fog gyökércsúcsa (apex) körüli fogágszövetek apikális periodontium néven ismertek. Gyulladásos folyamatait, melyeket összefoglalóan apikális periodontitisznek (*periodontitis apicalis*nek) nevezzük, elsősorban a gyulladt vagy nekrotikus fogbélből kijutó mikrobák okozzák. A pulpitiszt, illetve apikális továbbterjedését, az apikális periodontitist többnyire kevert mikrobiális fertőzés okozza, amelyet Gram-negatív endopathogén baktériumok dominanciája jellemez. Korábbi kutatások alapján feltételezhető, hogy a lokális bakteriális flóra mellett egyes herpesvírusok, elsősorban az Epstein-Barr vírus (EBV) és a humán cytomegalovírus (HCMV) is szerepet játszanak a periapikális gyulladások patogenezisében (46, 78, 79).

Egy korábban ismertetett hipotézis szerint (87) apikális periodontitisz során leukociták infiltrálódnak a keringés révén a gyulladt szövetekbe, melyek közül a mononukleáris sejtek látens herpesvírus fertőzést hordozhatnak. A gyulladásos szövetkörnyezet elősegíti a herpesvírusok reaktiválódását. Az aktívvá váló vírusinfekciók egy sor inflammatórikus és immunmoduláns hatású citokin termelődését indukálják, melyek lokálisan szövetkárosodást és immunszuppressziót váltanak ki. A lokális immungyengeség elősegíti a helyi bakteriális flóra hatásának felerősödését. Mindezen folyamatok eredőjeként a krónikus periapikális gyulladás akut fellángolása következhet be. A „flare-up” jelenségen belül meghatározó momentum, hogy az aktív herpesvírus-infekciók többek között olyan mediátorok felszabadulását is előidézik, amelyek hyperalgesiát és csontresorptiót váltanak ki a periapikális szövetekben (87, 89).

Az eddig közölt kutatási eredmények alapján az EBV és a HCMV vírusinfekciók előfordulása periapikális gyulladásokban meglehetősen tág (4-100%) intervallumban mozog (46, 76, 77, 78, 79, 88, 106). Ennek konkrétabb meghatározása érdekében szükségét éreztem egy újabb, magyarországi betegpopuláción elvégzett kutatásnak.

1.1. Célkitűzések:

- 1.** A korábbi kutatások túlnyomó részében a herpesvírusok előfordulására a virális mRNS-detektálásából következtettek. Tanulmányomban apikális periodontitisz és gyulladásmentes kontroll mintákban az EBV, HCMV és HHV-6 fertőzések aktivitásának vizsgálatán túl a vírusok prevalenciáját is meghatározom a virális DNS-ek kimutatásával.
- 2.** Az eddig közölt tanulmányokban nem került sor humán herpesvírus (HHV) 6 vizsgálatára krónikus periapikális gyulladásokban. Jelen kutatás az első, mely prevalencia adatokat szolgáltat a HHV-6 előfordulásáról ilyen típusú szövetmintákon.
- 3.** A korábbi közleményekben a periapikális léziókat panaszosságuk vagy a lézió radiológiai mérete szerint csoportosították. A kutatás során e két paraméter előfordulását együttesen vizsgálom. A mintagyűjtés során a páciensek számos egyéb anamnesztikus adata (nem, kor, alapbetegségek, szedett gyógyszerek, észlelt panaszok) is rögzítésre került.
- 4.** A korábbi hasonló témájú kutatásokban vagy nem vizsgáltak egészséges kontrollokat, vagy csupán kisszámú kontrollal hasonlították össze a kóros szövetmintákban kimutatott értékeket. Tanulmányomban - a korábbi vizsgálatoktól eltérően - viszonylag magas, a kóros mintákkal megegyező számú kontrollt vizsgáltam meg, hogy egészséges szövet virológiai státuszáról is adatokat nyerjek. A kutatás során elsőként kerül sor a HHV-6 vizsgálatára gyulladásmentes pulpaszövetben.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Periodontium felépítése

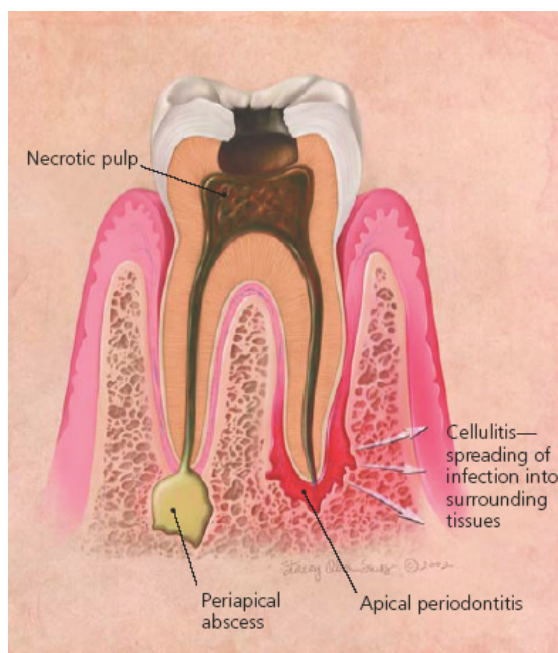
A periodontium kialakulása a fogfejlődés során a gyökerek fejlődésével párhuzamosan történik a zománcot körülvevő, mezodermális eredetű dentális folliculusból. A szájüregtől a dentogingivális junkció határolja el a periodontiumot, amely a fognyak és a marginális gingiva között húzódó speciális szerkezetű hámtapadás (16).

A fogágy funkcionálisan két fő részre tagolható: a gingivális egységre és a rögzítő apparátusra. A gingivális egység egyfajta barrier funkciót lát el a szájüreg, azaz a külvilág és a belső szövetek között. Három elemét különítjük el: a szabad ínszélt (gingiva marginalis), a feszes ínyt (gingiva propria) és a laza alveoláris nyálkahártyát. A rögzítő apparátus feladata a fogak állcsonthoz rögzítése, illetve a rágóerő (húzóerővé) transzformálása és továbbítása a csontos alapra. Részei a gyökérhártya (periodontális ligamentum, PDL), a foggyökér cementállománya és az alveoláris csont (16).

A fogágy vertikálisan két fő részre különíthető el: a marginális periodontiumra, amely alatt a marginális ínszél alatti területet értjük, illetve az apikális periodontiumra, amely a fog gyökércsúcsa körüli (periapikális) szöveteket foglalja magába.

2.2. Az apikális periodontium gyulladásos kórfolyamatai

A periapikális tér gyulladásos elváltozásait leggyakrabban a fertőzött gyökércsatornából kijutó baktériumok és azok termékei idézik elő (1. ábra). A gyökércsatorna fertőződése a szájüregi mikrobiális flórával elsősorban a fogon kifejlődő carieses lézión keresztül következik be. Amint a szuvasodás eléri a dentin mélyebb rétegeit és a pulpakamrát, a bakteriális termékek, illetve maguk a baktériumok is betérjednek a fogbélbe és annak gyulladását, pulpitiszt váltanak ki, mely kezdetben még reverzibilis hiperémiás elváltozás, idővel azonban irreverzibilis pulpitiszbe progrediálhat.



1. ábra A periapikális tér gyulladásos elváltozásai: periapikális abscessus (bal oldal) és apikális periodontitisz (jobb oldal) (forrás: 14).

A pulpa irreverzibilis gyulladása még a fogbél teljes elhalása előtt áttérjedhet az apikális periodontium szöveteire. A fogbélgyulladás kezdeti szakaszában aerob és fakultatív anaerob baktériumfajok dominanciája jellemző (15, 94). Idővel a gyökércsatornában található oxigéntenzio csökkenése nyomán obligát anaerob fajok terjednek el (15, 94).

A fertőzött gyökércsatornából nagy fajgazdagságú mikrobiális flóra izolálható, melynek jellemző képviselői a különböző *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Veillonella*, *Treponema*, *Campylobacter*, *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Tannerella*, *Dialister*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* és *Candida* fajok (86, 92, 107).

A periapikális gyulladások kiváltó okai között fontos még megemlíteni az ún. steril károsodásokat is, ilyenek például a fogat érő mechanikus traumák, illetve az egyes fogászati anyagok által kiváltott kémiai irritáció (102).

2.2.1. Akut apikális periodontitisz (*Periodontitis apicalis acuta*)

Az akut periapikális gyulladás többnyire rövid idő alatt kialakuló és gyorsan terjedő kórképet takar. Heves, elsősorban ráharapásra jelentkező fájdalommal társul, mely idővel olyan mértékűvé válhat, hogy a fog érintése is intenzív fájdalmat okoz. Ennek hátterében a periodontális résbe kiszűrődött folyadékgyülem áll, mely a gyulladás savós fázisának terméke és erős nyomást gyakorol az idegvégződésekre. Az elváltozásnak kezdetben, az ún. röntgen

látencia időszakban (10-12 nap) nincs jellemző radiológiai tünete, később azonban láthatóvá válik a gyökérhártyarés kiszélesedése.

Az akut gyulladást a következő szövettani események jellemzik: hyperémia, vaszkuláris kongeszció, ödéma, neutrofil granulociták és monociták extravazációja, kismértékű csontfelszívódás és PDL károsodás (54).

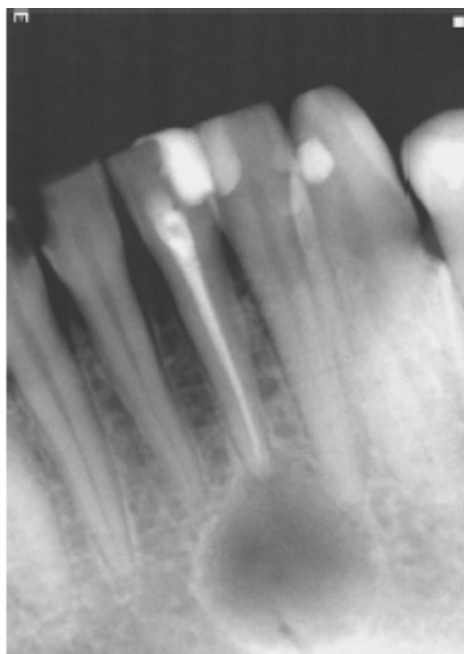
Az akut apikális periodontitisz purulens fázisában körülírt beolvadás megy végbe, melyek során **primer periapikális abscessus** jön létre. Az akut tályogra jellemző az áthajlásban vagy a szájpadon kialakuló fluktuáló duzzanat, melyet erythemás nyálkahártya fed. Szisztémás tünetek is kísérhetik, például láz, regionális nyirokcsomó-duzzanat, leukocytosis, fokozott süllyedés és balra tolt vérkép. Szövettanilag purulens gócként jellemezhető, melyet nagyszámú neutrofil granulocita infiltrál (16, 63).

2.2.2. Krónikus apikális periodontitisz (*Periodontitis apicalis chronica*)

A krónikus gyökérhártyagyulladás lényegében egy dinamikus egyensúlyi állapot, amely a külső irritáló tényezők (többnyire a gyökércsatornából származó baktériumok és termékeik) és a szervezeti védőmechanizmusok között jött létre. A krónikus gyulladás alapfeltétele a mérsékelt virulenciájú baktériumok kisszámú jelenléte, melyeket az immunrendszer nem képes lokálisan eliminálni, de továbbterjedésüket megakadályozza egy granulációs szövetből álló „határzóna” kialakításával (90, 99).

A periapikális térbe kijutó baktériumok egyrésztől származhatnak kezeletlen nekrotikus pulpájú fogakból, melyekben a fogbél táptalajt szolgáltat a baktériumoknak, másrésztől inkomplett gyökértöméssel ellátott fogakból is, melyekben a baktériumok fennmaradását lehetővé tevő holtter található.

A krónikus apikális periodontitisz az esetek nagy részében tünetmentes lefolyású. A klinikai vizsgálat során esetenként enyhefokú kopogtatási érzékenységet észlelhetünk, illetve a fog elszíneződését tapasztalhatjuk, ami a pulpa elhalására vezethető vissza. A fog radiológiai vizsgálata során azonban általában jellegzetes kép tárul a szemünk elé: élesen elhatárolt, kerekded radiolucens terület ábrázolódik a fog gyökércsúcsi régiójában (2. ábra). A radiológiai elváltozást okozó apikális csontresorptio egyaránt érinti az alveoláris csont lamina dura rétegét és a vele szomszédos spongiosa állományt. Emellett sok esetben az érintett fog gyökércsúcsa is rezorbeálódik.



2. ábra. A krónikus apikális periodontitisz jellemző radiológiai képe (forrás: 40).

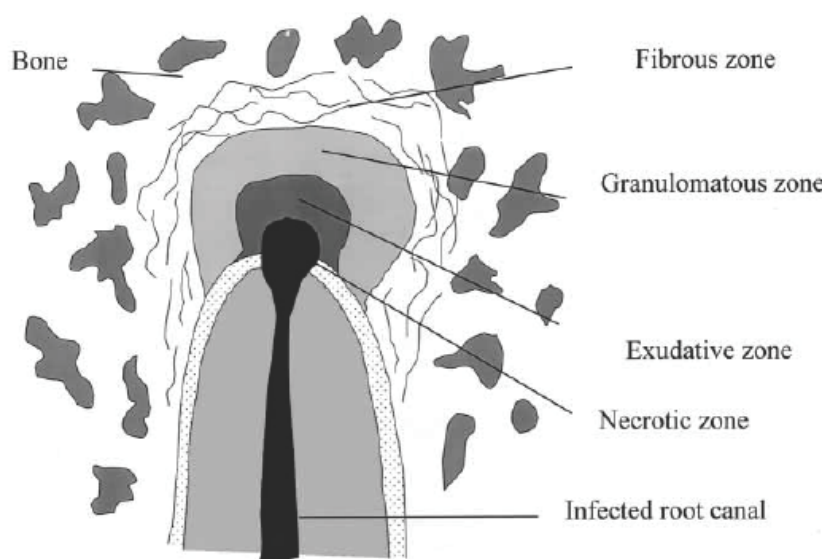
A krónikus lefolyású betegségben akut fellángolások is bekövetkezhetnek az immunvédelem átmeneti lecsökkenésekor. Ezek során a klinikai tünetek felerősödnek és akár az akut periodontitisz tüneteinek súlyosságát is elérhetik. Az akut exacerbációk idején purulens beolvadás is végbemehet, mely **szekunder periapikális abscesszus** képződéséhez vezet. Az előbbi tüneteiben megegyezik az elsődleges tályoggal, annyiban kiegészítve azt, hogy szövettanilag a tályogot granulomatózus szövet veszi körül.

A periapikális tályog krónikus fennállása esetén a termelő pus utat talál magának a külvilág felé. A létrejövő fisztulát hámszövet és gyulladásos sejtekkel infiltrált kötőszövet határolja. A sipoly kivezető nyílása lehet a nyálkahártyán, bőrön vagy a sulcus gingivalisban is. A fisztulás fogak általában mindaddig panaszmentesek, amíg a sipolyjárat nyitott. Amennyiben a kivezető nyílás eltömődik, a felhalmozódó pus fájdalmas, lüktető submucosus abscessust hoz létre (16).

Szövettanilag a krónikus periapikális elváltozás granulóma vagy ciszta lehet. A **periapikális ciszták** a Malassez-féle hámszigetektől kiinduló, többretegű, elszarusodó laphámmal bélelt üreges képződmények, melyeket krónikus gyulladásos sejtekkel infiltrált rostos kötőszövet vesz körül (64). A cisztahám állandó váladéktermelése miatt a ciszták folyamatosan növekednek és a környező szövetek kompressziója révén nyomási atrófiát válthatnak ki a szomszédos foggyökerekben, illetve csontszövetben.

2.2.3. A periapikális granulómák szövettani felépítése

A periapikális granulómák szövettani keresztmetszetén hagymalevél-szerűen rétegződnek az egymást követő szövettani zónák (3. ábra). A legbelső terület az elhalt szövetrészeket tartalmazó nekrotikus zóna, mely közvetlenül a foramen apicale körül húzódik. Ezt követi az exszudatív zóna, majd a regenerációs sarjszövet által alkotott granulomatózus zóna. Legkívül, az alveoláris csonttal határosan a kötőszöveti rostokban bővelkedő fibrózus zóna helyezkedik el (54).



3. ábra. A periapikális granulómák keresztmetszeti képe. Hagymalevél-szerűen rétegződnek az egymást követő szövettani zónák: legbelül a nekrotikus zóna helyezkedik el, amit az exszudatív zóna és a granulomatózus zóna követ, legkívül a fibrózus zóna helyezkedik el (forrás: 54).

A granulomatózus léziók a domináns szövettani zóna jellege szerint csoportosíthatóak, így elkülöníthetők exszudatív, granulomatózus, granulofibrotikus és fibrotikus granulómák (60, 105). Az exszudatív léziókat kifejezett szöveti nekrózis és exszudáció jellemzi, amit intersticiális oedema kísér. Összefüggésbe hozhatóak a kezdeti akut periapikális léziókkal, illetve a krónikus apikális periodontitiszek akut fellángolásaival (54).

A periapikális granulómák nekrotikus és exszudatív zónáiban nagy számban fellelhető neutrofil granulociták képezik az immunrendszer első védelmi vonalát a gyökércsatornából kiáramló baktériumtömeggel szemben. A hatékony fagocitózis és ölő mechanizmusok révén a periapikális térbe jutó kórokozók nagy része már ezekben a zónákban eliminálásra kerül (33, 99).

Az exszudatív zónához képest a granulomatózus zónában már kisebb számú neutrofil granulocita lelhető fel, jellemzően magas azonban a limfociták, plazmasejtek, makrofágok és fibrovaszkuláris elemek az előfordulása. Az eozinofil granulociták, bár folyamatosan megtalálhatóak a granulomatózus szövetekben, az infiltrálódó polimorfonukleáris leuokocitáknak csupán kis részét teszik ki (53). A természetes ölősejtek (NK sejtek) kis számban ugyan, de szintén megtalálhatóak a periapikális léziókban (45, 52).

A periapikális granulómákban nagy számban mutattak ki B limfocitákat és IgG, IgA, illetve IgM típusú ellenanyagokat termelő plazmasejteket is (53, 69). Bár a B sejtek és plazmasejtek jelentős részét teszik ki a periapikális területekre beszűrődött immunsejteknek, számos kutatásban tették közzé azt a megfigyelést, miszerint a granulómák dominánsan T sejt típusú léziók (53, 69). Egyaránt kimutathatók az MHC (major hisztokompatibilitási komplex) I-hez kötött antigéneket felismerő helper/inducer CD4+ T limfociták, illetve MHC II. függő citotoxikus/szupresszor CD8+ T-limfociták is (54, 71).

2.2.4. A periapikális gyulladások kezelési lehetőségei

A terápia elsődleges célja a gyulladást kiváltó ok eliminálása, azaz a fertőzést okozó kórokozók és azok táptalajának eltávolítása. Mindezt a gyulladt vagy nekrotikus fogból eltávolításával, a fertőzött gyökércsatorna hatékony dezinficiálásával és hermetikus lezárásával érhetjük el. Amennyiben a periapikális területeket nem éri további mikrobiális inger, akkor a szervezet képes a gyulladásos sarjszövetet idővel kalcifikálni és meggyógyítani.

A gyökértömés elkészítése után hosszabb időn keresztül, mintegy kettő-négy éven át javasolt az érintett fog utánkövetése, miután az alveoláris csontszövet regenerációja igen időigényes folyamat. Félévenkénti rendszeres klinikai és radiológiai vizsgálatokkal fontos, hogy nyomonkövessük a periapikális kórfolyamat gyógyulását. Gyógyulás alatt azt értjük, amikor az érintett fog hosszú távon panasz- és tünetmentes, továbbá a röntgenképen a periapikális lézió kisebbedését, illetve eltűnését diagnosztizáljuk. Az apikális periodontitiszben szenvedő betegek többsége sikeresen gyógyítható nem-sebészeti endodonciai beavatkozással, azaz az érintett fog gyökérkezelésével (54).

Számos esetben azonban nem vezet sikerre a periapikálisan gyulladt fog gyökérkezelése. Ennek hátterében biológiai, illetve technikai okok is állhatnak. A biológiai okok között említendőek a speciális gyökéranatómiai sajátosságok, például az apikális bifurkáció, a delta apicale, a laterális- és oldalcsatornák, a pulpakövek vagy a foggyökér arcüreggel való kommunikációja (1). A gyökérkezelés kudarca technikai okokra is visszavezethető: a gyökércsatornák megmunkálása során betört, apexen túlnyúló műszerek, a túlérő

gyökértömések, illetve a periapikális területre kifolyt sealerek idegentestként viselkedve krónikus mechanikai, illetve kémiai irritációt okozhatnak a gyökércsúcs körüli szövetekben (6).

Sok esetben gondot okozhat a csatorna korrekt kiszárítása. A periapikális ciszták lumene kommunikál a gyökércsatornával, így a cisztából visszaáramló folyadék megnehezítheti a csatorna kiszárítását.

A fent említett okok miatt nem gyökérkezelhető, illetve az endodonciai kezelésre nem reagáló periapikális kórfolyamatok szájsebészeti terápiára szorulnak. Az apikotómia során a gyökércsúcs sebészi eltávolítására kerül sor. Amennyiben még nem gyökértömött a csatorna, akkor retrográd, azaz a gyökércsúcs felől kivitelezett csatornamegmunkálás és gyökértömés is elvégezhető.

Az akut és krónikus periapikális abscessusok terápiája szintén szájsebészeti ellátást igényel incízió, dezinficiálás és drenálás formájában. Empírikus antibiotikus terápia szisztémás alkalmazása mérlegelendő általános tünetek (láz, elesettség, leukocitózis, nyirokcsomóduzzanat) jelenlétekor. Az elsőként választatandó szerek a penicillinek (amoxicillin), illetve penicillin-érzékenység esetén a lincosamidok (clindamycin), esetleg tetracyclinek (doxycyclin).

2.3. A herpesvírusok általános jellemzése és osztályozása

A herpesvírusok genomját lineáris, duplaszálú DNS alkotja, mely egy ikozahedrális szimmetriájú kapszidban helyezkedik el egyszeres kópiaszámban. A nukleokapszidot az amorf tegumentum állomány veszi körül és legkívülről a burok (peplon, envelope) határolja el a külvilágtól. A virion átmérője a peplonnal együtt körülbelül 150-200 nm.

A *Herpesviridae* család tagjai jelentős fajspecifitást mutatnak. Ismertek marhára, lóra, patkányra, tengerimalacra és egyéb állatfajokra patogén fajok is. Az emberre nézve patogén fajokat humán herpesvírusoknak nevezzük. A herpesvírusok családján belül nyolc humán herpesvírus fajt azonosítottak napjainkig, melyek a következők: a herpes simplex vírus 1 és 2 (HSV-1, HSV-2); a varicella zoster vírus (VZV); az Epstein-Barr vírus (EBV); a humán cytomegalovírus (HCMV); a humán herpesvírus 6 (HHV-6); a humán herpesvírus 7 (HHV-7) és a humán herpesvírus 8 (HHV-8, Kaposi-sarcoma vírus) (75).

A herpesvírusok egyik meghatározó sajátossága, hogy képesek éveken keresztül látenszen perzisztálni a gazdaszervezetben és alkalmanként reaktiválódni. Az iniciális herpesvírus-infekciót egy látens periódus követi, melynek során a virális genom túlélését a vírusfertőzött gazdasejt biztosítja, amely egyúttal magában hordozza a későbbi reaktiváció lehetőségét is.

HSV fertőzésben a látencia helyét az érző ganglionok neuronjai, VZV fertőzésben a trigeminális és thoracalis ganglionok idegsejtjei képzik.

A herpesvírus-reaktivációt kiválthatják mikrobiális koinfekciók, szöveti sérülések, lázas állapot, emocionális stressz és egyéb relatív immunszuppressziót előidéző tényezők.

A *Herpesviridae* családba tartozó vírusfajok biológiai sajátosságai alapján tovább osztályozhatóak és három alcsaládba különíthetők el.

Az *Alphaherpesvirinae* alcsaládba tartozó HSV-1, HSV-2 és VZV gyorsan replikálódó, epithel sejtekre citolitikus hatású vírusok, melyek a látens fertőzés idején szenzoros ganglionok neuronjaiban lappanganak.

A *Betaherpesvirinae* alcsalád tagjai a HCMV, a HHV-6 és a HHV-7. Ezek lassú szaporodásúak és a látencia helyeit vesetubulusok epithel-sejtjei, valamint a vér monoklonáris sejtjei képzik.

A *Gammapherpesvirinae* alcsaládba az EBV és a HHV-8 sorolható, melyek limfoid sejteket fertőznek, illetve bennük alakítanak ki látenciát.

2.4. Az Epstein-Barr vírus

2.4.1. Típusok, transzmisszió, gazdasejtek

Az Epstein-Barr vírus (humán herpesvírus 4) a *Gammapherpesvirinae* alcsalád *Lymphocryptovirus* genusába tartozik. Igen elterjedt, ubiquiter vírus, melyet alátámaszt, hogy a felnőtt lakosság körében világszerte több mint 90%-os szeropozitivitást mutattak ki (5, 27).

Két típusa különíthető el, az 1-es és a 2-es típusok. A legtöbb populációban az 1-es típus lényegesen gyakoribb, mint a 2-es típus, bár az Egyenlítő-környéki Afrikában és Új-Guineában közel azonos előfordulásukat írták le. A két EBV típus genomja között számos eltérés észlelhető, melyek közül a legjelentősebb a nukleáris antigének (EBNA-2, -3A, -3B, -3C) szekvencia-sorrendjében való különbség (17).

Az EBV transzmissziójában a nyál játszik elsődleges szerepet, amely főként annak tulajdonítható, hogy a vírus kiválasztódik a hordozó személyek nyálába. Női, illetve férfi genitális váladékokból is kimutatták a vírust, ami alátámasztja a szexuális úton történő terjedés lehetőségét. A primer EBV fertőzés klinikailag többnyire tünetmentes lefolyású, az esetek egy részében (elsősorban serdülőkben és fiatal felnőttekben) *mononucleosis infectiosa (MI)* fejlődik ki. A krónikus lefolyású betegségekre jellemző a láz, a generalizált lymphadenopathia, esetleg

splenomegalia és a mononukleáris sejtek (citotoxikus T-limfociták, monociták, plazmasejtek) felszaporodása a perifériás vérben.

Az EBV behatolási kapuját az orr-garati nyálkahártya képi. A kolonizáció színhelyét az oropharynx, tonsillák és a parotis epitheliális sejtjei képezik. A primer fertőzést követően a vírus elsődlegesen B-limfocitákat fertőz. További látencia-helyek lehetnek a T-limfociták és a természetes öltő sejtek, illetve a gyomor, a biliáris, a laryngeális, a hepatocelluláris és a colon karcinómák epitheliális sejtjei (17, 35).

2.4.2. Lítikus élelciklus

A herpesvírusokra jellemző produktív vírustermeléssel járó ciklus többnyire a sejt lízisével jár együtt, innen kapta a lítikus ciklus elnevezést. A primer infekció során az EBV lítikus hatást fejt ki a gazdasejtre, melynek során aktív vírusreplikáció folyik a sejtmagban és elsőként az azonnali korai (immediate early, IE) gének, a BZLF1 és a BRLF1 expresszálódnak. Ezek a gének funkciójukat tekintve transzkripciós aktivátorok, melyek többek között a korai (early, E) gének átírását aktiválják. A korai gének virális replikációs proteineket kódolnak, például virális DNS polimerázt. A vírusreplikációt követően késői (late, L) gének is átíródnak, melyek elsősorban a virion felépítő strukturális géneket kódolják. Ezen folyamatok eredményeként a vírusfertőzött gazdasejt elpusztul és új virionok szabadulnak ki (17).

2.4.3. Látens élelciklus, a látens fertőzés típusai

A primer infekciót követően az EBV hosszú életidejű memória B-sejtekben perzisztál és csupán néhány nem immunogén virális protein expresszálódik, így a vírus rejtve marad a citotoxikus T-limfociták (CTL) által közvetített immunválasz elől (57).

A látens EBV fertőzésnek három típusa különíthető el a gazdasejtben bekövetkező változások és a virális antigén-expresszió alapján. Az I-es típusú látencia állapot nem változtatja meg a gazdasejt funkciót és az EBV nukleáris antigének (EBNA) közül csak az EBNA-1 expresszálódik, a látens membrán-proteineket (LMP) kódoló szakaszok nem íródnak át (17). Az I-es típusú látencia állapot jellemző a Burkitt limfómából izolált sejtekre (55).

II-es típusú látenciában EBNA-1 nukleáris antigén mellett az LMP-1, LMP-2A és LMP-2B látens membrán proteinek transzkriptumok expresszióját is megfigyelték (17). Ez a látencia-állapot figyelhető meg HD, NPC és T sejt limfómák esetén is (55).

III-as típusú látencia állapotban az összes nukleáris EBV protein (EBNA-1, -2, -3A, -3B, -3C, -LP), illetve látens membrán protein (LMP-1, LMP-2A, LMP-2B) kifejeződik. Ez a

látencia-típus figyelhető meg a perifériás vérből izolált limfociták in vitro EBV fertőzésével létrehozott ún. limfoblasztoid sejtvonalakban (LCL) és immundeficiens betegek különböző limfoproliferatív kórképeiben (17,55).

Immunokompetens személyekben az EBV fertőzött B-limfocitákon prezentált EBNA-2, -3A, -3B, -3C, -LP és az LMP virális epitópokat felismerik az antivirális immunitásban kulcsszerepet játszó citotoxikus T-limfociták (CTL) és azonnal eliminálják a III-as típusú látenciában lévő sejteket. Az aspecifikus antivirális immunválaszban fontos szerepet játszanak még celluláris szinten a makrofágok és a természetes ölósejtek (NK sejtek). A humorális immunitás részeként megemlítendő a szeropozitív egyének plazmasejtjei által termelt vírusspecifikus ellenanyagok is, melyek főként IgG, IgM és IgA típusúak. A vírusspecifikus MHC II. függő T-helper sejtek szintén jelentős szerepet töltenek be az antivirális immunválaszban a citotoxikus T limfociták és B sejtek aktiválásán keresztül.

Immunszuppresszált, szervátültetésen átesett, illetve immunhiányos betegek esetén az immunrendszer nem tudja hatékonyan eltávolítani a potenciálisan malignus II-es, illetve III-as típusú látenciában érintett B-sejteket, így ezekben a személyekben nagyobb eséllyel alakulnak ki EBV-asszociált B-sejtes limfoproliferatív kórképek (35).

2.4.4. A látens EBV fertőzések során expresszáldó virális gének

Az **EBNA-1** fehérje biztosítja a virális DNS episzómális formában maradását, azaz a cirkuláris, extrakromoszomális vírusgenom fenntartását a látensen fertőzött B sejtben. Az EBNA-1 elkerüli az MHC molekulákon történő prezentálódást. Emellett fontos szerepet tölt be a vírus replikációjának és transzkripciójának szabályozásában is (17, 35).

Az **EBNA-2** fehérje indukálja a sejtek G0-G1 fázisba való átmenetét az EBNA-LP-vel együtt (84). Emellett számos celluláris gén transzaktiválására is képes, így a CD23 és CD21 gének esetében, melyek kulcsfontosságúak a B sejt aktivációban (11), továbbá a *c-myc* és a *c-fgr* proto-onkogének esetében is (30, 39). Fontos funkciója még, hogy egyes virális gének transzaktiválására is képes, például az EBNA-1, -2, -3A, -3B, -3C, illetve az LMP1, 2 esetében (93, 100).

Az **EBNA-3** antigének (EBNA-3A,-3B,-3C) a CTL közvetítette immunválasz legfőbb célpontjai. Az EBNA-3A és -3C alapvető szerepű a B sejtek immortalizálásában (97).

Az EBV három látens membránproteinje, az **LMP1**, **LMP2A** és **LMP2B** aktivációs szignált közvetít B sejteknek, így azok elkerülhetik az apoptózist. Az LMP2A megváltoztatja a B sejt receptor működését, míg az LMP1 a CD40 receptorból kiinduló $\text{NK}\kappa\text{B}$ szignalizációt, így az EBV fertőzött B limfociták antigén vagy helper T sejt kapcsolódása nélkül is kapnak

aktivációs jeleket és így elkerülik a programozott sejthalált (28). Az LMP2A gátolja a protein tirozin kináz receptorokból kiinduló szignáltranszdukciót, így akadályozza az EBV reaktivációját a látens fázisból és gátolja a B sejtek differenciálódást is (58).

Az **EBER1** és az **EBER2** nukleáris lokalizációjú RNS-ek, melyek látencia-típustól függetlenül mindig expresszálódnak. Ezek az EBV legnagyobb mennyiségben expresszálódó termékei, de pontos szerepük nem tisztázott.

Az EBV genom **BamHI A** régióján olyan RNS-ek íródnak át, melyek fehérjetermékei nem pontosan ismertek szerkezetüket és funkciójukat tekintve. Az ellenben bizonyított, hogy látencia-típustól függetlenül mindig expresszálódnak (17).

2.4.5. EBV-asszociált kórfolyamatok

Az Epstein-Barr vírus által okozott fertőzés - a többi herpesvírushoz hasonlóan – előfordulhat látens, illetve lítikus formában is. Ellentétben azonban a herpes simplex vírussal és a humán cytomegalovírussal, melyek többnyire a gazdasejtek lízisét okozzák, az EBV az általa okozott megbetegedések döntő részében látens fertőzés formájában van jelen. A primer infekció során létrejövő *mononucleosis infectiosa* (MI) betegségben az érintett B-limfocitákban többnyire nem lítikus, hanem látens EBV fertőzöttséget mutattak ki. A jellemző tünetek a fertőzött B-sejtek elleni erőteljes citotoxikus T-limfocita válasszal magyarázhatóak (29).

EBV-asszociált kórfolyamatként tartják számon az Afrikában endémiás *Burkitt-limfómát* (BL), mely az állkapocs malignus daganata. Az EBV feltehetően B-limfociták immortalizációjával vesz részt a kórfolyamatban. A vírus etiológiai szerepe felmerült *nem-afrikai Burkitt-limfómában*, *Hodgkin kór* (HD), *Transzplantációt követően fellépő PTLD* esetén, különböző *limfoproliferatív kórképekben* és egyéb *T-, B-, NK-sejtes eredetű limfómákban* is (35, 57).

Az EBV epitheliális eredetű malignus elfajulások pathogenesisében is feltehetően szerepet játszik. Ezek közül a leginkább bizonyított kóroki kapcsolat a *nasopharyngeális karcinóma* (NPC) esetében áll fent, mely az orrgarati epitheliális sejtekből kiinduló malignus sejtproliferáció. Incidenciája lényegesen gyakoribb Délkelet-Ázsia egyes részein. Korábbi kutatások kimutatták a vírust *gyomorrák és nyálmirigy-rák* sejtekből is (68, 83), sőt szerepét feltételezik *hepatocelluláris és emlő karcinómák* patogenezisében is (25).

Az *orális hajas leukoplákia* kórképe - eltérően az előbb felsoroltaktól - lítikus EBV-infekcióval hozható összefüggésbe. A nyelv epitheliális sejteiből kiinduló benignus elváltozás során a laterális nyelvfelszínen fehéres plakkok jelennek meg, melyek később a szájfénékre is

áttérjedhetnek. Erősen immunhiányos, illetve immunszupprimált betegeken írták le előfordulását (35, 75).

Az EBV etiológiai szerepét feltételezik egyes autoimmun betegségek: szisztémás lupus erythematosus (SLE), szklerózis multiplex (SM), rheumatoid arthrit (RA) patogenezisében is (65).

2.4.6. Az EBV által kiváltott immunmoduláns hatások

Az EBV fertőzött gazdasejtben számos citokin és kemokin expressziója fokozódik, ezek interleukin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, tumor nekrosis faktor- α (TNF- α), α -interferon (INF), β -INF-, γ -INF és a granulocita-monocita kolónia stimuláló faktor (GM-CSF) (77).

Az EBV fertőzött B-limfociták III-as típusú látenciában számos gyulladásos citokint termelnek, köztük kiemelendő a TNF- α , a transzformáló növekedési faktor-béta (TGF- β) és az interleukin-10 (IL-10) (73). TNF- α fokozza a csontfelszívódást és erőteljes hiperalgéziát képes indukálni (72, 34). TGF- β gyengíti az antivirális immunvédekezést a limfocita proliferáció, citotoxikus T sejt funkciók, toll-like receptorok (TLR) szignalizációjának gátlásán keresztül, illetve makrofágok és dendritikus sejtek aktiválásának gátlásával. IL-10 is gátolja a makrofágok aktiválódását, valamint a makrofágok és dendritikus sejtek antigén prezentációját (22).

2.4.7. Az EBV előfordulása szájüregi kórképekben

Az Epstein-Barr vírus kóroki szerepe számos benignus és malignus szájüregi kórfolyamat kapcsán felmerült. Előfordulását vizsgálták jóindulatú szájnyálkahártya-elváltozásokban, például a leukoplakia és lichen planus (36), marginális (74, 81, 91) és apikális periodontitisz (46, 78, 79, 80, 88), illetve irreverzibilis pulpitisz (46) kapcsán. A malignus orofaciális kórképek közül a szájüregi laphámkarcinóma esetén vizsgálták az EBV esetleges etiológiai szerepét (36).

Krónikus apikális periodontitiszek vizsgálatára feltehetően az irányította a kutatók figyelmét, hogy marginális periodontitiszek vizsgálatakor összefüggést találtak az EBV előfordulása és a parodontális gyulladás súlyossága között (37, 78).

A periapikális gyulladásokat vizsgáló tanulmányok egy részében a gyökércsúcs sebészi eltávolításával nyert mintákat vizsgáltak, más részükben pedig az érintett fog extrakcióját követően a gyökércsúcsról eltávolított periapikális léziókat tanulmányozták. A kutatások nagy részében PCR technikával azonosították az Epstein-Barr vírust.

Virális EBV DNS-t csupán két kutatás határozott meg, az egyik hagyományos, kvalitatív PCR technikát alkalmazott és a periapikális léziók 43%-ában mutatta ki a vírust (46), a másik valós idejű PCR technikával a léziók 50%-ában azonosított EBV DNS-t (91). A tanulmányok többsége a virális mRNS kimutatását célozta meg az EBNA-2 mRNS PCR technikával történő detektálása révén. Eredményeik azt mutatják, hogy az EBNA-2 mRNS előfordulása meglehetősen széles (4-100%) határok között ingadozik a vizsgált periapikális léziókban (46, 76, 77, 78, 79, 88, 106).

A vonatkozó tanulmányok többségében a periapikális mintákat az érintett fog panaszossága szerint csoportosították és összefüggést mutatattak ki a panaszos klinikai manifesztáció és az EBNA-2 mRNS előfordulása között (77, 78, 79, 88). Sabieti és mtsai, valamint Li Hong és mtsai a periapikális léziók méretét is vizsgálták és a nagyméretű léziókból gyakrabban tudták kimutatni az EBNA-2 mRNS-t, mint a kisméretű elváltozásokban (46, 78).

2.5. Humán herpesvírus 6

2.5.1. Típusok, gazdasejtek, transzmisszió

A HHV-6 a *Betaherpesvirinae* alcsalád *Roseolovirus* genusába tartozik. Igen elterjedt, ubiquiter vírus, a gyermek és felnőtt lakosság szeropozitivitását az európai országokban, illetve az Egyesült Államokban 75-90% között írták le (43).

Két altípusa különíthető el a vírusnak, az A (HHV-6A) és a B (HHV-6B) altípusok, melyek nukleotid szekvenciája 90%-ban megegyezik egymással (12). Mindazonáltal a két altípus eltérő epidemiológiai és biológiai sajátosságokkal rendelkezik. Mindkét altípus számára az elsődleges célsejteket a CD4+ T limfociták képzik, de a HHV-6A CD8+ T sejtekben és NK sejtekben is képes replikálódni (49, 50). Mindkét altípus sejtfelszíni receptora a CD46 molekula, mely megtalálható minden sejtmaggal rendelkező sejt felszínén. Ez a körülmény magyarázatot szolgáltat arra nézve, hogy miért tud olyan sokféle típusú sejtet fertőzni a vírus. In vitro vizsgálatok kimutatták, hogy a HHV-6 képes fibroblasztokat, NK sejteket, epiteliális sejteket, endothel sejteket, magzati astrocytát, oligodendrocytát, microgliát és immortalizált májsejteket is fertőzni, bár a vírusreplikáció lényegesen kisebb mértékű bennük, mint a CD4+ T limfocitákban (12). A virális látencia számára ideális helyszínt szolgáltatnak a monocyták, makrofágok, dendritikus sejtek és a csontvelői őssejtek mindkét altípus esetében (31, 41, 47). A HHV-6 jelenlétét in vivo számos szövettípusban kimutatták, így a nyálmirigyekben, erek endoteliumában, továbbá agy-, máj- és tonsilláris szövetekben is (12).

A primer fertőzés lehet teljesen tünetmentes vagy kialakíthat egy lázzal, makulopapuláris kiütésekkel járó enyhe lefolyású, spontán gyógyuló megbetegedést az első két életév során, mely exanthema subitumként (vagy roseola infantumként) ismert. A klinikailag manifesztálódott primer fertőzést szinte minden esetben a B altípus okozza (104). Ezzel ellentétben a HHV-6A elsősorban neurológiai és immunológiai kórfolyamatokkal hozható összefüggésbe (70) és gyakrabban mutatható ki immunhiányos betegekből (38).

A vírus elsősorban nyállal terjed, emellett lehetséges anyáról magzatra történő transzmisszió a méhen belül, transzplacentárisan vagy a szülés során a genitális traktuson történő áthaladáskor.

2.5.2. HHV-6 reaktiváció

Hasonlóan a többi herpesvírushoz a HHV-6 a primer infekciót követően látens a szervezetben marad. A reaktiváció során – a primer fertőzéshez hasonlóan - ismét produktív vírustermeléssel járó ciklus veszi kezdetét. Elsőként az azonnali korai (IE), majd a korai, végül pedig a késői gének expresszálnak. Az IE a gének további virális gének kifejeződését szabályozzák, illetve más, nem virális gének transzaktivátoraként is működhetnek (12).

Az elkészült kapszomer egységekből a sejtmagban felépülnek az új vírus kapszidok, melyek kijutva a sejtplazmába felveszik a tegumenfehérjét és a burkot, az utóbbi többnyire a Golgi készülékből származik. Végezetül az új virionok exocitózissal elhagyják a gazdasejtet, mely a vírus citopátiás hatása nyomán felpuffad és elpusztul.

HHV-6 reaktiváció a celluláris immunitás csökkent működésének következtében elsősorban immunhiányos betegekben (pl. AIDS), csontvelő- és szervtranszplantáltakban következhet be (7). Súlyos immundeficiens, illetve immunszupprimált állapotban a reaktiválódó vírusfertőzés pneumóniát, encephalitist és chorioretinitist okozhat. A kongenitális HHV-6 fertőzés gyakorisága 1-1.6% közötti (12) és általában nem primer infekció eredménye, hanem az anyában látens megbújó vírus terhesség alatti reaktivációja okozza (66). A magzatok általában transzplacentális úton fertőződnek és születést követően többnyire tünetmentesek. Bár a vírus hosszú ideig perzisztál bennük, infektív vírustermelés nem mutatható ki (23).

2.5.3. Az HHV-6 által kiváltott immunmoduláns hatások

A HHV-6 fertőzés által indukált változások többsége arra irányul, hogy biztosítsa a vírustermelő sejt túlélését és kikerülje az őt felismerni és elpusztítani hivatott immunreakciókat. A HHV-6 infekció közvetlen immunszuppresszív hatást fejt ki azáltal, hogy elsődleges gazdasejtjeire, a CD4⁺ citotoxikus T sejtekre citopátiás hatást fejt ki (48).

A HHV-6 képes jelentősen lecsökkenteni az IL-12 termelést, mely a Th1 polarizált antivirális immunválasz egyik kulcsmolekulája (48). Korábbi kutatások arról is beszámolnak, hogy a HHV-6 infekció gátolja a gazdasejt IL-2 és γ -IFN termelését, ugyanakkor fokozza a TNF- α , IL-1 β , IL-8 és IL-15 citokinek produkcióját. Dendritikus sejtekben a vírusinfekció lecsökkenti az MHC I molekulák expresszióját és a sejtek T sejt proliferációt stimuláló hatását (2, 18). A vírus downregulálja a CD46 receptor expresszióját is, mely komplement-mediált sejt és szövetkárosodáshoz vezet, miután a CD46 glikoproteinek elengedhetetlen szerepe van a spontán komplement aktiváció meggátolásában a sejteken (20, 82). A HHV-6A és B egyaránt

képesek lecsökkenti a CD3 receptor komplex és a „T-cell receptor complex” (TCR) expresszióját, melyek alapvető fontosságúak a T sejt aktivációban (48). Egy nemrégiben publikált tudományos kutatásban kimutatták, hogy a HHV-6 gátolja „Toll-like receptorokon” (TLR) keresztüli jelátvitelt dendritikus sejtekben, mely egy újabb lehetséges mechanizmust képvisel a vírus által kiváltott immunmoduláns hatások terén (62).

2.5.4. Az HHV-6 előfordulása marginális periodontitiszben

Számos kutatás vizsgálta a HHV-6 előfordulását krónikus marginális periodontitiszben (8, 10, 37, 51, 95). A vizsgálatokban felhasznált minták között szerepelt szubgingivális plakk, sulcusfolyadék (gingival crevicular fluid, GCF), illetve gingivális biopsziával vett szövetminta. Az alkalmazott módszer a virális DNS PCR módszerrel történő azonosítása volt. A kimutatott HHV-6 prevalencia 4-24.2% között váltakozott. A kutatások nem találtak összefüggést a parodontitisz klinikai paraméterei és a HHV-6 prevalencia között (37, 95).

Az eddig fellelhető irodalmi adatok alapján krónikus apikális periodontitiszben még egyetlen kutatás sem vizsgálta a HHV-6 előfordulását.

2.6. Humán cytomegalovírus

2.6.1. Transzmisszió, gazdasejtek

A humán cytomegalovírus (más néven humán herpesvírus 5) egy igen elterjedt beta-herpesvírus, a humán populáció 50-90%-a szeropozitív a vírusra nézve, földrajzi helyzettől és szociális viszonyoktól függően (26, 85).

A vírus terjedése számos útvonalon lehetséges. A transzmisszió leggyakoribb módja a nyállal történő terjedés, emellett a vírus a vizeletben is kimutatható. Női és férfi genitális váladékokból is kimutatták az HCMV-t, ami a szexuális úton történő terjedést teszi lehetővé (24). Az újszülött fertőződése létrejöhet a méhen belüli élet során transzplacentális terjedés révén, születés során a szülőcsatornán történő áthaladáskor, illetve születés után az anyatejes táplálás során is. Mindezek mellett a HCMV fertőzés transzfúzióval vagy szerv-transzplantáció során is átvihető. Az élet folyamán két olyan időszak van, amikor gyakrabban fordul elő HCMV fertőzés. Az egyik az újszülöttkor és a kisgyermekkor, amikor a méhen belüli, anyatejes, illetve nyál közvetítette fertőzési út dominál, a másik a serdülőkor és fiatal

felnőttkor, amikor szexuális úton jön létre a fertőzés. Az utóbbi fertőzési korszak elsősorban a fejlett országokban gyakori, ahol a lakosság átfertőzöttsége viszonylag alacsony és így magas a fogékony felnőttek aránya (24).

Az egészséges hordozókban a HCMV látencia elsődleges helyszínét a perifériás vér monocitái képezik (96). További látencia-helyek lehetnek a csontvelői CD34+ myeloid progenitor őssejtek, a dendritikus sejt (DC) prekurzorok, továbbá a nyálmirigyek és a vese epitheliális sejtjei (56). A látens HCMV fertőzést hordozó monociták szöveti makrofágokká differenciálódásakor, illetve a DC prekurzorok dendritikus sejtekké fejlődésekor a HCMV reaktiválódása figyelhető meg (85). A sejtekből felszabaduló virionok további sejt típusok fertőzésére képesek: makrofágok, T-limfociták, endoteliális sejtek és egyéb kötőszöveti sejtek (9, 91)

2.6.2. Lítikus életciklus

A HCMV replikációs ciklusában három fő szakasz különíthető el, az azonnali korai (IE), korai (E) és a késői (L) szakaszok. Az „azonnali korai” transzkripció fázis során az IE gének átírása folyik, melyek termékei olyan szabályozó fehérjék, melyek a következő fázis E géneinek a transzaktiválását végzik.

A „korai” fázisban az E gének transzkripciója folyik. Ezen gének fehérjetermékei a virális DNS szintézishez szükségesek.

A virális DNS replikációt követően kezdetét veszi a „ késői” fázis, melynek során az L virális proteinek szintézise folyik. Ezek olyan strukturális virális fehérjéket kódolnak, mint például a kapszid- és mátrixproteinek vagy a burok glikoproteinjei.

Néhány strukturális fehérje transzkripciója azonban már hamarabb, a virális DNS replikációja előtt elkezdődik. Ezek a „késleltett korai gének” termékei, ilyen például a mátrix-foszfoprotein pp65 (ORF UL 83) (13).

A késői fázist követően az új virionok felépülnek a sejtmagban és a magmembránon áthaladva megkapják az őket körülvevő burkot. Végül, a sejtplazma endoplazmatikus retikuluma mentén bimbózással (budding) szabadulnak ki a gazdasejtből.

2.6.3. HCMV-asszociált kórfolyamatok

Az ép immunrendszerű egyének primer HCMV fertőzése rendszerint tünetmentes, esetenként enyhe *mononucleosis infectiosa* jellegű formát ölt. A betegség tünetei viszonylag hosszú, 4-8 hetes inkubáció után jelentkeznek láz, izomfájdalom, lymphadenopathia képében, melyet atípusos limfocitózis kísér (75).

A HCMV fertőzés az egyik legnagyobb veszélyt szeronegatív anyák magzataira jelenti. A kongenitális infekció eredménye vetélés, magzatelhalás, illetve súlyos fejlődési rendellenességek lehetnek (mentális retardáció, süketség).

A *cytomegáliás zárványbetegség* leggyakrabban kongenitális fertőzés eredményeként alakul ki újszülöttekben, illetve immunhiányos betegekben. Elnevezése arra vezethető vissza, hogy jellegzetes „bagolyszemre” emlékeztető, nagyméretű zárványtestek mutathatóak ki az érintett szövetek sejtjeiben. A betegség súlyos tünetekkel jár: intrauterin retardáció, hepatosplenomegália, microcephalia, chorioretinitis, halláskárosodás (75).

Szervtranszplantált egyének HCMV fertőzése a betegek 25-90%-ában kialakul. A vírusfertőzés létrejöhet primer infekció nyomán, amennyiben szeronegatív recipiens szeropozitív donortól kap szervet. Reaktivációról beszélünk, ha a szeropozitív recipiens sejtjeiben látens megbújó vírus reaktiválódik a szervátültetéssel járó immunszuppresszió során. Reinfekció esetén a szeropozitív recipiens egy új, a sajátjától eltérő CMV törzssel fertőződik felül (21).

Immunkárosodott egyének HCMV fertőzése: a celluláris immunitás csökkent működése miatt gyakrabban alakul ki disszeminált HCMV fertőzés, pneumonia, colitis vagy chorioretinitis, mely egyaránt lehet primer fertőzés vagy reaktiváció következménye (26).

2.6.4. A HCMV által kiváltott immunmoduláns hatások

A humán cytomegalovírus egyes génjeinek (US2, US3, US6, US11) fehérjetermékei képesek visszatartani a gazdasejt plazmában újonnan képződött MHC I molekulákat. A vírus IE proteinjei gátolják az endotel sejtekben az MHC II molekulák expresszióját (3). Az MHC I és II molekulák downregulációját HCMV fertőzött dendritikus sejteken és makrofágokon (61) is kimutatták. Ezen folyamatok révén az MHC molekulákhoz kötött antigénprezentáció lecsökken, melynek nyomán a CD4⁺ T-helper sejtek, illetve a citotoxikus T limfocyták nem tudják azonosítani és elpusztítani a vírusfertőzött sejtet. A HCMV befolyásolja a monociták sejtfelszínén található kemoreceptorok expresszióját, melyek révén a sejtek érzéketlenné válnak a kemokinekre és az általuk kiváltott szignalizációra. Ennek következtében gátolódik a

sejtek migrációja a gyulladt szövetekbe és azon képességük, hogy további immunsejteket vonzanak a gyulladás helyszínére (19).

A HCMV UL18 proteinje MHC I homológként működve leköti az NK sejtek receptorait, így a fertőzött sejt elkerüli az NK sejtek általi pusztítást. Egyes virális géntermékek képesek gátolni a p53 tumorsuppresszor gén működését, melynek nyomán a vírusfertőzött gazdasejt elkerüli a p53 által kiváltott apoptózist (44).

A HCMV Fc-receptor termelődést indukál a gazdasejtben, melyek megkötik a HCMV ellenes IgG-t a sejtfelületen, ezáltal gyengítik az ellenanyag-mediált immunválaszt.

A vírus számos proinflammatorikus és immunmoduláns hatású citokin és kemokin expresszióját befolyásolja. Korábbi irodalmi adatok szerint fokozza a TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12 és az IFN- α,β,γ expresszióját is (59, 101).

2.6.5. A HCMV előfordulása apikális periodontitiszben

Az EBV-hez és HHV-6-hoz hasonlóan, humán cytomegalovírus esetében is elmondható, hogy marginális periodontitiszből származó mintákban már korábban kimutatták a vírus jelenlétét. Előfordulása 0.3-16% között változott (10, 37, 95).

Az apikális periodontitist vizsgáló tanulmányokban általában egyéb herpesvírusokkal együttesen vizsgálták a HCMV előfordulását, így a kutatásokban felhasznált minták, illetve az alkalmazott módszerek megegyeznek az Epstein-Barr vírussal tárgyaltakkal.

A HCMV DNS előfordulását periapikális léziókban két kutatásban vizsgálták, az egyik hagyományos, kvalitatív PCR technikát alkalmazott és a léziók 15.9%-ában azonosította a vírust (46), a másik valós idejű PCR technikát alkalmazott és nem tudott HCMV DNS-t kimutatni a gyulladásokban (91). A tanulmányok többsége a HCMV RNS kimutatását célozta meg a pp65 mRNS detektálása révén. Eredményeik azt mutatják, hogy az HCMV-RNS előfordulása 40% és 79.4% közötti ingadozik a vizsgált periapikális léziókban (77, 78, 88, 106).

A legtöbb kutatás a periapikális mintákat az érintett fog panaszossága szerint csoportosította és összefüggést mutatott ki a panaszos klinikai manifesztáció és a pp65 RNS előfordulása között (46, 76, 77, 78, 79, 88, 106). Két tanulmány a periapikális léziók méretét is vizsgálta: Sabieti és mtsai a nagyméretű léziókból gyakrabban tudták kimutatni az HCMV RNS-t, mint a kisméretű elváltozásokban (78), ugyanakkor Li Hong és mtsai a kisméretű periapikális gyulladásokban találták gyakoribbnak a pp65 transzkriptumok előfordulását (46).

3. METODIKÁK

3.1. A mintagyűjtés körülményei

Kutatásunk során 40 kóros és 40 kontroll minta került feldolgozásra. A kóros mintákat a apikális periodontitiszben szenvedő fogak periapikális léziói képezték, míg a kontroll mintákat gyulladásmentes fogak pulpaszövege szolgáltatta. A vizsgálatban résztvevő betegek a Debreceni Egyetem Fogorvostudományi Karának Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Tanszékén részesültek ellátásban. A mintagyűjtés a Klinikai Etikai Bizottság jóváhagyásával történt (azonosítási szám: 2885-2008). A vizsgálatban résztvevő betegeket azonosítószámmal láttam el, ezáltal módot teremtve a betegadatokat anoním kezelésére. A mintagyűjtést megelőzően a résztvevő betegek mindegyike írásos tájékoztatót kapott a beavatkozás jellegéről, illetve a lehetséges kockázatokról és kellemetlenségekről, valamint a tájékoztatót követően műtéti beleegyező nyilatkozatot írt alá. A kóros mintákat szolgáltató betegekkal kérdőíveket töltöttem ki, melyek az általános betegségekről, rendszeresen szedett gyógyszerekről, illetve az érintett fog anamnéziséről tartalmaztak kérdéseket.

3.2. Beteg kiválasztás

A periapikális léziókat szolgáltató betegcsoportnál fontos kritérium volt a kielégítő általános állapot súlyosabb szisztémás betegség nélkül (az Amerikai Aneszteziológiai Társaság ajánlása alapján), valamint szájsebészeti apikotómia szükségessége egy vagy több fagon a hagyományos gyökérkezeléses terápia sikertelensége miatt. A krónikus apikális periodontitisz diagnózisa az érintett fog anamnézise, illetve a klinikai és radiológiai vizsgálatok eredménye alapján került felállításra.

A betegcsoporton kívül estek a rossz általános állapotú, illetve súlyos szisztémás betegségben szenvedő betegek, valamint a marginális periodontális gyulladásban érintett fogak (szondázási mélység > 4 mm).

A kontroll-mintákat szolgáltató betegcsoport esetében is fontos kritérium volt a kielégítő általános állapot súlyosabb szisztémás betegség nélkül. Ezen túl lényeges szempont volt, hogy az érintett fogak mentesek legyenek szuvas folyamattól, töméstől, repedéstől, illetve gyulladástól mind a fogbél, mind a periodontális szövetek tekintetében.

3.3. A minták osztályozása

Az apikális periodontitiszben szenvedő fogakat panaszos és panaszmentes csoportokba osztottam. A panaszos fogakra akut fájdalom, ráharapási és kopogtatási érzékenység, illetve a gyökércsúcsi régió nyálkahártya felőli nyomásérzékenysége volt jellemző. A panaszmentes fogak esetében jelentősebb panaszt, illetve klinikai tünetet nem észleltünk (a radiológiai kórjelektől eltekintve).

A periapikális elváltozások további osztályozási szempontját képezte a lézió röntgenfelvételen látható nagysága, radiológiai átmérője. Ennek alapján elkülönítettem 5 mm-es vagy annál nagyobb periapikális léziókat (≥ 5 mm) és 5 mm-nél kisebb léziókat (< 5 mm).

3.4. Apikális periodontitiszes minták gyűjtése

A kóros betegmintákat az apikális periodontitiszben szenvedő fogak gyökércsúcsának sebészi eltávolítása, az ún. apikotomia során gyűjtöttem. Az apikotómiát többnyire helyi érzéstelenítésben végzik és rövid obszervációt követően a beteg általában még aznap elbocsájtásra kerül.

A műtétet megelőzően a páciensek 0.2%-os klórhexidin tartalmú szájöblítő oldattal 1 percig öblögettek, majd a műteti területre eső szájnyálkahártya, fogíny és fogak is lemosásra kerültek az oldattal. Helyi érzéstelenítést követően az érintett fogtól egy-két foggal meziálisan vagy disztálisan intrasulculáris metszést ejtettek, amit egy vertikális lefutású metszéssel egészítettek ki. Ezt követően leválasztották a mukoperioszteális lebenyt a csontfelszínről és egy steril acélgömb fűrőfej használatával csontablakot hoztak létre a periapikális régiónak megfelelően. A csontszövet hőkárosodásának elkerülésére steril fiziológiás sóoldattal hűtést alkalmaznak a fűrő használatának idején. A gyökércsúcsi szövetszaporulatot periapikális curettage révén távolították el. A szövetminta ezt követően steril Eppendorf csőbe került, mely RNAlater RNS stabilizáló reagenst tartalmazott (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) és azonnal -20°C alatti és legkésőbb 2 órán belül -70°C alatti lefagyasztásra került.

3.5. Kontroll minták gyűjtése

A vizsgálatban felhasznált kontroll mintákat impaktált bölcsességfogakból eltávolított gyulladásmentes fogbéliszövet képezte. Az érintett bölcsességfogak panaszt okoztak a pácienseknek (pl.: *pericoronitis*, szekunder fogtorlódás), így azok szájsebészeti eltávolítása minden esetben indokolt volt.

A műtétet megelőzően a páciensek 0.2%-os klórhexidines szájöblítő oldattal 1 percig öblögettek, majd a műtéti is lemosásra került az oldattal. Helyi érzéstelenítést követően mukoperioszteális lebenyt képeztek és steril fiziológiás sóoldattal hűtve eltávolították a fogkörüli csontszövetet steril acélgömb fűrőfej használatával. A kiemelt bölcsességfogat ezt követően steril fiziológiás sóoldatot tartalmazó Falcon csőbe helyeztem, mely azonnal -20°C alatti és legkésőbb 2 órán belül -70°C alatti lefagyasztásra került.

A fogbéliszövet kinyeréséhez a fogakat egyesével sterilizált vastag műanyag tasakokba helyeztem és egy fémkalapács segítségével kívülről összetörtem őket. Ezt követően a tasakokat lamináris elszívó fülkébe helyeztem és itt nyitottam ki. A pulpaszövetet steril csipeszek és gyökérkezelő műszerek segítségével távolítottam el.

3.6. RNS izolálás

Minden kóros és kontroll mintát két részre osztottam: az egyik részt DNS izoláláshoz, míg a másik porciót RNS izoláláshoz használtam fel. Az RNS izolálás előtt a szövetmintákat steril kőmozsarakban fagyasztott nitrogén segítségével homogenizáltam, majd mintánként 1000 µl TRI Reagensben (Sigma, St. Louis, Moon, USA) szuszpendáltam fel. Ezután a mintákat 10 percig szobahőmérsékleten inkubáltam, majd 200 µl kloroform hozzáadását követően összeráztam és további 10 percet szobahőmérsékleten inkubáltam. Ezt követően az elegyet 15 percig 12000 G-vel centrifugáltam 4°C-on. A centrifugálást követően az elegy 3 fázisra vált szét: egy alsó pirosas színű fázisra, mely a fehérjéket tartalmazta, egy DNS tartalmú középső fázisra és egy felső, vizes, színtelen fázisra, amelyben az RNS volt. Az utóbbi felső, vizes fázist óvatosan leszívtam egy pipettával és átvittem egy üres Eppendorf csőbe, majd 500 µl izopropanolt adtam hozzá. Ezt követően 10 percig szobahőmérsékleten inkubáltam, majd 15 percig centrifugáltam 12000 G-vel 4°C-on. Az RNS üledékről leszívtam a felülúszót, majd 1000 µl 75%-os etanolt mértem rá és újabb 15 percig centrifugáltam 12000 G-vel 4°C-on. Ezután leszívtam a keletkező felülúszót és további 5 percet centrifugáltam 12000 G-vel 4°C-on. A felülúszó eltávolítása után az RNS üledéket 10 percig szárítottam 37 °C-os

inkubátorban, majd 50 µl RNáz-mentes desztillált vízben oldottam fel. Végezetül az elegyet 15 percig 50 °C-on inkubáltam. Az izolált RNS-t felhasználásig -70°C-on tároltam.

Az RNS izolálás hatékonyságát egy folyamatosan expresszáldó „háztartási gén”, a h36B4 riboszómális foszfoprotein mRNS-ének - reverz transzkriptáz PCR-rel történő - azonosításával ellenőriztem (32).

3.7. DNS izolálás

A sejtek DNS tartalmának izolálásához nukleinsav izoláló kittet (High Pure Viral Nucleic Acid Kit, Roche, Switzerland) használtam. Az DNS izolálás előtt a szövetmintákat steril kőmoszarakban fagyasztott nitrogén segítségével homogenizáltam, majd mintánként 500 µl kötő-oldatot (Binding Puffer, Roche) mértem rájuk. Ezután üres Eppendorf csövekbe egymás után összemértem 4 µl PoliA oldatot (Roche), 200 µl kötő-puffert (Roche) és 50 µl proteináz K-t (Roche), majd az így kapott elegyekhez egyenként hozzáadtam 200 µl-t a mintákból. Vortexelést követően a 10 percig 72°C-on inkubáltam a csöveket, majd lecentrifugáltam őket. Ezt követően további 100 µl kötő-puffert mértem az elegyekhez, majd vortexeltem és lecentrifugáltam őket. Ezután az elegyeket felmértem az izoláló kit oszlopaire és 8000 G-vel 1 percig centrifugáltam őket. Ezután az oszlopokat új, üres csövekbe helyeztem át és 500 µl inhibitor eltávolító puffert (Inhibitor removal puffer, Roche) mértem rájuk, majd 8000 G-vel 1 percig centrifugáltam őket. Ezt követően az oszlopokat üres csövekbe helyeztem át és 450 µl mosó puffert (Roche) mértem rájuk, majd 8000 G-vel 1 percig centrifugáltam őket. Ezután az oszlopokat ismét üres csövekbe helyeztem át és 12000 G-vel 10 másodpercig centrifugáltam őket, majd miután ismét üres csövekbe helyeztem át az oszlopokat 100 µl elúciós puffert (Roche) adtam hozzájuk és 8000 G-vel 1 percig centrifugáltam őket. Végezetül a cső alján összegyűlt DNS izolátumot üres Eppendorf csövekbe átmértem és -20 °C-on tároltam.

A DNS izolálás effektivitását egy folyamatosan expresszáldó „háztartási gén”, a humán beta-globin DNS PCR-rel történő azonosításával ellenőriztem (42).

3.8. Polimeráz láncreakció (PCR)

A **reverz transzkripció PCR (RT-PCR)** során az RNS minták komplementer DNS-sé (cDNS) történő átalakítását random hexamereket tartalmazó reverz transzkripció kittel (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) végeztem. A reakcióelegy összeállítása során 5 µl RNS-hez hozzámértem 2 µl RT puffert (Applied Biosystems), 2 µl RT primert (Applied Biosystems), 0.8 µl dNTP mixet (Promega), 1

μl reverz transzkriptáz inhibítort (Applied Biosystems), 1 μl RT enzimet (Applied Biosystems), majd a végtérfogatot 8.2 μl desztillált víz hozzáadásával kiegészítettem 20 μl-re. A mintákat ezt követően PCR gépben 25 °C-on 10 percig, majd 37°C-on 120 percig, végül 85°C-on 5 percig inkubáltam.

Az RT-PCR során szintetizált cDNS-ekben **nested PCR technikával** azonosítottam a virális RNS szakaszokat. A nested PCR két körből áll és az első körben keletkező PCR termékeket használjuk fel a második körben. A második „nested kör” primerjei beilleszkednek az első kör primerjei által felszaporított DNS szakaszokra és tovább amplifikálják őket, így a PCR érzékenysége hatványozottan fokozódik.

Az EBV és HCMV azonosítására használt külső és belső körös primerek szekvenciáit, valamint a PCR reakciók körülményeit az 1. táblázat mutatja be (36, 46, 106).

1. táblázat. EBV és HCMV primer szekvenciák és PCR kondíciók.

Célrégió		Primer szekvencia	Amplikon méret [ref.]	PCR kondíciók			
				Hőmérséklet profil			ciklusok
EBV-DNA: <i>Bam</i> H1-W	P-f	5' GAGACCGAAGTGAAGGCCCT 3'	171 bp [36]	94°C	58°C	72°C	30×
	P-r	5' GGTGCCTTCTTAGGAGCTGT 3'		30 sec	30 sec	90 sec	
	N-f	5' GCCAGAGGTAAGTGGACTTTAAT 3'	97 bp [36]	94°C	60°C	72°C	35×
	N-r	5' GAGGGGACCCTGAGACGGGT 3'		30 sec	30 sec	90 sec	
EBV- mRNA: EBNA-2-3C	P-f	5' TCCACCACACCCAGGCAC 3'	205 bp [46]	94°C	54°C	72°C	30×
	P-r	5' TGGAGAGGTCAGGTTACTTAC 3'		30 sec	30 sec	90 sec	
	N-f	5' ACACACACCCACCCGTCTCA 3'	120 bp	94°C	63°C	72°C	35×
	N-r	5' TTGCTGGACGAGGACCCTT 3'		30 sec	30 sec	90 sec	
HCMV- DNA: pp65	P-f	5' TCACCTGCATCTTGGTTGCG 3'	309 bp [106]	94°C	64°C	72°C	30×
	P-r	5' TGCCGCTCAAGATGCTGAAC 3'		30 sec	30 sec	90 sec	
	N-f	5' GGAAACACGAACGCTGACGT 3'	220 bp [106]	94°C	65°C	72°C	35×
	N-r	5' TGCCGCTCAAGATGCTGAAC 3'		30 sec	30 sec	90 sec	
HCMV- mRNA: pp65	P-f	5' ACGCGCTGCCGCTCAAGAT 3'	195 bp [46]	94°C	60°C	72°C	30×
	P-r	5' TGTAGTAGACGTCGGGCTCTTT 3'		30 sec	30 sec	90 sec	
	N-f	5' CGCTGCCGCTCAAGATGCTGAA 3'	124 bp	94°C	70°C	72°C	35×
	N-r	5' ATCTGCTTGCCCGACGCGTGAA 3'		30 sec	30 sec	90 sec	

P-f: első körös forward-primer, P-r: első körös reverz-primer, N-f: második körös forward-primer, N-r: második körös reverz-primer. Ahol nincs referencia feltüntetve, ott saját tervezésű primereket használtunk.

Az EBV DNS kimutatásakor a PCR reakció mindkét körében 5 µl DNS-hez hozzámértem 10 µl Red Taq Ready Mixet (Sigma, St. Louis, Moon, USA), 0.5 µl forward-primert, 0.5 µl reverse-primert és végül 4 µl desztillált víz hozzáadásával 20 µl-re egészítettem ki a végtérfogatot.

HCMV esetén 3 µl DNS-hez hozzámértem 2.5 µl Red Taq Puffert (Sigma, St. Louis, Moon, USA), 0.5 µl dNTP mixet (Promega), 0.5 µl forward-primert, 0.5 µl reverse-primert, 1 µl RedTaq DNS polimeráz enzimet (Sigma, St. Louis, Moon, USA), majd 17 µl desztillált víz hozzáadásával 20 µl-es végtérfogatot kaptam.

A HHV-6 DNS és RNS azonosítására használt külső és belső körös primerek szekvenciáit és a PCR reakciók körülményeit a 2. táblázat mutatja be (103).

2. táblázat. HHV-6 primer szekvenciák és PCR kondíciók.

Célrégió		Primer szekvenciák	Amplikon méret	Hőmérséklet profil	Ciklus-szám
HHV-6 DNS: IE	P-f	5'TCCTCCAGATGTGCCAGGGAAATCC-3'	610 bp (HHV-6A)	94°C 60 sec 62°C 120 sec 72°C 180 sec	30x
	P-r	5'CATCATTGTTATCGCTTTCACCTC-3'	530 bp (HHV-6B)		
	N-f	5'AGTGACAGATCTGCGCGCCCTAACTT-3'	195 bp (HHV-6A)	94°C 60 sec 53°C 120 sec 72°C 180 sec	30x
	N-r	5'AGGTGCTGAGTGATCAGTTTCATAACC AAA-3'	423 bp (HHV-6B)		
HHV-6 RNS: IE	P-f	5'TAAGATGTATGCTGAAGAACGTG-3'	608 bp (HHV-6A)	94°C 30 sec 53°C 30 sec 72°C 480 sec	30x
	P-r	5'GCTTGTCTTCGTCGTTTCG-3'	615 bp (HHV-6B)		
	N-f	5'AATGGGTTCTCTAACGGTGG-3'	107 bp (HHV-6A)	94°C 30 sec 53°C 30 sec 72°C 480 sec	30x
	N-r	5'TCTGAGAAATCGACGTGATC-3'	123 bp (HHV-6B)		

P-f: első körös forward-primer, P-r: első körös reverz-primer, N-f: második körös forward-primer, N-r: második körös reverz-primer.

A HHV-6 különböző altípusait a keletkező PCR termékek eltérő hosszúsága alapján azonosítottuk: a HHV-6A amplikonok hossza 195 bp, míg a HHV-6B amplikonok hossza 423

bp volt. A reakció elegyek összemérésénél 5 μ l cDNS-hez hozzáadtam 25 μ l Red Taq Ready Mixet (Sigma, St. Louis, Moon, USA), 1 μ l forward-primert, 1 μ l reverse-primert és végül a végtérfogatot 18 μ l desztillált víz hozzámérésével 50 μ l-re egészítettem ki.

HHV-6 DNS vizsgálatakor 5 μ l DNS-hez hozzámértünk 10 μ l Red Taq Ready Mixet (Sigma, St. Louis, Moon, USA), 1 μ l forward-primert, 1 μ l reverse-primert és 3 μ l desztillált vizet, mellyel 20 μ l-es végtérfogatot kaptunk.

Az így nyert PCR termékeket ethidium bromid tartalmú (0.5 μ g/ml) 1.5%-os agaróz gélen elektroforézissel megfuttattam. A molekulasúly marker, illetve a pozitív kontrollok segítségével a keletkező PCR termékeket méretük alapján azonosíthatóak voltak.

3.9. Statisztikai analízis

A kontroll és a betegcsoportok közötti különbségek szignifikanciáját az esetek többségében Yates korrigált khi-négyzet statisztikai teszttel elemeztük. Amennyiben a 2x2-es kontingenciatáblázat bármely cellájában a várt érték kisebb, mint 5 volt, Fisher exact statisztikai tesztet végeztünk. A feltételezett rizikófaktorokat logisztikus regressziós analízisben elemeztük, melyben megadtuk a számított esélyhányadosok (OR) 95%-os megbízhatósági tartományát, illetve szignifikanciáját is. Az alkalmazott statisztikai módszerek mindegyikében a különbségek 5% alatt számítottak szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

A kutatásban felhasznált 40 apikális periodontitisz 36 betegből származott. A résztvevő betegek kormegoszlása 18-80 év közötti, átlagéletkoruk 49 év. A kontrollként használt 40 gyulladásmentes pulpa minta 25 betegből származott, akik 17-25 év közöttiek, átlagéletkoruk 23 év.

4.1. Az EBV előfordulása és aktivitása

Eredményeink szerint az EBV DNS szignifikánsan gyakrabban fordult elő a periapikális léziókban a kontroll mintákhoz viszonyítva (72.5% vs 2.5%, $p<0.0001$). Az EBV fertőzés lokális aktivációja, amit az EBNA-2 mRNS jelenlétével mutattunk ki szignifikánsan gyakoribb volt a kóros mintákban a kontrollhoz képest (50% vs. 2.5%, $p<0.0001$).

3. táblázat. EBV és HCMV előfordulása periapikális és kontroll mintákban.

	EBV DNS	EBNA2 mRNS	HCMV DNS	pp65 mRNS
periodontitis apicalis minták (n=40)	29*	20*	4	-
panaszos (n=17)	14*	12*	1	-
panaszmentes (n=23)	15*	8[#]	3	-
nagy lézióméret (n=21)	19*	16*	3	-
kis lézióméret (n=19)	10*	4⁺	1	-
kontrollminták (n=40)	1	1	0	-

* $p<0,0001$; # $p<0,001$; + $p<0,05$ a kontrollokhoz viszonyítva.

A periapikális léziók panaszosság szerinti osztályozását követően azt tapasztaltuk, hogy mind a panaszos, mind a panaszmentes léziókban szignifikánsan gyakrabban tudtunk EBV DNS-t és EBNA-2 mRNS-t kimutatni a kontrollokhoz képest (82% és 65% vs. 2.5%, $p < 0.0001$). Mindkét EBV infekciós marker gyakrabban fordult elő panaszos léziókban, mint a panaszmentesekben (3. táblázat).

A kóros léziók radiológiai átmérője szerinti csoportosításánál szintén kimutatható volt, hogy a kis ($< 5\text{mm}$) és nagy ($\geq 5\text{mm}$) méretű léziókban egyaránt szignifikánsan gyakoribb az EBV DNS és RNS előfordulása a kontrollokhoz képest (53% és 91% vs. 2.5%, $p < 0.0001$). Mind az EBV DNS ($p = 0.02$), mind az EBNA-2 mRNS ($p = 0.002$) szignifikánsan gyakrabban fordult elő a nagyméretű periapikális léziókban a kisméretű léziókhoz képest.

4.2. A panaszos periapikális léziók kockázati tényezői

Eredményeink azt mutatták, hogy a periapikális léziók panaszos megnyilvánulása és a nagy lézióméret gyakran együttesen fordulnak elő, ezért a továbbiakban logisztikus regressziós analízissel vizsgáltuk meg, hogy az EBV infekciós markerek és a lézióméret közül melyek tekinthetők a panaszosság független kockázati tényezőinek. Az egyváltozós analízis során a három kockázati tényező hatását egyenként vizsgáltuk (4. táblázat). Az eredményekből kitűnik, hogy a nagy lézióméret, illetve az EBNA-2 mRNS önmagában szignifikáns mértékben hajlamosított a panaszos megnyilvánulásra.

A többváltozós analízisben a három kockázati tényező együttes hatását vizsgáltuk: az EBV infekciós markereket a lézióméretre korrigáltuk, míg a lézióméretet az EBNA-2 mRNS-re. A korrigált esélyhányados értékek és a hozzájuk tartozó konfidencia intervallumok azonban azt jelezték, hogy a nagy lézióméret és a panaszosság közötti összefüggés tendenciaszintűre ($p = 0.08$) legyengült, valamint az EBNA-2 mRNS és a panaszosság közötti szignifikáns összefüggés eltűnt (4. táblázat). Miután a közös analízisben az EBNA-2 mRNS és a nagy lézióméret egymás hatását kölcsönösen gyengítette, feltételeztük, hogy egymás hatását kiegészítő tényezőkről lehet szó.

4. táblázat. Panaszos periapikális léziók kockázati tényezőinek egy- és többváltozós logisztikus regressziós analízise.

független változók	léziók n	panaszos n (%)	<u>egytényezős analízis</u>	<u>többtenyezős analízis</u>
			esélyhányados OR (CI _{95%}) [#]	korrigált esélyhányados aOR (CI _{95%}) [#]
lézióméret				
< 5 mm	19	4 (21%)	1.0 (ref)	1.0 (ref)
≥ 5 mm	21	13 (62%)	6.09 (1.49-24,99) p=0.01	4.02 (0.81-19.89) * p=0.08
EBV DNS				
nincs	11	3 (27%)	1.0 (ref)	1.0 (ref)
van	29	14 (48%)	2.49 (0.55-11.30) p=0.24	1.11 (0.19-6.18) ** p=0.90
EBNA-2 mRNS				
nincs	20	5 (28%)	1.0 (ref)	1.0 (ref)
van	20	12 (60%)	4.50 (1.17-17.37) p=0.03	2.29 (0.48-11.06) ** p=0.30

*EBNA-2 mRNS-hez és a **léziómérethez viszonyítva. [#]95 % megbízhatósági tartomány, alatta látható az esélyhányados p értéke.

Ennek igazolására a további analízisben a léziókat az EBNA-2 mRNS és a lézióméret kombinálásával csoportosítottuk. A panaszosság gyakoribbá válását azokhoz betegekhez viszonyítottuk, akik panaszmentes és kisméretű léziókkal rendelkeztek.

Az eredmények alapján a nagy lézióméret és az aktív EBV fertőzés együttes előfordulása szignifikáns mértékben, mintegy 8.8-szeres eséllyel (OR: 8,80) hajlamosított a lézió panaszos megnyilvánulására.

5. táblázat. A kockázati tényezők kumulatív hatásának vizsgálata logisztikus regressziós analízissel a periapikális léziók panaszos megnyilvánulására.

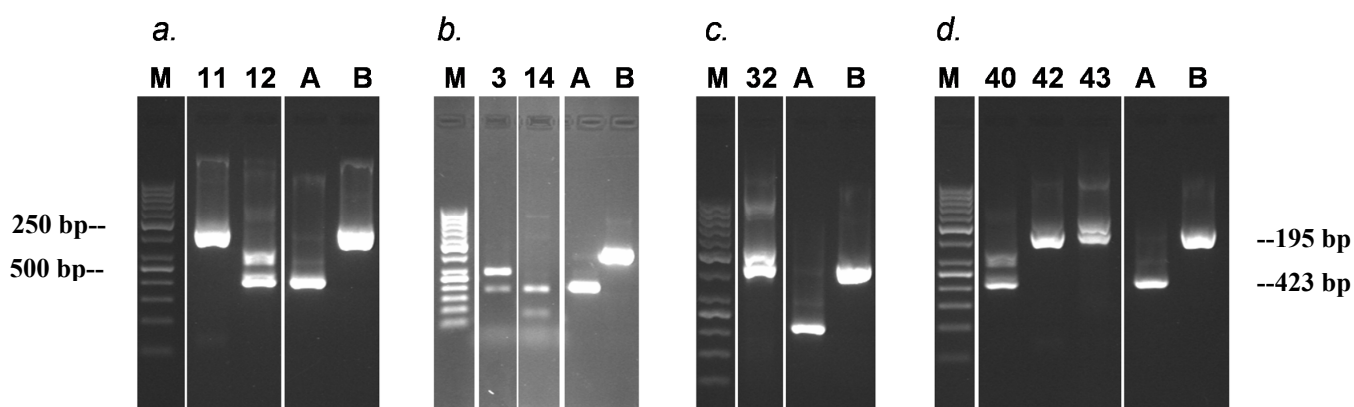
kombinált változók	léziók n	panaszos n (%)	esélyhányados OR (CI_{95%})[#]	p érték
méret mRNS				
<5mm nincs	15	3 (20%)	1.0 (ref)	
<5mm van vagy ≥5mm nincs	9	3 (33%)	1.99 (0.31-13.06)	p=0.47
≥5mm van	16	11 (69%)	8.80 (1.69-45.76)	p=0.01

[#]95 % megbízhatósági tartomány.

További betegadatokat összefüggését is vizsgáltuk a periapikális léziók klinikai megjelenésével és virológiai jellemzőivel. Sem a páciensek neme vagy kora, sem az illető fog lokalizációja (alsó-felső, jobb-bal oldal) vagy típusa (metszők, szemfogak, kisörlők) nem állt statisztikai összefüggésben sem a léziómérettel, sem a panaszossággal, sem a virális markerekkel.

4.3. A HHV-6 előfordulása és aktivitása

HHV-6 DNS szignifikánsan gyakrabban fordult elő a periapikális léziókban a kontroll mintákhoz viszonyítva (20% vs. 2.5%, $p=0.03$). Az A és B altípusokat egyenlő számban tudtuk detektálni a kóros mintákban: 4 minta volt HHV-6A pozitív és 4 minta HHV-6B pozitív. Az egyetlen HHV-6 pozitív kontrollminta a vírus A altípusát hordozta. Egyetlen vizsgált minta sem volt mindkét altípusra egyidejűleg pozitív (4. ábra).



4. ábra. A HHV-6 pozitív periapikális léziók PCR termékeinek agaróz gélelektroforézise. Az a-tól d-ig terjedő képek különböző gélelektroforézises futtatásokból származnak. Az amplikonok mérete HHV-6A esetén 195 bp, HHV-6B esetén 423 bp. A molekulásúly markeren (M) látható vastag csíkok 250 és 500 bp-t jelölnek.

A léziók panaszosság szerint csoportosításánál a HHV-6 DNS-t mind a panaszos és mind a panaszmentes léziókban nagyobb számban tudtuk kimutatni a kontrollokhoz képest (29.4% és 13.0% vs. 2.5%, $p<0.0001$). A logisztikus regressziós analízis során szignifikáns összefüggést ($p=0.008$) tudunk kimutatni a léziók fokozódó panaszossága és a HHV-6 infekció között. Ennek hátterében a vírus-altípusok jellegzetes eloszlása volt megfigyelhető: a HHV-6B infekciók szignifikánsan gyakoribbak voltak a panaszos periapikális léziókban ($p<0.01$), míg az A altípus a panaszmentes léziókhoz kötődött (6. táblázat).

A léziók radiológiai átmérője szerinti csoportosításánál kimutatható volt, hogy a kis (16%) és a nagyméretű léziókban (24%) egyaránt gyakoribb a HHV-6 DNS előfordulása a kontrollhoz képest (2.5%).

6. táblázat. HHV-6A és HHV-6B altípusok előfordulása és aktivitása.

	HHV-6 DNS	HHV-6A DNS	HHV-6B DNS	HHV-6 mRNS
periodontitis apicalis minták (n=40)	8*	4	4	–
panaszos (n=17)	5⁺	1	4[#]	–
panaszmentes (n=23)	3	3	0	–
nagy lézióméret (n=21)	5["]	1	4	–
kis lézióméret (n=19)	3	3	0	–
kontrollminták (n=40)	1	1	0	–

*p=0,03; +p=0.008; "p=0.018; #p<0.01 a kontrollokhoz viszonyítva.

Az adatok logisztikus regressziós analízissel történő elemzésekor szignifikáns összefüggést tudtunk kimutatni a periapikális léziók növekvő mérete és a HHV-6 infekció előfordulása között (p=0.018). A jelenség háttérében ismét megfigyelhető a HHV-6 altípusok jellegzetes eloszlása: mind a négy HHV-6B infekció nagyméretű léziókban fordult elő, ellenben a négy HHV-6A infekcióból 3 kisméretű lézióhoz kötődött (6. táblázat).

HHV-6 mRNS expressziót nem tudtunk kimutatni egyetlen kóros, illetve kontroll mintában sem.

4.4. A HCMV előfordulása és aktivitása

Négy periapikális mintában tudtunk HCMV DNS-t kimutatni, ugyanakkor egyetlen kontroll mintában sem (10% vs. 0%, p=0.12). A panaszmentes léziókban gyakrabban fordult elő HCMV DNS, mint panaszosokban, de a különbség nem volt szignifikáns mértékű (6% vs. 13%). A léziók radiológiai méretét figyelembe véve gyakrabban tudtunk detektálni HCMV

DNS-t a nagyméretű léziókban, mint a kisméretűekben (14% vs. 5%). HCMV mRNS-t nem tudtunk kimutatni egyetlen kóros, illetve kontroll mintában sem (3. táblázat).

4.5. Virális koinfekciók

Az általunk vizsgált 40 periapikális minta közül összesen 31-ben tudunk herpesvírus infekciót kimutatni (7. táblázat). HHV-6 monoinfekció egy mintában fordult elő, mely a vírus A altípusát hordozta, a fennmaradó 7 HHV-6 fertőzés mindegyike az EBV-vel koinfekcióban fordult elő. A HCMV esetében hasonló eloszlás volt észlelhető: egy monoinfekció és 3 koinfekció az EBV-vel. Egy mintában hármas EBV-HCMV-HHV-6 herpesvírus infekciót is sikerült azonosítani, amely klinikailag panaszmentes és kisméretű lézió volt.

Az EBNA-2 mRNS jelenlétét minden többszörös fertőzést mutató lézióban ki tudtuk mutatni. A mono- és a koinfekciót hordozó mintákban hasonló gyakorisággal fordult elő a panaszos klinikai manifesztáció (40.9% vs. 55.6%, $p=0.73$).

7. táblázat. HHV-6, HCMV és EBV koinfekciók.

	HHV-6 monoinfekció	HCMV monoinfekció	EBV monoinfekció	HHV-6 + EBV koinfekció	HCMV + EBV koinfekció
Kontroll (n=40)	1	0	1	0	0
Apikális periodontitisz (n=40)	1	1	20	7 ^t	3 ^t
<u>Kis lézióméret</u> (n=19)					
panaszmentes (n=15)	1	0	7	2 ^t	1 ^t
panaszos (n=4)	0	0	1	0	0
<u>Nagy lézióméret</u> (n=21)					
panaszmentes (n=8)	0	1	4	1	1
panaszos (n=13)	0	0	8	4	1

t: magába foglalja a hármas EBV-HCMV-HHV-6 herpesvírus infekciót tartalmazó mintát.

4.6. Betegek többszörös peripikális léziókkal

Négy olyan beteg volt, akiktől fejenként kettő-kettő periapikális léziót is vizsgáltunk. Ezen minták elemzése során kimutattuk, hogy az egy betegből származó különböző periapikális léziók számos klinikai és virológiai tulajdonságban eltértek egymástól. Egy beteg esetén különbözőt HHV-6 pozitivitás, míg két betegben az EBV státusz volt eltérő. A kontroll csoport esetén tíz betegből származott egynél több bölcsességfog, közülük egy beteg esetében eltért a két különböző pulpaszövet HHV-6 státusza.

8. táblázat Az egynél több mintát szolgáltató betegek periapikális léziói.

Beteg sorszám	Minta sorszám	Fog lokalizáció	EBV	HHV-6 altípus	lezióméret	panaszosság
1	1	12	+	-	$\geq 5\text{mm}$	-
	2	22	+	-	$\geq 5\text{mm}$	-
2	3	12	-	A	$< 5\text{mm}$	+
	4	22	+	-	$\geq 5\text{mm}$	-
19	26	11	+	-	$< 5\text{mm}$	-
	29	12	+	-	$< 5\text{mm}$	-
20	27	12	+	-	$\geq 5\text{mm}$	+
	28	13	-	-	$< 5\text{mm}$	-

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. Az EBV előfordulása és aktivitása

Számos korábbi közleményben bemutatták az Epstein-Barr vírus aktív részvételét apikális periodontitiszben, részben az EBNA-2 mRNS detektálásán keresztül (76, 77, 78, 79, 88), részben pedig az LMP fehérjék immunhisztokémiai kimutatásával (80). Eredményeik megerősítik a korábbi kutatásokat, amelyek szerint a periapikális gyulladások jelentős részében kimutatható egy aktív, EBNA-2 mRNS expresszióval járó EBV infekció (76, 77, 78, 79, 88). Miután az EBNA-2 mRNS expressziója a III-as típusú látencia-állapotra jellemző, így feltételezésünk szerint a periapikális gyulladásokban nem reaktiváció, hanem látenciaváltozás jön létre az EBV-fertőzött B limfocitákban, amelynek során III-as típusú látencia-állapotba lép át a gazdasejt. A kutatás során az EBV aktivitásának vizsgálatán túl a vírus prevalenciáját is meghatároztuk, az infekciós állapottól függetlenül. Az EBV-DNS pozitív periapikális léziók mintegy 2/3-ában tudtunk EBNA-2 mRNS-t is kimutatni, ami arra enged következtetni, hogy a periapikális EBV fertőzések nagy részében előfordul a III-as típusú látencia állapot.

A korábbi kutatások egy része a periapikális léziókat panaszosságuk szerint vizsgálta és szignifikáns összefüggést mutatott ki az EBNA-2 mRNS előfordulása és a lézió panaszossága között (77, 88). Sabieti és társai a lézióméretet is vizsgálták és kimutatták, hogy a panaszosság és a nagy lézióméret külön-külön szignifikáns összefüggésben állnak az EBNA-2 mRNS expressziójával (78, 79).

Tanulmányunkban először páronként elemeztük az összefüggést az aktív EBV infekció, a lézióméret és panaszosság között. A lézióméret külön-külön szignifikáns összefüggésben állt a másik két tényezővel, míg az EBV infekció és a panaszosság között statisztikai módszertől függően változott az összefüggés erőssége. Mivel a fenti tényezők nem voltak egymástól függetlenek, ezért a következő lépésben az EBV infekciós markerek és a lézióméret együttes hatását vizsgáltuk egy- és többváltozós logisztikus regressziós analízissel. A multivariáns analízisben a három kockázati tényező együttes hatását vizsgáltuk és láthatóvá vált, hogy a nagy lézióméret, illetve az EBNA-2 mRNS a statisztikai modellben lecsökkentette egymás panaszosságra hajlamosító hatását, így az egyváltozós analízisben kimutatott szignifikáns összefüggések eltűntek. A jelenséget okozhatták mintaszámbeli korlátok is, de háttérben az is állhatott, hogy két olyan egymás hatását kiegészítő kockázati tényezőről van szó, amelyek előfordulása egymástól nem teljesen független. A tanulmányunkban alkalmazott mintaszám a nemzetközi összehasonlításban is nagynak számít. A feltételezett kockázati tényezők kombinálásával ugyanakkor igazolni tudtuk, hogy a panaszosság szempontjából valóban

kiegészítette egymás hatását az EBNA-2 mRNS és a nagy lézióméret. Mindennek a klinikai jelentősége abban áll, hogy eredményeink szerint amennyiben egy nagyméretű lézióhoz III-as típusú látencia állapotban lévő EBV infekció társul, akkor az nagy valószínűséggel panaszos klinikai manifesztációjú lesz. Az EBV fertőzés aktiválódásának patogenetikai jelentőségét az is alátámasztja, hogy ezt az összefüggést csak az aktiválódást jelző mRNS adatokból lehetett kimutatni, míg az aktiválódás szempontjából indifferens EBV DNS adatok alapján nem.

A mintagyűjtés során igyekeztünk a minimálisra csökkenteni a kontamináció lehetőségét a magas EBV tartalmú képletekkel, mint például a nyál, illetve a parodontális tasakflóra. Az apikotómia műtéti kivitelezése során nyálmentes műtéti terület kialakítására törekedtek a szájsebészek a posztoperatív sebfertőzés elkerülése érdekében. A szövetminták esetleges nyálkontaminációja ellen irányul az a megfigyelés is, hogy a nyál nem tartalmaz olyan sejteket, melyek III-as típusú látencia állapotban lévő EBV infekciót hordoznak. A marginális periodontitiszben szenvedő fogakat kizártuk a kutatásból, hogy elkerüljük a tasakflórából eredő EBV szennyeződést. Mind az apikotómia, mind a bölcsességfogak műtéti eltávolításakor intrasulcularis metszésből történt a műtéti terület feltárása, így a gingivális sulcusból eredő EBV kontamináció egyenlő mértékben érintette a kóros és a kontroll mintákat.

Egy korábbi (91), valós idejű PCR módszerrel végzett kutatás eredményeire alapozva alacsony vírus kópiaszámra számítottunk a periapikális léziókban, ezért nested PCR módszert alkalmaztunk a vírusdetektálás specifikitásának és érzékenységének növelése érdekében. A primer kör ciklusszámát 30-ra korlátoztuk a kontamináció lehetőségének minimalizálása céljából (67).

A kutatás az egészséges pulpaszövetre nézve is szolgáltat prevalencia-adatokat, amelyek szerint az EBV DNS és az EBNA-2 mRNS előfordulása elhanyagolható mértékű gyulladásmentes fogbéliszövetben. Ezen adatok, valamint egy korábbi kutatás (46) hasonló eredményei alapján feltételezhető, hogy a beszűrődő B limfociták révén jut be az EBV fertőzés a periapikális gyulladásba.

5.2. A HHV-6 előfordulása és aktivitása

A HHV-6 fertőzést számos esetben mutattak ki marginális periodontitisz esetén (8, 10, 37, 51), de a vírus krónikus apikális periodontitiszben való előfordulásáról nem lelhető fel adat az irodalomban. Az általunk elvégzett kutatás az első, mely a HHV-6 A és B altípusok PCR prevalenciáját vizsgálta krónikus periapikális gyulladásokban és összefüggést keresett a klinikai tünetekkel.

Az eredmények alapján elmondható, hogy az egyes HHV-6 altípusok jellegzetes eloszlást mutattak a különböző léziók között: a HHV-6A főként kisméretű és panaszmentes léziókban, illetve egy kontroll mintában fordul elő, míg a HHV-6B szignifikánsan gyakrabban fordult elő nagyméretű és panaszos léziókban. A két HHV-6 altípus biológiai varianciája tehát megmutatkozott apikális periodontitisz esetén is.

Az EBV-hez és a HCMV-hez hasonlóan a HHV-6-ot is csupán elhanyagolhatóan alacsony számban tudtuk egészséges pulpaszövetben detektálni.

Az a tény, hogy nem tudtunk HHV-6 mRNS-t kimutatni egyetlen mintában sem, ez arra enged következtetni, hogy látens állapotú HHV-6 infekció volt jelen a periapikális gyulladásokban. Mindazonáltal a látens HHV-6 fertőzés is jelentős morfológiai és funkcionális változásokat képes kiváltani a gazdasejtekben a citokin és kemokin szignalizáció befolyásolása révén (lásd: 2.5.3-as fejezet).

5.3. A HCMV előfordulása és aktivitása

A HCMV aktivitása a különböző populációkban kétpólusú eloszlást mutat. Az irodalmi adatok egy része magasabb, mintegy 40% és 79.4% közötti mRNS expressziót detektált apikális periodontitiszben (77, 78, 88, 106), míg más közleményekben 0% és 29.3% közötti értékeket mértek (46, 91). Eredményeink az alacsony HCMV aktivitású populációkéval mutatnak hasonlóságot. A vírus prevalenciáját mindössze egy korábbi közlemény vizsgálta, mely eredményeinkhez (10%) hasonló adatokról számolt be: a kóros minták 15,9%-ában tudta kimutatni a vírust (46).

A megfigyelés, miszerint a nagyméretű léziókban gyakrabban tudtuk detektálni HCMV DNS-t, mint a kisméretűekben, felveti a vírusfertőzés lehetséges kóroki szerepét. Ennek tisztázására további, magasabb esetszámú vizsgálatok lennének szükségesek.

5.4. Virális koinfekciók

Az eredmények alapján elmondható, hogy az EBV volt a leggyakoribb herpesvírus a vizsgált periapikális léziókban, melyet a HHV-6 és végül a HCMV követett. Mind a HHV-6, mind a HCMV gyakran fordult elő koinfekcióban az EBV-vel. Az EBV és a HHV-6B infekciók főként panaszos és nagyméretű periapikális léziókban fordultak elő.

Az EBV és HHV-6 közötti koinfekciót más betegségek kapcsán is leírták, például a mononucleosis infectiosa és a Hodgkin-kór kapcsán is (4, 98).

A periapikális gyulladásba beszűrődő EBV fertőzött B limfocitákban feltehetően látenciaváltozás megy végbe I. típusú látenciából III. típusú látencia-állapotba. Ép immunitású egyének limfatikus szöveteiben a III-as típusú EBV látencia ritka és átmenetinek számító jelenség. A krónikus gyulladásban szenvedő periapikális környezet ennek ellenére alkalmasnak tűnik III-as típusú látencia állapotban lévő EBV fertőzött immunsejtek jelenlétére, feltehetően részben azért, hogy gazdasejtek immunmoduláns hatású citokinek termelése révén rejtve maradnak az immunfelügyelet elől. Az EBV és a HHV-6 fertőzések szerepet játszhatnak a krónikus periapikális gyulladások akut fellángolásában azért, hogy hozzájárulnak a lokális immunszuppresszió és az immunmediált szövetkárosodás kialakulásához, valamint a rezidens bakteriális flóra felerősödéséhez. Ezek együttes hatása hozzájárulhat a fokozott periapikális csontfelszívódáshoz és a klinikai tünetek felerősödéséhez (87, 89).

5.5. Betegek többszörös peripikális léziókkal

Egyes esetekben több minta is származott egyetlen betegtől. Ezen minták vizsgálatakor arra lettünk figyelmesek, hogy az ugyanazon betegből származó minták különbözhetnek a panaszosságban, lézióméretben és a herpesvírus fertőzöttségben is. Az adatok arra engedtek következtetni, hogy a helyi gyulladásos környezet a fő meghatározója a herpesvírusok előfordulásának apikális periodontitiszben. Ezt támasztja alá az a megfigyelés is, hogy a gazdaszervezet herpesvírus fertőzöttségének ellenére (amire a populáció általánosan magas EBV fertőzöttségéből következtetünk) a gyulladásmentes pulpa szövetek lényegében mentesek voltak a vírusfertőzéstől. Az egyes fogakat érintő periapikális kórfolyamatok egymástól függetlenül fejlődnek ki, így az egy betegen belül is a különböző lokalizációjú periapikális gyulladások is eltérhetnek egymástól.

5.6. Következtetések

1. Az apikális periodontitiszes mintákban az EBV volt a leggyakrabban detektált herpesvírus, amelyet a HHV-6, majd a HCMV követett. Ezzel szemben a gyulladásmentes kontroll-mintákban a három herpesvírus előfordulása minimális mértékű volt.
2. Az EBV DNS pozitív periapikális léziók mintegy 2/3-ában tudtunk EBNA-2 mRNS-t kimutatni, amely a III-as típusú látencia-állapotra jellemző. Mindez arra utal, hogy a periapikális gyulladásba beszűrődő EBV-fertőzött B limfocitákban látenciaváltozás megy végbe III-as típusú látencia-állapotba.
3. Amennyiben egy nagyméretű periapikális lézióhoz III-as típusú látencia-állapotú EBV-infekció társul, az nagy valószínűséggel panaszos lesz.
4. A HHV-6 altípusok jellegzetes eloszlást mutattak a különböző periapikális léziók között: a HHV-6A főként kisméretű és panaszmentes léziókban fordult elő, míg a HHV-6B szignifikánsan gyakoribb volt nagyméretű és panaszos léziókban.
5. Mind a HHV-6, mind a HCMV gyakran fordult elő koinfekcióban az EBV-vel és mindegyik koinfekció III-as típusú látencia-állapotú EBV-infekcióval társult.
6. Az egy betegből származó különböző periapikális léziók számos klinikai és virológiai tulajdonságban eltértek egymástól, miután az egyes fogakat érintő periapikális kórfolyamatok is egymástól függetlenül fejlődnek ki. Ezen adatok arra engednek következtetni, hogy a helyi gyulladásos környezet a fő meghatározója a herpesvírusok előfordulásának apikális periodontitiszben.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az apikális periodontitist, mely alatt a fogak gyökércsúcsa körüli gyulladást értjük, kevert mikrobiális flóra jellemzi, opportunistá Gram-negatív baktériumok dominanciájával. Az utóbbi évek kutatásai alapján felmerült egyes humán herpesvírusok, például az Epstein-Barr vírus (EBV) és humán cytomegalovírus (HCMV) kóroki szerepe is. Kutatásom során az EBV, HCMV és a humán herpesvírus 6 (HHV-6) prevalenciáját, aktivitását és a tünetekkel való összefüggését vizsgáltam apikális periodontitiszben.

A vizsgálat során 40 apikális periodontitist (17 panaszos és 23 panaszmentes) és 40 gyulladásmegmentes fogpulpát dolgoztam fel. Az EBV, HCMV és HHV-6 prevalenciákat a virális DNS-ek PCR módszerrel történő azonosításával határoztam meg, míg a vírusok aktivitását a virális mRNS-ek reverz transzkripció PCR amplifikálásával azonosítottam.

EBV DNS és EBNA-2 mRNS szignifikánsan gyakrabban ($p < 0.0001$) volt kimutatható apikális periodontitiszben, mint a kontrollokban (72.5% és 50% vs. 2.5%). Az EBV DNS-t a nagyméretű léziókban szignifikánsan gyakrabban ($p = 0.02$) tudtam detektálni kontrollokhoz képest. Az EBNA-2 mRNS és a nagy lézióméret együttes előfordulásakor szignifikánsan gyakrabban volt panaszos a lézió (OR=8.80, CI_{95%}: 1.69-45.76). HHV-6 DNS-t szignifikánsan nagyobb számban tudunk kimutatni az apikális léziókban a kontrollokhoz képest (20% vs. 2.5%, $p = 0.03$). Az apikális minták további csoportosítása során kimutathatóvá vált, hogy a HHV-6B szignifikánsan gyakrabban fordult elő nagyméretű és panaszos léziókban a kontrollokhoz képest ($p < 0.01$). HCMV infekció alacsony számban volt detektálható mind az apikális léziók (10%), mind a kontrollok (0%) esetében. Az EBV (72.5%) volt a leggyakrabban azonosított herpesvírus, melyet a HHV-6 (20%) és végül a HCMV (10%) követett.

Összefoglalásként elmondható, hogy az EBV és a HHV-6B fertőzések gyakoriak apikális periodontitiszben, különösen a panaszos és nagyméretű periapikális léziókban. Eredményeink alapján bizonyítást nyert, hogy amennyiben egy nagyméretű periapikális lézióhoz aktív EBV infekció társul, úgy az nagy valószínűséggel panaszos klinikai manifesztációjú lesz.

7. SUMMARY

Apical periodontitis, the inflammation of the apical area of the tooth, is characterized by a polymicrobial infestation, with a dominance of opportunistic Gram-negative bacteria. Nevertheless, a pathogenic role of human herpesviruses such as Epstein-Barr virus (EBV) and human cytomegalovirus (HCMV) has been implicated recently. The aims of this study were to determine the prevalence, activity and disease association of EBV, HCMV and HHV-6 in apical periodontitis.

40 samples with apical periodontitis (17 symptomatic and 23 asymptomatic) and 40 healthy pulp controls were collected. EBV, HCMV and HHV-6 prevalences were measured by PCR detection of the viral DNA and viral activity was tested by reverse transcription PCR amplification of viral mRNA.

EBV DNA and EBNA-2 mRNA were found in apical periodontitis lesions at significantly ($p<0.0001$) higher frequencies (72.5% and 50%, respectively) than in controls (both 2.5%). Presence of EBV DNA in apical lesions was significantly associated with large ($\geq 5\text{mm}$) lesion size ($p=0.02$). Symptomatic manifestation was significantly associated with the co-occurrence ($\text{OR}=8.80$, $\text{CI}_{95\%}$: 1.69-45.76) of EBNA-2 mRNA and large lesion size. HHV-6 DNA was observed in significantly higher frequencies in apical periodontitis samples than in controls (20% vs. 2.5%, $p=0.03$). Further classification of apical lesions revealed that subtype B of HHV-6 was significantly associated with large sized and symptomatic lesions ($p<0.01$). Occurrence of HCMV infection was rare in both apical lesions (10%) and controls (0%). EBV (72.5%) was the most frequent herpesvirus in apical periodontitis, followed by HHV-6 (20%) and HCMV (10%).

Our findings suggest that EBV and HHV-6B infections are frequent events in apical periodontitis, especially in large sized and symptomatic lesions. This study showed that symptomatic manifestation was likely to occur if a large sized apical periodontitis lesion is aggravated with active EBV infection.

8. TÁRGYSZAVAK

Epstein-Barr vírus, EBV, III-as típusú látencia, humán herpesvírus 6, HHV-6A, HHV-6B, humán cytomegalovírus, HCMV, periodontitis apicalis, patogenezis, nested polimeráz láncreakció, PCR.

Keywords: Epstein-Barr virus, EBV, type III viral latency, human herpesvirus 6, HHV-6A, HHV-B, human cytomegalovirus, HCMV, apical periodontitis, pathogenesis, nested polymerase chain reaction, PCR

9. IRODALOMJEGYZÉK

9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Abou-Rass M, Bogen G. Microorganisms in closed periapical lesions. *Int Endod J* 1998; 31: 39-47.
2. Arena A, Liberto Mc, Iannello D, Capozza Ab , Foca A. Altered cytokine production after human herpes virus type 6 infection. *New Microbiol* 1999; 22: 293-300.
3. Barnes PD, Grundy JE. Downregulation of the class I HLA heterodimer and beta-2 microglobulin on the surface of cells infected with cytomegalovirus. *J Gen Virol* 1992; 73(9): 2395-2403.
4. Bertram G, Dreiner N, Krueger Gr, Ramon A, Ablashi Dv, Salahuddin Sz, et al. Frequent double infection with Epstein-Barr virus and human herpesvirus-6 in patients with acute infectious mononucleosis. *In Vivo* 1991; 5: 271-279.
5. Bollard CM, Cooper LJ, Heslop HE. Immunotherapy targeting EBV-expressing lymphoproliferative diseases. *Best Pract Res Clin Haematol* 2008; 21: 405-20.
6. Bratel J, Jontell M, Dahlgren U, Bergenholtz G. Effects of root canal sealers on immunocompetent cells *in vitro* and *in vivo*, *Int Endod J* 1998; 31: 178-188.
7. Caserta MT, Mock DJ, Dewhurst S. Human herpesvirus 6. *Clin Infect Dis* 2001; 33(6): 829-833.
8. Cassai E, Galvan M, Trombelli L , Rotola A. HHV-6, HHV-7, HHV-8 in gingival biopsies from chronic adult periodontitis patients. A case-control study. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 184-191.
9. Chen V, Chen Y, Li H, Kent K, Baumgartner JC, Machida CA. Herpesviruses in abscesses and cellulitis of endodontic origin. *J Endod* 2009; 35: 182-8.
10. Contreras A, Nowzari H, Slots J. Herpesviruses in periodontal pocket and gingival tissue specimens. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 15-18.
11. Cordier M, Calender A, Billaud M. Stable transfection of Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 2 in lymphoma cell containing the Ebv P3HR1 genome induces expression of B cell activation molecules CD21 and CD23. *J Virol* 1990; 64: 1002-1013.
12. De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features and therapy. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(1): 217-245.
13. Depto AS, Stenberg RM. Regulated expression of human cytomegalovirus pp65 gene: octamer sequence in the promoter is required for activation by viral gene products. *J Virol* 1989; 63: 1232-1238.

14. Douglas AB. Common dental emergencies. *American Family Physician* 2003; 67(3): 511-516.
15. Fabricius L, Dahlén G, Öhman AE, Möller AJR. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canal after varied times of closure. *Scand. J Dent Res* 1982; 90: 134-144.
16. Fazekas Á. Megtartó fogászat és endodoncia. *Semmelweis* 2006: 256-260.
17. Kieff E, Rickinson AB. Epstein-Barr virus and its replication. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields' Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001: 2511-2573.
18. Flamand L, Gosselin J, D'addario M, Hiscott J, Ablashi Dv, Gallo Rc, et al. Human herpesvirus 6 induces interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha, but not interleukin-6, in peripheral blood mononuclear cell cultures. *J Virol* 1991; 65: 5105-5110.
19. Frascaroli G, Varani S, Moepps B, Sinzger C et al. Human cytomegalovirus subverts the functions of monocytes, impairing chemokine-mediated migration and leukocyte recruitment. *J Virol* 2006; 80(15): 7578-7589.
20. Grivel Jc, Santoro F, Chen S, Faga G, Malnati Ms, Ito Y, et al. Pathogenic effects of human herpesvirus 6 in human lymphoid tissue ex vivo. *J Virol* 2003; 77: 8280-8289.
21. Grundy JE, Lui SF, Super M. Symptomatic cytomegalovirus infection in seropositive kidney recipients: reinfection with donor virus rather than reactivation of recipient virus. *Lancet* 1988; 2: 132-135.
22. Hahn CL, Liewehr FR. Innate immune responses of the dental pulp to caries. *J Endod* 2007; 33: 643-51.
23. Hall CB, Caserta MT, Schnabel KC, Boettrich C et al. Congenital infections with human herpesvirus 6 (HHV6) and human herpesvirus 7 (HHV7). *J Paediatr* 2004; 145(4): 472-477.
24. Handsfield HH, Chandler SH, Caine VA, Meyers JD et al. Cytomegalovirus infection in sex partners: evidence for sexual transmission. *J Infect Dis* 1985; 151: 344-348.
25. Hermann K, Nierdobitek G. Epstein-Barr virus associated carcinomas: facts and fiction. *J Pathol* 2003; 199: 140-145
26. Ho M. Epidemiology of cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis* 1990; 12(7): 701-710.
27. Ikuta K, Satoh Y, Hoshikawa J, Sairenji T. Detection of Epstein-Barr virus in salivas and throat washings in healthy adults and children. *Microbes Infect* 2000; 2: 115-120.
28. Izumi KM, Kieff VD. The Epstein-Barr virus oncogene product latent membrane protein 1 engages the tumor necrosis factor receptor-associated death domain protein to mediate B

- lymphocyte growth transformation and activate NF-kappaB. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 12592-12597.
29. Jensen HB. Acute complications of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis. Curr Opin Paediatrics 2000; 12: 263-268.
 30. Kaiser C, Laux G, Eiek D, Jochner N. The proto-oncogen *c-myc* is a direct target gene of Epstein-Barr virus nuclear antigen 2. J Virol 1999; 73: 4481-4484.
 31. Kakimoto M, Hasegawa A, Fujita S, Yasukawa M. Phenotypic and functional alterations of dendritic cells induced by human herpesvirus 6 infection. J Virol 2002; 76: 10338-10345.
 32. Karosi T, Jokay I, Konya J, Szabo Lz, Pytel J, Jori J, et al. Detection of osteoprotegerin and TNF-alpha mRNA in ankylotic Stapes footplates in connection with measles virus positivity. Laryngoscope 2006; 116: 1427-1433.
 33. Kaufmann SHE. Immunity to intracellular bacteria. Annu Rev Immunol 1993; 11: 129-163.
 34. Kawashima N, Stashenko P. Expression of bone-resorptive and regulatory cytokines in murine periapical inflammation. Arch Oral Biol 1999; 44: 55-66.
 35. Kenney S. Theodore E. Woodward Award: Development of novel, EBV-targeted therapies for EBV-positive tumors. Trans Am Clin Climatol Assoc 2006; 117: 55-73; discussion 73-4.
 36. Kis A, Feher E, Gall T, Tar I, Boda R, Toth ED, Mehes G, Gergely L, Szarka K. Epstein-Barr virus prevalence in oral squamous cell cancer and in potentially malignant oral disorders in an eastern Hungarian population. Eur J Oral Sci 2009; 117: 536-40.
 37. Klemence P, Skaleric U, Artnik B, Nogrsek P et al. Prevalence of some herpesviruses in gingival crevicular fluid. J Clin Virol 2005; 34: 147-152.
 38. Knox KK, Carrigan DR. Disseminated active HHV-6 infection in patients with AIDS. Lancet 1994; 343(8897): 577-578.
 39. Knutson J. The level of *c-fgr* RNA is increased by EBNA-2, an Epstein-Barr virus gene required for B-cell immortalization. J Virol 1990; 64: 25-30.
 40. Komabayashi T, Jiang J, Zhu Q. Apical infection spreading to adjacent teeth: a case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2011; 111(6): 15-20. 1977; 43: 436-451.
 41. Kondo K, Kondo T, Okuno T, Takahashi M, Yamanishi K. Latent human herpesvirus 6 infection of human monocytes/macrophages. J Gen Virol 1991; 72(6): 1401-1408.

42. Kónya J, Veress G, Juhász A, Szarka K, Sápi T, Hernádi Z, et al. Additional human papillomavirus types detected by the hybrid capture tube test among samples from women with cytological and colposcopic atypia. *J Clin Microbiol* 2000; 38(1): 408-411.
43. Krueger Gr, Ablashi Dv. Human herpesvirus-6: a short review of its biological behavior. *Intervirology* 2003; 46: 257-269.
44. Kubota A, Kubota S, Farrel HE, Davis-Pointer N et al. Inhibition of NK cells by murine CMV encoded class I MHC homologue m144. *Cell Immunol* 1999; 191: 145-151.
45. Liapatas S, Nakou M, Rontogianni D. Inflammatory infiltrate of chronic periradicular lesions: an immunohistochemical study. *Int Endod J* 2003; 36: 464-471.
46. Li H, Chen V, Chen Y, Baumgartner JC, Machida CA. Herpesviruses in endodontic pathoses: association of Epstein-Barr virus with irreversible pulpitis and apical periodontitis. *J Endod* 2009; 35: 23-9.
47. Luppi M, Barozzi P, Morris C, Maiorana A, Garber R, Bonacorsi G, et al. Human herpesvirus 6 latently infects early bone marrow progenitors in vivo. *J Virol* 1999; 73: 754-759.
48. Lusso P. HHV-6 and the immune system: mechanisms of immunomodulation and viral escape. *J Clin Virol* 2006; 37 Suppl 1: S4-10.
49. Lusso P, Malnati M, De Maria A, Balotta C, Derocco Se, Markham Pd, et al. Productive infection of CD4⁺ and CD8⁺ mature human T cell populations and clones by human herpesvirus 6. Transcriptional down-regulation of CD3. *J Immunol* 1991; 147: 685-691.
50. Lusso P, Malnati Ms, Garzino-Demo A, Crowley Rw, Long Eo , Gallo Rc. Infection of natural killer cells by human herpesvirus 6. *Nature* 1993; 362: 458-462.
51. Mardirossian A, Contreras A, Navazesh M, Nowzari H , Slots J. Herpesviruses 6, 7 and 8 in HIV- and non-HIV-associated periodontitis. *J Periodontal Res* 2000; 35: 278-284.
52. Márton I, Dezső B, Radics T, Kiss Cs. Distribution of interleukin-2 receptor α -chain and cells expressing major histocompatibility complex II antigen in chronic human periapical lesions. *Oral Microbiol Immunol* 1998; 13: 259-262.
53. Márton IJ, Kiss Cs. Characterization of inflammatory cell infiltrate in dental periapical lesions. *Int Endod J* 1993; 26: 131-136.
54. Márton IJ, Kiss Cs. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 139-150.
55. Masy E, Adriaenssens E, Montpellier C, Crépieux P. Human monocytic cell lines transformed in vitro by Epstein-Barr virus display a type II latency and LMP-1 dependent proliferation. *J Virol* 2002; 76: 6460-6472.

56. Mendelson M, Monard S, Sissons P, Sinclair J. Detection of endogenous human cytomegalovirus in CD34+ bone marrow progenitors. *J Gen Virol* 1996; 77: 3099-3102.
57. Middeldorp JM, Brink AATP, Brule van Den AJC, Meijer CJLM. Pathogenic roles for Epstein-Barr virus (EBV) gene products in EBV associated proliferative disorders. *Critical reviews in oncology/haematology*. 2002; 45: 1-36.
58. Miller CL, Lee JH, Kieff E, Burkhard AL et al. Epstein-Barr virus protein LMP2A regulates reactivation from latency by negatively regulating tyrosine kinases involved in sIg-mediated signal transduction. *Infectious agents and disease* 1994; 3: 128-136.
59. Morgensen TH, Paludan SR. Molecular pathways in virus-induced cytokine production. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001; 65: 131-150.
60. Morse DR. Immunologic aspects of pulpal-periapical diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1977; 43: 436-451.
61. Moutaftsi M, Mehl AM, Borysiewicz LK, Tabi Z. Human cytomegalovirus inhibits maturation and impairs function of monocyte derived dendritic cells. *Blood* 2002; 99: 2913-2921.
62. Murakami Y, Tanimoto K, Fujiwara H, An J et al. Human herpesvirus 6 infection impairs Toll-like receptor signaling. *Virol J* 2010; 10(7): 91-96.
63. Nair PNR, Pajarola G, Schroeder HE et al. Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 81: 93-102.
64. Nair PNR, Sjögren U, Schumacher E, Sundquist G. Radicular cyst affecting a root-filled human tooth: a long-term post-treatment follow up. *Int Endod J* 1993; 26: 225-233.
65. Niller HH, Wolf H, Minárovics J. Regulation and dysregulation of Epstein-Barr virus latency: Implications for the development of autoimmune diseases. *Autoimmunity* 2008; 41(4): 298-328.
66. Ohasi M, Yoshikawa T, Ihira M, Suzuki K et al. Reactivation of human herpesvirus 6 and 7 in pregnant women. *J Med Virol* 2002; 67(3): 354-358.
67. Olmos A, Esteban O, Bertolini E, Cambra M. Nested rt-PCR in a single closed tube. *Methods Mol Biol* 2003; 226: 151-60.
68. Osato T, Imai S. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Semin Cancer Biol* 1996; 7: 175-182.
69. Piatelli A, Artese L, Rosisni S, Quaranta M. Immune cells in periapical granuloma: morphological and immunohistochemical characterization. *J Endod* 1991; 17: 26-29.

70. Razonable Rr, Fanning C, Brown Ra, Espy Mj, Rivero A, Wilson J, et al. Selective reactivation of human herpesvirus 6 variant a occurs in critically ill immunocompetent hosts. *J Infect Dis* 2002; 185: 110-113.
71. Reinherz EL, Schlossman SF. The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell* 1980; 19: 821-827.
72. Rittner HL, Machelska H, Stein C. Leukocytes in the regulation of pain and analgesia. *J Leukoc Biol* 2005; 78: 1215-22.
73. Rochford R, Cannon MJ, Sabbe RE, Adusumilli K, Picchio G, Glynn JM, Noonan DJ, Mosier DE, Hobbs MV. Common and idiosyncratic patterns of cytokine gene expression by Epstein-Barr virus transformed human B cell lines. *Viral Immunol* 1997; 10: 183-95.
74. Rotola A, Cassai E, Farina R, Caselli E et al. Human herpesvirus 7, Epstein-Barr virus and human cytomegalovirus in periodontal tissues of periodontally diseased and healthy subjects. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 831-837.
75. Rozgonyi F, Kónya J. Orális mikrobiológia, immunitástan, diagnosztika és infekciókontroll. *Medicina* 2007: 154.
76. Sabeti M, Simon JH, Nowzari H, Slots J. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus active infection in periapical lesions of teeth with intact crowns. *J Endod* 2003; 29: 321-3.
77. Sabeti M, Simon JH, Slots J. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus are associated with symptomatic periapical pathosis. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18: 327-8.
78. Sabeti M, Slots J. Herpesviral-bacterial coinfection in periapical pathosis. *J Endod* 2004; 30: 69-72.
79. Sabeti M, Valles Y, Nowzari H, Simon JH, Kermani-Arab V, Slots J. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus DNA transcription in endodontic symptomatic lesions. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18: 104-8.
80. Saboia-Dantas CJ, Coutin de Toledo LF, Sampaio-Filho HR, Siqueira JF. Herpesviruses in asymptomatic apical periodontitis lesions: an immunohistochemical approach. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 320-5.
81. Sahin S, Saygun I, Kubar A, Slots J. Periodontitis lesions are the main source of salivary cytomegalovirus. *Oral Microbiol Immunol* 2009; 24: 340-2.
82. Santoro F, Kennedy Pe, Locatelli G, Malnati Ms, Berger Ea , Lusso P. CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6. *Cell* 1999; 99: 817-827.
83. ShibataD, Weis LM. Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma. *Am J Pathol* 1992; 140: 769-774.

84. Sinclair AJ, Palermo I, Peters G, Farrel PJ. EBNA-2 and EBNA-LP cooperate to cause G0 and G1 transition during immortalization of resting human B lymphocytes by Epstein-Barr virus. *EMBO J* 1994; 13: 3321-3328.
85. Sinclair J, Sissons P. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Gen Virol* 2006; 87: 1763-79.
86. Siqueira JF, Jung IY, Rocas IN, Lee CY. Differences in prevalence of selected bacterial species in primary endodontic infections from two distinct geographic locations. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 99: 641-647.
87. Slots J, Contreras A. Herpesviruses: a unifying causative factor in periodontitis? *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 277-80.
88. Slots J, Nowzari H, Sabeti M. Cytomegalovirus infection in symptomatic periapical pathosis. *Int Endod J* 2004; 37: 519-24.
89. Slots J, Saygun I, Sabeti M, Kubar A. Epstein-Barr virus in oral diseases. *J Periodontal Res* 2006; 41: 235-44.
90. Stashenko P, Wang C-Y, Tani-Ishii N, Yu SM. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral Radio Endod* 1994; 78: 494-502.
91. Sunde PT, Olsen I, Enersen M, Beiske K, Grinde B. Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in apical and marginal periodontitis: a role in pathology? *J Med Virol* 2008; 80: 1007-11.
92. Sundqvist G, Johannson E, Sjögren U. Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infection. *J Endod* 1989; 15: 13-19.
93. Sung NS, Kenney S, Gutsch D, Pagano JS. EBNA-2 transactivates a lymphoid-specific enhancer in the BamH1 C promoter of Epstein-Barr virus. *J Virol* 1991; 65: 2164-2169.
94. Tani-Ishii N, Wang C-Y, Tanner A, Stashenko P. Changes in root canal microbiota during the development of rat periapical lesions. *Oral Microbiol Immunol* 1994; 9: 129-135.
95. Tantivanich S, Laohapand H, Thaweeboon S, Desakorn V et al. Prevalence of human herpesvirus-6, and Epstein-Barr virus in periodontitis patients and healthy subjects in the Thai population. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35(3): 635-640.
96. Taylor-Wiedemann J, Sissons JGP, Borysiewicz LK et al. Monocytes are a major cyte of human cytomegalovirus in peripheral blood mononuclear cells. *J Gen Virol* 1991; 72: 2059-2064.
97. Tomkinson B, Robertson E, Kieff E. Epstein-Barr virus nuclear proteins EBNA-3A and EBNA-3C are essential for B-lymphocyte growth transformation. *J virol* 1993; 67: 2014-2025.

98. Valente G, Secchiero P, Lusso P, Abete Mc, Jemma C, Reato G, et al. Human herpesvirus 6 and Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease: a controlled study by polymerase chain reaction and in situ hybridization. *Am J Pathol* 1996; 149: 1501-1510.
99. Walton RE, Arjmand K. Histological evaluation of the presence of bacteria in induced periapical lesions in monkeys. *J Endod* 1992; 18: 216-221.
100. Wang F, Tsang SF, Kurilla MG, Kohen J.I. Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 transactivates latent membrane protein LMP1. *J Virol* 1991; 64: 3407-3416.
101. Wara-Aswapati N, Boch JA, Auron PE. Activation of interleukin 1 beta gene transcription by human cytomegalovirus: molecular mechanisms and relevance to periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18(2): 67-71.
102. Wayman BE, Murata SM, Almeida RJ, Fowler CB. A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. *J Endod* 1992; 18: 152-155.
103. Yalcin S, Karpuzoglu T, Suleymanlar G, Mutlu G, Mukai T, Yamamoto T, et al. Human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7 infections in renal transplant recipients and healthy adults in Turkey. *Arch Virol* 1994; 136: 183-190.
104. Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, Takahashi M et al. Identification of human herpesvirus 6 as a casual agent for exanthema subitum. *Lancet* 1988; 1(8594): 1065-1067.
105. Yanagisawa S. Pathologic study of periapical lesions.I. Periapical granulomas: clinical, histopathologic and immunohistopathologic studies. *J Oral Pathol* 1980; 9: 288-300.
106. Yazdi KA, Sabeti M, Jabalameli F, Emaneini M, Kolahdouzan SA, Slots J. Relationship between human cytomegalovirus transcription and symptomatic apical periodontitis in Iran. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 510-514.
107. Yoshida M, Fukushima H, Yamamoto K, Ogawa K. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. *J Endod* 1987; 13: 24-28.

9.2. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

I. Hernádi K, Szalmás A, Mogyorósi R, Czompa L, Veress G, Csoma E, Márton I, Kónya J. Herpeszvírusok előfordulása humán periodontitis apicalis mintákban. Fogorv Szle “közlésre elfogadva”, 2011.

II. Hernadi K, Csoma E, Adam B, Szalmas A, Gyongyosi E, Veress G, Marton I, Konya J. Association of human herpesvirus 6 (HHV-6) subtypes with symptomatic apical periodontitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2011; 112: 401-406. **IF: 1.417**

III. Hernadi K, Szalmas A, Mogyrosi R, Czompa L, Veress G, Csoma E, Marton I, Konya J. Prevalence and activity of Epstein-Barr virus and human cytomegalovirus in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis lesions. J Endod 2010; 36: 1485-1489. **IF: 3.291**

9.3. Az értekezéshez kapcsolódó előadások, poszterek

Hernadi K, Szalmas A, Marton I, Konya J. Herpesviral activity in apical periodontitis. 16th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest. 2011.

Hernádi K. Herpeszvírusok előfordulása és aktivitása humán periodontitis apicalis mintákban. Magyar Mikrobiológiai Társaság, Keszthely. 2010.

Hernádi K, Szalmás A, Mogyorósi R, Márton I, Kónya J. Epstein-Barr virus and human cytomegalovirus in pulp/periapical inflammation. 2nd Central European Forum for Microbiology, Keszthely. 2009.

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, *Dr. Kónya Józsefnek* az Orvosi Mikrobiológiai Intézet vezetőjének, hogy elvállalta tudományos tevékenységem irányítását és mind az elméleti, mind a gyakorlati munkámat lelkiismeretesen és rendkívül segítőkészen irányította.

Köszönettel tartozom *Dr. Márton Ildikó* professzor asszonynak, amiért egy új, magyar kutatók számára eddig ismeretlen kutatási téma ötletét javasolta és a kutatás során hasznos tanácsokkal látott el.

Szeretnék köszönetet mondani *Dr. Gergely Lajos* professzor úrnak, az Orvosi Mikrobiológiai Intézet korábbi vezetőjének mindazért a segítségért és támogatásért, amit az Intézetben eltöltött idő alatt kaptam.

Köszönöm az Orvosi Mikrobiológiai Intézet munkatársainak: *Dr. Veress Györgynek, Gyöngyösi Eszternek, László Brigittának, Kis Andreának, Dombrádi Zsuzsának* és a virológiai labor asszisztenseinek a szakmai segítséget és támogatást.

Külön köszönettel tartozom *Dr. Csoma Eszternek* és *Mészáros Beátának* a HHV-6 DNS és RNS PCR detektálásában nyújtott magas szintű szakmai segítségért.

Külön hálával tartozom *Szalmás Anita* munkatársamnak, amiért barátságával és tanácsaival segített az egyes laboratóriumi módszerek elsajátításában és ezáltal bevezetett a virológiai kutatás világába.

Megköszönöm az Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Tanszéken (DEOEC Fogorvostudományi Kar) a szájsebész kollégáknak és a műtő valamennyi dolgozójának a mintagyűjtésben nyújtott segítséget.

Külön köszönet illeti *Dr. Ádám Balázs* adjunktus urat (DEOEC, Megelőző Orvostani Intézet) a statisztikai elemzésben nyújtott segítségért.

11. FÜGGELÉK

1. A Kenézy könyvtár által hitelesített publikációs jegyzék.

2. **Hernadi K. és mtsai:** Prevalence and activity of Epstein-Barr virus and human cytomegalovirus in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis lesions. (A megjelent cikk PDF formátuma).

3. **Hernadi K. és mtsai:** Association of human herpesvirus 6 (HHV-6) subtypes with symptomatic apical periodontitis. (A megjelent cikk PDF formátuma).

4. **Hernádi K. és mtsai:** Herpeszvírusok előfordulása humán periodontitis apicalis mintákban. (A közlésre elfogadott kézirat utolsó szerzői változata).

Iktatószám: DEENKÉTK /179/2011.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Hernádi Katinka

Neptun kód: TCWHEF

Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Hernádi K.**, Szalmás A., Mogorósi R., Czompa L., Veress G., Csoma E., Márton I., Kónya J.: Herpeszvírusok előfordulása humán periodontitis apicalis mintákban.
Fogorv. Szle. "közlésre elfogadva", 2011.
2. **Hernádi, K.**, Csoma, E., Ádám, B., Szalmás, A., Gyöngyösi, E., Veress, G., Márton, I., Kónya, J.: Association of human herpesvirus 6 subtypes with symptomatic apical periodontitis.
Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 112 (3), 401-406, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.02.007>
IF:1.417 (2010)
3. **Hernádi, K.**, Szalmás, A., Mogorósi, R., Czompa, L., Veress, G., Csoma, E., Márton, I., Kónya, J.: Prevalence and Activity of Epstein-Barr Virus and Human Cytomegalovirus in Symptomatic and Asymptomatic Apical Periodontitis Lesions.
J. Endod. 36 (9), 1485-1489, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.06.008>
IF:3.291

Összesített impakt faktor: 4,708

Összesített impakt faktor: (értekezés alapjául szolgáló közlemények esetén): 4,708

A DEENK Kenézy Élettudományi Könyvtár a Jelölt által a Publikációs Adatbázisba feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2011.08.31