

Pia Titterud Sunde, Ingar Olsen, Morten Enersen og Bjørn Grinde

Spiller cytomegalovirus og Epstein-Barr virus en rolle i marginal og apikal periodontitt?

Virus av herpesgruppen, spesielt Epstein-Barr virus (EBV) og cytomegalovirus (CMV), kan være en medvirkende årsak til utvikling av marginal og apikal periodontitt. Vi undersøkte prøver fra 40 persisterende apikale periodontitter og 25 «refraktære» marginale periodontitter for EBV og CMV med en metode som kan måle mengde virus i prøvene (real-time PCR). Halvparten av prøvene fra persisterende apikal periodontitt var positive med hensyn på EBV, mens CMV ikke ble funnet. Hos pasienter med marginal periodontitt, var 40 % positive for EBV og CMV ble funnet i 12 % av tilfellene. Bare 1 av de 15 kontrollprøvene fra friskt periodontium var positiv. I de fleste tilfellene ble det funnet en lav mengde virus, bortsett fra hos én pasient som hadde en spesielt vanskelig og residerende periodontitt. Denne pasienten hadde 100 ganger høyere konsentrasjon av virus i tannkjøtslommen enn pasienten med det nest høyeste titer av virus og ble gitt antiviral behandling (Valtrex®) i 10 dager. Den antivirale behandlingen reduserte EBV til knapt målbare mengder og periodontitten forbedret seg dramatisk. Ett år senere var de periodontale forhold fremdeles stabile, og virus kunne bare såvidt påvises. Dette kasuset indikerer at virusundersøkelse og påfølgende antiviral behandling kan være nyttig som tillegg til konvensjonell periodontal behandling. Det er mer usikkert om små mengder virus har betydning for patogenesen.

Det er velkjent at apikal og marginal periodontitt er assosiert med bakterier som koloniserer rot- og tannoverflaten. Studier i den senere tid har imidlertid vist at visse typer virus av herpestypen, særlig Epstein-Barr virus (EBV) og cytomegalovirus (CMV), ofte er til stede i marginale og apikale periodontitter (1–3). Både EBV og CMV er tilstede latent hos det store flertall av den voksne befolkningen (ca. 95 %). De fleste blir smittet allerede som barn, men uten at det gir videre kliniske symptomer. EBV-smitte i ungdomsårene kan føre til mononukleose. EBV er primært lokalisert i immunologiske celler (B-celler) og i epitelceller i orofarynx, mens CMV finnes i forskjellige typer epitelceller, endotelceller og leukocytter. Begge virusstypene er periodevis aktive og skilles ut i saliva.

Interessen for disse virusene i forbindelse med periodontitt ligger dels i at de ofte forekommer i periodontalt vev, men også i den spesielle evnen de har til å påvirke immunforsvaret. Dette gjør de blant annet ved å utskille cytokinlignende proteiner. Man kan tenke seg at immunmoduleringen favoriserer virus og bakterier på en slik måte at det forverrer den kliniske tilstanden. På den annen side kan man godt tenke seg at tilstedeværelsen av virus kun skyldes opphopningen av immunologiske celler, og at virus ikke har betydning for sykdomsforløpet.

De fleste undersøkelser knyttet til EBV og CMVs rolle i periodontal og endodontisk sykdom er fra Nord-Amerika og utført av én laboratorieggruppe. Vi ønsket å finne prevalensen av virus, og kvantifisere mengden, i et norsk pasientmateriale (4, 5). Vi utførte ytterligere undersøkelser i et forsøk på å belyse en eventuell klinisk rolle. Artikkelen er et kort sammendrag av tidligere publiserte artikler (4,5).

Forfattere

Pia Titterud Sunde, dr. odont. og postdoktor. Institutt for oral biologi, Det odontologiske fakultet, Universitetet i Oslo
Ingar Olsen, professor, dr. odont. Institutt for oral biologi og forskningsdekan ved Det odontologiske fakultet, Universitetet i Oslo

Morten Enersen, cand. odont. og PhD-stipendiat. Institutt for oral biologi, Universitetet i Oslo

Bjørn Grinde, dr. philos. og professor II. Institutt for oral biologi og forskningsjef ved Nasjonalt folkehelseinstitutt

Artikkelen er et sammendrag av to artikler tidligere publisert i J Clin Virol (4,5)

Hovedbudskap

- I terapiresistente kasus bør man undersøke for virus i den periodontale lommen
- Ved høy viruskonsentrasjon kan antiviral behandling være indisert

Pasienter inkludert i studien og resultater

Studien inkluderte 25 pasienter med «refraktær» marginal periodontitt (6) og 40 pasienter med persisterende apikal periodontitt. På de sistnevnte ble det utført apicoektomier. Rundt halvparten (18) av disse pasientene hadde palpasjons-/perkusjonsømheter, mens de resterende var asymptomatiske. Ingen av pasientene hadde smerter på det tidspunktet kirurgien ble gjennomført.

På alle pasientene med marginal periodontitt hadde det vært gjennomført konvensjonell periodontittbehandling uten vellykket klinisk resultat. Alle periodontale lommer var 6 mm. Prøver fra 15 pasienter med friskt periodontium ble inkludert som kontroller.

Det ble ekstrahert arvemateriale (DNA) fra alle prøvene og kvantitativ påvisning (real-time PCR) av virus ble benyttet. Alle prøver fra pasienter med marginal periodontitt ble i tillegg undersøkt med hensyn på 20 forskjellige typer av bakterier som er vanlige i endodontisk og periodontal sykdom. Tanken var å påvise eventuelle sammenhenger mellom virus og bakterieflora.

Marginal periodontitt

Hos pasienter med marginal periodontitt ble det funnet EBV i 10 av 25 prøver, mens bare 3 inneholdt CMV (Tabell 1). På pasienter med friskt periodontium ble det funnet virus hos bare 1 av 15, og her i knapt målbar mengde. Også i de kliniske prøvene var det beskjedne mengder virus, med ett unntak. Denne pasienten hadde en spesielt vanskelig og residiverende periodontitt og 100 X mer virus enn pasienten med nest mest virus. Pasienten ble gitt antiviral behandling (500 mg valaciklovir i form av Valtrex® oralt to ganger om dagen i 10 dager). Den kliniske tilstanden ble fulgt opp i ett år. Behandlingen reduserte mengden av EBV til knapt målbare mengder, og periodontitt forbedret seg dramatisk, med reduserte lommer og ingen blødning ved sondering (Tabell 2). Etter ett år var de periodontale forhold fremdeles stabile.

Prøvene fra pasienter med marginal periodontitt ble også undersøkt for 20 forskjellige bakterier assosiert med periodontitt (DNA-DNA hybridisering). Det ble ikke påvist vesentlige forskjeller i bakteriefloraen når man sammenlignet prøver med og uten virus, men to av bakteriene, *Porphyromonas gingivalis* og *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* var noe vanligere i prøver der det også ble påvist EBV (5).

Apikal periodontitt

Hos pasienter med persisterende apikal periodontitt ble det funnet EBV i 50 % av prøvene, men kun lave nivåer. CMV ble ikke påvist. Det ble funnet mer virus i symptomatiske tenner (palpasjons-/perkusjonsømheter) sammenlignet med asymptomatiske (Tabell 3).

Diskusjon

Resultatene fra undersøkelsen underbygger tidligere påstander om at EBV er assosiert med marginal og apikal periodontitt. Vi fant lite CMV, noe som er i samsvar med enkelte studier (7), mens andre har

Tabell 1. Prevalensen og mengden av virus hos pasienter med marginal periodontitt sammenlignet med friske kontroller. Virus ble påvist og kvantifisert med real-time PCR. Data fra ref. 5. EBV: Epstein Barr virus, CMV: cytomegalovirus, PCR: polymerase chain reaction

Prøve	EBV	CMV
Marginal periodontitt (N=25)	10 (40%) ^a	3 (12%)
Mengde viruspartikler	200–8 000, 353 000 ^b	120–2400
Gjennomsnitt	1 600	900
Friskt periodontium (N=15)	1 (7%) ^a	0
Mengde viruspartikler	35	
Gjennomsnitt	35	

^ap=0,03 ved bruk av Chi-square test (Fisher's Exact-Exact Sig. 2-sided). ^bDet høye antallet er fra én spesiell pasient.

Tabell 2 EBV i subgingivale prøver tatt før og etter antiviral terapi hos én pasient. Virusmengden ble målt med real-time PCR (IB = ikke bestemt). Data fra ref. 4

	Før terapi	Etter terapi (uker)				
		1	5	8	12	52
Tann 26	353 000	0	70	50	50	150
Tann 27	926 000	0	0	50	50	IB
Tann 33	IB	50	0	0	32	35

funnet en betydelig høyere prevalens (1). De fleste tidligere studier har brukt en ikke kvantitativ metode (vanlig PCR) for å påvise virus. For en klinisk vurdering er det viktig å måle virusmengde, særlig fordi det er snakk om virus som de fleste går rundt med, og som regelmessig påvises i saliva. I vår undersøkelse fant vi at alle prøvene, med ett unntak, inneholdt beskjedne mengder virus. At det er mer virus i kliniske prøver sammenlignet med friske kontroller kan forklares med mengde prøvemateriale, og med at antall lymfocytter, som kan inneholde latente virus, er mye høyere i en aktiv sykdomslokk enn rundt en frisk tann (8).

Man kan riktignok ikke se bort fra at selv små mengder virus kan påvirke bakteriens vekstvilkår som følge av virusenes immunmodulerende egenskaper. Det foreligger dessuten indikasjoner på at virus kan spille en rolle i sykdommer som man tidligere trodde kun var av bakteriell opprinnelse, slik som mellomørebetennelse og øvre luftveisinfeksjoner (9, 10, 3); og at mikrobiell aktivitet kan stimulere virusreplikasjon (11). Korrelasjonen mellom nærvær av virus og visse typer av bakterier i marginal periodontitt, påvist både av

Tabell 3. Prevalens og mengde av virus hos pasienter med symptomatisk og asymptomatisk persisterende apikal periodontitt. Virus ble påvist og kvantifisert med real-time PCR. Data fra ref. 5.

Prøve	EBV	HCMV
Symptomatiske pasienter (N=18)	13 (72%) ^a	0
Mengde viruspartikler	50–900	
Gjennomsnitt	300	
Asymptomatiske pasienter (N=22)	7 (28%) ^a	0
Mengde viruspartikler	50–4 000	
Gjennomsnitt	970	

^ap=0,025 ved bruk av Chi-square test (Fisher's Exact-Exact Sig. 2-sided).

oss og andre (5, 12–14), antyder at virus kan påvirke bakterieflo-
raen.

Det er mulig at herpesvirus-bakterie-interaksjoner kan bidra til å
forklare det karakteristiske kliniske forløpet til marginale periodon-
titter: alterneringen mellom viruslatens og virusaktivitet kan være
årsaken til de typiske «flare-ups» man observerer hos pasienter med
marginale periodontitter.

Konklusjon

Man skal være forsiktig med å trekke konklusjoner når det gjelder
den kliniske betydningen av virus basert på hva som i dag forelig-
ger av data. Det er likevel verd å vurdere antiviral behandling i til-
feller med en høy konsentrasjon av virus i den subgingivale lom-
men og en residiverende og «refraktær» marginal periodontitt.

Det er mulig å sende prøver for virusanalyse til Mikrobiologisk
Diagnostisk Service, Institutt for oral biologi og ringe 22 84 03 20
for spørsmål og eventuelt forsendelse av transportmedium.

English summary

Sunde PT, Olsen I, Enersen M, Grinde B.

Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in apical and marginal periodontitis

Nor Tannlegeforen Tid 2008; 118: 716–18.

Periodontitis is presumably caused by bacterial infection, but it has
recently been shown that affected tissue often contains cytomega-
lovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV). The present work was
initiated to evaluate the role of these viruses in the pathogenesis of
persistent apical periodontitis and «refractory» marginal periodon-
titis. CMV and EBV were quantified using real time PCR. A possible
association with relevant bacteria was examined with DNA-DNA
hybridization.

Of the apical periodontitis samples, 50% contained EBV, while
none contained CMV. Of the marginal periodontitis samples, 40%
were positive for EBV and 12% for CMV. EBV was only detected in
1 out of 15 healthy periodontium samples. In most cases the viral
load was close to the detection limit, but one patient had 100X
more virus than the patient with the second highest titer. This pa-
tient was given antiviral treatment (500 mg of valaciklovir in the
form of Valtrex® taken orally twice daily for a period of 10 days).
The antiviral treatment decreased the presence of EBV to the detec-
tion limit, and the periodontal condition improved dramatically.

One year after treatment, the condition was still stable. The patient
had previously gone through a prolonged period of conventional
periodontal therapy without success. The case suggests that virus
screening and subsequent antiviral therapy may be useful as an ad-
junct to conventional periodontal therapy in «refractory» marginal
periodontitis.

Referanser

1. Slots J. Update on human cytomegalovirus in destructive periodon-
tal disease. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 217–23.
2. Slots J, Saygun M, Sabeti M, Kubar A. Epstein-Barr virus in oral
diseases. *J Periodontal Res* 2006; 41: 234–44.
3. Cappuyns I, Gugerli P, Mombelli A. Viruses in periodontal disease –
a review. *Oral Dis* 2005; 11: 219–29.
4. Sunde PT, Olsen I, Enersen M, Grinde B. Patient with severe perio-
dontitis and subgingival Epstein-Barr virus treated with antiviral the-
rapy. *J Clin Virol* 2008; 42: 176–8.
5. Sunde PT, Olsen I, Enersen M, Beiske K, Grinde B. Human cytome-
galovirus and Epstein Barr-Virus in apical and marginal periodontitis:
a role in pathology? *J Med Virol* 2008; 80: 1007–11.
6. Armitage GC. Development of a classification system for periodon-
tal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4: 1–6.
7. Klemenc P, Skaleric U, Artnik B, Nogrask P, Marin J. Prevalence of
some herpesviruses in gingival crevicular fluid. *J Clin Virol* 2005; 34:
147–52.
8. Zappa U, Reinking-Zappa M, Graf H, Espeland M. Cell populations
and episodic periodontal attachment loss in humans. *J Clin Periodon-
tol* 1991; 18: 508–15.
9. Bakaletz LO. Viral potentiation of bacterial superinfection of the
respiratory tract. *Trends Microbiol* 1995; 3: 110–4.
10. Heikkinen T, Chonmaitree T. Viral-bacterial synergy in otitis
media: implications for management. *Curr Infect Dis Rep* 2000; 2:
154–9.
11. Chêne A, Donati D, Guerreiro-Cacais AO, Levitsky V, Chen Q, Falk
KI. A molecular link between malaria and Epstein-Barr virus reactiva-
tion. *PLoS Pathog* 2007; 3: e80.
12. Contreras A, Umeda M, Chen C, Bakker L, Morrison JL, Slots J.
Relationship between herpesviruses and adult periodontitis and perio-
dontopathic bacteria. *J Periodontol* 1999; 70: 478–84.
13. Michalowicz BS, Ronderos M, Camara-Silva R, Contreras A, Slots
J. Human herpesviruses and Porphyromonas gingivalis are associated
with early-onset periodontitis. *J Periodontol* 2000; 71: 981–8.
14. Ting M, Contreras A, Slots J. Herpesvirus in localized juvenile
periodontitis. *J Periodontal Res* 2000; 35: 17–25.

Adresse: Pia Titterud Sunde, Institutt for oral biologi, postboks 1052 Blindern,
0316 Oslo. E-post: titterud@odont.uio.no