

JAN WNUKIEWICZ

Wirus cytomegalii (CMV) w leukoplakii błony śluzowej jamy ustnej – implikacje diagnostyczne

Cytomegalovirus (CMV) in Oral Leukoplakia – Diagnostic Implications

Katedra i Klinika Chirurgii Szcękowo-Twarzowej AM we Wrocławiu

Streszczenie

Wprowadzenie. Wirus cytomegalii, należący do rodziny *Herpesviridae*, jest dość powszechnie spotykany w środowisku naturalnym człowieka. Jest bardzo ważnym patogenem u osób z tłumioną lub obniżoną odpornością. Ma szczególne powinowactwo do nabłonka i może powodować zakażenie pierwotne lub przebywając w postaci latentnej – oddziaływać wtórnie. Obok oddziaływań patogennych w różnych narządach o charakterze przeważnie zapalnym, przypisuje mu się również działanie onkogenne.

Cel pracy. Oznaczenie obecności wirusa cytomegalii w zmianach błony śluzowej jamy ustnej o charakterze leukoplakii oraz w raku płaskonabłonkowym.

Materiał i metody. Badaniem zostało objętych 76 chorych w wieku 16–72 lat z rozpoznaniem leukoplakii błony śluzowej jamy ustnej o różnej lokalizacji oraz 15 chorych z rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i 15 chorych z niezmienionym nabłonkiem błony śluzowej jamy ustnej. Oznaczanie wirusa CMV wykonano techniką immunohistochemiczną w Zakładzie Anatomii Patologicznej AM we Wrocławiu.

Wyniki. W klasycznym badaniu histopatologicznym rozpoznano leukoplakię zwykłą u 18 chorych, proliferacyjną u 58 chorych. Obecność wirusa CMV stwierdzono u 10 chorych z leukoplakią zwykłą, u 31 chorych z proliferującą i u 8 z rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego. W grupie kontrolnej pacjentów o niezmienionym nabłonku nie potwierdzono obecności wirusa CMV.

Wnioski. Można sądzić, że obecność wirusa CMV w leukoplakii stanowiącej stan przedrakowy, jak też w rakach jest stosunkowo częsta. Nie można więc wykluczyć jego działania onkogennego i dlatego należy wprowadzić do badania diagnostycznego jego rutynowe oznaczanie (**Dent. Med. Probl. 2004, 41, 4, 643–646**).

Słowa kluczowe: wirus cytomegalii, leukoplakia błony śluzowej jamy ustnej, diagnostyka.

Abstract

Background. Cytomegalovirus belongs to *Herpesviridae* family and it occurs quite frequently in the human environment. It is a very important pathogen in persons with suppressed or lowered resistance. Having special kinship with epithelium, it may cause primitive infection or reveal secondary influence in the latent form. Beside its pathogenic activity of mainly inflammatory character, it is suspected of oncogenic influence as well.

Objectives. CMV virus presence was detected in oral on leukoplakia as well as in basal cell carcinoma.

Material and Methods. The examinations covered 76 patients aged 16 to 72 years with diagnosed leukoplakia of various location in the oral cavity mucous membrane, 15 patients with oral cavity epithelial cancer and 15 patients with normal oral cavity epithelium. CMV indication was performed with the use of immunohistochemical technique in Department of Pathological Anatomy Wrocław Medical University.

Results. Classical histopathologic examination revealed ordinary leukoplakia in 18 patients and proliferative one in 58 patients. CMV was found in 10 patients with ordinary leukoplakia, in 31 patients with proliferating leukoplakia and in 8 persons with epithelial cancer. The presence of CMV was not confirmed in the control group of patients with normal epithelium.

Conclusions. The above observations suggest that the presence of CMV in leukoplakia being pre-cancerous stage as well as in cancer disease is relatively high. Its oncogenous effect cannot be excluded so its routine indication should be introduced into diagnostic examination (**Dent. Med. Probl. 2004, 41, 4, 643–646**).

Key words: cytomegalovirus, oral leukoplakia, diagnosis.

Wirus cytomegalii (CMV – *cytomegalovirus hominis*) został wyizolowany w 1956 r. z ludzkich komórek ślinianek przez zespół badaczy Smith, Rowe, Weller [cyt. wg. 1]. Jednak już w latach 20. XX w. w piśmiennictwie pojawiło się określenie „cytomegalia” do opisu schorzenia wirusowego, w którym na podstawie badań histopatologicznych obserwowano duże zakażone wirusem komórki, gdzie jądro, zepchnięte na obwód, miało centralnie zlokalizowane wtręty otoczone strefą przejaśnienia, określaną mianem „halo”. Takie obrazy oraz obecność wtrętów w cytoplazmie uznano za charakterystyczne dla komórki, którą zaatakował wirus cytomegalii [2, 3]. Wirus cytomegalii należy do rodziny *Herpesviridae* wraz z innymi wirusami: opryszczki zwykłej, półpaśca i ospy wietrznej oraz mononukleazy zakaźnej. Dzięki rozwojowi badań immunohistochemicznych wyróżnia się obecnie wiele szczepów tego wirusa. Zasadniczo cząsteczki CMV z całej rodziny *Herpesviridae* składają się z podwójnej nici DNA, kapsydu i poliproteinowej otoczki [1, 4–6]. Uważa się, że CMV dość często występuje w środowisku człowieka i jest drobnoustrojem oportunistycznym, uwzględniając względną chorobotwórczość. Zakażenie CMV może być wrodzone lub nabyte o charakterze pierwotnym lub wtórnym. Materiałem zakaźnym może być: mocz, krew, ślina, wydzieliny szyjki macicy, sperma, stolec, łzy, mleko kobiety, a więc czynniki przechodzące z matki na dziecko oraz podczas kontaktów seksualnych lub przeszczepiania narządów i transfuzji [3, 7–9]. Wirus cytomegalii ma szczególne powinowactwo do nabłonka. Usadawiając się w jego komórkach, może powodować zakażenia pierwotne lub przebiewając w postaci letalnej, może oddziaływać wtórnie. Stąd przypuszczenia, że obok oddziaływań patogennych w różnych narządach, mających przeważnie charakter zapalny, może mieć również działanie onkogenne [2, 4, 5, 7, 8].

Celem pracy było potwierdzenie w badaniach immunohistochemicznych obecności wirusa cytomegalii (CMV) w leukoplakii i rakach błony śluzowej jamy ustnej. Chodziło również o podkreślenie pato- i onkogennego działania w transformacji nabłonka błony śluzowej jamy ustnej, począwszy od objawu leukoplakii, przez dysplazję nabłonka aż do powstania rzeczywistego obrazu raka.

Materiał i metody

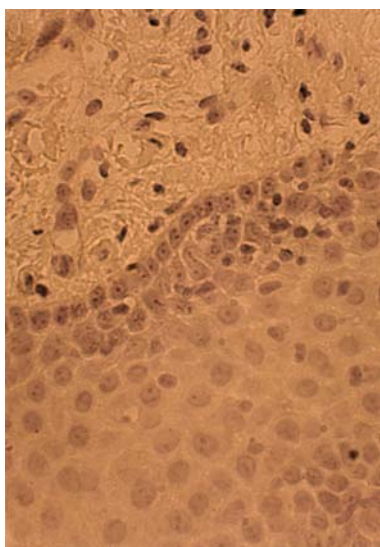
Materiał stanowiło 76 chorych w wieku 16–72 lat leczonych w Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej AM we Wrocławiu w latach 1995–1999 z powodu leukoplakii błony śluzowej jamy ustnej. Badania wykonano ponadto u 15 cho-

rych leczonych z powodu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej o różnej lokalizacji. Grupę kontrolną stanowiło 15 osób o niezmienionej błonie śluzowej jamy ustnej, leczonych z powodu zaburzeń ortognatyczno-ortodontycznych, takich jak prognia lub zęby zatrzymane i nadliczbowe.

Materiał tkankowy pobierano do badań we wszystkich grupach, tj. z rozpoznaniem klinicznym leukoplakii, raka i zdrowej błony śluzowej. Następnie skrawki tkankowe utrwalano w 5% zbufo-rowanej formalinie. Czas utrwalania nie przekraczał 24 godzin. W celu ustalenia podstawowego rozpoznania wycinki przeprowadzano rutynowo do blochków parafinowych. Uzyskane skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną. Do badań immunohistochemicznych skrawki przenoszono na szkiełka podstawowe pokryte alunem chromowym ($\text{KCr/SO}_4/2 \times 12\text{H}_2\text{O}$) i żelatyną plasterkowaną ($2\text{pKCr/SO}_4/2 \times 12\text{H}_2\text{O} \times 2,5 \text{ g w } 500 \text{ ml H}_2\text{O}$). Następnie odparowywano ksylenem ($2 \times$ po 10 minut), przeprowadzając preparat przez szereg alkoholi i przemywano wodą destylowaną. Dodatkowo preparaty podbarwiano hematoksyliną Mayera przez 2 minuty, spłukiwano wodą i zamykano szkiełkami nakrywkowymi z balsamem kanadyjskim. Cały proces technologiczny wykonywany był według zaleceń Firmy DAKO. Wyniki odczytywano w mikroskopie świetlnym. Badania zostały wykonane w Pracowni Immunohistochemii i Cyto-logii Zakładu Anatomii Patologicznej AM we Wrocławiu.

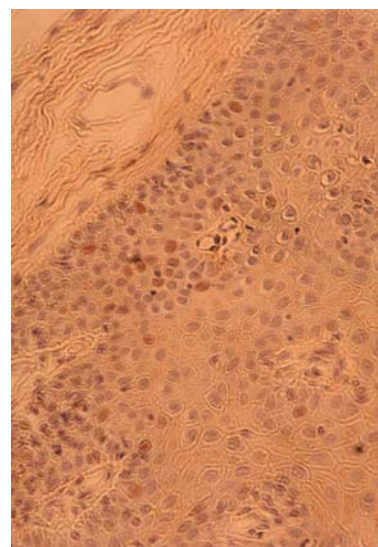
Wyniki

Spośród 76 chorych, u których klinicznie i histopatologiczne rozpoznano leukoplakię błony śluzowej jamy ustnej, wyodrębniono na podstawie zróżnicowania histopatologicznego nabłonka i podścieliska 18 chorych z rozpoznaniem leukoplakii zwykłej (*leukoplakia simplex*) i 58 chorych z rozpoznaniem leukoplakii proliferacyjnej (*leukoplakia proliferans*). Analizując w polu widzenia komórki zakażone wirusem CMV, stwierdzono obecność wirusa u 10 spośród 18 badanych z rozpoznaniem leukoplakii zwykłej (55%) i u 31 na 58 badanych z rozpoznaniem leukoplakii proliferacyjnej (53%). Były to nieliczne, pojedyncze komórki, luźno rozrzucone w polu widzenia, bez tendencji do dalszej transformacji (ryc. 1). Oceniając obrazy skrawków u chorych z rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego wśród 15 badanych, u 8 wykazano obecność komórek z CMV. Obraz ten zasadniczo różnił się od ocenianych preparatów u chorych z rozpoznaniem leukoplakii. Nie były to już pojedyncze komórki, lecz występowały licznie i były bardziej skupione (ryc. 2), ale nie



Ryc. 1. Leukoplakia. Pojedyncze komórki przy warstwie podstawowej z CMV. Pow. 400×

Fig. 1. Leukoplakia. Single cells with CMV in basis membrane. Magnification approx ×400



Ryc. 2. Rak płaskonabłonkowy błony śluzowej jamy ustnej. Kilka skupisk komórek z CMV w podścielisku. Pow. 200×

Fig. 2. Squamous cell carcinoma oral cavity. Some assembled cells with CMV in proper membrane. Magnification approx ×200

stwierdzono żadnej reakcji w kierunku transformacji. U 15 osób ze zdrową błoną śluzową w ocenianych preparatach nie ujawniono komórek z obecnością wirusa cytomegalii.

Omówienie

W polskim piśmiennictwie stomatologicznym mało jest doniesień na temat zakażenia wirusem cytomegalii. Według opracowań amerykańskich CMV jest uważany za jedną z najczęstszych przyczyn wrodzonych zakażeń wirusowych. Tłumaczy się to tym, że jest to wirus bardzo rozpowszechniony w naturalnym środowisku człowieka. Przenosi się drogą wziewną, pokarmową, krwionośną oraz wewnątrzmaciczną [2, 4, 5, 7, 8]. Zazwyczaj zakażenie CMV ma charakter infekcji pierwotnej i przebiega bezobjawowo. Nierzadko następstwem takiego zakażenia jest jednak przejście wirusa w postać latentną, w której genom wirusa wbudowuje się do komórek niektórych narządów lub tkanek, takich jak wątroba i ośrodkowy układ nerwowy [3]. Największe ryzyko powstaje, gdy zostaje zakłócona równowaga między wirusem a układem immunologicznym człowieka. Wówczas wirus cytomegalii jest istotnym problemem klinicznym. Może to dotyczyć chorych z określonych grup ryzyka, a przede wszystkim osób ze schorzeniami nowotworowymi, chorobami krwi, wcześniaków, biorców przeszczepów narządowych oraz szpiku, chorych z nabytym zespołem niedoboru odporności, leczonych immunosupresyjnie [1, 3, 7, 8].

W celu rozpoznania zakażenia CMV bierze się pod uwagę wywiad chorobowy, objawy kliniczne, badania laboratoryjne i immunohistochemiczne [1, 10]. Zasadniczo zwraca się uwagę na badania serologiczne, które mają na celu stwierdzenie obecności swoistych przeciwciał klasy IgG i IgM oraz określenie ich poziomów [2]. Obowiązuje pewien schemat leczenia oparty na skojarzonym stosowaniu gancyklowiru i hiperimmunizowanej globuliny anty-CMV, który daje stosunkowo dobre wyniki polegające głównie na „uśpieniu” aktywności CMV [2, 7]. Przedstawiony materiał oparty jedynie na badaniach immunohistochemicznych potwierdza obecność wirusa CMV w bardzo częstych schorzeniach błony śluzowej jamy ustnej takich jak leukoplakie i rak. Uznając zasadę kompleksowości leczenia i skuteczności leczenia, warto zwrócić uwagę na obecność tego wirusa i jego rolę w patomechanizmie dokuczliwych i długotrwałych, nieraz nawracających, schorzeniach występujących w jamie ustnej.

Podsumowując, należy podkreślić, że:

1) badania immunohistochemiczne potwierdzające obecność wirusa cytomegalii w leukoplakii i rakach płaskonabłonkowych jamy ustnej mogą wskazywać na jego działanie onkogenne w zaburzeniach proliferacyjnych nabłonka błony śluzowej jamy ustnej,

2) oznaczenie CMV wydaje się potwierdzać tezę, że leukoplakia błony śluzowej jamy ustnej nie jest jedynie objawem zaburzenia nabłonkowania, ale poważną chorobą o złożonej etiopatogenezie.

Piśmiennictwo

- [1] SZEPIETOWSKI J.: Skórna postać zakażeń wirusem cytomegalii. *Przegl. Dermatol.* 1993, 80, 536–542.
- [2] BAŁCZEWSKA E., CIEŚLEWICZ M.: Zakażenie wirusem cytomegalii (CMV). Objawy w jamie ustnej – opis przypadku. *Czas. Stomat.* 2000, 53, 629–633.
- [3] GIEORGIEWSKA J., KOZŁOWSKA-BOCZKO B.: Doniesienie na temat zakażenia wirusem cytomegalii. *Magazyn Stomat.* 1995, 5, 11, 55–56.
- [4] GEHRZ R., AUMAN J.: Cytomegalovirus. Biology and clinical persichives advanced in pediatrics. Medical School, Minesota. 1991, 38.
- [5] HO M.: Cytomegalovirus: biology and infection. Plenum, New York 1991, 250.
- [6] KAJFASZ P.: Diagnostyka, leczenie i zapobieganie zakażeniom cytomegalii (CMV). *Med Novus* 1994, 1, 5–7.
- [7] GŁODEK A.: Czynniki molekularne i genetyczne w diagnostyce i ocenie ryzyka leukoplakii jamy ustnej na podstawie piśmiennictwa. *Czas. Stomat.* 2000, LIII, 2, 75–81.
- [8] MILEWSKA-BOBULA B.: Cytomegalia. Materiały szkoleniowe Centrum Zdrowia Dziecka. Warszawa 1992.
- [9] SIWAK E., KONDRASIUK M., DANILUK J.: Zakażenie wirusem cytomegalii. *PTL*, 1992 7, 36–37, 814–818.
- [10] WNUKIEWICZ J.: Ocena wartości diagnostycznej markerów proliferacji komórkowej PCNA, Ki-67, AgNORs oraz receptora naskórkowego czynnika wzrostu EGFR w leukoplakii błony śluzowej jamy ustnej. Praca habilitacyjna, Wrocław 2001.

Adres do korespondencji:

Jan Wnukiewicz
Katedra i Klinika Chirurgii Szcękowo-Twarzowej AM
ul. T. Chałubińskiego 5
50-368 Wrocław
tel.: +48 071 784 22 60

Praca wpłynęła do Redakcji: 3.08.2004 r.

Po recenzji: 16.08.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 16.08.2004 r.

Received: 3.08.2004

Revised: 16.08.2004

Accepted: 16.08.2004