Archive of SID

بررسی مقایسه‌ای حضور اپشتین بار ویروس (EBV) در لکوپلاکیای معمولی و مویی و مخاط سالم به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR)

دکتر محمدرضا صالحی[1]، دکتر فائزه خزیمه*[*]، دکتر هوشنگ نوشادیان[2]

چکیده

مقدمه: با وجود این‌که لکوپلاکیا با تشخیص هیستوپاتولوژیک خاصی مرتبط نیست به عنوان یک ضایعه پیش‌سرطانی یا پیش‌بدخیمی در نظر گرفته می‌شود. لکوپلاکیای مویی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های دهانی القا شونده توسط ویروس اپشتین‌بار است که در بیماران با نقص سیستم ایمنی، مانند بیماری ایدز مشاهده می‌شود. هدف از این پژوهش تعیین حضور ویروس اپشتین‌بار در بیماران با لکوپلاکیای معمولی و لکوپلاکیای مویی دهانی و مخاط سالم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی گذشته‌نگر، تعداد ۱۸ نمونه لکوپلاکیای معمولی، ۱۲ نمونه لکوپلاکیای مویی و ۳۰ نمونه از مخاط سالم و غیر پاتولوژیک دهان افراد سالم به عنوان شاهد، تهیه شد. نمونه‌ها از بلوک‌های پارافینی که قبلاً از بیوپسی نمونه‌ها به دست آمده بود انتخاب شدند. DNA نمونه‌ها با روش Chelex-100، خالص‌سازی و سپس PCR شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون χ^2 و آزمون دقیق فیشر در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ آنالیز شدند.

یافته‌ها: ۱۰ نمونه لکوپلاکیای مویی (۸۳ درصد)، ۸ مورد لکوپلاکیای معمولی (۴۴ درصد) و ۶ مورد از نمونه‌های سالم حاوی ویروس اپشتین‌بار (۲۰ درصد) بودند. آزمون دقیق فیشر نشان داد که بین توزیع فراوانی حضور ویروس در سه گروه تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($p\ value < ۰/۰۰۱$)؛ همچنین بین توزیع فراوانی حضور ویروس در دو گروه لکوپلاکیای مویی و مخاط سالم تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p\ value < ۰/۰۰۱$). طبق آزمون χ^2 بین توزیع فراوانی حضور ویروس اپشتین‌بار در دو گروه لکوپلاکیای معمولی و لکوپلاکیای مویی تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p\ value = ۰/۰۳۳$)؛ اما بین دو گروه لکوپلاکیای معمولی و مخاط سالم تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($p\ value= ۰/۰۷۱$).

نتیجه‌گیری: با توجه به محدودیت‌های این مطالعه، توزیع فراوانی ویروس اپشتین‌بار در لکوپلاکیای مویی با اختلاف معنی‌داری بیش از لکوپلاکیای معمولی و مخاط سالم می‌باشد. این مسأله نشانگر نقش ویروس اپشین‌بار در ایجاد لکوپلاکیای مویی و تأیید کننده مطالعات پیشین بود.

کلید واژه‌ها: مویی، لکوپلاکیا، دهانی، ویروس اپشتین‌بار، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.

* استادیار، گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی و عضو مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی ترابی‌نژاد، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. (مؤلف مسؤول)
khozeimeh@dnt.mui.ac.ir

۱: استادیار، گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی و عضو مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی ترابی‌نژاد، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲: دندان‌پزشک، یاسوج، ایران.

این مقاله حاصل پایان‌نامه دکترای عمومی دندان‌پزشکی به شماره ۳۸۹۴۵۸ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

این مقاله در تاریخ ۹۰/۲/۲۶ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۰/۶/۲ اصلاح شده و در تاریخ ۹۰/۶/۲۲ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۰؛ ۷(۴): ۴۰۲ تا ۴۰۸

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کشف زودرس ضایعات بدخیم و دیسپلاستیک یک هدف همیشگی بوده است. تشخیص و درمان زودهنگام ضایعات پیش‌بدخیم می‌تواند بیمار را از صدمات جبران‌ناپذیر بعدی مصون نگه دارد. لکوپلاکیا پچ یا پلاک سفیدرنگی است که از لحاظ بالینی یا پاتولوژیک نتوان به عنوان بیماری دیگری درنظر گرفت. با وجود این‌که لکوپلاکیا با تشخیص هیستوپاتولوژیک خاصی مرتبط نیست به عنوان یک ضایعه پیش‌سرطانی یا پیش‌بدخیمی در نظر گرفته می‌شود[۱].

لکوپلاکیای مویی دهانی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های دهانی القا شونده توسط ویروس (EBV یا Epstein-barr virus) است که در بیماران با نقص سیستم ایمنی مانند عفونت (HIV یا Human immunodeficiency virus)مشاهده می‌شود و در این افراد ممکن است تا ۲۵ درصد شیوع داشته باشد. لکوپلاکیای مویی یک ضایعه سفید و مودار است که به طور معمول در حاشیه طرفی زبان دیده می‌شود. این ضایعه ممکن است به صورت پیوسته یا غیر پیوسته در حاشیه زبان مشاهده شود و معمولاً به صورت قرینه و دو طرفه بروز می‌کند[۳، ۲].

EBV یک هرپس ویروس انسانی است که می‌تواند در دوران کودکی هر انسانی را مبتلا کند. این ویروس یک پاتوژن فرصت طلب در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی است و با لکوپلاکیای مویی در این بیماران مرتبط می‌باشد. عفونت با EBV به طور معمول از یک انسان به انسان دیگر از طریق تماس با مایعات عفونی بدن از جمله بزاق عفونی، تماس جنسی و شیر مادر انتقال می‌یابد[۴، ۲]. EBV با طیف وسیعی از بیماری‌های انسانی با منشاء عفونی از جمله مونونوکلئوز عفونی، لنفوم هوچکین، لنفوم بورکیت آفریقایی و کارسینوم نازوفارنژیال در ارتباط است[۶، ۵].

Brandwein و همکاران[۷] ارتباط معنی‌داری بین حضور و فعالیت مجدد EBV در ضایعات لکوپلاکیایی مویی زبان در بیماران با نقص ایمنی اکتسابی نشان دادند. همچنین Eversole و همکاران[۸] توانستند ارتباط مثبت و معنی‌داری بین EBV و لکوپلاکیای مویی دهانی بیابند. Komatsa و همکاران[۹] برای تشخیص لکوپلاکیای مویی از PCR جهت تعیین حضور EBV در نمونه‌های تهیه شده استفاده کردند. نمونه‌ها از حاشیه طرفی زبان ۳۸ بیمار گرفته شد که ۲۹ نفر آن‌ها HIV^+ و بقیه سالم بودند. DNA را از نمونه‌ها استخراج کرده و Polymerase chain reaction (PCR) انجام دادند. از بین ۲۹ نمونه HIV^+، ۲۲تای آن‌ها (۷۵/۸ درصد) دارای EBV بودند که ۲ بیمار شواهد کلینیکی لکوپلاکیای مویی را داشتند، ۴ بیمار تاریخچه لکوپلاکیای مویی داشتند ولی در حال حاضر فاقد ضایعه بودند و ۱۶ بیمار شواهد کلینیکی لکوپلاکیای مویی را نداشتند. در گروه شاهد ۵ نمونه حاوی EBV بودند.

در مطالعه Robaina و همکاران[۱۰] شیوع ژنوتیپ های EBV را در ۵۳ نمونه گرفته شده از حاشیه طرفی زبان در بیماران HIV^+ با و یا بدون لکوپلاکیای مویی دهانی بررسی کردند. ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های EBV1، EBV2 و ضایعات لکوپلاکیای مویی یافت نگردید. در مطالعه دیگر Bagan و همکاران[۱۱] به ارزیابی حضور EBV در وروکولکوپلاکیا و SCC (Squamus cell carcinoma) دهانی پرداختند. در بررسی توسط PCR ویروس EBV در۶۰ درصد بیماران دارای وروکولکوپلاکیا و ۴۰ درصد بیماران دارای SCC وجود داشت اما در گروه شاهد یافت نشد. Gonzalez و همکاران[۱۲] شیوع EBV را در لکوپلاکیای مویی ۲۱ بیمار +HIV و ۱۰ نمونه -HIV بررسی کردند. شیوع EBV در ضایعات لکوپلاکیای مویی بیماران +HIV بیش از -HIV بود که بیانگر نقش اتیولوژیک ویروس در ایجاد ضایعات لکوپلاکیای مویی می‌باشد.

هدف این پژوهش تعیین حضور EBV در بیماران با لکوپلاکیای معمولی، لکوپلاکیای مویی دهانی و نیز در مخاط سالم بود. در این مطالعه برای تعیین حضور ژنوتیپ‌های ویروس از روش PCR استفاده شد. که جزء حساس‌ترین و اختصاصی‌ترین روش‌های تشخیص ویروس می‌باشد.

با توجه به این که انواع ویروس‌ها ممکن است در هر نوع لکوپلاکیا یافت شوند در این پژوهش حضور EBV در لکوپلاکیای معمولی که قبلاً کمتر به آن توجه شده است بررسی گردید. در صورت اثبات وجود این ارتباط می‌توان از داروهای ضد ویروس به عنوان یکی از درمان‌های انواع لکوپلاکیا و حتی به عنوان پروفیلاکسی برای پیش‌گیری از بروز ضایعات در افراد با ریسک بالا استفاده نمود.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

این پژوهش مورد شاهدی گذشته‌نگر در سال ۱۳۸۹ بر روی ۱۲ بلوک پارافینه از بیماران مبتلا به لکوپلاکیای معمولی، ۱۸ نمونه لکوپلاکیای مویی و ۳۰ نمونه مربوط به مخاط سالم موجود در آرشیو بخش پاتولوژی دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. نمونه‌های مربوط به مخاط سالم متعلق به افراد سالم بوده و از بافت‌های باقیمانده متعاقب کشیدن دندان‌های عقل به دست آمده بود. در موارد عدم وجود بافت کافی جهت آزمایش PCR، عدم تأیید نوع ضایعه توسط پاتولوژیست، و وجود ضایعات مخاطی دیگر در بیمار این نمونه‌ها در مطالعه وارد نشدند. با توجه به این‌که بررسی افراد با این بیماری‌ها نیازمند زمان طولانی می‌باشد لذا در این مطالعه از بلوک‌های پارافینی مربوط به ضایعاتی که در سایر مطالعات، بیوپسی و مورد بررسی قرار داده شده و نتایج آن بر اساس یافته‌های بالینی هیستولوژیک کاملاً ثابت شده بود استفاده گردید.

به هر بلوک پارافینی بدون ذکر نام و مشخصات بیماران یک شماره داده شد. فرد عمل کننده نیز از نوع ضایعه هر بلوک بی‌اطلاع بود. از هر بلوک پارافینی به نحو زیر مقاطع مورد نظر تهیه گردید:

۱) میکروتوم (Leitz 1512, Germany) زیر هود بیولوژیک قرار گرفت؛ سپس کاملاً با گزیلل و الکل تمیز گردید به نحوی که هیچ‌گونه آلودگی بر روی آن نباشد. اطراف میکروتوم به وسیله کاغذ سفید محدود شد. برای هر نمونه، تیغه کاملاً تمیز و با گزیلل و الکل کاملاً شستشو داده شد. پنس مورد استفاده نیز یک‌بار مصرف بود و پس از تهیه هر نمونه دستکش نیز تعویض شد.

۲) ژل آگار، مانند یک غربال مولکولی عمل کرده که قطعات DNA را بر اساس اندازه ذرات جدا می‌کند. سرعت مهاجرت قطعات DNA بر روی ژل با لگاریتم تعداد جفت بازها (Base pairs) نسبت معکوس دارد.

با استفاده از دستگاه (Upland CA, LM20E, USA) Transluminator که نور UV ساطع می‌کند، باندها مشاهده شد.

مقاطع به طور متوالی تهیه شدند به نحوی که از مقطع اول با ضخامت ۴ میکرون برای لام H-E (Hematoxilin-Eozin) و از مقاطع دیگر با ضخامت ۱۰ میکرون جهت PCR استفاده گردید؛ به طوری که نزدیک‌ترین مقاطع به مقطع H-E مطالعه شده باشند. هر لام H-E توسط دو پاتولوژیست مجدداً مطالعه گردید و در صورت تأیید از لحاظ تشخیص پاتولوژی و کیفیت، وارد مطالعه شدند. به این ترتیب ۱۸ بلوک پارافینی لکوپلاکیای معمولی، ۱۲ بلوک پارافینی لکوپلاکیای مویی و ۳۰ بلوک از مخاط سالم و غیر پاتولوژیک دهان افراد سالم به عنوان شاهد تهیه شد.

هر برش، جهت PCR درون یک تیوب ۵ میلی‌لیتری قرار داده شد. جهت استخراج DNA از بلوک‌های پارافینی روش‌های مختلفی وجود دارد که بر سه مرحله استوار است: ۱- پارافین زدایی ۲- لیزسلولی ۳- خالص‌سازی DNA

در این مطالعه DNA به روش Chelex-100 استخراج و سپس PCR انجام شد. مقایسه نسبت‌ها در داده‌های به دست آمده در این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS، آزمون χ^2 و آزمون دقیق فیشر در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ صورت گرفت.

یافته‌ها

پژوهش حاضر با هدف تعیین ارتباط حضور ویروس EBV در ضایعات لکوپلاکیای دهانی انجام گرفت. گروه سنی بیمارانی که در این مطالعه مورد پژوهش قرار گرفتند از ۱۸ تا ۸۳ سال و میانگین سن بیماران ۵/۳ ± ۵۵ بود. ۳۲ نفر (۵۵ درصد) از بیماران زن و ۲۸ نفر (۴۵ درصد) مرد بودند. توزیع فراوانی نمونه‌های مورد مطالعه بر حسب محل تهیه نمونه بافتی در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱. توزیع فراوانی نمونه‌های مورد مطالعه برحسب محل تهیه نمونه بافتی

محل نمونه‌برداری	گونه	حاشیه کناری زبان
لکوپلاکیای مویی	۸	۴
لکوپلاکیای معمولی	۸	۱۰
مخاط سالم	۳۰	

بر اساس یافته‌های این مطالعه ۸۳/۳ درصد نمونه‌های لکوپلاکیای مویی، ۴۴/۴ درصد نمونه‌های لکوپلاکیای معمولی و ۲۰ درصد نمونه‌های سالم دارای EBV بودند. (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. مقایسه توزیع فراوانی EBV در گروه‌های مورد پژوهش

EBV	مخاط سالم (٪)	لکوپلاکیای مویی (٪)	لکوپلاکیای معمولی (٪)	مجموع (٪)
مثبت	۶	۱۰	۸	۲۴
	۲۰/۰	۸۳/۳	۴۴/۴	۴۰/۰
منفی	۲۴	۲	۱۰	۳۶
	۸۰/۰	۱۶/۷	۵۵/۶	۶۰/۰
مجموع	۳۰	۱۲	۱۸	۶۰
	۱۰۰/۰	۱۰۰/۰	۱۰۰/۰	۱۰۰/۰

آزمون دقیق فیشر نشان داد که بین توزیع فراوانی EBV در سه گروه مورد پژوهش تفاوت معنی‌دار وجود دارد (p value < ۰/۰۰۱)؛ همچنین بین توزیع فراوانی حضور EBV در دو گروه لکوپلاکیای مویی و مخاط سالم، تفاوت معنی‌دار وجود داشت (p value < ۰/۰۰۱).

آزمون χ^2 نشان داد که بین توزیع فراوانی حضور EBV در دو گروه لکوپلاکیای معمولی و لکوپلاکیای مویی تفاوت معنی‌دار وجود دارد (p value = ۰/۰۳۳)؛ اما بین توزیع فراوانی حضور EBV در دو گروه لکوپلاکیای معمولی و مخاط سالم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (p value = ۰/۰۷۱).

بحث

تشخیص بدخیمی‌های دهان در مقایسه با بدخیمی‌های دیگر نقاط بدن، به علت متاستاز سریع و مرگ زودرس بیماران، از اهمیت خاصی برخوردار است. شرایط خاصی در دهان به عنوان وضعیت پیش‌بدخیم شناخته شده‌اند که از شایع‌ترین آن‌ها لکوپلاکیا می‌باشد که تشخیص و پی‌گیری این ضایعات از اهمیت بسزایی برخوردار است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی حضور ویروس EBV در ضایعات لکوپلاکیای مویی و ضایعات لکوپلاکیای معمولی بود تا بتوان بر اساس نتایج حاصل، در تشخیص سریع و دقیق ضایعات پیش‌بدخیم و درمان آن‌ها اقدام نمود.

تشخیص لکوپلاکیای مویی مسأله‌ای بحث برانگیز است. برخی مؤلفین معتقدند که تشخیص، می‌تواند تنها بر اساس خصوصیات کلینیکی باشد[۱۳]. برخی دیگر اعتقاد دارند که ضایعه را می‌توان بر اساس خصوصیات کلینیکی، هیستوپاتولوژیک و سایتوپاتولوژیک تشخیص داد. گروهی دیگر از محققین معتقد به تشخیص حضور EBV به عنوان عامل اتیولوژیک در تشخیص قطعی لکوپلاکیای مویی هستند که می‌تواند به وسیله روش‌های بیولوژی مولکولی بر روی بافت‌های بیوپسی شده انجام شود[۱۴].

نتایج این مطالعه نشان داد که توزیع فراوانی EBV در لکوپلاکیای مویی با اختلاف معنی‌داری، بیش از لکوپلاکیای معمولی و مخاط سالم می‌باشد. این مسأله بیانگر نقش مهم این ویروس در ایجاد لکوپلاکیای مویی می‌باشد.

در مطالعه Brandwein و همکاران[۷] مشخص شد که ارتباط معنی‌داری بین حضور و فعالیت مجدد EBV در ضایعات لکوپلاکیای مویی زبان در بیماران نقص ایمنی اکتسابی وجود دارد. همچنین Eversole و همکاران[۸]، Komatsu و همکاران[۹] و Gonzalez و همکاران[۱۲] گزارش کردند که ارتباط مثبت و معنی‌داری بین EBV و لکوپلاکیای مویی وجود دارد. یافته‌های این مطالعه نیز تأیید کننده مطالعات گذشته می‌باشد.

در برخی تحقیقات حضور ویروس EBV در بسیاری از بیماران دارای HIV^+ که دچار نقص سیستم ایمنی هستند، بیان شده است؛ ولی همه آن افراد دارای لکوپلاکیای مویی دهانی یا سایر انواع آن نبوده‌اند[۱۰، ۹]؛ پس در همه موارد حضور ویروس باعث لکوپلاکیای مویی نمی‌شود و احتمالاً عوامل دیگری نیز دخیل هستند.

لکوپلاکیای مویی دهانی با تولید رونوشت EBV در سلول‌های سنگفرشی اپی‌تلیال دهان مشخص می‌شود. این ضایعه با درمانی که طی آن رونوشت EBV مهار می‌شود بهبود می‌یابد[۱۶، ۱۵]. رونوشت از EBV در اپی‌تلیال نرمال دهان نیز مشاهده می‌شود که بیانگر این مسأله است که برای ایجاد لکوپلاکیای مویی رونوشت‌برداری از EBV کافی نیست

www.SID.ir

Archive of SID

[۱۸، ۱۷]. به عبارت دیگر مرحله رونوشت‌برداری برای پاتوژنز لکوپلاکیا ضروری است اما کافی نیست. EBV همچنین با کاهش تعداد سلول‌های لانگرهانس به ایجاد لکوپلاکیای مویی در مخاط دهان کمک می‌کند[۱۹].

لکوپلاکیای مویی تنها در بیماران با نقص سیستم ایمنی رخ نمی‌دهد و به ندرت در افراد سالم نیز مشاهده می‌شود[۲۰]. امروزه پذیرفته شده که عفونت EBV با وجود پاسخ ایمنی سالم اغلب به صورت تحت بالینی بوده و عفونت بدون علامت معمولاً تشخیص داده نمی‌شود[۲۲، ۲۱]. بنابراین در ایجاد ضایعات لکوپلاکیای مویی وجود عفونت HIV و ضعف سیستم ایمنی الزامی نیست. از طرف دیگر بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش گرچه توزیع فراوانی EBV در لکوپلاکیای معمولی بیش از مخاط سالم می‌باشد اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست.

این نتیجه گرچه رد کننده نقش ویروس در پاتوژنز لکوپلاکیای معمولی نمی‌باشد، ولی بیان کننده این احتمال است که نقش عوامل دیگر مانند دخانیات و غیره در ایجاد لکوپلاکیای معمولی پررنگ‌تر از نقش EBV است. در یک مطالعه بیان شده که EBV می‌تواند در مخاط سالم دهان به صورت عفونت تأخیری وجود داشته باشد[۱۶]. علاوه بر این همان طور که اشاره شد ضایعه می‌تواند به صورت تحت بالینی باشد، لذا در این مطالعه وجود EBV در مخاط سالم و لکوپلاکیای معمولی را می‌توان به این دو مورد نسبت داد. حضور ویروس در بزاق مورد مهم دیگری است که باید مد نظر قرار بگیرد. بعد از عفونت اولیه EBV، ویروس به صورت دوره‌ای در بزاق قابل بازیابی می‌باشد که این مسأله گویای آن است که ویروس در افراد سالم به طور منظم دوباره فعال شده و به درون بزاق ریخته می‌شود[۲۳]. علت عدم مشاهده EBV در برخی از نمونه‌های لکوپلاکیای مویی ممکن است به علت تقلید ضایعات سفید دهان از لکوپلاکیای مویی باشد، ضایعاتی مانند لیکن پلان، ضایعات گالوانیک، کراتوز اصطکاکی و غیره[۹].

در تحقیقات متعددی نقش EBV در لکوپلاکیای مویی بررسی شده و این ویروس به عنوان یکی از عوامل اصلی و مؤثر در ایجاد لکوپلاکیای مویی بیان شده است؛ اما نقش این ویروس در لکوپلاکیای معمولی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه علاوه بر بررسی حضور EBV در لکوپلاکیای مویی، حضور این ویروس در لکوپلاکیای معمولی نیز بررسی شده است با این فرض که این ویروس ممکن است در ایجاد لکوپلاکیا نقش داشته باشد. در مطالعه Bagan و همکاران[۱۱] نیز حضور این ویروس در لکوپلاکیای معمولی مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از ویژگی‌های پژوهش حاضر در نظر گرفتن یک گروه به عنوان گروه سالم می‌باشد. اختلاف حضور ویروس در گروه لکوپلاکیای مویی نسبت به افراد سالم، معنی‌دار بود ولی این اختلاف بین لکوپلاکیای معمولی و گروه سالم معنی‌دار نبود که شاید بیانگر نقش بیشتر EBV در ایجاد لکوپلاکیای مویی نسبت به معمولی باشد.

با توجه به محدودیت اصلی این پژوهش که هزینه بالای آن بود، پیشنهاد می‌شود مطالعه مشابهی با تعداد نمونه‌های بیشتر و با حضور سایر زیرگروه‌های EBV در این ضایعات طراحی شده و در تحقیقات آینده با استفاده از تکنیک PCR کمی، که مقدار حضور ژنوم را نیز تعیین می‌کند، حضور ژنوم انواع مختلف EBV در ضایعات لکوپلاکیای دهانی بررسی شود.

نتیجه‌گیری

بین توزیع فراوانی EBV در ضایعات لکوپلاکیای مویی، لکوپلاکیای معمولی و مخاط سالم، تفاوت معنی‌دار وجود دارد. این اختلاف بین گروه‌های لکوپلاکیای معمولی و مخاط سالم معنی‌دار نبوده ولی بین لکوپلاکیای مویی و دو گروه دیگر معنی‌دار است (p value <۰/۰۵) بنابراین طبق یافته‌های این مطالعه EBV در ایجاد پاتوژنز ضایعات لکوپلاکیای مویی می‌تواند مؤثر باشد ولی تأثیر آن در ایجاد لکوپلاکیای معمولی تأیید شده نیست.

References

1. Burket LW, Greenberg MS, Glick M, Ship JA. Burket's oral medicine. 11th ed. Shelton: PMPH-USA; 2008.
2. Walling DM. Oral hairy leukoplakia: an Epstein-Barr virus-associated disease of patients with HIV. Res Initiat Treat Action 2000; 6(4): 10-5.
3. Fraga-Fernandez J, Vicandi-Plaza B. Diagnosis of hairy leukoplakia by exfoliative cytologic methods. Am J Clin Pathol 1992; 97(2): 262-6.

www.SID.ir

Archive of SID

4. Milagres A, Dias EP, Tavares DS, Cavalcante RM, Dantas VA, de Oliveira SP, et al. Prevalence of oral hairy leukoplakia and epithelial infection by Epstein-Barr virus in pregnant women and diabetes mellitus patients--cytopathologic and molecular study. Mem Inst Oswaldo Cruz 2007; 102(2): 159-64.
5. Goldenberg D, Benoit NE, Begum S, Westra WH, Cohen Y, Koch WM, et al. Epstein-Barr virus in head and neck cancer assessed by quantitative polymerase chain reaction. Laryngoscope 2004; 114(6): 1027-31.
6. Pietersma F, Piriou E, van BD. Immune surveillance of EBV-infected B cells and the development of non-Hodgkin lymphomas in immunocompromised patients. Leuk Lymphoma 2008; 49(6): 1028-41.
7. Brandwein M, Nuovo G, Ramer M, Orlowski W, Miller L. Epstein-Barr virus reactivation in hairy leukoplakia. Mod Pathol 1996; 9(3): 298-303.
8. Eversole LR, Stone CE, Beckman AM. Detection of EBV and HPV DNA sequences in oral "hairy" leukoplakia by in situ hybridization. J Med Virol 1988; 26(3): 271-7.
9. Komatsu TL, Rivero ER, Gallottini de Magalhaes MH, Nunes FD. Epstein-Barr virus in oral hairy leukoplakia scrapes: identification by PCR. Braz Oral Res 2005; 19(4): 317-21.
10. Robaina TF, Valladares CP, Tavares DS, Napolitano WC, Silva LE, Dias EP, et al. Polymerase chain reaction genotyping of Epstein-Barr virus in scraping samples of the tongue lateral border in HIV-1 seropositive patients. Mem Inst Oswaldo Cruz 2008; 103(4): 326-31.
11. Bagan JV, Jimenez Y, Murillo J, Poveda R, Diaz JM, Gavalda C, et al. Epstein-Barr virus in oral proliferative verrucous leukoplakia and squamous cell carcinoma: A preliminary study. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2008; 13(2): E110-E113.
12. Gonzalez X, Correnti M, Rivera H, Perrone M. Epstein Barr Virus detection and latent membrane protein 1 in oral hairy leukoplakia in HIV+ Venezuelan patients. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2010; 15(2): e297-e302.
13. Greenspan JS, De Souza YG, Regezi JA, Daniels TE, Greenspan D, MacPhail LA, et al. Comparison of cytopathic changes in oral hairy leukoplakia with in situ hybridization for EBV DNA. Oral Dis 1998; 4(2): 95-9.
14. Braz-Silva PH, Ortega KL, Rezende NP, Nunes FD, Magalhaes MH. Detection of Epstein-Barr virus (EBV) in the oral mucosa of renal transplant patients. Diagn Cytopathol 2006; 34(1): 24-8.
15. Greenspan JS, Greenspan D, Lennette ET, Abrams DI, Conant MA, Petersen V, et al. Replication of Epstein-Barr virus within the epithelial cells of oral "hairy" leukoplakia, an AIDS-associated lesion. N Engl J Med 1985; 313(25): 1564-71.
16. Walling DM, Flaitz CM, Nichols CM. Epstein-Barr virus replication in oral hairy leukoplakia: response, persistence, and resistance to treatment with valacyclovir. J Infect Dis 2003; 188(6): 883-90.
17. Walling DM, Flaitz CM, Nichols CM, Hudnall SD, Adler-Storthz K. Persistent productive Epstein-Barr virus replication in normal epithelial cells in vivo. J Infect Dis 2001; 184(12): 1499-507.
18. Herrmann K, Frangou P, Middeldorp J, Niedobitek G. Epstein-Barr virus replication in tongue epithelial cells. J Gen Virol 2002; 83(Pt 12): 2995-8.
19. Walling DM, Flaitz CM, Hosein FG, Montes-Walters M, Nichols CM. Effect of Epstein-Barr virus replication on Langerhans cells in pathogenesis of oral hairy leukoplakia. J Infect Dis 2004; 189(9): 1656-63.
20. Lozada-Nur F, Robinson J, Regezi JA. Oral hairy leukoplakia in nonimmunosuppressed patients. Report of four cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994; 78(5): 599-602.
21. Scully C, Porter SR, Di AL, Jalal M, Maitland N. Detection of Epstein-Barr virus in oral scrapes in HIV infection, in hairy leukoplakia, and in healthy non-HIV-infected people. J Oral Pathol Med 1998; 27(10): 480-2.
22. Sitki-Green D, Covington M, Raab-Traub N. Compartmentalization and transmission of multiple epstein-barr virus strains in asymptomatic carriers. J Virol 2003; 77(3): 1840-7.
23. Mabruk MJ, Flint SR, Toner M, Balluz I, Coleman D, Sullivan D, et al. In situ hybridization and the polymerase chain reaction (PCR) in the analysis of biopsies and exfoliative cytology specimens for definitive diagnosis of oral hairy leukoplakia (OHL). J Oral Pathol Med 1994; 23(7): 302-8.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparative evaluation of the presence of Epstein-Barr virus in common leukoplakia, oral hairy leukoplakia and healthy mucosa by polymerase chain reaction (PCR)

Mohammad Reza Salehi, Faezeh Khozeimeh*, Houshang Noshadian

Abstract

Introduction: *Although leukoplakia is not associated with any pathologic diagnosis, it is considered a premalignant or precancerous lesion. Oral hairy leukoplakia (OHL) is one of the most common diseases which is induced by Epstein-Barr virus in immunocompromised patients, such as those with AIDS. The aim of this study was to evaluate presence of EBV in patients with common leukoplakia, hairy leukoplakia and healthy mucosa.*

Materials and Methods: *In this retrospective case/control study, 18 samples of common leukoplakia, 12 OHL lesions and 30 samples of healthy mucosa (as controls) were selected from paraffin blocks of previous biopsies. DNA was isolated by chelex-100 method and PCR was carried out. Data was analyzed by chi-squared and Fisher's exact tests using SPSS ($\alpha = 0.05$).*

Results: *Ten samples of OHL (83%), 8 samples of common leukoplakia (44%) and 6 samples of healthy mucosa (20%) were EBV-positive. Fisher's exact test showed that frequency distributions of EBV had significant differences between the groups and also between OHL and healthy mucosa (p value = 0.001). Chi-Squared test revealed significant differences in the frequency distributions of EBV between common leukoplakia and OHL (p value = 0.033). In comparison between common leukoplakia and healthy mucosa, frequency distributions of EBV did not exhibit significant differences (p value = 0.071).*

Conclusion: *Under the limitations of the present study, the frequency distributions of EBV in OHL were significantly higher than those in the two other groups, suggesting an important role of EBV in the pathogenesis of OHL and confirming the results of previous studies.*

Key words: *Epstein-Barr virus, Hairy, Leukoplakia, Oral, Polymerase chain reaction.*

Received: 16 May, 2011 **Accepted:** 13 Sep, 2011

Address: Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Medicine, School of Dentistry and Torabinejad Dental Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Email: khozeimeh@dnt.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Dental School 2011; 7 (4): 402-408.

www.SID.ir