



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI MILANO-BICOCCA
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA
Dottorato di Ricerca in Parodontologia Sperimentale

CORRELAZIONI ESISTENTI TRA
PARODONTOLOGIA E MEDICINA ORALE.
LESIONI DELLE MUCOSE ORALI VS
MALATTIA PARODONTALE: ASPETTI
DIAGNOSTICI E TERAPEUTICI.

Coordinatore: Prof. Marco Baldoni

Tutore: Dott. Riccardo Monguzzi

Tesi di dottorato:

Dott. Fabio Giulio Franceschini

Matricola 708578

Ciclo XXIII - Anno Accademico 2009/2010

Ringrazio il Chiar.mo Prof. Marco Baldoni per avermi trasmesso la passione scientifica per la Parodontologia Sperimentale e per i preziosi insegnamenti che mi ha dato in questi anni.

Ringrazio il Dott. Riccardo Monguzzi per avermi seguito e consigliato durante la compilazione di questa tesi.

Ringrazio i Dottori Cambini Aimone, Fumagalli Teresa e Greco Gildo, compagni di viaggio in questa avventura con i quali ho scambiato idee ed opinioni.

Infine, ringrazio la mia compagna e tutta la mia famiglia per avermi sempre sostenuto e incoraggiato e per avermi messo in condizione di svolgere in maniera ideale la mia attività scientifica in questi anni.

*...non omnis moriar
multaque pars mei
vitabit Libitinam...*

(Orazio. Odi, III, 30, 6)

INDICE

1. Introduzione	pag 11
2. Medicina orale: criteri classificativi	pag 13
3. Malattia parodontale	pag 16
3.1 Classificazione della malattia parodontale	pag 23
3.1.1 Gengivite	pag 24
3.1.2 Parodontite cronica	pag 25
3.1.3 Parodontite aggressiva	pag 27
3.1.4 Parodontite da malattie sistemiche	pag 29
3.1.5 Parodontite necrotizzante	pag 30
3.1.6 Ascesso parodontale	pag 31
3.1.7 Parodontite associata a lesioni endodontiche	pag 32
3.1.8 Deformità e condizioni sviluppate e acquisite	pag 32
3.2 Diagnosi di malattia parodontale	pag 33
PATOLOGIE DELLE MUCOSE ORALI	pag 39
4. Infezioni batteriche delle mucose orali	pag 40
4.1 Flora normale residente	pag 41
4.2 Colonizzazione microbica del cavo orale	pag 47
4.3 Aspetti patologici comuni delle lesioni batteriche	pag 49
4.4 Fattori sistemici potenzialmente coinvolti	pag 52
4.4.1 Malattie sistemiche	pag 52
4.4.2 Età	pag 52
4.4.3 Immunocompromissione	pag 53
4.4.4 Terapia antibiotica	pag 55
4.5 Fattori locali potenzialmente coinvolti	pag 56

4.6 Diagnosi microbiologica	pag 59
4.7 Principali quadri patologici batterici delle mucose orali	pag 61
4.7.1 Staphilococcus aureus	pag 61
4.7.2 Streptococchi beta emolitici (S. pyogenes, Streptococchi gruppo A)	pag 62
4.7.3 Enterococchi	pag 63
4.7.4 Enterobacilli Gram-neagtivi e Pseudomonas	pag 65
4.7.5 Haemophilus	pag 67
4.7.6 Neisseria	pag 68
4.7.7 Altri batteri gram negativi aerobi e facoltativi	pag 68
4.7.8 Mycoplasma	pag 68
4.7.9 Chlamydia	pag 69
4.8 Terapia delle lesioni batteriche	pag 70
5. Infezioni virali delle mucose orali	pag 72
5.1 Principali famiglie virali	pag 75
5.1.1 Herpesviridae	pag 76
5.1.3 Picornaviridae ed Enteroviridae	pag 79
5.1.4 Retrovirus	pag 80
5.2 Principali quadri patologici orali virali	pag 84
5.3 Neoplasie ad eziologia virale	pag 97
5.4 Altre malattie orali virali	pag 106
5.4.1 Parodontite ad eziologia virale	pag 109
5.5 Infezioni virali in età pediatrica	pag 113
5.5.1 Virus orali in età pediatrica	pag 117

5.5.1.1 Enterovirus	pag 117
5.5.1.2 Morbillo	pag 118
5.5.1.3 Parotite	pag 118
5.5.1.4 Virus herpes simplex 1	pag 119
5.5.1.5 Virus Epstein-Barr	pag 121
5.5.1.6 Papillomavirus	pag 121
5.6 Virus patogeni trasmissibili durante trattamenti odontoiatrici in età pediatrica	pag 123
5.6.1 Immunodeficienza di tipo 1 (HIV-1)	pag 123
5.6.2 Epatite B	pag 125
5.6.3 Epatite C	pag 127
6. Infezioni fungine delle mucose orali	pag 129
6.1 Quadri clinici della candidosi	pag 132
6.1.1 Candidosi orale primaria	pag 133
6.1.1.1 Candidosi pseudo membranosa	pag 133
6.1.1.2 Candidosi eritematosa	pag 134
6.1.1.3 Candidosi iperplastica	pag 135
6.1.1.4 Lesioni associate a candida	pag 136
6.1.1.5 Stomatite da protesi associata a candida (candidosi cronica atrofica o dolore orale da protesi)	pag 137
6.1.1.6 Cheilite angolare	pag 138
6.1.1.7 Glossite romboide mediana	pag 139
6.1.1.8 Eritema gengivale lineare	pag 139
6.1.2 Candidosi orale secondaria	pag 141

6.1.3 Sindromi da candidosi cronica muco cutanea	pag 142
6.2 Terapia della candidosi	pag 143
6.2.1 Polieni	pag 143
6.2.2 Farmaci a base d'azolo	pag 147
6.2.3 Triazoli	pag 151
6.2.4 Altri farmaci per la candidosi	pag 155
6.2.5 Nuovi agenti antifungini	pag 157
6.3 Manifestazioni orali di altre micosi sistemiche	pag 158
7. Infezioni parassitarie delle mucose orali	pag 159
7.1 Parassitosi del cavo orale	pag 161
7.1.1 Diagnosi	pag 163
7.1.2 Terapia	pag 165
7.2 Principali quadri patologici parassitari sistemici	pag 166
7.2.1 Leishmaniosi	pag 166
7.2.2 Ciclo vitale e trasmissione	pag 166
7.2.3 Classificazione	pag 167
7.2.4 Epidemiologia	pag 168
7.2.5 Manifestazioni cliniche	pag 170
7.2.5.1 Leishmaniosi cutanea	pag 171
7.2.5.2 Leishmaniosi mucocutanea	pag 171
7.2.5.3 Leishmaniosi viscerale	pag 173
7.2.5.4 Diagnosi differenziale	pag 175
7.2.6 Terapia	pag 176
7.3 Controllo della patologia	pag 179

8. Sifilide	pag 182
8.1 Epidemiologia della sifilide	pag 184
8.2 Caratteristiche cliniche	pag 186
8.3 Diagnosi	pag 190
8.3.1 Esame microscopico	pag 190
8.3.2 Test sierologici	pag 191
8.3.3 Prevenzione	pag 192
8.3.4 Terapia	pag 193
8.4 Gestione della sifilide in odontoiatria	pag 196
8.5 Quadri clinici della sifilide	pag 198
9. Eritema multiforme	pag 200
9.1 Eziopatogenesi	pag 201
9.2 Quadri clinici	pag 203
9.4 Diagnosi	pag 207
9.3 Terapia	pag 209
10. Leucoplachia	pag 211
10.1 Sottoclassificazione clinica	pag 214
10.2 Classificazione della dimensione	pag 216
10.3 Tabacco e leucoplachia idiopatica	pag 217
10.4 Aspetti istopatologici	pag 219
10.5 Terapia	pag 221
10.6 Concetto di recidiva e di risposta terapeutica	pag 222
10.7 Evoluzione maligna	pag 223
10.8 Follow-up	pag 224
10.9 Classificazione e sistema di stadiazione	pag 225

11. Carcinoma a cellule squamose	pag 226
11.1 Eziopatogenesi	pag 228
11.2 Fattori di rischio	pag 229
11.2.1 Tabacco	pag 229
11.2.2 Betel	pag 230
11.2.3 Alcool	pag 231
11.2.4 Altri fattori	pag 232
11.2.5 Virus	pag 232
11.2.6 Igiene orale	pag 233
11.2.7 Difese immunitarie	pag 234
11.2.8 Dieta	pag 234
11.2.9 Carcinogenesi	pag 236
11.2.9.1 Oncosoppressori	pag 238
11.2.9.2 Oncogeni	pag 239
11.2.9.3 Mutazioni mitocondriali	pag 240
11.2.9.4 Polimorfismi di un singolo nucleotide	pag 240
11.2.9.5 Enzimi xenometabolizzanti	pag 241
11.2.9.6 Geni per la riparazione del DNA	pag 244
11.2.9.7 Altri geni	pag 245
11.3 Implicazioni cliniche	pag 246
11.3.1 Supporti clinici diagnostici	pag 246
11.3.2 Cambiamenti genetici	pag 246
11.3.3 Marcatori genetici	pag 248
11.3.4 Marcatori salivari	pag 249
11.3.5 Marcatori serici	pag 251

11.4 Epidemiologia del cancro	pag 252
11.4.1 Diagnosi precoce	pag 253
11.4.2 Nuove tecniche diagnostiche	pag 254
11.4.3 Blu di toluidina	pag 255
11.4.4 Chemioluminescenza	pag 256
11.4.5 Esame citologico	pag 258
11.4.6 Fotosensibilità	pag 259
11.4.7 Spettroscopia	pag 260
11.4.8 Microscopia in vivo	pag 262
11.4.9 Tomografia ottica	pag 263
11.4.10 Chemioprevenzione del carcinoma orale	pag 265
PATOLOGIE DI CONFINE	pag 268
12. Gengivite desquamativa	pag 269
13. Lesioni lichenoidi gengivali	pag 271
14. Malattie vescicolo-bollose ad eziologia Immunitaria	pag 274
14.1 Pemfigoide delle membrane mucose	pag 275
14.2 Pemfigo	pag 279
14.3 Malattia da depositi lineari di IgA	pag 283
14.4 Stomatite ulcerativa cronica	pag 284
14.5 Gengivite da plasmacellule	pag 285
15. Lichen planus	pag 286
15.1 Caratteristiche cliniche	pag 287
15.2 Eziopatogenesi	pag 291
15.3 Istopatologia	pag 293

15.4 Immunofluorescenza	pag 294
15.5 Prognosi	pag 295
15.6 Diagnosi differenziale	pag 296
15.7 Terapia	pag 297
16. Epulide	pag 299
16.1 Eziopatogenesi ed epidemiologia	pag 300
16.2 Caratteristiche cliniche	pag 303
16.3 Correlazioni tra epulide e gravidanza	pag 305
16.4 Istopatologia	pag 309
16.5 Diagnosi differenziale	pag 313
16.6 Terapia	pag 318
17.1 Caratteristiche cliniche	pag 322
17. Pemfigoide delle membrane mucose	pag 324
17.2 Lesioni orali	pag 326
17.3 Lesioni mucose extraorali	pag 327
17.4 Eziopatogenesi	pag 329
17.5 Diagnosi	pag 330
17.6 Terapia	pag 332
18. Pemfigo	pag 336
19. Conclusioni	pag 340
20. Bibliografia	pag 342

1. INTRODUZIONE

La parodontologia è la disciplina odontostomatologica che si occupa della diagnosi e della terapia delle patologie che coinvolgono tutti i tessuti di supporto degli elementi dentari.

Grazie ad una suddivisione anatomica ed embriologica possiamo distinguere il parodonto superficiale e quello profondo. Il primo comprende le strutture epiteliali, quindi quelle visibili già all'esame obiettivo, come la gengiva cheratinizzata, suddivisa a sue volta in gengiva aderente e sulcolare ed in gengiva non cheratinizzata, che comprende invece la gengiva libera. Allontanandosi dagli elementi dentari si presenta la mucosa orale, un altro tessuto epiteliale caratterizzato da una scarsa cheratinizzazione e separato dalla gengiva libera da una sottile banda definita come linea muco-gengivale.

La medicina orale invece studia sia ad un livello clinico che istologico tutte quelle lesioni, ad eziologia virale, batterica, fungina, neoplastica ed immunitaria, che colpiscono i tessuti duri e molli del cavo orale. Per convenzione, sono esclusi i tessuti di supporto degli elementi dentari, comprendendo invece strutture anatomiche come le ghiandole salivari maggiori e minori, il tessuto linfoide, la muscolatura facciale, il tessuto nervoso e quello vascolare. Caratteristica propria della Medicina Orale è senz'altro la possibilità di un'interazione diretta con altre discipline mediche, come la Dermatologia, con cui ha un rapporto di contiguità anatomica o la Clinica Medica, in quanto moltissime lesioni che interessano il cavo orale rappresentano manifestazioni di patologie sistemiche estremamente complesse. In

realtà anche la Parodontologia presenta numerose correlazioni con altre specializzazioni mediche, in quanto tantissime situazioni di malattia parodontale possono essere correlate a particolari situazioni sistemiche.

Tale suddivisione è comunque didattica, in quanto entrambi gli specialisti devono possedere le conoscenze circa le caratteristiche delle malattie che possono coinvolgere il cavo orale nella sua globalità e per poter quindi indirizzare il paziente verso un percorso diagnostico-terapeutico specifico. I diversi ambiti disciplinari partono in ogni caso da punti di vista diversi, poiché l'obiettivo primario della parodontologia è la salvaguardia dell'integrità funzionale della dentizione, attraverso opportuni protocolli preventivi e terapeutici. La Medicina Orale si prefigge invece come scopo la diagnosi e la risoluzione di processi patologici a prescindere dal mantenimento di tale integrità.

La collaborazione tra le diverse aree è comunque fondamentale, perché entrambe perseguono uno stato di salute del cavo orale del paziente, con evidenti ripercussioni anche sui livelli di benessere sistemico, sebbene la parodontologia presenti un punto di partenza esclusivamente odontoiatrico, mentre la Medicina Orale di tipo medico.

Alla luce di quanto sopra evidenziato, le due discipline di fatto percorrono vie diverse, pur prefiggendosi come obiettivo comune la salute del paziente.

2. MEDICINA ORALE: CRITERI CLASSIFICATIVI

Come già detto, la Medicina Orale si occupa della diagnosi e del trattamento di patologie che coinvolgono i tessuti duri e molli del cavo orale.

Tutte le malattie possono essere catalogate secondo diversi criteri, che possono essere clinici, istologici, eziologici, patogenetici. A causa della molteplicità delle lesioni che interessano il distretto oro-maxillo-facciale, quelli più utilizzati in letteratura per catalogarle sono certamente quello clinico e quello eziologico.

In base al criterio clinico è possibile distinguere tra lesioni rosse, bianche, ulcerative, vescicolo-bollose, erosive, esofitiche, neoplastiche e pre-neoplastiche.

Tale schematismo è proprio anche di discipline affini alla Medicina Orale, come per esempio la Dermatologia e l'Otorinolaringoiatria.

A livello clinico è possibile individuare patologie vescicolo-bollose, che possono essere ad eziologia virale o associate a difetti immunitari ed ereditari; malattie ulcerative, che possono essere lesioni reattive, infettive, micotiche, autoimmuni o anche neoplastiche; lesioni pigmentate bianche, che possono essere situazioni ereditarie, reattive, neoplastiche o pre-neoplastiche; lesioni pigmentate intravascolari, perivascolari e melanotiche; malattie esofitiche che possono essere reattive, verrucose o neoplastiche ed infine lesioni cistiche delle ossa mascellari e dei tessuti molli orali.

È anche possibile classificare le diverse patologie del distretto testa-collo in base alla collocazione anatomica ed istologica. Si possono osservare lesioni della mucosa orale e della cute peri-orale, del tessuto connettivo, in particolare del connettivo fibroso, dei vasi, del sistema nervoso, dei muscoli e della componente adiposa, degli annessi sottomucosi, come le ghiandole salivari maggiori e minori, con malattie reattive, infettive, sistemiche, neoplastiche, familiari o autoimmuni, dei tessuti linfoidei con patologie reattive, immunitarie e neoplastiche ed infine delle ossa mascellari, in cui si distinguono malattie genetiche e metaboliche.

Una disciplina di confine con la medicina orale è senz'altro la dermatologia, che sempre secondo un criterio clinico permette di definire macule, papule, noduli, vescicole, pustole, bolle, erosioni, ulcere, escare e ragadi, che in alcuni casi possono presentare caratteristiche cliniche simili rispetto alle lesioni corrispondenti del cavo orale, mentre in altre situazioni si presentano assolutamente differenti e con peculiarità proprie.

In base al criterio eziologico invece è possibile distinguere tra lesioni virali, batteriche, fungine, micotiche, neoplastiche ed autoimmuni.

Bisogna comunque ricordare che le diverse lesioni possono essere studiate interpretando schemi diagnostici e terapeutici differenti ed integrando tra loro criteri classificativi diversi, poiché tali modelli devono rappresentare esclusivamente un supporto per l'Odontoiatra e non un ostacolo alla pianificazione di un efficace percorso

diagnostico-terapeutico, che abbia come obiettivo unico ed insostituibile la salute del paziente nella sua totalità.

In questa trattazione verranno integrati tra diversi criteri classificativi, in modo da ottenere un risultato il più possibile organico ed esaustivo.

Per comodità e semplificazione le principali malattie che coinvolgono il cavo orale saranno suddivise in malattia parodontale, che è l'argomento di cui si occupa la Parodontologia, le lesioni delle mucose orali, che sono studiate principalmente dalla Medicina Orale e le cosiddette malattie di confine, che rappresentano invece il punto di congiunzione tra i due differenti ma complementari ambiti disciplinari.

3. MALATTIA PARODONTALE

Lo studio della malattia parodontale rappresenta un'entità fondamentale nell'ambito delle scienze odontostomatologiche, in quanto i tessuti parodontali sono il supporto di tutti gli elementi dentari, con un importantissimo ruolo funzionale ed estetico.

La malattia parodontale è una patologia o più propriamente un gruppo di malattie dei tessuti parodontali derivante dalla perdita e distruzione dell'osso alveolare. La storia naturale della malattia parodontale, in alcuni ma in non tutti i pazienti porta alla perdita dentale ^{1,2}. La malattia parodontale comunque comprende un più ampio spettro di lesioni e non solo la parodontite.

La diagnosi clinica della malattia parodontale è formulata riconoscendo vari segni e sintomi nei vari tessuti parodontali che preannunciano una situazione patologica. La diagnosi della malattia parodontale richiede una profonda conoscenza degli aspetti del parodonto sano. Il parodonto sano del quale possono essere osservati clinicamente solo i tessuti gengivali è descritto come una struttura rosa o corallo nei soggetti caucasici o con varie sfumature di pigmentazione nelle altre razze ^{2,3}. Esso è strettamente adattato ai tessuti sottostanti e con uno stretto margine confina col dente. Il margine gengivale è localizzato in assenza di patologia a livello della giunzione amelo-cementizia. Essa mostra una configurazione festonata più alta a livello interprossimale dove costituisce la papilla interdentale e più bassa a livello vestibolare e linguale. Esiste un solco gengivale dove essa confina col dente ed è di 1-3 mm di profondità

fisiologicamente. Non esiste sanguinamento sulcolare in caso di lieve sondaggio. Il solco fisiologico mostrerà una piccola quantità di fluido interstiziale che è il fluido crevicolare ⁴. La parete laterale del solco costituisce il margine gengivale libero. Dal punto più apicale della gengiva libera alla giunzione muco gengivale vi è la gengiva aderente che varia in profondità da 1 a 9 mm. La gengiva aderente è un tessuto immobile strettamente aderente all'osso sottostante attraverso il periostio ed è una mucosa cheratinizzata adatta a resistere ai traumi. Apicalmente alla giunzione mucogengivale e continuando lungo il margine mucoso della bocca, si osserva la mucosa alveolare che è estremamente mobile e caratterizzata da un epitelio non cheratinizzato. Si ritiene generalmente che la mucosa alveolare sia poco funzionale come tessuto marginale e le aree dove c'è mancanza di attacco gengivale possono costituire problemi muco gengivali. Alterazioni strutturali della salute parodontale possono suggerire la presenza di malattia.

I sistemi di classificazione della malattia hanno premesso ai clinici di sviluppare un struttura che può essere usati per identificare le patologie in relazione all'eziologia alla patogenesi e al trattamento. Tali sistemi ci permettono di organizzare un piano di trattamento efficace per ogni singola patologia parodontale. Una volta che la malattia è stata diagnosticata e classificata all'eziologia della condizione e un trattamento appropriato basto sull'evidenza è suggerito al clinico.

Il sistema comunemente più accettato per classificare la malattia parodontale è quello dell'American Academy of Periodontology. Nello scorso secolo l'accademia ha dibattuto per identificare e classificare le varie forme di malattia parodontale poiché la ricerca ha espanso le conoscenze. Questo ha condotto a frequenti revisioni e cambiamenti ma ha creato notevole confusione. Una classificazione comunque dovrebbe essere considerata un'entità permanente essa deve essere adattabile al cambiamento ed evolversi insieme allo sviluppo di nuove conoscenze. Ci si deve aspettare che i sistemi di classificazione cambieranno nel tempo comunque e questo può creare confusione ai clinici.

La prima descrizione moderna della malattia parodontale fu fatta da Abu I Quasim, anche conosciuto come Abuccus di Cordoba in Spagna nel X secolo ⁵. Più recentemente le descrizioni del trattamento della malattia parodontale sono state fatte da Pierre Fauchard che ha pubblicato il primo testo di odontoiatria "il chirurgo dentista" nel 1728 e John Hunter che ha pubblicato "la storia naturale dei denti umani" nel 1771 e "trattato pratico delle patologie dentarie" nel 1778 ⁶⁻⁹. Sebbene fosse già considerevole la quantità di conoscenza in odontoiatria probabilmente oltre 450 trattati erano stati scritti prima di quest'ultimo, Hunter ha fornito le basi scientifiche dell'odontoiatria moderna ⁸. La presenza di batteri attorno al dente è stata osservata per la prima volta da Von Leeuwenhoek nel XVII secolo ¹⁰⁻¹³. Egli descrisse che vide dei piccoli esseri e collegò a loro all'insorgenza della malattia. Egli fu anche probabilmente la prima persona a

riconoscere l'effetto protettivo sui batteri dei biofilm quando egli descrisse gli effetti dell'aceto su tali esseri in vivo e in vitro.

Nel XIX secolo, poco fu capito sull'eziologia e la patogenesi della malattia parodontale. La classificazione fu fatta sulla base della sua caratteristica clinica e non era supportata da alcuna evidenza scientifica. Il termine piorrea alveolare fu introdotto agli inizi del XIX secolo per descrivere la parodontite che letteralmente presentava "pus fuoriuscito dagli alveoli". Questo suggeriva che l'osso nella parodontite fosse infetto. Questo sfortunatamente era scorretto ma ha influenzato il trattamento della malattia per molti anni attraverso la rimozione dell'osso marginale infetto chirurgicamente.

I primi tentativi di classificazione riflettevano quello che Armitage aveva osservato in base ai paradigmi clinici esistenti tra il 1870 e il 1920^{14,15}. Egli descrisse tre paradigmi maggiori per capire cosa avesse una maggiore influenza nei tentativi di classificazione delle malattie parodontali: le caratteristiche cliniche, le caratteristiche patologiche e la risposta immunitaria del paziente. Dal 1920 al 1970 prevalse il paradigma delle caratteristiche patologiche e dal 1970 ad oggi il paradigma della reazione immunitaria dell'ospite.

È stato a lungo riconosciuto clinicamente che esistessero differenti tipi di malattia parodontale e vari tentativi furono fatti per definirli. Fish descrisse la piorrea semplice dove vi era un uguale profondità del solco e piorrea profonda dove vi erano tasche profonde attorno a numerosi denti¹⁶. Box ha diviso la parodontite cronica in semplice e complessa e ha evidenziato il ruolo del trauma oclusale nell'eziologia

di quella complessa ^{17,18}. Nel 1942 è stata proposta una classificazione basata sui principi base della patologia, questa fu accettata dall'American Academy of Periodontology ¹⁹. La malattia parodontale fu classificata in: infiammatoria, distrofica e traumatica. La parodontite fu classificata in semplice e complessa, questo fu un tentativo di classificare le differenze a livello clinico. La variante semplice era secondaria a gengivite e caratterizzata da perdita d'osso, tasche, formazione di ascessi e depositi calcarei. La complessa era secondaria a periodontosi che lui considerava come malattia degenerativa avente un'etiologia simile alla parodontite con poche o assenti concrezioni.

I termini semplice e complessa furono ampiamente accettati ed alcuni Autori hanno definito semplice quella caratterizzata dalla formazione di tasche a profondità regolare e perdita orizzontale d'osso ^{20,21}. La complessa era caratterizzata da una distruzione avanzata d'osso relativa all'età del paziente, formazione di tasche a profondità irregolari e perdita verticale d'osso. La complessa era caratterizzata da un'etiologia multifattoriale, come malattie sistemiche, o traumi occlusali. Molti testi comunque continuavano a classificare l'infiammazione parodontale semplicemente come gengivite e parodontite ²¹.

L'American Academy of Periodontology era indirizzata verso la classificazione il World Workshop in Periodontics del 1966 ²². Il termine parodontite marginale cronica fu accettato ma fu necessario definire un sistema di classificazione approfondito. Non vi era accordo

sull'esistenza della periodontosi come una malattia a sé stante e Løe suggeriva che la periodontosi non poteva essere chiamata parodontite complessa. Nel 1977 comunque, il termine parodontite giovanile che aveva ampiamente sostituito il termine periodontosi fu accettato dall'American Academy of Periodontology. L'accademia quindi riconobbe due distinti tipi di parodontite.

Dal 1970 ad oggi Hermitage ha stabilito che il paradigma della risposta dell'ospite all'infezione fosse quello dominante¹⁴. Questo ha condotto allo sviluppo del concetto che la parodontite comprende uno spettro di malattie collegate ma distinte che differiscono in eziologia, progressione naturale e risposta al trattamento. Nel 1982 alcuni autori stabilirono di poter identificare almeno 5 differenti forme di parodontite nell'uomo²³. Loro sottoclassificarono la parodontite marginale come parodontite dell'adulto e parodontite rapidamente progressiva. Loro designarono le forme di parodontite pre-puberale, giovanile, rapidamente progressiva dell'adulto e necrotizzante ulcerativa acuta. Nel novembre 1986 l'American Academy of Periodontology adottò una nuova classificazione:

- 1) parodontite giovanile (prepuberale, giovanile localizzata, giovanile generalizzata);
- 2) parodontite dell'adulto;
- 3) parodontite ulcerativa necrotizzante;
- 4) parodontite refrattaria.

Nel 1989 l'American Academy of Periodontology stabilì una nuova classificazione:

- 1) Parodontite dell'adulto;
- 2) Parodontite a esordio precoce;
 - A) Parodontite prepuberale (generalizzata o localizzata);
 - B) Parodontite giovanile (generalizzata o localizzata);
 - C) Parodontite rapidamente progressiva;
- 3) Parodontite associata a malattie sistemiche;
- 4) Parodontite ulcerativa necrotizzante;
- 5) Parodontite refrattaria.

Questa classificazione era basata su presenza o assenza di segni clinici di infiammazione, presenza di perdita d'attacco, età d'insorgenza, progressione e presenza o assenza di segni e sintomi misti, inclusi dolore, ulcerazione, placca e tartaro²⁶.

Nel 1993 fu realizzata una simile ma semplificata classificazione focalizzandosi sulla parodontite dell'adulto, su quella ad esordio precoce e su quella necrotizzante ulcerativa^{23,24}.

3.1 CLASSIFICAZIONE DELLA MALATTIA PARODONTALE

La classificazione del 1989 fu ampiamente accettata ma Harmitage criticò l'età d'insorgenza e il tipo di progressione in quanto inappropriate ²⁵. L'esordio precoce presuppone di saper quando la malattia è iniziata e la rapidamente progressiva implica di sapere la velocità di progressione che non sempre può essere conosciuta. Inoltre la componente gengivale era assente. nel 1999 fu introdotta la nuova classificazione in base anche alla gengivite ²⁸. La parodontite dell'adulto fu sostituita da quella cronica e quella da esordio precoce fu sostituita da quella aggressiva. La parodontite associata a malattie sistemiche fu ridefinita come parodontite da manifestazione da malattie sistemiche e la nuova categoria di parodontite necrotizzante incorporò sia la gengivite che la parodontite necrotizzanti. Categorie separate per ascessi parodontali, parodontite associata a lesioni endodontiche e da alte condizioni acquisite furono introdotte ²⁶. La parodontite refrattaria fu rimossa. Tale classificazione risulta estremamente complessa ma può essere semplificata così:

- 1) Malattia gengivale (indotta o non indotta da placca);
- 2) Parodontite cronica (localizzata o generalizzata);
- 3) Parodontite aggressiva (localizzata o generalizzata);
- 4) Parodontite da malattie sistemiche;

- 5) Malattia parodontale necrotizzante;
- 6) Ascesso parodontale;
- 7) Parodontite associata a lesioni endodontiche;
- 8) Deformità e condizioni sviluppate e acquisite.

3.1.1 GENGIVITE

Questa è un importante voce nella classificazione. Le lesioni gengivali sono classificate in due categorie principali, quelle indotte da placca e quelle non indotte da placca. La placca dentale induce lesioni (gengiviti) che possono essere puramente collegate alla placca con e senza il contributo di altri fattori locali o possono essere modificate da fattori sistemici, farmaci e malnutrizione. Si dovrebbe notare che, sebbene la definizione di gengivite sia associata a assenza di perdita di attacco parodontale, è possibile per la gengivite che si verifichi una riduzione dei livelli di attacco in maniera stabile e non progressiva (figura 1). Le lesioni gengivali non indotte da placca comprendono quelle causate da batteri specifici, funghi, o infezioni virali o genetiche, condizioni sistemiche, reazioni anticorpali, lesioni traumatiche e altri fattori non altrimenti specificati. Il lichen planus è una lesione orale spesso confusa con una gengivite indotta da placca.



Figura 1. Forma di gengivite associata a lieve perdita di attacco clinico.

3.1.2 PARODONTITE CRONICA

La parodontite cronica nel 1999 ha sostituito la parodontite dell'adulto. Infatti la parodontite dell'adulto era un termine inappropriato sebbene tale forma fosse comune negli adulti ma poteva verificarsi talvolta anche negli adolescenti e nei bambini. Il termine cronico fu scelto perché tale malattia non era dipendente o specifica per un'età e quindi meno restrittiva. Essa può essere localizzata o generalizzata a seconda dei siti coinvolti. La parodontite localizzata è descritta nel 30% dei siti affetti, mentre quella generalizzata in più del 30%. Le caratteristiche della parodontite cronica sono una maggiore prevalenza negli adulti ma talvolta anche nei bambini ed adolescenti, consistente componente distruttiva in presenza di fattori locali, frequente tartaro sottogengivale, associazione ad una flora batterica

variabile; lenta o moderata velocità di progressione che può avere anche accelerare, ulteriore classificazione sulla base dell'estensione e della gravità, associazione a fattori predisponenti locali dentali o iatrogeni, associazione a malattie sistemiche come il diabete o l'HIV, predisposizione ad essere modificata da altri fattori come malattie sistemiche, fumo e stress ²⁹.

La parodontite cronica è definita come una malattia infettiva che genera un'inflammazione che coinvolge le strutture di supporto del dente e la progressiva perdita di attacco ed osso. È caratterizzata dalla formazione di tasche e/o recessioni gengivali. È stato riconosciuto come la più frequente forma di parodontite. Essa insorge ad ogni età, ma più frequentemente nell'adulto e la prevalenza e la gravità della malattia aumentano con l'età. Questa potrebbe colpire un numero variabile di elementi con variabile velocità di progressione. La gravità della malattia è tradizionalmente caratterizzata dall'iniziale perdita di osso al terzo coronale della radice se lieve, moderata quando la perdita di osso interessa il terzo medio della radice ed avanzata quando interessa il terzo apicale della lunghezza radicolare.

L'American Academy of Periodontology ha stilato le linee guida per la gravità in base alla perdita di attacco clinico (CAL): lieve 1 - 2 mm, moderata 3 - 4 mm, severa 5 mm. I segni dell'inflammazione sono spesso variabili, a seconda del controllo della placca. Quindi la malattia può generare mobilità e migrazione dei denti, che può singola o di più settori (figura 2).



Figura 2. Esempio di malattia parodontale cronica associata a migrazioni dentali

3.1.3 PARODONTITE AGGRESSIVA

La parodontite aggressiva sostituisce la categoria “parodontite ad esordio precoce”, che secondo la classificazione 1989 - 1993 colpiva soprattutto i pazienti più giovani. Mentre generalmente i pazienti in questa categoria dovrebbero essere sotto i 30 anni, si è scoperto che anche pazienti più vecchi possono presentare periodi di rapida perdita di attacco. L’American Academy of Periodontology ha deciso di scartare tutte le classificazioni che dipendevano dall’età o dalla conoscenza della velocità di progressione della malattia. I pazienti precedentemente classificati con parodontite rapidamente progressiva furono classificati sia in parodontite aggressiva generalizzata che in parodontite cronica, a seconda delle loro caratteristiche cliniche. Il termine parodontite giovanile localizzata fu sostituita dalla parodontite aggressiva localizzata e la parodontite prepuberale fu rimossa come categoria indipendente. Nella maggior parte dei pazienti con

parodontite prepuberale generalizzata fu introdotta la parodontite da malattie sistemiche. Le caratteristiche comuni delle forme di parodontite aggressiva localizzata e generalizzata sono la presenza di buoni livelli di salute sistemica, rapida perdita di attacco e distruzione ossea e familiarità³⁰. In genere le caratteristiche secondarie sono lo scarso accumulo di batteri con severa distruzione di tessuto parodontale, elevata presenza di *A.actinomycetemcomitans* e talvolta di *P.gingivalis*, anomalie macrofagi che, iper risposta fenotipica macrofagica, includendo alti livelli di PGE2 e IL-1 β , progressiva perdita di attacco e di osso che può anche auto-arrestarsi. Ulteriori caratteristiche identificate per la forma localmente aggressiva: è l'insorgenza pre-puberale; la localizzazione a livello dei primi molari o incisivi, con perdita di attacco interprossimale ad almeno due denti permanenti, uno dei quali un primo molare e coinvolgendo più di due denti oltre i primi molari e gli incisivi e consistente risposta anticorpale serica. Per la forma generalmente aggressiva invece si osserva una maggiore prevalenza al di sotto dei 30 anni, ma anche i pazienti più vecchi sono coinvolti. Vi è scarsa risposta anticorpale serica, con episodi di evidente distruzione di attacco di osso alveolare e perdita generalizzata di attacco interprossimale ad almeno tre denti permanenti oltre i primi molari e gli incisivi.

L'American Academy of Periodontology ha osservato che altri fattori modificano il rischio, come il fumo di sigarette, lo stress, i farmaci o ormoni sessuali, che possono modificare il decorso di tutti i tipi di malattia parodontale (figura 3).



Figura 3. Quadro clinico di parodontite aggressiva associata a fumo.

3.1.4 PARODONTITE DA MALATTIE SISTEMICHE

Questa categoria è stata ridefinita per includere solo quelle patologie dove la malattia parodontale è una manifestazione del processo patologico ed esclude quegli aspetti che possono modificare localmente la malattia parodontale.

Questa include vari disordini ematologici come la neutropenia acquisita e la leucemia; vari disordini genetici come la neutropenia ciclica e familiare, la sindrome di Down, la sindrome di deficienza di adesione leucocitaria, sindrome di Papillon-Lefevre, sindrome di Chediak-Higashi, sindrome dell'istocitosi, ipofosfatasia ed altre ^{31,32}. Altre malattie come l'HIV ed il diabete potevano modificare sia la parodontite cronica che quella aggressiva, anche se non esistono

parodontiti specificamente associate a queste condizioni patologiche sistemiche ²⁷.

3.1.5 PARODONTITE NECROTIZZANTE

L'American Academy of Periodontology ha riconosciuto che la gengivite necrotizzante ulcerativa e la parodontite necrotizzante ulcerativa sono clinicamente distinguibili ma non si sa se sono parte dello stesso processo o due entità distinte. Loro hanno concluso che non ci fossero insufficienti dati per risolvere questo problema quando hanno deciso di includere le due condizioni un'unica categoria: "parodontite necrotizzante" ^{32,33}. Certamente l'osservazione clinica suggerirebbe che loro fossero una parte di un'unica patologia con un'infezione iniziale che mostri una piccola insistente perdita di attacco osseo con distruzione del tessuto molle papillare. Comunque, con ricorrenti infezioni alle quali questi pazienti sono predisposti la perdita d'attacco può diventare molto evidente. Pazienti sottostress, forti fumatori e affetti da gengivite preesistente, possono presentare malattia parodontale necrotizzante. Essi presentano tessuto gengivale dolente improvvisamente all'esordio. Possono presentare eritema gengivale marcato ed edema, perdita del tessuto papillare con ulcere tondeggianti ed evidente sanguinamento. La gengivite necrotizzante ulcerativa può essere ricorrente se i fattori predisponenti permangono e progrediscono in parodontite necrotizzante ulcerativa in alcuni casi causando un severa distruzione dei tessuti parodontali. Questa condizione è comunemente associata anche ad infezioni da HIV e a tal

proposito ci sono alcune discussioni se includere o no questa forma tra le manifestazioni dalle malattie sistemiche. Comunque è evidente che HIV agisce come fattore predisponente in quanto abbassa la resistenza dell'ospite.

3.1.6 ASCESSO PARODONTALE

Gli ascessi parodontali sono considerati come una categoria separata. Sebbene la formazione dell'ascesso parodontale sia una caratteristica clinica della parodontite cronica e aggressiva, si presenta come un'entità clinica distinta che richiede una diagnosi specifica ed un trattamento appropriato. In molti casi l'ascesso parodontale si forma dall'esacerbazione acuta di una preesistente tasca parodontale (figura 4). Esso può essere chiamato parodontite acuta. L'ascesso può verificarsi per altre cause come un trauma, un'infezione da corpo estraneo, traumi occlusali, fratture verticali o orizzontali della radice o uno strappo del cemento. Essi possono presentare un dilemma diagnostico così forse una classificazione separata è giustificata.



Figura 4. Ascessi parodontali multipli.

3.1.7 PARODONTITE ASSOCIATA A LESIONI ENDODONTICHE

L'American Academy of Periodontology ha incluso una singola categoria, le lesione combinate, laddove una lesione endodontica sfocia attraverso una preesistente tasca parodontale.

3.1.8 DEFORMITÀ E CONDIZIONI SVILUPPATE E ACQUISITE

Questa categoria è stata aggiunta per completezza. Essa include fattori localizzati relativi ai denti e alle mucose che possono modificare o predisporre alla malattia. Molte di queste condizioni non costituiscono entità patologiche in sé ma possono modificare o alterare la predisposizione alla patologia. A tal proposito i traumi occlusali

primari e secondari sono inclusi. Il trauma oclusale primario dove una lesione all'attacco parodontale è il risultato di eccessive forze oclusali è riconosciuto come una condizione. Comunque il trauma oclusale secondario, dove le forze normali causano un adesione traumatica in un parodonto con ridotto supporto è ancora fonte di discussione. Condizioni come la recessione, l'iperplasia gengivale e le deformità di cresta possono richiedere un trattamento ulteriore rispetto al trattamento della malattia parodontale. Queste sono incluse e più facili da giustificare.

3.2 DIAGNOSI DI MALATTIA PARODONTALE

Tradizionalmente, la diagnosi di presenza di malattia parodontale è effettuata sulla base di valutazioni cliniche e sintomatologiche e può essere supportata anche da evidenze radiografiche. I cambiamenti gengivali inclusi colore, contorno, consistenza e sanguinamento al sondaggio permettono la diagnosi di gengivite indotta da placca. La gengivite non indotta da placca può necessitare di altri esami investigativi come l'istopatologia, la microbiologia o la sierologia per effettuare una diagnosi. La parodontite è diagnosticata in base alla presenza di cambiamenti gengivali come quelli evidenziati per la gengivite più la presenza di una ridotta resistenza dei tessuti al sondaggio parodontale con un più profondo solco gengivale o una tasca che riflette la perdita di attacco parodontale ³³. È importante riconoscere che le tasche possono avere una dimensione verticale e orizzontale quindi il clinico al momento del loro sondaggio deve

essere prudente nel valutare il coinvolgimento della formazione. La ricerca della perdita d'attacco nella formazione richiede una conoscenza dell'anatomia dentale in particolare dei siti con formazioni aperte su denti pluriradicolari. La mobilità dentale e la migrazione devono essere accertate. È importante comunque realizzare che la mobilità non è di per sé diagnostica per la parodontite e può essere il risultato del trauma occlusale come la migrazione dei denti può essere singola o di gruppo. La mobilità e la migrazione collegate alla parodontite sono di solito sintomi tardivi della malattia e sono di maggiore importanza nella prognosi e nel trattamento. La familiarità e i fattori di rischio come il fumo lo stress le droghe o gli ormoni, che modificano il decorso di tutti i tipi di parodontite, necessitano di approfondimento e di ulteriori descrizioni in fase diagnostica. La radiologia è uno strumento diagnostico secondario e può dimostrare la presenza di perdita di osso marginale e quindi confermare la perdita di attacco. Si è concordi generalmente che un solco gengivale sano varia da 1 a 3 mm. In salute. La distanza dalla giunzione amelocementizia alla cresta alveolare ossea è anch'essa variabile da 1 a 3 mm. Bisogna comunque capire la sola perdita di attacco non significa parodontite che è una reazione infiammatoria e che uno stato di salute può esistere in presenza di una severa perdita d'attacco e recessione. Quindi un parodonto sano può esistere a livelli differenti lungo la radice come accade dopo un trattamento efficace.

Il sondaggio parodontale resta il principale strumento diagnostico ed è usato per verificare la presenza di tasche parodontali misurando dal

margine gengivale alle base del solco e la perdita di attacco misurata dalla giunzione smalto cemento alla base del solco. Le misurazioni riportate dal sondaggio comunque non sono di fatto le reali profondità della tasca o dei livelli di attacco ma sono la distanza da un punto di riferimento fisso a dove la punta della sonda entra nei tessuti. Questa misurazione dipenderà dalla pressione utilizzata nel sondaggio, dalle dimensioni della sonda, dall'angolazione del sondaggio, dalla presenza di depositi gengivali o meglio ancora la presenza assenza di tessuti infiammatori. Quindi il livello di attacco clinico e di profondità di sondaggio varia durante il trattamento e non può riflettere un reale cambiamento nel livello d'attacco ma solo cambiamenti nella profondità di penetrazione della sonda nei tessuti ³⁴. Una volta che la diagnosi di malattia è stata fatta la patologia può essere classificata. Questo processo di diagnosi mentre esso può essere valido per la diagnosi di malattia parodontale per un management nella pratica clinica quotidiana crea però problemi quando si cerca di determinare i fattori responsabili della malattia parodontale nel caso in cui si stiano intraprendendo studi clinici ³⁵. Il problema è che la nostra diagnosi è fatta accertando la distruzione da malattia e non valutando la presenza di un processo distruttivo nei tessuti parodontali secondo criteri utilizzati in medicina come markers biochimici, identificazione microbica o istopatologica. Alcuni Autori affermano che l'attività della malattia parodontale porta a perdita di tessuti di supporto e ciò implica che la storia della parodontite sia caratterizzata da periodi di distruzione attiva e relativa quiescenza, mentre i tessuti parodontali

restano infiammati ³⁶. Comunque è importante riconoscere la presenza o assenza di processi distruttivi in particolare quando si monitora il trattamento e quando si devono progettare degli studi di ricerca. I problemi che insorgono usando differenti criteri per definire la malattia parodontale sono illustrati da diversi Autori che hanno rianalizzato i dati originali sulla relazione tra parodontite e gravidanza partendo da 14 differenti definizioni di parodontite ^{36,37}. Loro hanno determinato che la definizione di malattia parodontale usata porta a diverse diagnosi.

Altri autori affermano che spesso la diagnosi di malattia parodontale non è precisa, accurata e riproducibile ²⁵. Molti ricercatori hanno determinato che esistono numerosi markers indicatori di malattie ³⁸. Oltre alle tecniche tradizionali, la presenza di infiammazione e danno ai tessuti parodontali esistono mediatori biochimici come markers procedure microbiologiche, metodi genetici ed immunologici. Un marker analizzato è la presenza di aspartato nel fluido gengivale. Tale enzima è presente in tutte le cellule morenti ³⁹. Esso è usato più spesso per verificare l'infarto del miocardio. Aumentati i livelli enzimatici nel fluido gengivale sono associati a perdita di attacco parodontale e grave gengivite ⁴⁴. Il problema è che questo test non è discriminatorio tra i due tipi di malattia ed aggiungono quindi poco alla nostra abilità diagnostica.

Risulta ancora importante la diagnosi clinica tradizionale, poiché segni di infiammazione possono essere valutati in combinazione con perdita di attacco e profondità di sondaggio. I tessuti parodontali

possono mostrare rubor, tumor, calor, dolor e functio lesa, sebbene gli ultimi due segni si presentino tardivamente. Altri strumenti diagnostici sono la profondità al sondaggio, la suppurazione e un aumentato fluido gengivale. I primi due sono utilizzati come indicatori di malattie. Il sanguinamento, pur essendo un indicatore di malattia ha poca correlazione con l'attività e con la progressione della parodontite⁴⁰⁻⁴³. Un buon test diagnostico dovrebbe avere alta sensibilità ed escludere falsi negativi e alta specificità escludendo i falsi positivi. Il sanguinamento ha bassa specificità e apparentemente alta sensibilità³⁵. L'assenza di sanguinamento è usata dai clinici come indicatore di salute parodontale⁴⁴⁻⁴⁶. La suppurazione ha un alta specificità per la progressione della malattia nelle popolazioni con alta prevalenza di parodontite⁴⁷.

Un aumento nel sondaggio parodontale è un punto di riferimento per la valutazione dell'attività della parodontite⁴⁸. Esso dovrebbe essere fatto monitorando longitudinalmente i siti. In pratica ciò è difficile in quanto risulta complesso determinare la linea smalto cemento o altri punti di riferimento fissi. Usando sonde manuali, cambiamenti di 2 - 3 mm possono verificarsi prima che noi accertiamo la progressione della malattia e non è un errore. Anche se clinicamente è inaccettabile.

Nonostante la ricerca offra nuove tecnologie per migliorare la diagnosi, le procedure cliniche tradizionali basate sulla profondità di sondaggio e sulla perdita di attacco sono alla base della diagnosi parodontale. L'assenza di infiammazione gengivale e di profondità di sondaggio ha un valore negativo per la stabilità parodontale⁴⁹. La

diagnosi della malattia coinvolge anche la classificazione. Tali sistemi sono in continua evoluzione. Van der Velden dichiarò che la riclassificazione del 1999 non era di aiuto e suggeriva una classificazione basata sull'età come appariva fino al 1989 ⁵⁰. Questa permette un' accurata diagnosi clinica per ogni tipo di parodontite. Altre ipotesi classificative furono introdotte da altre equipe ^{51,52}.

Armitage ha dichiarato che la classificazione del 1999 ha corretto alcuni dei problemi associati ai precedenti sistemi, ma il nuovo sistema è ancora imperfetto e necessita ulteriori divisioni ¹⁵. Egli ritiene che la definizione di parodontite cronica comprende infezioni polimicrobiche e poligeniche, la cui espressione clinica è alterata da importanti modificazioni microbiche e dell'ospite.

PATOLOGIE DELLE MUCOSE ORALI

Certamente la malattia parodontale è una patologia tipica ed esclusiva del cavo orale, mentre altre malattie colpiscono il cavo orale solo in una fase iniziale o nell'ambito di un quadro più complesso a livello sistemico.

Queste malattie possono brevemente descritte per sottolineare i loro aspetti peculiari ma in un ambito molto più ampio di tipo organico.

4. INFEZIONI BATTERICHE DELLE MUCOSE ORALI

Le infezioni batteriche della mucosa orale rappresentano un problema sempre più rilevante in molti paesi. I fattori che indeboliscono le resistenze immunitarie dell'ospite sicuramente causano una proliferazione microrganismi. Con l'aumento della popolazione anziana, più persone svilupperanno diverse malattie sistemiche o essendo trattate con farmaci immunosoppressivi, aumenterà il rischio di infezioni opportunistiche. Le infezioni fungine (soprattutto la candida) sono classiche infezioni opportunistiche orali favorite da danni sistemici o locali dell'ospite. Le infezioni batteriche possono anche verificarsi nella cavità orale senza alcuna diminuzione delle difese dell'ospite. La differenza tra la carica microbica e l'infezione è ancora discussa, così come lo sono le infezioni secondarie della mucosa causate da trauma meccanico o da ulcerazioni.

4.1 FLORA NORMALE RESIDENTE

La cavità orale ospita più di 700 differenti microrganismi che sono parte della flora sia residente che transitoria ^{53,54}. La flora orale si sviluppa durante l'infanzia fino a culminare alla pubertà e serve come barriera difensiva contro le specie patogene. La flora normale o quella residente vive in uno stato di equilibrio con l'ospite, ma il cavo orale è continuamente esposto all'ingresso di nuovi microrganismi. La nostra conoscenza della flora orale è basata soprattutto sulle specie predominanti identificate dalle colture. Comunque microrganismi orali sono continuamente scoperti usando le moderne tecniche di biologia molecolari ⁵⁵. Molti dei nuovi batteri scoperti, comunque, sono presenti solo in bassa quantità e non sono ancora coltivabili o coltivati.

La flora orale residente può essere divisa in flora indigena e supplementare. La flora orale indigena è caratterizzata da specie batteriche che sono state trovate in ogni essere umano adulto di tutte le popolazioni, senza considerare le condizioni ambientali. La flora indigena è differente negli umani e animali anche se pensando ad alcuni animali (scimmie e cani), questi esibiscono generi e specie batteriche che sono filogeneticamente simili ma non identici a quelli umani. La flora orale indigena umana contiene specie di streptococchi (*S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. mitis*), actinomyces (*A. naeslundii*, *A. odontolyticus*), Haemophilus (*H. parainfluenzae*, *H. aphrophilus*), Neisseria (*N. subflava*, *N. mucosa*, *N. oris*), Fusobacterium (*F. nucleatum*), e Prevotella (*P. intermedia*, *P.*

melanino genica, *P. buccae*, *P. oaralis*). La flora residente contiene anche generi e specie batteriche in relazione con l'individuo specifico e perciò designano la flora orale supplementare. I batteri della flora supplementare hanno requisiti specifici connessi all'adesione, alla nutrizione e al livello di pH, i quali possono essere favorevoli in alcuni individui ma non in altri. Un esempio è lo *Streptococcus mutans*, il quale è favorito dal deposito di zuccheri che facilitano l'adesione delle cellule batteriche alla superficie del dente e contribuiscono a creare un ambiente acido. Le specie di *Lactobacillus* proliferano soprattutto negli individui con ridotto flusso salivare e/o con pH salivare basso. Numerose specie (*P.gingivalis*, *T.forsythia* e *Treponema*) sono membri della flora delle tasca parodontali infiammate, ma non della flora dei siti parodontale in salute.

La flora orale transitoria contiene microorganismi che non sono sempre isolati e non colonizzano permanentemente la cavità orale. Comunque tutti i batteri orali possono al primo contatto con l'ospite, essere considerati come organismi transitori ⁵⁵. Alcuni batteri si presentano nell'ospite alla nascita o durante la prima infanzia attraverso meccanismi specifici di adesione e crescita ambientale favorevole, e quindi si sviluppano costituendo la flora batterica permanente ¹⁵⁹. In molti individui, i batteri transitori nel cavo orale si presentano sporadicamente e in basse quantità. Gli organismi entrano in bocca più o meno accidentalmente attraverso il cibo, le bevande, i baci, i contatti con animali ecc. Un numero maggiore di patogeni è presente spesso nella flora transitoria e quindi colonizza l'ospite senza

danneggiarlo. Questi organismi potenzialmente patogeni esistono in uno stato transitorio e includono alcuni opportunisti, come *S. aureus*, Streptococchi del gruppo A, pneumococchi, enterococco, bacili aerobi gram-negativi, pseudomonads e *H. influenzae*. Se l'ospite viene danneggiato, sistematicamente o localmente, i batteri opportunisti possono provocare un'infezione orale.

I batteri orali opportunisti potrebbero anche causare infezioni del tratto respiratorio, disseminandosi a partire dalla placca dentale, dalla placca sulle protesi, dalla mucosa orale e dalle infezioni mucose fino alle vie respiratorie ^{164,179,202,207}.

la flora della mucosa orale è regolata dall'adesione dei meccanismi batterici e dal processo di desquamazione delle cellule epiteliali. Lo spessore dello strato di epitelio nella mucosa orale è differente in ogni zona. L'epitelio può anche essere cheratinizzato ed avere un'origine ectodermica (epitelio orale generale) o mesodermica (solco gengivale). Se differenti tipi di cellule epiteliali orali presentano differenti recettori per l'adesione batterica sono stati effettuati pochi studi. L'epitelio della gengiva, del palato e del dorso della lingua è cheratinizzato e può diventare ipercheratinizzato. Questo può costituire un ambiente in grado di ospitare microrganismi opportunisti come i funghi. Altri siti orali hanno una lieve non cheratinizzazione come la mucosa buccale e vestibolare con uno strato superficiale con cellule morte o in apoptosi ¹⁶¹. La superficie cellulare può essere invasa da batteri. L'epitelio della tasca parodontale e l'epitelio del pavimento della bocca e del ventre linguale sono non cheratinizzati e

sottili. Il sottile strato epiteliale che nella tasca può includere solo 4 o 5 cellule, è penetrabile da cellule dell'organismo (neutrofili), fluido tissutale, farmaci, prodotti microbici e metaboliti, e forse da intere cellule batteriche (traslocazione).

Se ci sia un'occasionale o costante traslocazione batterica sopra ogni membrana epiteliale della bocca è solo un'ipotesi. Comunque, la traslocazione batterica può avvenire in presenza di farmaci citotossici o di cancro orale ^{169,229}. Se le linee epiteliali diventano atrofiche dopo un trauma, farmaci, ustioni, reazioni allergiche o infezioni virali, la traslocazione batterica avviene più facilmente. Nella mucosite ulcerativa, la batteremia e la sepsi sono eventi potenzialmente letali ¹⁸².

La mucosa buccale ha ricevuto grande attenzione in molti studi perché è spesso sito di infezioni localizzate. L'epitelio buccale non è cheratinizzato; comunque, le lesioni ipercheratinizzate (leucoplachie, lichen, morsicatio e altre lesioni traumatiche) avvengono spesso sulle guance. La linea epiteliale buccale è anch'essa sottile (circa 20 cellule), più della linea del pavimento, che coinvolge anche cellule cheratinizzate, a volte picnotiche, che si desquamano facilmente. Alcuni Autori hanno osservato che le cellule epiteliali buccali vive sono deposito di batteri orali, soprattutto streptococchi, ma l'epitelio buccale in individui parodontopatici può anche contenere specie associate alla parodontite come *P.gingivalis*, *T.forthytia* e *A.actinomycetemcomitans* ¹⁶². Non è ancora chiaro se questi batteri attraversano passivamente le cellule epiteliali o se le invadono

attivamente. Anche se molte cellule mucose si desquamano prima che i batteri entrino negli strati più profondi, di conseguenza alcune cellule epiteliali costituiscono una significativa difesa per i batteri orali, fornendo protezione dall'invasione. Cellule epiteliali contenenti batteri possono impedire l'eliminazione dei patogeni dal cavo orale.

Il dorso della lingua è il sito orale dove vi è maggiore moltiplicazione batterica e la maggior fonte di batteri trovati nella saliva. Quindi, la flora salivare rispecchia quella della lingua. La flora linguale mostra complessità tanto quanto quella della placca dentale ¹²⁴. La conoscenza sulla microbiologia del dorso linguale è importante poiché la lingua è il sito orale che più di frequente mostra infezioni mucose (glossiti) o infezioni con sintomi di bruciore (stomatite). Il dorso della lingua è coperto da papille e recettori gustativi, che rendono possibile per i microrganismi una protezione dalle forze meccaniche e quindi la flora linguale non è regolata come la mucosa buccale da parte dell'interazione tra ligandi batterici e recettori epiteliali. La topografia della lingua permette lo sviluppo e la crescita di masse di batteri non aderenti, incluso un numero di specie anaerobiche e patogeni opportunisti. Lo sviluppo attorno alle papille linguali è soprattutto anaerobico, di più rispetto alla superficie liscia di altre mucose e ciò può essere la ragione principale dell'alitosi che spesso origina dalla lingua ^{80,157}. La desquamazione delle cellule epiteliali è estensiva alla punta delle papille come risultato di una degradazione meccanica da masticazione, che aiuta a diminuire la carica batterica. Purtroppo il dorso della lingua può essere fissurato e contenere lunghe papille,

facilitando l'accumulo di batteri. Alterazione dell'equilibrio batterico sul dorso linguale può portare ad uno sviluppo di microrganismi opportunisti, infezioni ed altre patologie.

4.2 COLONIZZAZIONE MICROBICA DEL CAVO

ORALE

È importante distinguere tra colonizzazione (stato iniziale) ed infezione. I microrganismi transitori di solito non colonizzano il cavo orale e sono spesso eliminati rapidamente. Per una colonizzazione i microrganismi necessitano di aderire alle cellule dell'ospite o ad altri microrganismi o cercano meccanicamente senza cioè un recettore di interazione di aderire al dorso della lingua o attorno ai denti. Se i microrganismi non danneggiano l'ospite, diventano parte della comunità microbica regolata da situazioni di omeostasi ⁵⁵. I meccanismi di adesione batterica sono fondamentali nella fase iniziale di un'infezione. La flora orale residente ha una bassa virulenza e vive in armonia con l'ospite finché la carica microbica non è troppo alta a causa di una scarsa igiene o i microrganismi non invadono i tessuti orali come per esempio per le carie ed infezioni endodontiche, parodontali e perimplantari. I batteri transitori apparentemente hanno scarsa capacità di adesione o non riescono a competere con successo con gli altri batteri residenti. Comunque l'indebolimento dell'omeostasi microbica permette ad alcuni patogeni di competere, stabilirsi, crescere e infine infettare. L'infezione clinica è caratterizzata da un aumento dei patogeni ed infiammazione. Microrganismi opportunisti possono prevalere in seguito ad una competizione efficace con organismi residenti o riempire spazi vuoti appartenenti alla normale flora indebolita ¹⁵⁶. Alcuni farmaci citotossici usati nella terapia del cancro presentano forte attività

antibatterica, causando una diminuzione tra i batteri suscettibili nella flora residente ed aumentare il rischio di crescita eccessiva tra i patogeni opportunisti meno suscettibili. Farmaci chemioterapici possono anche alterare l'interazione tra batteri patogeni e cellule epiteliali causando un'aumentata adesione degli opportunisti ¹⁷⁶. Inoltre il trattamento farmacologico può ridurre la secrezione salivare ed il pH, aumentando il rischio di infezioni orali da batteri opportunisti ^{61,180}. Gli antibiotici possono aumentare l'adesione degli pseudomonas nei pazienti con fibrosi cistica, mentre l'HIV non sembra alterare il potenziale microbico di adesione ^{66,91}.

4.3 ASPETTI PATOLOGICI COMUNI DELLE LESIONI BATTERICHE

Le infezioni della mucosa orale appaiono clinicamente come localizzate o generalizzate. Un problema diagnostico è che le infezioni delle mucose orali possono essere subcliniche o croniche e non accompagnarsi a un'evidente sintomatologia. I sintomi possono variare da una non percezione a fastidio (alterazione del gusto e sensazione di bruciore) fino a un dolore acuto. I pazienti spesso non percepiscono le infezioni mucose, nonostante siano abbastanza apparenti, non è sempre possibile distinguere tra infezioni mucose o sostenute da funghi, virus e batteri o da combinazione di agenti microbici.

Il sintomo più comune di fastidio è il bruciore seguito da infiammazione osservabile da epitelio eritematoso e atrofico (figura 5).

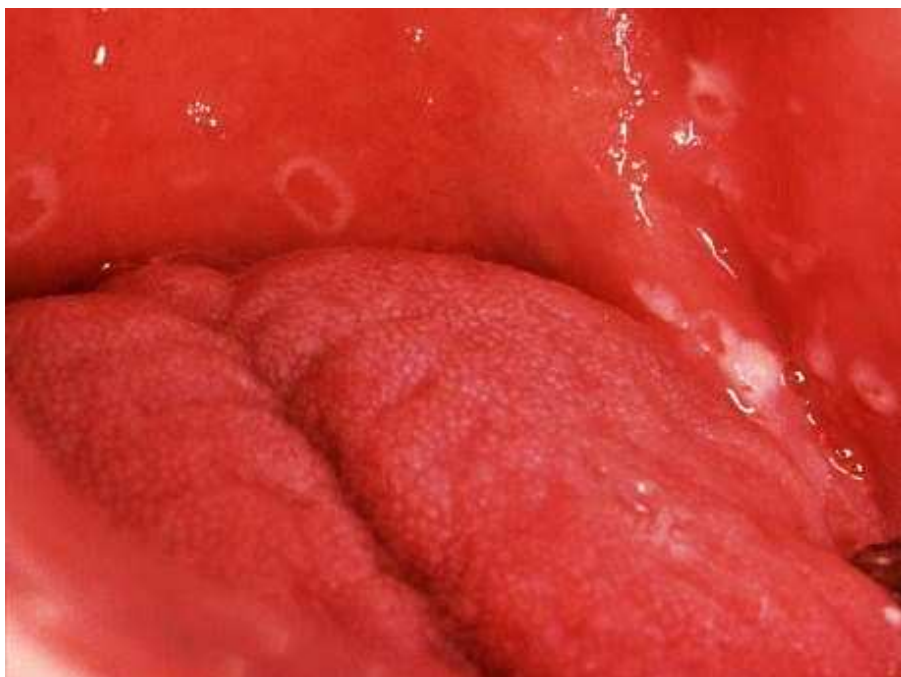


Figura 5. Infezione stafilococcica della mucosa geniena e del palato molle.

Comunque una sensazione di bruciore può essere soggettiva e non sempre collegata ad infezione. Altre cause possono essere reazioni allergiche, galvanismo, o sindrome della bocca urente. Alcuni Autori hanno definito la BMS come un dolore cronico che colpisce principalmente donne adulte- anziane con cambiamenti ormonali o disordini psicologici ¹⁷⁶. La BMS è probabilmente multifattoriale e presenta prognosi negativa in termini di qualità di vita soprattutto quando coinvolge fattori psicologici. L'eziopatogenesi della BMS è ancora sconosciuta e la mancanza di sintomi clinici la rende soggetta a diagnosi e trattamenti sbagliati. La presenza di una disfunzione alle ghiandole salivari o di disordini sistemici come il diabete rende i pazienti con BMS più soggetti allo sviluppo di infezioni mucose

sovrapposte. Stranamente scarsa attenzione è stata data alla componente microbica nella BMS. Numerosi microrganismi come Candida, Ecterobacter e Klebsiella popolano le mucose orali dei pazienti con BMS rispetto ai soggetti sani ¹⁷³. Purtroppo infezioni reali possono essere mal diagnosticate come BMS se tali infezioni sono difficilmente osservabili clinicamente.

4.4 FATTORI SISTEMICI POTENZIALMENTE COINVOLTI

4.4.1 MALATTIE SISTEMICHE

I pazienti con diabete, artrite reumatoide, morbo di Crohn, asma e malattia ostruttiva polmonare cronica, spesso soffrono anche di malattie orali. Pazienti con diabete mellito possono mostrare lesioni mucose orali, sensazione di bruciore, atrofia epiteliale, glossite e/o xerostomia ^{92,143,144,156,207}. nei pazienti diabetici le infezioni funginee e virali della mucosa orale sono frequenti ma poco si conosce delle possibili infezioni batteriche. Nei pazienti con malattia reumatica, le lesioni mucose orali sono di solito il risultato di farmaci immunosoppressori e ridotto flusso salivare. Le lesioni orali associate a malattia reumatica sono supportate da stafilococchi ^{65,102,103}. Poco si conosce delle infezioni mucose orali nei pazienti con morbo di Crohn ⁹⁴. I pazienti con malattie respiratorie dimostrano un' aumentata percentuale di patogeni orali opportunisti come *S. aureus*, *Enterococco* e bacilli aerobi gram-negativi ^{164,175,200,208}. Se questi pazienti di fatto abbiamo un' aumentata probabilità di infezioni cliniche resta ancora da chiarire.

4.4.2 ETA'

Le infezioni mucose sono certamente collegate all'età come risultato di una diminuita condizione di salute generale e come un' aumentata necessità di terapie farmacologiche. Le persone anziane subiscono un

decadimento fisico e mentale per cui diventano predisposti a deterioramento della salute orale ed aumentato rischio di infezioni locali e sistemiche ¹⁵¹. La relazione nelle persone anziane ricoverate tra la carica microbica orale e le infezioni respiratorie causate da vari patogeni ha ricevuto numerosi attenzioni. Sebbene denti e protesi siano il serbatoio maggiore per batteri che poi causano malattie respiratorie, la mucosa orale può anche contenere patogeni respiratori, soprattutto in pazienti con diminuito flusso salivare e basso pH orale ¹⁵². I pazienti anziani possono anche soffrire di alterata nutrizione e ciò predispone all'aumentata colonizzazione da parte di patogeni ²⁰⁴. Numerosi studi in individui anziani allettati riportano un alta prevalenza di lesioni mucose orali come la stomatite da protesi, la cheilite angolare e la glossite ^{104,107,108,139,149,169,211}. I pazienti ospedalizzati mostrano un più alta percentuale di bacilli aerobi gram-negativi rispetto a volontari sani e studenti, mentre persone anziane sane ospitano bassi livelli di microrganismi opportunisti ^{85,133,143}.

4.4.3 IMMUNOCOMPROMISSIONE

I pazienti con leucemia acuta e altre patologie maligne sono ad alto rischio di sviluppo di lesioni mucose orali a seguito con trattamenti chemioterapici e sviluppo di granulocitopenia ^{89,106,219}. Inoltre i pazienti trapiantati d'organo e i pazienti con artrite reumatoide, possono ricevere alte dosi di farmaci citotossici e presentare infezioni orali. I farmaci citotossici possono indurre grandi cambiamenti nella

flora batterica orale e possono aumentarla suscettibilità ad infezioni cliniche da patogeni opportunisti come enterococco e bacilli gram-negativi aerobi ^{83,93,105,126,131,138,156,218}. Studi longitudinali mostrano che l'aumento di patogeni orali opportunisti segue la somministrazione di farmaci e non la patologia in sé ¹⁵⁶. L'osservazione delle infezioni mucose sembra essere collegata ad una diminuita difesa dell'ospite e la granulocitopenia suggerisce che cambiamenti microbici possono prima essere invertiti dopo aver completato i cicli chemioterapici. I pazienti possono guarire rapidamente dalle infezioni orali se la chemioterapia è di breve durata. Inoltre le complicanze infettive possono essere gestite con successo nei giovani e degli anziani grazie ad appropriate terapie antimicrobiche. Comunque un ampio uso di fluorochinoloni nei pazienti neutropenici può portare a resistenza tra i bacilli aerobi gram-negativi come E. coli ed un aumentato rischio di enterocolite da C. difficile ¹²⁹. Misure di igiene appropriate dovrebbero essere introdotte per ritardare o prevenire infezioni mucose orali ^{102,197,209,227}. Le infezioni da HIV e da AIDS sono condizioni di grave immunocompromissione associate a rare infezioni orali ^{147,155}. Pazienti con AIDS presentano frequentemente mucositi ed altre infezioni ^{120,140,147}. Molte infezioni collegate all'AIDS sono dovute a funghi anche se sono presenti alti livelli di S. aureus, Enterococco e bacilli aerobi gram .negativi ^{121,181,213}.

4.4.4 TERAPIA ANTIBIOTICA

Come per i farmaci chemioterapici antineoplastici, farmaci antibatterici hanno il potenziale di modificare l'omeostasi microbica orale e di indurre sovra infezioni. Infezioni mucose fungine sono i classici esempi anche se sovra infezioni batteriche sono state riportate. Alcuni Autori hanno osservato un aumentata prevalenza di E.coli, Entorobacter e S. aureus dopo trattamento parodontale con penicillina o eritromicina e molti pazienti hanno sviluppato ascessi parodontali. Soggetti affetti da ipogammaglobulinemia o deficienza anticorpale selettiva spesso ricevono numerosi trattamenti antibiotici per infezioni respiratorie, ma non esistono dati su possibili infezioni orali tra questi pazienti ¹⁴⁴.

4.5 FATTORI LOCALI POTENZIALMENTE COINVOLTI

La stomatite da protesi era in precedenza un problema serio in odontoiatria ma la prevalenza è in diminuzione grazie alle migliori condizioni di salute orale delle persone anziane e alla conservazione della propria dentatura e all'utilizzo di impianti. La stomatite da protesi era notoriamente associata ad infezione fungine, soprattutto candida albicans ¹⁶⁸. Queste stomatiti sono anche collegate ad infezioni batteriche ma pochi studi sono stati effettuati. Bacilli aerobi gram-negativi sono stati prelevati dalla saliva di portatori di protesi e lo *S. aureus* può risiedere nelle protesi ^{59,127}.

Gli impianti dentali come ogni altro presidio implantare, presenta una superficie ruvida sulla quale può formarsi un biofilm batterico. Gli impianti dentali erano ritenuti per molti anni un sostituto ideale di elementi persi o distrutti con alte percentuali di successo. Comunque si è recentemente osservato che gli impianti possono presentare perdita ossea a seguito di infezione (perimplantite) ⁹². Gli impianti falliti sono stati associati ad alti livelli di patogeni orali, specialmente bacilli gram- negativi aerobi ¹¹⁵. Altri dispositivi medici come la nutrizione o la ventilazione meccanica presentano predisposizione alla colonizzazione microbica sulla loro superficie. Alcuni Autori hanno riportato un aumentata prevalenza di bacilli aerobi gram negativi nel cavo orale dei pazienti intubati meccanicamente per nutrizione ²⁰⁵. Parallelamente è stata osservata una diminuzione degli streptococchi salivari alfa emolitici. Un cambiamento simile nella flora orale fu

osservato in diversi studi che hanno analizzato dei pazienti sottoposti a ventilazione meccanica usando tecniche di PCR ^{63,68}.

Piercings alla lingua e al labbro con metalli preziosi possono creare condizioni di opportunità per la flora residente nel causare lesioni locali o sistemiche ¹²⁵. Endocardite causata da *H. aphrophilus* e *N. mucosa* è frequente nei soggetti con piercing linguale ^{54,55,212}.

Le infezioni orali sono localizzate sul dorso della lingua, la mucosa buccale, il palato e la gengiva. In generale i sintomi sono pronunciati maggiormente per infezioni alla lingua rispetto ad infezioni in altri siti orali e la glossite si può verificare più facilmente. Infezioni locali o secondarie possono svilupparsi dopo ferite da morsicamento, ustioni, procedure chirurgiche, piercing, ulcere virali (gengivostomatite erpetica), stomatite aftosa ricorrente, farmaci, reflusso gastroesofageo, vomito cronico e droghe ^{150,173}. La mucosite ulcerativa può causare batteremia streptococcica in pazienti immuni compromessi ¹⁶³.

La mucosite presenta una mucosa infiammata con eritema, atrofia e frequenti ulcerazioni. La mucosite è la più comune complicanza della terapia oncologica non chirurgica (radiazioni e chemioterapia). La mucosite può non dare alcuna infezione primaria ma le aree di epitelio danneggiato sono suscettibili ad infezioni batteriche secondarie. Il rischio di batteremia e sepsi è significativo nei pazienti con mucosite ¹⁹⁹.

È facile osservare che i pazienti con xerostomia vi è una diminuzione della clearance dei microrganismi orali e una diminuzione del pH orale con seria compromissione della salute orale. Una clearance orale

ridotta può anche generare una colonizzazione orofaringea di candida e altri microrganismi patogeni ¹⁴⁸. Sensazioni di bruciore sono comuni nei soggetti xerostomici ¹⁴⁵.

Studi microbiologici di pazienti xerostomici hanno riportato un aumento dei lactobacilli così come dei patogeni opportunisti ^{56-58,122,123,203}. Alcuni Autori hanno osservato che pazienti con cancro terminale e xerostomia presentano candida nel 67% dei casi, S. aureus, nel 26% e coliformi nel 19%, mentre altri hanno rilevato una forte crescita di Enterococco in quasi tutti i pazienti con xerostomia dovuta a terapia radiante ^{66,203}.

4.6 DIAGNOSI MICROBIOLOGICA

Studi sulla flora globale orale hanno utilizzato campioni da risciacqui o da saliva. Gli sciacqui orali sembrano essere altamente correlati ¹⁷³, ma possono non essere ottimali per localizzare lesioni mucose orali. Un campione prelevato mediante scraping è preferibile rispetto ad un tampone. Dopo aver sciacquato la lesione mucosa con soluzione fisiologica, si preleva parte della lesione con uno strumento tagliente. Un campione abbastanza profondo dovrebbe esser ottenuto da lesioni linguali dove gli organismi tendono ad essere più invasivi e da sospette aree di candidosi in modo da evidenziare la presenza di ife fungine.

La maggior parte degli studi sulle infezioni della mucosa orale si avvalgono di colture microbiologiche. Una coltura selettiva è adatta per la maggior parte dei patogeni opportunisti. Le tecniche di biologia molecolare come la PCR e l'ibridazione dna-dna offrono pochi vantaggi nelle infezioni mucose che contengono opportunisti patogeni facilmente coltivati.

I dati della diagnosi microbiologica di laboratorio suggeriscono che le infezioni mucose batteriche orali sono più prevalenti rispetto a quelle fungine. Il motivo può essere un aumentato numero di pazienti immunocompromessi o debilitati per varie ragioni e quindi suscettibili ad infezioni batteriche. Molte infezioni mucose orali contengono numerosi patogeni opportunisti come coliformi, pseudomonas, candida ed enterococco. I pazienti con infezioni mucose rivelano una diminuzione dei livelli dei normali batteri mucosi, come streptococchi,

neisseria e di hemophilus. Senza dubbio le infezioni mucose orali causate da batteri sono seriamente sottovalutate nella pratica dentistica quotidiana e la diagnosi microbiologica delle infezioni mucose dovrebbe essere usata di più dai dentisti ¹⁵³. La maggior parte dei microrganismi per la diagnosi microbiologica delle lesioni mucose orali sono attualmente dirette alle infezioni fungine. È probabile che numerosi dentisti siano in grado di differenziare le infezioni fungine da altri tipi di lesioni. Comunque alcune infezioni fungine e varianti atrofiche possono essere facilmente confuse. Un importante motivo per la diagnosi microbiologica e i test antibiotici è che i patogeni orali nelle lesioni mucose sono notevolmente resistenti a un ampio range di antibiotici. Un trattamento efficace può dipendere dalla scelta di un antibiotico appropriato.

4.7 PRINCIPALI QUADRI PATOLOGICI BATTERICI DELLE MUCOSE ORALI

4.7.1 STAPHILOCOCCUS AUREUS

Lo *S. aureus* non è considerato come parte della normale flora della mucosa orale, sebbene la sua presenza e il suo ruolo siano ancora dibattuti. *S.aureus* può presentarsi transitoriamente nel cavo orale e la sua percentuale sembra aumentare con l'età ^{193,194}. Lo *S.aureus* è frequentemente rilevato in infezioni della cute facciale e delle labbra. Le narici sono la principale difesa per *S.aureus* ed è comprensibile che l'organismo può essere presente nella saliva e nella mucosa orale ^{88,109,142}. La percentuale transitoria di *S. aureus* non è stata stabilita in studi quantitativi o longitudinali. Negli studenti *S. aureus* è stato osservato nel 30% dei campioni di saliva in basse quantità (<10.000 colonie/ml). L'organismo è stato anche isolato nella placca dentale del 20 - 30% dei soggetti in studio, ma di solito comprende meno dell'1% della flora presente ^{142,152,210}. La percentuale di prevalenza è più alta in presenza di protesi e specialmente in caso di stomatite, dove *S.aureus* può mostrare ampia crescita (più di 10000 colonie per campione) ⁷⁹. Inoltre alcuni individui sani possono presentare grandi quantità di *S.aureus* (più di 100.000 colonie / ml) di solito lo stesso striscio durante un periodo di tempo esteso. Questi soggetti dovrebbero essere monitorati poiché portatori sani e che possono presentare infezioni cutanee (narici, volto, dita, labbra, angolo della bocca). Se gli odontoiatri o i medici sono infetti questi possono trasmettere ai

pazienti. Lo *S. aureus* resistente alla meticillina è stato osservato sulle protesi ²⁰⁷.

Lo *S. aureus* è considerato un patogeno importante quando le lesioni mucose sono sintomatiche e con alto numero di microrganismi. Campioni standardizzati di infezioni mucose sono difficili da ottenere, i livelli di *S. aureus* sono di solito una percentuale ridotta nella normale flora ⁵⁹. Il trattamento delle infezioni da *S. aureus* prevede l'utilizzo di penicilline resistenti alla penicillinasi, come la cloxacillina, la dicloxacillina o flucloxacillina; comunque gli antibiotici dovrebbero essere usati con cautela per il rischio di sviluppare ulteriore resistenza.

4.7.2 STREPTOCOCCI BETA EMOLITICI (*S. PYOGENES*, STREPTOCOCCI GRUPPO A)

Lo *S. pyogenes* può causare talvolta infezioni orali. Normalmente, l'organismo non colonizza il cavo orale degli adulti. Comunque i bambini e specialmente i bambini in età scolare, possono essere portatori sani di *S. pyogenes* nel faringe e nel cavo orale.

Lo *S. pyogenes* è direttamente associato a faringo-tonsillite. Durante la fase acuta della malattia lo *S. piogene* può essere osservato nella saliva degli adulti o altrimenti nel cavo orale ¹⁹⁹.

4.7.3 ENTEROCOCCI

La presenza di enterococchi nel cavo orale e la correlazione con infezioni mucose non è stata sufficientemente analizzata. Precedentemente, gli enterococco appartenevano al genere degli streptococchi e furono classificati nel gruppo D di Lancielfield basato sulle caratteristiche biochimiche. Gli enterococco possono crescere in un ampio spettro di temperature, idrolizzare al bile, sopravvivere per lunghi periodi di tempo fuori dal corpo e mostrare bassa suscettibilità ad antisettici e alta resistenza a numerosi antibiotici. Le linee in grado di degradare la gelatina furono designate come *S. faecalis* variante *liquefacens*. Quelle capaci di emolisi furono chiamate *S. zimogenesi*. *S. faecalis* detto anche *E. faecalis* è noto in particolare per le infezioni endodontiche ⁸⁶. L'organismo predomina nei denti trattati endodonticamente con lesioni periapicali, forse come il risultato della sua capacità di resistenza alle procedure di disinfezione endodontiche ^{135,187}. Le specie *E. faecium* si presentano solo raramente nelle lesioni periapicali ⁷⁶. La più plausibile origine di enterococchi endodontici è la placca dentale. Comunque poco si conosce sulla prevalenza degli enterococchi nella flora orale transitoria o residente. Negli adulti sani, gli enterococchi possono a volte essere trovati nelle mucose orali e nella saliva e sono di solito appartenenti alla flora orale transitoria. Alcuni Autori hanno studiato la presenza contemporanea di enterococco, lactobacilli nella saliva e hanno osservato la presenza di enterococco nel 21% dei soggetti adulti con più di 21 anni ¹⁷². Altri hanno riportato una prevalenza del 60-75%, mentre altri hanno

trovato enterococchi salivari nel 20% degli studenti sani e nel 62% dei soggetti anziani fumatori e con scarsa igiene orale ^{95,214}. Gli enterococco sono stati associati a gengivite e a parodontite e sono frequentemente osservabili in bassa quantità nella placca sottogengivale attraverso colture o PCR ^{75,77,190,197}. La trasmissione degli enterococchi dal tratto intestinale può essere ipotizzata grazie all'ingestione di cibi contaminati con feci o attraverso eventi di reflusso gastrico o vomito. D'altra parte il cavo orale agisce come difesa per gli enterococchi da una potenziale colonizzazione del tratto intestinale. Non esistono studi sulla trasmissione orale-orale da una persona all'altra anche se tale sistema è possibile per altri batteri ¹¹⁸.

Gli enterococco sono normalmente transitori ma possono colonizzare il cavo orale e causare infezioni opportunistiche nei pazienti compromessi ^{55,70}. Una condizione che promuove la colonizzazione orale degli enterococco è il ridotto flusso salivare (xerostomia). Un'aumentata frequenza di enterococchi orali può essere osservata in pazienti con sindrome di Sjögren primaria, radiazioni e farmaci ⁵⁶⁻⁵⁸. Esiste anche una correlazione tra candida ed enterococco in quanto la candida modifica la flora orale e facilita la colonizzazione degli enterococco e di altri opportunisti. Gli enterococco sono anche classificati come opportunisti patogeni nei pazienti ospedalizzati ²¹⁰.

Il trattamento antibiotico può creare infezioni opportunistiche da enterococchi o da altri potenziali patogeni. Quantità di enterococco nella saliva sono aumentate nella saliva dopo trattamento con clindamicina, ma non con beta-lattamici che possono essere efficaci

contro gli enterococchi. Comunque l'amoxicillina può avere conseguenze negative sulla flora batterica permettendo a E.coli resistenti di stabilirsi al posto degli enterococco ¹⁴¹. Enterococchi resistenti alla vancomicina sono rari nel cavo orale ⁷⁶. La vancomicina dovrebbe essere riservata al trattamento della maggior parte di infezioni batteriche gram-positivo poiché alto è il rischio di sviluppare resistenze da parte di E. faecalis e E. faecium ²²³. Il rischio è un potenziale trasferimento della resistenza alla vancomicina allo S.aureus e ad altri batteri gram-positivi estremamente virulenti. In generale poche opzioni terapeutiche esistono per il trattamento di lesioni mucose orali da opportunisti, in particolare enterococco. Le infezioni da enterococchi avvengono più frequentemente in pazienti immunocompromessi da radiazioni ed antibiotici ed antisettici non sono realmente e pienamente efficaci su questi pazienti.

4.7.4 ENTEROBACILLI GRAM-NEGATIVI E PSEUDOMONAS

Il gruppo dei bacilli aerobi gram-negativi include numerosi gruppi e specie batteriche. Il più ampio gruppo è quello dei coliformi, che si sviluppa su agar MacConkey ed è positivo al lattosio. Questi organismi sono anche comunemente chiamati enterici o bastoncelli enterici. La famiglia batterica ha il nome di Enterobacteriacee e contiene E. Coli, Enterobacter, Klebsiella e Proteus. Gli enterobacilli sono spesso spesso raggruppati insieme a Pseudomonas lattasi-

negativa e considerati in letteratura come bacilli aerobi gram-negativi. Tali bacilli sono quelli maggiormente coinvolti nelle infezioni mucose orali. Bacilli aerobi gram-negativi meno frequenti sono *Alcaligenes*, *Citrobacter*, *Flavobacterium* e *Serratia*. Questi bacilli sono tipicamente opportunisti e multi resistenti e sono considerati appartenenti alla flora microbica transitoria.

I bacilli aerobi gram-negativi sono parte della normale flora microbica intestinale e partecipano frequentemente ad infezioni nosocomiali, soprattutto del cavo orale. La trasmissione è dovuta a scarsa igiene personale o a contagio da parte del personale operante o eventi particolari ¹³⁴. Tali organismi possono essere ingeriti attraverso cibo ed acqua, come la *Pseudomonas*, nei paesi in via di sviluppo. Al contrario degli stafilococchi e degli enterococco, i bacilli aerobi gram-negativi sono sensibili all'ambiente asciutto e sono presenti solo dove vi è acqua.

La flora normale contiene solo raramente ed in basse quantità batteri coliformi. La frequenza aumenta con età, scarsa igiene orale, fumo, onicofagia, contatto con animali (cani, gatti, uccelli, scimmie ed altri animali in gabbia) e abitudini come sesso orale. Il ricovero ospedaliero, soprattutto dovuto a problemi respiratori, aumenta le probabilità di colonizzazione con bacilli aerobi gram-negativi, che diminuiscono al termine del ricovero ^{108, 202}. Gli individui con scarsa igiene generale o che non possono accedere a fonti di acqua potabile presentano alte percentuali di cippi di batteri enterici gram-negativi e *pseudomonas* nel cavo orale ^{55,78,189}.

Bacilli aerobi gram-negativi sono associati ad infezioni odontogene, comprese parodontiti e perimplantiti e a lesioni periapicali nei canali endodonticamente già trattati ^{74,115,191,192}. Il ruolo degli organismi coliformi nella parodontite/perimplantite è controverso e può essere collegato a gengivite/mucosite più che a parodontite o perimplantite in stato avanzato. Le infezioni mucose devono essere collegate al numero di bacilli aerobi gram negativi in modo da distinguere tra causalità e passaggio transitorio. I bacilli aerobi gram negativi sono i più comuni batteri opportunisti nelle infezioni mucose dei pazienti immunocompromessi. Gli organismi sono di solito presenti in crescita elevata o elevatissima, mentre la flora streptococcica è in ulteriore crescita o assente. Le lesioni mucose orali dei pazienti immunocompromessi spesso mostrano una combinazione di coliformi, psudomonas e candida che complica l'utilizzo di appropriati antibiotici. I chinoloni di solito mostrano una buona attività contro tali bacilli in laboratorio. Se la situazione di immunocompromissione l'assiste i coliformi possono diventare prevalenti nella microflora orale.

4.7.5 HAEMOPHILUS

Gli Hemophilus sono abbondanti sulle superfici mucose e nella placca dentale. *H. parainfluenzae*, *H. aphrophilus* e *H. segnis* sono membri regolari della flora orale residente e costituiscono una parte significativa, loro sono considerati non patogeni ma possono partecipare come opportunisti secondari a lesioni traumatiche o ulcere.

H. influenzae è considerato un patogeno del tratto respiratorio responsabile di condizioni incluse otite sinusite e faringite. Nel cavo orale *H. influenzae* può trovarsi in combinazione con *S. aureus* ed altri patogeni anche se il ruolo non è chiaro²⁰⁶.

4.7.6 NEISSERIA

Le *Neisseria* sono parte della flora orale residente. Esse si presentano soprattutto sulla superficie mucosa e possono essere osservate nella placca dentale ma sono raramente predominanti²⁰⁶. Alcuni pazienti possono presentare un'aumentata percentuale di *Neisseria*, ed un caso di endocardite da *N. mucosa* è stato osservato²¹². *N. gonorrhoeae* può causare infezioni nell'orofaringe²²⁰.

4.7.7 ALTRI BATTERI GRAM NEGATIVI AEROBI E FACOLTATIVI

Il gruppo di corti bacilli gram-negativi include specie di *Kingella*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Pasturella*, *Bartonella* e *Brucella*. Loro sono probabilmente spesso in minoranza e solo raramente sono in associazione con infezioni mucose orali, in particolare dovute a *Kingella kingae*^{59,219}. Esistono casi di papillomatosi pseudo membranosa angiomatosa causata da *Bartonella henslae*²²¹.

4.7.8 MYCOPLASMA

Il *Mycoplasma* risiede nella mucose orali e nella placca dentale. I micoplasmici sono spesso in minoranza e non sono osservabili se non

attraverso colture di isolamento. Alcuni Autori hanno isolato micoplasmi da 54 campioni salivari e 57 di placca su un totale di 60 campioni e hanno suggerito una relazione tra questi organismi e la gengivite ¹⁰⁰, mentre altri hanno proposto che il *M. salivarium* giocasse un ruolo fondamentale nella gengivite anche se l'importanza dei micoplasmi nelle infezioni orali è ancora sconosciuto ²²²⁻²²⁹.

4.7.9 CHLAMYDIA

La Chlamydia nel cavo orale ha destato interesse per la sua capacità di trasmissione all'apparato respiratorio o ad altri individui attraverso rapporti orali-oralì o oro-genitali. Alcuni Autori hanno isolato la *C. trachomatis* dal cavo orale di 44-61% di donne con *C. tracheomatis* faringea e da 6-10% di studenti con *C. tracheomatis* nelle urine. *C. tracheomatis* è presente nel 7% di pazienti con peridontite ^{99,154}. Le Chlamydie non sono di solito considerate come patogeni orali primari e il loro ruolo nelle infezioni mucose non è ancora noto.

La tubercolosi, la labbra e la sifilide possono mostrare manifestazioni orali che dovrebbero far riflettere circa la diagnosi delle lesioni mucose. Questo gruppo di infezioni è stato analizzato in numerosi studi ^{60,72,84,110,113,128,132,158,178}.

4.8 TERAPIA DELLE LESIONI BATTERICHE

Le infezioni mucose batteriche sono generalmente opportunistiche. Fattori locali e sistemici dell'ospite sono di solito determinanti nella gravità delle infezioni e del trattamento. Quando prevalgono fattori immosoppressivi, il successo può essere difficile da ottenere. Comunque il trattamento sintomatico può essere effettuato per ridurre il fastidio e il dolore. Gli antibiotici funzionano meglio quando le difese dell'ospite sono efficienti, l'uso dell'antibiotico nel trattare infezioni negli immunocompromessi è spesso da evitare anche quando la suscettibilità agli antibiotici mostra una buona attività è presente in vitro. I chinoloni, che possono mostrare alta sensibilità contro bacilli aerobi gram-negativi in laboratorio possono non essere efficaci nei pazienti seriamente immuni compromessi. Un livello ridotto di batteri residenti competitori nelle lesioni mucose nei pazienti immunocompromessi può anche generare una di munizione nell'efficacia degli antibiotici. Un altro fattore di complicanze è che la somministrazione sistemica di antibiotici può non portare alte concentrazioni sulle superfici della mucosa orale e a volte anche l'applicazione topica può non essere adeguata. Sciacqui con antisettici possono essere utili ma la clorexidina può presentare scarsi effetti sui bacilli aerobi gram-negativi e può peggiorare l'infezione ²¹⁸. Alcuni Autori hanno studiato numerosi batteri opportunisti in un gruppo di pazienti con leucemia acuta e hanno evidenziato una tendenza di aumento del numero di enterococco salivari, enterobacilli e pseudominas dopo l'uso di clorexidina ²¹⁶. È stato riportato che

sciacqui con cloruro di sodio acidificato riducono la quantità di *S.aureus* nelle infezioni delle mucose orali; comunque poco si conosce degli effetti degli sciacqui sulle lesioni mucose ⁸⁹.

Le infezioni della mucosa orale spesso contengono batteri e candida ed è stato dimostrato empiricamente che rispondono meglio alla terapia dopo trattamento antimicotico. I funghi possono essere associate a un ruolo sinergico nella patogenesi delle infezioni orali insieme ai patogeni opportunisti. Si è a lungo discusso circa il trattamento locale o sistemico delle infezioni fungine. La somministrazione sistemica è la modalità primaria a causa della sua semplicità. Comunque similmente alle infezioni batteriche un'efficace concentrazione di antibiotico è difficile da ottenere. Lesioni mucose ipercheratinizzate associate a funghi possono essere particolarmente difficili da trattare con antibiotici o antisettici topici a causa di una limitata capacità di penetrazione. Si ritiene che gli agenti antimicrobici dovrebbero essere applicati meccanicamente sulla mucosa dopo un pre-risciacquo con perossido d'idrogeno al 3% per rimuovere il biofilm sovrastante e garantire l'accesso all'infezione. Il trattamento della sintomatologia delle infezioni mucose è stato effettuato utilizzando vari sciacqui ed è stata suggerita una terapia probiotica, ma nessun efficace risultato è stato osservato ¹³⁰.

5. INFEZIONI VIRALI DELLE MUCOSE ORALI

L'ambito della virologia si è ampliato notevolmente negli ultimi 20 anni, grazie all'introduzione di strumenti molecolari estremamente sofisticati, come gli anticorpi monoclonali, l'amplificazione basata sulla PCR, il sequenziamento del DNA e rapidi strumenti diagnostici. Queste tecnologie hanno permesso di identificare entità virali, proteine e acidi nucleici nei fluidi organici e nei campioni di tessuto, valutando anche il tipo di risposta alle infezioni virali.

I virus si replicano solamente in organismi eucarioti, come animali, piante, protisti e funghi, o procarioti come i batteri e non autonomamente. La particella virale extracellulare, detta virione ha una dimensione di 20 - 300 nm e contiene DNA o RNA avvolti da una capsula protettiva. Alcuni virus presentano una protezione esterna ulteriore contenente un doppio strato lipidico o dalla membrana del reticolo endoplasmatico derivato dalla cellula infettata. I virus sono classificati a seconda del materiale genetico, che può essere DNA o RNA, a singola o a doppia catena avvolto o meno da un contenitore capsidico. Una classificazione deve considerare anche il tipo di ospite, di capside, le proprietà immunologiche e la malattia associata.

L'ospite riconosce e reagisce al virus infettante secondo risposte immunitarie di adattamento. Tali risposte si basano su importanti cellule come macrofagi, cellule dendritiche e natural killers. I virus attivano le cellule infiammatorie e queste rilasciano citochine antivirali e agenti citotossici e inducono un'immunità mediata dai linfociti. Un significativo rilascio di citochine è stimolato grazie

all'attivazione di fattori alfa di necrosi tumorale, fattore k-beta nucleare insieme alla cascata delle kinasi. le proteine derivate, che sono presentate da molecole complesse di istocompatibilità sulla superficie delle cellule infette, servono come epitopi per specifiche cellule immunitarie dell'ospite.

I virus non capsulati sono controllati principalmente dall'immunità umorale, mentre quelli capsulati dall'azione delle cellule natural killers, dai linfociti CD8+ citotossici. Dopo il riconoscimento degli antigeni sulla superficie virale da parte delle cellule infettate, i linfociti T citotossici inibiscono la replicazione virale attraverso la produzione di interferone, chemochine, fattore alfa di necrosi tumorale o altri mediatori pro-infiammatori.

La malattia virale può essere il risultato diretto di una distruzione cellulare o conseguenza secondaria di reazioni immunitarie dell'ospite contro le proteine virali. Le citochine pronfiammatorie svolgono un ruolo fondamentale nella risposta immunitaria, ma l'interleuchina 1-beta, interleuchina 6 e le citochine fattore di necrosi tumorale alfa possono contribuire alla manifestazione della malattia. L'ospite effettua solitamente un delicato bilanciamento tra le citochine che promuovono la risposta antivirale e quelle che limitano il danno tissutale. Per resistere alla risposta immunitaria, il virus utilizza sofisticati sistemi evasivi, come la produzione di proteine che alterano il sistema di istocompatibilità e quindi l'esposizione delle proteine virali sulla superficie delle cellule infette. I virus possono codificare omologhi virali di proteine dell'ospite e produrre recettori capaci di

inibire o neutralizzare le citochine dell'ospite. Una rapida mutazione nei geni fondamentali virali può aiutare i virus ad adattarsi alle difese dell'ospite. Altri prodotti genici virali inibiscono l'apoptosi, facilitando uno stato prolungato di replicazione delle cellule infette e permettendo la replicazione cellulare.

Malattie virali della mucosa orale e della regione periorale sono facilmente riscontrabili nella pratica odontoiatrica quotidiana, ma hanno ricevuto scarso interesse. I virus possono generare ulcere o neoplaksie nel cavo orale. Il rilevamento di abbondanti quantità di virus dei mammiferi nelle parodontiti può suggerire un ruolo di questi in molte malattie orali ⁴²⁵. Un importante obiettivo futuro nella microbiologia orale sarà valutare con esattezza la biodiversità, la patogenicità ed il trattamento di virus umani e patologie correlate. I campioni di materiale virale a scopo diagnostico possono essere ottenuti prelevando cellule sia dall'area lesione che dal tessuto sano

249

5.1 PRINCIPALI FAMIGLIE VIRALI

5.1.1 HERPESVIRIDAE

I virus erpetici variano le proprie dimensioni da 120 a 250 nm e consistono in una doppia catena di DNA circondata da un capsidico icosaedrico, un tegumento proteinaceo ed un involucro contenente lipidi con glicoproteinevirali ³⁹¹.

Gli herpes virus infettano numerose specie animali e ne sono stati identificati oltre 300 differenti varianti. Sono state descritte 8 diverse specie virali erpetiche umane, con caratteristiche cliniche e biologiche ben distinte: herpes simplex tipo 1, herpes simplex tipo 2, virus varicella-zoster, virus Epstein-Barr, citomegalovirus umano, herpes virus 6, herpes virus 7 ed herpes virus 8. La famiglia degli herpesviridae è suddivisa in una sottofamiglia alfa, che comprende herpes simplex virus 1 (infezioni oro-facciali), herpes simplex virus 2 (infezioni genitali) e virus varicella-zoster; in una beta che comprende invece il citomegalovirus umano, l'herpes virus 6 e l'herpes virus 7 ed in una gamma, che contiene invece il virus Epstein-Barr e l'herpes virus 8. ogni sottofamiglia erpetica si mantiene latente in alcune linee cellulari specifiche.

I virus alfa mostrano un ciclo riproduttivo breve, rapida lisi delle cellule infette e latenza nei gangli sensitivi. I virus beta presentano un ciclo riproduttivo più lungo, con lenta progressione dell'infezione, ingrandimento delle cellule infette e tropismo per numerose popolazioni cellulari. I virus gamma sono specifici per i linfociti B e T, con latenza nel tessuto linfoide. Al contrario delle infezioni

croniche, la latenza non è associata ad uno stato infettivo. Un soggetto può presentare infezioni da herpes virus latenti in alcune cellule ed infezioni virali attive in altre. I virus erpetici esprimono proteine durante la fase latente e quella attiva, interferendo con le attività del sistema immunitario ed alterando i cicli cellulari fisiologici. L'alterazione delle difese dell'ospite facilita la permanenza del virus nelle cellule infette e contribuisce allo sviluppo della malattia. Le infezioni da herpes virus possono restare asintomatiche ma possono evolversi con sintomatologie classiche fino a tumori benigni e maligni, specialmente nei pazienti immunocompromessi. Herpes simplex e varicella zoster sono associati a paralisi di Bell, che è una paralisi acuta unilaterale che coinvolge il settimo nervo cranico³⁰³. il virus Epstein-Barr e il Cytomegalovirus sono stati associati a numerose malattie sindromi che croniche, compreso il Lupus Eritematoso sistemico, l'artrite reumatoide, la sclerosi multipla, la sindrome da antifosfolipidi, il pemfigo volgare, la sindrome di Sjögren, l'artrite a cellule giganti, la poliarterite nodosa e la granulomatosi di Wegener²⁴⁷. il Cytomegalovirus possono causare serie infezioni nei soggetti immunologicamente immaturi, ad esempio quelli con infezioni congenite e ospiti immunocompromessi, per esempio coloro che sono affetti da AIDS ed i trapiantati d'organo³⁹⁶.

5.1.2 PAPILOMAVIRIDAE

I papilloma virus erano precedentemente inclusi nella famiglia dei Papovaviridae e solo successivamente sono stati assegnati ad una

famiglia separata ³²⁵. I papilloma virus comprendono un gruppo di virus piccoli, epitelio tropici, non capsulati, icosaedrici e con una doppia catena di DNA circolare. I papilloma virus risiedono nell'area ano-genitale, nella mucosa laringea, tracheale bronchiale, orale e sulla cute. Questi virus si presentano globalmente, ma hanno un'elevata prevalenza nei nativi sudamericani e negli Inuit. Oltre il 75% degli adulti sessualmente attivi sono stati infettati da almeno un tipo di papilloma virus genitale. Basandosi su una differenziazione filogenetica, i papilloma virus sono divisi in 12 generi, ognuno dei quali è rappresentato da una lettera dell'alfabeto greco. I papilloma virus umani sono raggruppati in 5 generi e comprendono oltre 100 tipi. La maggior parte dei papilloma virus responsabili di gravi malattie nell'uomo appartengono al genere alfa (papilloma virus genitali), al beta (responsabile dell'epidermodisplasia verruciforme) e gamma (virus responsabili per lo più di lesioni cutanee). Poiché i papilloma virus sono ospite-specifici, la loro biologia non può essere studiata su modelli animali. Questi virus possono provocare lesioni benigne cutanee (verruche) e mucose (condilomi) (figura 6).



Figura 6. Condiloma acuminato del palato molle.

Alcuni virus possono causare neoplasie maligne epiteliali, soprattutto il cancro della cervice uterina. Nel mondo il cancro della cervice uterina è la seconda neoplasia maligna femminile. I papilloma virus sono anche coinvolti in molti tipi di cancro anale, vulvare, penile, laringale e orale. Basandosi sulla loro associazione con il carcinoma della cervice, i papilloma virus sono classificati come ad alto (tipi 16, 18 e 31) e basso rischio (6, 11, 36 e 42) oncogenico. Il papilloma virus di tipo 16 rappresenta il massimo rischio oncologico, il tipo 18 invece è il secondo. I papilloma virus, specialmente di tipo 16, sono coinvolti in un terzo dei carcinomi oro-faringei a cellule squamose e mostrano una forte correlazione con il cancro tonsillare ^{312,321}. I tumori della testa e del collo da papilomavirus presentano alte percentuali di mortalità nonostante diagnosi e trattamento siano comunque precoci. Un vaccino anti-papillomavirus è da poco disponibile contro i virus

responsabili del cancro alla cervice uterina ed altre neoplasie, che sono 6, 11, 16 e 18.

5.1.3 PICORNAVIRIDAE ED ENTEROVIRIDAE

I picornavirus non sono capsulati, hanno una singola catena di RNA e presentano un diametro di 30 nm³⁸⁶. il nome del virus è dovuto alle sue ridotte dimensioni (pico in spagnolo significa piccolo) e dal genoma virale, che è costituito da RNA. La famiglia picornaviridae è composta da nove generi e contiene numerosi patogeni, compresi poliovirus, virus dell'epatite A, rinovirus e virus responsabili di malattie alle mani, ai piedi al cavo orale. Il genere enterovirus nella famiglia picornaviridae include il Cocksackie, diviso nei gruppi A e B in base alla patogenicità su cavia con 23 sierotipi, l'echovirus con 28 sierotipi, il polio virus con tre sierotipi e l'enterovirus umano con quattro sierotipi.

Gli enterovirus si replicano a livello intestinale. Ci sono caratteristiche sovrapposte nelle proprietà biologiche dei virus di differenti gruppi di entero virus. Gli enterovirus che causano malattie generalmente provocano patologie più acute che croniche, ma infezioni persistenti possono verificarsi in individui con immunodeficienza umorale. Gli enterovirus sono patogeni umani comuni che sono associati ad un ampio spettro di manifestazioni cliniche che variano dalle infezioni asintomatiche vari enantemi ed esantemi, malattie respiratorie, meningite asettica, severe malattie nei neonati e in ospiti immunocompromessi fino all'exitus³⁷⁸. Mentre gli enterovirus si

verificano a tutte le età, le infezioni primarie solitamente sono prevalenti nell'infanzia, ma possono presentarsi anche negli adulti.

5.1.4 RETROVIRUS

I virioni retro virali sono composti da uno o due copie di rna a senso positivo e a singola catena racchiusi da un capsido conico e da un involucro fosfolipidico. Il virus HIV ne ha due copie. Le specie di retrovirus colonizzano virtualmente tutti i vertebrati ²⁹⁸. Un totale di sette generi di retrovirus è stato scoperto. L' HIV e il virus T-linfotrofico sono patogeni umani. L'HIV appartiene al genere lentivirus ed include due sottospecie chiamate HIV1 e HIV2. I lentivirus sono caratterizzati da lunghi periodi d'incubazione tra l'infezione dell'ospite e la manifestazione della malattia clinica. L'HIV si ritiene origine dalla trasmissione zoonotica dalle scimmie selvatiche in Africa. HIV1 è il tipo più virulento e nel mondo è responsabile della maggior parte delle infezioni al mondo da HIV. Le infezioni da HIV 1 sono limitate agli umani e agli scimpanzé. L'HIV2, immunologicamente distinto, infetta principalmente gli individui nell'afrika centro occidentale. La più comune forma di trasmissione dell' HIV è la sessuale seguita dallo scambio di sangue e dalla diffusione madre-figlio nell'utero. Le malattie collegate all'HIV negli umani apparvero per la prima volta verso la fine degli anni 50 e oltre 25.000.000 di persone in tutto il mondo sono attualmente infette da HIV. Si stima che 8.500 infezioni da HIV si verificano ogni giorno.

Il nome retrovirus si riferisce all'unico modo di replicazione dei virus. Dopo l'ingresso nella cellula l'RNA virale viene trascritto grazie alla trascrittasi inversa in una molecola di dna che è integrata come un pro virus nel dna cromosomiale dell'ospite. Il dna modificato serve come guida per la formazione di RNA virale per le proteine usate per l'assemblaggio di nuovi virioni. L'abilità di un pro virus di rimanere inattivo nella trascrizione, una caratteristica che evita l'esposizione di proteine virali o enzimi all'attacco immunitario rende i retrovirus in grado di mantenere un'infezione persistente nonostante l'ospite presenti un sistema immunitario funzionale. Inoltre l'HIV sopravvive nell'ospite grazie alla modifica rapida degli antigeni virali, che producono un pull di genotipi e fenotipi in nuovi cloni, a volte chiamati quasi-specie.

Tutti i genomi retro virali contengono frammenti di lettura aperti (HIV presenza un totale di 9 geni) chiamati geni gag, pro, pol e env, i quali contengono informazioni relative alla produzione di proteine strutturali del virione ²⁹⁸. Il gene env codifica per la glicoproteina gp160 dell'involucro virale, che si spezza grazie a un enzima retro virale nella forma gp120 e in gp41. Le glicoproteine gp120 e gp41 quindi mediano l'attacco e la fusione del virus alle cellule bersaglio nella fase iniziale del ciclo vitale virale ²⁵⁰. Gp120 e altre proteine di superficie sono i candidati per lo sviluppo di un vaccino anti-HIV. Comunque, la decodifica del gene per la glicoproteina gp160 mostra un'eterogenicità genetica estensiva. I genomi dei lentivirus contengono geni regolatori addizionali che partecipano alla

trascrizione del genoma virale e alla produzione del virione. Gli enzimi retro virali necessitano per lo sviluppo dei virioni di includere la trascrittasi inversa, le proteasi, le ribonucleasi e la integrasi.

Il virus HIV usa i recettori CD4 e un corecettore per chemochina (CCR5 o CXCR4) per entrare in cellule suscettibili ²⁵⁰. Basandosi sull'utilizzo del recettore della chemochina, copie di HIV 1 sono chiamate R5 quando utilizzano i recettori CCR5, X4 quando utilizzano i recettori CXCR4 e R5/X4 quando sono usati entrambi i corecettori. I linfociti t-helper, le cellule della linea macrofagica e alcune cellule dendritiche contengono recettori CD4 e quindi sono recettive all'infezione da HIV. L'infezione da HIV dà origine ad una deplezione selettiva di linfociti T CD4 + con meccanismi di apoptosi o necrosi. Le malattie da HIV derivano dalla perdita progressiva dell'immunità cellulo-mediata che protegge ordinariamente da una varietà di insulti normalmente innocui ai danni del sistema immunitario ³⁴². Lo scopo dell'infezione da HIV è la deplezione della cellule CD4+ circolanti. Infezioni opportunistiche e neoplasie diventano incredibilmente più comuni e gravi quando il numero di CD4 scende sotto 500 cellule/nanolitro. Il periodo tra un'infezione acuta e lo sviluppo della malattia avanzata (AIDS) definito da una conta di CD4 inferiore a 200 cellule/microlitro o all'apparizione di infezioni opportunistiche o tumori può, nei pazienti non trattati variare da un minimo di 6 mesi a un massimo di più di 25 anni. La genetica virale e dell'ospite determinano il tempo di insorgenza dell'AIDS.

Il decorso dell'infezione da HIV può essere diviso in infezione primaria o acuta, cronica o asintomatica e AIDS ³⁴². La fase precoce della malattia include candidosi orali e vulvovaginali. Infezioni pneumococciche, tubercolosi, e riattivazione di virus Herpes simplex e varicella-zoster. Le infezioni tardive includono polmonite da pneumocystis jiroveci (precedentemente Pneumocystis carinii), esofagite candidosica, istioplasmosi disseminata, encefalite da toxoplasma e meningite cryptococcica. Le malattie tardive includono infezioni disseminate dal complesso di mycobacterium avium, infezioni ricorrenti o disseminate da citomegalovirus, cryptosporidiosi e microsporidiosi. La viremia da citomegalovirus preannuncia una più bassa percentuale di sopravvivenza tra i pazienti che ricevono terapia antiretrovirale ⁴⁶⁷. Neoplasie in pazienti con AIDS sono dovute al virus e includono il linfoma dal linfoma Epstein-Barr, sarcoma di Kaposi, Herpes virus umano 8 e carcinomi cervicali e anali da papilloma virus.

Il trattamento attuale per infezioni da HIV consiste nel HAART (terapia antiretrovirale altamente attiva) che include un cocktail di almeno 3 farmaci appartenenti almeno a due classi di agenti antiretrovirali: tipicamente due inibitori dell'analogo nucleotidico della trascrittasi inversa, insieme o a un inibitore della proteasi o un inibitore non nucleotidico della trascrittasi inversa ^{250,342}. Una classe di farmaci recentemente provata conosciuta come CCR5- antagonisti blocca il co-recettore CCR5 ed è prescritta per pazienti infettati da HIV1 R5 resistente agli agenti pluri-antiretrovirali.

5.2 PRINCIPALI QUADRI PATOLOGICI ORALI

VIRALI

Ulcere ed erosioni sono relativamente comuni nella mucosa oro-faringea⁴²³. le ulcere orali evolvono da un'escavazione dell'epitelio e della lamina propria e sono tipicamente dolorose, coperte da una pseudomembrana bianco-gialla e circondate da un alone infiammatorio. L'erosione orale mostra perdita di tessuto limitata allo stato epiteliale, anche se questo termine spesso è sinonimo di ulcera⁴²⁶. Il diametro delle ulcere varia da pochi millimetri a 2 cm e possono essere singole o multiple. Le ulcere orali si presentano come risultato di un'infezione da virus o altri microorganismi, di un trauma chimico o fisico, di immunodeficienza o autoimmunità, di malattie sistemiche, ustioni, droghe, malnutrizione e neoplasie⁴²⁵. Inoltre oltre 75 tipi di farmaci possono scatenare ulcere orali⁴²⁸.

Alcuni autori hanno fornito le linee guida per l'identificazione delle ulcere orali⁴²⁶. Le ulcere solitarie dovrebbero essere considerate come causate sia da traumi locali o da tumori, fino ad accertamento definitivo; piccole ulcere multiple sono segno di stomatite aftosa se ricorrenti o infezione primaria da herpes simplex se sono acute con febbre ed altri sintomi sistemici; ulcere estese e multiple dovrebbero indurre il sospetto di lesioni cutanee o vasculiti, in particolare se associate a malattie muco-cutanee, come per esempio irritazioni, ipercheratosi o cicatrizzazioni. Ulcere limitate alle commessure (cheilite angolare) hanno tipicamente una base microbica, spesso un'infezione da Candida o da Stafilococco. Comunque, mentre

l'evidenza clinica di un'ulcera orale spesso non è patognomonica e diverse condizioni ulcerogeniche del cavo orale possono essere raggruppate insieme sotto un'unica diagnosi, è difficile determinare la prevalenza, l'eziologia ed il trattamento d'eccellenza migliore per i vari tipi di ulcere orali.

Un'eziologia virale per le ulcere orali è stata determinata per la gengivostomatite erpetica primaria e ricorrente, per l'insorgenza della varicella o dell'herpes - zoster, per l'herpangina, per la malattia mano-piede-bocca, il carcinoma verrucoso e probabilmente la gengivite necrotizzante ulcerativa acuta. I virus possono anche svolgere un ruolo in alcuni casi di stomatite aftosa ricorrente e malattie sistemiche con una componente ulcerativa orale. È probabile che numerosi fattori di rischio delle ulcere orali causino di lesioni a seguito infezioni virali latenti. Inoltre alcuni virus possono indurre ulcere orali quando co-infettano con altri virus.

La gengivostomatite erpetica è la più comune manifestazione clinica di infezione orale primaria da herpes simplex. La malattia può anche presentarsi come una recrudescenza intra-orale di herpes simplex nei bambini e giovani-adulti sani²⁷⁴. Sebbene la gengivostomatite erpetica colpisca tipicamente i bambini, tale malattia può presentarsi negli adulti^{272,355}. Il virus dell'herpes simplex 1 causa la maggior parte di infezioni erpetiche oro-facciali, ma l'infezione da herpes simplex 2 è incredibilmente in aumento²³⁹. I sintomi prodromici, come per esempio febbre, anoressia, irritabilità, malessere e mal di testa, possono presentarsi anche in uno stato avanzato della malattia³⁴⁰.

Ulcere poco profonde si formano sulla gengiva aderente e sulla mucosa buccale e sublinguale e possono coinvolgere il palato duro, ma tipicamente non le papille gengivali. La gengivostomatite erpetica è spesso accompagnata da febbre e linfadenopatia submandibolare (figura 7).



Figura 7. Gengivostomatite erpetica a livello sia del palato molle che di quello duro.

Il pateruccio erpetico denota un'auto-inoculazione del virus herpes simplex dal sito primario dell'infezione a, più comunemente, la falange distale delle dita della mano ed occasionalmente quelle del piede e pone l'attenzione sulla necessità degli operatori di indossare i guanti protettivi ^{242,471}.

La grande maggioranza di infezioni ricorrenti o secondarie da herpes simplex 1, si manifesta con lesioni oro-facciali ^{252,304}. Le ulcere collegate al virus herpes simplex possono presentarsi in soggetti immunodepressi o gravemente debilitati, compresi i bambini affetti da malattie oncologiche e i pazienti con trapianto renale ^{335,348,427}. Il virus dell'herpes simplex può anche svolgere un ruolo fondamentale nella mucosite orale da radioterapia ²³⁸. Solitamente le lesioni di un'infezione secondaria da herpes simplex sono localizzate sul bordo vermiglio delle labbra (herpes labialis o febbre del labbro), ma possono verificarsi altrove nel cavo orale, sul volto e dentro il naso. L'episodio iniziale dell'herpes labiale si verifica entro 4 settimane successive all'inoculazione e può apparire con vesciole multiple di 1-2 mm, associate a discomfort per 10-14 giorni ²⁶⁸. L'herpes labiale ricorrente colpisce un terzo della popolazione degli USA, con episodi che si verificano da una a tre volte per anno ²⁶⁸. Le infezioni oro-labiali ricorrenti possono scatenarsi a seguito di febbre, stress, freddo, mestruazioni e radiazioni UV. I sintomi prodromici, compresi la parestesia, dolore, bruciore, formicolio o prurito nella area della riattivazione virale nel 46-60% dei pazienti per almeno 6 ore ²³⁹.

La gengivite acuta necrotizzante ulcerativa è caratterizzata da necrosi delle papille gengivale, sanguinamento, dolore e febbre occasionale. Nei pazienti severamente immunocompromessi, la gengivite necrotizzante ulcerativa acuta può progredire in parodontite ulcerativa necrotizzante o stomatite fino a malattie potenzialmente fatali chiamate stomatite gangrenosa o cancro orale. La gengivite acuta

necrotizzante ulcerativa si ritiene si presenti negli individui sani ma stressati. Tale gengivite e le sue varianti progressive sono state riscontrate principalmente nei pazienti affetti da HIV e nei soggetti malnutriti dei paesi in via di sviluppo. Alcuni Autori hanno osservato 45 bambini e giovani adulti senza HIV in Colombia con gengivite acuta necrotizzante ulcerativa o stomatite gangrenosa ³²⁹. Tutti i pazienti appartenevano a gruppi socio-economici poveri e presentavano fattori predisponenti come la gengivostomatite erpetica acuta, morbillo e leucemia limfoblastica acuta o cronica. La malnutrizione e la scarsa igiene orale favorisce i processi necrotici e la progressione della malattia dalla gengiva fino ai tessuti profondi orali e facciali. Inoltre un'epidemia di morbillo tra i soldati israeliani fu associata a lesioni sovrapponibili alla gengivite acuta necrotizzante ulcerativa ³³⁷. Altri Autori invece hanno rilevato gengivite acuta necrotizzante ulcerativa in bambini di 3-14 anni in Nigeria, in relazione al malnutrizione e presenza di cytomegalovirus e virus Epstein-Barr-1 ²⁸⁰. Il citomegalovirus e gli altri herpes virus possono causare necrosi autotossica retinale nei pazienti immunocompromessi, esofagite necrotizzante acuta, enterocolite necrotizzante infantile, glomerulo-nefrite necrotizzante nei pazienti trapiantati renali, mielite necrotizzante ed encefalite necrotizzante ^{250,253,285,372,401}. Nella gengivite acuta necrotizzante ulcerativa, l'infezione da HIV, la malnutrizione, lo stress psico-sociale e altri fattori immunosoppressori possono provocare un'attivazione prolungata di herpes virus parodontali, che a sua volta può generare reazioni citotossiche dirette,

un abbondante rilascio di citochine pro-infiammatorie, riduzione delle difese immunitarie, una crescita di batteri virulenti, necrosi gengivale ed invasione gengivale da parte di spirochete di medie e grandi dimensioni ³⁵⁰.

Il virus Varicella-zoster causa varicella come infezione primaria nei bambini ed herpes-zoster nelle infezioni ricorrenti degli adulti. La varicella appare come lesione cutanea esantematica che copre il corpo, ma solitamente è concentrata sul volto, sul cuoio capelluto e sul tronco. L'infezione da herpes-zoster si distribuisce solitamente per via dermatomericale. L'herpes zoster inizia su un lato del volto o del corpo come un rash, con croste dopo 3-5 giorni e si risolve solitamente dopo 2-4 settimane. Circa 1 milione di nuovi casi di herpes-zoster si verificano ogni anno negli USA e circa una persona su tre sviluppa un herpes-zoster durante la loro vita ³¹³. Le infezioni trigeminali da herpes-zoster possono generare vescicole e pustole nell'orecchio esterno, su labbra, mento e guance, oltre che ulcerazioni del palato molle, della mucosa buccale e della lingua. La sindrome di Ramsay-Hunt è caratterizzata da vescicole di herpes-zoster sull'orecchio, palato duro, o lingua e paralisi periferica del nervo faciale ⁴⁴⁸. Severe complicanze orali dell'herpes-zoster trigeminale sono nevralgia ed occasionalmente osteonecrosi delle ossa mascellari ed esfoliazione dei denti ^{240,424,457}. I decessi attribuibili all'herpes-zoster sono rari tra le persone non immunocompromesse. Un vaccino per la prevenzione dell'infezione iniziale da herpes-zoster è stato introdotto negli USA

nel 1995 ed un vaccino per la prevenzione del Fuoco di Sant'Antonio negli individui anziani è diventato disponibile a partire dal 2006.

L'herpangina è una patologia acuta febbrile ad insorgenza improvvisa che è caratterizzata dalla presenza di vescicole ed ulcerazioni del cavo orale. L'herpangina si verifica principalmente nei bambini con meno di 5 anni di età, è autolimitante e si risolve in 7 - 10 giorni. Le ulcere orali di circa 2 mm di diametro hanno una base eritematosa e sono collocate sui pilastri tonsillari anteriori, il margine posteriore del palato molle, l'ugola, le tonsille e la parte posteriore del faringe³⁸⁶. L'assenza di lesioni orali sul palato duro, l'insorgenza acuta e la breve durata, aiutano a differenziare l'herpangina da altre malattie ulcerative della bocca. L'herpangina è più frequentemente causata da virus Cocksackie del gruppo A, ma anche da Cocksackie del gruppo B, ecovirus ed enterovirus-71³⁸⁶. Non sembra esistere alcuna differenza a livello clinico tra le differenti infezioni enterovirali. Studi su scimmie hanno permesso di osservare che dopo inoculazione orale, il virus Cocksackie si replica nelle cellule epiteliali del basso tratto gastro-intestinale, che è quindi seguito da una viremia e dalla diffusione del virus nell'orofaringe⁴³³.

La malattia mano-piede-bocca è una patologia lievemente esantematica con lesioni vescicolari dal diametro di 2 - 10 mm su mani, piedi e cavo orale e a volte anche su altre parti del corpo. La malattia non ha alcuna correlazione con l'afta epizootica del bestiame e di altri animali. La malattia mano-piede-bocca colpisce principalmente bambini in età pre-scolare in inverno e primavera, ma

può anche verificarsi in età scolare e negli adulti ²⁷¹. Numerosi enterovirus possono provocare la malattia mano-piede-bocca, ma i più importanti sono l'enterovirus-71 e il sierotipo 16 del virus Coxsackie del gruppo A ^{250,361}. la forma da enterovirus-71 presenta maggiore frequenza di morbilità e fatalità ²⁷⁰.

I soggetti infettati da HIV, compresi quelli che effettuano terapia antiretrovirale mostrano alte concentrazioni salivari di numerosi herpesvirus ^{307,368}. I pazienti affetti da HIV soffrono spesso di una serie di ulcere orali dolorose ³⁹³. L'incidenza e la gravità della lesione ulcerativa aumenta con l'aumentare dei livelli di immunodepressione (figura 8).



Figura 8. Paziente affetto da HIV, con vescicole virali, con sovrainfezione da stafilococco.

Alcuni Autori hanno scoperto che i più comuni siti del cavo orale coinvolti sono la mucosa buccale e labiale (27%), la lingua (25%) e la gengiva (18%) ed il diametro medio delle ulcere è di circa 1,8 cm con una durata media di circa 5 - 6 settimane ²⁹⁶. Le ulcere orali nei pazienti affetti da HIV ed immunocompromessi sono strettamente correlati al virus herpes simplex e al citomegalovirus umano ^{299,317,348,468}. Altri virus associati ad ulcere orali negli individui affetti da HIV includono il virus Epstein-Barr e il virus erpetico 8 ²⁸⁶. Il citomegalovirus e il virus Epstein-Barr spesso si presentano come una coinfezione nelle ulcere orali dei pazienti HIV positivi ⁴⁵⁰. L'ulcerogenicità degli Herpes virus negli individui infetti da HIV è probabilmente causata dall'immunosoppressione virale e dalla riattivazione dell'herpes virus piuttosto che da un'interazione diretta HIV-Herpes virus. Gli Herpes virus e i papilloma virus della bocca possono facilitare la replicazione dell'HIV orale ³⁵⁷.

La stomatite aftosa ricorrente è la più diffusa ulcera orale non traumatica, con una prevalenza di circa 20% in numerose popolazioni, che può arrivare al 50% in alcuni gruppi di persone ^{331,431}. La malattia è spesso confusa come recrudescenza di un'infezione da virus herpes simplex ^{288,469}. La stomatite aftosa ricorrente, contrariamente a infezioni ricorrenti orali da herpes simplex, solitamente si sviluppa nella mucosa non cheratinizzata (mucosa labiale, mucosa buccale, ventre linguale e vestibolo). Le ulcere che sono clinicamente simili alla stomatite aftosa ricorrente possono anche svilupparsi insieme a malattie sistemiche come HIV, sindrome di Behçet, pemfigo volgare e

malattie infiammatorie intestinali ³³¹. Le ulcere aftosiche possono essere classificate secondo caratteristiche cliniche in minore (< di 1 cm di diametro), maggiore (> di 1 cm di diametro) e erpetiforme (piccole ulcere multiple che possono fondersi in placche) ^{406,459} (figura 9).



Figura 9. Quadro clinico di afta maior a livello della mucosa geniena.

La maggior parte delle afte sono della varietà minore e guariscono entro dieci giorni. L'insorgenza della malattia dipende da fattori dell'ospite e ambientali, con importanti fattori scatenanti come traumi, stress, malnutrizione, infezioni e alterazioni ormonali ³⁵⁹. La stomatite aftosa ricorrente è tradizionalmente caratterizzata da un disordine immunitario ed è associato a diminuzione dei linfociti T CD8+ nel circolo periferico, cellule Natural Killer, e citochine pro infiammatorie

e un basso livello di interleuchina anti-infiammatoria 10 nelle mucose lesionate ³³¹. Il profilo delle cellule e delle citochine immunitarie dei pazienti con stomatite aftosa ricorrente ricorda quello dell'infezioni da herpes virus ^{250,435}. Comunque, studi sull'associazione tra stomatite aftosa ricorrente e virus varicella zoster citomegalovirus alti herpes virus, adenovirus o virus del morbillo sono stati per la maggior parte inconcludenti ^{260,284,331,349,390,411,412,446,469}. Studi sull'associazione stanno affrontando la difficoltà che ulcere orali attualmente diagnosticate come stomatite aftosa ricorrente di fatto comprendano numerose alte entità patologiche distinte ²⁸⁸. L'introduzione di tecniche molecolari per trovare genomi virali o antigeni direttamente nelle lesioni aftose potrà chiarire l'eziopatogenesi virale nelle afte.

Alcune malattie autoimmuni possono avere una componente infettiva. L'eritema multiforme varia da una forma lieve a severa fino a potenzialmente mortale e può evolvere in ulcere orali e labiali estremamente dolorose ^{233,250}.

Il virus dell'herpes simplex e di alte infezioni orali può degenerare in eritema multiforme del cavo orale ^{233,243,434,461}. La sindrome di Behçet è una vasculite cronica e multi sistemica, con ulcere orali che sono un'importante caratteristica clinica ^{235,250}. Il virus herpes simplex e i citomegalovirus sono potenziali patogeni per le ulcerazioni da sindrome di Behçet ^{355,356}. Il pemfigo volgare è una malattia bollosa intraepidermica che frequentemente evolve in ulcere orali persistenti che precedono l'insorgenza cutanea della malattia. Il virus herpes simplex e il citomegalovirus umano possono essere collegati al

pemfigo volgare orale ^{105,193,223}. Il lupus eritematoso sistemico è stato associato al virus Epstein-Barr forse come risultato di una somiglianza molecolare tra l'antigene nucleare 1 del virus Epstein-Barr e antigeni specifici del lupus, induzione dell'ipersensibilità del recettore Toll da parte della proteina di membrana 2° del virus Epstein-Barr latente o perdita dell'apoptosi che dà origine a cellule B e T immortali ^{246,250,353}. Ulteriori ricerche saranno necessarie per determinare quali virus sono coinvolti nell'ulcerogenesi umana di queste e alte malattie sistemiche comprese il morbo di Crohn la colite ulcerosa e la neutropenia.

L'obiettivo della terapia delle ulcere orali è limitare la gravità e la durata del dolore di accelerare la guarigione. La gestione delle ulcere orali è principalmente di supporto e consiste in un breve piano di trattamento. Alcuni Autori hanno recentemente revisionato le più comuni terapie per le ulcere orali ⁴²⁶. Farmaci usati nella gestione delle ulcere orali includono sciacqui topici con analgesico alla benzidamina-HCL, pomate o spray anestetici alla lidocaina o benzocaina; corticosteroidi topici antiinfiammatori; scicqui con clorexidina, triclosan o ipoclorito di sodio; gel alla nistatina o gel al miconazolo per infezioni da candida; crema all'acido fusidico per la cheilite angolare da *S. aureus* e crema topica con aciclovir o penciclovir per infezioni da Herpes virus. Il trattamento dell'herpes labialis può coinvolgere una terapia episodica intermittente, una terapia intermittente soppressiva o una terapia soppressiva cronica basata su caratteristiche cliniche definite e su esigenze del paziente ²⁶⁸. L'herpes labialis iniziale può essere trattato con valaciclovir

idrociliclorito (1 g 2 volte la giorno per 7 giorni) o famciclovir (500 mg 2 volte al giorno per 7 giorni) ²⁶⁸. Episodi ricorrenti si herpes labialis possono essere gestiti da un intervento precoce (durante le fasi prodromiche o di eritema) usando una terapia sistemica antivirale ad alto dosaggio ed i breve durata, come famciclovir (3 pastiglie da 500 mg in singola dose o 500 mg 3 volte al giorno per 5 giorni) o valaciclovir (2000 mg 2 volte al giorno per un giorno) ^{268,304}. L'herpes labialis può anche rispondere a terapia topica, come crema al docosanolo 10%, crema la penciclovir 1%, pomata all'aciclovir 5% o soluzione idoxuridina al 15% ²⁹³. Comunque i pazienti immunocompromessi ed infetti da HIV generalmente mostrano una scarsa risposta ad una terapia antivirale topica e spesso richiedono una terapia sistemica con aciclovir, ganciclovir, valganciclovir, foscarnet, cydofobir o fomivirsen per le infezioni acute da herpes virus. Sfortunatamente esistono pochi dati scientifici sull'efficacia di prodotti da banco contro le ulcere orali e numerosi studi randomizzati a doppio cieco necessitano ancora di confrontare l'efficacia e la sicurezza di differenti tipi di farmaci anti-ulcera.

5.3 NEOPLASIE AD EZIOLOGIA VIRALE

Alcuni studi effettuati negli ultimi 25 anni hanno collegato eziologicamente i virus a neoplasie nell'uomo. Le stime attuali dicono che circa il 20% dei tumori umani sono collegati virus. I virus sono coinvolti nell'oncogenesi basata sull'associazione con specifici tipi di tumore e sull'abilità di produrre trasformazioni cancro geniche in modelli animali o colture cellulari. La ricerca di genomi virali all'interno delle cellule neoplastiche rafforza la relazione virus-tumore. I virus possono essere collegati a un singolo o a un limitato numero di tipi di tumore (virus dell'epatite B) o a molteplici tipi di tumore (virus Epstein-Barr), una differenza che probabilmente rispecchia l'estensione del tropismo tissutale dei virus. Alcuni virus possono contribuire all'oncogenesi solo in un sottoinsieme di tipi di tumore, o possono solamente accelerare la formazione del tumore quando già presente. Inoltre, i genomi di alcuni virus, come il virus Epstein-Barr e il citomegalovirus mostrano regioni con sostanziale polimorfismo e solo certi genotipi possono essere oncogenici ³⁹⁴.

I virus differiscono da altri agenti cancerogeni, come farmaci e radiazioni, per la loro abilità nell'indurre cambiamenti mutagenici attraverso l'interazione tra il virus infettante e la risposta dell'ospite. I virus possono causare trasformazione e proliferazione grazie a oncogeni direttamente espressi nelle cellule infette o agendo come necessari o obbligatori cofattori nello sviluppo della neoplasia. Sebbene numerosi individui ospitano virus oncogenici nel cavo orale, il tumore come risultato d'infezione dagli stessi virus è un evento

relativamente raro. Fattori di rischio differenti dall'infezione orale sono ovviamente importanti per lo sviluppo del tumore comprendendo la storia familiare, l'età, il consumo di alcool e il fumo.

Il cancro orale è associato a fattori geografico, comportamentali e socioeconomici. Tumori del cavo orale si presentano in percentuali altissime in India, Pakistan e Taiwan, forse come risultato di un uso estensivo di tabacco e della masticazione di betel ^{357,472}. Uomini e donne dell'Asia meridionale residenti in Inghilterra dimostrano rischi relativi più alti di cancro orale rispetto ad individui senza antenati provenienti dall'Asia meridionale ³⁷². Nel 2007 l'incidenza dei tumori orali, che negli USA è circa due volte più alta negli uomini rispetto alle donne, è diminuita in entrambi i sessi negli ultimi 30 anni. Il cancro orale presenta una percentuale di sopravvivenza a 5 anni del 60% e a 10 anni del 48% ed è il sesto tumore come tasso di mortalità tra tutte le neoplasie che colpiscono l'uomo ^{236,332}.

I più importanti virus oncogeni orali sono il virus Epstein-Barr, l'herpes virus-8 e i papillomavirus e le più frequenti neoplasie virali orali sono quelle epiteliali, i limfomi e il sarcoma di Kaposi ⁴¹². I tumori orali si presentano frequentemente al pavimento orale, alla lingua, alle ghiandole salivari e alle labbra. Non è ancora chiaro se i tumori orali si sviluppino a partire dall'attivazione di virus endogeni o dall'infezione di virus esogeni.

La parodontite è associata ad un aumentato rischio di cancro linguale, tumore pancreatico e tumori polmonare, pancreatico, renale ed ematologico ^{366,367,454}. L'associazione cancro-parodontite può essere

generata da un'infezione virale condivisa o da un altro tipo di eziologia comune o da una risposta comune dell'ospite. È ancora da chiarire se la correlazione tra parodontite e il cancro orale costituisca un evento causale o non esista affatto ³²⁶.

Il virus Epstein-Barr può evolversi in un'ampia varietà di tumori. Il virus possiede fattori capaci di immortalizzare linfociti B e cellule epiteliali, contiene numerosi antigeni potenzialmente oncogenici (EBNA1, EBNA2, EBNA3A, EBNA3C e LMP1) e possono indurre numerosi prodotti oncogenici (bcl-2, bcl-10, c-fgr e jun/fos) ³⁰⁶. Inoltre l'antigene nucleare EBNA-LP del virus Epstein-Barr può interferire con la funzione delle proteine onco-soppressori p53 e pRb, disregolando in tal modo il ciclo cellulare ³⁰⁶.

Il virus Epstein-Barr è associato a numerose proliferazioni linfoidi, comprese il linfoma di Burkitt africano, il morbo di Hodgkin, il linfoma angiocentrico delle cellule natural-killer e delle cellule T, il linfoma linfocitico cronico con cellule neoplastiche tipo Reed-Sternberg, il linfoma da linfadenopatia angioimmunoblastica da cellule T, il linfoma associato ad AIDS, la malattia linfoproliferativa associata a trapianto, il disordine linfoproliferativo legato al cromosoma x e la sindrome emofagocitica virus associata ⁴⁵⁹.

Il virus Epstein-Barr è presente in due terzi dei linfomi da AIDS ³¹⁰. Nel cavo orale, il virus Epstein-Barr è stato osservato nel linfoma di Hodgkin, nel linfoma delle cellule natural-killer e delle cellule T, nel linfoma di Burkitt, nel disordine linfoproliferativo da ciclosporine post-trapianto, nel linfoma da cellule B post-trapianto, nell'iperplasia

linfoide follicolare e nel linfoma plasma plastico. L'associazione tra il virus Epstein-Barr e differenti linfomi da debole a forte, indica che alcuni tipi di linfoma hanno eziologia non correlata esclusivamente al virus Epstein-Barr.

I tumori epiteliali orali che hanno una relazione con il virus Epstein-Barr sono il carcinoma linfoepitelioma-simile, il carcinoma linfoepiteliale delle ghiandole salivary, il tumore multiplo e bilaterale di Warthin (cistoadenolinfoma) della ghiandola parotide, carcinoma tonsillare, carcinomi altamente indifferenziati e leucoplachia capelluta. Il virus Epstein-Barr è stato collegato a tumori delle ghiandole salivari e anche il citomegalovirus presenta la capacità di indurre tumori alle ghiandole salivari nei topi immunocompromessi ²⁸³

Comunque studi finlandesi ed americani non sono riusciti ad identificare una correlazione tra virus Epstein-Barr citomegalovirus umano e tumori delle ghiandole salivari ^{241,336,344}. Fattori demografici, geografici ed ambientali possono essere importanti, in quanto numerosi studi mostrano un coinvolgimento dell'Herpes virus con tumori ad alta prevalenza nelle nazioni asiatiche. Il carcinoma nasofaringeo da virus Epstein-Barr si presenta con alta prevalenza relativa nei nativi della Cina meridionale e del sudest asiatico e questo può essere il risultato di interazioni ospite-virus etnicamente determinate o distinti genotipi di Epstein-Barr predominanti in alcune popolazioni asiatiche ^{269,290,415}. Le differenze nei criteri diagnostici tumorali, come le tecniche biotiche e i metodi di ricerca virale possono anche essere un'importante fonte di discrepanza nei risultati delle diverse ricerche.

Tracce di genoma ed antigeni del citomegalovirus umano sono stati identificati nei tumori maligni, inclusi il cancro al colon, il glioblastoma maligno, il linfoma di Hodgkin negativo al virus Epstein-Barr, il carcinoma prostatico e il tumore al seno ed anche in cellule non neoplastiche in stretta contiguità con tumori negativi al citomegalovirus⁴⁴⁰. Autori hanno suggerito che il sistema immunitario riconoscerebbe uno sviluppo cellulare neoplastico come “auto-alterato” e, in un tentativo di eliminazione, creerebbe uno stato infiammatorio locale⁴⁴⁰. Il citomegalovirus entrerebbe quindi nell’area infiammata nei macrofagi e monociti infettati. Attraverso proteine specializzate, il citomegalovirus potrebbe quindi interferire con la differenziazione cellulare, la proliferazione, la migrazione, l’angiogenesi, le funzioni epigenetiche, i meccanismi di riparazione del DNA e la proliferazione e l’azione di citochine, chemochine e fattori di crescita. Poche informazioni sono ad oggi disponibili sul possibile ruolo del citomegalovirus nei tumori orali.

Gli ospiti immunocompromessi mostrano un aumentata suscettibilità per le patologie maligne. I tumori orali negli individui affetti da HIV sono virtualmente tutti correlati a virus. Le neoplasie linfoidi del cavo orale di individui affetti da HIV sono tipicamente aggressive delle cellule B. I linfomi non-Hodgkin associati al virus Epstein-Barr nel cavo orale dei pazienti con AIDS possono coinvolgere la gengiva, la mucosa alveolare e palatale, così come altri tessuti orali²⁸⁹.

Alcuni linfomi associati al virus Epstein-Barr possono anche presentarsi nei pazienti immunocompetenti, ma ad un incidenza più

bassa, mentre altri linfomi associati al virus Epstein-Barr sono virtualmente ristretti a individui infettati da HIV. Il linfoma plasmablastico è un linfoma diffuso a cellule B che è fortemente associato all'immunodeficienza e mostra un'alta prevalenza del virus Epstein-Barr ⁴⁰³. La prognosi del linfoma plasmablastico è negativa, con alte percentuali di mortalità entro 6 mesi.

Il sarcoma di Kaposi è un tumore linfoide vascolare che tipicamente colpisce individui affetti da HIV ma che può anche verificarsi con altre forme di immunosoppressione. L'Herpes virus umano 8 è riconosciuto come il principale patogeno del sarcoma di Kaposi. Sebbene l'Herpes virus 8 appaia come necessario per lo sviluppo del sarcoma di Kaposi, il solo virus non è sufficiente senza cofattori addizionali. Un'infezione da HIV costituisce il cofattore più importante nella patogenesi del sarcoma di Kaposi. L'herpes virus-8 e il citomegalovirus possono talvolta cooperare nello sviluppo del sarcoma di Kaposi orale. L'herpes virus-8 può riempire il flusso salivare di diversi milioni di copie di genoma per ml nei pazienti con sarcoma di Kaposi e nei pazienti trapiantati di rene ^{234,250}. Il sarcoma di Kaposi può apparire nei pazienti infetti da HIV come una radiolucenza asintomatica a livello apicale di elementi dentali apicali ed essere associato a grave parodontite marginale ^{346,377}.

La leucoplachia capelluta è associata all'immunosoppressione e principalmente ad infezione da HIV ⁴³⁸. La lesione della leucoplachia capellatura orale appare ai bordi laterali della lingua come una placca biancastra ipercheratosica filamentosa che non può essere rimossa. le

biopsie della leucoplachia capelluta mostrano iperplasia epiteliale e lieve infiammazione il virus Epstein-Barr può essere ritrovato negli strati superficiali dell'epitelio. Le tasche parodontali infettate dal virus Epstein-Barr a stretto contatto con i bordi laterali della lingua sono la principale fonte di infezione virale ⁴¹⁴. La trasformazione maligna della leucoplachia capelluta non è stata ancora evidenziata. La maggior parte delle lesioni orali da leucoplachia capelluta rispondono bene ad alte dosi di valacyclovir e il trattamento topico con violetto di genziana mostra risultati promettenti ^{251,402}.

Il papilloma virus umano infetta moltissimi individui ed è un serio patogeno nelle persone affette da HIV o in terapia immunosoppressiva. I papilloma virus sono quasi sempre la causa del cancro alla cervice uterina. Studi descrivono la presenza del papilloma virus nel 31-74% di tutti i tumori orali ⁴²⁹. Il cancro tonsillare mostra una stretta correlazione con i papilloma virus ^{312,321}. Le verruche (papillomi) sulle mani, o sui genitali o sui piedi raramente presentano un rischio di mortalità, ma possono causare problemi psicologici e sociali a coloro che ne sono affetti.

Il carcinoma orale a cellule squamose rappresenta il 2-3% di tutte le neoplasie maligne e ogni anno in tutto il mondo se ne verificano 300.000 nuovi casi ²³⁹. I papilloma virus sono stati correlati al carcinoma orale a cellule squamose e all'iperplasia epiteliale focale. Alcuni carcinomi orali a cellule squamose contengono sia i papilloma virus che il virus Epstein-Barr ^{250,319,451}. Il papilloma virus oncogeno di tipo 16 è presente in circa due terzi dei tumori orali positivi al

papilloma virus, ma raramente infetta la mucosa orale sana^{258,429}. Il DNA del papilloma virus-16 è stato rilevato nel 73% dei campioni di tumori inclusi in paraffina e le oncoproteine E6 o E7 o entrambe del papilloma virus-16 sono state sierologicamente evidenziate nel 64% dei pazienti con cancro orale²⁸⁷. Alcuni Autori hanno riportato che il carcinoma oro faringeo associato ad infezioni orali per alcuni dei 37 tipi di papilloma virus, all'infezione orale da papilloma virus-16 e a sieropositività per la proteina L1 del capsido del papilloma virus umano-16²⁸⁷. Il carcinoma orofaringeo da papilloma virus-16 è stato collegato al consumo di alcol e tabacco, ma può anche verificarsi in soggetti sieropositivi alla proteina L1 del papilloma virus-16 senza aver mai consumato alte quantità di tabacco o alcol^{287,429}. È stato recentemente scoperto che il carcinoma a cellule squamose della testa e del collo positivo al papilloma virus-16 è associato indipendentemente a numerose abitudini di tipo sessuale e al consumo di marijuana ma, al contrario del carcinoma a cellule squamose senza papilloma virus-16, non è stata trovata alcuna correlazione di tipo cumulativo con il fumo di tabacco, il consumo di alcool o la scarsa igiene orale³⁰⁵. Altri autori hanno mostrato l'importanza del cavo orale per la trasmissione del papilloma virus tra partner; un coniuge presenta un rischio dieci volte maggiore di acquisire un'infezione orale persistente da papilloma virus se il partner presenta già un'infezione orale da questo tipo di virus. Tumori orali positivi al papilloma virus mostrano anche una forte associazione con coloro che hanno numerosi partner con cui effettuano sesso orale²⁸⁷.

Fortunatamente gli attuali vaccini per il papilloma virus designanti per la prevenzione del cancro alla cervice diminuiranno probabilmente anche l'incidenza dei tumori orali associati a papilloma virus.

5.4 ALTRE MALATTIE ORALI VIRALI

La mononucleosi infettiva è una malattia linfoproliferativa autolimitante caratterizzata da mal di gola, febbre, adenopatie e splenomegalia. L'agente eziologico è un'infezione primaria da Epstein-Barr e occasionalmente un'infezione primaria da citomegalovirus. La mononucleosi infettiva si verifica più comunemente negli adolescenti e giovani adulti ed è estremamente lieve nei bambini piccoli. Pazienti con sintomi iniziali di mononucleosi infettiva mostrano un'alta quantità di virus al di fuori delle cellule infettate nella saliva. Il virus Epstein-Barr è solitamente acquisito con un contatto intimo originando il nome "malattia del bacio". I pazienti con mononucleosi infettiva generalmente ricevono solo trattamenti sintomatici e/o di supporto; comunque l'aspirina non è usata a causa del rischio di sindrome di Reye.

La xerostomia da sindrome di Sjögren è un disordine immunitario associato all'infiltrazione di autoanticorpi attivati prodotti dalle cellule B nelle ghiandole affette. La sindrome di Sjögren è stata correlata al virus C dell'epatite, al virus umano linfotropico T di tipo I, all'HIV e agli herpes virus. Infezioni croniche da virus linfotropici (virus C dell'epatite, virus Epstein-barr e virus umani 6 e 8) possono indurre segnali anti apoptotici che prolungano la vita delle cellule B attivate ²⁹⁴.

L'infezione acuta delle ghiandole salivari (sialoadenite sintomatica) ha un'incidenza di circa 27-59 persone su un milione ogni anno nel Regno Unito ²⁹¹. La sialoadenite può verificarsi in circa il 33% degli

individui con infezione clinica da virus di epatite C e mostra caratteristiche cliniche differenti da quelle della sindrome di Sjögren²⁵⁰. I genomi del virus dell'epatite C sono stati rilevati nella saliva dell'83% dei pazienti con sialoadenite associata al virus dell'epatite C³³⁰. Negli individui affetti da HIV il citomegalovirus può causare sialoadenite e xerostomia⁴⁶². Un modello animale ha mostrato il potenziale dismorfico del citomegalovirus sulle ghiandole salivari embrionali²⁵⁰.

Gli herpes virus possono causare patologie alle ossa mascellari. In un paziente con AIDS, il citomegalovirus è stato correlato ad ascesso parodontale con osteomielite²⁵⁰. Le lesioni orali da sarcoma di Kaposi possono causare grave riassorbimento dell'osso alveolare³⁴⁶. Una infezione da virus herpes zoster e citomegalovirus può verificarsi nell'osteomielite mandibolare, nella gengivite necrotizzante estensiva e in una esfoliazione spontanea dentaria³⁶³. L'herpes zoster orale può anche portare ad osteonecrosi mandibolare e ad esfoliazione spontanea dentaria nelle persone anziane e di mezza età^{279,309,365,373,470}. Una riattivazione del virus herpes simplex è stata associata ad alveolite secca post-estrattiva³¹⁶. Il linfoma di Burkitt africano collegato al virus Epstein-Barr può colpire le ossa mascellari dei bambini⁴⁵⁶.

La leucoplachia orale è stata collegata ai papilloma virus, principalmente ai tipi 16 e 18. Alcuni Autori hanno scoperto una predominanza dei papilloma virus 16 e 18 delle leucoplachie orali con vari gradi di displasia epiteliale e i meno virulenti virus 6 e 11 nelle leucoplachie con lieve o assente displasia²³². Altri autori hanno

mostrato che i papilloma virus si presentano nel 22% delle lesioni leucoplasiche orali ³⁶⁹. La leucoplachia proliferativa verrucosa che colpisce la gengiva ed altre aree orali presenta un alto rischio di trasformazione maligna in carcinoma a cellule squamose e può essere collegato al virus Epstein-Barr ²⁴⁵.

Il lichen planus orale appare tipicamente con delle striature bianche ipercheratosiche sulla mucosa buccale e mostra istologicamente un infiltrato linfocitico sottomucoso. Il lichen planus orale può essere parte della sindrome vulvovaginale-gengivale ³⁹⁷. La biopsia può essere necessarie per distinguere il lichen planus orale, il pemfigoide ed il pemfigo volgare. Casi di lichen planus orale sono stati associati al papilloma virus e virus dell'epatite C. Un recente studio ha suggerito che il lichen planus orale è significativamente associato a virus dell'epatite C e nell'Europa meridionale e in Giappone ma non in Europa settentrionale, forse per fattori genetici ²⁶⁶. L'herpes virus umano -6 svolge un ruolo importante in alcuni tipi di lichen planus orale ⁴⁷². Il lichen planus orale può progredire rapidamente in carcinoma a cellule squamose nei pazienti trapiantati e la trasformazione maligna può verificarsi specialmente nei pazienti con infezione da virus dell'epatite C ^{230,314}. Comunque la percentuale di trasformazione in tumore del lichen planus orale resta incerta e può non essere così alta come si riteneva in passato ³⁹⁷.

5.4.1 PARODONTITE AD EZIOLOGIA VIRALE

Il concetto che un'iper-infiemmazione gengivale non controllata indotta da batteri causi parodontite è stato messo in discussione. La ricerca attuale suggerisce che la risposta dell'ospite ad agenti parodontopatici includa l'interazione di processi sinergici ed antagonisti che possono coinvolgere pesanti reazioni infiammatorie così come l'immunosoppressione³⁰². Inoltre i virus umani sembrano partecipare allo sviluppo della malattia parodontale grave. Invece come discusso in altri studi, un'interpretazione virale-batterica della causa di parodontite sembra biologicamente plausibile, mentre un'ipotesi basata su un'eziologia esclusivamente batterica della malattia è confutata da evidenze cliniche inspiegabilmente gravi^{495,420}. Numerosi studi indicano l'Herpes virus come entità eziopatogenica della parodontite marginale e apicale⁴³⁵. Le lesioni parodontali avanzate presentano alte quantità di genoma di herpes virus, che spesso supera la quota del milione in un singolo sito sub gengivale⁴¹⁹. I siti di parodontite infettati da herpes virus mostrano una distruzione tissutale più estesa rispetto ai siti senza herpes virus e un'infezione attiva da Herpes virus o una transattivazione multipla da herpes virus nel parodonto sono associate ad un rischio elevato della progressione della malattia⁴³⁵. La grande maggioranza delle parodontiti croniche che hanno una bassa probabilità di progressione mostrano un'infezione da citomegalovirus più latente che attiva²⁵⁷. I livelli di espressione dei recettori 7 e 9 Toll-simili, che riconoscono il DNA virale è significativamente elevata nelle parodontiti rispetto alle

gengiviti ^{249,333}. L'anticorpo siero immunoglobulina G contro il citomegalovirus può essere rilevata più frequentemente nei pazienti con parodontite piuttosto che con gengivite ³³³. Un paziente con parodontite refrattaria e con un'alta quantità di virus Epstein-Barr è stato trattato con il farmaco antierpetico a base di valacyclovir HCL, 500 mg 2 volte al giorno per 10 giorni che ha ridotto drasticamente l'infezione virale e ha portato alla risoluzione rapida della malattia ⁴⁴⁵. Nelle lesioni endodontiche il virus Epstein-Barr e il citomegalovirus sono stati identificati geneticamente e sierologicamente in cellule giganti periapicali suggerendo un'infezione attiva virale ^{378,410,450}. Le cellule parodontali infettate da herpes virus sono particolarmente evidenti nei pazienti infetti da HIV ^{277,410}. Il genoma del citomegalovirus può anche essere rilevato nelle cisti periapicali, specialmente in quelle con un precedente episodio di infezione acuta ²³⁷.

Gli effetti citopatogenetici associati ad Herpes virus, così come l'immuno-evasione, l'immunopatogeneticità, la latenza, la riattivazione e il tropismo tissutale sono ritenuti una parte importantissima degli aspetti patogenetici della parodontite. Le infezioni attive da herpes virus causano il rilascio di citochine proinfiammatorie, che sono in grado di attivare linfociti T antivirali così come osteoclasti che portano riassorbimento osseo ^{255,435}. Il citomegalovirus e altri virus erpetici possono up-regolare l'espressione di metallo-proteinasi distruttive della matrice a partire da parte di fibroblasti gengivali e presumibilmente da altri tipi di cellule del parodonto infiammato ²⁵⁶.

Un'importante sinergia patogenetica esiste probabilmente tra gli herpes virus parodontali e i batteri parodontopatici ^{250,419}. Gli herpes virus possono creare un ambiente per la crescita dei batteri parodontopatici inducendo immunosoppressione, o generando nuovi siti di adesione per i batteri sulle cellule infettate o sulla membrana basale seguente alla distruzione dell'epitelio delle tasche parodontali ^{435,436,453}. Al contrario, i batteri parodontopatici possono supportare la moltiplicazione degli herpes virus parodontali. In un modello sperimentale *P. gingivalis* ha aumentato la virulenza dei citomegalovirus coinfectante, presumibilmente diminuendo i livelli di interferone γ tissutali ⁴⁴⁴. L'interferone γ , agendo da solo o in combinazione con altri interferoni può inibire la riattivazione dell'herpes virus dalla latenza, bloccare la replicazione virale e accelerare l'apoptosi cellulare ³⁹².

La capacità degli herpes virus di sovvertire meccanismi immunitari antibatterici può costituire un aspetto chiave della malattia parodontale ⁴¹⁹. Gli Herpes virus possono interferire con il complemento, i neutrofili e i macrofagi ^{300,352}. Le infezioni da herpes virus inducono proliferazione di cellule T citotossiche e rilascio di citochine pro infiammatorie che possono al contrario alterare la produzione di anticorpi antibatterici ³⁵². Pazienti con un basso livello di anticorpi specifici contro la maggioranza dei batteri parodontopatici sembrano presentare un aumentato rischio di lacerazioni parodontali ³⁹⁸. *P. gingivalis* e altre specie patogeniche esogene possono indurre una

riduzione dell'immunità antibatterica e prevalere sui batteri indigeni coesistenti.

Comprensibilmente la fase progressiva della parodontite consiste in eventi immunosoppressivi che scatenano un'attivazione degli Herpes virus parodontali e un rilascio di citochine pro infiammatorie e di metallo-proteinasi della matrice. Probabilmente non a caso tutti gli indicatori di rischio della parodontite sono virtualmente potenziali attivatori di un'infezione da herpes virus latente ^{399,437}. I conseguenti meccanismi patologici includerebbero quindi una soppressione delle difese antibatteriche locali dell'ospite e un'eccessiva crescita di batteri specifici parodontopatici, portando alla distruzione del tessuto parodontale.

Il papilloma virus, l'HIV, il virus umano linfotropico T di tipo I, l'epatite B e i torquetenovirus possono anche abitare le lesioni da parodontite ^{248,250,267,273,324,356,361,387,409,441}. Infatti, il parodonto infiammato può costituire il più ampio bacino orale per il virus Epstein-Barr, il citomegalovirus, il papilloma virus e il virus dell'epatite C ^{324,360,418}. Poco si sa ancora sull'importanza a livello parodontopatico di virus dei mammiferi non appartenenti alla famiglia degli Herpes virus.

5.5 INFEZIONI VIRALI IN ETA' PEDIATRICA

I bambini differiscono dagli adulti nel modo in cui sono colpiti dalle infezioni virali. I bambini infettati da virus rappresentano un ambiente ideale per la replicazione virale e per lo sviluppo dell'infezione. Ciò può essere dovuto alla mancanza di un sistema immunitario maturo ed efficace, che ostacoli la replicazione virale. Quando inoltre i bambini superano l'anno di età, aumentano la loro mobilità e la loro tendenza a scambiare fluidi organici senza possedere un concetto di igiene personale, diventando così veicoli di infezione più degli adulti.

L'evoluzione delle infezioni virali nei bambini è differente rispetto agli adulti, in quanto completamente diversa è la struttura del sistema immunitaria. Il sistema immunitario innato rappresenta la prima linea difensiva contro ogni possibile agente infettivo. Esso è costituito dalle superfici mucose, dalla cute intatta e dalle diverse secrezioni, che servono a bloccare ogni colonizzazione microbica. Tale immunità è presente nell'uomo fin dalla nascita ⁴⁹⁹. Lo sviluppo delle immunità adattativa e specifica dipendono dall'evoluzione del timo. Questo organo si sviluppa notevolmente nell'infanzia, sia a livello dimensionale che funzionale, raggiungendo le sue massime dimensioni attorno alla fase pre-adolescenziale. Il timo svolge un ruolo chiave da un punto di vista immunitario, in quanto interviene sulla prima regolazione dei linfociti T; essa prevede una selezione delle cellule T, eliminando tutte quelle che presentano un sistema di riconoscimento inefficace degli antigeni ⁴⁸⁹. I linfociti T che riconoscono come antigene molecole dell'organismo stesso, possono

causare reazioni autoimmuni e vengono eliminati, così come quelli che invece al contrario presentano attività immunitaria troppo scarsa⁵¹¹. I CD4+, i CD8+ e i linfociti T doppi negativi che presentano una corretta capacità di riconoscimento dei propri antigeni sono accettati dal timo, andando a costituire le basi per il corredo linfocitico futuro⁴⁸⁹. Le cellule B derivano dai linfoblasti midollari e sviluppano la propria corretta capacità antigenica nella milza, con meccanismi più complessi rispetto a quelli che supportano i linfociti T⁵⁰⁸. Studi su modelli animali circa le capacità antigeniche dei linfociti B hanno messo in evidenza un meccanismo di delezione clonale delle cellule B con caratteristiche autoimmuni. La questione della delezione è comunque poco conosciuta, in quanto le cellule B auto-reattive non possono produrre auto-anticorpi plasmatici in assenza di cellule T specifiche.

La lenta maturazione del timo lascia quindi spazio alle infezioni microbiche in età neonatale e pediatrica. Accade quindi con frequenza che un antigene virale possa non essere riconosciuto come tale dal sistema immunitario in questa fase ed inoltre, considerando tali antigeni come propri dell'ospite, accade anche che i cloni specifici delle cellule T che abbiano riconosciuto invece tali antigeni, siano eliminati in quanto potenziali induttori di una reazione infiammatoria autoimmune.

Questo meccanismo consente all'infezione virale una facile propagazione, in quanto l'ospite è carente proprio dei ceppi cellulari reattivi nei confronti degli stessi antigeni patogeni. Tale condizione è

purtroppo frequente in molti casi di infezione verticale madre-figlio ed una di queste è l'epatite B ^{500,502}.

A seconda dell'età di insorgenza, un'infezione può essere più o meno grave nel bambino piuttosto che nell'adulto, e ciò accade per numerose patologie pediatriche come, le infezioni da Herpes virus ⁴⁸⁵. Per quanto riguarda l'herpes-virus di tipo 2 in particolare, la trasmissione è rapida, con la possibilità di viremia ed encefalite erpetica, risolvibili comunque con terapia sistemica a base di aciclovir e ganciclovir ⁴⁸⁵. A differenza del neonato, l'infezione da Herpes simplex 2 nell'adulto ha un'evoluzione diversa, in quanto le vescicole erpetiche si concentrano a livello genitale o orale e se il sistema immunitario dell'ospite è efficiente, anche le eventuali recidive restano localizzate.

Il virus dell'epatite A e il varicella-zoster presentano invece una modalità infettiva più grave nell'adulto piuttosto che nei soggetti pediatrici. In particolare il virus dell'epatite A si diffonde per via oro-fecale, quindi attraverso l'assunzione di acqua o cibi contaminati dalle feci provenienti da soggetti malati e quindi contenenti grandi quantità di virus ⁴⁹⁴. Se l'infezione avviene in età pediatrica, può anche rimanere in una situazione sub-clinica, anche se nei Paesi in via di sviluppo, dove vi è maggiore prevalenza, circa il 90% della popolazione giovanile presenta anticorpi specifici. Al contrario se l'infezione è contratta in età adulta, essa è sintomatica e talvolta può esitare in un'epatite fulminante, che necessita di trapianto epatico immediato ⁴⁹⁴.

Una situazione più complessa è quella del virus varicella-zoster, che generalmente contagia i pazienti pediatrici in un'età compresa tra 1,5 e 5 anni e si risolve in circa due settimane. Le modalità di contagio sono estremamente semplici come l'inalazione dalle vie aeree o il contatto fisico, che rendono poi la diffusione e la replicazione ⁴⁸⁰. Al contrario quando il virus recidiva nuovamente nell'adulto, si manifesta invece in maniera spesso dolorosa, con placche a livello toracico a disposizione dermatomera (Fuoco di Sant'Antonio). Tale disposizione è dovuta al fatto che tali virus risiedono nei gangli paravertebrali ⁴⁸⁰. Coloro che non entrano in contatto con il virus in età infantile, presentano un aumentato rischio di sviluppo di infezioni primarie in età più avanzata, probabilmente a causa di una maggiore risposta immunitaria. In tal caso le complicanze più frequenti sono polmonite, encefalite ed a volte anche danni a livello celebrale ⁴⁹⁰. Se la trasmissione avviene da madre infetta primariamente, il neonato non eredita gli anticorpi e quindi presenterà un rischio di infezione mortale estremamente alta nei primi sei mesi ⁵⁰⁵.

Se un paziente ha già contratto il virus in età pediatrica, una reinfezione da adulto è un evento assai raro, mentre può accadere che si verifichino episodi di Fuoco di Sant'Antonio per riattivazione di un virus latente nell'ospite ⁴⁸⁷.

Un ulteriore esempio di infezione virale con risposta immunitaria differenziata tra adulto e bambino è quella da rotavirus, che causa dissenteria spesso mortale soprattutto nei bambini dei Paesi in via di

sviluppo, mentre presenta una sintomatologia più lieve negli adulti
477,484 .

Le infezioni virali del cavo orale, in base ad un criterio topografico, possono essere suddivise in due categorie principali. La prima comprende i virus che si replicano nel cavo orale e generano manifestazioni cliniche della malattia nel cavo orale o a livello dei tessuti periorali. La seconda categoria include invece tutte le infezioni che non si presentano con una sintomatologia clinica evidente nel cavo orale, ma che utilizzano l'apparato oro-faringeo come canale di contagio.

5.5.1 VIRUS ORALI IN ETA' PEDIATRICA

5.5.1.1 ENTEROVIRUS

Gli enterovirus sono virus a singola catena di RNA non capsulati, con notevoli capacità di penetrazione cellulare e di replicazione⁴⁸⁷. Questi virus sopravvivono a pH acido e quindi sono a proprio agio nello stomaco, diffondendosi per via oro-fecale. Al genere degli enterovirus appartengono le specie coxsackie A e B. La prima specie è responsabile della malattia mano-piede-bocca, anche se il virus B può causare situazioni patologiche sovrapponibili. Questa malattia è caratterizzata da febbre e vescicole orali e a livello degli arti². L'infezione, generalmente benigna, non può comunque essere curata, ma anzi può esitare a volte nei bambini in meningo-encefalite o in complicanze polmonari⁴⁸².

5.5.1.2 MORBILLO

Il virus del morbillo è un virus a singola catena di RNA, appartenente alla famiglia dei paramixoviridae⁴⁸⁰. La trasmissione è diretta, con un periodo di incubazione inferiore ad una settimana. Segni e sintomi prodromici sono febbre, astenia, difficoltà respiratorie ed esantema caratterizzato da macchie rosse sul tronco⁴⁸¹. Da un punto di vista orale, è possibile invece osservare le macchie di Koplik, che sono piccole lesioni ulcerative eritematose a livello della mucosa, con presenza di aree necrotiche ed infiltrato infiammatorio⁵¹⁴. Questa malattia presenta comunque una bassa prevalenza nei Paesi occidentali, in quanto già da tempo è disponibile il vaccino MMR, che è efficace contro parotite, rosolia e appunto morbillo. Le complicanze che il virus del morbillo può portare sono l'encefalite, che può esitare in una panencefalite sub sclerosante con danni cerebrali spesso irreversibili⁵⁰⁷.

Recentemente si è sospettato che proprio il vaccino MMR sia responsabile di effetti collaterali come l'autismo, anche se studi a riguardo non hanno evidenziato alcuna correlazione^{509,514}.

5.5.1.3 PAROTITE

Il virus della parotite causa infiammazione e gonfiore a livello delle ghiandole parotidi, da cui il nome della patologia. L'infezione si risolve di solito spontaneamente entro 15 giorni dalla manifestazione dei primi sintomi⁴⁹³. Il coinvolgimento parotideo può essere mono o bilaterale, in assenza di gonadi mature. Nel caso in cui il soggetto

maschio entri in contatto con l'agente patogeno in età adulta e in assenza di anticorpi, sono proprio le gonadi ad essere coinvolte, causando infertilità.

5.5.1.4 VIRUS HERPES SIMPLEX 1

L'infezione primaria da herpes virus tipo 1 avviene solitamente nel periodo neonatale, rimanendo nella maggior parte dei casi in una condizione subclinica ⁴⁹⁶. Un'infezione primaria a livello clinica si manifesta con una gengivo-stomatite erpetica ⁴⁹⁶. Le caratteristiche principali sono prima di tutto il dolore e la presenza di vescicole riempite con liquido chiaro a livello gengivale e mucoso. A causa del dolore, il bambino può avere difficoltà nella suzione, anche se la malattia si risolve sempre spontaneamente. Non è necessaria terapia farmacologica, anche se la somministrazione di aciclovir può semplificare il caso clinico.

Diversa è la situazione dell'herpes ricorrente, che si manifesta invece con l'herpes labialis. L'area cutanea maggiormente coinvolta è il vermiglio labiale e le commessure. Si verifica come nuova manifestazione di un Herpes virus 1 latente a livello dei gangli trigeminali, mettendo in evidenza la tipica neurotropia del virus. Clinicamente l'herpes labialis può presentarsi in contemporanea con altre infezioni locali e sistemiche o con eventi particolarmente improvvisi e traumatici a livello cutaneo, come una prolungata esposizione ai raggi solari. Il virus si replica a livello trigeminale e raggiunge la superficie cutanea attraverso gli assoni del nervo

sensitivo. La manifestazione prodromica è essenzialmente un formicolio a livello dell'area interessata, fino alla formazione di vescicole, cosiddette "a grappolo", nelle quali è presente il virus, ancora in fase di replicazione. Tali vescicole sono particolarmente dolorose, anche se spariscono entro una settimana. Il decorso può comunque essere abbreviato applicando topicamente aciclovir in pomata nelle primissime fasi della manifestazione clinica. Nonostante il quadro estremamente benigno della patologia, può capitare a volte che si verifichi una paralisi di Bell ⁴⁸⁷. Alcuni autori hanno proposto che la riattivazione dell'herpes virus può causare ritardo nella guarigione di siti post-estrattivi o addirittura facilitare lo sviluppo di alveoliti secche ^{491,492}.

L'Herpes virus 1 può causare anche encefalite indipendentemente dall'età del paziente, in assenza di qualunque altra sintomatologia ⁵¹². In questi casi il virus si diffonde a livello del sistema nervoso centrale, in particolare a livello gliare e raggiungendo poi il cervello. La terapia in questi casi è aciclovir per via sistemica.

Anche la stomatite aftosica probabilmente presenta eziologia virale, anche se questo non è stato ancora scientificamente dimostrato; i virus implicati sarebbero il Picornavirus 6, l'Herpes virus 1 e l'Herpes virus 2 ⁴⁸⁰. La stomatite aftosica si presenta con ulcere estremamente dolorose e la terapia è sintomatica, anche se le lesioni si risolvono generalmente in una settimana.

5.5.1.5 VIRUS EPSTEIN-BARR

Al contrario degli Herpes virus 1 e 2, il virus Epstein-Barr non è neurotropo, bensì linfotropo, trovando il suo spazio replicativo a livello dei linfociti B. Il virus infetta oltre il 90% degli esseri umani in tutto il mondo attraverso la saliva⁵¹⁵. L'infezione avviene solitamente in età pediatrica e si mantiene a livelli subclinici. Nel caso in cui l'età di insorgenza fosse quella adolescenziale, si verifica la mononucleosi infettiva, detta anche la malattia del bacio. Tale patologia è caratterizzata da faringite, linfadenopatia, febbre e malessere⁵¹⁵. Il virus Epstein-Barr è stato associato anche ad alcune neoplasie come il carcinoma naso-faringeo ed il linfoma di Burkitt⁴⁹⁷.

5.5.1.6 PAPILOMAVIRUS

Il papillomavirus umano è quello che genera le verruche. Alcuni papillomavirus presentano anche alto rischio di cancerogenicità a livello della cervice uterina (papillomavirus 16 e 18) e del cavo orale, provocando il condiloma acuminato (papillomavirus 6 e 11) ed altre neoplasie della testa e del collo (papillomavirus 16)^{480,506}. Il papillomavirus solitamente infetta i bambini di età inferiore ad un anno, probabilmente attraverso una trasmissione verticale materna o durante l'adolescenza, nel periodo del primo rapporto sessuale. In ogni caso, soprattutto per i giovani adulti, è importante una monitoraggio continua per evitare lo sviluppo di neoplasie maligne da papillomavirus⁴⁸⁰. Una possibile evoluzione in ambito preventivo potrebbe essere l'inserimento del vaccino contro il papillomavirus nel

contesto delle vaccinazioni obbligatorie infantili. Il vaccino presenta elevata efficacia nella prevenzione delle lesioni da papillomavirus sia a basso che ad alto rischio di cancerogenesi ^{495,503}.

5.6 VIRUS PATOGENI TRASMISSIBILI DURANTE TRATTAMENTI ODONTOIATRICI IN ETA' PEDIATRICA

5.6.1 IMMUNODEFICIENZA DI TIPO 1 (HIV-1)

Il virus umano dell'immunodeficienza di tipo 1 (HIV-1) può causare indirettamente una patologia a livello del cavo orale ed essere anche trasmesso durante trattamenti odontoiatrici. In età infantile, questo virus viene trasmesso dalla madre infetta verticalmente. Il contagio da HIV-1 può avvenire al momento del parto (20% dei casi), in fase uterina (5% dei casi) o durante l'allattamento al seno (15% dei casi). L'infezione può essere comunque evitata fino al 70% dei casi attraverso una terapia antivirale mirata effettuata dalla madre prima del parto ⁵⁰⁴. L'infezione deriva dalla soppressione dell'immunità mediata dalle cellule T, che se non opportunamente trattata conduce alla morte del soggetto ad opera di altri agenti infettivi non adeguatamente bloccati dal sistema immunitario dell'ospite. Le fasi avanzate dell'infezione da HIV-1, a causa dell'immunodeficienza, portano all'insorgenza di infezioni opportunistiche come quelle presenti in soggetti trapiantati o immunodepressi per altre cause. La candidosi è la patologia opportunistica con più alta prevalenza diagnosticata tra i pazienti pediatrici malati di AIDS ⁴⁸⁰. In queste situazioni la candidosi si presenta con placche di colore biancastro a livello della lingua e delle mucose orali, che possono essere facilmente rimosse, ma che nelle situazioni più severe possono

estendersi anche all'esofago. Le infezioni da Candida possono essere risolte attraverso un'adeguata terapia antimicotica ⁵⁰³. Le infezioni opportunistiche possono essere guarite grazie al ripristino del sistema immunitario stesso mediante la terapia antiretrovirale tradizionale (ART), la terapia antiretrovirale altamente attiva (HAART) o anche grazie alla terapia antiretrovirale combinata (CART).

Un potenziale effetto avverso può essere lo sviluppo di ceppi di HIV resistenti alla terapia antiretrovirale e ciò può essere più probabile per le infezioni contratte in età pediatrica, che necessitano quindi di una terapia adeguata per tutta la vita del paziente ⁴⁸³. A tal proposito è fondamentale monitorare l'efficacia della terapia in quanto ogni infezione delle cellule T può indurre una mutazione virale, a causa della mancanza di capacità di cambiamento dell'enzima trascrittasi inversa ⁵¹⁶. Di conseguenza il virus HIV può infettare nuove cellule aumentando il rischio di sviluppare ceppi resistenti alla terapia farmacologica. I farmaci che si introdurranno in futuro contro l'HIV avranno una più lunga emivita e ridurranno la necessità di assumere la terapia secondo posologie comunque difficilmente gestibili.

Nel 1985 fu sviluppato il primo inibitore dell'HIV-1, che fu chiamato AZT ed è l'analogo del nucleoside 3'-azido-3'-desossitimidina ⁵⁰¹. L'AZT ha la funzione di inibire la trascrittasi inversa del virus HIV-1, che viene utilizzata dal virus per sintetizzare DNA virale a partire dal RNA ⁵⁰¹. Le mutazioni si accumulano nel genoma virale in questa fase e sono il risultato della capacità dell'enzima trascrittasi inversa di correggere tali errori. Il DNA virale è importato nel nucleo ed

integrato all'interno del genoma dell'ospite grazie all'enzima virale integrasi, con lo scopo di generare DNA provirale. Nella fase di replicazione del DNA virale e nella sintesi di proteine strutturali, è raro che si verificano nuove mutazioni. Le proteine virali si legano alla membrana cellulare e si assemblano in particelle che fuoriescono dalla membrana cellulare. Le nuove particelle di HIV non sono ancora mature o infettive poiché la poliproteina gag che compone il capsido virale necessita di essere prima processata dalla proteasi virale. Solo dopo questa fase il virione maturo diventa infettivo e può proseguire il ciclo vitale virale. Varie fasi del ciclo vitale virale sono bersaglio di numerosi farmaci antivirali. La terapia dell'HIV è stata modificata a partire dal 1995 grazie all'introduzione degli inibitori della proteasi ed attualmente si è arrivati ad una terapia composta da almeno tre diversi componenti antivirali: un inibitore nucleosidico della trascrittasi inversa, un inibitore non-nucleosidico della trascrittasi inversa, che non colpisce il sito attivo dell'enzima ed un inibitore della proteasi^{480,498}. Oltre allo sviluppo di farmaci contro nuovi obiettivi virali, come il processo di fusione e l'integrasi, quelli già esistenti sono in fase di riformulazione in modo da essere concentrati in un'unica riformulazione con una superiore emivita.

5.6.2 EPATITE B

Il virus dell'epatite B non si replica e non provoca direttamente lesioni al cavo orale. Comunque un paziente infetto, soprattutto in età pediatrica, può presentare alti livelli di replicazione virale negli

epatociti e quindi resta estremamente infettivo⁴⁷⁹. Oltre un terzo della popolazione mondiale mostra la presenza sierologica di una precedente infezione da virus dell'epatite B. L'infezione da virus dell'epatite B è composta da tre diverse: la prima è l'infezione acuta virale. In questa fase, che talvolta resta subclinica, si presentano i classici sintomi di patologia epatica, soprattutto negli adulti, in quanto i bambini raramente manifestano gli aspetti acuti della malattia⁴⁷⁹. I pazienti pediatrici invece arrivano direttamente alle fasi successive: un'infezione cronica con alti livelli di replicazione virale, che è la fase infettiva e quindi una fase in cui vi è una minore replicazione virale, non infettiva, durante la quale il sistema immunitario dell'ospite ha eliminato la maggior parte degli epatociti infettati. In ogni caso un paziente può scambiare tali fasi, permettendo nuovamente la replicazione virale. Durante la fase infettiva, il bambino è fortemente contagioso e presenta un aumentato rischio di grave patologia epatica. I pazienti con alta carica virale possono avere oltre 10^{10} particelle virali per millilitro di sangue. Sebbene un millilitro di sangue sia una quantità estremamente ridotta, basti pensare che 1 μ l di sangue può contenere tra 10^5 e 10^7 particelle virali, facilmente trasmissibili con una puntura accidentale, un morso o addirittura utilizzando uno spazzolino di un soggetto infetto. Gli operatori odontoiatrici dovrebbero essere tutti vaccinati contro il virus dell'epatite B, così come i bambini presenti in una scuola dell'infanzia quando anche solo un loro compagno presentasse un'infezione cronica da virus

dell'epatite B, con alta carica virale durante la fase infettiva della malattia.

Il trattamento per le infezioni croniche da virus dell'epatite B non è attualmente pienamente efficace, in quanto richiede spesso una terapia continua, anche se nuovi componenti antivirali sono in fase di studio ^{486,510}. Si arriverà quindi ad una terapia combinata simile a quella utilizzata per il virus HIV-1, combinando farmaci per ogni fase del processo di replicazione cellulare.

L'efficacia del vaccino contro il virus dell'epatite B fu mostrata per la prima volta nel 1985 a Taiwan, dove tutti i neonati furono vaccinati contro questo virus per prevenire la trasmissione verticale dalla madre ⁵⁰². Nel 2005 la prevalenza dell'infezione cronica da virus dell'epatite B è scesa dal 20% nei bambini nati prima del 1985 al 2% nei bambini vaccinati alla nascita ⁵⁰². Si evidenzia quindi l'elevata efficacia di questo vaccino.

5.6.3 EPATITE C

Il virus dell'epatite C è un virus capsulato con una singola catena di RNA positiva di 10 kb ⁴⁸⁰. Fortunatamente il virus dell'epatite C è raro nell'infanzia. Esistono comunque due modi con i quali il virus dell'epatite C può infettare i pazienti pediatrici: alla nascita, attraverso una trasmissione verticale da madre infetta con virus C o attraverso un'infezione nosocomiale, a causa del contatto con strumentario o prodotti contaminati. Così come nell'adulto, l'infezione neonatale o

infantile da virus C cronicizza facilmente. In passato si riteneva che un'infezione in età pediatrica presentasse una sintomatologia più lieve, anche se dati recenti hanno mostrato una notevole sofferenza epatica anche nei bambini infetti ⁴⁸⁸. Ne consegue che il trattamento è valido anche per i bambini; questo è costituito da una combinazione di interferone- γ e ribavirina sia per gli adulti che per tutti i soggetti con età superiore ai 3 anni. Negli adulti come nei bambini, l'infezione da virus dell'epatite C di tipo 1 è la più difficile da trattare. Un ulteriore fattore negativo è che non esiste ancora nessun vaccino contro il virus dell'epatite C.

6. INFEZIONI FUNGINE DELLE MUCOSE

ORALI

La frequenza delle infezioni mucose e cutanee di origine fungina è in aumento in tutto il mondo. Una ragione è che le infezioni di candida orale sono virtualmente epidemiche e si manifestano in un'ampia varietà di aspetti clinici e spesso tale verità è dovuta all'infezione da HIV⁶¹⁰. Questo range di forme che variano dalla pseudomembranosa classica alla nuova descritta variante eritematosa e all'eritema gengivale lineare si verificano negli individui affetti da HIV⁵⁴⁹.

Le alte prevalenze ed incidenze della candidosi orale sono il risultato di una molteplicità di fattori predisponenti che facilitano la trasformazione della candida commerciale in parassitica. È stato riportato che l'84 – 100% di individui affetti da HIV sviluppano almeno un episodio di colonizzazione da candida ed oltre il 90% degli individui affetti da HIV sviluppa candidosi pseudo membranosa sintomatica o “mughetto” come è più classicamente conosciuta⁵¹⁹. Infatti la candidosi orofaringea può essere usata per prevedere i progressi per l'infezione da HIV in quanto circa il 50% di questi ultimi individui che presentano candidosi orale sviluppano la sindrome di immunodeficienza (AIDS) entro 3 anni⁶⁰⁸. La crescente prevalenza di questi e di altri gruppi di pazienti compromessi, l'uso di antibiotici ad ampio spettro, di farmaci citotossici, di corticosteroidi e la presenza di disordini endocrini come il diabete mellito e carenze nutrizionali hanno trasformato la candidosi orale in una malattia relativamente comune⁶⁰⁷.

La *Candida albicans* è la specie principale associata all'uomo tra i funghi orali ed è la più virulenta tra le specie patogeniche di *Candida*⁶¹³. Una possibile ragione è l'abilità della *C. albicans* di trasformarsi da blastospora in ifa. I tubi germinativi che mostrano un'insorgenza di una crescita delle ife di *C. albicans* sono i principali indiziati nella patogenesi della candidosi⁵³⁹. Comunque anche altre specie di *Candida* sono patogeniche per l'uomo come la *C. glabrata*, la *C. tropicalis*, la *C. parapsilosis*, la *C. guilliermondii* e la *C. krusei*⁶³¹. La *Candida dubliniensis* è una specie recentemente isolata da lesioni orali in pazienti affetti da HIV⁶²². La *C. dubliniensis* è stata osservata sulla superficie di varie lesioni orali compresa la parodontite.

Clinicamente la candidosi orale può essere fonte di frequente discomfort, dolore, disgeusia e avversione al cibo. In alcuni pazienti con infezione da HIV, la candidosi orale può anche secondariamente portare e gravissime complicanze come la candidosi esofagea. Sono disponibili numerosi agenti antifungini sia per via topica che sistemica come terapia della candidosi orale⁵⁵⁹. Questi variano dai classici polieni agli antimicotici con azolo, che includono gli imidazoli e i recenti triazoli. Altri agenti potenzialmente efficaci in fase di sviluppo includono i saperconazoli e i voriconazoli nonostante la disponibilità di numerosi agenti il fallimento terapeutico non è evento raro. Nel cavo orale l'effetto diluente della saliva e l'azione detergente della muscolatura orale tendono spesso a ridurre la quantità di antifungineo al di sotto delle concentrazioni terapeutiche efficaci. Inoltre i biofilms di *Candida* che resistono agli agenti antifungineo sia sulle mucose che

sulle superfici delle protesi possono contribuire al fallimento terapeutico. Infine, le scarse complicanze risultanti da un frequente somministrazione di farmaci e associate ad effetti avversi, insieme a un pregressa immunodeficienza ed è una resistenza farmacologica possono anche danneggiare la terapia, portando a una recidiva cronica della malattia.

In aggiunta al comune disturbo della candidosi stanno emergendo altri tipi di infezioni fungine, come l'istiotplasmosi, la penicillosi, la coccidiomicosi e la mucormicosi specialmente nei soggetti affetti da HIV ^{612,618}. In alcune di queste infezioni come la blastomicosi sudamericana, possono manifestarsi segni precoci della malattia sul tessuto gengivale.

6.1 QUADRI CLINICI DELLA CANDIDOSI

Le infezioni da *Candida* della mucosa orale si manifestano in vari modi. Generalmente la candidosi orale può essere suddivisa in due grandi categorie, chiamate candidosi primaria e candidosi secondaria⁶¹⁵. Quindi le infezioni candidosiche confinate ai tessuti orali e periorali sono considerate candidosi orale primarie e i disordini dove la candidosi orale è manifestazione di infezione candidosiche sistemiche sono considerate come candidosi orali secondarie¹⁶⁹. Le candidosi primarie sono suddivise in tre grandi tipi: psudomenbranaosa, eritematosa ed iperplastica. Quest'ultima solitamente si manifesta come una lesione cronica, mentre le altre si presentano in generale come acute. In aggiunta a queste lesioni candidosiche sono state descritte delle lesioni associate a *Candida*, a causa della loro eziologia multifattoriale e con o senza concomitante presenza di infezione candidosica. Queste sono la stomatite da protesi, che appare principalmente nei portatori di protesi mobile totale, la cheilite angolare, la glossite romboidale mediana e l'eritema gengivale lineare recentemente descritto.

Ci sono altri due condizioni candidosiche descritte in letteratura: la cheilo-candidosi e la candidosi cronica multifocale che non appartengono a nessuna delle varianti descritte sopra. La cheilo-candidosi si presenta come una lesione cronica ulcerativa e granulosa del vermiglio del labbro inferiore^{534,563}. La candidosi cronica multifocale causa lesioni croniche, eritematose e a placca in due o più siti della bocca, del palato o del dorso linguale.

6.1.1 CANDIDOSI ORALE PRIMARIA

6.1.1.1 CANDIDOSI PSEUDOMEMBRANOSA

La candidosi pseudomembranosa o “mughetto” è tipicamente un’infezione acuta ma può persistere per mesi o anni in pazienti in terapia con corticosteroidi o con aerosol, soggetti affetti da HIV e in pazienti affetti da altri tipi di immunodeficienza. La candidosi pseudomembranosa colpisce circa il 5% dei nuovi nati e il 10% dei soggetti anziani debilitati, specialmente i malati terminali e quelli con condizioni patologiche progredite come la leucemia ed altri tumori maligni. Sebbene la candidosi pseudomembranosa sia considerata la forma classica di candidosi orale, in realtà la variante eritematosa è quella che appare più frequentemente ed anche la meno comunemente diagnosticata ⁵⁶³.

Il mughetto è caratterizzato da placche bianche sulla superficie della mucosa orale e labiale, sulla lingua e il palato molle. Queste lesioni si sviluppano e formano placche confluenti che ricordano il latte cagliato e possono essere rimosse facilmente con una lama o una garza rivelando una base eritematosa ed erosiva al di sotto ¹⁶⁹. Una placca bianca consiste in una massa complessa di ife fungine, blastospore, batteri, cellule infiammatorie, fibrina e cellule epiteliali desquamate. I pazienti, specialmente diabetici, con ampie aree erosive, possono riferire bruciore o disfagia (figura 10). Le precedenti descrizioni di una mucosa sanguinante dopo rimozione delle placche sono piuttosto fuorvianti in quanto le ife candidosiche non penetrano mai virtualmente oltre il più lontano strato cheratosico non vitale. Se si

osserva una superficie sanguinante quindi il paziente probabilmente presenta un problema concomitante erosivo come il pemfigo.

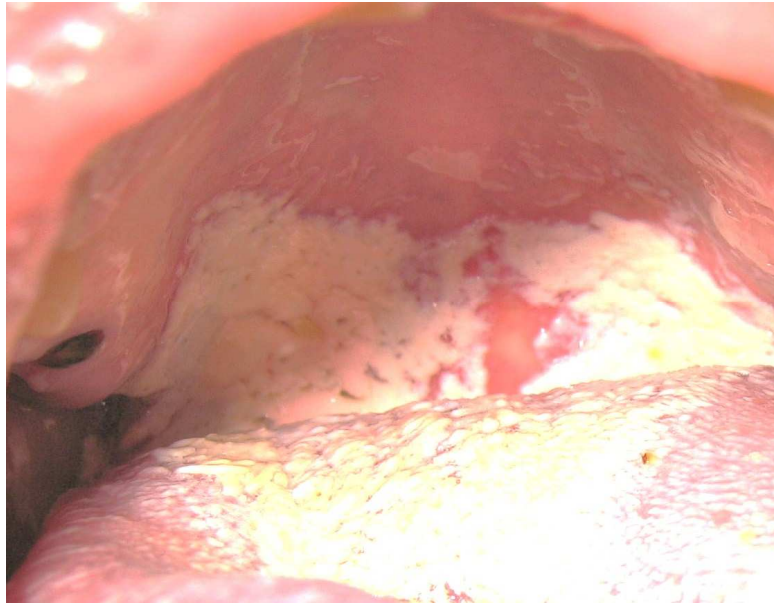


Figura 10. Quadro clinico di candidosi pseudomembranosa su paziente diabetico.

6.1.1.2 CANDIDOSI ERITEMATOSA

La candidosi eritematosa, che in passato era conosciuta come dolore della bocca da antibiotico, è associata a corticosteroidi, antibiotici ad ampio spettro e recentemente da infezioni da HIV. La candidosi eritematosa può svilupparsi come conseguenza della candidosi pseudomembranosa acuta persistente quando le pseudomembrane vengono perse. Essa può svilupparsi de novo o nelle infezioni da HIV può preceder la candidosi pseudomembranosa. La candidosi

eritematosa è la più comune variante di candidosi osservata nelle infezioni da HIV ⁶¹². Clinicamente la candidosi eritematosa appare come una placca sul dorso medio-posteriore della lingua, sul palato o la mucosa orale. Le lesioni sul dorso della lingua mostrano delle aree depapillate. Una lesione “a bacio” può essere vista sulla superficie del palato al di sopra della lesione linguale. Le lesioni eritematose palatali sono particolarmente comuni nelle infezioni da HIV. La candidosi eritematosa è solitamente asintomatica e può rimanere in uno stadio subclinico se l’operatore non avvisa il paziente durante un esame ispettivo della mucosa orale.

Al contrario della variante asintomatica della candidosi eritematosa, un tipo più diffuso può essere osservato in alcuni individui esposti a terapia antibiotica ad ampio spettro. In questo caso i pazienti riferiscono una sensazione di calore o bruciore della bocca sebbene la superficie dorale della lingua mostri una perdita drammatica delle papille filiformi.

6.1.1.3 CANDIDOSI IPERPLASTICA

La candidosi iperplastica o leucoplachia candidosica è la meno comune delle tre varianti principali di candidosi. La candidosi iperplastica appare con lesioni croniche lievemente rilevate che variano da una forma piccola palpabile, traslucida, biancastra a placche larghe, dense, opache con aree dure e ruvide alla palpazione. Le lesioni possono anche presentarsi come omogenee o chiazze (lesioni nodulari). Al contrario della candidosi pseudomembranosa le

lesioni della candidosi iperplastica non possono essere rimosse, infatti le leucoplachie solitamente si verificano su una o entrambe le guance a livello commessurale e meno frequentemente sulle superfici laterali della lingua. Le leucoplachie candidosiche a trasformazione maligna; in alcuni studi superiore al 15% ¹⁶⁹. L'istologia è caratterizzata da ife candidosiche all'interno di un epitelio iperblastico accompagnato da un infiltrato infiammatorio (figura 11). Idealmente la biopsia dovrebbe essere effettuata quando le lesioni non rispondono a terapia antifunginea.



Figura 11. Candidosi cronica iperplastica del palato molle.

6.1.1.4 LESIONI ASSOCIATE A CANDIDA

In aggiunta alle tre principali varianti da candidosi orale vi sono altre lesioni orali associate a candida in cui la Candida non è il solo agente eziologico.

6.1.1.5 STOMATITE DA PROTESI ASSOCIATA A CANDIDA (CANDIDOSI CRONICA ATROFICA O DOLORE ORALE DA PROTESI)

Nella stomatite da protesi associata a Candida, la caratteristica clinica è l'eritema cronico e l'edema mucoso a contatto con la superficie della protesi. L'eziologia primaria è una crescita della Candida commensale tra la superficie della protesi ed il palato dove il flusso salivare è ridotto. La mucosa al di sotto delle protesi mandibolari di solito non è mai coinvolta. A parte che per un dolore occasionale questa condizione è solitamente asintomatica, comunque i pazienti possono riferire una cheilite angolare associata e un sensazione di bruciore o formicolio al di sotto della protesi. La stomatite da protesi associata a candida è stata classificata in 3 sottotipi a seconda della gravità della lesione:

- Tipo 1: semplice infiammazione localizzata o iperemia puntiforme;
- Tipo 2: un tipo eritematoso o generalizzato semplice con un eritema più diffuso che coinvolge in parte o del tutto la mucosa coperta dalla protesi;
- Tipo 3: un tipo granulomatoso o papillare che coinvolge comunemente la parte centrale del palato duro e i processi alveolari⁵⁹³.

Si riteneva che quest'ultimo tipo di lesione papillare fosse essenzialmente causato dalla presenza delle protesi. Comunque,

recenti studi su lesioni simili in soggetti infettati da HIV affermano che la protesi non è il fattore eziologico principale della malattia ⁶⁰¹. In aggiunta alla Candida, cofattori come infezioni batteriche, irritazioni meccaniche o più raramente reazioni allergiche al materiale della protesi, sono ritenuti responsabili della stomatite da protesi.

6.1.1.6 CHEILITE ANGOLARE

La cheilite o stomatite angolare è caratterizzata da dolore, eritema e fessurazioni agli angoli della bocca ed è comunemente associata alla stomatite indotta da protesi. I funghi e batteri (specialmente *S. aureus*) sono entrambi implicati come fattori predisponenti e interagenti tra loro ^{17,27,114}.

La stomatite angolare può presentarsi con una iniziale caratteristica isolata di anemia o deficienza vitaminica, come la deficienza di vitamina B12, che viene risolta una volta che la malattia già presente è stata trattata. L'anemia da carenza di ferro e altre carenze vitaminiche potrebbero predisporre alla cheilite angolare. La lesione è il risultato di distruzione causata da pieghe profonde, occlusali della pelle agli angoli della bocca negli individui con una ridotta altezza facciale causata dall'età avanzata o da protesi incongrue. Comunque, la stomatite angolare è osservata nei giovani individui con infezione da HIV, possibilmente a causa di un deficit immunitario ⁶¹². La cheilite esfoliativa, prevalentemente del labbro inferiore, potrebbe anche essere associata a Candida, specialmente nei pazienti affetti da HIV e

potrebbe essere considerata un'altra variante della candidosi nei pazienti con AIDS ⁶⁰¹.

6.1.1.7 GLOSSITE ROMBOIDE MEDIANA

La glossite romboide mediana è caratterizzata da un'area di atrofia papillare di forma ellittica o romboide, posizionata centralmente e simmetricamente sulla linea centrale della lingua, davanti alle papille circumvallate. Talvolta essa si presenta con aspetto iperplastico, esofitico o anche lobulato. L'importanza della Candida nell'eziologia della glossite romboide mediana è ancora controversa poiché un insieme di batteri e/o funghi sono associati a questa patologia ¹⁶⁹. Ci sono numerosi studi che riportano la risoluzione della lesione dopo terapia topica antimicotica, specificando che almeno in alcuni casi, il solo agente eziologico è la candida.

6.1.1.8 ERITEMA GENGIVALE LINEARE

L'eritema gengivale lineare rappresenta l'ultima delle lesioni associate a Candida ed in precedenza era descritta negli individui affetti da HIV ^{558,595}. La lesione è definita come una gengivite senza placca che si presenta con una banda eritematosa ben distinta di almeno di 2 mm lungo il margine gengivale, con eritema diffuso o puntiforme della gengiva aderente. L'ampiezza dell'eritema è sproporzionata rispetto alla quantità di placca presente e solitamente non vi sono presenti ulcere o tasche parodontali o perdita di attacco clinico ⁶²⁷. La lesione può essere localizzata nel margine gengivale di

uno o due elementi dentari o anche essere generalizzata. L'eritema gengivale lineare può o meno essere accompagnato da sanguinamento occasionale e discomfort ¹⁶⁹. Alcuni autori considerano la patologia come una malattia progressiva nei soggetti affetti da HIV e un precursore di una più severa parodontite necrotizzante comunemente rilevata in pazienti con pochi CD4. Questa condizione è stata descritta negli adulti affetti da HIV e raramente nei bambini ⁶²⁹. Le lesioni da eritema gengivale lineare sono risolvibili in soggetti pediatrici affetti da AIDS grazie a terapia antifungina ⁶²⁹. In uno studio recente, il *Saccharomyces cerevisiae* è stata l'unica specie fungina rilevata nella placca sottogengivale in un soggetto con eritema gengivale lineare e con alte quantità di virus HIV, suggerendo che infezioni opportunistiche si verificano in pazienti fortemente immunocompromessi ¹⁶⁹.

La *C. dubliniensis* è anche implicata nell'eritema gengivale lineare nei pazienti ammalati di HIV ^{629,636}. Sebbene non esistano ancora attualmente dati dettagliati microbiologici e patologici, è evidente che l'eritema gengivale lineare sia causato da un insieme di batteri e funghi opportunisti in un contesto di immunodeficienza generalizzata. L'eritema gengivale lineare è uno tra le manifestazioni orali su soggetti affetti da HIV ed è considerato come una lesione parodontale associata ad HIV, insieme alla malattia parodontale necrotizzante, includendo la gengivite necrotizzante ulcerativa, la parodontite necrotizzante ulcerativa e la stomatite necrotizzante ^{169,521,627}.

È stato riportato che la prevalenza dell'eritema gengivale lineare varia dal 2 al 38% nei pazienti con infezione da HIV ^{553,564,570,584,615}. Considerando l'ampia variazione nella prevalenza, non è stato ancora chiarito se l'eritema gengivale lineare sia specifico nell'infezione da HIV e quali linee guida diagnostiche siano appropriate per l'eritema gengivale lineare ⁶²⁷. Per esempio l'eritema gengivale lineare può essere confuso con una normale gengivite o viceversa. Si è comunque concordi che, sebbene l'eritema gengivale lineare possa manifestarsi nei soggetti senza HIV la sua prevalenza è enormemente superiore nei soggetti che ne sono affetti ⁶²⁷. È stato recentemente sottolineato che una diagnosi di eritema gengivale lineare dovrebbe essere effettuata solo per lesioni che persistono dopo la rimozione della placca nonostante numerose visite ⁶²⁷.

Clinicamente il trattamento dell'eritema gengivale lineare consiste in uno scaling parodontale professionale e nel debridement, in un efficace controllo domiciliare della placca e in sciacqui con clorexidina digluconata 0.12% due volte al giorno per 2 settimane. La terapia antifungina non è necessaria ¹⁶⁹.

6.1.2 CANDIDOSI ORALE SECONDARIA

Pochi pazienti presentano candidosi cronica in età giovanile talvolta con un evidente difetto immunitario (candidosi cronica mucocutanea). Le infezioni candidosiche in questi pazienti si presentano sulla mucosa orale, sulla lingua, sulla cute e in altre parti del corpo. Queste infezioni candidosiche secondarie sono aumentate recentemente a

causa dell'alta prevalenza di casi con attenuata risposta immunitaria dovuta a infezione da HIV, neoplasie ematologiche e trattamenti aggressivi con agenti citotossici.

6.1.3 SINDROMI DA CANDIDOSI CRONICA MUCOCUTANEA

Le sindromi da candidosi cronica mucocutanea sono un gruppo di rare patologie nelle quali vi è una persistente candidosi mucocutanea che risponde scarsamente alla terapia topica antimicotica ⁵⁶⁸. In generale, più grave è la candidosi, maggiore è il rischio che i pazienti con candidosi cronica mucocutanea presentino difetti immunologici, specialmente nell'immunità cellulo-mediata. Alcuni studi suggeriscono un difetto nella produzione di citochine (IL-2 e interferone gamma) in risposta a specifici antigeni candidosici e batterici, con ridotti livelli serici di IgG2 e IgG4 come causa principale dell'infezione (sovraccarico di antigeni) ⁵⁷⁴.

Le lesioni orali in questi pazienti sono recidive e non rispondono alle classiche terapie topiche antifungine come i polieni ma possono rispondere ai farmaci a base di azolo, somministrati per via sistemica. Comunque a causa dell'immunodeficienza pregressa le ricadute sono normali al termine della terapia antimicotica.

6.2 TERAPIA DELLA CANDIDOSI

Molti cambiamenti sono stati effettuati sulla quantità ed efficacia dei farmaci per la terapia della candidosi orale negli ultimi 20 anni. Le opzioni terapeutiche variano dall'applicazione topica di polieni, oltre 4 volte al giorno, a terapie sistemiche con azoli da singole dosi settimanali (fluconazolo) a singole dosi giornaliere di una settimana (icoconazolo). Comunque gli azoli, che una volta erano considerati come la quinta essenza per le micosi umane, stanno gradualmente perdendo la loro efficacia a causa della nascita di funghi resistenti, come la *C. glabrata* e la *C. krusei*. Quindi, come regola generale la terapia tradizionali con polieni dovrebbe esser il trattamento di prima scelta e gli azoli dovrebbero essere tenuti come seconda scelta.

In generale i farmaci antifungini sono catalogati in tre gruppi principali: i polieni (nistatina ed amfotericina B), gli azoli (miconazolo, clotrimazolo, ketoconazolo, itraconazolo e fluconazolo) e nuovi agenti che sono ancora in fase di studio a livello clinico.

6.2.1 POLIENI

Due polieni (nistatina ed amfotericina B) sono comunemente utilizzati per il trattamento della candidosi orale. Sebbene la resistenza dei funghi a questi agenti sia rara una resistenza significativa che comprende la *C. albicans* è stata riportata in soggetti malati di cancro con pregressa neutropenia^{572,585,633}.

La nistatina è probabilmente l'agente più comune per il trattamento delle infezioni fungine superficiali da *C. albicans* essa ha un'attività

sia fungicida che fungo statica a seconda della concentrazione somministrata. La nistatina non è assorbita quando somministrata oralmente ed è troppo tossica per un uso parenterale al contrario dell'amfotericina B che è ampiamente usata a livello sistemico per numerose infezioni fungine.

La nistatina è disponibile in forma di creme, pastiglie, sospensioni, sciacqui e gel ⁵⁷³. La pomata contiene profumi ed altri agenti e quindi non può essere utilizzabile per un uso intraorale ma viene utilizzata per il trattamento della cheilite angolare. Le pastiglie di nistatina, anche vaginali, sono comunemente utilizzate per il trattamento della candidosi orale. Queste ultime, sono particolarmente efficaci quando utilizzate oralmente previa persuasione del paziente; anche se il sapore amaro rende il paziente poco collaborante ⁵⁵⁹.

La sospensione di nistatina può essere utilizzata per bambini piccoli o pazienti con scarsa collaborazione, sebbene la sua rapida dispersione a livello orale porti a concentrazioni sub terapeutiche. Similmente sciacqui orali con nistatina sono relativamente inefficaci a causa del breve contatto a livello temporale con la mucosa orale. Inoltre queste contengono zucchero aumenta il rischio di carie ⁵⁵⁹. Al contrario pastiglie di nistatina possono essere succhiate più lentamente e quindi prolungano la durata d'azione. L'aggiunta di zucchero nelle pastiglie migliora la collaborazione del paziente e permette una ritenzione prolungata e quindi risultano un agente fungicida migliore della sospensione ¹⁶⁹. Le pastiglie di nistatina sono l'ideale per il trattamento della stomatite da protesi associata a candida e per la

prevenzione di recidive di candidosi orale nei pazienti affetti da HIV^{581,583}. Comunque poiché tali pastiglie sono addolcite il loro utilizzo aumenta il rischio di insorgenza di carie ed è sconsigliato nei soggetti che ne sono predisposti.

La nistatina può essere usata con varie preparazioni topiche. Queste includono pastiglie vaginali (100.000 IU; una pastiglia 3 volte al giorno), pastiglie da sciogliere (100.000 IU; una o due pastiglie da 3 a 4 volte al giorno), pomata o crema da applicare alle commisure tre volte al giorno e sospensione orale (20 ml 4 volte al giorno) da continuare per alcuni giorni anche dopo la guarigione clinica⁵⁵⁹.

Sebbene le preparazioni orali topiche a base di amfotericina B non siano molto popolari (pastiglie, collutori, creme, pomate), esse sono disponibili per il trattamento di tutte le varianti cliniche di candidosi orale. Mentre la terapia topica può essere utile nella candidosi orale primaria, essa può essere utilizzata anche in aggiunta a una terapia parenterale nella candidosi secondari con manifestazioni sia sistemiche sia che delle mucose orali.

L'effetto avverso più comune e più serio dell'amfotericina B è la sua nefrotossicità. L'ipocalliemia ed un'anemia lieve sono anch'esse comuni. Altri rari effetti avversi includono le reazioni di ipersensibilità acuta come l'anafilassi, febbre e mal di testa; sono stati riportati anche episodi di vomito, anoressia, mal di schiena, sincopi e tromboflebiti nell'area dell'infezione^{551,572}. L'amfotericina B può potenziare la nefrotossicità di altri agenti come gli amminoglicosidi e ciclosporine, mentre la somministrazione concomitante con

glucocorticoidi, può esacerbare squilibri elettrolitici, specialmente l'ipocalliemia. La mecloretamina e altri agenti antineoplastici possono potenziare gli effetti nefrotossici e ipotensivi dell'amfotericina B ⁵⁸³.

L'introduzione relativamente recente di formulazioni lipidiche (liposomiali) di amfotericina B possono essere usate per ridurre la nefrotossicità delle preparazioni convenzionali nel trattamento di candidosi sistemiche. Le formulazioni di amfotericina B liposomiale presentano un'attività antifungina comparabile con quella delle formulazioni convenzionali e sono assorbite preferenzialmente dalla milza, dai polmoni, dal fegato, dai reni; dal midollo osseo e dal cuore. Le formulazioni liposomiali di amfotericina includono le dispersioni colloidali di amfotericina B, il complesso lipidico di amfotericina B e la reale amfotericina B liposomiale.

Le preparazioni attualmente disponibili per l'amfotericina B orale includono una pomata, sospensione, creme e pastiglie. Concentrazioni inibitorie di amfotericina B possono essere rilevate nella saliva dopo oltre due ore dall'assunzione di una singola pastiglia ⁶¹¹. La dose orale per gli adulti è di 100 - 200mg ogni 6 ore. Pastiglie (10 mg) possono essere date ogni 8 ore fino a un massimo di 80 mg giornalieri. Per i bambini è raccomandato 1 ml di sospensione orale ogni 8 ore ⁵⁷².

6.2.2 FARMACI A BASE D'AZOLO

Gli agenti antifungini a base di azolo sono classificati in due gruppi:

- Gli imidazoli: clotrimazolo, econazolo, fenticonazolo, isoconazolo, etoconazolo, miconazolo, sulconazolo e tioconazolo;
- I triazoli; fluconazolo e itraconazolo;
- Gli azoli stanno diventando molto popolari nella gestione della candidosi orale ^{559,611}. Infatti il fluconazolo è il farmaco d'eccellenza nel trattamento di candidosi oro-faringee negli individui affetti da HIV. Clotrimazolo, econazolo, fenticonazolo, isoconazolo, etoconazolo, miconazolo, sulconazolo e tioconazolo sono usati per il trattamento topico. Il miconazolo può essere somministrato per bocca per infezioni orali ed intestinali. Ketoconazolo, fluconazolo e itraconazolo sono utilizzati per la candidosi locale e sistemica.

Il clotrimazolo presenta un ampio spettro di attività sia antifungina che anti stafilococcica ed è principalmente utilizzato per la gestione della candidosi superficiale del cavo orale, della vagina e della cute; non può essere somministrato per via parenterale ⁶¹¹. Come crema è particolarmente utilizzato per la gestione della stomatite angolare in quanto efficace sia contro i funghi che contro gli stafilococchi ⁵⁵⁹. Quando applicato topicamente, il clotrimazolo è ben tollerato e presenta rare reazioni avverse. Queste includono irritazioni cutanee locali, vomito e nausea.

Il clotrimazolo è disponibile nella formula all'1% in crema, che può essere applicato alle commessure nella stomatite angolare per più di tre volte al giorno e come pastiglia orale (10 mg) può essere usato disciolto più di cinque volte al giorno. Altre forme di clotrimazolo, come pastiglie, creme vaginali e pastiglie vaginali sono anch'esse disponibili per uso topico ⁵⁷³. il metodo più comune di applicazione del clotrimazolo nella candidosi orale è l'uso di compresse da sciogliere disponibili in unità da 10 mg. La lenta dissoluzione nella bocca è ritenuta il risultato dell'adesione del clotrimazolo nella mucosa orale, dalla quale è lentamente rilasciato mantenendo una concentrazione batteriostatica adeguata per parecchie ore. La collaborazione del paziente è dovuta al piacevole gusto del clotrimazolo rispetto al sapore amaro di certe preparazioni a base di nistatina, soprattutto per le applicazioni vaginali ma utilizzate oralmente ⁶¹¹.

Il miconazolo, come il clotrimazolo, presenta un ampio spettro di attività antifungina, compresa la *C. albicans*. Esso è anche efficace contro alcuni batteri gram-negativi come gli stafilococchi e quindi è utilizzato per la terapia della cheilite angolare dove possono esserci infezioni batteriche e fungine concomitanti ⁵⁸². Il miconazolo può essere usato per via topica, intravenosa o intratecale.

Il miconazolo è utilizzato con efficacia per tutti i tipi di candidosi orale, compresa la candidosi muco cutanea. Comunque l'uso di miconazolo sistemico è stato ampiamente sostituito da altri farmaci meno tossici, come il ketokonazolo e il fluconazolo ⁵⁵¹. Effetti avversi

dopo un uso topico di miconazolo sono scarsi e poco comuni. Ustioni e macerazioni possono verificarsi a seguito di un uso cutaneo. Prurito, bruciore, orticaria, mal di testa e crampi sono stati associati a preparazioni vaginali. Il più comune effetto collaterale dopo uso intravenoso di miconazolo è la tromboflebite. La nausea può svilupparsi in alcuni casi. Raramente possono verificarsi anafilassi e cardiotoxicità⁵⁵¹.

Gli anticoagulanti orali, come il warfarin, sono ampiamente prescritti per la gestione di trombosi venose profonde, embolia polmonare supporto di protesi valvolari. Farmaci antifungini sistemici del gruppo azolo notoriamente accrescono l'effetto anticoagulante del warfarin⁵⁶⁷. Recentemente è stato riportato che l'uso contemporaneo di miconazolo in gel orale per il trattamento della candidosi orale portano a disordine potenzialmente maligno dell'anticoagulazione da warfarin^{523,550,599}.

Pastiglie di miconazolo, gel orali, iniezioni intravenose e preparazioni topiche e vaginali sono disponibili per il trattamento. La crema al miconazolo è un presidio efficace per il trattamento delle lesioni da cheilite angolare da Candida e S. aureus. Un altro vantaggio è che il miconazolo può essere somministrato empiricamente quando non è disponibile un quadro microbico definito o quando è impossibile identificare l'esatta natura dell'agente infettivo⁶¹¹.

Il ketokonazolo è efficace contro un ampio spettro di funghi, compresa le specie di Candida e, diversamente da altri imidazoli, è prontamente assorbita dopo somministrazione orale, che è favorita da

pH acido. Esso è stato utilizzato per la gestione di infezioni da *Candida* cutanea, orale, esofagea e vaginale ⁵⁷³. Il ketokonazolo non ha indicazione per il trattamento della candidosi orale primaria e la sua indicazione principale è per la candidosi orale secondaria, come nella candidosi cronica muco-cutanea ⁶¹¹. Comunque i triazoli come il fluconazolo sono oggi notevolmente usati per questo scopo.

Le più comuni reazioni avverse da ketokonazolo sono un'intolleranza gastrointestinale con nausea e vomito. L'epatotossicità non è rara ma è generalmente asintomatica, con aumento reversibile delle transaminasi sieriche. Un'attenzione particolare deve essere rivolta all'uso del ketokonazolo in quanto sono stati riportati casi di epatotossicità e nefrotossicità fatali. I test di funzionalità epatica dovrebbero essere effettuati durante ogni terapia prolungata con ketokonazolo ed il trattamento dovrebbe essere discontinuo nei pazienti con livelli progressivamente in aumento delle transaminasi ⁵⁹⁶. Il ketokonazolo è anche un potenziale agente teratogeno ⁵⁵⁵. A causa dei possibili effetti sul metabolismo epatico e steroideo, esso non dovrebbe essere utilizzato per il trattamento d'elezione delle infezioni mucose o cutanee.

Sono state osservate numerose interazioni farmacologiche da ketokonazolo. È possibile una diminuzione del metabolismo epatico da antistaminici non sedativi come terfenadina e astemizolo, che può portare ad aumentati livelli di ketokonazolo e relativi metaboliti con conseguenti aritmie, tachicardia e a volte morte ⁵⁷³. Similmente il ketokonazolo può sopprimere il metabolismo delle ciclosporine,

portando ad elevate concentrazioni, grave immunosoppressione e disfunzioni renali, con prognosi potenzialmente infausta.

L'assorbimento del ketoconazolo può essere ridotto dagli antiacidi e bloccanti del recettore H₂ come la cimetidina e la ranitidina. La rifampina, un potente induttore degli enzimi del metabolismo epatico, può diminuire le concentrazioni seriche di ketoconazolo⁵⁷³.

Pasticche, sospensioni e creme di ketoconazolo sono disponibile per l'uso e la crema al 2% dovrebbe essere applicata alle commessure tre volte al giorno nella candidosi cronica iperplastica. A seconda dell'infezione, le pastiglie da 200-400 mg una volta al giorno sono il dosaggio standard per un uso sistemico^{559,572}.

6.2.3 TRIAZOLI

Itraconazolo e fluconazolo sono triazoli. L'itraconazolo è insolubile in acqua e lipofilo, similmente al ketoconazolo, richiede un basso pH per essere ionizzato; questo è altamente legato alle proteine ed eliminato nella bile. Al contrario, il fluconazolo è solubile in acqua e non richiede un basso PH gastrico per l'assorbimento; esso è poco legato alle proteine plasmatiche ed è eliminato per escrezione renale. Un importante aspetto del fluconazolo è che questo raggiunge facilmente alte concentrazioni nel sistema nervoso centrale sano e infiammato⁵⁵¹.

Il fluconazolo ha un ampio spettro d'attività antifungina che include le specie di Candida. Esso è attivo contro molti ceppi di C.albicans ma è meno attivo contro le forme non di C. albicans, come C. krusei e

C. glabrata che sono intrinsecamente resistenti al farmaco ^{609,628,633}. Il fluconazolo è dato sia oralmente o per via intravenosa ed è ben assorbito dopo la somministrazione orale. Cosa distingue il fluconazolo da molti altri azoli è l'eccellente assorbimento dal tratto gastrointestinale, con un'emivita serica molto lunga di 27 - 37 ore. Questo differisce dagli altri fungini azolici nell'a vere legami più deboli con le proteine seriche. Questo favorisce la sua eccellente penetrazione in molti siti corporei ⁵⁷². Diversamente dagli altri azoli, fluconazolo non è metabolizzato nell'uomo ed è eliminato largamente attraverso i reni rimanendo per circa 80% invariato ⁵⁵¹. Perciò il fluconazolo ha un effetto sulla funzionalità epatica quasi trascurabile, comparato con gli altri azoli, i quali sono metabolizzati per la maggior parte nel fegato, portando a possibile epatotossicità.

L'alto assorbimento sistemico del fluconazolo è stato usato per il trattamento di candidosi orale nei pazienti affetti da HIV e questo oggi è considerato il farmaco di prima scelta per la candidosi nelle infezioni da HIV ^{548,578}. È stato mostrato che settimanalmente il fluconazolo (200 mg) è sicuro ed efficace nel prevenire le infezioni orofaringee da candidosi, e questo dosaggio ha un ruolo utile nel trattamento di pazienti affetti da HIV che sono a rischio per candidosi mucosa ricorrente ⁶¹⁷. Nei pazienti con stomatite da protesi associata a Candida, il fluconazolo è efficace, specialmente quando somministrato per lungo tempo associato ad un antisettico orale, come la clorexidina ^{169,571}. Comunque, i polieni, e non gli azoli, dovrebbero essere il farmaco di prima scelta per le stomatiti da protesi.

Il fluconazolo è ben tollerato, ed effetti avversi come nausea, mal di testa, disturbi gastrointestinali e addominali sono di solito lievi e soggettivi. Fluconazolo potrebbe causare l'aumento degli enzimi epatici ed eruzione allergica. I test per l'ittero e per l'anormale disfunzione epatica erano valutati in alcuni pazienti trattati con fluconazolo associati a candidosi orale da HIV⁵⁵⁴. Studi su animali hanno dimostrato l'embriotossicità, è prudente evitare il fluconazolo in gravidanza¹⁶⁹.

Sebbene le interazioni coi farmaci siano poche rispetto a quelle osservate con il ketoconazolo, il fluconazolo tuttavia ha significative interazioni con parecchi farmaci. L'analogia strutturale di questi due azoli indica che i farmaci antistaminici non sedativi come la terfenadina e l'astemizolo non dovrebbero essere somministrati con il fluconazolo. A causa della diminuzione del metabolismo epatico per parecchi agenti, il fluconazolo può portare alti livelli di concentrazione serica di altri agenti quando somministrati in concomitanza. Per esempio, diminuendo la clearance delle cefalosporine potrebbe risultare una significativa immunosoppressione, leucopenia e disfunzione renale, e una simile interazione con la fentoina, il warfarin e gli ipoglicemizzanti può produrre rispettivamente una concentrazione tossica di fentoina nel siero, tempi di protrombina allungati ed ipoglicemia^{169,573}.

Il fluconazolo è disponibile in capsule e in formulazione endovenosa. Negli adulti, il dosaggio orale e intravenoso è di 100 mg al giorno per 7-14 giorni per il trattamento delle candidosi orofaringee, mentre 100

mg al giorno per 2 settimane o più sono raccomandati per la candidosi esofagea ⁵⁷².

L'itraconazolo è un farmaco lipolitico che è bene assorbito dopo somministrazione orale e ha un ampio spettro d'azione comprese le specie di *Candida*. Questo è efficace per varie micosi superficiali, inclusa la candidosi orale causata da *C. albicans*, così come *C. krusei* e *C. glabrata*. Mentre quest'ultime sono intrinsecamente resistenti al fluconazolo, l'itraconazolo è un'alternativa ideale nel trattamento dei pazienti affetti da *Candida* resistente al fluconazolo, sebbene siano state riportate resistenze crociate ^{520,609}.

Generalmente, l'itraconazolo è ben tollerato, sebbene siano stati riportati disturbi gastrointestinali, mal di testa e vertigini ⁵⁵¹. Sono state rilevate anche aumenti transitori ed asintomatici delle transaminasi ed ipokaliemia. Come con gli altri azoli, la clearance della ciclosporina è ridotta dall'itraconazolo, e le concentrazioni seriche del primo dovrebbero essere monitorate per prevenire potenziali gravi complicanze. Similmente l'uso simultaneo dell'itraconazolo e di terfenadina o astemizolo, dovrebbe essere evitato. È stato riportato che l'itraconazolo diminuisce la clearance della digossina, e le concentrazioni seriche di digossina durante la contemporanea terapia ⁵⁷³.

L'itraconazolo è disponibile in capsule e in soluzione orale. La dose orale per l'adulto è di 100 mg al giorno per 2 settimane per la candidosi orofaringea ⁵⁷². La disponibilità di una soluzione orale può essere vantaggiosa più della formulazione in capsule, come risultato

del fatto che dovrebbe essere più facile per il paziente con grave candidosi orofaringea di ingoiare liquido.

La capsosfungina è un agente antifungino della nuova classe delle echinocandine ed è somministrata per via endovenosa. La percentuale di trattamento clinico per la capsosfungina varia dal 74 al 91% ⁵²². La capsosfungina sembra possedere un'efficacia comparabile con quella di una dose standard di amfotericina B nella gestione della candidosi orofaringea ed esofagea e può rappresentare un'alternativa meglio tollerata rispetto alla convenzionale amfotericina per i pazienti che richiedono terapia parenterale, come quelli con infezioni da Candida resistente agli azoli.

6.2.4 ALTRI FARMACI PER LA CANDIDOSI

Collutori contenenti clorexidina sono stati proposti come terapia aggiuntiva o a volte alternativa ai farmaci antifungini convenzionali nella gestione della candidosi orale ⁵³⁴. La clorexina digluconata in collutorio 0,2% è utile nel trattamento della stomatite da protesi associata a candida e nella candidosi pseudomembranosa, mentre una sospensione al 2% è utilizzata di notte come disinfettante per la protesi. Comunque è importante notare che la clorexidina e la nistatina non dovrebbero essere usate simultaneamente a causa della loro interazione che crea complessi clorexidina-nistatina che le rende agenti inefficaci contro la Candida ⁵²⁵.

Alcuni studi hanno mostrato che terapie topiche tradizionali sicure e poco costose come il violetto di genziana sono efficaci per il

trattamento della candidosi orale. Uno studio aperto randomizzato ha confrontato l'efficacia di un collutorio al violetto di genziana (1,5 ml in 0,5 ml di soluzione acquosa 2 volte al giorno) con collutori al ketoconazolo e alla nistatina. Dopo 14 giorni le lesioni candidosiche sono scomparse in percentuali simili di pazienti trattati con violetto di genziana (42%) e ketoconazolo (43%) e in percentuale più bassa in pazienti trattati con nistatina (9%)⁵⁹⁴.

Recentemente alcuni Autori hanno confrontato gli effetti fungicidi di farmaci topici poco costosi come l'olio di melaleuca (olio dell'albero da tè), la clorexidina, lo iodopovidone e il violetto di genziana con altri prodotti ampiamente prescritti come tiazoli e fluconazoli⁶²⁶. È interessante evidenziare che il violetto di genziana presenta la più efficace attività tra i farmaci antifungini contro infezioni da *Candida* isolate nel cavo orale di pazienti con AIDS. Inoltre, diversamente dagli altri farmaci, il violetto di genziana ha un'attività fungicida e un'efficacia anche contro ceppi resistenti al fluconazolo^{598,626}. la combinazione tra fluconazolo e violetto di genziana non ha mostrato reazioni di reciproco antagonismo. Questi studi hanno suggerito che il violetto di genziana potrebbe essere considerato come un potenziale prodotto preventivo per le recidive o un sostituto poco costoso per gestioni della candidosi orale, specialmente nei pazienti affetti da HIV nei paesi in via di sviluppo.

6.2.5 NUOVI AGENTI ANTIFUNGINI

Un ampio assortimento di nuovi agenti antifungini, come l'amorolfina, la naftifina, la terbinafina, il tolnaftato, il rilopirox, la cilofungina, la pradimicina, il voriconazolo e la benanomicina A è in commercio o è sottoposto ad approfonditi studi clinici ^{169,532,585,604,611}. Nessuno di questi nuovi agenti è specifico per la candidosi orale, a meno che non vengano utilizzati per gravi infezioni recidivanti in pazienti affetti da HIV. Una grande spinta per lo sviluppo di questi e altri nuovi farmaci è stata data dalle nuove tecniche genomiche che analizzano dettagliatamente i profili cellulari e molecolari della Candida grazie all'ausilio di modelli farmacologici computerizzati. In tal modo le nuove tecnologie stanno aprendo strade interessanti per lo sviluppo di nuovi farmaci antifungini.

6.3 MANIFESTAZIONI ORALI DI ALTRE MICOSI SISTEMICHE

Un numero significativo di malattie micotiche sistemiche, considerate un tempo esotiche, si stanno manifestando oralmente con frequenza aumentata a causa dell'alta prevalenza di individui immunocompromessi nella popolazione globale⁵⁸⁰.

Oltre alla candidosi esistono: aspergillosi, causata da *A. fumigatus*; blastomicosi, causata da *B. dermatitidis*; coccidiomicosi, causata da *C. immitis*; criptococcosi, causata da *C. neoformans*; fusariosi, causata da *F. moniliforme*; geotricosi, causata da *G. candidum*; istioplasmosi, causata da *H. capsulatum*; mucormicosi, causata da *O. mucorales*; paracoccidiomicosi, causata da *P. brasiliensis*; penicillosi, causata da *P. marneffeii* e sporotricosi, causata da *S. schenckii*.

7. INFEZIONI PARASSITARIE DELLE MUCOSE ORALI

Il cavo orale rappresenta la porta d'entrata per molti parassiti che si sono adattati all'ospite umano. Si potrebbe pensare che molti di questi parassiti diventino specificatamente adattati agli organi coinvolti nell'alimentazione ma questa è un'eccezione e non una regola. Escludendo pochi microrganismi non molti di questi riescono a resistere nel cavo orale. Le eccezioni sono saprofiti come la *Entamoeba gingivalis* e la *Trichomonas tenax*, i quali possono diventare patogeni opportunisti o amebe libere che occasionalmente possono diventare invasive, ma raramente clinicamente evidenti^{639,660}. D'altro canto, questi agenti infettivi, rappresentati da *Naegleria fowleri* e *Acanthamoeba encephalitis* possono causare eccezionalmente serie forme di meningoencefalite^{638,649}. Questo si verifica se essi trovano il loro percorso nella cavità nasale, penetrano nell'epitelio olfattivo e talvolta invadono il cervello. Sebbene questi parassiti amebici siano stati trovati nel cavo orale, nessuno ha mostrato la capacità di entrare dal cavo orale nel naso ed eventualmente nel cervello.

Solo un parassita, il protozoo flagellato *Leishmania*, può colpire severamente il cavo orale dell'uomo e può essere causa di deformazioni granulomatose nella crescita della bocca e del naso. La sintomatologia clinica varia dalle lesioni localizzate all'infezione

sistemica, ma solo la forma muco-cutanea è d'interesse per il cavo orale.

7.1 PARASSITOSI DEL CAVO ORALE

I due protozoi comunemente correlati al cavo orale, sono *T. tenax* e *E. gingivalis*, anche se sono solitamente commensali. La presenza di questi organismi nel cavo orale è associata a scarsa igiene orale e può essere abbastanza comune nelle persone che hanno basso tenore di vita. Il numero delle infezioni orali da *T. tenax* sembra essere superiore alle infezioni vaginali da *T.vaginalis* in generale nelle donne adulte. la regola generale comunque è che pochi parassiti sono adattati al cavo orale e il rischio di infezioni parassitiche è comunque estremamente basso nei soggetti sani.

Nonostante si sappia che i parassiti evitano il cavo orale, numerosi articoli dichiarano che *E. gingivalis* e *T. tenax* sono invece abbastanza comuni. Comunque questi studi sono geograficamente e cronologicamente irregolarmente distribuiti. La maggior parte di questi è stata pubblicata a partire dagli anni '90 principalmente in Polonia ed altri Paesi dell'Europa orientale, ma anche in altre parti del mondo. Uno studio ha evidenziato la presenza di *T. tenax* in oltre un terzo di pazienti generalmente sani, anche se non è chiaro se questi parassiti fossero saprofiti, invasivi o fossero una componente di una più importante infezione batterica parodontale ¹. Inoltre uno studio sul rischio di malattia parodontale effettuato in Guatemala, ha rilevato la presenza di *E. gingivalis* nel 21% dei bambini e nel 11% dei siti analizzati ⁶⁵⁹. Un altro studio effettuato in Brasile ha evidenziato una prevalenza di *E. gingivalis* pari al 62% ⁶⁴⁵. Quindi oltre che nelle persone malnutrite e nei pazienti affetti da AIDS, *E. gingivalis* e *T.*

tenax possono essere più comuni di quanto si possa pensare. In realtà questi studi si basano su campioni limitati e su documenti di difficile comprensione in quanto scritti in cinese, spagnolo, portoghese, polacco,... Quindi a causa dello sviluppo di infezioni opportunistiche di pazienti compromessi in tutto il mondo negli ultimi decenni e a causa dell'aumentato numero di studi che descrivono le infezioni orali parassitiche anche nei soggetti sani, sono necessari ulteriori studi su campioni più ampi per meglio descrivere queste situazioni. Un ulteriore punto di debolezza a riguardo è l'impatto dei parassiti sulla salute orale e l'applicazione degli indicatori raccomandati dall'OMS⁶⁴⁰. A tal proposito è necessario mantenere un'elevata attenzione sulla possibilità di trovare un più ampio numero o addirittura nuove specie di parassiti nel cavo orale. Poiché questi agenti infettivi possono virare tra saprofiti ed invasivi, tutti i rilevamenti dovrebbero portare al trattamento e anche se vi sono segni di infezione attiva, questo dovrebbe essere considerato un indicatore di un qualunque tipo di immunodepressione.

La colonizzazione dei polmoni da parte di varie specie di *Trichomonas* può non essere rara così come si riteneva finora⁶⁴³. La ragione principale di questa discrepanza è che la forma ameboidale del parassita nei tessuti polmonari è facilmente sopravvalutata. Le specie coinvolte non sono solo *T. tenax* e la scoperta di specie parassitiche precedentemente sconosciute nell'uomo fa nascere la possibilità che il cavo orale possa ospitare anche altri microorganismi correlati. Varie tipologie classificative possono essere utilizzate; per esempio le

tecniche di DNA fingerprinting e l'amplificazione randomizzata del DNA polimorfico dove la sequenza bersaglio da identificare è sconosciuta, hanno semplificato l'identificazione di markers per ogni specie⁶⁴⁷. Applicando queste tecniche sono stati isolati in un gruppo di pazienti con malattie polmonari, ceppi diversi da *T. tenax*, con elevata somiglianza con la specie aviaria *Tetratrichomonas gallinarum*. In questi casi i nuovi ceppi possono essere suddivisi in due distinti gruppi: 7 ceppi bronchiali e 3 orali⁶⁵¹. Sebbene il potenziale zoonotico di questi microrganismi non sia stato abbastanza analizzato altri trichomonadi possono essere nati da mammiferi non umani.

E. gingivalis è meno comune nel cavo orale rispetto a *T. tenax*. comunque è probabile che *E. gingivalis* produca una particolare e progressiva malattia parodontale nei pazienti immunocompromessi che presentano spesso una gengivite necrotizzante. Questa lesione orale è dolorosa e ha eziologia ignota anche se alla fine degli anni '90 è stata mostrata una sua associazione con il virus HIV-1, ma è stato anche riportato che questa associazione parassitaria sembra verificarsi esclusivamente per il virus HIV-1, in quanto nessun altro parassita è stato rilevato in questo tipo di immunodeficienza⁶⁵⁴.

7.1.1 DIAGNOSI

La diagnosi è generalmente effettuata grazie alla microscopia diretta di campioni di tessuto o grazie a precoltura in mezzi specializzati (diagnosi parassitaria). Comunque, a causa della loro alta specificità

e sensibilità, gli strumenti molecolari saranno probabilmente le tecniche diagnostiche più utilizzate nel prossimo futuro. Esistono pochi studi sulla sierologia indiretta. Da un punto di vista pratico, la sierologia è probabilmente limitata ma in uno studio su pazienti con gengivite catarrale cronica causata da *T. tenax*, il 65% degli individui ha prodotto anticorpi specifici, che sono diminuiti rapidamente 3 mesi dopo il trattamento⁶⁶⁹. Quindi la sierologia dovrebbe avere un ruolo di sorveglianza nei risultati del trattamento.

Da un punto di vista diagnostico, esame microscopico con colorazione di Giemsa e la coltivazione nel brodo di Kupferberg per *Trichomonas* contribuisce a trovare risultati positivi anche se in alcune infezioni attive se ne verificano anche di positive^{634,650}. La tecnica di colorazione di Giemsa-Romanovsky è semplice, rapida e di efficacia visualizzazione di tutte le caratteristiche dei microrganismi⁶⁷⁰. Inoltre la colorazione non sparisce ma resta come segno permanente che può essere utile per dimostrazioni successive ed esami retrospettivi. Comunque, poiché i parassiti non possono sempre essere identificati morfologicamente, gli strumenti molecolari come l'amplificazione della reazione di polimerizzazione a catena (PCR) una tecnica simile all'amplificazione randomizzata del DNA polimorfico ma differente da questa in quanto il materiale specifico ricercato è noto (sequenze specifiche di *T. tenax*)^{644,655}. L'utilizzo della PCR non solo è enormemente più sensibile della microscopia e della coltura, ma fornisce una diagnosi più precisa da un punto di vista classificativo. In uno studio su pazienti immunocompromessi con malattie bronchiali e

polmonite cronica, la prevalenza totale di *T. tenax*, determinata con la microscopia su preparati a fresco o colorati con Giemsa, è stata individuata tra il 2.5 - 3%, mentre la coltura ha prodotto una prevalenza del 7% e la PCR del 10% ⁶⁵⁵. La specificità della PCR è generalmente del 100% ed è stato riportato che nessun campione negativo con la PCR si è poi dimostrato positivo con altre tecniche. Questo significa che è altamente probabile che tutti i casi di infezione da *Trichomonas* siano stati diagnosticati e che *T. tenax* era l'agente infettivo più comune. I ceppi possono essere tessuto-specifici anche se ciò non esclude la presenza di ceppi differenti in varie aree delle vie respiratorie superiori e/o del cavo orale.

7.1.2 TERAPIA

Il metronidazolo è il trattamento d'elezione per le infezioni protozoarie causate da *Trichomonas* e *Entamoeba*. Il dosaggio raccomandato per le infezioni orali è di 400 mg 3 volte al giorno per una settimana, mentre i bambini necessitano di un dosaggio minore a seconda del peso. Dosi maggiori e per periodo più lunghi di trattamento possono essere necessari, in particolare nei pazienti con amebiasi. Ogni patologia pregressa, per esempio le sindromi di immunodeficienza e le infezioni extraorali come la tricomoniosi polmonare dovrebbero essere trattate in maniera più aggressiva. Non esistono oggi vaccini disponibili o in fase di sviluppo contro questi parassiti.

7.2 PRINCIPALI QUADRI PATOLOGICI PARASSITARI SISTEMICI

7.2.1 LEISHMANIOSI

La leishmaniosi è causata da un gruppo eterogeneo di parassiti protozoari appartenenti al genere *leishmania* e che esitano in una complessa varietà di sindromi cliniche. La diagnosi è difficile poiché molti aspetti clinici che formano uno spettro di sintomi che variano da macchie cutanee superficiali auto-risolvibili fino a forme sistemiche debilitanti che ricordano che la lebbra. Le forme più gravi sono le leishmaniosi viscerali, chiamate anche Kala azar, che presenta un'alta mortalità e la leishmaniosi muco cutanea o espundia che è una malattia cronica con sintomi variabili e diffusi. Il quadro clinico include anche la leishmaniosi cutanea diffusa e la leishmaniosi cutanea. Mentre quest'ultima rappresenta un'infezione non invasiva e localizzata della cute, la prima debilita il paziente in maniera simile alla leishmaniosi mucocutanea, che può esitare in deformazioni orribili del volto, soprattutto del naso e della bocca.

7.2.2 CICLO VITALE E TRASMISSIONE

Il parassita *leishmania* presenta molti ospiti tra i mammiferi, e la trasmissione avviene sui vettori flebotomi (farfalle della sabbia) nei quali avviene parte del ciclo cellulare. La *leishmania* può quindi essere descritta come una zoonosi che passa tra vari mammiferi come potenziali ospiti finali, compresi gli umani e varie specie di farfalle

della sabbia ed oltre 30 possono trasmettere la patologia. Il parassita è meglio adattato all'insetto, e quindi subisce di meno reazioni infiammatorie rispetto all'uomo. La variabilità clinica dipende al fatto che almeno 20 specie differenti di leishmania possono colpire l'uomo. L'infezione passa all'interno del vettore farfalla nella forma di parassita amastigote quando l'insetto morde un mammifero infetto e ne ingerisce i macrofagi insieme al sangue. Una volta che il parassita è all'interno dell'insetto la forma amastigote subisce almeno una divisione, trasformandosi in promastigote flagellato nell'addome dell'insetto. I parassiti quindi si sviluppano mentre risalgono dall'addome all'esofago e quindi al faringe fino alla proboscide. In questa fase assumono un aspetto rotondo e sono pronti per essere iniettati nell'ospite quando morso dalla farfalla.

L'infezione dei mammiferi deriva dall'iniezione nella pelle di un proamastigote infettivo dalla proboscide di un flebotomo femmina in cerca di cibo. Non si verifica trasmissione tra persona e persona. Al contrario le farfalle della sabbia raccolgono l'infezione avendo morso cani che sembrano il principale serbatoio di parassiti più vicino all'uomo. Altri ospiti sono roditori, volpi, sciacalli,... e tutti questi potenziali serbatoi devono essere considerati quando si studia epidemiologicamente questa malattia^{634,642}.

7.2.3 CLASSIFICAZIONE

I protozoi leishmania sono parassiti obbligati intracellulari nell'ospite finale, mentre appaiono come proamastigoti flagellati extra cellulari

nel vettore e quando si propagano nella coltura axenic in laboratorio. Storicamente questi parassiti sono stati classificati in base a caratteristiche cliniche che generano in quanto non possono essere distinti facilmente in base alla loro morfologia. Comunque, lo sviluppo di tecniche genetiche per analizzare le varie forme di malattia ha permesso di analizzare la virulenza e la patogenesi dei parassiti nell'ospite. I genomi e le varie specie sono molto simili, anche se sono stati identificati geni specifici che permettono di identificare e classificare le diverse specie ^{634,664}. Studi sul DNA hanno identificato non solo differenti geni in differenti specie, ma anche variazioni nell'espressione del m-RNA in diverse fasi del ciclo cellulare della leishmania ⁶⁶¹. Lo stesso approccio può essere utilizzato per analizzare le interazioni uomo-parassita a livello genetico e quando questo è stato effettuato in Sudan, ha rivelato che la predisposizione alla leishmaniosi è di natura genetica, regolata in particolare da un locus sul cromosoma 22q12 e da due loci sul cromosoma 2q22-23 ^{634,636}.

7.2.4 EPIDEMIOLOGIA

La distribuzione geografica della leishmaniosi è limitata alle aree dove esistono i vettori. Comunque, anche a causa del disagio collegato all'accesso dell'ospite e al grado di sviluppo socioeconomico, la malattia è endemica solo in aree disperse, in molte delle quali esiste un basso status socio-economico. La leishmaniosi è stata rilevata in 88 nazioni su tutti i continenti tranne che in Oceania e in Antartide ⁶³⁴. Le aree endemiche primarie sono il sud-est asiatico, l'Africa orientale ed il

brasile, anche se sono state rilevate infezioni anche in 16 nazioni europee, comprese Francia, Portogallo, Spagna, Malta, Grecia e Italia⁶³⁴. In Spagna e in Portogallo sono presenti i casi più comuni di manifestazioni cutanee mentre le infezioni sistemiche si verificano prevalentemente in Africa, Asia e Sud-America.

Quasi tutti i casi di leishmaniosi addominale si verificano in solo 5 nazioni: Bangladesh, India, Nepal, Sudan e Brasile, mentre il 90% delle leishmaniosi cutanee si presenta in Afghanistan, Algeria, Iran, Siria, Arabia Saudita, Brasile e Perù⁶⁵⁴. Calcolare la prevalenza in questi paesi è molto difficile, a causa di un sistema sanitario poco sviluppato, ma si ritiene che esistano 12 milioni di casi in tutto il mondo di forme cliniche di leishmaniosi, con un'incidenza annuale di quasi 2 milioni di casi⁶³⁴. Probabilmente tali stime sono in difetto in quanto la popolazione delle aree endemiche arriva a 400 milioni. Di conseguenza la distribuzione della leishmaniosi potrebbe quindi essere più ampia rispetto ai dati ufficiali.

Così come accade per molte patologie legate alla povertà che presentano alta morbilità e bassa mortalità, la reale distribuzione della leishmaniosi resta fondamentalmente invisibile. L'esatto numero di casi di leishmaniosi nel mondo è impossibile da calcolare in quanto la dichiarazione di questi è obbligatoria solo in 32 delle nazioni endemiche. Comunque è evidente che la distribuzione geografica di questa malattia è aumentata enormemente a partire dal 1993. In Sudan per esempio, una grandissima epidemia di leishmaniosi viscerale si verificò tra il 1994 e nel 1997 in numero di casi confermati era

aumentato del 400% rispetto all'anno precedente. Una situazione simile è stata quella dell'Afganistan dove decenni di guerre civili hanno creato condizioni favorevoli allo sviluppo della patologia. Questi aumenti sono principalmente attribuiti a cambiamenti nel comportamento nell'ambiente come l'invasione di foreste, lo sviluppo di nuovi insediamenti, l'urbanizzazione non pianificata a causa della migrazione di famiglie da aree rurali ad urbane e la costruzione di canali d'irrigazione e dighe. Dall'agosto 2002 all'aprile 2004 sono stati segnalati 522 casi di leishmaniosi cutanea contratta da soldati americani in Iraq ^{634,637}. Le guerre contribuiscono allo sviluppo dei fattori di rischio come la malnutrizione e l'immunosoppressione da HIV ⁶³⁴.

La mortalità resta comunque bassa anche se le manifestazioni coniche della malattia hanno sulla società un impatto maggiore rispetto alla sola mortalità. Calcolando i giorni persi per malattia è stato dimostrato che la leishmaniosi è estremamente dannosa nonostante la bassa mortalità, in quanto oltre un milione e mezzo di nuovi casi ogni anno di leishmaniosi cutanea e 500 mila di leishmaniosi viscerale generano una disabilità di circa 2,4 milioni di persone ⁶⁵⁶. Ne deriva che le malattie croniche presentano un impatto socio-economico di difficile previsione.

7.2.5 MANIFESTAZIONI CLINICHE

Nell'ambito delle malattie infettive i segni clinici riflettono ampiamente l'agente eziologico della malattia. Per alcune infezioni

ciò non è chiaro, mentre per la leishmaniosi è più semplice in quanto vari tipi di leishmania sono spesso associati ad un quadro clinico ben definito. Comunque, esistono significative sovrapposizioni mentre non esiste una correlazione distinta tra il quadro clinico e le specie che lo causano. Alcune specie di leishmania sono principalmente dermatotrofiche mentre altre sono invece viscotrofiche. Comunque alcune specie di leishmania associate frequentemente ad infezioni viscerali possono produrre lesioni cutanee e viceversa. Infatti ogni quadro clinico può essere prodotto da numerose specie rendendo la diagnosi e la classificazione complesse. Un ulteriore elemento di difficoltà è rappresentato dalla risposta immunitaria, che varia individualmente.

7.2.5.1 LEISHMANIOSI CUTANEA

La leishmaniosi cutanea è un'infezione localizzata della pelle che non si estende oltre il sito dell'inoculazione. Gli agenti infettivi sono la *L. tropica* e la *L. major* nei Paesi sviluppati come l'Europa meridionale e l'Asia, mentre nei Paesi in via di sviluppo come Sudamerica le infezioni sono causate da *L. mexicana*, *L. brasiliensis* e *L. peruviana*. La leishmaniosi cutanea è la meno grave ed anche la più comune delle forme. Inoltre questa forma si sviluppa a nord in un clima caldo.

7.2.5.2 LEISHMANIOSI MUCOCUTANEA

La leishmaniosi mucocutanea è causata da *L. brasiliensis*, una sottospecie che invade solitamente le mucose, sia

attraverso una crescita progressiva che per diffusione a distanza, ma può anche limitarsi a lesioni cutanee localizzate. Questa forma di leishmaniosi predilige le aree auricolari, nasali e faringee alle quali può diffondersi entro pochi mesi dalla prima inoculazione cutanea e dove può rimanere attiva per decenni. È stato evidenziato che i parassiti proliferano soprattutto in questa parte del corpo a causa della temperatura relativamente bassa del naso e della minore attività immunitaria di questa zona. La lesione cutanea primaria guarisce dopo un mese ma cicatrizza facilmente. La trasmissione della *L. brasiliensis*, si verifica della foresta amazzonica. Questa specie è particolarmente diffusa nel Brasile meridionale e nelle altre nazioni amazzoniche.

La frequenza delle infezioni mucose a partire dalla cute fino ad altre parti del corpo non è ancora nota anche se si ritiene che i parassiti entrino nella mucosa nasale attraverso il flusso sanguigno. Il ricco plesso vascolare della cartilagine nasale è caratterizzato dalla presenza di macrofagi nei quali i parassiti sono scoperti dopo il periodo di incubazione che varia da poche settimane a parecchi mesi. Infiltrati o noduli infusi nel setto o nei turbinati inferiori, causano l'irritazione o congestione nasale, che è un aspetto comune in questa fase. Dopo questi primi sintomi, il processo infiammatorio granulomatoso, esita nella formazione di polipi e quindi progredisce ulteriormente coinvolgendo la sottile parete cartilaginea del setto e distruggendo le ali. L'estensione della patologia nasale spesso coinvolge con granulomi anche le aree orali, faringee o laringee, mentre i più rari sono i coinvolgimento della trachea. Infatti non sono stati registrati

infezioni al di sotto della carina nella albero bronchiale. Nel suo processo distruttivo, l'infezione causa gravi deformità facciali derivate dalla perdita totale del naso e del labbro superiore, mentre il coinvolgimento del palato, della lingua, del faringe della laringe e della trachea può causare disfagia o disfonia, ma raramente asfissia. Complicanze secondarie sono sovrainfezioni batteriche delle aree affette oltre che polmoniti e meningiti. Complicanze più rare sono trombosi del seno cavernoso, scialorrea e miasi.

7.2.5.3 LEISHMANIOSI VISCERALE

La leishmaniosi viscerale, spesso chiamata Kala azar, è causata da *L. donovani*, *L. infantum* o *L. chagasi*, che si diffonde per via ematica nei macrofagi e da qui nel fegato, nella milza, nel midollo osseo e nei linfonodi. Le caratteristiche cliniche principali sono simili ma variano la distribuzione geografica e l'epidemiologia. La *L. donovani* colpisce individui di tutte le età, mentre la *L. infantum* colpisce prevalentemente neonati e bambini. La prima si presenta in India, Myanmar, Cina nord-orientale, Pakistan orientale, Thailandia, Sudan, Kenya, Uganda, Etiopia, Repubblica centra africana, Ciad, Gabon, Gambia e Somalia, mentre la seconda è ampiamente diffusa nei Paesi mediterranei oltre che in Medio-orientale e nella Cina settentrionale. In India e in Kenya la leishmaniosi sembra essere antroponotica a causa dell'assenza di serbatoi, mentre nelle altre aree questi sono rappresentati da roditori e cani. La leishmaniosi viscerale è causata da

L. chagasi in Brasile, Colombia, Venezuela, El Salvador, Messico, Guatemala e Paraguay e colpisce individui di tutte le età.

La leishmaniosi viscerale si sviluppa spesso lentamente e la lesione cutanea primaria è difficile da rilevare. Il periodo di incubazione va da 2 settimane a 3-6 mesi, la malattia insorge con febbre e calo ponderale, successivamente si verificano astenia e diarrea e costipazione fino ad arrivare ad anoressia e mialgia. Talvolta l'insorgenza può essere repentina e caratterizzata da febbre alta, a volte intermittente, 2 volte al giorno, che ricorda la malaria. I pazienti si indeboliscono progressivamente, con distensione addominale, nausea, vomito seguiti da linfadenopatia, petecchie, ecchimosi ed edema. La cute diventa secca e squamosa assumendo un colore grigiastro soprattutto alle mani e al volto. Talvolta si verifica epatomegalia, anche se ciò avviene in non più di 5 - 10% dei casi. La milza si presenta come morbida e dolorante ma anche allargata anche al di sotto della cresta iliaca. Sono presenti anche anemia, leucopenia, e trombocitopenia, ipergammaglobulinemia dell'immunoglobulina G policlonale. Sovrainfezioni come polmonite, gastroenterite e tubercolosi, possono complicare di frequente la malattia, mentre amiloidosi secondaria e fibrosi epatica sono eventi rari. I casi non trattati portano inevitabilmente alla morte, di solito per complicanze secondarie, anemia o emorragia gastrointestinale.

7.2.5.4 DIAGNOSI DIFFERENZIALE

La diagnosi differenziale di leishmaniosi viscerale e muco-cutanea comprende i micobatteri della tubercolosi e della lebbre, blastomicosi, istioplasmosi, sporotricosi e le spirochete della framboesia e della sifilide, così come il lupus eritematoso. A seconda della fase della malattia, la leishmaniosi viscerale può essere confusa con la malaria, la schistosomiasi epatosplenica, la salmonellosi, la leucemia linfoide cronica e i linfomi.

La diagnosi diretta dovrebbe essere effettuata usando gli aspirati o le biopsie, i margini delle lesioni cutanee dovrebbero essere inclusi in biopsie o aghi aspirati. La colorazione di Giemsa o quella con ematossilina ed eosina possono rivelare gli amastigoti che appaiono alla periferia delle cellule dell'ospite infettate. Il tessuto prelevato va inserito in una coltura di Novy-McNeal-Nicolle o simile a 22 - 26 gradi per più di 4 settimane, facilitando l'identificazione dei proamastigoti. Capita che questi campioni contengano altri organismi che complicano la diagnosi. Esami rapidi per la diagnosi di leishmaniosi viscerale sono disponibili e hanno sostituito il test cutaneo di Montenegro che è basato sulle ipersensibilità ritardata indotta da proamastigoti uccisi ed iniettati nella cute. Altri esami sono l'agglutinazione diretta e la ricerca di antigeni nelle urine che è particolarmente utile nei pazienti immunocompromessi e per la verifica dell'efficacia terapeutica ^{635,657}. Esiste anche un test immunocromatografico in grado di differenziare la malaria dalla leishmaniosi ⁶⁶⁸. Reazioni false positive possono verificarsi talvolta

nei pazienti sensibilizzati con antigeni di *T. cruzi*, quindi i risultati devono essere interpretati con attenzione nelle aree dove la malattia di Chagas è endemica. A causa delle numerose reazioni crociate tra le differenti specie di leishmania nessun test cutaneo o sierologico può definire con esattezza la specie. Comunque lo sviluppo di sonde specifiche per ogni sede ha migliorato la specificità dei test diagnostici molecolari basati sulla PCR.

7.2.6 TERAPIA

Oltre venti differenti composti con effetti anti-leishmaniosi sono stati scoperti, ma solo pochi sono in uso in quanto gli altri sono solo parzialmente efficaci e spesso anche nocivi. Molti di questi farmaci sono stati scoperti agli inizi del '900 e pochi se ne sono aggiunti di recente. Le modalità di azione di questi farmaci non sono ancora completamente comprese, in quanto questi sono spesso tossici e richiedono una monitoraggio molto attenta dei pazienti durante il trattamento. Tali farmaci sono anche costosi e ciò è un problema per le popolazioni con bassi livelli socio-economici, dove purtroppo la leishmaniosi è endemica e dove la malattia spesso ha esiti mortali. I farmaci più comuni utilizzati contro le leishmaniosi cutanea, cutanea diffusa e viscerale è l'antimonio pentavalente, lo stibogluconato di sodio e l'antimonio dimetilglucamina; tutti somministrati per via parenterale. Nonostante tutti gli effetti collaterali, questi farmaci sono notevolmente meno tossici degli antimoni trivalenti usati in passato^{653,665}. Nel paziente ricoverato si somministrano 20 mg pro

kilogrammo di stibogluconato di sodio ogni giorno per 20 giorni. Un altro problema nel trattamento della leishmaniosi viscerale è la resistenza all'antimonio che arriva al 25% dei casi ^{653,666}. Per potenziare l'attività dell'antimonio pentavalente sono state utilizzate in aggiunta citochine come l'interferone gamma e il fattore di stimolazione di colonie di granulociti e macrofagi, anche se non sono stati osservati risultati convincenti.

Farmaci secondari come la pentamidina, l'amfotericina B deossicolata e un poliene macrolide con proprietà antifunginee sono stati introdotti circa mezzo secolo fa ⁶⁴⁸. L'amfotericina B è più efficace e dell'antimonio pentavalente ed è il farmaco con più ampie percentuali di successo ⁶³⁴. Di conseguenza l'amfotericina B ha sostituito l'antimonio nei casi di resistenza ⁶⁶⁷. Comunque, sebbene si siano ridotti gli effetti collaterali e le formulazioni moderne siano meno tossiche gli alti costi dei farmaci e la necessità di monitorare continuamente i pazienti durante la terapia ostacolano l'applicazione di questi nelle regioni endemiche.

Attualmente nessun nuovo farmaco risulta decisivo nella terapia. Comunque, studi sulla parammomicina, un antibiotico aminoglicosilico per la leishmaniosi viscerale, sono incoraggianti e grazie ai risultati di fase III, essa potrebbe essere utile anche come farmaco anti-leishmaniosi ⁶⁶⁵. Le sue caratteristiche sono alta efficacia, bassi costi, facile somministrazione e scarsi effetti collaterali.

Altri farmaci orali efficaci sono gli azoli e l'allopurinolo, anche se questi presentano un limitato successo a causa della scarsa efficacia e della loro tossicità ⁶⁶⁶. Recentemente sono state utilizzate per il trattamento della leishmaniosi viscerale anche le alchilfosfocoline anti-neoplastiche. La situazione in passato era disperata finché non fu introdotta la esadecilfosfocolina, il primo farmaco anti-leishmaniosi orale realmente efficace ^{648,667}. Sebbene il trattamento richieda una somministrazione giornaliera per 4 settimane, è stata dimostrata un'efficacia del 94% per pazienti di tutte le età, escludendo le donne in gravidanza, a causa del potenziale teratogeno ⁶⁶⁷. Quindi la esadecilfosfocolina presenta un ottimo potenziale terapeutico per la leishmaniosi, ma è fondamentale verificare l'assenza di resistenze anche a questo farmaco.

7.3 CONTROLLO DELLA PATOLOGIA

Gli strumenti precedentemente usati per il controllo della leishmaniosi erano inefficaci in quanto troppo costosi, non abbastanza efficaci, troppo tossici o troppo complessi per una somministrazione locale. Comunque la ricerca ha permesso lo sviluppo di nuovi presidi. L'utilizzo di reti trattate con insetticida è una valida alternativa al tradizionale controllo dei vettori attraverso il controllo tradizionale dei vettori con spray contenente insetticida ⁶⁴¹. Queste misure sono particolarmente utili nelle aree dove la leishmaniosi e la malaria sono endemiche e laddove esiste una trasmissione uomo-uomo. Infine è importante disinfettare gli animali in quanto serbatoio, per esempio impregnando i collari dei cani con piretroidi ⁶⁴⁶.

L'OMS ha assegnato un'alta priorità dello sviluppo di un vaccino contro la leishmaniosi a causa dell'ampio numero di soggetti infettati e della scarsa efficacia dei farmaci a disposizione. La ricerca farmacologica aveva lo scopo di sviluppare un vaccino oltre 25 anni fa; purtroppo nessun vaccino è stato introdotto contro tutte le forme di leishmaniosi o altri parassiti. Inoltre, l'esistenza di vaccini efficaci veterinari contro vari parassiti rappresenta un obiettivo importantissimo nonostante gli attuali difetti. I recenti progressi del sequenziamento del genoma di numerose specie di leishmania sta contribuendo alla comprensione della patogenesi analizzando le caratteristiche fondamentali della virulenza parassitaria e delle difese dell'ospite ⁶⁶⁴. Questo progresso non è ancora completato ma potrebbe facilitare l'introduzione di nuovi bersagli per farmaci e vaccini.

Storicamente, la protezione della leishmaniosi cutanea era ottenuta inoculando un contenitore immunologicamente inerte in una piccola parte del corpo accertandosi della presenza di pus durante la guarigione. Questo era effettuato fino alla fine degli anni '80 in Medioriente e in Russia ma nonostante la buona protezione, tale pratica fu abbandonata in quanto a volte provocava proprio la malattia nella forma più grave. I vaccini di prima generazione, composti da parassiti uccisi, riducevano una relativamente bassa efficacia, mentre i risultati sono migliorati con la seconda generazione di vaccini sviluppati negli anni '90 e composti da parassiti vivi geneticamente modificati, o anche da batteri e virus contenenti i geni della leishmania ⁶⁶². I vaccini apparentemente più efficaci sono quelli multiplo-geni di DNA che sono stabili e non richiedono il trasporto a catena fredda. Prima che questi prodotti siano sviluppati, comunque, la seconda generazione di vaccini con antigeni nativi e additivi efficaci è vicina ad essere approvata ed utilizzata in maniera programmata ⁶⁶².

Tentativi di sviluppare un vaccino efficace per controllare la leishmaniosi non sono ancora andati a buon fine clinicamente. La capacità di creare parassiti geneticamente modificati eliminando la virulenza o geni essenziali è considerata una valida alternativa nello sviluppo di un vaccino efficace. Attualmente solo tre vaccini sono disponibili: uno con parassita vivo per gli umani in Uzbekistan, uno con parassita morto per la terapia immunologica umana in Brasile e un terzo di seconda generazione per la profilassi dei cani in Brasile ⁶⁵⁸.

L'OMS insieme ad altre istituzioni sta allacciando collaborazioni per ottenere fondi per la ricerca sulla leishmaniosi. La disponibilità di farmaci poco costosi e la capacità di controllare i vettori rappresentano un'opportunità per riuscire a eliminare definitivamente le aree dove la leishmaniosi viscerale è endemica. Un altro obiettivo sarà quello di introdurre presidi accessibili e sicuri nei confronti dei soggetti suscettibili a questa malattia.

8. SIFILIDE

Un'altra malattia che coinvolge anche il cavo orale sia come sito primario che come via di trasmissione è senz'altro la sifilide. La sifilide è una patologia trasmessa per via sessuale e può avere un aspetto sia acuto che cronico. L'agente eziologico è il *Treponema pallidum* e nella sua fase acuta produce lesioni sia a livello cutaneo che orale ⁶⁷¹. Nella fase cronica invece la malattia presenta un'estensione sistemica, coinvolgendo l'apparato digerente, quello locomotore, quello cardiovascolare ed anche il sistema nervoso centrale. La trasmissione della sifilide è, come già specificato, di tipo orizzontale per via sessuale sebbene esistano casi di trasmissione verticale da madre malata al feto ⁶⁷¹⁻⁶⁷³. Per quanto riguarda la trasmissione sessuale, la sifilide può contagiare attraverso il sesso genitale e quello orale, così come accade per la gonorrea ⁶⁷¹. Di conseguenza il sito primario di infezione sifilitica risulta l'area genitale, sebbene esistano anche situazioni in cui sono coinvolte altre parti del corpo ⁶⁷⁵. È importante considerare anche che la sifilide si sviluppa più facilmente in ambienti caratterizzati da scarsa igiene e basso status socio-economico, così come accade per le infezioni da HIV ⁶⁷⁵⁻⁶⁷⁸.

Le manifestazioni e le caratteristiche cliniche della sifilide rispecchiano diverse fasi, ognuna delle quali è caratterizzata da particolari segni e sintomi correlati al tempo e alla risposta anticorpale.

Le fasi sono: primaria, secondaria, latente, terziaria e congenita ⁶⁷¹⁻⁶⁷³.
La sifilide è una malattia assolutamente rilevante in ambito odontoiatrico, in quanto il cavo orale può esserne direttamente coinvolto e funzionare da canale per la trasmissione dell'agente infettante tramite sangue e saliva. La sifilide inoltre può accompagnare anche altre malattie sessualmente trasmesse e la presenza di ulcerazioni a livello genitale facilita notevolmente il rischio di contagio da HIV ^{671,679}.

8.1 EPIDEMIOLOGIA DELLA SIFILIDE

Prima dell'introduzione della terapia antibiotica, la sifilide agli inizi del '900 aveva una prevalenza di circa il 10-12% tra le popolazioni residenti nelle aree urbane, considerando che la sua natura di malattia sessualmente trasmessa è stata scoperta solo dopo il 1940, quando furono riportati i primi bollettini medici negli Stati Uniti in cui si iniziavano a descrivere infezioni primarie, secondarie, precoci, tardive e latenti ⁶⁸⁰⁻⁶⁸⁴.

Dagli inizi del secolo scorso l'incidenza annuale di questa malattia è progressivamente diminuita negli anni, fino ad arrivare all'improvviso aumento attorno agli anni '90 ⁶⁸². In particolare agli inizi del '900 gli individui infettati erano circa 64 su 100000, a metà secolo si è scesi a 4 su 100000 fino ad arrivare a circa 20 alla fine del secolo ⁶⁸³. Solo nell'ultimo decennio dello scorso secolo, per lo meno negli Stati Uniti si è riusciti a contenere la malattia attorno a 2 casi ogni 100.000 abitanti ⁶⁸³⁻⁶⁸⁶. Purtroppo questo valore è in lieve aumento in questo primo decennio degli anni 2000, arrivano anche a 2,5 malati su 100.000 ^{671,687,688}. Per quanto riguarda la suddivisione in base al sesso dei soggetti contagiati, l'incidenza è in diminuzione tra le donne, come purtroppo è in aumento tra gli uomini ⁶⁸².

Per il terzo millennio il Dipartimento della Salute degli Stati Uniti ha definito un piano per la prevenzione e la terapia della sifilide, con l'obiettivo ambizioso di portare a 0,4 casi ogni 100.000 abitanti i soggetti contagiati entro il 2005 e a 0,2 entro il 2010 ^{688,689}.

Per quanto riguarda la sifilide congenita, attorno alla metà del '900 l'incidenza era di 9 casi su 100.000 nati vivi, arrivando addirittura a 107 su 100.000 negli anni'90 e scendendo nuovamente a 10 nei primi anni 2000 ⁶⁸².

8.2 CARATTERISTICHE CLINICHE

La fase iniziale d'infezione da *T. pallidum* è la sifilide primaria^{671,673}. Essa si presenta come un'infezione locale nel sito stesso della penetrazione del microrganismo. Il periodo di incubazione medio è di circa 2-3 settimane, dopo il quale compaiono diverse papule proprio nell'area dell'inoculazione in maniera del tutto asintomatica, anche se talvolta le papule possono ulcerarsi e necrotizzare (figura 12). Tali ulcere necrotizzanti raggiungono anche i 2 cm di diametro e presentano bordi rilevati. Esse si possono osservare a livello genitale, anale, labiale o intraorale, con frequente linfadenopatia⁶⁷³. Tali lesioni guariscono spontaneamente e entro 3-6 settimane anche se proprio in questa fase si verifica la diffusione sistemica del microrganismo^{671,673}.



Figura 12. Papule sifilitiche primarie a livello del labbro superiore.

Circa il 25% dei pazienti che non effettuano terapia alcuna per la sifilide possono presentare un'infezione secondaria entro un mese e

mezzo da quella primaria ^{671,673}. Esistono anche situazioni in cui le lesioni secondarie si manifestano in assenza di pregresse lesioni primarie. I sintomi delle lesioni secondarie sono rash cutaneo, astenia, malessere, febbre, linfadenopatia generalizzata, uveite e meningite asettica ⁶⁷¹. Un'altra manifestazione della sifilide secondaria è la presenza di lesioni papulari sul palmo delle mani e sulle piante dei piedi e ciò accade fino all'80% dei casi ⁶⁷³. Inoltre circa il 50% dei pazienti in questa fase della patologia presenta lesioni mucose o muco-cutanee, macule o condilomi a livello orale o genitale ⁶⁷⁴.

Il terzo stadio della malattia non trattata è chiamato sifilide latente ⁶⁷¹. In questa fase il paziente non presenta manifestazioni cliniche della patologia, pur mostrando invece la presenza di anticorpi a livello sierologico. In una fase iniziale possono verificarsi anche lesioni muco-cutanee, mentre in una fase tardiva ci può essere resistenza alla terapia a causa di un maggior tempo necessario alla replicazione dei microrganismi ^{671,673}.

La quarta fase della sifilide non curata è detta terziaria ⁶⁷¹. Essa può presentarsi dopo le forme primaria e secondaria o dopo la fase di latenza. Solitamente si sviluppa dopo pochi anni dal contagio, ma può avvenire anche dopo 25-30 anni ^{671,673}. Questa forma può coinvolgere anche il sistema nervoso centrale, la cute, le membrane mucose e l'apparato cardio-circolatorio ⁶⁷¹. È proprio in questa fase che si osserva la classica lesione ulcerativa e nodulare della sifilide, chiamata gomma luetica ⁶⁷¹⁻⁶⁷³. La gomma può coinvolgere anche la cute, le membrane mucose, gli arti ed anche numerosi organi interni.

A livello cardio-circolatorio possono verificarsi aneurismi ed infezioni aortiche ⁶⁷³. A livello nervoso si verificano invece tabe dorsale, paralisi generale o anche patologie psichiatriche. Altre manifestazioni sono iriti, coroidoretiniti e leucoplachie associate a glossiti interstiziali ^{673,690}. Circa un terzo dei pazienti non trattati per sifilide arrivano a presentare sifilide terziaria, caratterizzata almeno da una gomma luetica o da patologie cardio-vascolari o da problemi neuro-psichiatrici ⁶⁷¹.

Esiste inoltre la possibilità di trasmissione verticale di sifilide anche nei periodi che precedono il parto ⁶⁹¹. Fino al 70% delle donne con sifilide attiva danno alla luce bambini infetti da sifilide ⁶⁹². Inoltre le donne infette possono presentare nel 50% dei casi anche aborto spontaneo, mentre i bambini nati da madre infetta possono presentare una sintomatologia evidente entro un periodo che varia dalle 2 settimane ai tre mesi seguenti alla nascita ⁶⁹². I sintomi iniziali comprendono rinite, eruzioni vescicolo-bollose, papule, desquamazioni, ragadi periorali, ulcere cutanee, febbre, spleno ed epatomegalia, anemia e ritardo nella crescita fetale ^{691,692}.

La maggior parte dei bambini che sopravvivono al primo anno di vita e che restano non curati manifestano sifilide latente o terziaria negli anni successivi ⁶⁹². In questi casi la sifilide terziaria genera danni ossei, dentari, oculari, auricolari e cerebrali dopo i due anni di età ^{671,692}. Possono verificarsi anche difetti scheletrici come il naso a sella, il palato ad arco e l'ipertrofia delle bozze frontali ⁶⁷¹. Durante le fasi avanzate della sifilide congenita può anche presentarsi la triplice

sintomatologia di Hutchinson, che prevede cheratite interstiziale, sordità a causa di deficit del nervo stato-acustico, incisivi permanenti conoidi e molari ipercuspidati ⁶⁷¹. Nelle fasi avanzate della malattia è anche possibile rilevare idrocefalia, ritardo mentale, gomma luetica e danni neuro-psichiatrici ⁶⁷¹.

8.3 DIAGNOSI

La diagnosi di sifilide si basa su segni e sintomi clinici, su esami istologici che evidenziano il microrganismo attraverso colorazioni a base di argento o presenza di marcatori immunologici e su test sierologici ⁶⁹⁰. Sebbene non esista una caratteristica clinica patognomonica della sifilide, un sospetto diagnostico può essere formulato in presenza di iperplasia epiteliale, infiammazione cronica granulomatosa o con molte plasmacellule, endoarterite e neurite ⁶⁹³. La diagnosi definitiva di sifilide è effettuata usando metodi indiretti per il fatto che il microrganismo non può essere coltivato in vitro ⁶⁷¹. La necrosi delle sifilide primaria viene diagnosticata grazie alla microscopia su campo oscuro ^{671, 673}. Le altre fasi invece sono diagnosticate utilizzando test sierologici ^{671,692}. Quando la diagnosi di sifilide è stata formulata, è necessario anche effettuare un'analisi quantitativa dei microrganismi presenti a livello ematico. La quantità dovrebbe diminuire di quattro volte entro sei mesi dopo il trattamento delle fasi primaria e secondaria ed entro 12 - 24 mesi dopo il trattamento della sifilide latente o terziaria. Nel caso di un coinvolgimento neurologico, è opportuno esaminare anche il liquido cerebrospinale ⁶⁹⁴.

8.3.1 ESAME MICROSCOPICO

La diagnosi di sifilide nel paziente sintomatologico va effettuata sulla base di un'analisi di campioni microscopici provenienti da biopsie o aghi aspirati linfonodali. Gli esami al microscopio vanno effettuati su

campo oscuro per identificare il microrganismo oppure attraverso i test di immunofluorescenza anticorpale diretta con colorazione a base di argento, o attraverso la PCR o infine anche grazie ai test di trascrittasi inversa con PCR ⁶⁷².

8.3.2 TEST SIEROLOGICI

Esistono due tipi di test sierologici ⁶⁷². Il primo comprende test standard senza Treponema. Questi ricercano le IgM e le IgG attraverso il materiale lipide rilasciato dalle cellule ospite danneggiate e gli antigeni simili a *T. pallidum*. Esistono 4 tipi di test che utilizzano un antigene, cioè cardiolipina, colesterolo e lecitina. I test sono quello del laboratorio di ricerca delle malattie veneree, il test delle reagina serica non riscaldata, il test plasmatico rapido della reagina, e il test al rosso di toulidina serica non riscaldata ⁶⁷². I due test più utilizzati sono quello del laboratorio delle malattie veneree e quello del plasma rapido. La reattività a questi test non si sviluppa fino alle 4 settimane successive all'insorgenza di ulcere nella sifilide primaria ⁶⁷². I test possono diventare negativi in alcuni casi di sifilide latente e terziaria ⁶⁷². I test sono quantitativi e sono utilizzati per verificare la risposta al trattamento ⁶⁷².

Test specifici anticorpali contro il Treponema sono utilizzati per confermare la diagnosi ⁶⁷². Questi sono qualitativi e non sono utilizzati per verificare la validità del trattamento ⁶⁷². Una volta che il paziente è positivo ad uno di questi test, resterà positivo per tutta la vita a questo trattamento. I test anticorpali specifici per il Treponema sono anche

utilizzati per differenziare i veri positivi dai veri negativi nei pazienti analizzati con test anticorpali standard senza microrganismo ⁶⁷². I test utilizzati sono il test dell'assorbimento anticorpale fluorescente del Treponema e il test dell'assorbimento anticorpale fluorescente del Treponema con doppia colorazione, entrambi test di immunofluorescenza indiretta. Esistono anche la verifica della microemoagglutinazione per gli anticorpi del T. pallidum, il test di agglutinazione delle particelle del T. pallidum e i test commerciali per la verifica immunitaria enzimatica del Treponema ⁶⁷². Esistono anche test ultrarapidi di laboratorio che possono essere utilizzati sia sul sangue che sul siero che sul plasma o anche saliva. Alcuni autori hanno suggerito che i test commerciali immunoenzimatici sono una valida alternativa ai test con assorbimento anticorpale ⁶⁷². I risultati positivi sono confermati utilizzando un test con microrganismo di un differente tipo su un secondo campione proveniente dal paziente ⁶⁷².

8.3.3 PREVENZIONE

La prevenzione primaria si basa sulla riduzione del numero dei partner sessuali e sull'utilizzo obbligatorio di preservativi nell'attività sessuale ^{671, 672}. È fondamentale l'insegnamento dei rischi dovuti a cattive abitudini sessuali. Durante la fase di incubazione del Treponema, è necessario iniettare una singola dose di penicillina G benzatina intramuscolo e azitromicina orale. La somministrazione di antibiotici specifici per trattare altre malattie sessualmente trasmesse come la gonorrea e la cancroide possono anche interrompere

l'incubazione contemporanea della sifilide. Lo sviluppo di un vaccino contro la sifilide è stato impedito dall'incapacità di coltivare il microrganismo artificialmente sebbene e il recente sequenziamento del genoma del *T. pallidum* dovrebbe permettere nuovi sviluppi nella ricerca⁶⁷¹. La prevenzione secondaria attraverso diagnosi, trattamento, individuazione del partner ed educazione restano ancora i punti di riferimento standard⁶⁷².

8.3.4 TERAPIA

Attualmente la terapia standard per la sifilide primaria, secondaria o latente comprende l'utilizzo di una singola dose parenterale di penicillina G benzatina ad azione prolungata^{671, 673}. I pazienti con sifilide terziaria, gomma luetica o coinvolgimento cardiovascolare dovrebbero invece essere trattati con un'iniezione intramuscolo una volta la settimana per 3 settimane⁶⁹². Farmaci alternativi per pazienti allergici alla penicillina con sifilide primaria, secondaria, latente o con gomma luetica o problemi cardiovascolari comprendono la doxaciclina o la tetraciclina per via orale⁶⁹². Per i pazienti con sifilide terziaria, gomma luetica o complicanze cardiovascolari la terapia standard a base di doxaciclina o tetraciclina è estesa da 14 a 28 giorni. Le donne in gravidanza non dovrebbero essere trattate con tetracicline mentre quando sono allergiche alla penicillina e non tollerano la doxaciclina, necessitano di desensibilizzazione alla penicillina^{673,692}. La prima scelta terapeutica per pazienti affetti da sifilide a sistema nervoso è la penicillina acquosa^{3,22}. Per i pazienti che non possono

seguire tale terapia è necessario somministrare giornalmente penicillina g procaina intramuscolo e promenecid per via orale ^{673,692}. I pazienti con sifilide la sistema nervoso ma anche allergici alle penicilline richiedono desensibilizzazione alle penicilline.

I pazienti affetti da sifilide necessitano anche di un test per verificare l'HIV ed anche dopo il trattamento dovrebbero essere periodicamente controllati a livello sierologico verificando la situazione di negatività ^{671,673}. Tale conversione solitamente si verifica entro un anno. Esiste una bassa probabilità di fallimento terapeutico per la sifilide, anche se è importante che la risoluzione dello stato infettivo avvenga rapidamente nei pazienti affetti, addirittura entro poche ore dall'inizio del trattamento medico ⁶⁷⁴. Inoltre il 50% dei pazienti dopo la terapia per la sifilide, si verifica la reazione di Jarisch-Herxheimer, caratterizzata da febbre, tremori, mialgia e mal di testa ⁶⁷¹. I sintomi della reazione si verificano entro 24 ore dall'inizio di qualunque terapia antibiotica per la sifilide.

La sifilide congenita è comunque meglio gestibile perfezionando le misure preventive. Tra queste vi è il test sierologico per la sifilide a tutte le donne in gravidanza. Se l'esito è positivo, la madre va trattata con penicillina e monitorata nuovamente dopo 28 settimane e ancora dopo il parto ⁶⁹⁷. Bambini nati da madri sieropositive dovrebbero essere controllati con test sierologici non troponemici e se positivi trattati con penicillina G acquosa intravenosa o penicillina G con procaina per 10 giorni dopo il parto ^{673,692}. Sebbene il trattamento sia

necessario per la sifilide congenita e terziaria, l'effetto terapeutico è proporzionato all'estensione del danno già presente ⁶⁷¹.

8.4 GESTIONE DELLA SIFILIDE IN ODONTOIATRIA

La gestione orale dei pazienti con malattie veneree inizia con la diagnosi. Lo scopo è identificare tutti i pazienti con patologia in fase attiva in quanto bacino di infezione. Purtroppo ciò non è sempre possibile poiché numerose persone rifiutano di fornire indicazioni anamnestiche o sottovalutano i segni e sintomi della malattia se non eclatanti ⁶⁷¹. L'impossibilità di identificare pazienti potenzialmente infettivi è presente anche ad altre malattie come l'HIV e l'epatite virale. Quindi tutti i pazienti dovrebbero essere considerati come potenzialmente infettivi ⁶⁷¹. Il ministero della salute degli Stati Uniti ha pubblicato le misure preventive da seguire in ambito odontoiatrico ⁶⁹⁷⁻⁷⁰¹. Il rispetto di queste raccomandazioni elimina il rischio di trasmissione della patologia tra odontoiatra e paziente ⁶⁷¹.

Le lesioni di sifilide primaria e secondaria non trattate sono infettive, così come il sangue e la saliva. Anche dopo che il trattamento è iniziato, l'assoluta efficacia della terapia non può essere garantita tranne che attraverso la sierconversione da positiva a negativa; comunque ci si aspetta un'inversione precoce dello stato infettivo grazie alla somministrazione degli antibiotici. Il periodo necessario alla conversione varia da pochi mesi a più di un anno ⁶⁷¹. Quindi i pazienti in fase di trattamento o coloro che presentano sieropositività post-terapeutica dovrebbero essere considerati come potenzialmente infettivi. Le cure odontoiatriche fondamentali possono essere effettuate se non sono presenti lesioni orali, mentre se queste sono

presenti i trattamenti odontoiatrici dovranno iniziare solo dopo la loro risoluzione ⁶⁷¹.

Non esistono adeguamenti terapeutici per i pazienti con la sifilide, non esistono reazioni avverse tra gli antibiotici più comuni o i farmaci anti-sifilitici e i prodotti comunemente utilizzati in odontoiatria. I pazienti con incisivi di Hutchinson da sifilide congenita richiedono trattamenti restaurativi estetici per tali elementi dentari ⁶⁷¹.

È importante che l'odontoiatra segnali i casi di malattie veneree osservate.

8.5 QUADRI CLINICI DELLA SIFILIDE

Le ulcere sifilidiche e placche mucose sono spesso asintomatiche a meno che vengano infettate secondariamente ed entrambe sono altamente infettive. L'ulcerazione inizia con un papula che si approfondisce senza dolori assumendo una superficie liscia e grigiastra. Le dimensioni possono variare da pochi millimetri a 2 - 3 centimetri. Un altro aspetto è la linfadenopatia unilaterale ⁶⁷¹. Le placche mucose orali spesso insorgono come papule asintomatiche lievemente esofitiche con superfici ulcerata. Possono essere coinvolte anche labbra, lingua e le mucose vestibolari e labiali. Sia le ulcerazioni che le placche mucose regrediscono spontaneamente indipendentemente dalla terapia antibiotica sebbene sia necessaria una radicale chemioterapia per eliminare le infezioni sistemiche. Durante la sifilide secondaria a livello del cavo orale sono state osservate lesioni che ricordano la leucoplachia capelluta, l'eritema multiforme e il lichen planus ⁶⁹⁷⁻⁷⁰⁰. La gomma luetica è una lesione non dolorosa che può essere secondariamente infettata. Questa non è infettiva e quando si verifica a livello del palato duro ne causa la distruzione. Esiste anche al glossite interstiziale che è il risultato della contrazione della muscolatura linguale conseguente alla guarigione della gomma luetica ed è considerata una lesione precancerosa ⁶⁷¹.

Esiste un rischio 4 volte superiore di insorgenza di carcinoma a cellule squamose in queste lesioni rispetto al tessuto sano. Ciò può essere dovuto agli agenti cancerogeni utilizzati per la terapia della sifilide come l'arsenico ed altri metalli pesanti più che l'agente infettivo

stesso ⁶⁹². Le manifestazioni orali della sifilide congenita comprendono gli incisivi centrali permanenti conoidi con tacche a livello del margine incisale (incisivi di Hutchinson), molari alterati con cuspidi soprannumerarie (molari a mora), glossite interstiziale, palato alto e stretto e ragadi periorali ⁶⁷¹.

9. ERITEMA MULTIFORME

Tra le tante malattie ad eziologia immunitaria che colpiscono le mucose orali, vi è l'eritema multiforme. Questo è una rara patologia infiammatoria che colpisce la cute, le membrane mucose o entrambe. Una sua caratteristica è senz'altro la sua recidività spontanea seguente a periodi di remissione. Questa malattia colpisce soggetti giovani-adulti in buone condizioni di salute sistemica, anche se non sono rari casi in età pediatrica ^{702,703}.

Esistono diverse varianti di questa lesione e le principali sono la maggior e la minor, che colpiscono il cavo orale, anche se possono verificarsi contemporaneamente a livello della cute e di altre membrane mucose. L'eritema minor colpisce principalmente un solo distretto mucoso e può essere associato a lesioni cutanee disposte simmetricamente in corrispondenza degli arti, mentre la variante minor è estesa a due o più distretti mucosi oltre la cute. Esiste anche una terza variante molto più grave delle altre due ed è definita come sindrome di Steven-Johnson, che coinvolge severamente ampie porzioni cutanee. Non è ancora evidente se questa sindrome e la necrolisi epidermica tossica siano due malattie clinicamente, istologicamente ed eziologicamente diverse ^{702,704}.

9.1 EZIOPATOGENESI

L'eritema multiforme è una patologia autoimmune dovuta a diversi agenti farmacologici o microbici, in particolare il virus dell'herpes simplex, che può essere osservato in oltre il 70% dei casi di recidiva^{702,706}. Dall'esame anamnestico si evidenzia che l'eritema si presenta entro due settimane da una precedente infezione da herpes simplex e circa nell'80% dei casi è osservabile addirittura il DNA virale⁷⁰⁶⁻⁷¹³. Un recente studio basato sulla PCR ha dimostrato la presenza di Herpes virus 1 nel 66% dei pazienti, di Herpes virus 2 nel 28% ed entrambi i fenotipi virali nel 6% dei casi⁷¹⁷.

Numerosi sono i farmaci che possono indurre l'eritema multiforme e ciò accade in circa il 60% dei casi, con un recente aumento di forme dovute all'assunzione di cefalosporine, anche se sono stati registrati casi dovuti a fentoina e a radioterapia a livello del distretto oro-maxillo-facciale^{702,717,718}.

Da un punto di vista patogenetico l'eritema è dovuto ad una reazione immunitaria cellulo-mediata dai linfociti T nei confronti degli agenti precipitanti, che provoca una distruzione citologica dei cheratinociti che espongono antigeni apparentemente estranei. Ne deriva l'insorgenza di vescicole sotto ed intra-epiteliali, che possono esitare anche in erosioni.

Quando insorge un eritema multiforme correlato ad un'infezione da herpes virus, è possibile osservare il DNA virale a livello mucoso o cutaneo. In particolare le cellule CD34+ trasportano frammenti di herpes virus fino all'epitelio, mentre le cellule T si accumulano in

risposta agli antigeni e alle cellule distrutte ^{702,713-720}. Quando invece si verifica un eritema da farmaci, sono metaboliti attivi ad indurre la malattia ⁷⁰². In questo caso l'apoptosi è generata dal fattore α di necrosi tumorale prodotto dai cheratinociti, dai macrofagi e dai monociti scatenando la distruzione tissutale ⁷²¹. In ogni caso esiste una predisposizione genetica all'eritema multiforme con diversi antigeni di istocompatibilità, anche se nessuno di questi è diagnostico.

Nella sindrome di Stevens-Johnson e nella necrolisi epidermica tossica, i linfociti T, i macrofagi ed i neutrofili attivati sembrano essere coinvolti nel danno tissutale dalla cascata apoptotica Fas/FasL e dal sistema CD40/CD40L che è un'importante via di induzione della patologia ⁷²².

9.2 QUADRI CLINICI

L'eritema multiforme si può presentare in una variante lieve, auto-limitata ed esantematica che raramente coinvolge il cavo orale ed è definita perciò minor oppure in un'altra forma, caratterizzata da un'ampia necrosi epiteliale muco-cutanea assolutamente progressiva e dalla prognosi negativa, detta sindrome di Stevens-Johnson oppure in una forma intermedia detta maior. Esiste un'associazione tra la natura dell'agente eziologico e la gravità della malattia, infatti le infezioni virali sembrano essere responsabili delle forme minor e maior, mentre l'eziologia farmacologica sembra essere alla base della sindrome di Stevens-Johnson⁷²³.

Le lesioni a livello del cavo orale sembrano essere presenti in oltre due terzi dei pazienti con eritema e possono essere estese alle labbra, che si presentano gonfie, crostose, sanguinanti e spaccate e alla mucosa non cheratinizzata delle aree anteriori della bocca (figura 13). A questo livello si possono osservare vescicole ed ulcere, che comunque non sono patognomoniche della malattia.



Figura 13. Eritema multiforme minor labiale.

Altri distretti mucosi extraorali coinvolti sono le congiuntive, con lacrimazione e fotofobia e le aree genitali, che presentano dolore e ritenzione urinaria.

Nell'eritema minor le lesioni cutanee sono solitamente macule o papule eritematose con aspetto "a bersaglio" disposte simmetricamente, che possono anche contenere bolle. Tali lesioni solitamente hanno un diametro inferiore a 3 cm ed hanno forma appunto circolare, con bordi esterni ben definiti contenenti due anelli concentrici edematosi più chiari rispetto al disco centrale. Le lesioni "a bersaglio" presentano invece una forma irregolare e rilevata nell'eritema maior e nella sindrome di Stevens-Johnson.

Nell'eritema minor, il coinvolgimento mucoso è spesso circoscritto ad un'area, di solito il cavo orale⁷²⁴. Le eruzioni cutanee sono in questa forma disposte simmetricamente sulle superfici estensorie di braccia e

gambe ed assumono una forma “a bersaglio” o a bolla che può essere pruriginosa ⁷⁰².

L'eritema maior è una forma più grave caratterizzata dal coinvolgimento di diverse membrane mucose del cavo orale e anche delle aree genitali, oculari, esofagee o laringee, anche in combinazione tra loro ⁷²⁴. Le lesioni cutanee sono simili di solito a quelle dell'eritema minor, anche se possono contenere atipie, bolle ed essere in rilievo (figura 14).



Figura 14. Eritema muliforme maior.

La sindrome di Stevens-Johnson è ancora più grave dell'eritema maior e causa ampie lesioni cutanee, che sono anche osservabili a livello orale, oculare, faringeo, laringeo, esofageo e genitale, con conseguenti balaniti, uretriti, ulcere vulvari (figura 15). Non rari sono sintomi influenzali come febbre, mal di gola, emicrania, artralgie, mialgie,

polmoniti, nefriti o miocarditi. Le alterazioni a livello oculare ricordano quelle dovute al pemfigoide delle membrane mucose, cioè secchezza e symblepharon. Tale sindrome può evolvere in sindrome di Sjögren⁷⁰².



Figura 15. Paziente affetto da sindrome di Stevens-Johnson.

9.3 DIAGNOSI

L'aspetto clinico di ampie e diffuse ulcerazioni orali è difficile da differenziare rispetto ad altre malattie vescicolo bollose come il pemfigo o il pemfigoide. Inoltre è importante la diagnosi differenziale da stomatiti virali e necrolisi epidermica tossica⁷⁰². Le caratteristiche principali dell'eritema multiforme sono l'insorgenza acuta con numerose recidive, la presenza di erosioni orali tipicamente disposte sulle labbra e nelle aree anteriori delle mucose geniene e lesioni cutanee e a livello di altri distretti mucosi.

Non esistono test diagnostici specifici per l'eritema e quindi la diagnosi è solitamente bioptica, grazie alla quale si osservano anche i tessuti perilesionali escludendo anche le altre possibili cause. Un esame istologico ed immunologico mostra un edema intraepiteliale e spongiosi, con cellule necrotiche satellite che sono cheratinociti necrotici circondati da linfociti, degenerazione vacuolare della membrana basale e grave edema papillare con vescicole sotto ed intraepiteliali. È presente un intenso infiltrato linfocitico a livello della membrana basale e delle aree perivascolari, con depositi non immuno-specifici di IgM, C3 e fibrina in queste aree. In ogni caso i segni sono molto variabili e la ricerca di fattori immunologici non semplifica la diagnosi.

Nei casi più gravi è opportuno richiedere al paziente un esame ematologico completo, oltre alla quantificazione dell'urea e degli elettroliti, alla percentuale di sedimentazione degli eritrociti e ai test di funzionalità epatica. Possono essere d'aiuto anche la ricerca di

microrganismi come gli herpes virus ed i micoplasmi a livello ematico, salivare e all'interno delle aree erosive.

9.4 TERAPIA

Tutti i possibili fattori causali dovrebbero essere rimossi o almeno controllati. In particolare i farmaci responsabili dovrebbero essere interrotti trattando le infezioni più importanti. Nelle forme in cui sono presenti anche tracce di herpes virus è necessario somministrare 200 mg di aciclovir 5 volte al giorno per 5 giorni al momento dell'insorgenza delle lesioni o 400 mg 4 volte al giorno per 6 mesi o 500 mg di valaciclovir due volte al giorno in maniera continua come profilassi. Se viene osservata la presenza di Mycoplasma pneumoniae, è necessario somministrare 250 mg di tetracicline 4 volte al giorno per almeno una settimana.

Non esiste una terapia specifica per l'eritema multiforme in sé, anche se possono aiutare analgesici e una dieta liquida. Nelle forme gravi di eritema è necessario il ricovero ospedaliero, durante il quale il paziente deve assumere sostanze liquide in endovena, prestando particolare attenzione anche a livello cutaneo ed oftalmologico.

I corticosteroidi sono i farmaci d'elezione per l'eritema, anche se non esistono significativi dati scientifici di supporto. È stata comunque osservata una buona risposta dell'eritema minor ad una terapia topica con corticosteroidi. I pazienti con eritema maior o sindrome di Stevens-Johnson dovrebbero essere trattati con corticosteroidi per via sistemica come prednisolone 1 mg / Kg ogni giorno per 7-10 giorni o con azatioprina o con entrambi i farmaci o con altri immunomodulatori come la ciclofosfamida, il dapsona, la ciclosporina, il levamisole, il talidomide o l'interferone α ^{715,725-727}.

Anche la ciclosporina assunta periodicamente può prevenire le recidive dell'eritema multiforme⁷²⁷.

10. LEUCOPLACHIA

Tra le diverse malattie dei tessuti orali, è opportuno menzionare la leucoplachia, che è la più comune lesione precancerosa, potenzialmente maligna, della mucosa orale. Una lesione precancerosa è stata definita come un tessuto alterato morfologicamente nel quale il cancro più facilmente può verificarsi rispetto al tessuto apparentemente normale ⁷²⁸.

A seguito dell'uso di differenti definizioni e terminologie, attualmente non è possibile valutare dati epidemiologici, i risultati dei trattamenti e la percentuale delle trasformazioni maligne della leucoplachia orale.

Per molti anni la leucoplachia orale è stata definita come un termine clinico: lesione prevalentemente bianca della mucosa orale che non può essere definita come nessun'altra lesione ^{728,729}. Inoltre, è fondamentale fare una distinzione tra diagnosi clinica provvisoria di leucoplachia orale e diagnosi definitiva ⁷²⁹. Una diagnosi clinica provvisoria è fatta quando una lesione all'esame clinico iniziale non può essere chiaramente diagnosticata come altre lesioni della mucosa orale con un aspetto bianco ⁷³⁰. Una diagnosi clinica definitiva di leucoplachia orale è fatta a seguito dell'identificazione, e se possibile l'eliminazione, dei presunti fattori eziologici e in caso di persistenti lesioni (nessun segno di regressione entro 2 - 4 settimane), l'esame istopatologico. In seguito l'operatore riconosce diversi livelli di leucoplachia orale.

Ad un intervallo di 2 - 4 settimane è stato possibile osservare la regressione o la scomparsa di una lesione bianca dopo l'eliminazione di possibili fattori causali, sembra essere un periodo di tempo accettabile per l'odontoiatra prima di effettuare una biopsia o prima di inviare il paziente da uno specialista per avere ulteriori indagini. È evidente che il tempo necessario a una lesione bianca reattiva per regredire potrebbe essere superiore ad 2 o 4 settimane, come menzionato precedentemente. Comunque, questo potrebbe essere azzardato per una lesione di leucoplachia già osservata per un periodo più lungo senza avere fatto una biopsia o senza aver inviato il paziente per ulteriori approfondimenti.

Le caratteristiche cliniche ed istopatologiche di parecchie lesioni orali bianche e biancastre sono state ben documentate. Queste non sono sempre caratteristiche, in quanto un certo numero di casi può non essere classificato con certezza come lesione altrimenti definibile o come leucoplachia. Per esempio, i tipi di lichen planus non reticolare orale potrebbero essere difficili da distinguere dalla leucoplachia, finché non è stata effettuata una biopsia. Nelle lesioni bianche in cui è dimostrata la presenza della *C. albicans*, alcuni preferiscono riferirsi a queste lesioni come leucoplachia associata a candida, mentre altri preferiscono usare il termine di candidosi iperplastica ⁷²⁹. Di conseguenza si è deciso di accettare che i criteri per una diagnosi di leucoplachia orale non sono sempre completamente riproducibili. Tuttavia, è stato raccomandato di attenersi alla presente definizione di

leucoplachia orale, essendo“ una lesione prevalentemente bianca della mucosa orale che non può essere altrimenti definita” ⁷²⁸.

10.1 SOTTOCLASSIFICAZIONE CLINICA

In generale, due tipologie cliniche di leucoplachia sono state riconosciute, il tipo non omogeneo e il tipo omogeneo. La leucoplachia omogenea è stata definita come una predominante lesione bianca uniforme e piatta, di aspetto sottile che potrebbe mostrare crepe poco profonde e che ha una superficie liscia rugosa o ondulata con una notevole consistenza lungo tutta la zona ⁷²⁸. La leucoplachia non-omogenea è stata definita come una lesione prevalentemente bianca o bianca e rossa (leucoplachia erosiva, eritroplachia) che potrebbe essere o irregolarmente piatta nodulare (screziata) o verrucosa. La leucoplachia verrucosa potrebbe progredire in un carcinoma verrucoso e in fine in un evidente carcinoma a cellule squamose (figura 16).

Spesso il termine leucoplachia proliferativa verrucosa è stata usata in molti casi ⁷³¹. Sfortunatamente, il comportamento biologico della leucoplachia verrucosa non può essere predicibile e, perciò, se usato, il termine leucoplachia verrucosa proliferativa può solo essere utilizzato retrospettivamente. Inoltre, c'è il raro caso di una lesione del tutto rossa la cui causa non può essere identificata, essendo definita come eritroplachia.



Figura 16. Esempio di leucoplachia del ventre linguale.

Alla luce delle difficoltà incontrate nel riconoscimento dei sottotipi clinici della leucoplachia orale, l'uso di tali sottotipi per la classificazione e la stadiazione è ancora fonte di discussione.

10.2 CLASSIFICAZIONE DELLA DIMENSIONE

La leucoplachia potrebbe presentarsi o come una singola lesione localizzata della mucosa orale o come lesioni multiple o come lesioni disseminate spesso diffusamente delineate. Per la classificazione e la stadi azione è raccomandato riportare la dimensione di una singola leucoplachia, aggiungendo le dimensioni delle leucoplachie multiple, usando i centimetri così come nella classificazione TNM per il carcinoma orale ⁷²⁸. I subsiti orali dovrebbero esser specificati facendo riferimento ai codici ICD-DA per la cavità orale (C00,C02-C06).

10.3 TABACCO E LEUCOPLACHIA IDIOPATICA

È stato suggerito che il rischio di trasformazioni maligne della leucoplachia orale è più alto nei pazienti che non fumano rispetto a quelli che fumano. Questo è discutibile comunque, distinguere tra queste due categorie. Prima di tutto, è spesso difficile ottenere delle attendibili informazioni riguardo la quantità di tabacco consumato, sul tipo di prodotti a base di tabacco e sul numero di pacchetti fumati all'anno. Inoltre, ulteriori fattori potrebbero entrar in gioco considerando il possibile ruolo delle abitudini di consumo di tabacco rispetto al rischio di trasformazione maligna, come l'uso combinato con alcool, le abitudini di masticare foglie di betel e fattori alimentari⁷³¹. Naturalmente, questo non significa che i pazienti con lesioni precancerose orali non dovrebbero essere dissuasi ad abbandonare queste abitudini, in particolare se eccessive (figura 17).

In conclusione, sembra non essere razionale distinguere le leucoplachie associate al tabacco rispetto alle forme non associate al tabacco, definendo la leucoplachia cosiddetta idiopatica, come è stato suggerito in passato.



Figura 17. Leucoplachia del pavimento orale in paziente fumatore ed etilista.

10.4 ASPETTI ISTOPATOLOGICI

È generalmente accettato che una lesione displasica (leucodisplasia) presenti un aumentato rischio di trasformazione maligna rispetto a una non-displasica (leucocheratosi). Tuttavia, dovrebbe essere riconosciuto che alcune delle lesioni displastiche rimangono clinicamente invariate, mentre può verificarsi una trasformazione carcinomatosa anche in presenza di lesioni non-displastiche⁷³². Forse il contenuto di DNA è di aiuto per prevedere le trasformazioni maligne nelle lesioni displastiche, mentre l'espressione soprabasale di p53 potrebbe essere d'aiuto così nelle lesioni non-displastiche^{733,734}. In uno studio chemiopreventivo su pazienti con leucoplachia avanzata, il punteggio del biomarker combinato della polisomia cromosomiale, p53, e la perdita di eterozigosi erano forti elementi predittivi per lo sviluppo del cancro⁷³⁵. Altri marcatori promuoventi che sono stati riportati sono Ki-67(Mib-1) e bromodeoxyuridina^{726,727}.

La displasia epiteliale è solitamente divisa in 3 categorie: lieve, moderata e severa. La displasia epiteliale severa è comunemente considerata sinonimo di carcinoma in situ, perciò, dovrebbe essere classificata come tale. Finora, non è stato possibile delineare uno schema per i gradi di displasia epiteliale che siano risultati efficaci e riproducibili, la ragione principale della soggettività della classificazione dei componenti della displasia epiteliale e della mancanza di fattori significativi per i classici criteri diagnostici⁷³⁷. Si potrebbe anche valutare il grado di displasia epiteliale basandosi sulla proporzione di altezza e larghezza dello strato epiteliale in cui

osservano i cambiamenti displastici. Comunemente, questo sistema è riferito alla classificazione delle neoplasie intraepiteliali orali (OIN), essendo sinonimo di neoplasie intraepiteliali cervicali o laringee ⁷²⁸. Quando è limitato a un al terzo inferiore dell'epitelio, la lesione è classificata come grado 1; quando i cambiamenti displastici includono i due terzi inferiori dell'epitelio la lesione è classificata come grado 2; mentre di grado 3 quando le caratteristiche displastiche sono presenti in tutta l'altezza dell'epitelio.

Qualunque sistema di classificazione sia usato, è importante che il referto istologico di una leucoplachia includa una parte che descriva l'assenza o presenza di displasia epiteliale (o OIN) e una valutazione della sua severità, preferibilmente limitata a 2 categorie, essendo assenza di displasia epiteliale (includendo assenza displasia o una possibile lieve displasia), rispettivamente grado 0 OIN e lieve, ma non grave displasia epiteliale (includendo lieve o moderata displasia e moderata con possibilità di displasia grave), rispettivamente gradi OIN 1 e 2 ^{728,729}. In caso di displasia severa, rispettivamente di grado OIN 3, dovrebbe essere formulata una diagnosi finale di carcinoma in situ.

10.5 TERAPIA

In caso di displasia epiteliale lieve o assente la decisione di trattare o meno una leucoplachia orale altrimenti asintomatica potrebbe essere influenzata dall'estensione della lesione e dal subsito orale. In presenza di una displasia epiteliale attiva distinta è di solito raccomandato il trattamento. Oltre all'escissione chirurgica, sono disponibili varie modalità di trattamento, come la criochirurgia, la chirurgia laser (inclusa l'evaporazione), la somministrazione di retinoidi o di altri farmaci e la terapia fotodinamica.

10.6 CONCETTO DI RECIDIVA E DI RISPOSTA TERAPEUTICA

La registrazione dei risultati ai trattamenti dovrebbe essere standardizzata il più possibile, includendo la durata del periodo di follow-up. Le recidive dopo escissione chirurgica non sono comuni. Quando la recidiva è nel sito della lesione primaria, il termine recidiva sembra giustificato, invece non lo è in base al tempo trascorso tra l'escissione e la recidiva.

Quando la recidiva si sviluppa in un subsito orale evidentemente differente, questa sembra più appropriata per definire situazioni di nuova e primaria leucoplachia.

In caso di trattamento non chirurgico, il risultato dovrebbe essere espresso come percentuale di risposta correlata alle dimensioni originali della leucoplachia in centimetri, con in minimo di durata di 4 settimane, si avrà: nessuna risposta (malattia stabile), risposta parziale (> 50%), risposta completa, e progresso della malattia (> 25%)⁷³⁸. Il criterio più adatto a misurare tale risposta sembra essere la grandezza della leucoplachia e non l'intensità della pigmentazione bianca e/o la consistenza della lesione. Inoltre, se il risultato è monitorato da rilevamenti istopatologici in una o più biopsie durante il follow-up, il possibile cambiamento dei gradi di displasia epiteliale o il grado di neoplasia intraepiteliale orale, dovrebbe quindi essere specificato⁷²⁹.

.

10.7 EVOLUZIONE MALIGNA

Il rischio di trasformazione maligna non è completamente eliminato con qualcuna delle modalità di trattamento descritte. Lo sviluppo e la trasformazione maligna della lesione può avere luogo nonostante i trattamenti, mentre il numero delle lesioni evitate tra quelle che possono avere uno sviluppo maligno è sconosciuto^{728,739,740}.

Quando si riportano le percentuali di trasformazione maligna istologicamente dimostrata di leucoplachia orale si deve specificare il tipo di popolazione studiata, per esempio una popolazione ospedalizzata, e la durata del periodo di osservazione.

10.8 FOLLOW-UP

Non sono disponibili linee guida dettagliate rispetto alla durata e alla frequenza degli esami di follow-up. In generale, gli esami di follow-up per tutta la vita sono consigliati a intervalli di 6-12 mesi sia nei pazienti che sono già stati trattati per una leucoplachia che per quelli che non lo sono stati. Occasionalmente, per esempio in un paziente non trattato con una leucoplachia displasica, è opportuno effettuare visite di follow-up ad intervalli di 3 mesi.

10.9 CLASSIFICAZIONE E SISTEMA DI STADIAZIONE

L'utilizzo di una classificazione e di un sistema i stadiazione è raccomandato per promuovere un sistema uniforme che descriva i vari aspetti della leucoplachia nel quale siano considerate caratteristiche istopatologiche. Inoltre dovrebbero essere annotati al momento della diagnosi sesso ed età. Attualmente non sembra esserci motivo per dare importanza al subsito orale delle leucoplachie.

11. CARCINOMA A CELLULE SQUAMOSE

Il carcinoma orale a cellule squamose è una patologia che colpisce prevalentemente le popolazioni appartenenti alle fasce più povere e soprattutto le persone anziane, in quanto il 90% dei soggetti con età superiore ai 45 anni, esposti al fumo e/o alcool sono considerati a rischio ⁷⁴¹. Il carcinoma a cellule squamose include il tumore al labbro, che comprende la maggior parte dei casi di tumore orale e il cancro intraorale, che colpisce prevalentemente l'area linguale.

Il carcinoma orale a cellule squamose è l'ottava neoplasia più diffusa al mondo, ma in ampie regioni della Francia settentrionale ed Europa orientale, in particolare in Ungheria ed in parte del Sud-America e del Sud-Est asiatico esistono prevalenze elevatissime ⁷⁴²⁻⁷⁴⁴.

Il cancro del labbro è un problema che riguarda soprattutto le persone anziane, in modo particolare i maschi ed il labbro inferiore, che è particolarmente esposto all'irradiazione da raggi ultravioletti solari. È stato osservato che le persone particolarmente esposte alla luce solare sono pescatori, agricoltori, sciatori e windsurfer. È stato determinato che i soggetti più coinvolti sono caucasici residenti in ambienti caldi. La sopravvivenza a 5 anni è superiore al 95% grazie ad una diagnosi precoce della malattia ⁷⁴⁵.

Il cancro orale coinvolge invece la lingua, soprattutto i bordi laterali posteriori in pazienti anziani, maschi, che spesso consumano tabacco ed alcoolici ⁷⁴⁵. Tale neoplasia è un problema estremamente rilevante in alcune comunità di neri ed altre minoranze etniche ⁷⁴⁶. Questo

tumore presenta una sopravvivenza a 5 anni di circa il 40%, diversamente dal tumore al labbro e circa la metà dei pazienti presenta prognosi positiva.

C'è stata una diminuzione nell'incidenza tra i maschi per quanto riguarda il tumore al labbro, sebbene numerosi studi abbiano mostrato un aumento dei tumori linguali, in particolari nei pazienti più giovani, a causa del fumo e del consumo di alcolici iniziato già in giovane età. Nei soggetti maschi dell'Europa centrale ed orientale, c'è stato un aumento della mortalità più che per ogni altro tumore a partire dagli anni '80, dovuto ad un incremento dei fumatori ^{747,748}. Anche in Europa occidentale si è verificata una crescita, ma in alcune nazioni di quest'area vi è stata una contemporanea diminuzione del tumore ai polmoni, il che suggerisce che i fattori responsabili di tale aumento non siano i classici fattori di rischio, come il fumo e l'alcool. Nelle donne, c'è stata una lieve crescita associata ad un aumentato consumo di alcool e tabacco. Il carcinoma orale a cellule squamose resta comunque una patologia letale per oltre il 50% dei casi diagnosticati ogni anno ⁷⁴⁹.

11.1 EZIOPATOGENESI

L'eziopatogenesi di disordini orali potenzialmente maligni e del carcinoma orale a cellule squamose è stata notevolmente approfondita ⁷⁵⁰⁻⁷⁵⁷.

Le cellule di origine del carcinoma orale a cellule squamose sono i cheratinociti orali, nei quali la mutazione del DNA può essere spontanea, ma i mutageni aumentano il tasso di mutazione. Una variazione genetica negli enzimi metabolizzanti xenobiotici che influenzano il metabolismo cancerogeno, i meccanismi di riparazione del dna, e altri meccanismi protettivi possono facilitare l'espressione dei differenti potenziali oncogeni del carcinoma squamoso, causando gli effetti dei fattori di rischio come alcool e tabacco ⁷⁵⁰⁻⁷⁵².

11.2 FATTORI DI RISCHIO

I vari fattori di rischio per il carcinoma squamoso appaiono principalmente in grado di aumentare il tasso di mutazioni. Fattori dello stile di vita, specialmente tabacco ed alcol, appaiono particolarmente importanti, ma in alcuni casi, sono decisi anche il betel, l'esposizione alla luce solare, le radiazioni ionizzanti, il papilloma virus umano, o altre infezioni o situazioni di immunocompetenza⁷⁴⁵. fattori genetici come un singolo polimorfismo nucleotidico possono anche influenzare i rischi.

11.2.1 TABACCO

Il tabacco è di gran lunga il principale fattore di rischio per il carcinoma squamoso^{758, 759}, non solo per i fumatori ma anche per quello non fumato^{760,761}, sebbene alcuni abbiano suggerito un minore rischio per il secondo^{762,763}. L'uso del tabacco genera sostanze cancerogene come i TSNA, le nitrosamine del tabacco e radicali liberi, derivanti dall'alterazione degli enzimi ossidanti glutatione-S-transferasi, glutatione reduttasi, superossido dismutasi, catalasi e glutatione per ossidasi, così come la per ossidazione dei lipidi e dei tioli, sebbene i derivati del tabacco varino notevolmente nel loro potenziale di produzione di cancerogeni^{764,765}.

C'è circa un rischio 20 volte superiore di insorgenza di carcinoma squamoso nei forti fumatori in relazione ad una forte dose e il rischio aumenta in base al numero di sigarette fumate ogni giorno ed il periodo di condizione di fumatore (figura 18). Anche il tabacco in

altre forme è un fattore di rischio, per esempio i dati da 282 casi di carcinoma orale e 1410 controlli in India, utilizzando modelli di regressione multivariata hanno confermato che masticare tabacco è il peggior fattore di rischio associato a carcinoma squamoso. Gli effetti della masticazione del betel con o senza tabacco sul rischio di carcinoma squamoso, erano elevati sono elevati in entrambi i sessi. Il fumo di sigarette indiane aumenta il rischio di carcinoma squamoso negli uomini. Le relazioni dose-dipendente sono state osservate per la frequenza e la durata della masticazione del tabacco così come del fumo di sigaretta indiana ⁷⁶⁶.



Figura 18. Paziente asiatico affetto consumatore di tabacco affetto da carcinoma orale a cellule squamose.

11.2.2 BETEL

Esiste anche una relazione del carcinoma squamoso con il consumo di betel, un'abitudine presente in circa il 20% della popolazione

mondiale ⁷⁶⁷. La IARC tempo fa ha dichiarato che il betel è un cancerogeno per l'uomo e ciò è stato confermato ⁷⁶⁸⁻⁷⁷⁴. L'espressione genica può essere alterata e l'arecolina, un importante alcaloide nel seme di areca (principale componente del betel) può, grazie all'ipermetilazione, bloccare i geni soppressori del tumore p14, p15, p16 ed inibire la p53, inibendo la riparazione del DNA e scatenando un danno al DNA delle cellule epiteliali umane ⁷⁷⁵⁻⁷⁷⁹. Abitudini simili di masticazione, come l'uso del khat, possono essere implicate nel carcinoma squamoso in alcune comunità ^{780,781}. La carcinogenicità dei prodotti come la marijuana è ancora controversa per l'eziopatogenesi del carcinoma squamoso ⁷⁸².

11.2.3 ALCOOL

L'etanolo viene ossidato in acetaldeide, un sospetto cancerogeno da parte dell'alcol deidrogenasi e l'acetaldeide è quindi degradata in acetato dall'aldeide deidrogenasi ⁷⁸³. L'alcol produce un rischio circa 5 volte superiore per i forti bevitori e c'è una forte correlazione dose-risposta in base all'alcol consumato ⁷⁸⁴. L'uso di collutori contenenti alcol è ancora oggetto di discussione nell'eziopatogenesi del carcinoma squamoso ^{785, 786}.

Vi è un rischio moltiplicato per il carcinoma squamoso nelle persone che bevono alcolici e contemporaneamente sono forti fumatori ⁷⁸⁷. Il fumo aumenta la potenza dell'acetaldeide a seguito del consumo di alcol, che induce l'attivazione di pro-cancerogeni presenti nel tabacco dovuti all'aumentata attivazione metabolica da parte della

biotrasformazione microsomiale da citocromo P450-2E1 nella mucosa e nel fegato ⁷⁸⁸.

11.2.4 ALTRI FATTORI

In uno studio sul carcinoma squamoso nei giovani adulti il tabacco era responsabile per il 77%, l'alcool per il 52%, il basso consumo di verdure per il 52% e i tre fattori per l'85% ⁷⁸⁹. Nel mondo, il 25% dei tumori orali sono dovuti all'uso del tabacco (fumato e o masticato), per il 7-19% al consumo di alcolici, per il 10-15% a malnutrizione e per più del 50% alla masticazione del betel ⁷⁹⁰. questi comportamenti sono diffusi: 2000.000.000 di persone consumano alcolici; un miliardo di uomini e 250 milioni di donne fumano sigarette, 600.000.000 - 1.200.000.000 di persone masticano betel ed hanno una dieta sbilanciata nelle nazioni sviluppate e in via di sviluppo ⁷⁹⁰. comunque, una sostanziale percentuale di carcinomi squamosi non può essere attribuita all'uso di alcol e tabacco, in particolare nei casi di insorgenza in giovane età e in questi altri fattori come i microrganismi possono avere un ruolo chiave ^{787, 791}.

11.2.5 VIRUS

Esiste una relazione tra papilloma virus e carcinoma squamosa ,in particolare per il carcinoma orofaringeo ⁷⁹². numerosi studi hanno mostrato la presenza di DNA dal papilloma virus al carcinoma squamoso specialmente in quello orofaringeo. Il carcinoma squamoso è aumentato anche nelle persone che hanno un grande numero di

partone sessuali, iniziando tale abitudine in giovane età. Il carcinoma squamoso è aumentato nelle donne che hanno carcinoma alla cervice uterina, collegato esso stesso al papilloma virus ed è aumentato anche ei loro partner. La possibilità di una trasmissione sessuale è stata quindi ipotizzata^{793, 794}. È stata osservata una diagnosi contemporanea di carcinoma squamoso su moglie e marito. I loro tumori erano positivi per HPV16 con la PCR ed entrambi i genomi virali erano strettamente correlati al ceppo europeo HPV16R⁷⁵⁷. Questi tumori probabilmente rappresentano una trasmissione nella coppi⁷⁹⁵. Alcuni tumori sono associati a papilloma virus ed altri con Herpes virus, sebbene il ruolo esatto di questi virus necessita di ulteriori approfondimenti⁷⁹⁶.

11.2.6 IGIENE ORALE

La dentizione può avere un ruolo fondamentale nel carcinoma squamoso⁷⁹⁷. Il tumore e la displasia a livello di testa, collo ed esofago sono stati associati a scarsa igiene e il carcinoma squamoso presenta prevalenza più bassa nelle persone che hanno ricevuto cure odontoiatriche⁷⁹⁸⁻⁸⁰¹. La malattia parodontale o la perdita di elementi dentari sono coinvolte nel carcinoma squamoso, ogni millimetro di perdita d'osso alveolare è associato ad un rischio 5,23 volte maggiore di carcinoma alla lingua^{802, 803}. Possibili meccanismi ruotano attorno ad interazioni microbiche con la placca dentale batterica: la placca polimicrobica sopragengivale ha un interazione mutagenica con la

saliva e sia gli streptococchi orali che la neisseira possono sintetizzare l'acetaldeide dell'alcol ⁸⁰⁴⁻⁸⁰⁶.

11.2.7 DIFESE IMMUNITARIE

Altri fattori coinvolti nel carcinoma squamoso possono agire indebolendo le difese dell'ospite contro i cancerogeni, oppure riparando o difendendo la loro attività. Questi includono difetti a livello genetici, immunitario e nutrizionale, oltre che droghe e povertà. Le condizioni associate a d aumentato rischio di carcinoma squamoso includono il trapianto di organi, l'anemia di Fanconi, la discheratosi congenita e più recentemente il diabete e la sclerodermia ^{807,808}. Fattori ancora controversi sono invece l'infezione da HIV e varie sindromi ereditarie, come la sindrome di Li-Fraumeni.

11.2.8 DIETA

La dieta può svolgere un ruolo importante nello sviluppo del carcinoma squamoso come evidenziato da numerosi studi epidemiologici in tutto il mondo ⁸⁰⁹. Oltre ai fattori di rischio alimentari per il carcinoma squamoso, come l'alcol ed altri agenti, i più importanti risultati a livello nutrizionale mostrano un effetto protettivo dovuto a grande consumo di frutta e verdura Lucente Forte, specialmente verdura giallo-oro e una dieta che combina frutta e verdura ⁸¹⁰⁻⁸¹². Gli antiossidanti presenti nella frutta e nella verdura possono essere protettivi ⁸¹³. In particolare il folato può essere protettivo mentre al contrario una carenza di ferro e bassi livelli di

glutazione che sono associati ad aumentato stress ossidativo, sembrano aumentare il rischio di carcinoma squamoso^{814, 815}. Sebbene frutta e verdura possono essere protettive contro il carcinoma squamoso, probabilmente gli antiossidanti della dieta (carotene, carotenoidi, flavonoidi, flavonoli, vitamine A, C ed E e fitosteroli, oltre che folati) mantengono la verdura che può essere un potenziale fattore di rischio^{809,816,817}. nonostante la presenza di un ampio utilizzo di alcol e tabacco, una dieta con tanta frutta e verdura potrebbe prevenire lo sviluppo di circa un quarto dei casi di carcinoma squamoso della testa e del collo e di circa la metà dei casi di carcinoma orale^{809,818}. Il rischio di disordini orali potenzialmente maligni è anche ridotto grazie al consumo di agrumi e succhi⁸¹⁹. Studi caso-controllo indicano che le vitamine A,B,C,E e i carotenoidi del cibo possono diminuire il rischio di disordini orali potenzialmente maligni e di carcinoma squamoso, anche se studi clinici su supplementi vitaminici non sono riusciti a trovare degli effetti protettivi e del beta-carotene e suggeriscono invece che il beta-carotene e la vitamina E possono aumentare il rischio⁸²⁰⁻⁸²³. I disordini orali potenzialmente maligni sono un'espressione adottata dall'organizzazione mondiale della sanità per definire sia le più comuni patologie come leucoplachie ed eritroplachie ed altre come il lichen planus, la fibrosi orale sottomucosa e la cheilite attinica⁸²⁴.

11.2.9 CARCINOGENESI

Le mutazioni del DNA colpiscono numerosi geni, distruggendo il controllo sulla crescita. Eventi genetici ed epigenetici includono l'espressione aberrante e la funzione di molecole che regolano i segnali cellulari, la crescita, la sopravvivenza, la motilità, l'angiogenesi ed il controllo del ciclo cellulare e sono alla base della progressiva acquisizione di un fenotipo maligno da parte dei cheratinociti che progrediscono con una serie di cambiamenti genetici fino a diventare cellule premaligne o potenzialmente maligne caratterizzate da una capacità proliferativa in modello incontrollato che può esitare in neoplasia caratterizzata dall'invasione della membrana vasale ed eventuale metastasi. Oggi giorno sono stati individuati cambiamenti in oltre cento geni⁸²⁵. Il ciclo cellulare è alterato in particolare da vari oncogeni e dalla loro sovra espressione o iperattività (amplificazione) che possono portare alla proliferazione cellulare.

Gli oncosoppressori lavorano in direzione opposta a quella protettiva: per esempio i più importanti oncosoppressori sono p16 che agisce sul controllo della crescita e p53 che ripara cellule potenzialmente maligne o le distrugge grazie all'apoptosi. Meccanismi protettivi includono anche il fegato a causa della sua capacità di metabolizzare i cancerogeni. Gli enzimi che metabolizzano tali cancerogeni variano da persona a persona su base genetica. Esistono anche numerosi enzimi che riparano il DNA dalle mutazioni, sempre geneticamente individuali.

Il concetto semplificato della base genetica del cancro è l'iperpressione degli oncogeni e/o l'inibizione degli oncosoppressori. L'analisi genetica moderna parte da una dettagliata mappatura ad alta risoluzione di regioni cromosomiali con aumento, perdita, e traslocazione usando tecniche come l'ibridazione genomica comparativa e l'ibridazione fluorescente in situ. Le tecniche basate sulla PCR possono identificare se esiste una perdita di materiali genetici rappresentata da una completa delezione, o perdita di un allele conosciuta come una perdita di eterozigosi ed è evidente che esiste uno schema relativamente comune di perdita di DNA allelico che rappresenta il progresso da condizione premaligna a maligna. Presumibilmente, se un oncosoppressore è in un'area di perdita allelica, ciò potrebbe rendere l'ospite più soggetto a disfunzione genica, portando allo sviluppo del cancro. Le regioni comuni di perdita cromosomiale riportate nel cancro orale sono a livello di 1p, 3p, 4p, 5q, 8p, 10p, 11q, 13q e 18q, con aumenti su 1q, 3q, 5p, 7q, 8q, 9q, 11q, 12p, 14q e 15q. le tecnologie di biologia molecolare coinvolgono la miniaturizzazione dell'ibridazione delle sequenze di DNA su superfici microscopiche, che possono quindi essere elette da un laser in grado di scoprire e interpretare segnali da minuscoli fluoro fori. La biologia molecolare ha semplificato la capacità di produrre ampie quantità di dati da un quasi intero genoma umano e come le sonde DNA e di mRNA stanno dimostrando l'efficacia nell'identificare gli elementi chiave coinvolti nel carcinoma squamoso. Per esempio, un'analisi dell'espressione genica basata su

una sonda ha trovato 601 geni regolati nel tessuto del carcinoma squamoso rispetto alla mucosa adiacente dello stesso individuo e 25 geni con differenze nella loro regolazione confrontando campioni provenienti dal tumore in fase iniziale con quelli della patologia in fase avanzata ⁸²⁶. alcuni dei meccanismi che possono essere coinvolti nella carcinogenesi sono ampiamente descritti ^{757,827}.

11.2.9.1 ONCOSOPPRESSORI

Gli oncosoppressori del tumore sono geni che normalmente intervengono nella crescita cellulare regolando il ciclo cellulare, l'apoptosi, l'adesione cellulare e la riparazione del DNA. Il normale ciclo cellulare include la morte programmata e l'apoptosi e le cellule che la evitano diventano potenzialmente cancerogene. Aberrazioni come delezioni o mutazioni negli oncosoppressori o inibizione per ipermetilazione possono quindi portare a cancro. Ci sono numerosi oncosoppressori coinvolti nel carcinoma a cellule squamose, ma il più importante attualmente sempre essere la p53 e la p16 ⁸²⁸. un gene coinvolto nell'apoptosi e nella regolazione del ciclo cellulare è inibito (più spesso mutazioni puntiformi) portando a lesioni premaligne e carcinoma squamoso. Inoltre la classe MDM degli oncogeni sembra inibire la p53 anche in assenza di mutazioni. Vi è anche un'alta incidenza di eterozigosi al cromosoma 9p21, per la chinasi dipendente dalla ciclina CDKN2a codifica sia per p16 che per p14, 2 oncosoppressori che regolano rispettivamente il ciclo cellulare e stabilizzano la p53 via MDM2. questi oncosoppressori sono

probabilmente inibiti dal controllo epigenetico come il promotore dell'ipermetilazione ⁷⁵⁶. Potrebbe esistere un numero enorme di oncosoppressori inibiti nel carcinoma a cellule squamose ma lo schema di inibizione potrebbe variare da paziente a paziente.

11.2.9.2 ONCOGENI

L'iperespressione degli oncogeni, geni che promuovono la crescita, la sopravvivenza e la replicazione cellulare, possono portare allo sviluppo del cancro. Comunque l'identificazione dell'iperespressione di un oncogene non è facile. Numerosi studi hanno mostrato il gene per il recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR), che sembra essere iperespresso in molti carcinomi squamosi. Per esempio il EGFR amplificato nel carcinoma squamoso associato ad area rispetto alla mucosa orale perilesionale ⁸²⁹.

L'oncogene $\Delta Np63-\alpha$ è anche iperespresso e può inibire p73, un oncosoppressore collegato a p53, che è anch'esso coinvolto nel percorso apoptotico mediato da bcl-2 e $\Delta Np63-\alpha$ può causare l'accumulo di beta-catenina, un fattore di trascrizione che può svolgere un ruolo fondamentale nell'adesione cellulare e nel segnalare il percorso Wnt. Le metalloproteinasi della matrice sono una famiglia di geni ritenuta coinvolta nell'adesione cellulare, nella proliferazione e nella migrazione e le metalloproteinasi possono agire come oncogeni correlati alla crescita infiltrativa e al coinvolgimento linfonoidale. Altri oncogeni coinvolti nel carcinoma squamoso possono includere 11q13, che probabilmente influenza il controllo della morte cellulare

associato a Fas. Come con gli oncosoppressori, gli oncogeni identificati sono numerosi e i loro meccanismi d'azione sembrano complessi^{830,831}.

11.2.9.3 MUTAZIONI MITOCONDRIALI

I mitocondri svolgono un ruolo fondamentale nella respirazione cellulare e nelle sintesi di ATP sembrano avere un ruolo nella carcinogenesi, probabilmente per l'accumulo di succinato (parte del ciclo dell'acido tricarbossilico), che inibisce la degradazione del fattore che può indurre ipossia (HIF) – 1 alfa, un fattore angiogenetico attivato dall'ipossia neoplastica^{831,832}.

Il fattore derivato dalle cellule stromali SDF-1 e dal recettore delle chemochine CXCR4 possono essere coinvolti nell'invasione e nella metastasi grazie a fattori angiogenetici come i fattori di crescita vascolare endoteliale⁸³³. Alcuni dei meccanismi che possono essere coinvolti nella carcinogenesi sono stati descritti in numerosi studi⁸²⁷.

11.2.9.4 POLIMORFISMI DI UN SINGOLO NUCLEOTIDE

I polimorfismi di un singolo nucleotide sono aree genomiche che hanno alterato le sequenze di DNA che non possono portare ad un'alterazione amminoacidica o hanno alterato le sequenze di DNA che non sembrano avere alcun effetto avverso negli individui sani ma possono essere indice di predisposizione alla malattia, o possono essere usati per identificare geneticamente i pazienti in quanto tendono a raggrupparli in base a caratteristiche etniche. I polimorfismi

negli oncosoppressori possono svolgere un ruolo nello sviluppo del cancro: per esempio i polimorfismi nei geni che controllano il ciclo cellulare come P241P variante aggiuntiva di CCND1, possono contribuire la rischio di lesioni potenzialmente maligne⁸³⁴⁻⁸³⁶.

I polimorfismi del singolo nucleotide sono stati anche osservati negli enzimi responsabili della detossificazione delle tossine ambientali e delle sostanze cancerogene e per la riparazione del DNA e possono essere marcatori dello sviluppo del carcinoma squamoso⁸³⁷. Comunque tutto ciò non è stato confermato in tutti gli studi⁸³⁸.

11.2.9.5 ENZIMI XENOMETABOLIZZANTI

Gli enzimi xeno metabolizzanti sono stati ampiamente studiati. L'etanolo è ossidato in acetaldeide (sospetto agente cancerogeno dell'alcol) da parte dell'alcol deidrogenasi e citocromo P-450 2 e 1 (CYP2E1) entrambi inibitori della loro attività interindividuale. Individui con alta produzione di acetaldeide dall'etanolo presentano un aumentato rischio di cancro quando sono bevitori cronici. Questi includono individui con una produzione di acetaldeide aumentata geneticamente a causa del polimorfismo dell'alcool deidrogenasi così come quelli con una diminuita detossificazione dell'acetaldeide in acetato per una mutazione dell'aldeide-deidrogenasi⁸³⁹.

L'alcol deidrogenasi 3 (adesso ADH1C) (allele ADH3*2) potrebbe predisporre al carcinoma a cellule squamose⁸⁴⁰⁻⁸⁴². Gli omozigoti dell'alcol deidrogenasi 2 evitano l'alcool a causa di reazioni avverse a basso rischio cancerogeno, ma gli eterozigoti che possono bere alcol

sono soggetti a carcinoma squamoso⁸⁴³. Le alcool deidrogenasi 1B e 7 sono associate indipendentemente alla protezione contro il carcinoma squamoso e i tumori dei tratti aero-digestivi⁸⁴⁴.

I genotipi delle aldeidi deidrogenasi possono influenzare la predisposizione al cancro, probabilmente per l'accumulo di acetaldeide. Alcuni carcinomi della testa e del collo sembrano associati ad acetaldeide deidrogenasi 2, possibilmente a causa dell'aumento delle trascrizioni di DNA derivate dall'acetaldeide⁸⁴⁵⁻⁸⁴⁸. Gli omozigoti meno attivi di alcol deidrogenasi 1B e gli eterozigoti inattivi aldeide deidrogenasi 2 aumentano il rischio di neoplasia nelle vie aero-digestive superiori negli alcolisti giapponesi⁸³⁹.

L'alcool deidrogenasi e la metilene tetraidrofolato reduttasi (MTHFR) sembrano influenzare il rischio di cancro come la combinazione genotipica ADH1C*2/2/MTHFR 677TT sembra essere più suscettibile per il carcinoma a cellule squamose, con un aumento del rischio 20 volte superiore nei forti bevitori e da 5.9 e 2.8 volte superiore nel rischio rispettivamente nei bevitori moderati e saltuari⁸⁴⁹.

Altri hanno suggerito che polimorfismi del singolo nucleotide tipo MTHFR (C677T and A1298C) influenzano il cancro alla testa e al collo, implicando i folati come ulteriore fattore protettivo⁸⁵⁰.

Le N-acetiltransferasi (NATs) catalizzano sia la N-acetilazione (di solito disattivazione) e O-acetilazione (solitamente attivazione) di cancerogeni amminici aromatici ed eterociclici. Studi epidemiologici suggeriscono che gli isozimi NAT1 E NAT2 modificano il rischio di sviluppo del cancro testa-collo e di altri tumori attraverso il

polimorfismo e l'acetilazione. La veloce acetilazione di NAT2 sembra essere un fattore di rischio per il carcinoma a cellule squamose ⁸⁵¹. Differenze etniche nella frequenza dei genotipi NAT1 e NAT2 possono anche essere un fattore di predisposizione al cancro ⁸⁵².

L'enzima GST catalizza la reazione di coniugazione del glutatone ridotto attraverso il gruppo sulfidrilico, attività che è utile alla detossificazione di componenti endogeni come i lipidi perossidati. GSTM1 (glutathione S-transferasi μ 1) negli asiatici non aumenta in modo significativo la suscettibilità genotipica al carcinoma squamoso ma non nei caucasici ^{853, 854}. Studi sulla suscettibilità dei polimorfismi genetici dei loci genetici GSTM1, GSTT1 e GSTP1 non hanno generalmente supportato l'ipotesi dell'aumentato rischio di sviluppo del carcinoma a cellule squamose per assenza di genotipi GSTP1 G/G, GSTM1 o GSTT1: al contrario, il genotipo GSTM1 A/B sembra protettivo ¹¹⁵. L'assenza di genotipo isolato o combinato di GSTM1 E GSTT1 sembra associato allo sviluppo della leucoplachia orale, e l'assenza del genotipo GSTT1 mostra un aumentato rischio di iperespressione di p53, nella leucoplachia orale ⁸³⁷. Può esserci un effetto comune per la delezione dell'omozigosi GSTM1 e della variante CYP1A1 m1m2 ⁸⁵⁶.

I soli polimorfismi lungo i loci mitocondriali (mt) in combinazione con il genotipo a rischio GSTP1 possono aumentare il rischio di carcinoma a cellule squamose ⁸⁵⁷.

11.2.9.6 GENI PER LA RIPARAZIONE DEL DNA

I funzionali geni per la riparazione funzionale del DNA sono essenziali per la protezione contro la carcinogenesi, e i polimorfismi del singolo nucleotide possono influenzare lo sviluppo di potenziali disordini maligni orali e il carcinoma squamoso. Gli enzimi per la riparazione dell'escissione dei nucleotide *xeroderma pigmentosum complementation group A* (XPA [A23G]), XPC (Ala499Val) and XPD (Asp312Asn) sembrano predire il rischio di sviluppare potenzialmente disordini orali maligni ⁸⁵⁸. Uno studio su ERCC6 suggerisce che l'eterozigosi e l'allele A omozigote del codone 399 possono essere associati al carcinoma a cellule squamose ^{859,860}.

Comunque, le interazioni gene-ambiente con il fumo di tabacco e la masticazione del betel, erano significative ma non lo era l'assunzione di alcool ^{859, 860}.

Uno studio sul gene per la riparazione delle interruzioni della doppia catena del DNA XRCC4 ha mostrato che i pazienti con eterozigosi dell'introne tre XRCC4 hanno un aumentato rischio per il carcinoma a cellule squamose confrontato con quelli con ins / ins, e c'erano significative interazioni gene ambiente con il fumo di tabacco, e la masticazione di betel, ma non con l'alcolismo ^{859,860}. Interazioni di vari di questi polimorfismi del singolo nucleotide potrebbero aumentare il rischio di disordini potenzialmente maligni e di carcinoma squamoso ^{861,862}.

11.2.9.7 ALTRI GENI

I polimorfismi che colpiscono l'espressione genica delle citochine come le interleuchine IL4, IL6, IL8, IL10 così come il fattore alfa di necrosi tumorale sembrano essere fortemente associati ad un aumento del rischio di carcinoma squamoso ⁸⁶³. Il tabacco non fumato induce TNF- α che, insieme ai suoi recettori è iperespresso nel carcinoma a cellule squamose. I polimorfismi del singolo nucleotide nel TNF- α e nei recettori del TNF possono colpire la loro espressione e possono essere un potenziale determinante di predisposizione al carcinoma squamoso dovuto a tabacco: TNF- α -308G/A possono essere correlati alla predisposizione, mentre i polimorfismi del singolo nucleotide che coinvolgono -609TT TNFR1 e 1690 C/T TNFR2 possono essere protettivi ⁸⁶⁴.

L'enzima inducibile della ciclo-ossigenasi-2, che svolge un importante ruolo nell'infiammazione, ma anche nella carcinogenesi, è iperespresso nei disordini orali potenzialmente maligni e nel carcinoma orale a cellule squamose, e i polimorfismi del singolo nucleotide nel gene della ciclo-ossigenasi-2, possono modificare il rischio di sviluppo di disordini potenzialmente maligni ed il rischio di carcinoma orale a cellule squamose, dove i polimorfismi -765G > C della ciclo-ossigenasi-2: allele -765C della della ciclo-ossigenasi-2 e il genotipo -765G / G possono essere potenzialmente protettivi ^{865,866}.

11.3 IMPLICAZIONI CLINICHE

11.3.1 SUPPORTI CLINICI DIAGNOSTICI

Un'ampia varietà di supporti diagnostici e tecniche aggiuntive sono sul mercato per assistere potenzialmente lo screening dei pazienti per diagnosticare o altrimenti escludere la presenza di neoplasie o accertare la presenza di potenziali lesioni clinicamente anomale, anche se nessuno di questi ha una rigorosità tale che confermi un sospetto con una certezza maggiore del classico esame clinico ^{867,868}. Una macchia con il blu di toluidina può significare cambiamenti genetici (perdita allelica o di eterozigosi) associati a progressione maligna di lesioni verso il carcinoma squamoso ^{869,870}. Inoltre, uno studio longitudinale ha mostrato che il blu di toluidina identifica lesioni positive alla perdita allelica che progrediscono verso il carcinoma squamoso ⁸⁷⁰.

Esistono numerosi studi sui marcatori che possono dare informazioni diagnostiche e prognostiche.

11.3.2 CAMBIAMENTI GENETICI

Numerose caratteristiche genetiche possono essere rilevate nei tessuti del carcinoma squamoso ed offrono un utilizzo potenziale a scopo diagnostico e prognostico, specialmente alla luce delle limitazioni isopatologiche descritte in numerosi studi ⁸⁷¹⁻⁸⁷⁴.

Cambiamenti genetici sono stati osservati nella mucosa orale nei fumatori di tabacco e nei pazienti affetti da carcinoma squamoso e sono stati rilevati anche al di fuori del tumore ⁸⁷⁵⁻⁸⁷⁹. Questo è

prevedibile, in quanto già 50 anni fa l'11% dei pazienti con carcinoma orale a cellule squamose presentavano una neoplasia in un'altra parte del corpo oltre al cavo orale, aspetto tipico della cancerizzazione estesa ⁸⁸⁰. Numerosi studi hanno confermato che l'epitelio istologicamente displasico può essere osservato anche nell'ambito del tessuto del carcinoma squamoso ^{880,881}. Inoltre nei pazienti fumatori di tabacco, modificazioni genetiche non solo colpiscono interamente la mucosa areo-digestiva, ma persistono a lungo anche se il paziente smette di fumare. Tumori successivi ai primari sono stati scoperti nel tratto areo-digestivo in circa il 20% dei casi ⁸⁸².

Inoltre, in molte lesioni potenzialmente maligne ci può essere una combinazione di cellule potenzialmente maligne, cellule maligne che non hanno ancora invaso e cellule normali ⁸⁸³⁻⁸⁸⁸. Quindi, in una lesione potenzialmente maligna, ci possono essere cellule con diverso potenziale maligno, comprese alcune che superano la membrana basale, portando a definire la lesione come cancro. L'interpretazione istopatologica di una biopsia da una certa lesione può quindi variare da benigna a maligna. Quindi, in pazienti con disordini potenzialmente maligni, la biopsia può non rappresentare esattamente la componente in peggior di una lesione. Infatti oltre 25 anni fa è stato dimostrato che le leucoplachie, che possono essere non displasiche ad una biopsia incisionale, possono contenere anche il 10% di cellule di carcinoma squamoso ^{889,890}.

11.3.3 MARCATORI GENETICI

Lo sviluppo dei marcatori genetici può avere numerose implicazioni nella pratica clinica, come già discusso da alcuni autori ^{891,892}. L'esame del tessuto per ricercare l'inibizione degli onco-soppressori può essere utile. L'espressione del p53 sul cromosoma 17 al di sopra dello strato basale nei disordini potenzialmente maligni è segno di neoplasia ⁸⁹³. p53 muta e si inattiva con perdita di eterozigosi a livello di 17p13, ma cambiamenti al solo p53 sembrano insufficienti per la diagnosi di cancro ⁸⁹⁴. Cambiamenti a livello di p53 sono osservati ai margini della resezione del tumore, che appaiono istologicamente privi di cellule neoplastiche e questo può aiutare a prevenire recidive ⁸⁹⁵⁻⁸⁹⁷. Ci possono essere anche cambiamenti a livello di p16 nei margini chirurgici e ci sono stati studi sulla sua utilità e quella di RAR β , caderina E, ciclina A1 e citoglobina ⁸⁹⁶⁻⁸⁹⁹. NF-kappaB e la ciclo-ossigenasi 2 sono anch'esse studiate a livello dei margini di resezione dei tumori ⁹⁰⁰. Nelle biopsie linfonodali, cambiamenti alla p53 possono nascondere insospettabili metastasi linfonodali ^{895, 901, 902}. La telomerasi, che non è espressa nell'epitelio normale, è espressa invece in disordini orali potenzialmente maligni come la leucoplachiam e nella displasia epiteliale, nel carcinoma squamoso e nelle altre neoplasie ⁹⁰³⁻⁹⁰⁹.

Altri marcatori come quelli della proliferazione cellulare (antigene Ki-67) e dell'apoptosi (Bax, Bcl-2) possono svolgere un ruolo nella diagnosi: l'espressione di Bcl-2 diminuisce significativamente nelle lesioni displasiche e in quelle precocemente invasive e quindi aumenta

nelle fasi successive, mentre l'espressione di Ki-67 aumenta rapidamente nel carcinoma squamoso iniziale, ma diminuisce notevolmente dopo ⁹¹⁰. Un comportamento più aggressivo di una neoplasia è una prognosi peggiore può essere evidenziata nei cambiamenti dei biomarcatori, come la riduzione dell'espressione della caderina E, dell'espressione della catena (LN)γ2 della laminina e la diminuzione del proteoglicano transmembrana della cellula tumorale sindecano-1 ⁹¹¹⁻⁹¹⁴.

Comunque, i markers molecolari più predici bili rilevati nello sviluppo del carcinoma squamosa, comprendono la polisomia cromosomiale, li espressione della proteina p53 e perdita di eterozigosi nei cromosomi 3p o 9p, probabilmente per cambiamenti a livello di p16 ⁹¹⁵. Sembra probabile che l'uso di questi marcatori in aggiunta ai classici esami istopatologici può aiutare la prognosi e un efficace terapia della lesioni, anche se purtroppo un utilizzo rutinario di questi parametri è ancora lontano, forse a causa degli alti costi, della loro complessità, della mancanza di strumentazioni adeguate in alcuni laboratori e degli ancora limitati risultati scientifici a riguardo ⁹¹⁶.

11.3.4 MARCATORI SALIVARI

Variazioni specifiche della neoplasia sono state anche dimostrate nei fluidi corporei. La saliva può contenere mutazioni di p53, alterazioni micro satelliti, aumentato contenuto di DNA mitocondriale e ipermetilazione dei promotori degli oncosoppressori e il concetto di

un test salivare per la diagnosi di carcinoma squamoso sembra interessante⁹¹⁶⁻⁹²⁴.

Gli RNA nella saliva sono stati osservati in oltre 300 campioni di saliva provenienti da pazienti con carcinoma squamoso e soggetti sani e la sua presenza era sempre a livelli maggiori nella saliva dei pazienti con carcinoma squamoso rispetto alla saliva dei pazienti sani, con un accuratezza globale di circa l'85%⁹²⁵. La CD44 è una glicoproteina superficiale transmembrana anch'essa osservabile nella saliva. La CD44 è coinvolta nella proliferazione cellulare, nella differenziazione, nella migrazione, nell'angiogenesi, nella presentazione delle citochine, delle chemochine e dei fattori di crescita fino ai corrispondenti recettori e nell'adesione delle proteasi alla membrana cellulare così come nei segnali necessari alla sopravvivenza della cellula. Le isoforme della CD44 contenenti la variante dell'esone 3 includono il legame con un sito di un fattore di crescita e possono essere coinvolte nella progressione del carcinoma squamoso^{926,927}. I livelli di CD44 solubile (solCD44) sono significativamente aumentati nei pazienti con tumore alla testa e al collo rispetto ai controlli, ma i livelli di CD44 solubile non variano significativamente in base alla grandezza, alla gravità, alla presenza di recidive, a trattamenti radianti del tumore o a fattori di rischio come alcol e tabacco⁹²⁸.

I radicali liberi, l'aldeide deidrogenasi, l'endotelina, il frammento solubile Cyfra 21-1 della citocheratina 19 (CK19), il fattore di crescita insulinica (IGF), MMP-2 e MMP-9 e la p53 sono tra le altre sostanze

presenti nella saliva che possono essere esaminate per una potenziale valutazione diagnostica ⁹²⁹⁻⁹³⁵.

La diagnosi salivare svolge oggi un ruolo importante in ambito biomedico. La capacità di utilizzare marcatori salivari come indicazione per patologie sistemiche riscuote notevoli interessi in tutto il mondo. Altri biomarker sono senz'altro le interleuchine 6 e 8 per la diagnosi del tumore del cavo orale, anche se questi risultati sono estendibili anche per i tumori al pancreas e al seno ⁹³⁶⁻⁹³⁷. I fluidi orali possono fornire informazioni su varie malattie infettive comprese HIV, l'epatite acuta, la dengue e la malaria, accertando contemporaneamente l'utilizzo di alcol e droghe e monitorando i livelli di ormone steroideo ⁹⁴⁰. I marcatori salivari possono anche essere utilizzati per altre patologie come il diabete, la sindrome di Sjögren i tumori al seno e alla prostata.

11.3.5 MARCATORI SERICI

Il siero può anch'essere d'aiuto nell'identificazione di mutazioni, di ipermetilazione dei promotori e di perdita di eterozigosi, ma non tutti gli studi hanno dato risultati incoraggianti ⁹⁴¹. Per esempio gli anticorpi serici di p53 non mostrano correlazione con la prognosi ⁹⁴²⁻⁹⁴⁵. A tal proposito sono necessari studi multicentrici su un'ampia popolazione ad alto e a basso rischio per carcinoma orale a cellule squamose.

11.4 EPIDEMIOLOGIA DEL CANCRO

Il cancro orale è un importante componente tra tutti i cancri del mondo. Sebbene l'incidenza sia attorno al 3% di tutti i tumori, la percentuale di sopravvivenza relativa sono tra le più basse tra le principali neoplasie. Una stima di 28.000 nuovi casi di cancro orale sono stati diagnosticati negli Stati Uniti nel 2007 malgrado i routinari screening in ambito medico ed odontoiatrico. Il cancro orale è l'ottavo tumore più diffuso nei maschi bianchi e il sesto nei maschi neri negli Stati Uniti.

Circa 9.000 morti sono dovute a questi tumori. È stato stimato che il tumore orale può essere più mortale di quello al polmone, alla cervice uterina e alla prostata^{945, 946}.

Numerosi studi suggeriscono che il tumore alla testa e al collo in particolare alla lingua, è in aumento tra i giovani adulti in tutto il mondo⁹⁴⁷. Fattori che contribuiscono a questo sviluppo non sono ancora stati chiariti anche se si sospetta che gli agenti eziologici comprendano il tabacco non fumato, alcune forme di tossicodipendenza, fattori ambientali e il virus del papilloma umano.

La sopravvivenza del carcinoma squamoso dopo 5 anni dalla diagnosi è circa del 50 - 55%. Al contrario di altre neoplasie (polmone, colon e prostata), la percentuale di sopravvivenza dei tumori orali e faringei non è migliorata negli ultimi 50 anni^{945,946,948}. Una sopravvivenza del 75% a cinque anni si verifica per le lesioni localizzate al momento della diagnosi, ma tale percentuale scende al 16% per gli stati avanzati poiché nella maggior parte dei casi, questa neoplasia è diagnosticata

nelle fasi 3 e 4 con metastasi linfonoidali ^{949,950}. Di tutti i casi di tumore orale le lesioni avanzate superano quelle localizzate di un rapporto di 2 a 1 ⁹⁵¹. Queste percentuali contrastano col fatto che l'epitelio orale può essere facilmente accessibile ed esaminabile clinicamente. Alcune lesioni sono ignorate o sottovalutate da pazienti ed operatori. Ciò può essere dovuto a una mancata comprensione di lesioni asintomatiche, ma che possono presentare un significativo potenziale maligno. Una diagnosi ritardata di una lesione di stadio avanzato può essere dovuta sia al paziente che all'operatore.

11.4.1 DIAGNOSI PRECOCE

La prevenzione del carcinoma squamoso, con relativa morbilità e mortalità, parte da una diagnosi precoce della lesione, grazie a una valutazione istologica e all'impostazione di un piano di trattamento adeguato. Sebbene gli esami routinari richiedano una diagnosi precoce solo dopo un esame obiettivo e uno tattile, sono ancora pochi gli operatori che li effettuano ⁹⁵². Inoltre, l'identificazione di individui ad alto rischio permetterà lo sviluppo di strategie preventive anche grazie all'utilizzo di markers molecolari.

È importante sottolineare che l'aspetto clinico al momento della diagnosi è il più importante fattore di valutazione di recidive e di mortalità nei pazienti con neoplasia alla testa e al collo. Il momento della diagnosi è influenzato da numerosi fattori clinici, sociali ed epidemiologici, comprendendo anche la negligenza del paziente ad

effettuare una visita specialistica, soprattutto per coloro che appartengono a classi socio-culturali più basse ⁹⁵³.

Numerosi studi hanno mostrato che gli odontoiatri svolgono un ruolo fondamentale nella prevenzione e nella diagnosi precoce nel carcinoma squamoso.

I clinici possono aumentare le percentuali di sopravvivenza se una lesione è osservata in una fase iniziale o se la lesione predisponente (displasia) è scoperta e trattata prima della progressione maligna ⁹⁵⁴⁻⁹⁵⁶. La mancanza di prevenzione e diagnosi precoce è un problema di portata mondiale.

La società americana per il cancro ha stabilito di organizzare campagne di screening per i tumori alla testa e al collo ogni 3 anni nella persone asintomatiche tra i 20 e 40 anni ed ogni anno per i pazienti asintomatici con più di 40 anni. I fumatori e i bevitori che sono considerati ad alto rischio dovrebbero essere esaminati annualmente indipendentemente dall'età ⁹⁵⁷. L'esame clinico rappresenta la modalità ideale per il rilevamento di cambiamenti a livello epiteliale già in fase precoce. I criteri per sospettare una leucoplachie orale o un carcinoma a cellule squamose comprendono la perdita dell'integrità strutturale, alterazioni a livello di colore, della grandezza, dei margini o della mobilità o meno sui piani sottostanti ⁹⁵⁸.

11.4.2 NUOVE TECNICHE DIAGNOSTICHE

Recenti scoperte nella ricerca nel carcinoma orale hanno portato allo sviluppo di strumenti diagnostici potenzialmente utili a livello clinico

e molecolare per la diagnosi precoce del carcinoma orale. La certezza diagnostica è rappresentata dalla biopsia tissutale, che è considerata ancora invasiva, dolorosa, costosa, e temporalmente sfavorevole. Recentemente la ricerca scientifica in ambito oncologico già introdotto tecniche alternative alla biopsia, con grandi attese nel trovare test per la scoperta del carcinoma orale simili al pap-test, il quale ha significativamente migliorato la diagnosi precoce e quindi il tasso di mortalità dei tumori alla cervice uterina.

Recenti strumenti diagnostici sviluppati per la diagnosi precoce del carcinoma orale includono la colorazione con blu di toulidina, la biopsia tramite strofinamento con Oral CDx, la chemioluminescenza, i test salivari, la diagnostica per immagini e i sistemi ottici multi spettrali. Tra questi, nessuno sembra essere superiore agli altri e all'esame clinico⁹⁵⁹⁻⁹⁶¹.

11.4.3 BLU DI TOLUIDINA

Il blu di toluidina è stata usato per decenni per l'osservazione di anomalie mucose alla cervice uterina e al cavo orale. Il blu di toulidina è metacromatico ed impregnano le cellule maligne e non quelle della mucosa normale. A tal proposito sono stati individuati 2 meccanismi. La colorazione può essere assorbita dai nuclei delle cellule maligne che presentano un aumentata sintesi di DNA.

Un'altra ipotesi è che la colorazione possa penetrare attraverso le cellule tumorali in maniera randomizzata. La procedura clinica prevede che il paziente sciacqui l'intero cavo orale con il colorante,

mentre il clinico osserva le aree che restano pigmentate. Le lesioni maligne restano di colore blu scuro; le lesioni displasiche presentano varie gradazioni di blu a seconda dello stadio della displasia ⁹⁵⁸. La presenza di blu in un paziente indica la necessità di una biopsia.

Talvolta una quantità piccola di colorante può essere trattenuta nella mucosa normale e può essere eliminata da acido acetico. Le superfici rugose o cheratinizzate possono anch'esse trattenere colorante come il dorso della lingua o il solco gengivale. Le aree non lesionali o infiammate possono colorarsi con blu di toulidina, quindi tutte le lesioni positive dovrebbero esser monitorate per 14 giorni per evitare falsi positivi. Il blu di toulidina può anche essere utilizzato per seguire pazienti con pregresso carcinoma nel tratto oro-digestivo superiore. Questi pazienti sono ad alto rischio di recidiva, quindi gli operatori possono utilizzare sciacqui con colorante per effettuare una monitorizzazione ^{958,962}.

Recenti studi hanno evidenziato una relazione tra residui di blu di toulidina e cambiamenti genetici associati alla progressione di lesioni potenzialmente maligne fino al tumore orale, come la perdita allelica o di eterozigosi ⁹⁶³. Inoltre gli Autori hanno dimostrato che il blu di toulidina identifica lesioni con perdita di eterozigosi che progrediscono poi verso il carcinoma orale.

11.4.4 CHEMIOLUMINESCENZA

La chemiluminescenza è uno strumento non invasivo per l'identificazione di sospette lesioni orali superficiali. Essa consiste in

uno sciacquo con acido acetico e in un emettitore di onde con picchi vicini a 430, 540 e 580 nm per l'illuminazione del cavo orale. L'uso dell'acido acetico e dell'illuminazione chemioluminescente per la diagnosi visiva è simile alla speculo scopia (uno strumento di supporto del pap-test) utilizzando la stessa fonte di luce chemioluminescente della cervice uterina ⁹⁵⁸. Considerando che l'aspetto delle lesioni orali e vaginali, compreso il carcinoma squamoso sono identiche sotto chemioluminescenza, l'approccio cervicale può essere adattato anche al cavo orale.

La chemioluminescenza si basa sul fatto che esiste una maggiore densità nucleare e mitocondriale nelle cellule maligne rispetto a quelle normali. L'aumentata densità nucleare e quindi anche citoplasmatica, riflette un aumento dell'attività proliferativa e metabolica delle cellule precancerose. Dopo gli sciacqui con soluzione a base di acidi acetico i nuclei densi delle cellule anomale riflettono la luce ed appaiono bianche al momento di una illuminazione a bassa energia. L'epitelio normale assorbe la luce e appare scuro ⁹⁶⁴.

La maggior parte degli studi sulla chemioluminescenza valutano percezioni soggettive delle caratteristiche di lesioni intra-orali comprendendo la brillantezza, e la focalizzazione rispetto al classico esame obiettivo. Poiché questi parametri sono altamente soggettivi, non è sorprendente che i risultati siano anche contraddittori ^{960,962}. Recentemente è stata prospettata la combinazione della chemioluminescenza con il blu di toluidina.

11.4.5 ESAME CITOLOGICO

La biopsia per sfregamento (CDx) è stata progettata per un uso su lesioni cliniche a basso sospetto di carcinoma e quindi non sottoponibili a biopsia. Quando si osserva un'anormale risultato citologico, il clinico deve effettuare una biopsia tradizionale della lesione in quanto l'esame citologico non fornisce una diagnosi definitiva⁹⁶⁵⁻⁹⁶⁷. Lo scopo del citologico è evidenziare cellule da un sito orale sospetto evitando il dolore e il fastidio di una biopsia, come accade per il pap-test. Il citologico è utilizzato per raccogliere cellule epiteliali ed i campioni sono fissati su un vetro e colorati con un pap-test modificato quindi analizzati microscopicamente con un PC. Situazioni di positività o atipicità sono osservate quando la morfologia cellulare è altamente sospetta per displasia epiteliale o carcinoma o quando cambiamenti epiteliali presentano una diagnosi incerta⁹⁶⁸. L'uso dell'esame citologico è ancora controverso poiché alcuni studi hanno indicato alte percentuali di falsi positivi e falsi negativi. Ci sono molti esempi in letteratura di studi con risultati contrastanti. Una biopsia tradizionale è ancora indicata in caso di sospetto diagnostico indipendentemente dall'esame citologico^{969,970}. Ulteriori studi saranno necessari prima di promuovere l'utilizzo estensivo dell'esame citologico o di altri strumenti diagnostici per la diagnosi del tumore orale.

11.4.6 FOTOSENSIBILITA'

L'applicazione topica o sistemica di sostanze fotosensibilizzanti può rendere i tessuti patologici fluorescenti quando esposti a lunghezze d'onda specifiche. Questa tecnica è stata utilizzata anche per tumori cutanei ed esofagei ^{971,972}. Questa fluorescenza indotta può essere utilizzata per identificare e delineare le aree patologiche. Sebbene la fluorescenza possa essere visibile ad occhio nudo, alcuni dispositivi possono essere utilizzati per una mappatura più dettagliata della lesione. Alcuni agenti fotosensibili sono l'acido aminolevulinico, l'esoaminolevulinato, il metilaminolevulinato, il tetracloruro (metaidrossifenil), così come il porfimerone sodico ⁹⁷³⁻⁹⁷⁷.

In uno studio clinico su 20 pazienti con neoplasie orali, tre ore dopo l'applicazione topica di porfimerone sodico, i tessuti mostravano fotosensibilità con una forte fluorescenza rossa, con aumento dell'intensità della fluorescenza all'aumentare dei livelli di gravità della patologia. Basandosi sulla fluorescenza, le lesioni sono state sottoposte a biopsia quando erano presenti quattro siti sospetti per ogni paziente. La sensibilità diagnostica con fluorescenza senza supporto o con microscopia è circa del 93%, la specificità diagnostica è del 95% a livello visivo, arrivando al 97% usando la microscopia. Le differenze tra tessuto sano, displasia e neoplasia è significativa, con $p < 0.05$ ⁹⁷⁷.

I vantaggi di una diagnosi basata sulla fotosensibilità includono la possibilità di osservare tridimensionalmente la superficie dei margini lesionali, usando le nuove tecnologie, monitorare ampie aree mucose

in maniera non invasiva, facilitando la foto-distruzione delle lesioni in questione. A seconda dell'agente fotosensibile utilizzato e della sua modalità di applicazione (topico o sistemico), le imitazioni includono la fotosensibilizzazione sistemica per lunghi periodi di tempo, una limitata profondità di penetrazione, la necessità di utilizzare supporti speciali per l'osservazione della fluorescenza e la mappatura e la mancanza di specificità in presenza di tessuto infiammato o cicatriziale.

11.4.7 SPETTROSCOPIA

Questo termine si riferisce al processo di misurazione dell'emissione dell'assorbimento di differenti lunghezze d'onda della luce visibili e non visibile. Vari tipi di spettroscopia ottica sono stati analizzati per la diagnosi orale. Tutti questi sistemi hanno un principio base in comune, lo spettro ottico di un tessuto contiene informazioni sulla composizione biochimica e / o sulla struttura del tessuto che fornisce informazioni diagnostiche. Cambiamenti biochimici e morfologici collegati alla neoplasia alterano l'assorbimento tissutale, la fluorescenza e la diffusione. Le informazioni biochimiche possono essere ottenute misurando l'assorbimento, la riflessione, la fluorescenza o la diffusione dei segnali ⁹⁷⁸. I dati sono spesso espressi come grafici, ed esistono alcuni supporti che attraverso il colore codificano caratteristiche spettrali dei tessuti come il sistema VELscope.

Per decenni l'uso dell'auto-fluorescenza tissutale è stato descritto per monitorare e diagnosticare lesioni precancerose e neoplastiche iniziali, in organi come i polmoni, cervice uterina, cute e recentemente anche cavo orale ⁹⁷⁹⁻⁹⁸¹. Il principio dell'autofluorescenza tissutale è che alterazioni tissutali (ipercheratosi, ipercromatosi e pleomorfismo nucleare) e metaboliche (concentrazione di flavin adenedinucleotide e nicotinamide-adenosina-dinucleotide) dell'epitelio, così come cambiamenti dello stroma sub epiteliale (composizione della matrice del collagene e dell'elastina) alterano interazione con la luce. In particolare questi alterazioni epiteliali e connettivali possono cambiare la distribuzione dei fluorofori tissutali e di conseguenza anche il modo con cui loro si evidenziano dopo illuminazione intensa (luce blu a 400-460 nm), un processo chiamato auto fluorescenza. Il segnale di auto fluorescenza può essere visualizzato direttamente dall'operatore ⁹⁷⁹⁻⁹⁸¹.

Un sistema di immagini basato sulla fluorescenza tissutale è il VELscope. Nel cavo orale, la mucosa normale emette un'auto fluorescenza verde se osservata attraverso il manipolo, mentre il tessuto anomalo mostra una diminuita fluorescenza e appare più scuro rispetto al tessuto sano circostante ^{981,982}. Alcuni studi hanno mostrato che il VELscope può migliorare il contrasto delle lesioni e quindi la capacità del clinico di distinguere tra le lesioni mucose e il tessuto sano. Mentre i dati iniziali a riguardo sulla specificità e sulla sensibilità sono basati ancora su casistiche cliniche, sono necessari

studi più approfonditi per verificare la reale efficacia diagnostica di questo dispositivo ⁹⁸².

Informazioni strutturali morfologiche possono essere ottenute con la spettroscopia che si basa sulle proprietà di diffusione di un tessuto ⁹⁸³.

Alcuni studi combinano la spettroscopia con la luce polarizzata e / o la fluorescenza e / o la microscopia in vivo. Dispositivi in fase di sviluppo comprendono il sistema FastEEM₄, Indentafi e PS₂ orale. Questi studi clinici sono ancora in fase iniziale, ma i risultati preliminari sono incoraggianti ⁹⁸⁴⁻⁹⁹³.

Significativi sviluppi nell'uso della spettroscopia includono il frequente basso segnale, la difficoltà nell'identificazione nella precisa fonte dei segnali, la reale quantificazione dei dati e l'identificazione di parametri diagnostici definitivi, specialmente nell'ampio range di tipologie tissutali presenti nel cavo orale. La limitata penetrazione tissutale circa la mutagenicità usando la luce UV rappresenta un ulteriore sviluppo. L'abbondanza di informazioni ottenute in associazione ad una conoscenza incompleta dei processi cancerogeni, rende l'analisi e l'interpretazione dei dati estremamente complessa. Comunque lo sviluppo di algoritmi diagnostici può essere in grado di facilitare questo sviluppo ⁹⁹³.

11.4.8 MICROSCOPIA IN VIVO

Le immagini in vivo cofocali o multifotoniche si avvicinano alla valutazione istologica del tessuto, eccetto che la risoluzione subcellulare tridimensionale ottenuta in maniera non invasiva e senza

pigmentazioni. Nella struttura epiteliale è stata ottenuta una risoluzione di 1 μm , con un campo visivo di 200-400 μm . Le immagini cofocali della mucosa orale identificano dettagli subcellulari del carcinoma a cellule squamose del labbro, della lingua e di vari siti⁹⁹⁴⁻⁹⁹⁶. Mentre questa tecnologia può fornire immagini dettagliate della architettura tissutale e della morfologia cellulare, l'approccio clinico è ridotto a causa di uno scarso campo visivo e di una limitata penetrazione a 250-500 μm . La microscopia multi fotonica assomiglia a quella cofocale ma prevede una maggiore penetrazione tissutale, l'utilizzo di varie lunghezze d'onda della luce e un minore surriscaldamento tissutale. A causa degli altri costi e della difficoltà di utilizzo, nessuno dei due approcci è clinicamente attuabile in un prossimo futuro.

11.4.9 TOMOGRAFIA OTTICA

La tomografia ottica è un metodo utilizzato per la prima volta nel 1991 per visualizzare i tessuti umani. È stato successivamente perfezionato ed applicato in oftalmologia. Numerosi sistemi sono stati proposti anche per un uso non oftalmologico.

La tomografia ottica è ad alta risoluzione e permette immagini non invasive dei tessuti superficiali e profondi. Concettualmente è stata confrontata con l'analisi ultrasonica. Sia gli ultrasuoni che la tomografia ottica forniscono un'immagine strutturale in tempo reale, ma diversamente dagli ultrasuoni, la tomografia ottica è basata su interferometria a bassa coerenza, usando un ampio spettro di luce per fornire immagini sezionali ad alta risoluzione dei tessuti profondi.

Grazie ad una penetrazione tissutale di 1 - 2 mm, la tomografia ottica è applicabile alla mucosa orale⁹⁹⁷⁻⁹⁹⁹. Precedenti studi sulla tomografia ottica hanno dimostrato che la capacità di valutare microscopicamente caratteristiche epiteliali, subepiteliali e della membrana basale e hanno mostrato una potenziale risoluzione molto simile a quella istopatologica¹⁰⁰⁰.

In uno studio su 50 pazienti con displasia orale e neoplasie, è stata osservata una concordanza tra le diagnosi basate sull'istopatologia e quelle da tomografia ottica, con alti livelli di confidenza¹⁰⁰¹. La sensibilità di diagnosi di carcinoma in situ o carcinoma squamoso contro una lesione non cancerosa è di 0,931; mentre la specificità è di 0,973. Questi dati dimostravano l'eccellente capacità della tomografia ottica nello screening nei pazienti ad alto rischio monitorando lesioni già esistenti e osservando lesioni precancerose e neoplasie del cavo orale. Questo studio ha mostrato che la tomografia ottica in vivo di una lesione displasica è paragonabile ad un'analisi istopatologica, mostrando lo spessore epiteliale, la perdita di stratificazione negli strati epiteliali più bassi, l'erosione epiteliale e la perdita di stratificazione epiteliale rispetto alla mucosa orale sana. Non sempre è possibile osservare la membrana basale con un punto di riferimento¹⁰⁰¹.

Mentre la tecnologia evolve questa modalità dovrebbe ridurre progressivamente la necessità di biopsie, di definire i margini chirurgici e fornire una valutazione diretta dell'efficacia di una completa resezione della lesione.

11.4.10 CHEMIOPREVENZIONE DEL CARCINOMA ORALE

Molti studi epidemiologici hanno mostrato che la chemio prevenzione inibisce lo sviluppo di neoplasie invasive attraverso l'uso di agenti farmacologici o naturali. Questi operano sia bloccando i danni del DNA che iniziano la carcinogenesi che bloccando o invertendo la progressione delle lesioni precancerose nelle quali è già presente un danno^{1002,1003}.

Gli ultimi rilevamenti sulle cause del carcinoma e sulla diagnosi genetica sottolineano la necessità di identificare gli agenti che possono invertire o almeno ritardare il processo cancerogeno. È importante che tutti gli agenti selezionati nell'ambito delle lesioni premaligne abbiano una minima o addirittura assente tossicità in quanto un ampio numero di soggetti con queste lesioni non abbiano una progressione neoplastica. Quindi lo sviluppo di nuovi agenti o l'utilizzo di vecchi prodotti in dosi non tossiche è fondamentale¹⁰⁰⁴.

Come in tutti i tumori il sistema più efficace per la prevenzione è identificare gli individui ad alto rischio di sviluppo di neoplasie, soprattutto gli individui con lesioni precancerose, trattandoli con sostanze che bloccano lo sviluppo delle lesioni precancerose ed inibiscono l'evoluzione del tumore orale nelle lesioni già esistenti.

La cancerogenesi orale è un processo complesso caratterizzato da cambiamenti genetici, epigenetici e fenotipici. Molti di questi cambiamenti coinvolgono l'attivazione di circuiti metabolici che favoriscono la crescita cellulare e la loro sopravvivenza. Quindi gli agenti chemio preventivi che possono inibire o invertire questi

cambiamenti attraverso specifici circuiti molecolari, hanno ricevuto un'attenzione crescente in ambito preventivo e terapeutico¹⁰⁰⁵.

Un'ampia varietà di prodotti è stata analizzata in quanto possibile farmaco chemiopreventivo per lesioni potenzialmente maligne, come vitamine e minerali, includendo la vitamina A e gli altri retinoidi, il beta-carotene, la vitamina E, la vitamina C, i folati ed il selenio. Anche altri nuovi componenti sono attualmente in studio a riguardo, come gli analoghi della curcumina, gli estratti del tè verde, il selenio, i polifenoli del succo di melograno, l'inibitore di Bowman-Birk nei semi di soia e altri^{1006,1007}.

Alcuni autori hanno esaminato gli effetti dell'inibitore di Bowman-Birk su pazienti con leucoplachia. Questo prodotto è stato precedentemente testato su pazienti con ipertrofia prostatica benigna e colite ulcerosa e questi studi hanno suggerito un'assenza di tossicità¹⁰⁰⁸. Gli effetti dell'inibitore di Bowman-Birk non sono stati ancora verificati anche se i risultati preliminari sono promettenti¹⁰⁰⁹.

A causa della loro facile reperibilità per il trattamento topico e per l'esame obiettivo, le lesioni precancerose orali forniscono un eccellente modello di studio per gli effetti di vari agenti chemio preventivi su tumori epiteliali solidi. In caso di lesioni precancerose orali, i punti di riferimento principali sono determinati da una misurazione della lesione e della conferma istologica da parte della biopsia. Punti di riferimento secondari sono solitamente marcatori biochimici e molecolari rilevati sui tessuti o sulle cellule del cavo orale, facilmente ottenibili.

Attuali studi clinici su punti di riferimento primati e secondari hanno identificato la presenza di alcuni agenti per la prevenzione del carcinoma orale, fornendo una migliore comprensione dei processi di cancerogenesi grazie all'analisi di proteine cellulari specifiche e di circuiti cellulari regolati da questi agenti. Ulteriori studi in futuro specificheranno lo sviluppo di farmaci per migliorare la terapia anti-neoplastica¹⁰¹⁰.

PATOLOGIE DI CONFINE

Esiste una serie di malattie che colpiscono prevalentemente i tessuti parodontali, pur distinguendosi per eziologia, patogenesi, segni e sintomi clinici, prognosi e terapia rispetto alla malattia parodontale propriamente e classificamente definita. Queste lesioni rappresentano l'aspetto comune tra la Medicina Orale e la Parodontologia.

12. GENGIVITE DESQUAMATIVA

La gengivite desquamativa è una patologia che coinvolge il parodonto superficiale, con caratteristiche cliniche ed istologiche estremamente complesse. Essa si presenta ad un esame obiettivo con una colorazione rosso acceso e con un aspetto opacizzato, atrofico o erosivo. Vi è anche una perdita dell'architettura tissutale, che induce un'estrema facilità alla desquamazione, anche a seguito di traumi minimali. Al contrario di quanto accade per le gengiviti dovute a placca, la gengivite desquamativa è più comune nelle donne di mezza età e nelle pazienti anziane. La sintomatologia è classicamente dolorosa e colpisce prevalentemente la gengiva a livello vestibolare, risparmiando la porzione marginale, ma coinvolgendo a volte anche l'intero spessore della gengiva aderente. L'aspetto clinico non è particolarmente modificato dalle corrette manovre di igiene orale o dalla tradizionale terapia parodontale ¹⁰¹¹.

La maggior parte dei casi di gengivite desquamativa è dovuta a particolari condizioni muco-cutanee, in particolare il lichen planus, il pemfigo ed il pemfigoide ¹⁰¹²⁻¹⁰¹⁴. Altre situazioni predisponenti sono le reazioni allergiche a particolari tipi di dentifrici e collutori, morbo di Crohn, psoriasi, lesioni autoimmuni da depositi lineari da IgA e stomatite ulcerativa cronica ^{1011,1015-1018}. La gengivite desquamativa può essere erroneamente considerata come dovuta a placca batterica e ciò può ritardare una corretta diagnosi e la formulazione di un piano

terapeutico adeguato rivolto alla risoluzioni di quadri simili al pemfigo e al pemfigoide ¹⁰¹⁸⁻¹⁰²⁰.

13. LESIONI LICHENOIDI GENGIVALI

Spesso la gengivite desquamativa è considerata come una manifestazione parodontale del lichen planus^{1011,1012,1015}. Questa è una patologia muco-cutanea autoimmune abbastanza comune e ad eziologia ignota, che colpisce prevalentemente le donne anziane e di mezza età. Alcune forme di lichen planus sono osservabili a livello del cavo orale nelle diverse possibili forme che sono: reticolare, erosivo, bolloso, atrofico, a placche e papulare. Il sito intraorale maggiormente coinvolto è la mucosa geniena, seguita dalla lingua e dalla gengiva. Il lichen è tipicamente una lesione cronica, bilaterale e diffusa contemporaneamente in più aree¹⁰²⁰.

In una ridotta percentuale accade che la gengiva sia il solo sito coinvolto e proprio la forma erosiva del lichen in questa zona presenta il classico aspetto della gengivite desquamativa, che può anche estendersi all'intero spessore della gengiva aderente fino alla giunzione muco-gengivale. I tessuti gengivali appaiono come eritematosi talvolta con aree di erosione ed anche con strie a livello periferico. I pazienti possono riferire dolore gengivale persistente che si acuisce quando si assumono cibi piccanti o quando si eseguono le normali manovre di igiene orale. Accade quindi che la ridotta igiene provochi gengiviti e parodontiti indotte da placca, confondendo ulteriormente il quadro clinico. È comunque importante considerare che le reazioni immunitarie presenti a livello del lichen planus in sé non causano malattia parodontale o perdita di attacco clinico¹⁰²¹⁻¹⁰²³.

La diagnosi di lichen planus può essere difficile se questo è esteso alla sola gengiva, anche se un attento esame della gengiva eritematosa può mostrare la presenza di sottili linee cheratosi che. Il resto della mucosa orale dovrebbe essere esaminato accuratamente per rilevare la presenza delle classiche lesioni lichenoidi, così come è importante chiedere al paziente informazioni per verificare anche eventuali forme cutanee. L'area cutanea maggiormente coinvolta dal lichen planus è la superficie flessoria del polso, che presenta prurito intenso e papule poligonali di colore purpureo. Altri siti che possono essere colpiti sono le unghie, il cuoio capelluto, l'esofago e la mucosa genitale. Recentemente è stata osservata anche una correlazione nelle donne tra il lichen genitale e quello gengivale, che ha portato a definire la sindrome vulvo-vaginale-gengivale ^{1024,1025}.

La diagnosi definitiva di lichen può comunque essere effettuata solo grazie ad un esame bioptico. Il prelievo deve essere effettuato lontano dal margine gengivale in quanto un'inflammazione gengivale da placca può complicare il quadro istologico. Il campione deve contenere interamente l'epitelio e poi deve essere diviso in due parti: una fissata in formalina ed esaminata al microscopio alla luce e l'altra trasportata a freddo al laboratorio di anatomia ed istologia patologica per un'inclusione immediata in azoto liquido e quindi per un'analisi con l'immunofluorescenza. Questi test servono a verificare la presenza di autoanticorpi ed altre proteine infiammatorie all'interno dei tessuti (immunofluorescenza diretta). Il tessuto dei pazienti è incubato con la fluorescenza per la ricerca di anticorpi anti-siero

umani, del fattore 3 del complemento (C3) e del fibrinogeno e viene poi osservato al microscopio con la luce ultravioletta ¹⁰¹¹. Nel lichen planus sono osservati anche a livello della membrana basale depositi di solo fibrinogeno, mentre la fase iniziale della forma atrofica del lichen colpisce la gengiva, con caratteristiche microscopiche osservabili alla luce tradizionale che sono: grave assottigliamento epiteliale, degenerazione liquida dello strato basale e infiltrazione linfocitaria a bande con evidente demarcazione del bordo inferiore che coinvolge la linea di passaggio epitelio-mesenchimale ¹⁰²⁵.

Il trattamento del lichen planus gengivale è il medesimo per le altre forme di lichen planus intra-orale ^{1017,1026}. È importante istruire il paziente ad una corretta igiene orale e alla necessità di effettuare sedute periodiche di igiene professionale completa ^{1011, 1027}. La terapia farmacologica d'elezione consiste nella somministrazione di corticosteroidi direttamente sulle aree lesionali ed anche il paziente deve poter svolgere autonomamente tali manovre ogni notte ^{1020,1028}. Se le lesioni gengivali hanno aspetto a placche, i corticosteroidi possono essere somministrati attraverso spray a base di beclometasone. Recentemente è stato introdotto l'utilizzo sistemico di tetracicline e topico di ciclosporine mediante sciacqui come terapia della gengivite desquamativa. In caso di resistenza alla terapia è possibile utilizzare anche il tacrolimo a livello topico ^{1011,1029,1030}.

14. MALATTIE VESCICOLO-BOLLOSE AD EZIOLOGIA IMMUNITARIA

Tali patologie sono suddivise in intra-epiteliali e sub-epiteliali ¹⁰³¹. Tra le prime è noto il pemfigo, mentre nel secondo gruppo sono compresi il pemfigoide, la patologia da depositi lineari di IgA, la dermatite erpetiforme, l'epidermiolisi bollosa e l'eritema multiforme. Frequentemente il pemfigoide delle membrane mucose si manifesta a livello orale come gengivite desquamativa. Le altre malattie bollose delle quali la gengivite desquamativa è la principale manifestazione orale, sono anche il pemfigo, la malattia a depositi lineari di IgA, la dermatite erpetiforme e a volte l'eritema multiforme ¹⁰¹².

14.1 PEMFIGOIDE DELLE MEMBRANE MUCOSE

Il pemfigoide delle membrane mucose comprende un gruppo di patologie croniche infiammatorie autoimmuni con vescicole sottoepiteliali che colpisce prevalentemente le membrane mucose con o senza cicatrizzazione clinicamente evidente ¹⁰²⁰. Gli anticorpi sono prodotti contro alcuni antigeni bersaglio che si trovano sulla membrana basale, che derivano dal distacco dell'epitelio dalla sottostante lamina propria. Recentemente sono stati individuati diversi antigeni bersaglio che sono stati poi associati al pemfigoide ^{1032,1034}. Tale patologia colpisce principalmente il cavo orale, la laringe, l'esofago e le membrane oculari ma raramente la cute. Le donne dopo i 60 anni sembrano essere maggiormente colpite anche se non sono rari casi di pazienti uomini e di altre fasce d'età. A livello intraorale il pemfigo si manifesta come gengivite desquamativa. Nel pemfigoide ci possono essere aree di erosione superficiale e tracce di epitelio distaccato dalla gengive. Altri siti intraorali coinvolti sono la mucosa geniviana, il palato, la cresta alveolare e la lingua. Raramente le bolle epiteliali restano intatte, infatti è tipico osservare sul palato bolle piene di sangue. In questi casi si osserva la fibrina che copre le erosioni superficiali con margini irregolari. Le lesioni orali tendono a guarire senza cicatrici. Sfortunatamente ciò non accade per gli altri siti mucosi, come per esempio la congiuntiva. Le mucose oculari possono essere colpite in oltre l'80% dei casi, provocando cecità permanente da cicatrizzazione nel 15% dei casi ¹⁰³¹. sono eventi meno comuni

stenosi laringee, esofagee e delle mucose genitali con serie complicanze¹⁰³³⁻¹⁰³⁶.

La diagnosi di pemfigoide delle membrane mucose può essere formulata attraverso un attento esame anamnestico e clinico. La gengiva può anche essere l'unico sito coinvolto dal pemfigoide e questo comporta frequentemente una diagnosi tardiva spesso accompagnata da prolungate terapie parodontali e/o antibiotiche. Le classiche caratteristiche di gengivite desquamativa sono di solito presenti a livello gengivale. Il paziente riferisce presenza di dolore gengivale cronico con numerose erosioni superficiali sia sulla gengiva che anche su altri siti e ciò può essere d'aiuto alla diagnosi.

Comunque la diagnosi definitiva dipende dagli esami istologici dei tessuti gengivali. La biopsia deve essere eseguita su un'area con epitelio intatto in quanto i siti erosi non sono diagnostici. Alcuni Autori ritengono che le vescicole nascano comprimendo l'epitelio (segno di Nikolsky) e possono essere rimosse intatte¹⁰³⁷. I campioni di tessuto dovrebbero essere suddivisi in due parti: una per gli studi microscopici standard, l'altra per l'immunofluorescenza. Depositi lineari di IgG e C3 sono i più comuni nelle zone della membrana basale del pemfigoide delle membrane mucose. L'immunofluorescenza indiretta viene effettuata includendo il siero del paziente con cute normale. Se gli anticorpi sono presenti nel siero del paziente, si legano agli antigeni bersaglio nel campione normale e ciò è quindi mostrato dalle immunoglobuline similmente marcate. In passato, gli anticorpi circolanti nel pemfigoide erano raramente

rilevati o erano presenti in basse quantità assolutamente non correlabili all'attività della patologia¹⁰³⁸. Comunque utilizzando come substrato il normale epitelio umano chimicamente separato, le percentuali di osservazione di autoanticorpi circolanti nei pazienti con pemfigoide variano tra l'88 e il 100%¹⁰³⁹. Inoltre recenti studi suggeriscono che i titoli serici di IgG e di IgA rilevati con la tecnica del test sulla cute umana separata con soluzione salina, siano indicativi dell'attività e della gravità della patologia^{1040,1041}.

Le caratteristiche istologiche del pemfigoide sono dunque: formazione di bolle sottoepiteliali; infiltrato infiammatorio cronico della lamina propria, deposito lineare di IgA, IgG o C3 a livello della membrana basale e assenza di acantolisi^{1031,1033,1034,1041}.

Una volta effettuata la diagnosi di pemigoide delle membrane mucose, è opportuno un parere oftalmologico per escludere eventuali coinvolgimenti oculari. A livello oculare i sintomi possono essere inizialmente lievi e poi evolvere verso una congiuntivite cronica prima di esitare in gravi cicatrici. Un esame con una lampada a fessura dovrebbe essere effettuato dall'oftalmologo già nella fase precoce della malattia per impostare un adeguato piano terapeutico. Il glaucoma si verifica spesso nei pazienti con pemfigoide e ciò evidenzia la necessità di un esame oftalmologico appena possibile¹⁰⁴².

Le lesioni orali sono spesso asintomatiche. Esse possono solitamente essere controllate attraverso corticosteroidi topici, e se presente gengivite desquamativa è necessario come per il lichen planus effettuare una chiusura. Spesso è necessario utilizzare già nelle fasi

iniziali forti steroidi topici finché non scompaiono i sintomi. È importante migliorare l'igiene orale grazie anche a regolari sedute professionali. Se sono coinvolti altri siti mucosi o cutanei è necessario utilizzare corticosteroidi sistemici come l'azatioprina, la sulfapiridina o il dapsonsone^{1031,1033,1035,1043}.

14.2 PEMFIGO

Il pemfigo è una patologia muco cutanea potenzialmente maligna caratterizzata dalla presenza di bolle intraepiteliali. Resta comunque una malattia rara e colpisce solitamente le donne tra i 40 e i 50 anni. Il pemfigo volgare è il sottotipo più importante a livello orale che rappresenta il sito iniziale nel 50% dei casi. Nel pemfigo volgare sono prodotti anticorpi contro i desmosomi, in particolare contro la desmogleina 3. questo è uno dei componenti dei desmosomi che servono a mantenere lo strato spinoso adeso all'epitelio. L'adesione intercellulare tra le cellule spinose è distrutta provocando la formazione di una bolla immediatamente al di sopra dello strato basale ^{1031,1032,1044}. Nel pemfigo foliaceo invece, che colpisce prevalentemente la cute, gli autoanticorpi sono prodotti contro la desmogleina 1 ¹⁰⁴⁵. È stato dimostrato che una parte dei pazienti con pemfigo volgare possono comunque presentare autoanticorpi contro la desmogleina 1 ¹⁰⁴⁶.

Il pemfigo volgare orale si presenta con bolle che possono facilmente rompersi lasciando lesioni erosive dolorose con margini irregolari. Qualunque sito soggetto a trauma può essere coinvolto specialmente sul palato, sulla lingua e sulla mucosa geniena. Le gengive possono essere coinvolte anche se meno frequentemente del pemfigoide. Vi è quindi una desquamazione gengivale più grave delle altre lesioni vescicolo-bollose. Le bolle lasciano aree erose dolorose sulla gengiva ed una lieve pressione sull'epitelio può causare la sua separazione, per cui normali attività come le manovre di igiene orale e l'assunzione di

cibo possono diventare estremamente dolorose per il paziente ^{1019,1047}. Altri siti potenzialmente coinvolti sono l'esofago, il faringe, la laringe e le mucose nasali e genitali. Sebbene le lesioni oculari si verificano nel pemfigo, esse sono poco comuni e tendono ad essere transitorie, provocando una guarigione rapida e senza cicatrici. Le lesioni cutanee si presentano come vescicole riempite con liquido flaccido sui siti esposti a trauma. Le vescicole rotte formano ampie aree denudate della cute. In passato, prima dell'uso dei corticosteroidi, la mortalità era del 30% a causa della perdita di elettroliti e di sepsi ^{1031,1047}. La diagnosi definitiva viene effettuata grazie ad una biopsia con epitelio intatto anche se ciò può essere difficile in quanto l'epitelio nel pemfigo è molto fragile. Anche in questo caso è necessario suddividere il campione tra la preparazione a fresco a quella fissata con formalina. L'immunofluorescenza diretta dimostra il deposito di IgG e C3 intercellulari con disposizione a rete. Autoanticorpi circolatori possono solitamente essere osservati con l'immunofluorescenza indiretta e le concentrazioni di questi solitamente corrispondono alla gravità e all'attività della patologia ^{1024,1031,1037,1041}. Oggigiorno sono disponibili test specifici di immunoassorbimento collegati ad enzimi (ELISA) per ricercare autoanticorpi contro la desmogleina 3 e la desmogleina 1 ¹⁰⁴⁶. I pazienti con pemfigo volgare hanno principalmente anticorpi contro la desmogleina 3. Recenti studi hanno riportato che la ricerca di anticorpi anti-desmogleina 1 nei pazienti con pemfigo volgare orale è

indice di un peggior decorso della patologia e preannuncia il coinvolgimento anche di siti cutanei ¹⁰⁴⁸.

L'istologia tradizionale ha dimostrato che vi è acantolisi, formazione di bolle sopravasali, cellule acanto litiche disperse all'interno del fluido della vescicola (cellule di Tzank), strato basale intatto e ancora adeso alla lamina basale e modesto infiltrato infiammatorio ¹⁰⁴¹.

La diagnosi precoce di pemfigo volgare è fondamentale in quanto si tratta di una grave patologia. Le lesioni si presentano inizialmente a livello del cavo orale e quindi si sviluppano rapidamente a livello cutaneo e di altri distretti mucosi. In alternativa il cavo orale può essere il solo sito coinvolto per circa sei mesi - un anno prima dell'estensione cutanea. A tal proposito è fondamentale la diagnosi precoce ed un piano terapeutico adeguato prima che siano coinvolte la cute ed altri siti mucosi ^{1019,1020,1048}. È consigliato un consulto dermatologico.

I corticosteroidi per via sistemica sono la terapia d'elezione. Questi sono somministrati inizialmente per via orale in alte dosi o se la patologia è grave e rapidamente progressiva, anche in forma di terapia ad impulsi con megadosi di corticosteroidi in endovena. Una volta che la patologia viene controllata, gli steroidi possono essere ridotti e possono essere aggiunti farmaci non steroidei. Tra questi vi sono azatioprina, ciclosporine, ciclofosfamide e metotrexato. Altre terapie sono la fotoforesi e la plasmateresi. Il progresso della terapia è valutato sulla base della risposta clinica e del titolo anticorpale circolatorio. La gengivite desquamativa nel pemfigo viene trattata

inoltre con steroidi topici. Bisogna considerare che il pemfigo è una malattia autoimmune sistemica con un rapido decorso e quindi gli steroidi topici da soli sono insufficienti per trattare l'intera condizione. Il trattamento deve durare tutta la vita in quanto l'interruzione della terapia può portare ad un'esacerbazione della malattia. La mortalità da pemfigo è attualmente del 6% ed è dovuta agli effetti della terapia immunosoppressiva ^{1047,1049}.

14.3 MALATTIA DA DEPOSITI LINEARI DI IgA

Questa è una rara patologia vescicolo-bollosa subepiteliale caratterizzata dal deposito di autoanticorpi anti-IgA secondo uno schema lineare lungo la zona della membrana basale. Le lesioni orali assomigliano notevolmente a quelle del pemfigoide delle membrane mucose. In questi casi la gengiva mostra una desquamazione diffusa mentre si verificano ulcere orali non specifiche anche a livello del palato, della lingua e della mucosa geniena. Questa malattia al contrario della dermatite erpetiforme non è associata a enteropatia da sensibilità al glutine. I trattamenti attualmente comprendono steroidi topici o sistemici, oltre che dapsonsone o la sulfapiridina^{1017, 1046-1050}.

14.4 STOMATITE ULCERATIVA CRONICA

Si tratta di una patologia di recente scoperta con caratteristiche immunologiche. Essa ricorda il lichen planus sia a livello clinico che istologico. Inoltre si può presentare anche come gengivite desquamativa. L'immunofluorescenza diretta sia sulla lesione e sulla mucosa rivela depositi nucleari di IgG nel terzo basale dell'epitelio¹⁰¹¹. Gli anticorpi circolatori antinucleari sono anch'essi osservabili. Il trattamento si basa su potenti steroidi topici o sulla somministrazione di idrossiclorochina, quest'ultima con un'importante efficacia terapeutica^{1018,1037,1051,1052}.

14.5 GENGIVITE DA PLASMACELLULE

Questa è una rara condizione caratterizzata da gengivite desquamativa. Si ritiene generalmente che rappresenti una reazione da ipersensibilità da sostanza esogene come dentifrici, gomme da masticare, menta aromatizzata, collutori o prodotti a base di cannella. Non sono stati identificati altri agenti eziologici. Le caratteristiche istologiche di questa lesione sono pustole spongiformi epiteliali e un infiltrato denso di plasmacellule normali policlonali nella sottostante lamina propria. La terapia consiste nell'identificazione del possibile agente eziologico sulla base della storia clinica, considerando il fatto che spesso i test allergici sono negativi. La rimozione degli agenti casuali spesso porta alla risoluzione della sintomatologia ^{1014,1015,1053}.

15. LICHEN PLANUS

Il lichen planus (dal greco leichen albero reticolato e dal latino planus piano), è la malattia dermatologica più comune con manifestazioni orali. È basata da un punto di vista immunologico è un disordine cronico infiammatorio muco-cutaneo ad eziologia sconosciuta. Il lichen planus orale colpisce circa 0.5% - 2.3% della popolazione mondiale. Le quattro P (porpora, poligonale, prurito, papula) sono l'abbreviazione spesso usata per richiamare l'insieme di sintomi che caratterizzano il lichen planus ¹⁰⁵³. Più del 65% dei pazienti con lichen planus cutaneo manifesteranno un lichen planus orale. Le lesioni orali comprendono la sola manifestazione di lichen planus approssimativamente nel 15% - 35% dei casi ¹⁰⁵⁴.

Nel 1869, Erasmus Wilson, definì la condizione di lichen planus. Wickman, nel 1895, descrisse il caratteristico aspetto di strie biancastre e puntiformi che si sviluppavano sulle superfici piane delle papule. Le scoperte istologiche furono elaborate già nel 1909 ¹⁰⁵³.

15.1 CARATTERISTICHE CLINICHE

Il lichen planus è una malattia cronica mucocutanea, si sviluppa generalmente tra i 40 e 70 anni d'età; ed è più comune nelle donne che negli uomini. La pelle e le lesioni orali di lichen planus sono rare nei bambini. Le manifestazioni orali colpiscono approssimativamente il 2% della popolazione mondiale, mentre le lesioni cutanee si verificano nello 0,4%. Fino al 20% dei pazienti con lichen planus presentano le lesioni sia orali che cutanee ¹⁰⁵⁵.

Il lichen planus potrebbe presentarsi in qualsiasi area del cavo orale. La mucosa buccale, la lingua e la gengiva sono i siti più comuni; le lesioni palatali sono rare. Solitamente le lesioni nella bocca sono simmetriche e bilaterali o multiple ¹⁰⁵⁶. In circa il 10% dei casi, le lesioni sono confinate esclusivamente nel tessuto gengivale. Più di sei differenti varianti cliniche di lichen planus orale sono conosciute: reticolare; papulare; a placche; atrofico; erosivo e bolloso ¹⁰⁵⁴.

La variante reticolare del lichen planus orale è la più frequente. È caratterizzato da linee di mucosa cheratinizzata disposte secondo uno schema definito come un strisce di Wickham. La mucosa buccale è il sito più comunemente interessato. Sulla mucosa orale le strie sono tipicamente bilaterali e simmetriche. Queste potrebbero anche apparire sul bordo laterale della lingua e meno frequentemente sulla gengiva e sulle labbra (figura 19). Il lichen planus reticolare si risolve nel 40% dei casi ¹⁰⁵⁶.

Il lichen planus papulare si presenta con piccolissime papule bianche che misurano all'circa 0,5 mm di diametro. Le lesioni sono piccole e

difficili da osservare durante un esame orale di routine. Questo tipo di lichen si osserva comunque raramente¹⁰⁵⁶.

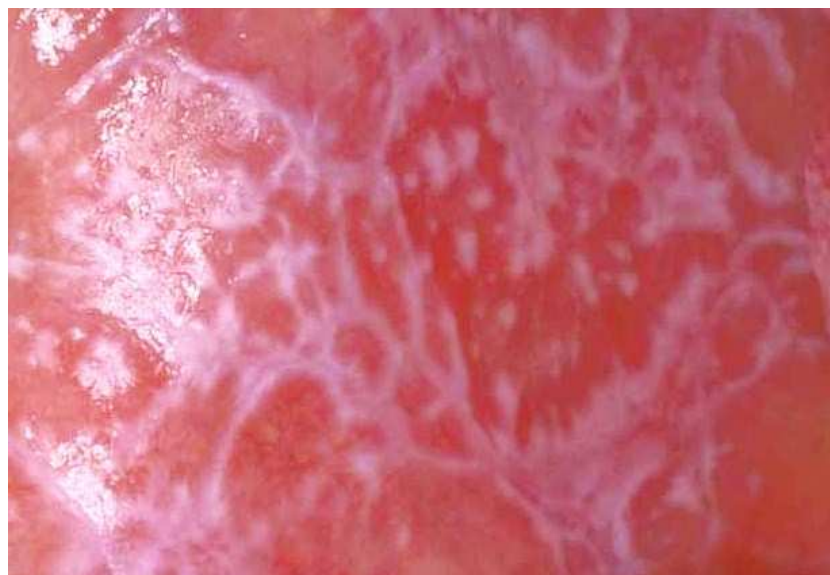


Figura 19. Lichen planus reticolare della muosa geniena.

Il lichen planus a placche consiste in un insieme di placche bianche omogenee che ricordano la leucoplachia. La forma a placche potrebbe variare da lievemente esofitica e liscia a irregolare e può essere multipla (figura 20).

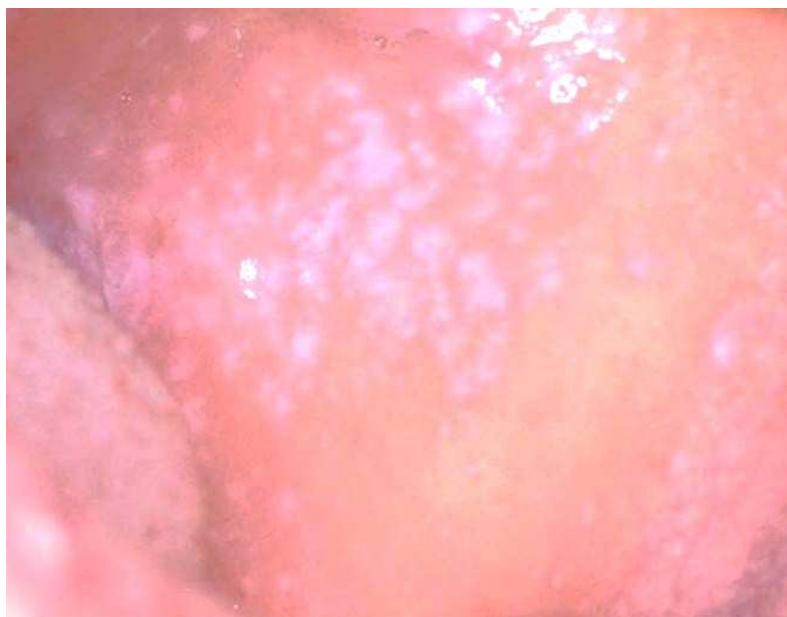


Figura 20. Lichen planus a placche del dorso linguale.

I siti più comuni sono il dorso della lingua e la mucosa orale. Questa forma solo nel 7% dei casi si risolve spontaneamente ed è più comune nei fumatori di tabacco. La forma a placche del lichen planus orale, come la forma reticolare e papulare, è generalmente asintomatico e potrebbe non richiedere un trattamento.

Il lichen planus atrofico è una lesione diffusa, rossa, circondata da strie bianche. Queste strie che circondano perifericamente la lesione sono solitamente evidenti al margine delle zone atrofiche. La gengiva aderente viene solitamente coinvolta, da cui la definizione di gengivite cronica desquamativa. La forma atrofica può manifestarsi simmetricamente su tutti e 4 i quadranti del cavo orale, causando una sensazione di bruciore. Circa il 12% delle lesioni atrofiche si risolve spontaneamente¹⁰⁵⁶.

Il lichen planus bolloso appare con piccole bolle o vescicole estremamente fragili. Quando queste si rompono, lasciano una superficie dolorante e ulcerata. Questa forma è più rara delle altre ed è più comunemente stata osservata nelle aree posteriori ed inferiori della mucosa orale, nella zona adiacente il secondo e il terzo molare. Il secondo sito più comune è il margine laterale della lingua.

Il lichen planus erosivo è la seconda forma più comune di lichen planus orale. Le lesioni sono solitamente irregolari e ricoperte da un essudato fibrinoso. Il confine della lesione è frequentemente circondato da strie cheratosiche reticolari o disposte a raggio (figura 21). Questa è una condizione dolorosa e ha un grande potenziale di trasformazione maligna. È stato riportato che solo le forme atrofica ed erosiva possono divenire maligne. Questo potrebbe essere dovuto alla natura atrofica della mucosa piuttosto che alla patologia specifica¹⁰⁵⁶.



Figura 21. Lichen planus erosivo con notevole essudato fibrinoso

15.2 EZIOPATOGENESI

In passato, numerose teorie eziologiche sono state ipotizzate come i traumi, specifici batteri, sifilide, parassiti, virus, funghi, allergie, agenti tossici, disordini neurogenetici, disturbi ereditari e psicosomatici. Le cellule basali sono il primo bersaglio di distruzione del lichen planus orale. Il meccanismo delle cellule basali danneggiate è relazionata a un processo immunitario mediato dalle cellule di Langerhans, dai linfociti T e dai macrofagi.

Le cellule di Langerhans e i macrofagi nell'epitelio sono produttori di antigeni che forniscono l'informazione antigenica ai linfociti T. Studi istochimici hanno identificato le cellule T con strutture appartenenti ai CD4 e CD8 nel lichen planus orale. Ci sono meno cellule CD4 helper ed induttori che cellule CD8, e le cellule CD8 sono quelle che vengono associate allo strato basale. Le cellule CD4 agiscono come cellule helper, e le cellule T CD8 citotossiche danneggiano lo strato basale. Dopo una fase di proliferazione, i linfociti T8 diventano citotossici per i cheratinociti basali.

Il ruolo delle cellule di Langerhans è il contatto e il riconoscimento dell'antigene e quindi la processazione e la presentazione di appropriati frammenti di antigene (epitopi), insieme al complesso maggiore di istocompatibilità di classe II alle cellule CD4, dopo che i linfociti T sono stati richiamati dall'interleuchina 1. L'interleuchina 1 è una linfocina delle cellule di Langerhans e dei macrofagi e stimola i linfociti T a produrre interleuchina 2, che causa la proliferazione delle cellule T. I linfociti attivati sono citotossici per le cellule basali. Essi

rilasciano l'interferone gamma, il quale induce a livello dei cheratinociti l'espressione degli antigeni di istocompatibilità di classe II HLA-DR ed aumenta il loro livello di differenziazione. Ciò comporta un ispessimento della superficie, che è clinicamente visibile come una lesione bianca. Le cellule di Langerhans e i macrofagi trasferiscono le informazioni antigeniche quando c'è una reciproca espressione di antigeni HLA-DR. Durante questa reciproca espressione tra i cheratinociti e i linfociti che normalmente esprimono gli antigeni HLA-DR, i linfociti potrebbero entrare in contatto con le cellule epiteliali e leggere le errate informazioni antigeniche epiteliali attraverso il legame HLA-DR. Gli autoantigeni potrebbero, perciò, essere riconosciuti come estranei e causare una risposta autoimmune. Il diabete mellito e l'ipertensione sono state descritte come "sindrome di Grinspan" quando associati con lichen planus orale. Circa dieci anni fa, un'associazione tra il lichen planus orale e l'infezione da epatite C (HCV) è stata riportata in parecchi studi ^{1056,1057}.

15.3 ISTOPATOLOGIA

Le classiche caratteristiche istopatologiche del lichen planus sono:

- Iperparacheratosi e iperortocheratosi;
- Acantosi;
- Ispessimento delle cellule dello strato granulare;
- Liquefazione delle cellule dello strato basale e apoptosi dei cheratinociti basali;
- Corpi colloidali omogenei eosinofili (corpi di Civatte) che rappresentano la degenerazione dei cheratinociti basali;
- Banda di infiltrato denso sottoepiteliale di cellule T^{1054,1020}.

15.4 IMMUNOFLUORESCENZA

Il lichen planus orale potrebbe qualche volta porre dei problemi istopatologici riguardo alla diagnosi, specialmente quando le lesioni delle mucosa sono ulcerate con infiammazione secondaria. Il test dell'immunofluorescenza diretta (DIF) è dimostrato essere un valido metodo per diagnosticare le patologie bollose, erosive e ulcerative della mucosa orale ¹⁰⁵⁷⁻¹⁰⁵⁹.

L'immunofluorescenza diretta mostra il deposito del fibrinogeno lungo la zona della membrana basale (BMZ) e corpi colloidali contenenti IgA, IgG e IgM ^{1054,1056}.

15.5 PROGNOSE

Parecchi studi hanno riportato un rischio significativo (dal 0,4% al 3,7%) per la trasformazione maligna del lichen planus orale in carcinoma a cellule squamose, di conseguenza, molti Autori considerano il lichen planus orale una condizione premaligna. Il rischio sembra essere associato ai casi di lichen planus orale atrofico o erosivo^{1054,1020}. Sembra esserci una maggiore incidenza di carcinoma a cellule squamose nei pazienti con lichen planus orale rispetto alla popolazione sana^{1054,1060}.

15.6 DIAGNOSI DIFFERENZIALE

La diagnosi clinica differenziale include reazioni lichenoidi, leucoplachia, carcinoma a cellule squamose, pemfigo, traumi cronici da morsicamento e candidosi. La diagnosi differenziale istopatologica include reazioni lichenoidi, pemfigoide delle membrane mucose, malattia del trapianto contro l'ospite, lupus eritematoso ed eritema multiforme ^{1054,1056}.

15.7 TERAPIA

Per il lichen planus orale, sono fondamentali una buona igiene orale e regolari sedute di igiene dentale professionale. A livello farmacologico invece gli steroidi topici sono per la prima scelta terapeutica del lichen planus delle mucose. Numerosi glucocorticoidi sono risultati essere efficaci.

I materiali protettivi per le membrane mucose, potrebbero fornire una protezione facilitando il contatto tra i tessuti e i glucocorticoidi ed alleviando il fastidio associato alle lesioni erosive. Il Fluocinonide in gel adesivo o in soluzione, il fluocinolone acetone allo 0,1% e il clobetasole propionate allo 0,05% hanno mostrato buoni risultati. Sono raccomandate applicazioni 4 - 6 volte al giorno. Sciacqui con la clorexidina gluconata e applicazioni topiche antifungine sono raccomandate durante la terapia.

I glucocorticoidi sistemici sono efficaci nel trattamento del lichen orale erosivo e del lichen planus vulvovaginale. La somministrazione sistemica può essere usata da sola o più comunemente in associazione a glucocorticoidi topici. La dose va da 30 mg a 80 mg al giorno, bisogna ridurre la dose gradualmente per tre o sei settimane fino all'osservazione di benefici. Le recidive sono comuni a seguito di dosaggi ridotti o interruzione della terapia. Una complicanza comune è la candidosi orale.

L'acido retinoide topico (tretinoina gel) è efficace nel trattamento delle lesioni orali a placche ed erosive. L'irritazione che ne consegue spesso rende complesso tale approccio farmacologico. Il gel

Isotretinoina è anch'esso efficace, specialmente nelle lesioni orali non erosive. I miglioramenti si notano dopo 2 mesi. I retinoidi topici sono spesso usati in associazione con i glucocorticoidi topici.

L'etretinato somministrato oralmente a un dosaggio di 75 mg / kg al giorno (da 0,6 a 1 mg / kg al giorno) è usato per il trattamento del lichen planus orale erosivo; significativi miglioramenti si osservano nella maggioranza dei pazienti. Le recidive sono comuni in coloro che seguono il trattamento in modo non continuativo.

Applicazioni topiche di ciclosporina (100 mg / ml) 5 ml 3 volte al giorno ha mostrato benefici nel trattamento del lichen planus orale. Le modalità di applicazione includono sciacqui orali e la somministrazione manuale con massaggio locale. Risciacqui con la ciclosporina topica sembrano essere efficaci per il trattamento del lichen planus orale, specialmente nelle forme erosive gravi. In alternativa alla ciclosporina topica possono essere usati agenti immunosoppressivi come il tacrolimo e il pimecrolimo.

Il poliene antifungino griseofulvina è stato empiricamente usato per il trattamento del lichen planus orale e cutaneo. Nuovi agenti antifungineo (per esempio, fluconazolo e itraconazolo) possono essere utili nel trattamento del lichen planus orale, quando presente candidosi conseguente alla terapia con glucocorticoidi sistemici ¹⁰⁵³.

16. EPULIDE

L'epulide è anche definita come granuloma piogenico ed istologicamente è un'iperplasia infiammatoria. Questa lesione è caratterizzata da un'ampia crescita nodulare della mucosa orale, con tessuti di granulazione e fibrosi ^{1061,1062}. Con il termine epulide si intende anche l'iperplasia infiammatoria fibrosa, il fibroma, il granuloma piogenico, il polipo pulpare, l'iperplasia palatale papillare, il granuloma a cellule giganti, l'epulide gravidica ed appunto l'epulide stessa ².

La crescita dell'epulide ricorda quella di una lesione neoplastica orale o cutanea, pur non presentando caratteristiche di malignità ¹⁰⁶²⁻¹⁰⁶⁴. L'epulide è frequente a livello cutaneo, mentre è rara a livello gastro-intestinale, tranne che nel cavo orale, dove esordisce in corrispondenza della mucosa cheratinizzata ¹⁰⁶⁵. Esistono due tipologie cliniche di epulide, che differiscono istologicamente per la presenza o meno di un emangioma lobulare capillare ¹⁰⁶⁶.

A causa dell'elevata incidenza dell'epulide orale, specialmente nelle donne in gravidanza, è importante considerare la sua diagnosi, prognosi, terapia e caratteristiche istologiche.

16.1 EZIOPATOGENESI ED EPIDEMIOLOGIA

Molti Autori considerano l'epulide come una neoplasia benigna, anche se attualmente si ritiene che questa lesione sia invece reattiva in risposta a diversi stimoli irritativi locali cronici di lieve entità, stimoli traumatici, fattori ormonali o certi tipi di farmaci ^{1061,1067-1069}. Oggigiorno si esclude una componente infettiva per questa patologia, per cui il termine "granuloma piogenico" sembra essere quello meno indicato ^{1061,1069,1070}. I microorganismi *Bartonella henselae*, che è responsabile della peliosi epatica, la *B. quintana*, responsabile dell'angiomatosi bacillare e l'herpes virus umano di tipo 8, che invece genera il sarcoma di Kaposi e l'iperplasia angiolinfoide, sono tutti stati isolati in numerosi tumori vascolari, ma ancora non nell'epulide ^{1065,1071}.

Circa un terzo di tutte le epulidi si verifica a seguito di trauma, soprattutto se in zona extragengivale, anche se la scarsa igiene orale rappresenta un fattore scatenante ^{1061,1063,1067,1072,1073}. Sono stati documentati casi che presentano situazioni di granuloma piogenico anche dopo un trauma ad un elemento dentario deciduo o in presenza di un'anomalia dentaria di numero ^{1073,1074}.

Alcuni fattori presumibilmente coinvolti nell'eziopatogenesi dell'epulide sono la sintetasi inducibile dell'ossido nitrico, il fattore di crescita vascolare endoteliale, il fattore di crescita di base dei fibroblasti, il fattore di crescita tissutale connettivale, tutti in grado di nell'angiogenesi e nella crescita rapida dell'epulide ¹⁰⁷⁴⁻¹⁰⁷⁶.

Inoltre alcuni farmaci come la ciclosporina hanno un ruolo importante nello sviluppo di un'epulide. Già alcuni Autori hanno riportato casi di epulide anche in soggetti in terapia con ciclosporine per graft versus host disease e in pazienti trapiantati di midollo osseo ^{1077,1078}. È stata anche proposta un'eziologia iatrogena parodontale per il granuloma piogenico: è stato riportato un caso in cui questo è insorto a seguito di innesto alloplastico di osso con membrana riassorbibile ¹⁰⁶¹.

Agli inizi degli anni '80 si è ipotizzato che l'epulide derivasse da un dismetabolismo proteico a livello dei fibroblasti dovuto ad una depressione genica di origine virale, che provocava quindi una riorganizzazione tissutale dei fibroblasti papillari ¹⁰⁷⁹. Successivamente è stato scoperto che la crescita di qualunque patologia neoplastica dipende non solo dall'attività proliferativa, ma anche dai livelli di morte cellulare, per cui è stato anche proposto che la rapida crescita del granuloma sia da mettere in correlazione con un basso tasso di apoptosi e con un'iperespressione genica per le proteine Bcl-2 ¹⁰⁸⁰.

Sebbene l'epulide si presenti a tutte le età, essa mostra un'incidenza maggiore nelle donne verso i vent'anni, probabilmente per fattori ormonali, anche se sono stati effettuati studi che hanno spostato la massima incidenza tra i cinquanta e i sessant'anni ^{1061,1066,1067,1081,1082}.

In realtà l'epidemiologia di questa lesione non è ancora stata completamente definita, in quanto alcuni Autori hanno individuato il picco massimo tra i maschi in età puberale, piuttosto che le donne in età fertile o addirittura tra i pazienti anziani senza una particolare

predilezione di sesso ¹⁰⁷². È stata anche osservata una prevalenza di 1:1,5 nelle donne rispetto agli uomini, con presenza di evidenti fattori eziologici nel 16% dei casi, mentre epulidi capillari non emangiomatose presentano associazione a fattori di rischio ben definiti nell'86% dei casi.

Il granuloma piogenico orale è l'iperplasia gengivale più comune, in quanto si presenta a livello gengivale nel 75% dei casi probabilmente a causa della presenza di tartaro intra-sulcolare. Altri possibili siti sono le labbra, la lingua e la mucosa non cheratinizzata, anche se con incidenza minore ^{1,7}. Le aree più colpite sono la maxilla rispetto alla mandibola così come le aree anteriori rispetto a quelle posteriori e la superficie gengivale vestibolare rispetto a quella palatale, anche se certe lesioni possono estendersi dalla superficie vestibolare a quella linguale ¹⁰⁶¹. È stato osservato che la maggior parte dei casi di epulide è presente a livello della gengiva marginale e solo 15% sulla parte alveolare.

16.2 CARATTERISTICHE CLINICHE

Clinicamente l'epulide orale è una manifestazione esofitica liscia o lobulata, sessile o pedunculata, che non coinvolge la struttura ossea adiacente^{1083, 1084}. Talvolta si può presentare anche con papule rosse eritematose, facilità all'emorragia e alla compressione, sviluppando masse con forma a clessidra^{1061,1068,1070}. Anche a livello clinico sono distinguibili le diverse configurazioni istologiche, in quanto la variante di epulide capillare angiomatosa ha conformazione sessile nel 66% dei casi, mentre la forma non angiomatosa è pedunculata nel 77% dei casi. Le dimensioni variano da pochi millimetri a diversi centimetri^{1068,1070} (figura 22). Lo sviluppo della lesione può essere rapido, ma nella normalità è invece lento, asintomatico ed indolore^{1061,1068}. La superficie della lesione è generalmente facile da ledere e sono frequenti anche ulcere ricoperte da una membrana fibrotica di colore giallastro^{1062,1068}. I granulomi piogenici di recente formazione contengono prevalentemente capillari e tessuto di granulazione, di conseguenza ogni trauma può innescare anche copiose emorragie vascolari^{1061,1068}. Al contrario le forme croniche assumono invece un aspetto più chiaro a causa della minore vascolarizzazione e della maggiore fibrosi¹⁰⁶¹.



Figura 22. Epulide proveniente da un'infezione cronica a carico dell'elemento dentario 14.

16.3 CORRELAZIONI TRA EPULIDE E GRAVIDANZA

Oltre il 5% delle donne in gravidanza presentano un'epulide ¹⁰⁶¹. Ciò è dovuto al fatto che probabilmente nelle donne in questa fase vi è un'alterazione ormonale che è responsabile di una reazione immunitaria locale anomala a stimoli comunque ordinari come i microtraumi, la placca batterica e processi infiammatori gengivali, che normalmente portano a gengivite ^{1061,1085}. In realtà l'evoluzione della patologia non differisce tra le donne in gravidanza e quelle che non lo sono, in quanto in ogni caso interferisce con la masticazione ¹⁰⁸⁶. Si ritiene che l'epulide possa rappresentare una variante iperplastica della gengivite gravidica a seguito di squilibri ormonali. Nelle donne in gravidanza il granuloma piogenico esordisce solitamente tra il secondo ed il terzo mese di gravidanza. Durante i primi mesi di gravidanza, la placca batterica può indurre una gengivite suppurativa, che è la base della gengivite iperplastica nei periodi successivi a causa delle continue modificazioni ormonali. Si presentano più spesso nelle aree sottoposte a stimoli irritativi, come restauri protesici incongrui o tartaro sottogengivale. La terapia è l'exeresi chirurgica, anche se una rimozione incompleta ed una scarsa igiene orale possono causare recidive ¹⁰⁶¹.

I processi molecolari che causano l'epulide gravidica sono stati ampiamente studiati: le alterazioni ormonali che avvengono in gravidanza provocano modificazioni a livello linfonodale e del microcircolo delle aree periferiche, comprese quelle cutanee ^{1086,1087}.

Recenti studi hanno evidenziato che gli ormoni sessuali contribuiscono ad indurre una serie di effetti a livello biologico ed immunologico. Per esempio gli estrogeni accelerano la guarigione delle ferite stimolando il fattore di crescita nervoso (NGF) prodotto dai macrofagi, il fattore di stimolazione di colonie di granulociti e macrofagi (GM-CSF) prodotto dai cheratinociti, il fattore base per la crescita dei fibroblasti (bFGF) ed il fattore di crescita trasformante beta1 (TGF- β 1) prodotto dai fibroblasti e responsabile della formazione del tessuto di granulazione. Gli estrogeni inducono anche la sintesi del fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF) da parte dei macrofagi, che è fisiologicamente inibito dagli androgeni e quindi trova piena espressione durante la gravidanza, contribuendo allo sviluppo dell'epulide. Da questo punto di vista può essere utile modificare le concentrazioni degli ormoni steroidei come misura preventiva del granuloma piogenico ¹⁰⁸⁸. Alcuni Autori hanno ipotizzato che il progesterone possa essere un immunosoppressore a livello dei tessuti parodontali, modificando in senso cronico una reazione infiammatoria contro la placca e quindi esitando in un'evidenza clinica ipertrofica ¹⁰⁸⁹. Altri hanno invece suggerito che l'epulide fissurata presenti livelli maggiori di fattore di crescita vascolare endoteliale e di fattore base per la crescita dei fibroblasti rispetto ai tessuti parodontali sani, mentre al contrario l'angiostatina è rilevabile a livelli minori nella lesione rispetto al parodonto sano ed anche rispetto a situazioni di malattia parodontale tradizionale ¹⁰⁶¹.

Ancora non sono stati evidenziati i meccanismi per cui al termine della gravidanza un granuloma piogenico regredisca. Probabilmente per le maggiori concentrazioni di angiopoietina-2, che in assenza di fattore di crescita vascolare endoteliale causa regressione dell'iperplasia vascolare. Alcuni studi hanno evidenziato che il fattore alfa di necrosi neoplastica (TNF- α) genera un aumento nella stimolazione di angiopoietina-2 a livello delle cellule endoteliali¹⁰⁹⁰. I livelli di angiopoietina-2 sono più alti nei granulomi in gravidanza e talvolta anche dopo il parto. Dopo il parto aumenta il numero di cellule apoptotiche e diminuiscono i livelli di angiostatina rispetto alla gravidanza. In tal modo il fattore di crescita vascolare endoteliale da solo o in associazione con l'angiopoietina protegge il microcircolo dall'apoptosi, mentre l'angiopoietina da sola non ha alcun effetto in tal senso.

Manifestazioni orali indotte dall'assunzione di ormoni orali contraccettivi sono simili a quelle che si verificano in gravidanza, come l'aumentata vascolarizzazione gengivale, la gengivite iperplastica e l'epulide. Ancora non è chiaro il meccanismo secondo cui i contraccettivi possono influenzare i meccanismi vascolari a livello parodontale; la prostaglandina E2 può essere coinvolta come possibile mediatore del processo infiammatorio stesso^{1091,1092}. Altri studi al contrario hanno osservato invece che nonostante la correlazione tra granuloma piogenico e stato di gravidanza ed assunzione di contraccettivi orali, la mancanza di recettori per gli ormoni steroidei a livello parodontale indica che gli estrogeni o il

progesterone non sono coinvolti in maniera diretta nella formazione di questa lesione.

16.4 ISTOPATOLOGIA

Un esame microscopico dell'epulide fissurata evidenzia un'alta proliferazione vascolare molto simile al tessuto di granulazione¹⁰⁶¹. I globuli rossi riempiono i nuovi vasi che sono formati da cellule endoteliali normotrofiche o ipertrofiche in fase di replicazione^{1061,1072}. I vasi sanguigni spesso mostrano una disposizione midollare o a grappolo e sono separati da pochi setti vascolari fibrotici, per cui alcuni studi considerano il granuloma piogenico come una forma polipoide di un emangioma capillare o un semplice un emangioma lobulare infiammato, mentre altri preferiscono utilizzare la definizione di emangioma simile al tessuto di granulazione¹⁰⁷⁰. Alcuni Autori ritengono che questi vasi, che sono organizzati come lobulari, siano un elemento diagnostico per l'emangioma lobulare capillare^{1061,1093}.

A basso ingrandimento, un aspetto lobulare viene osservato nei gruppi di capillari che proliferano ma che poi si interrompono bruscamente ed ogni lobulo resta circondato da un sottile strato di collagene. Questa disposizione è interrotta alla base, dove forma canali vascolari più larghi irregolari che comunicano probabilmente con la proliferazione. In queste situazioni si possono osservare a volte delle anastomosi che ricordano l'angiosarcoma, anche se queste sono identificative rispetto all'intera lesione. Ad ingrandimenti maggiori, si osserva un'altra caratteristica discriminativa di lesione vascolare benigna, che è la presenza di piccoli spazi capillari endoteliali circondati da uno strato cellulare peri-vascolare o pericitico. Questo

doppio strato, osservabile anche nell'angiomatosi intramuscolare, non è invece identificabile nell'angiosarcoma ¹⁰⁸³.

Situazioni di polimorfismo, come di infiammazione cronica sono invece presenti per tutto lo stroma edematoso, con formazione di microascessi ¹⁰⁶². I fibroblasti sono tipicamente ipertrofici e l'attività mitotica può essere osservata già a livello stromale. Lesioni più vecchie evidenziano la presenza di un minor numero di cellule, anche se più mature, che sono poi i fibrociti. Alcune lesioni mostrano un'alta prevalenza di cellule plasmatiche e sono quindi definite come granulomi plasmacellulari, da non confondere con il plasmocitoma solitario mucoso o il mieloma multiplo, inoltre sono anche stati osservati casi di epulide intravenosa ¹⁰⁶¹.

Alcune di queste lesioni possono lasciare processi cicatriziali, suggerendo la presenza di processi di riparazione tissutale supportati dalla maturazione del tessuto connettivo ¹⁰⁶⁸. La superficie della lesione può subire cambiamenti secondari aspecifici che includono l'edema stromale, la dilatazione capillare, l'infiammazione e la formazione di tessuto di granulazione ¹⁰⁹⁴. La superficie del granuloma piogenico è frequentemente ulcerata e ricoperta da una sottile membrana di fibrina purulenta ¹⁰⁶¹. Vicino all'area ulcerativa è presente un infiltrato infiammatorio neutrofilico; mentre nei livelli più profondi sono osservabili cellule tipiche di un processo infiammatorio cronico ^{1061,1068}.

L'epulide presenta tre diverse fasi evolutive: nella prima, quella cellulare, vi sono lobuli compatti con formazione di piccoli canalicoli

cellulari; nella seconda, che è definita capillare, i lobuli aumentano la loro vascolarizzazione incrementando il numero di globuli rossi intraluminali; in questa fase uno o più vasi centrali aumentano il loro diametro attraverso la differenziazione di un sottile strato muscolare liscio creando un aspetto venoso. Nella terza fase, definita involuzionaria, si verifica una fibrosi intra e perivascolare con aumentata differenziazione venulare ¹⁰⁸³.

Esistono due varianti istologiche di epulide: il primo tipo è caratterizzato da una proliferazione vascolare organizzata in fasci lobulari sebbene le lesioni non presentino spesso in superficie modificazioni specifiche, come edema, dilatazione capillare o reazione infiammatoria con produzione di tessuto di granulazione. Questa conformazione istologica è definita come emangioma lobulare capillare, mentre il tipo non lobulare capillare è caratterizzato da un'alta proliferazione vascolare che ricorda il tessuto di granulazione ^{1061,1068,1070}. L'area lobulare dell'emangioma lobulare capillare contiene un numero maggiore di vasi sanguigni di piccolo diametro nell'area centrale rispetto al tipo non lobulare capillare. Nell'area centrale di quest'ultimo è presente un numero maggiore di vasi con cellule mesenchimali perivascolari non reattive per l'actina α della muscolatura liscia e per l'actina muscolo-specifica rispetto all'area lobulare dell'emangioma lobulare capillare. Queste differenze rendono le due tipologie istologiche due diverse entità cliniche di epulide orale ¹⁰⁶⁶. Alcuni studi hanno evidenziato che la presenza di vasi ematici con differenti diametri luminali nell'area lobulare

dell'emangioma lobulare capillare e nell'area centrale dell'emangioma non lobulare capillare può essere dovuta a vari fattori patogenetici ¹⁰⁹⁵. Altri studi hanno osservato che centri di maturazione fibrosa sono presenti nel 15% degli emangiomi vascolari non capillari e mai in quelli vascolari capillari. Sebbene sia possibile che l'epulide possa subire una maturazione fibrosa, questi studi hanno mostrato che tali episodi si presentano solo negli emangiomi vascolari non capillari e ciò suggerisce che i due tipi di granuloma piogenico proseguano lungo due diverse linee evolutive ¹⁰⁶⁶.

16.5 DIAGNOSI DIFFERENZIALE

Quando si osserva una lesione sospetta del cavo orale, è importante formulare una diagnosi differenziale che faciliti ulteriori approfondimenti oltre che l'elaborazione di un piano terapeutico adeguato ¹⁰⁹⁴. I rilevamenti biotici hanno un ruolo fondamentale per poter effettuare una diagnosi definitiva ¹⁰⁶¹. La diagnosi differenziale di granuloma piogenico comprende il granuloma periferico a cellule giganti, il fibroma periferico ossificante, alcune metastasi di neoplasia, l'emangioma, le neoplasie durante la gravidanza, il comune tessuto di granulazione, l'infezione iperplastica gengivale, il sarcoma di Kaposi, l'angiomasiosi bacillare, l'angiosarcoma ed il linfoma non-Hodgkin ^{1061,1068,1072,1086,1096}.

Il granuloma periferico a cellule giganti è una lesione esofitica esclusivamente gengivale e molto simile all'epulide, anche se il granuloma è di colore bluastrò e non rosso vivo come l'epulide ^{1061,1062}. Sebbene il granuloma sia responsabile di riassorbimento osseo, le differenze tra le due lesioni sono comunque minime rendendole indistinguibili, anche se il granuloma presenta iperplasia reattiva, presenza di cellule giganti multinucleate e mancanza di fonti infiammatorie ^{1061,1068}.

A seconda della durata del suo decorso, l'epulide può avere consistenza dura o molle e può ricordare il fibroma sia nella variante periferica odontogena che in quella ossificante, sebbene queste presentino un colore più chiaro ^{1061,1068}. Inoltre il suo diametro è di circa 1,5 cm, anche se esistono casi in cui raggiunge i 6 cm ¹⁰⁹⁷. Anche

i fibromi sono tipici della gravidanza, ma si presentano esclusivamente a livello gengivale, con una componente vascolare minima ^{1062,1068}.

Nonostante le metastatizzazioni neoplastiche orali siano un evento raro, queste possono comunque coinvolgere la lingua o i tessuti parodontali. Al contrario quindi lesioni metastatiche a livello del cavo orale sono molto spesso il primo segno di neoplasia occulta, che può essere però individuata grazie ad un esame istologico della metastasi stessa ^{1061,1097}. Alcuni Autori hanno riportato che la maggior parte di metastasi orali sono presenti tra i cinquanta e i sessant'anni, in una percentuale superiore rispetto all'epulide, ma con un aspetto assolutamente simile a questo o ad altri tipi di iperplasia ¹⁰⁹⁸.

È importante effettuare una diagnosi differenziale tra granuloma piogenico ed emangioma, che possono avere un aspetto simile quando sono di piccole dimensioni ^{1061,1062}. In realtà la distinzione tra le due patologie è effettuabile attraverso la diascopia, premendo cioè contro la lesione un vetrino ed osservando l'allontanamento momentaneo del flusso ematico e ciò dà risposta positiva solo per quanto riguarda l'angioma, a causa della sua origine puramente vascolare. Nella maggior parte dei casi gli emangiomi si presentano sulla lingua ed hanno aspetto multi nodulare e colore bluastro ¹⁰⁶². Rispetto all'epulide, l'emangioma presenta invece una proliferazione delle cellule endoteliali più tondeggianti e cistica, senza alcun infiltrato infiammatorio acuto ^{1061,1096}. Alcuni Autori hanno osservato a livello immuno-istochimico l'espressione del fattore di crescita vascolare

endoteliale C1, non trovando differenza alcuna a livello di angiogenesi o proliferazione cellulare in genere tra l'epulide e l'emangioma. Nel granuloma piogenico sono i fibroblasti e i macrofagi ad essere positivi al fattore di crescita vascolare endoteliale. Questi rilevamenti confermano il ruolo dei fattori angiogenetici nell'eziopatogenesi di entrambi i tipi di lesione, evidenziando l'inutilità di un'analisi quantitativa dei vasi presenti.

Un'altra diagnosi differenziale è quella con il tumore gravidico, anche se la sua definizione è ancora oggetto di discussione ¹⁰⁸⁶. In base a rilevamenti clinici e istologici, alcuni Autori ritengono che sia la stessa cosa dell'epulide, mentre altri ipotizzano che la lesione fondamentale sia unica a causa dell'apparente influenza da parte di ormoni sessuali femminili ¹⁰⁹⁹.

L'aumentata prevalenza del tumore nella gravidanza fino alla fine della gravidanza stessa e la sua tendenza alla risoluzione dopo la gravidanza indicano definitivamente il ruolo ormonale nella sua eziologia ^{1062,1100}. Secondo alcuni studi, non esiste differenza clinica e istologica tra il tumore della gravidanza e l'epulide che si verifica nelle donne non in gravidanza, ma altri studi riportano che diversamente dall'epulide, il tumore gravidico è confinato solitamente alla papilla interprossimale ¹¹⁰⁰. Un Autore ha indicato che la diagnosi di tumore gravidico è valida clinicamente nella descrizione di un'epulide che si verifica in gravidanza, poiché essa descrive una lesione distinta non sulla base di caratteristiche istologiche bensì sull'eziologia, sull'evoluzione e sul protocollo terapeutico.

La presenza del tessuto di granulazione è un altro elemento per la diagnosi differenziale. Nonostante la sua presenza sia comune sull'epulide, questa mostra un'evoluzione clinica differente come una crescita rapida, recidive multiple e frequenti, rispetto alle lesioni con tessuto di granulazione ^{1061,1093,1096,1101}.

È opportuno considerare anche la gengivite iperplastica. La differenziazione istopatologica dell'epulide rispetto alle gengivite iperplastica è talvolta impossibile e gli istologi devono riferirsi alla descrizione di una massa clinica ben distinta effettuata dal chirurgo per diagnosticare il granuloma ¹⁰⁷⁰. Il sarcoma di Kaposi nei pazienti malati di AIDS mostra la proliferazione di cellule displastiche fuse, perforazioni vascolari, eritrociti extravasali e ialinizzazioni intracellulari: tutte caratteristiche assenti nell'epulide ¹⁰⁷⁰. La diagnosi iniziale di sarcoma di Kaposi richiede una valutazione microscopica del materiale biotico poiché questa lesione può ricordare alcune patologie orali come il granuloma piogenico, l'angiomaso bacillare, l'emangioma ed il linfoma ¹⁰⁶¹.

L'angiomaso bacillare, anch'essa correlata all'AIDS, mostra depositi extracellulari densi di materiale pallido granulare ematosilico che rappresentano masse di bacilli positivi alla colorazione di Whartin-Ostray ¹⁰⁷⁰.

L'epulide può essere distinguibile dall'angiosarcoma globulare, con vasi ben definiti e cellule endoteliali citologicamente immature ¹⁰⁶⁸. Un'altra considerazione è il linfoma non-Hodgkin che si presenta inizialmente nell'area della testa e del collo ed in particolare a livello

dell'anello di Waldeyer, dei seni mascellari, delle ghiandole salivari, del cavo orale e della laringe. Le manifestazioni cliniche di linfoma non-Hodgkin sono spesso riconducibili ad un 'ipertrofia gengivale asintomatica o alla presenza di masse che ricordano il granuloma piogenico ¹⁰⁹⁶.

16.6 TERAPIA

Sebbene siano stati proposti numerosi trattamenti per l'epulide, quello appropriato può essere difficile da scegliere quando la lesione è molto ampia o si presenta in aree chirurgicamente difficili ¹⁰⁶¹. È raccomandata la biopsia escissionale, tranne nei casi in cui l'intervento causerebbe evidenti deformità; in questi casi è opportuna una biopsia incisionale ². Il trattamento dell'epulide dipende dalla gravità dei sintomi; se la lesione è piccola, asintomatica, e non emorragica sono sufficienti una diagnosi obiettiva ed un follow-up ¹⁰⁶¹. Sebbene l'escissione chirurgica conservativa e la rimozione dei fattori irritativi come placca, tartaro, corpi estranei e altri fonti di traumatologiche, siano i trattamenti più comuni per le lesioni gengivali, l'escissione dovrebbe in questi casi estendersi al di sotto del periostio e gli elementi dentari circostanti dovrebbero essere accuratamente levigati per rimuovere ogni possibile fonte di irritazione continua ^{1061,1068}.

Recentemente sono stati proposti dei protocolli alternativi alla chirurgia. Alcuni Autori hanno riportato l'utilizzo di un laser al Neo-dimio per la rimozione della lesione alla luce del minor rischio di sanguinamento rispetto alla tecniche chirurgiche a lama fredda. Inoltre il laser al Neo-dimio presenta caratteristiche coagulative superiori rispetto ai dispositivi a base di anidride carbonica ¹¹⁰². Altri Autori infatti hanno evidenziato che la terapia la laser è ben tollerata dai pazienti e non presenta reazioni avverse, anche se non hanno rilevato alcuna differenza tra i due tipi di laser ¹¹⁰³.

In uno studio è stato utilizzato un laser con lampada a tecnica pulsata su una massa di tessuto di granulazione che non ha risposto alle terapie comuni ed è stato osservato che il tessuto già guarito rispondeva altrettanto bene al trattamento con tale laser ¹¹⁰⁴. Altri Autori hanno proposto la criochirurgia per la risoluzione del granuloma piogenico, in quanto la mucosa orale si presenta liscia e umidità ed è quindi un sito ideale per l'applicazione di questa tecnica. Ne deriva una buona estetica anche a lungo termine, per cui tale tecnica è preferibile alla chirurgia tradizionale ¹¹⁰⁵.

Sebbene i trattamenti conservativi come la criochirurgia, la chirurgia la laser e l'elettrodesiccazione siano spesso efficaci, l'escissione può comunque provocare cicatrici, per cui è stato proposto un approccio differente usando iniezioni di etanolo puro su pazienti con recidive da criochirurgie e si è osservato che queste terapia è meno invasiva rispetto all'escissione chirurgica ¹¹⁰⁶.

Un altro Autore ha riportato che la scleroterapia a base di tetradecilsolfato di sodio risolve le lesioni nella maggior parte di pazienti senza gravi complicanze ¹¹⁰⁷. Tali autori riengono che questa tecnica sia preferibile all'escissione per la sua semplicità e la mancanza di cicatrici, anche se sono necessarie sedute ripetute. Il meccanismo degli effetti terapeutici di questa tecnica può essere mediato dall'azione specifica e non specifica dei solfati, che causano danni endoteliali specifici e obliterano i lumi vascolari. Inoltre, le infiltrazioni da solfati nelle cellule stromali può provocare variazioni necrotizzanti aspecifiche ¹¹⁰⁷. Un altro Autore ha utilizzato una serie di

iniezioni intralesionali di corticosteroidi per il trattamento del granuloma piogenico in particolare, per l'alta frequenza di recidive di questa lesione ¹⁰⁶¹.

Considerazioni terapeutiche durante la gravidanza sono estremamente importanti. In questa fase sono fondamentali un'attenta igiene orale, un'accurata rimozione della placca dentale e l'utilizzo di spazzolini a setole morbide per prevenire qualunque lesione gravidica. Se si verificano episodi di sanguinamento incontrollato la gestione dovrebbe basarsi sulle condizioni individuali e dovrebbe variare dalla terapia di supporto come la dissecazione degli emofilici; alla compressione locale, all'igiene orale fino alla trasfusione ematica, così come l'utilizzo di farmaci per accelerare la maturità polmonare fetale o l'interruzione delle gravidanza per salvare la vita della paziente, per esempio con il trattamento dell'eclampsia incontrollabile. Alcuni Autori ritengono che il mantenimento dell'igiene orale e la monitoraggio continua debba essere fondamentale in gravidanza ^{1108, 1109}. Tutti i trattamenti chirurgici parodontali, dovrebbero essere completati, quando possibile, durante il secondo trimestre, continuando ad osservare il paziente anche durante le manovre di igiene personale dopo il parto ¹⁰⁶². Al contrario altri ritengono che nel paziente in gravidanza le recidive siano frequenti ed il trattamento per essere efficace dovrebbero essere effettuato dopo il parto. Nelle donne in gravidanza la riduzione delle lesioni dopo la nascita del bambino può rendere inutile la chirurgia ¹⁰⁷⁰.

Dopo l'escissione, le recidive si verificano in oltre il 16% dei casi, rendendo necessario un nuovo intervento ^{1061,1068,1070}. Si ritiene che le recidive derivino da un'escissione incompleta, dalla mancata rimozione dei fattori eziologici o da un nuovo traumatismo dell'area ¹⁰⁶⁸. Alcune recidive si manifestano come noduli satelliti multipli e profondi che circondano il sito della lesione originale e ciò accade per i pazienti affetti dalla sindrome di Warner-Wilson ¹¹¹⁰. È importante sottolineare che le recidive gengivali sono più frequenti rispetto a quelle in altri siti della mucosa orale ¹⁰⁶³.

17. PEMFIGOIDE DELLE MEMBRANE MUCOSE

Fino a poco tempo fa tutte le malattie vescicolo-bollose erano diagnosticate quasi sempre come pemfigo o dermatite erpetiforme. Solamente dopo aver scoperto delle malattie autoimmuni con depositi di IgG e C3 al di sotto dell'epitelio orale ed in particolare a livello della membrana basale, è stato introdotto il concetto di pemfigoide, che certamente rappresenta una lesione con prognosi migliore rispetto al pemfigo ¹¹¹¹.

In ogni caso il pemfigoide presenta caratteristiche cliniche ed istologiche tipiche delle malattie croniche ad eziologia immunitaria, spesso con presenza di lesioni vescicolo-bollose. A tal proposito è stata introdotta anche una nuova sotto-classificazione, definita a tal proposito come gruppo di malattie vescicolo-bollose sottoepiteliali ad eziologia immunitaria ¹¹¹¹. Queste sono il pemfigoide bolloso, quello gestazionale e quello cicatriziale, oltre che la malattia da depositi lineari di IgA e la dermatite erpetiforme ¹¹¹².

Nel pemfigoide in particolare sono stati individuati autoanticorpi anti-IgG, diretti contro vari antigeni cellulari presenti a livello della membrana basale e se osservati a basso ingrandimento è quindi possibili osservare depositi situati alla base del campione bioptico epiteliale ¹¹¹³.

Attualmente con il termine pemfigoide si intende una famiglia di lesioni vescicolo-bollose comprendenti diverse varianti cliniche e

microscopiche come il pemfigoide delle membrane mucose, il bolloso, il gestazionale, il lichenoidale, il paraneoplastico oltre che i più recentemente descritti pemfigoide anti-p105, anti-p200, anti-p450, la dermatite erpetiforme, il lupus eritematoso sistemico bolloso, l'epidermiolisi bollosa acquisita e la malattia da depositi lineari di IgA

1111 .

17.1 CARATTERISTICHE CLINICHE

Da un punto di vista clinico il pemfigoide bolloso è caratterizzato da vescicole, bolle ed erosioni che colpiscono prevalentemente le mucose del cavo orale ¹¹¹⁵. La prevalenza è maggiore nelle donne a partire dalla quinta decade fino all'inizio della sesta mentre da un punto di vista molecolare invece numerosi studi hanno evidenziato che il pemfigoide non è una lesione istologicamente semplice ^{1111,1115-1127}. A livello antigenico sono stati individuati numerosi siti sulla membrana basale dove possono legarsi autoanticorpi ¹¹²⁶. Solitamente nel pemfigoide vengono prodotti autoanticorpi contro la laminina 5, BPAg1, BPAg2, BP180, integrina $\alpha 6\beta 4$ e addirittura contro il collagene di tipo VII ^{1121,1127-1136}.

Tutte queste varianti molecolari complicano notevolmente il quadro clinico delle possibili forme di pemfigoide, rendendo necessario per ogni singolo paziente un'attenta analisi su base antigenica, che può influenzare anche radicalmente la terapia ^{1111,1117-1119,1123,1146-1148}.

L'antigene bersaglio del pemfigoide orale non è ancora stato individuato con certezza, anche se probabilmente questo è una proteina della mucosa insieme ad una mutazione a livello dell'integrina $\alpha 6$ ^{1129,1130,1137-1139}. Questa malattia è comunque di difficile inquadramento basandosi esclusivamente sull'immunofluorescenza indiretta o sulla reattività sierologica ai diversi possibili antigeni ¹¹¹¹.

Nella maggior parte dei casi il pemfigoide è associato a reazioni anticorpali autoimmuni a diversi antigeni presenti all'altezza della

membrana basale ¹¹⁴⁰. Una reazione antiepilegrina di tipo pemfigoide non è clinicamente diversa dalla forma cicatriziale e coinvolge il cavo orale, la cute e la congiuntiva, con presenza di autoanticorpi di tipo IgG anti-laminina 5 osservabili mediante l'immunofluorescenza ¹¹⁴¹. A livello prettamente clinico è opportuno ricordare che il pemfigoide delle membrane mucose non è una patologia omogenea, ma può coinvolgere esclusivamente le mucose orali, così come la cute e le altre mucose, con possibili complicanze sistemiche ^{1134,1151-1153}. Il coinvolgimento oculare può spesso condurre alla cecità a causa degli esiti cicatriziali ¹¹⁵⁴⁻¹¹⁵⁶.

17.2 LESIONI ORALI

Le lesioni orali sono spesso prodromiche della patologia ed i pazienti riferiscono quindi dolore, disfagia ed abrasioni mucose ^{1111,1157}. Possono anche essere osservate vescicole o bolle, con positività al segno di Nikolsky come per il pemfigo ¹¹⁵⁷. La rottura delle vescicole residua in erosioni crostose irregolari circondate da un alone infiammatorio che talvolta può anche guarire con cicatrice.

I pazienti con pemfigoide delle membrane mucose spesso presentano lesioni gengivali che possono essere considerate gengiviti desquamative e che sono la caratteristica principale della malattia, oltre che il punto di partenza ^{1114,1146-1150}. La desquamazione può essere lieve con piccole placche o anche gravemente eritematosa, di aspetto opaco con perdita della normale morfologia fino alla mucosa alveolare e caratterizzata da dolore cronico durante la nutrizione. I pazienti presentano una predisposizione alla malattia infiammatoria parodontale, con alti valori di indice di placca, presenza di numerose formazioni esposte e recessioni gengivali ¹¹⁶⁴.

17.3 LESIONI MUCOSE EXTRAORALI

Le lesioni possono colpire tutti gli epiteli squamosi come quello oculare, laringeo, glottico, esofageo, vaginale, anale, penile e nasale che possono causare cicatrici ed altre grave complicanze ^{1144,1153-1158}.

Circa il 40% dei pazienti con pemfigo ide delle membrane mucose orali, può sviluppare talvolta anche lesioni oculari, con un'incidenza annuale di 0.03% a 5 anni ¹¹⁷⁸. Il coinvolgimento oculare solitamente iniziali come congiuntivite cronica e con sintomi come bruciore, irritazione, fotofobia, i per lacrimazione ^{1117,1177,1179}. I sintomi solitamente colpiscono all'inizio solo un occhio ma possono investire anche l'altro se la malattia non viene trattata entro 2 anni. La cicatrizzazione può portare alla fusione della sclera e della congiuntiva palpebrale (symblepharon) o all'unione tra la palpebra superiore e quella inferiore (ankyoblefaron). Le congiuntive possono anche contrarsi e arrivare ad invertire i margini palpebrali (entochion), portando all'inversione delle ciglia sulla superficie corneale con conseguente irritazione (trichiasi) che conduce a cecità.

Le lesioni cutanee non sono comunque frequenti e coinvolgono circa un quarto dei pazienti. Esse solitamente si estendono al volto, al collo, al cranio, al tronco, all'ascella e agli altri ^{1116,1117}.

Il pemfigo ide talvolta può essere associato ad altre malattia autoimmuni come il pemfigo ^{1111,1174-1175}. Inoltre il pemfigo ide cicatriziale può essere correlato a malattie linfoproliferative delle cellule B ¹¹⁷⁶. I pazienti con pemfigoide cicatriziale antiepilegrina

presenta una maggiore predisposizione all'evoluzione maligna rispetto alle mucose normotrofiche.

17.4 EZIOPATOGENESI

Il fattore autoimmune scatenante del pemfigoide delle membrane mucose non è ancora stato definito con certezza, anche se si ritiene che il furosemide possa svolgere un ruolo chiave ^{1135,1136}. Fondamentale è anche la predisposizione genetica, in quanto tale lesione si presenta nei soggetti con antigeni di istocompatibilità di tipo DQB1*0301, che comportano una risposta dei linfociti T agli antigeni presenti sulla membrana basale ¹¹³⁷⁻¹¹⁴⁰.

Gli autoanticorpi presenti nel pemfigoide sono diretti contro questi antigeni, presenti sia sugli emodesmosomi che sulla membrana basale. Anche per questa patologia sono presenti depositi anticorpali presenti a livello della membrana basale e sono nella maggior parte dei casi IgG e C3, anche se possono essere osservati IgM e IgA ¹¹⁴⁰⁻¹¹⁴⁴.

La patogenesi del pemfigoide parte dall'attivazione dei neutrofili da parte di autoanticorpi e fattori del complemento, con conseguente produzione di citochine che a loro volta attaccano la membrana basale causando il distacco di questa dallo strato basale dell'epitelio, provocando talvolta anche la lisi cellulare ^{1144,1145}.

17.5 DIAGNOSI

Le vescicole possono rompersi lasciando erosioni irregolari, e le lesioni possono essere positive al segno di Nicolsky ma questi aspetti non sono diagnostici di malattie vescicolo-bollose ad eziologia immunitaria. Se si considerassero diagnostici tali segni, sarebbero compresi nella diagnosi oltre a tutti i tipi di pemfigoide anche il lichen planus il lupus eritematoso sistemico, l'eritema multiforme ed il pemfigo ¹¹⁷⁷. La diagnosi quindi deve essere effettuata solo dopo un attento esame bioptico con tecniche di immunofluorescenza diretta ^{1119,1177,1180}. La biopsia deve includere interamente una vescicola o una porzione di tessuto perilesionale, mentre un'erosione è insufficiente in quanto si è persa una parte significativa di epitelio. Alcuni autori ritengono che una vescicola dovrebbe formarsi a seguito di strofinamento della mucosa e solo dopo essere prelevata ¹¹⁸¹. È opportuno evitare prelievi bioptici a livello gengivale in quanto si provocherebbero danni parodontali e gengiviti croniche che complicherebbero ulteriormente il quadro clinico e istologico ¹¹⁸².

Nei pazienti con lesioni ad una sola area mucosa è importante effettuare la biopsia anche dei tessuti vicini all'infiammazione, mentre se le aree coinvolte sono numerose, è opportuno prelevare tessuto possibilmente lontano dagli occhi. Pazienti che presentano lesioni cutanee e mucose dovrebbero ricevere il prelievo a livello cutaneo, prestando attenzione a livello oculare o in modo da evitare una degenerazione cicatriziale. I campioni bioptici vanno consegnati la

laboratorio di anatomia patologica a fresco o in azoto liquido per una rapida processazione.

Istologicamente il pemfigoide delle membrane mucose presenta una separazione netta a livello della membrana basale contenente un infiltrato infiammatorio cronico ricco di neutrofili, linfociti ed eosinofili. Grazie all'immunofluorescenza diretta è possibile osservare numerosi depositi lineari a livello della membrana basale contenuti soprattutto IgG e C3. Se presenti, questi aspetti, è possibile formulare diagnosi di malattia mucosa autoimmune ed è anche possibile differenziare le patologie con alte percentuali di IgG come il pemfigoide delle membrane mucose stesso, il pemfigoide bolloso, il pemfigoide gestazionale e l'epidermolisi bollosa acquisita rispetto alle malattie con alti livelli di IgA come la malattia da depositi lineari di IgA e la dermatite erpetiforme ¹¹⁸².

L'immunofluorescenza indiretta e i test di immunoblotting, servono a ricercare autoanticorpi circolanti. In particolare l'immunofluorescenza indiretta sulle mucose mostra nel dettaglio autoanticorpi anti-membrana basale, distinguendo tra gli antigeni sulla lato epiteliale come l'integrina $\beta 4$ e BPAg2 e quelli sulla lamina propria come la laminina 5 ¹¹⁸³⁻¹¹⁸⁵. L'immunoblotting invece è ancora più specifico rispetto all'immunofluorescenza indiretta.

17.6 TERAPIA

Tutti i pazienti affetti da pemfigoide dovrebbero evitare cibi troppi solide e mantenere un'ottima igiene orale ¹¹¹⁷⁻¹¹¹⁹. In letteratura purtroppo esistono pochi studi sulle modalità terapeutiche del pemfigoide e quei pochi presentano spesso una casistica ancora limitata ^{1124,1186}. La terapia d'elezione comunque si basa sulla somministrazione di antiinfiammatori, immunosoppressori o entrambi i tipi di farmaci.

I pazienti che presentano solo lesioni orali da pemfigoide delle membrane mucose hanno una prognosi migliore rispetto a coloro che sono affetti da altri tipi di pemfigoide orale, con una migliore risposta alle terapie farmacologiche topiche.

I corticosteroidi sono il farmaco d'elezione e possono essere somministrati tramite iniezioni intralesionali oppure per via sistemica ^{1116-1119,1186-1189}. Gli steroidi più efficaci sono il fluocinoina 0,05% o il clobetasolo prurionato 0,05% 2 volte al giorno per 20 giorni tramite cerotto ¹¹⁸⁶⁻¹¹⁸⁹. Un altro mezzo può essere un micro contenitore a vuoto o dei gel per le lesioni gengivali ^{1178,1186,1190-1192}. Non è invece efficace il triamcinolone acetone 0,5% in collutorio, sebbene una diluizione di 7 mg / ml può essere utile per trattare erosioni isolate ^{1117,1190,1193}. La candidosi può complicare la terapia steroidea, anche se può essere prevenuta aggiungendo a questa farmaci antimicotici come il miconazolo in gel o sciacqui con clorexidina o entrambi ¹¹⁸⁶.

Applicazioni topiche di ciclosporina possono essere utili per le lesioni orali anche il tacronimo può essere usato topicamente ma può causare effetti cancerogeni ¹¹⁹⁴⁻¹¹⁹⁹.

I pazienti che presentano lesioni ampie o multiple con coinvolgimento ampio delle membrane mucose soprattutto dell'occhio o che manifestano resistenza alla terapia, necessitano di un trattamento sistemico più aggressivo ^{1117,1119,1200,1201}.

Inizialmente è efficace il dapstone, ma in caso di inefficacia è necessario somministrare corticosteroidi sistemici o immunosoppressori o ancora alte dosi di corticosteroidi in combinazione con ciclofosfamide ^{1117,1119,1202}.

Il dapstone è un sulfone sintetico con proprietà antinfiammatorie in quanto inibisce il legame dei neutrofili oltre che la sintesi della prostaglandina E2 ^{1194,1203}. Molti Autori utilizzano il dapstone con o senza corticosteroidi topici anche se i risultati non sono ancora confortanti ^{1123,1202-1206}. Il dapstone presenta comunque razioni avverse come emicranie, metaemoglobinemia, anemia emolitica, epatossicità e distruzione del midollo osseo, soprattutto nei pazienti mediterranei, asiatici ed africani in quanto possono presentare carenza di glucosio-6-fosfato deidrogenasi ^{1202,1205,1206}.

Per minimizzare questi effetti collaterali è opportuno somministrare il dapstone in 25 mg ogni giorno per 3 giorni, poi 50 mg ogni giorno per 3 giorni, 75 mg ogni giorno per 3 giorni, 100 mg ogni giorno per 3 giorni fino ad arrivare a 150 mg dopo 17 giorni ¹²⁰⁶. Anche con questa

formulazione comunque possono verificarsi intolleranze sebbene l'aggiunta di cimetidina possa ridurre notevolmente la gravità¹²⁰⁵.

Il trattamento con corticosteroidi sistemici a breve emivita plasmatica come il prednisone può essere efficace sebbene siano necessari alti dosaggi per brevi periodi^{1116,1117,1205,1207,1208}. Un approccio alternativo è l'utilizzo di un dosaggio più basso di prednisone o prednisolone sistemico e precisamente 40 mg al giorno per 5 giorni seguito da 10-20 mg al giorno per 2 settimane¹²⁰⁷. Gli steroidi sistemici possono essere combinati con farmaci topici come il clobetazolo per il controllo delle lesioni orali o con altri immunosoppressori come il dapsonsone^{1177,1186,1206,1209}. In ogni caso gli immunosoppressori necessitano di oltre 6 settimane di somministrazione per essere efficaci¹²⁰².

L'azatioprina 2 mg / Kg al giorno o la ciclofosfamide 2 mg / Kg al giorno possono essere utilizzate sebbene insufficienti da sole, nonostante tra gli effetti collaterali si possa verificare distruzione del midollo^{1117,1202-1213}. L'azatioprina può indurre colestasi mentre la ciclofosfamide genera alopecia e cistite emorragica oltre che possibili teratomi e neoplasie¹²¹²⁻¹²¹⁴.

Altri agenti sistemici per il trattamento del pemfigoide sono il metotrexato, il talidomide, il mofetil micofenolato, il leflunomide, la sulfasalazina, la sulfapiridina da sola o in combinazione con il dapsonsone, la sulfametossipiridazina e le tetracicline^{1213,1215,1216}.

Alcuni studi hanno riportato risultati incoraggianti della doxiaciclina in 100 mg al giorno per 8 settimane per la gengivite desquamativa¹²¹⁷.

La minociclina somministrata in 100 mg al giorno per 30 giorni è efficace per le lesioni gengivali ^{1218,1219}. Alcuni studi preliminari hanno evidenziato che l'utilizzo di tetracicline e nicotinammide sembra essere efficace nei casi isolati, se somministrate in 2g ogni giorno ¹²²⁰⁻¹²²³. Nei pazienti che non rispondono alla terapia tradizionale con alte dosi di corticosteroidi sistemici, con immunosoppressori o entrambi, può essere utilizzata una terapia alternativa basata sulle immunoglobuline in endovena ^{1200,1202,1223-1227}. Anche la plasmferesi ha dato risultati incoraggianti ^{1227,1228}.

Per il mantenimento della salute parodontale per pazienti con pemfigoide delle mucose orali è opportuno verificare le condizioni di igiene orale e somministrare corticosteroidi topici, insieme a sedute professionali di scaling e root planing ¹²²⁹. Talvolta sono necessari interventi chirurgici per eliminare le cicatrici o per prevenire situazioni gravi come cecità, stenosi delle vie aeree superiori o ostruzioni esofagee ^{1209,1230}. Le lesioni oculari possono essere corrette con innesti di mucosa orale o attraverso trapianti di colture cellulari di epitelio orale ^{1230,1231}. È opportuno dunque ricordare che tali interventi chirurgici possono aggravare la malattia, per cui è importante eseguirli con la massima attenzione, anche per la chirurgia nel cavo orale ^{1117,1171,1202,1232}.

18. PEMFIGO

Il pemfigo volgare è una lesione caratterizzata dalla formazione di vescicole epiteliali derivanti dalla perdita di adesione cellulare tra le cellule epiteliali ¹²³³. L'eziologia della malattia è autoimmune, infatti sono stati scoperti già da molti anni degli autoanticorpi contro la superficie dei cheratinociti. Questi autoanticorpi sono circolanti, e nello stesso tempo derivano da particolari predisposizioni genetiche. In questa patologia vi sono autoanticorpi di tipo IgG che si legano alle proteine di membrana dei cheratinociti ¹²³⁵. I bersagli in particolare sono sia i desmosomi che le aree delle membrane cellulari dove non sono presenti strutture di adesione ^{1233,1236}. Il pemfigo resta comunque una patologia rara, con un'incidenza di un caso ogni duecentomila soggetti ogni anno in tutto il mondo. La fascia d'età nella quale il pemfigo è predominante è quella adulta, in particolare tra i 50 e i 60 anni, specialmente nelle donne ¹²³³. Esistono comunque casi di pemfigo giovanile anche se ancora più raro, nella maggior parte dei pazienti vengono osservate erosioni a livello delle membrane mucose, che possono essere dolorose. Le erosioni sono patognomoniche del pemfigo e possono rimanere l'unico segno della malattia anche per diversi mesi prima di estendersi anche a livello cutaneo ¹²³³.

Le lesioni del pemfigo volgare si presentano inizialmente come piccole vescicole asintomatiche, estremamente fragili con la possibilità di provocare dolore ed emorragie nel momento in cui si rompono. La mucosa orale è il primo distretto che viene coinvolto

dalla malattia ed in particolare sono interessate le aree soggette a trauma frizionale come la mucosa geniena, il palato, il labbro inferiore e la lingua (figura 23).



Figura 23. Pemigo volgare a livello del palato duro.

Non rare sono le ulcere a livello di altre mucose, come la congiuntiva, il faringe, la laringe, l'esofago e i distretti nasali e genitali, oltre che la cute dove le vescicole possono mantenersi intatte nel tempo ¹²³⁷. La diagnosi si basa generalmente proprio sulle manifestazioni orali, anche se è l'esame biptico quello definitivo. A livello istologico si osserva nei campioni prelevati la presenza di bolle intraepiteliali, cellule di Tzanck ed acantolisi ¹²³⁸. L'immunofluorescenza diretta mostra la presenza di IgG, IgM e fattori del complemento depositati negli spazi intercellulari ¹²³⁸.

È importante effettuare una diagnosi differenziale con altre patologie vescicolo-bollose ad eziologia immunitaria come il pemfigoide, il lichen planus erosivo, l'eritema multiforme, la stomatite aftosa e la candidosi. Una patologia che può essere confusa facilmente con il pemfigo volgare è la dermatite erpetiforme che presenta lesioni di aspetto clinico simile, anche se queste non sono particolarmente prominenti, raggiungono i 3 cm di diametro e sono accompagnate da un'area eritematosa che infiltra le mucose buccali e palatine. Anche la stomatite aftosa può essere simile, sebbene le lesioni orali si verificano solo tardivamente, dopo mesi o addirittura anni rispetto a quelle cutanee ^{1233,1234}.

Il pemfigoide invece, rispetto al pemfigo volgare può essere una potenziale condizione pre-neoplastica rispetto al pemfigo, le lesioni orali non precedono quelle cutanee e le bolle mucose sono più piccole, di durata minore e la loro guarigione avviene senza cicatrici ¹²³³.

La terapia per il pemfigo volgare si basa sull'assunzione di corticosteroidi, anche a scopo preventivo ^{1238,1239}. È importante controllare i dosaggi di farmaco somministrato per evitare ogni eventuale reazione avversa ¹²³⁸. Le forme lievi di pemfigo localizzate nel cavo orale, in particolare nei pazienti con basse quantità di aut anticorpi circolanti, possono essere controllate almeno temporalmente con gel o collutori a base di corticosteroidi, come il clobetazolo propionato per le lesioni locali resistenti a questa terapia è necessario somministrare triamcinolone topico ^{1238,1239}. Altri farmaci possono essere il prednisolone 100 mg e l'azatioprina 150 mg per 2 settimane,

diminuendo gradualmente i dosaggi nella terza settimana e verificando contemporaneamente la regressione delle lesioni.

La morbilità e la mortalità sono correlate alla severità della patologia, considerando il fatto che la terapia immunosoppressiva può facilitare l'insorgenza di altre complicanze. In ogni caso la prognosi è peggiore nei soggetti con lesioni estese e i coloro che hanno un'età avanzata.

19. CONCLUSIONI

In questa trattazione sono state esposte le principali patologie che coinvolgono i tessuti molli del cavo orale, sia quelli appartenenti alle strutture parodontali che quelli a livello della mucosa geniena, della lingua, dei fornici, del labbro e delle entità anatomiche in contiguità con il cavo orale.

Dal punto di vista parodontale sono state evidenziate le caratteristiche cliniche e microbiologiche delle malattie parodontali, sia superficiali che profonde, mentre per quanto riguarda le patologie dei tessuti molli non parodontali, grande importanza è stata data all'eziologia e agli aspetti terapeutici.

Le malattie cosiddette di confine confermano la necessità di integrare sempre di più in futuro i diversi ambiti disciplinari della Parodontologia e della Medicina Orale, perché queste scienze diventino tra loro complementari ed in grado di porre al centro del proprio studio prima di tutto il benessere del paziente nella sua totalità e evitando di concentrarsi esclusivamente sulle proprie specifiche tradizionali competenze.

Questa alleanza deve essere anche il punto di partenza per creare ulteriori collaborazioni anche tra le altre discipline medico-odontoiatriche, in modo da poter delineare protocolli diagnostici e terapeutici sempre più completi ed aggiornati, che considerino sicuramente il paziente nella propria totale complessità, ma partendo da punti di vista differenti. Sarà quindi possibile creare un punto di

vista sempre più ampio e completo, che sarà alla base della concezione delle scienze odontostomatologiche, pur senza perdere le caratteristiche peculiarità di ogni singola disciplina e specializzazione. È proprio questo l'approccio disciplinare che sarà necessario per sviluppare ed approfondire lo studio delle malattie del cavo orale, evitando che ogni specializzazione o addirittura iper-specializzazione si evolva indipendentemente l'una dall'altra.

20. BIBLIOGRAFIA

1. Löe H, Ånerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri-Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* 1986;13:431–445.
2. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian Dental Journal* 2009; 54: (1 Suppl).
3. Lindhe J, Karring T, Lang N, eds. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 4th edn. Munksgaard: Blackwell, 2003:3–48.
4. Brill N, Krasse B. The passage of tissue fluid into the clinically healthy gingival pocket. *Acta Odont Scand* 1958;16:233–245.
5. Weinberger BW. *An introduction to the history of dentistry*. Volume I. St Louis: Mosby, 1948:203–208.
6. Fauchard P. *Le chirurgien dentiste, au traité des dens*. Paris: Pierre-Jean Marquette, 1728. Reprinted in facsimile, Paris: Prélat, 1961. English translation by Lillian Lindsay, London: Butterworth, 1946.
7. Hunter J. *The natural history of the human teeth*. 3rd edn. London: Johnson, 1803.
8. Weinberger BW. Dental literature, its origins and development. *J Dent Res* 1926;6:309–313.
9. Dobell C. Anthony von Leeuwenhoek and his “little animals”. *New York: Russell*, 1958:19–35, 237–255.
10. Gold SI. Periodontics. The past Part III. Microbiology. *J Clin Periodontol* 1985;12:79–269.

11. Witzel A. The treatment of of pyorrhoea alveolaris or infectious alveolitis. *Br J Dent Sci* 1882;153:209–263.
12. Miller WD. The micro-organisms of the human mouth. Philadelphia: The S. S. White Dental Mfg. Co., 1890:321–336.
13. Riggs JW. Suppurative inflammation of the gums and absorption of the gums and alveolar process. *Pa J Dent Sci* 1876;3:99–104. Reprinted in *Arch Clin Oral Pathol* 1938;2:423.
14. Armitage G. Classifying periodontal diseases—a long standing dilemma. *Periodontol* 2000 2002;30:9–23.
15. Gottlieb B, Orban B. Biology and pathology of the tooth and its supporting mechanism. New York: Macmillan, 1938:1–3.
16. Fish EW. Parodontal Disease. 2nd edn. London: Eyre & Spottiswoode, 1952:55.
17. Stillman PR, McCall. A textbook of clinical periodontia. New York: Macmillan, 1922:151–153.
18. Box HK. Treatment of the periodontal pocket. Toronto: University of Toronto Press, 1928:11–28.
19. Orban B. Classification and nomenclature of periodontal diseases. *J Periodontol* 1942;13:88–91.
20. Macphee T, Cowley G. Essentials of periodontology and periodontics. 3rd edn. Oxford: Blackwell, 1981:132–133.
21. Pritchard JF. Advanced periodontal disease: surgical and prosthetic management. Philadelphia: Saunders, 1965:79–81.

22. The American Academy of Periodontology. Proceedings of the World Workshop in Periodontics. Ann Arbor, MI: University of Michigan, 1966:69–126.
23. Page RC, Schroeder HE. Periodontitis in man and other animals. A comparative review. *Karger*, 1982:222–239.
24. American Academy of Periodontology. Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics. Chicago: American Academy of Periodontology, 1989:1/23–1/24.
25. Attstrom R, van der Velden U. Consensus report (epidemiology). In: Lang NP, Karring T, eds. Proceedings of the First European Workshop on Periodontics, 1993. London: Quintessence, 1994:120–126.
26. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1–6.
27. International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, 30 October– 2 November 1999. *Ann Periodontol* 1999;4:1–112.
28. Lindhe J, Ranney R, Lamster I, et al. Consensus report: Chronic periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4:38.
29. Baer PN, Benjamin S. Resorptive lesions of the alveolar bone. Periodontal diseases in children and adolescents. Philadelphia, PA: Lippincourt, 1974:139–181.
30. Suzuki JB. Diagnosis and classification of the periodontal diseases. *Dent Clin North Am* 1988;32:195.

31. Lang N, Bartold PM, Cullinan M, et al. Consensus report: aggressive periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4:53.
32. Lindhe J, Ranney R, Lamster I, et al. Consensus report: periodontitis as a manifestation of systemic diseases. *Ann Periodontol* 1999;4:64.
33. Lang N, Soskolne WA, Greenstein G, et al. Consensus report: necrotizing periodontal diseases. *Ann Periodontol* 1999;4:78.
34. Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol* 1986;13:418–430.
35. Fowler C, Garrett S, Crigger M, Egelberg J. Histologic probe position in treated and untreated human periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 1982;9:373–385.
36. Preshaw PM. Definitions of periodontal disease in research. *J Clin Periodontol* 2009;36:1–2.
37. Caton J. Periodontal diagnosis and diagnostic aids. American Academy of Periodontology. Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics. Chicago: American Academy of Periodontology, 1989:1/5–1/22.
38. Manau C, Echeverria A, Agueda A, Guerrero A, Echeverria JJ. Periodontal disease definition may determine the association between periodontitis and pregnancy outcomes. *J Clin Periodontol* 2008;35:385–397.
39. Loesche WJ, Bretz WA, Lopain D, et al. Multi-center clinical evaluation of a chairside method for detecting certain

- periodontopathic bacteria in periodontal disease. *J Periodontol* 1990;61: 189–196.
40. Chambers DA, Crawford JM, Mukerjee S, Cohen RL. Aspartate aminotransferase in crevicular fluid during experimental gingivitis in beagle dogs. *J Periodontol* 1984;55:525–530.
41. Persson GR, DeRouen TA, Page RC. Relationship between gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and active tissue destruction in treated chronic periodontitis patients. *J Periodont Res* 1990;25:81–87.
42. Africa CW, Parker JR, Reddy J. Bacteriological studies of subgingival plaque in a periodontitis-resistant population. I. Darkfield microscopic studies. *J Perio Res* 1985;20:1–7.
43. Chambers DA, Imrey PB, Cohen RL, Crawford JM, Alves MEAF, McSwiggin TA. A longitudinal study of aspartate aminotransferase in human gingival crevicular fluid. *J Periodont Res* 1991;26:65–74.
44. Greenstein G. The role of bleeding upon probing in the diagnosis of periodontal disease. A literature review. *J Periodontol* 1984;55:684–688.
45. Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol* 1990;17:714–721.
46. Magnusson I, Marks RG, Clark WB, Walker CB, Low SB, McArthur WP. Clinical, microbiological and immunological characteristics of subjects with ‘refractory’ periodontal disease.

- J Clin Periodontol 1991;18:291–299.
47. Goodson JM. Clinical measurement of periodontitis. J Clin Periodontol 1986;13:446–455.
48. Okamoto H, Yoneyama T, Lindhe J, Haffajee A, Socransky S. Methods of evaluating periodontal disease data in epidemiologic research. J Clin Periodontol 1988;15:430–439.
49. Van der Velden U. Diagnosis of periodontitis. J Clin Periodontol 2000;27:960–961.
50. Corbet EF. Radiographs in periodontal disease diagnosis and management. Aust Dent J 2009;54(1 Suppl):S27–S43.
51. Milward MR, Chapple ILC. Classification of periodontal diseases: Where were we? Where are we? Where are we going? Dental Update 2003;30:37–44.
52. Lopez R, Baelum V. Classifying periodontitis among adolescents: implications for epidemiological research. Community Dent Oral Epidemiol 2003;3:136–143.
53. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol 2005; 43: 5721–5732.
54. Akhoni H, Rahimi AR. Haemophilus aphrophilus endocarditis after tongue piercing. Emerg Infect Dis 2002; 8: 850–851.
55. Dahlén G. Bacterial infections of the oral mucosa. Periodontology 2000, Vol. 49, 2009, 13–38.

56. Almståhl A, Wikström M, Fagerberg-Mohlin B. Microflora in oral ecosystems in subjects with radiation-induced hyposalivation. *Oral Dis* 2008; 14: 541–549.
57. Almståhl A, Wikström M. Microflora in oral ecosystems in subjects with hyposalivation due to medicines or of unknownv origin. *Oral Health Prev Dent* 2005; 3: 67–76.
58. Almståhl A, Wikström M, Kroneld U. Microflora in oral ecosystems in primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol* 2001; 28: 1007–1013.
59. Amir J, Yaqupsky P. Invasive *Kingella kingae* infection associated with stomatitis in children. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7: 757–758.
60. Anil S, Ellepola AN, Samaranayake LP, Beena VT. Tuberculous ulcer of the tongue as presenting feature of pulmonary tuberculosis and HIV infection. *Gen Dent* 2000; 48: 458–461.
61. Ayars GH, Altman LC, Fretwell MD. Effect of decreased salivation and pH on the adherence of *Klebsiella* species to human buccal epithelial cells. *Infect Immun* 1982; 38: 179– 182.
62. Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martinez F, Aldape-Barrios B, Quindo's G, Sanchez-Vargas LO. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005; 10 (Suppl 1): E27–E29.
63. Bahrani-Mougeot FK, Paster BJ, Coleman S, Barbuto S, Brennan MT, Noll J, Kennedy T, Fox PC, Lockhart PB. Molecular analysis of

- oral and respiratory bacterial species associated with ventilator-associated pneumonia. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1588–1593.
64. Balmelli C, Günthard HF. Gonococcal tonsillar infection – a case report and literature review. *Infection* 2003; 31: 362– 365.
65. Bassetti S, Wasmer S, Hasler P, Vogt T, Nogarth D, Frel R, Widmer AF. *Staphylococcus aureus* in patients with rheumatoid arthritis under conventional and anti-tumor necrosis factor alfa treatment. *J Rheumatol* 2005; 32: 2125– 2129.
66. Bauman U, Fischer JJ, Gudowius P, Lingner M, Herrmann S, Tümmler B, von der Hardt H. Buccal adherence of *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis under long-term therapy with azithromycin. *Infect* 2001; 29: 7–11.
67. Baydas B, Uslu H, Yavuz I, Ceylan I, Dagsuyu IM. Effect of chronic nail-biting habit on the oral carriage of Enterobacteriaceae. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 1–4.
68. Berdal JE, Bjørnholt J, Blomfeldt A, Smith-Erichsen N, Bukholm G. Pattern and dynamics of airway colonisation in mechanically-ventilated patients. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 476–480.
69. Bergman OJ. Alterations in oral microflora and pathogenesis of acute oral infections during remission-induction therapy in patients with acute myeloid leukaemia. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 355–366.
70. Bergman OJ. Oral infections and fever in immunocompromised patients with hematologic malignancies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8: 207–213.

71. Bergman OJ. Oral infections and fever in immunocompromised patients with hematologic malignancies. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 2105–2109.
72. Cakan A, Mutlu Z, Ozsöz A, Erbaycu AE, Unal T, Koyuncu BO. Tuberculosis of oral mucosa. *Monaldi Arch Chest Dis* 2001; 56: 315–317.
73. Campbell J, McGowan DA, MacFarlane TW. The prevalence of enterococci in the dental plaque of chronic hospital patients. *Br J Oral Surg* 1983; 21: 171–174.
74. Chavez de Paz LE, Dahle'n G, Molander A, Möller Á, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J* 2003; 36: 500–506.
75. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, Souto R, Rosalém WJ, Mendes MC, Uzeda M. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol* 2002; 73: 360–369.
76. Dahlén G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15: 309–312.
77. Dahlén G, Wikström M. Occurrence of enterics, *Staphylococcus aureus* and *Candida* in periodontitis among Swedish adults. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10: 42–46.
78. Dahlén G, Manji F, Baelum V, Fejerskov O. Black-pigmented *Bacteroides* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in

- subgingival plaque of adult Kenyans. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 305–310.
79. Dahlén G, Linde A, Möller Å JR, Öhman A. A retrospective study of microbiological samples from oral mucosal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 53: 250–255.
80. Donaldson A, McKenzie D, Riggio M, Hodge P, Rolph H, Flanagan A, Bagg J. Microbiological culture analysis of the tongue anaerobic microflora in subjects with and without halitosis. *Oral Dis* 2005; 11(Suppl. 1): 61–63.
81. Dorland's Illustrated Medical Dictionary, 24th edn. Philadelphia: Saunders, 1965.
82. Dreizen S, McCredie KB, Bodey GP, Keating MJ. Quantitative analysis of the oral complications of antileukemia chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986; 62: 650–653.
83. Dreizen S, Bodey GP, Valdivieso M. Chemotherapy-associated oral infections in adults with solid tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55: 113–120.
84. Duarte EC, da Silva LM, Naves MD, do Carmo MA, de Aguiar MC. Primary syphilis of oral mucosa: case report of an unusual manifestation. *Quintessence Int* 2004; 35: 728–730.
85. Eliasson L, Dahlén G, Heyden G, Möller Å. The predominant microflora of the palatal mucosa in an elderly island population. *Acta Odontol Scand* 1992; 50: 163–169.

86. Engström B. The significance of enterococci in root canal treatment. *Odontol Revy* 1964; 15: 87–106.
87. Epstein JB. Mucositis in cancer patients and immunosuppressed host. *Infect Dis Clin North Am* 2007; 21: 503– 522.
88. Faergemann J, Dahlén G. Facial skin infections. *Periodontol* 2000 2009; 49: 194–209.
89. Fernandes-Naglik L, Downes J, Shirlaw P, Wilson R, Challacombe SJ, Kemp GK, Wade WG. The clinical and microbial effects of a novel acidified sodium chlorite mouthrinse on oral bacterial mucosal infections. *Oral Dis* 2001; 7: 276–280.
90. Fisher BM, Lamey PJ, Samaranayake LP, MacFarlane TW, Frier BM. Carriage of *Candida* species in the oral cavity in diabetic patients:relationship to glycaemic control. *J Oral Pathol* 1987; 16: 282–284.
91. Fortis AA, Lianou PE, Papavassiliou JT. Adherence of *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Candida albicans* to human buccal epithelial cells, from healthy persons and IV carriers, under the influence of Broncho Vaxom in vitro and ascorbic acid in vivo. *APMIS* 1998; 106: 441–448.
92. Fransson C, Lekholm U, Jemt T, Berglundh T. Prevalence of subjects with progressive bone loss at implants. *Clin Oral Implant Res* 2005; 16: 440–446.

93. Garfunkel AA, Tager N, Chausu S, Chausu G, Haze C, Galili D. Oral complications in bone marrow transplantation patients: recent advances. *Isr J Med Sci* 1994; 30: 120–124.
94. Gibson J, Wray D, Bagg J. Oral staphylococcal mucositis: a new clinical entity in orofacial granulomatosis and Crohn's disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 89: 171–176.
95. Gold OG, Jordan HV, van Houte J. The prevalence of enterococci in the human mouth and their pathogenicity in animal models. *Arch oral Biol* 1975; 20: 473–477.
96. Greenberg MS, Cohen G. Oral infection in immunosuppressed renal transplant patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977; 43: 879–885.
97. Hamasuna R, Hoshina S, Imau H, Jensen JS, Osada Y. Usefulness of oral wash specimens for detecting *Chlamydia trachomatis* from high-risk groups in Japan. *Int J Urol* 2007; 14: 473–475.
98. Heimdahl A, Nord CE. Effect of phenoximethylpenicillin and clindamycin on the oral, throat and faecal microflora of man. *Scand J Infect Dis* 1979; 11: 233–242.
99. Helouvo H, Hakkarainen K, Paunio K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 75–79.
100. Holt RD, Wilson M, Musa S. Mycoplasmas in plaque and saliva of children and their relationship to gingivitis. *J Periodontol* 1995; 66: 97–101.

101. Ishikawa A, Yoneyama T, Hirota K, Miyake Y, Miyatake K. Professional oral health care reduces the number of oropharyngeal bacteria. *J Dent Res* 2006; 87: 594–598.
102. Jacobson JJ, Patel B, Asher G, Wooliscroft JO, Schaberg D. Oral Staphylococcus in older subjects with rheumatoid arthritis. *J Am Geriatr Soc* 1997; 45: 590–593.
103. Jackson MS, Bagg J, Gupta MN, Surrock RD. Oral carriage of staphylococci in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 1999; 38: 572–575.
104. Jaiakittivong A, Aneksuk V, Langlais RP. Oral mucosal conditions in elderly dental patients. *Oral Dis* 2002; 8: 218–223.
105. Jensen SB, Mouridsen HT, Bergmann OJ, Reibel J, Brunner N, Nauntofte B. Oral mucosal lesions, microbial changes, and taste disturbances induced by adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod* 2008; 106: 217–226.
106. Jobbins J, Bagg J, Parsons K, Finlay I, Addy M, Newcombe RG. Oral carriage of yeasts, coliforms and staphylococci in patients with advanced malignant disease. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 305–308.
107. Jorge Jùnior J, deAlmeida OP, Bozzo L, Scully C, Graner E. Oral mucosal health and disease in institutionalized elderly in Brazil. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991; 19: 173–175.
108. Ketai LH, Rypka G. The course of nosocomial oropharyngeal colonization in patients recovering from acute respiratory failure. *Chest* 1993; 103: 1837–1841.

109. Knighton HT. Coagulase-positive staphylococci in oral and nasal areas of dental students: a four-year study. *J Dent Res* 1965; 44: 467–470.
110. Kolokotronis A, Avramidou E, Zaraboukas T, Mandraveli K, Alexiou S, Antoniadis D. Oral tuberculosis associated with a treatment with anti-rheumatic drugs. *J Oral Pathol Med* 2006; 35: 123–125.
111. Kuc IM, Samaranayake LP, van Heyst EN. Oral health and microflora in an institutionalised elderly population in Canada. *Int Dent J* 1999; 49: 33–40.
112. Kurrie E, Bhaduri S, Krieger D, Gaus W, Heimpel H, Pflieger H, Arnold R, Vanek E. Risk factors for infections of the oropharynx and the respiratory tract in patients with acute leukemia. *J Infect Dis* 1981; 144: 128–135.
113. Landes CA, Kovačcs AF. Aspects of oral syphilis. *Quintessence Int* 2004; 35: 723–727.
114. Leibovitz A, Plotnikov G, Habet B, Rosenberg M, Segal R. Pathogenic colonization of oral flora in frail elderly patients fed by nasogastric tube or percutaneous enterogastric tube. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003; 58: 52–55.
115. Leonhardt Á, Renvert S, Dahlén G. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Implant Res* 1999; 10: 339–345.
116. Leung WK, Yau JY, Chaung BP, Jin LJ, Zee KY, Lo EC, Samaranayake LP, Corbet EF. Oral colonisation by aerobic and

facultatively anaerobic Gram-negative rods and yeast in Tibetans living in Lhasa. *Arch Oral Biol* 2003; 48: 117–123.

117. Leung WK, Jin LJ, Yam WC, Samaranayake LP. Oral colonization of aerobic and facultatively anaerobic gramnegative rods and cocci in irradiated dentate, xerostomic individuals. *Oral Microbiol Immunol* 2001; 16: 1–9.

118. Limeback H. Implications of oral infections on systemic diseases in the institutionalized elderly with special focus on pneumonia. *Ann Periodontol* 1998; 3: 262–275.

119. Loeffler A, Boag AK, Sung J, Lindsay JA, Guardabassi L, Dalsgaard A, Smith H, Stevens KB, Lloyd DH. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 692–697.

120. Lucht E, Nord CE. Opportunistic oral infections in patients infected with HIV-1. *Rev Med Microbiol* 1996; 7: 151–163.

121. Lucht E, Teivens A, Berglund O, Heimdahl A, Nord CE. Occurrence of microorganisms in saliva and gingival crevice in HIV-1-infected patients. *Microbiol Ecol Health Dis* 1990; 3: 329–334.

122. MacFarlane TW, Mason DK. Changes in the oral flora in Sjögren's syndrome. *J Clin Pathol* 1974; 27: 416–419.

123. MacFarlane TW. The oral ecology of patients with severe Sjögren's syndrome. *Microbios* 1984; 41: 99–106.

124. Mager DL, Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Distribution of selected bacterial species in intraoral surfaces. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 644–654.
125. Maheu-Robert LF, Andrian E, Grenier D. Overview of complications secondary to tongue and lip piercing. *J Can Dent Assoc* 2007; 73: 327–331.
126. Main BE, Calman KC, Ferguson MM, Kaye SB, MacFarlane TW, Mairs RJ, Samaranayake LP, Willox J, Welsh J. The effect of cytotoxic therapy on saliva and oral flora. *Oral Surg* 1984; 58: 545–548.
127. Marsh PD, Percival RS, Challacombe SJ. The influence of denture-wearing and age on the oral microflora. *J Dent Res* 1992; 71: 1374–1381.
128. Martins MD, Russo MP, Lemos JB, Fernandes KP, Bussadori SK, Correa CT, Martins MA. Orofacial lesions in treated southeast leprosy patients: a cross-sectional study. *Oral Dis* 2007; 13: 270–273.
129. Maschmeyer G, Haas A. The epidemiology and treatment of infections in cancer patients. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31: 193–197.
130. Meurman JH. Probiotics: Do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci* 2005; 113: 188–196.
131. Minah GE, Rednor JL, Peterson DE, Overholser CD, Depaola LG, Suzuki JB. Oral succession of Gram-negative bacilli in myelosuppressed cancer patients. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 210–213.

132. Miziara ID. Tuberculosis affecting the oral cavity in Brazilian HIV-infected patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100: 179–182.
133. Mobbs KJ, van Saene HK, Sunderland D, Davies PD. Oropharyngeal gram-negative bacillary carriage in chronic obstructive pulmonary disease: relation to severity of disease. *Respir Med* 1999; 93: 540–545.
134. Mobbs KJ, van Saene HKF, Sunderland D, Davies PDO. Oropharyngeal Gram-negative bacillary carriage. *Chest* 1999; 115: 1570–1575.
135. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998; 31: 1–7.
136. Moore PA, Guggenheimer J, Orchard T. Burning mouth syndrome and peripheral neuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2007; 21: 397–402.
137. Moore PA, Guggenheimer J, Etzel KR, Weynant RJ, Orchard T. Type 1 diabetes mellitus, xerostomia and salivary flow rates. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 92: 281–291.
138. Napenas JJ, Brennan MT, Bahrani-Mougeot FK, Fox PC, Lockhart PB. Relationship between mucositis and changes in oral microflora during cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod* 2007; 103: 48–59.

139. Nevalainen MJ, Närhi TO, Ainamo A. Oral mucosal lesions and oral hygiene habits in home-living elderly. *J Oral Rehabil* 1997; 24: 332–337.
140. Nittayananta W, Chungpanich S. Oral lesions in a group of Thai people with AIDS. *Oral Dis* 1997; 3(Suppl. 1): 41–45.
141. Norrby SR. Ecological consequences of broad spectrum versus narrow spectrum antibacterial therapy. *Scand J Infect Dis* 1986; 49(Suppl.): 189–195.
142. Ohara-Nemoto Y, Haraga H, Kimura S, Nemoto TK. Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal oral trafficking of the bacteria. *J Med Microbiol* 2008; 57: 95–99.
143. Ohman SC, Osterberg T, Dahle´n G, Landahl S. The prevalence of *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* species, and *Candida* species and their relation to oral mucosal lesions in a group of 79-year-olds in Göteborg. *Acta Odontol Scand* 1995; 53: 49–54.
144. Oksenhendler E, Ge´rard L, Fieschi C, Malphettes M, Mouillot G, Jaussaud R, Viillard JF, Gardembas M, Galicier L, Schieinitz N, Suarez F, Soulas-Sprauel P, Hachulla E, Jaccard A, Gardeur A, Théodorou I, Rabian C, Debre´ P, DEFI Study group. Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency. *Clin Infect Dis* 2008; 15: 1547–1554.
145. Pajukoski M, Meurman JH, Halonen P, Sulkava R. Prevalence of subjective dry mouth and burning mouth in hospitalized elderly patients and outpatients in relation to saliva, medication and systemic

diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 92: 641–649.

146. Palmer LB, Albulak K, Fields S, Filkin AM, Simon S, Smaldone GC. Oral clearance and pathogenic oropharyngeal colonization in the elderly. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 464–468.

147. Patton LL, van der Horst C. Oral infections and other manifestations of HIV disease. *Infect Dis Clin North Am* 1999; 13: 879–900.

148. Peltola P, Vehkalahti MM, Wuolijoki-Saaristo K. Oral health and treatment needs of the long-term hospitalised elderly. *Gerodontology* 2004; 21: 93–99.

150. Ponte E, Tabaj D, Maglione M, Melato M. Diabetes mellitus and oral disease. *Acta Diabetol* 2001; 38: 57–62.

151. Porter SR, Leao JC. Review article: oral ulcers and its relevance to systemic disorders. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 295–306.

152. Raghavenderan K, Mylotte JM, Scannapieco FA. Nursing home-associated pneumonia, hospital-acquired pneumonia and ventilator associated pneumonia: the contribution of dental biofilms and periodontal inflammation. *Periodontol 2000* 2007; 44: 164–177.

153. Rams TE, Feik D, Slots J. Staphylococci in human periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 29–32.

154. Razavi A, Gmur R, Imfeld T, Zehnder M. Recovery of *Enterococcus faecalis* from cheese in the oral cavity of healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 248–251.

155. Reed SG, Lopatin DE, Foxman B, Burt BA. Oral Chlamydia trachomatis in patients with established periodontitis. *Clin Oral Investig* 2000; 4: 226-232.
156. Reichardt PA. Infections of the oral mucosa. II. Bacterial, mycotic and viral infections. *Mund Kiefer Gesichtschir* 1999; 3: 298-308.
157. Renard KW, Marling-Cason M, Sheehan RG, Mackowiak PA. Effects of cancer chemotherapy on the human aerobic oropharyngeal flora. *Infection* 1986; 14: 237-241.
158. Riggio MP, Lennon A, Rolph HJ, Donaldson A, Maxwell AJ, Bagg J. Molecular identification of bacteria on the tongue dorsum of subjects with or without halitosis. *Oral Dis* 2008; 14: 251-258.
159. Rivera-Hidalgo F, Stanford TW. Oral mucosal lesions caused by infective microorganisms I. Viruses and bacteria. *Periodontol* 2000 1999; 21: 106-124.
160. Ross PW. Quantitative studies on the salivary flora. *J Clin Pathol* 1971; 24: 717-720.
161. Roy KM, Smith A, Sanderson J, Bagg J, Mackenzie D, Jackson MS, Taylor G, McEwen J. Barriers to the use of a diagnostic oral microbiological laboratory by general dental practitioners. *Br Dent J* 1999; 186: 345-347.
162. Rudney JD, Chen R. The vital status of human buccal epithelial cells and the bacteria associated with them. *Arch Oral Biol* 2006; 51: 291-298.

163. Rudney JD, Chen R, Zhang G. Streptococci dominate the diverse flora within buccal cells. *J Dent Res* 2005; 84: 1165-1171.
164. Ruescher TJ, Sodeifi A, Scrivani SJ, Kaban LB, Sonis ST. The impact of mucositis on alpha-hemolytic streptococcal infection in patients undergoing autologous bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Cancer* 1998; 82: 2275–2281.
165. Russell SL, Boylan RJ, Kaslick RS, Scannaoieco FA, Katz RY. Respiratory pathogen colonization of the dental plaque of institutionalized elders. *Spec Care Dentist* 1999; 19: 128-134.
166. Sachs AP, van der Waaij D, Groenier KH, Koëter GH, Schiphuis J. Oropharyngeal flora in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. Indigenous oropharyngeal microorganisms in outpatients with asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1993; 48: 1302-1307.
167. Sakamoto H, Sasaki J, Nord CE. Association between bacterial colonization on the tumor, bacterial translocation to the cervical lymph nodes and subsequent postoperative infection in patients with oral cancer. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5: 612-616.
168. Sakamoto H, Naito H, Ohta Y, Tanakna R, Maeda N, Sasaki J, Nord CE. Isolation of bacteria from cervical lymph nodes in patients with oral cancer. *Arch Oral Biol* 1999; 44: 789-793.
169. Samaranayake LP, Keung Leung W, Jin L. Oral mucosal fungal infections. *Periodontol* 2000 2009; 49: 39-59.

170. Samaranayake LP, Wilkieson CA, Lamey PJ, MacFarlane TW. Oral disease in elderly in long-term hospital care. *Oral Dis* 1995; 1: 147-151.
171. Samaranayake LP, Lamb AB, Lamey PJ, MacFarlane TW. Oral carriage of *Candida* species and coliforms in patients with burning mouth syndrome. *J Oral Pathol Med* 1989; 18: 233-235.
172. Samaranayake LP, MacFarlane TW, Lamey PJ, Ferguson MM. A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for the detection of yeast, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. *J Oral Pathol* 1986; 15: 386-388.
173. Samaranayake LP, Calman KC, Ferguson MM, Kaye SB, MacFarlane TW, Main B, Welsh J, Willox J. The oral carriage of yeasts and coliforms in patients on cytotoxic therapy. *J Oral Pathol* 1984; 13: 390-393.
174. Sarifakioglu E, Gunduz C, Gorpelioglu C. Oral mucosa manifestation in 100 pregnant versus non-pregnant patients: an epidemiological observational study. *Eur J Dermatol* 2006; 16: 674-676.
175. Scala A, Checchi L, Montevecchi M, Marini I, Giamberardino MA. Update on burning mouth syndrome: overview and patient management. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14: 275-291.
176. Scannapieco FA, Bush RB, Paju S. Associations between periodontal disease and risk for nosocomial bacterial pneumonia and chronic obstructive pulmonary disease. A systemic review. *Ann Periodontol* 2003; 8: 54-69.

177. Scannapieco FA, Wang B, Shiau HJ. Oral bacteria and respiratory infection: effects on respiratory pathogen adhesion and epithelial cell proinflammatory cytokine production. *Ann Periodontol* 2001; 6: 78-86.
178. Scannapieco FA, Stewart EM, Mylotte JM. Colonization of dental plaque by respiratory pathogens in medical intensive care patients. *Crit Care Med* 1992; 20: 740-745.
179. Scott CM, Flint SR. Oral syphilis. Re-emergence of an old disease with oral manifestations. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005; 34: 58-63.
180. Scully C, Sonis S, Diz PD. Oral mucositis. *Oral Dis* 2006; 12: 229-241.
181. Scully C. Sjögren's syndrome: clinical and laboratory features, immunopathogenesis, and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986; 62: 510-523.
182. Schmidt-Westhausen A, Fehrenbach FJ, Reichart PA. Oral Enterobacteriaceae in patients with HIV infection. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 229-231.
183. Sedgely CM, Lennan SL, Clewell DB. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 95-101.
184. Sedgely CM, Samaranayake LP, Chan JC, Wei SH. A 4-year longitudinal study in the oral prevalence of enteric gramnegative rods and yeasts in Chinese children. *Oral Microbiol Immunol* 1997; 12: 183-188.

185. Sedgely CM, Chu CS, Lo EC, Samaranayake LP. The oral prevalence of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and yeasts in semi-recluse human vegetarians. *Arch Oral Biol* 1996; 41: 307-309.
186. Sedgely CM, Samaranayake LP. The oral prevalence of aerobic and facultative anaerobic gram-negative rods and yeasts in Hong Kong Chinese. *Arch Oral Biol* 1994; 39: 459-466.
187. Sheehy EC, Beighton D, Roberts GJ. The oral microbiota of children undergoing liver transplantation. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 203-210.
188. Sirén EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigations. *Int Endod J* 1997; 30: 91-95.
189. Slots J. Oral viral infections of adults. *Periodontol* 2000 2009; 49: 60-86.
190. Slots J, Rams TE, Feik D, Taveras HD, Gillespie M. Subgingival microflora of advanced periodontitis in the Dominican Republic. *J Periodontol* 1991; 62: 543-547.
191. Slots J, Feik D, Rams TE. Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 305-308.
192. Slots J, Feik D, Rams TE. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae and

- Acinetobacter in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 149-154.
193. Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3: 47-52.
194. Smith AJ, Robertson D, Tang MK, Jackson MS, MacKenzie D, Bagg J. Staphylococcus aureus in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. *Br Dent J* 2003; 195: 701-703.
195. Smith AJ, Brewer A, Kirkpatrick P, Jackson MSD, Young J, Watson S, Thakken B. Staphylococcus species in the oral cavity from patients in a regional burns unit. *J Hosp Infect* 2003; 55: 184-189.
196. Smith AJ, Jackson MS, Bagg J. The ecology of Staphylococcus species in the oral cavity. *J Med Microbiol* 2001; 50: 940-946.
197. Smyth CJ, Halpenny MK, Ballagh SJ. Carriage rates of enterococci in the dental plaque of haemodialysis patients in Dublin. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1987; 25: 21-33.
198. Souto R, Colombo AP. Prevalence of Enterococcus faecalis in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Arch Oral Biol* 2008; 53: 155-160.
199. Sreebny LM, Yu A, Green A, Valdini A. Xerostomia in diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1992; 15: 900-904.
200. Stjernquist-Desatnik A, Orrling A. Pharyngotonsillitis. *Periodontol* 2000 2009; 49: 140-150.

201. Sumi Y, Miura H, Sunakawa M, Michiwaki Y, Sakagami N. Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. *Gerodontology* 2002; 19: 25-29.
202. Sutter VL, Hurst V, Landucci AOJ. Pseudomonads in human saliva. *J Dent Res* 1966; 45: 1800-1803.
203. Sveinbjörnsdóttir S, Gudmundsson S, Briem H. Oropharyngeal colonization in the elderly. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 10: 959-963.
204. Sweeney MP, Bagg J, Baxter WP, Aitchison TC. Oral disease in terminally ill cancer patients with xerostomia. *Oral Oncol* 1998; 34: 123-126.
205. Sweeney MP, Bagg J, Fell GS, Yip B. The relationship between micronutrient depletion and oral health in geriatrics. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 168-171.
206. Tada A, Senpuku H, Motozawa Y, Yoshihara A, Hanada N, Tanzawa H. Association between commensals bacteria and opportunistic pathogens in the dental plaque of elderly individuals. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 776-781.
207. Tanner A, Lai C-H, Maiden M. Characteristics of Gram-negative species. In: Slots J, Taubman M, editors. *Contemporary oral microbiology and immunology*. St Louis: Mosby Year Book, Miss, Chapter 19, 1992: 299-341.
208. Tawara Y, Honma K, Naito Y. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* on denture surfaces. *Bull Tokyo Dent Coll* 1996; 37: 119-128.

209. Terpenning MS. The relationship between infections and oral respiratory diseases; an overview. *Ann Periodontol* 2001; 6: 66-70.
210. Terpenning MS, Bradley SF, Wan JY, Chenoweth CE, Jorgensen KA, Kauffman CA. Colonization and infection with antibiotic-resistant bacteria in a longterm care facility. *J Am Geriatr Soc* 1994; 42: 1062-1069.
211. Terpenning MS, Zervos MJ, Schaberg DR, Kauffman CA. Enterococcal infections: an increasing problem in hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1988; 9: 457.
212. Thomson WM, Brown RH, Williams SM. Dentures, prosthetic treatment needs, and mucosal health in an institutionalised elderly population. *N Z Dent J* 1992; 88: 51-55.
213. Tronel H, Chaudemanche H, Pechier N, Doutrelant L, Hoen B. Endocarditis due to *Nisseria mucosa* after tongue piercing. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 275-276.
214. Tsang CSP, Samaranayake LP. Oral yeasts and coliforms in HIV-infected individuals in Hong Kong, Orale Hefen und coliforme bei HIV-infizierten in Hongkong. *Mycoses* 2000; 43: 303-308.
215. Ulin C, Norinder M, Dahle'n G, Reit C, Molander A. Prevalence of oral enterococci among endodontic retreatment patients and dental students. Abstract. Dublin, Ireland: European Society of Endodontics, 2004.
216. Wahlin YB, Granström S, Persson S, Sjöström M. A multivariate study of enterobacteria and pseudomonads in saliva of patients with acute leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72: 300-308.

217. Wahlin YB. Effects of chlorhexidine mouthrinse on oral health in patients with acute leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 68: 279-287.
218. Wahlin YB, Matsson L. Oral mucosal lesions in patients with acute leukemia and related disorders during cytotoxic therapy. *Scand J Dent Res* 1988; 96: 128-136.
219. Wahlin YB, Holm AK. Changes in the oral microflora in patients with acute leukemia and related disorders during the period of induction therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 65: 411-417.
220. Van Damme PA, van Herpen CM, Meis JE. An adult case of oral infection with *Kingella kingae*. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33: 105-107.
221. Van Overbeek JJ. Gonorrhoeal infections in the oropharynx. *Arch Otolaryngol* 1976; 102: 94-96.
222. Vassallo C, Ardigò M, Brazelli V, Zecca M, Locatelli F, Alessandrino PE, Lazzarino M, Corona S, Lanzerini P, Benazzo M, Fabbi M, Borrini G. Bartonella-related pseudomembranous papillomatosis of the oral cavity associated with allogeneic bone marrow transplantation and oral graft-versus-host disease. *Br J Dermatol* 2007; 157: 174-178.
223. Watanabe T, Matsuura M, Seto K. Enumeration, isolation, and species identification of mycoplasma in saliva sampled from the normal and pathological human oral cavity and antibody response to an oral mycoplasma (*Mycoplasma salivarium*). *J Clin Microbiol* 1986; 23: 1034-1038.

224. Weinberg JM, Scheinfeld NS. Cutaneous infections in elderly: diagnosis and management. *Dermatol Ther* 2003; 16: 195-205.
225. Williams NB, Forbes MA, Blau E, Eickenberg CF. A study of the simultaneous occurrence of enterococci, lactobacilli, and yeasts in saliva from human beings. *J Dent Res* 1950; 29: 563-570.
226. Wilson M. Microbial inhabitants of humans. Their ecology and role in health and disease. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2005.
227. Von Bulzingslöwen I, Adelberth I, Wold AE, Dahle´n G, Jontell M. Oral and intestinal microflora in 5-fluorouracil treated rats, translocation to cervical and mesenteric lymph nodes and effects of probiotic bacteria. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18: 278-284.
228. Yoneyama T, Yoshida M, Ohru T, Mukiyama H, Okamoto H, Hoshiba K, Ihara S, Yanagisawa S, Ariumi S, Morita T, Mizuno Y, Ohsawa T, Akagawa Y, Hashimoto K, Sasaki H, Oral Care Working Group. Oral care reduces pneumonia in older patients in nursing homes. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50: 430-433.
229. Zhu HW, McMillan AS, McGrath C, Li LSW, Samaranayake LP. Oral carriage of yeast and coliforms in stroke sufferers: a prospective longitudinal study. *Oral Dis* 2008; 14: 60-66.
230. Abbate G, Foscolo AM, Gallotti M, Lancella A, Mingo F. Neoplastic transformation of oral lichen: case report and review of the literature. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2006; 26: 47-52.

231. Abramson JS, Mills EL. Depression of neutrophil function induced by viruses and its role in secondary microbial infections. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 326-341.
232. Acay R, Rezende N, Fontes A, Aburad A, Nunes F, Sousa S. Human papillomavirus as a risk factor in oral carcinogenesis: a study using in situ hybridization with signal amplification. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 271-274.
233. Al-Johani KA, Fedele S, Porter SR. Erythema multiforme and related disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 642-654.
234. Al-Otaibi LM, Ngui SL, Scully CM, Porter SR, Teo CG. Salivary human herpesvirus 8 shedding in renal allograft recipients with Kaposi's sarcoma. *J Med Virol* 2007; 79: 1357-1365. Erratum in: *J Med Virol* 2008; 80: 372.
235. Al-Otaibi LM, Porter SR, Poate TW. Behçet's disease: a review. *J Dent Res* 2005; 84: 209-222.
236. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2007*. Atlanta: American Cancer Society, 2007.
237. Andric M, Milasin J, Jovanovic T, Todorovic L. Human cytomegalovirus is present in odontogenic cysts. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 347-351.
238. Ardekian L, Rachmiel A, Rosen D, Abu-el-Naaj I, Peled M, Laufer D. Burkitt's lymphoma of the oral cavity in Israel. *J Craniomaxillofac Surg* 1999; 27: 294-297.

239. Arduino PG, Porter SR. Herpes simplex virus type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 107-121.
240. Arikawa J, Mizushima J, Higaki Y, Hoshino J, Kawashima M. Mandibular alveolar bone necrosis after trigeminal herpes zoster. *Int J Dermatol* 2004; 43: 136-137.
241. Atula T, Grénman R, Klemi P, Syrjänen S. Human papillomavirus, Epstein-Barr virus, human herpesvirus 8 and human cytomegalovirus involvement in salivary gland tumours. *Oral Oncol* 1998; 34: 391-395.
242. Avitzur Y, Amir J. Herpetic whitlow infection in a general pediatrician—an occupational hazard. *Infection* 2002; 30:234-236.
243. Ayangco L, Sheridan PJ, Rogers RS. Erythema multiforme secondary to herpes simplex infection: a case report. *J Periodontol* 2001; 72: 953-957.
244. Azevedo-Pereira JM, Santos-Costa Q, Moniz-Pereira J. HIV-2 infection and chemokine receptors usage – clues to reduced virulence of HIV-2. *Curr HIV Res* 2005; 3: 3-16.
245. Bagan JV, Jiménez Y, Murillo J, Poveda R, Díaz JM, Gavaldà C, Margaix M, Scully C, Alberola TM, Torres Puente M, Pérez Alonso M. Epstein-Barr virus in oral proliferative verrucous leukoplakia and squamous cell carcinoma: a preliminary study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008; 13: E110-E113.

246. Barzilai O, Ram M, Shoenfeld Y. Viral infection can induce the production of autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2007; 19: 636-643.
247. Barzilai O, Sherer Y, Ram M, Izhaky D, Anaya JM, Shoenfeld Y. Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in autoimmune diseases: are they truly notorious? A preliminary report. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1108: 567-577.
248. Bass BD, Andors L, Pierri LK, Pollock JJ. Quantitation of hepatitis B viral markers in a dental school population. *J Am Dent Assoc* 1982; 104: 629-632.
249. Slots J. Oral viral infections of adults. *Periodontology* 2000, Vol. 49, 2009, 60-86.
250. Berman S, Jensen J. Cytomegalovirus-induced osteomyelitis in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. *South Med J* 1990; 83: 1231-1232.
251. Bhandarkar SS, MacKelfresh J, Fried L, Arbiser JL. Targeted therapy of oral hairy leukoplakia with gentian violet. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58: 711-712.
252. Boivin G, Goyette N, Sergerie Y, Keays S, Booth T. Longitudinal evaluation of herpes simplex virus DNA load during episodes of herpes labialis. *J Clin Virol* 2006; 37: 248-251.
253. Bonfioli AA, Eller AW. Acute retinal necrosis. *Semin Ophthalmol* 2005; 20: 155-160.

254. Borborema-Santos CM, Castro MM, Santos PJ, Talhari S, Astolfi-Filho S. Oral focal epithelial hyperplasia: report of five cases. *Braz Dent J* 2006; 17: 79-82.
255. Botero JE, Contreras A, Parra B. Profiling of inflammatory cytokines produced by gingival fibroblasts after human cytomegalovirus infection. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 291-298.
256. Botero JE, Contreras A, Parra B. Effects of cytomegalovirus infection on the mRNA expression of collagens and matrix metalloproteinases in gingival fibroblasts. *J Periodontal Res* 2008; 43: 649-657.
257. Botero JE, Vidal C, Contreras A, Parra B. Comparison of nested polymerase chain reaction (PCR), real-time PCR and viral culture for the detection of cytomegalovirus in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 239-244.
258. Bouda M, Gorgoulis VG, Kastrinakis NG, Giannoudis A, Tsoli E, Danassi-Afentaki D, Foukas P, Kyroudi A, Laskaris G, Herrington CS, Kittas C. "High risk" HPV types are frequently detected in potentially malignant and malignant oral lesions, but not in normal oral mucosa. *Mod Pathol* 2000; 13: 644-653.
259. Brandwein M, Nuovo G, Ramer M, Orlowski W, Miller L. Epstein-Barr virus reactivation in hairy leukoplakia. *Mod Pathol* 1996; 9: 298-303.
260. Brice SL, Cook D, Leahy M, Huff JC, Weston WL. Examination of the oral mucosa and peripheral blood cells of patients with

- recurrent aphthous ulceration for human herpesvirus DNA. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 89: 193-198.
261. Broudy VC, Sabath DE. Post-transplantation lymphoproliferative gingival disease. *Blood* 1995; 8: 2891.
262. Bruce AJ, Subtil A, Rogers RS III, Castro LA. Monomorphic Epstein-Barr virus (EBV)-associated large B-cell posttransplant lymphoproliferative disorder presenting as a tongue ulcer in a pancreatic transplant patient. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 24-28.
263. Campisi G, Giovannelli L, Aricò P, Lama A, Di Liberto C, Ammatuna P, D'Angelo M. HPV DNA in clinically different variants of oral leukoplakia and lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98: 705-711.
264. Candy B, Chalder T, Cleare AJ, Wessely S, White PD, Hotopf M. Recovery from infectious mononucleosis: a case for more than symptomatic therapy? A systematic review. *Br J Gen Pract* 2002; 52: 844-851.
265. Carrozzo M. Oral diseases associated with hepatitis C virus infection. Part 2: lichen planus and other diseases. *Oral Dis* 2008; 14: 217-228.
266. Carrozzo M, Pellicano R. Lichen planus and hepatitis C virus infection: an updated critical review. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2008; 54: 65-74.
267. Caskey MF, Morgan DJ, Porto AF, Giozza SP, Muniz AL, Orge GO, Travassos MJ, Barròn Y, Carvalho EM, Glesby MJ. Clinical

- manifestations associated with HTLV type I infection: a cross-sectional study. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007; 23: 365-371.
268. Cernik C, Gallina K, Brodell RT. The treatment of herpes simplex infections: an evidence-based review. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1137-1144.
269. Chang ET, Adami HO. The enigmatic epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1765-1777.
270. Chang LY, Lin TY, Huang YC, Tsao KC, Shih SR, Kuo ML, Ning HC, Chung PW, Kang CM. Comparison of enterovirus 71 and coxsackie-virus A16 clinical illnesses during the Taiwan enterovirus epidemic, 1998. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 1092-1096.
271. Chang LY, Tsao KC, Hsia SH, Shih SR, Huang CG, Chan WK, Hsu KH, Fang TY, Huang YC, Lin TY. Transmission and clinical features of enterovirus 71 infections in household contacts in Taiwan. *JAMA* 2004; 291: 222-227.
272. Chauvin PJ, Ajar AH. Acute herpetic gingivostomatitis in adults: a review of 13 cases, including diagnosis and management. *J Can Dent Assoc* 2002; 68: 247-251.
273. Chebbi F, Poveda JD, Suzuki T, Tai H, Yoshie H, el Tenn R, de Saint-Martin J, Guetard D, Hara K, Dupont B, de The G. Search for infectious HIV in gingival crevicular fluid and saliva of advanced AIDS patients with severe periodontitis. *AIDS* 1997; 11: 927-928.

274. Christie SN, McCaughey C, Marley JJ, Coyle PV, Scott DA, Lamey PJ. Recrudescence herpes simplex infection mimicking primary herpetic gingivostomatitis. *J Oral Pathol Med* 1998; 27: 8-10.
275. Chua KB, Lam SK, AbuBakar S, Lim ST, Paranjothy M, Koh MT, Lee WS. The predictive value of uvulo-palatoglossal junctional ulcers as an early clinical sign of exanthema subitum due to human herpesvirus 6. *J Clin Virol* 2000; 17: 83-90.
276. Chuang HC, Lay JD, Hsieh WC, Su IJ. Pathogenesis and mechanism of disease progression from hemophagocytic lymphohistiocytosis to Epstein-Barr virus-associated T-cell lymphoma: nuclear factor-kappaB pathway as a potential therapeutic target. *Cancer Sci* 2007; 98: 1281–1287.
277. Cobb CM, Ferguson BL, Keselyak NT, Holt LA, MacNeill SR, Rapley JW. A TEM/SEM study of the microbial plaque overlying the necrotic gingival papillae of HIV-seropositive, necrotizing ulcerative periodontitis. *J Periodontal Res* 2003; 38: 147-155.
278. Cohen JI, Straus SE, Arvin AM. Varicella-zoster virus replication, pathogenesis, and management. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2774-2818.
279. Cooper JC. Tooth exfoliation and osteonecrosis of the jaw following herpes zoster. *Br Dent J* 1977; 143: 297-300.
280. Contreras A, Falkler WA Jr, Enwonwu CO, Idigbe EO, Savage KO, Afolabi MB, Onwujekwe D, Rams TE, Slots J. Human

- Herpesviridae in acute necrotizing ulcerative gingivitis in children in Nigeria. *Oral Microbiol Immunol* 1997; 12: 259-265.
281. Cox M, Maitland N, Scully C. Human herpes simplex-1 and papillomavirus type 16 homologous DNA sequences in normal, potentially malignant and malignant oral mucosa. *Oral Oncol* 1993; 29B: 215-219.
282. Cuberos V, Perez J, Lopez CJ, Castro F, Gonzalez LV, Correa LA, Sanclemente G, Gaviria A, Müller M, Sanchez GI. Molecular and serological evidence of the epidemiological association of HPV 13 with focal epithelial hyperplasia: a case-control study. *J Clin Virol* 2006; 37: 21-26.
283. Cunningham GD, Sims RA, Zimmermann ER, Byrd DL. Murine tumor induction by cytomegalovirus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975; 40: 130-134.
284. Czerniniski R, Katz J, Schlesinger M. Preliminary evidence for an association of measles virus with recurrent aphthous ulceration. *Arch Dermatol* 2000; 136: 801-803.
285. Detwiler RK, Singh HK, Bolin P Jr, Jennette JC. Cytomegalovirus-induced necrotizing and crescentic glomerulonephritis in a renal transplant patient. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 820-824.
286. Di Alberti L, Porter SR, Speight PM, Scully CM, Zakrzewska JM, Williams IG, Artese L, Piattelli A, Ngui SL, Teo CG. Detection of human herpesvirus-8 DNA in oral ulcer tissues of HIV-infected individuals. *Oral Dis* 1997; 3(Suppl 1): S133-S134.

287. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007; 356: 1944-1956.
288. Eisen D. The clinical characteristics of intraoral herpes simplex virus infection in 52 immunocompetent patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 86: 432-437.
289. Epstein JB, Cabay RJ, Glick M. Oral malignancies in HIV disease: changes in disease presentation, increasing understanding of molecular pathogenesis, and current management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100: 571-578.
290. Epstein JB, Emerton S, Lunn R, Le N, Wong FL. Pretreatment assessment and dental management of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Oral Oncol* 1999; 35: 33-39.
291. Escudier MP, McGurk M. Symptomatic sialoadenitis and sialolithiasis in the English population, an estimate of the cost of hospital treatment. *Br Dent J* 1999; 186: 463-466.
292. Eveson J. Xerostomia. *Periodontol* 2000 2008; 48: 84-90.
293. Fatahzadeh M, Schwartz RA. Human herpes simplex labialis. *Clin Exp Dermatol* 2007; 32: 625-630.
294. Ferraccioli G, Tolusso B. Infections, B cell receptor activation and autoimmunity: different check-point impairments lead to autoimmunity, clonal B cell expansion and fibrosis in different immunological settings. *Autoimmun Rev* 2007; 7: 109-113.

295. Flaitz CM, Hicks MJ. Molecular piracy: the viral link to carcinogenesis. *Oral Oncol* 1998; 34: 448-453.
296. Flaitz CM, Nichols CM, Hicks MJ. Herpesviridae-associated persistent mucocutaneous ulcers in acquired immunodeficiency syndrome. A clinicopathologic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 81: 433-441.
297. Fox RI, Howell FV. Reactivation of Epstein-Barr virus in Sjögren's syndrome. *Ric Clin Lab* 1987; 17: 273-277.
298. Freed EO, Martin MA. HIVs and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2107-2185.
299. Friedman M, Brenski A, Taylor L. Treatment of aphthous ulcers in AIDS patients. *Laryngoscope* 1994; 104: 566-570.
300. Gafa V, Manches O, Pastor A, Drouet E, Ambroise-Thomas P, Grillot R, Aldebert D. Human cytomegalovirus downregulates complement receptors (CR3, CR4) and decreases phagocytosis by macrophages. *J Med Virol* 2005; 76: 361-366.
301. Ganem D. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2847-2888.
302. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol* 2000 2007; 43: 14-40.
303. Gilbert SC. Bell's palsy and herpesviruses. *Herpes* 2002; 9: 70-73.

304. Gilbert S, Corey L, Cunningham A, Malkin JE, Stanberry L, Whitley R, Spruance S. An update on short-course intermittent and prevention therapies for herpes labialis. *Herpes* 2007; 14(Suppl 1): 13A-18A.
305. Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, Viscidi R. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 407-420.
306. Goldenberg D, Golz A, Netzer A, Rosenblatt E, Rachmiel A, Goldenberg RF, Joachims HZ. Epstein-Barr virus and cancers of the head and neck. *Am J Otolaryngol* 2001; 22: 197-205.
307. Griffin E, Krantz E, Selke S, Huang ML, Wald A. Oral mucosal reactivation rates of herpesviruses among HIV-1 seropositive persons. *J Med Virol* 2008; 80: 1153-1159.
308. Grogg KL, Miller RF, Dogan A. HIV infection and lymphoma. *J Clin Pathol* 2007; 60: 1365-1372.
309. Hall HD, Jacobs JS, O'Malley JP. Necrosis of maxilla in patient with herpes zoster. Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974; 37: 657-662.
310. Hamilton-Dutoit SJ, Raphael M, Audouin J, Diebold J, Lisse I, Pedersen C, Oksenhendler E, Marelle L, Pallesen G. In situ demonstration of Epstein-Barr virus small RNAs (EBER 1) in acquired immunodeficiency syndrome-related lymphomas: correlation with tumor morphology and primary site. *Blood* 1993; 82: 619-624.

311. Hamilton-Dutoit SJ, Therkildsen MH, Neilsen NH, Jensen H, Hansen JP, Pallesen G. Undifferentiated carcinoma of the salivary gland in Greenlandic Eskimos: demonstration of Epstein-Barr virus DNA by in situ nucleic acid hybridization. *Hum Pathol* 1991; 22: 811-815.
312. Hammarstedt L, Lindquist D, Dahlstrand H, Romanitan M, Dahlgren LO, Joneberg J, Creson N, Lindholm J, Ye W, Dalianis T, Munck-Wikland E. Human papillomavirus as a risk factor for the increase in incidence of tonsillar cancer. *Int J Cancer* 2006; 119: 2620-2623.
313. Harpaz R, Ortega-Sanchez IR, Seward JF; Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of herpes zoster: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2008; 57: 1-30.
314. Hernández G, Arriba L, Jiménez C, Bagàn JV, Rivera B, Lucas M, Moreno E. Rapid progression from oral leukoplakia to carcinoma in an immunosuppressed liver transplant recipient. *Oral Oncol* 2003; 39: 87-90.
315. Hedner E, Vahlne A, Hirsch JM. Primary herpes simplex virus (type 1) infection delays healing of oral excisional and extraction wounds in the rat. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 471-476
316. Hedner E, Vahlne A, Kahnberg KE, Hirsch JM. Reactivated herpes simplex virus infection as a possible cause of dry socket after

tooth extraction. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51: 370-376; discussion 377-378.

317. Heinic GS, Northfelt DW, Greenspan JS, MacPhail LA, Greenspan D. Concurrent oral cytomegalovirus and herpes simplex virus infection in association with HIV infection. A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 75: 488-494.

318. Heininger U, Seward JF. Varicella. *Lancet* 2006; 368: 1365-1376. Erratum in: *Lancet* 2007; 369: 558.

319. Hermann RM, Füzesi L, Pradier O, Christiansen H, Schmidberger H. Presence of human papillomavirus-18 and Epstein-Barr virus in a squamous cell carcinoma of the tongue in a 20-year-old patient. Case report and review of the current literature. *Cancer Radiother* 2004; 8: 262-265.

320. Hille JJ, Webster-Cyriaque J, Palefski JM, Raab-Traub N. Mechanisms of expression of HHV8, EBV and HPV in selected HIV-associated oral lesions. *Oral Dis* 2002; 8(Suppl 2): 161-168.

321. Hobbs CG, Sterne JA, Bailey M, Heyderman RS, Birchall MA, Thomas SJ. Human papillomavirus and head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Otolaryngol* 2006; 31: 259-266.

322. Holbrook WP, Gudmundsson GT, Ragnarsson KT. Herpetic gingivostomatitis in otherwise healthy adolescents and young adults. *Acta Odontol Scand* 2001; 59: 113-115.

323. Horie Y, Kato M. Juvenile hemangioma (infantile hemangioendothelioma) of the parotid gland associated with cytomegalovirus infection. *Pathol Int* 1999; 49: 668-671.
324. Hormia M, Willberg J, Ruukonen H, Syrjänen S. Marginal periodontium as a potential reservoir of human papillomavirus in oral mucosa. *J Periodontol* 2005; 76: 358-363.
325. Howley PM, Lowy DR. Papillomaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2299-2354.
326. Hujoel P, Drangsholt M, Spiekerman C, Weiss N. An exploration of the periodontitis-cancer association. *Ann Epidemiol* 2003; 13: 312-316.
327. Ideguchi H, Ohno S, Ishigatsubo Y. A case of pure red cell aplasia and systemic lupus erythematosus caused by human parvovirus B19 infection. *Rheumatol Int* 2007; 27: 411-414.
328. Itin PH, Lautenschlager S. Viral lesions of the mouth in HIV-infected patients. *Dermatology* 1997; 194: 1-7.
329. Jiménez LM, Duque FL, Baer PN, Jiménez SB. Necrotizing ulcerative periodontal diseases in children and young adults in Medellín, Colombia, 1965–2000. *J Int Acad Periodontol* 2005; 7: 55-63.
330. Jorgensen C, Legouffe MC, Perney P, Coste J, Tissot B, Segarra C, Bologna C, Bourrat L, Combe B, Blanc F, Sany J. Sicca syndrome associated with hepatitis C virus infection. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1166–1171.

331. Jurge S, Kuffer R, Scully C, Porter SR. Mucosal disease series. Number VI. Recurrent aphthous stomatitis. *Oral Dis* 2006; 12: 1-21.
332. Kademani D. Oral cancer. *Mayo Clin Proc* 2007; 82: 878– 887. Erratum in: *Mayo Clin Proc* 2007; 82: 1017.
333. Kajita K, Honda T, Amanuma R, Domon H, Okui T, Ito H, Yoshie H, Tabeta K, Nakajima T, Yamazaki K. Quantitative messenger RNA expression of Toll-like receptors and interferon- α 1 in gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 398-402.
334. Kalra A, Ratho RK, Kaur I, Kumar B. Role of herpes simplex and cytomegalo viruses in recalcitrant oral lesions of pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol* 2005; 44: 259-260.
335. Kang YN, Oh HK, Chang YC, Kim HC, Lee SL, Hwang M, Park KK. Systemic herpes simplex virus infection following cadaveric renal transplantation: a case report. *Transplant Proc* 2006; 38: 1346-1347.
336. Kärjä V, Syrjänen K, Syrjänen S. No Epstein Barr and cytomegalovirus DNA found in salivary gland tumours. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1997; 59: 97-99.
337. Katz J, Guelmann M, Stavropolous F, Heft M. Gingival and other oral manifestations in measles virus infection. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 665-668.
338. Knipe DM, Howley PM. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.

339. Kojima M, Nakamura S, Iijima M, Yoshizumi T, Sakata N, Masawa N. Follicular lymphoid hyperplasia of the oral cavity representing progressive transformation of germinal center. *APMIS* 2005; 113: 221–224.
340. Kolokotronis A, Doumas S. Herpes simplex virus infection, with particular reference to the progression and complications of primary herpetic gingivostomatitis. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 202-211.
341. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 467-475.
342. Kuritzkes DR, Walker BD. HIV-1 pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2187-2214.
343. Kutok JL, Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 375-404.
344. Laane CJ, Murr AH, Mhatre AN, Jones KD, Lalwani AK. Role of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in the etiology of benign parotid tumors. *Head Neck* 2002; 24: 443-450.
345. Larbcharoensub N, Tubtong N, Praneetvatakul V, Pongtippan A, Leopairat J, Sirikulchayanonta V. Epstein- Barr virus associated lymphoepithelial carcinoma of the parotid gland; a clinicopathological report of three cases. *J Med Assoc Thai* 2006; 89: 1536-1541.

346. Lausten LL, Ferguson BL, Barker BF, Cobb CM. Oral Kaposi sarcoma associated with severe alveolar bone loss: case report and review of the literature. *J Periodontol* 2003; 74: 1668-1675.
347. Leung SY, Chung LP, Yuen ST, Ho CM, Wong MP, Chan SY. Lymphoepithelial carcinoma of the salivary gland: in situ detection of Epstein-Barr virus. *J Clin Pathol* 1995; 48: 1022-1027.
348. Lima RB, Santos PS, Malafrente P, Muller H, Caiaffa-Filho HH, Sens YA. Oral manifestation of cytomegalovirus associated with herpes simplex virus in renal transplant recipient. *Transplant Proc* 2008; 40: 1378-1381.
349. Lin SS, Chou MY, Ho CC, Kao CT, Tsai CH, Wang L, Yang CC. Study of the viral infections and cytokines associated with recurrent aphthous ulceration. *Microbes Infect* 2005; 7: 635-644.
350. Listgarten MA. Electron microscopic observations on the bacterial flora of acute necrotizing ulcerative gingivitis. *J Periodontol* 1965; 36: 328-339.
351. Lodi G, Scully C, Carrozzo M, Griffiths M, Sugerman PB, Thongprasom K. Current controversies in oral lichen planus: report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100: 40-51.
352. Loenen WA, Bruggeman CA, Wiertz EJ. Immune evasion by human cytomegalovirus: lessons in immunology and cell biology. *Semin Immunol* 2001; 13: 41-49.

353. Lu JJ, Chen DY, Hsieh CW, Lan JL, Lin FJ, Lin SH. Association of Epstein-Barr virus infection with systemic lupus erythematosus in Taiwan. *Lupus* 2007; 16: 168-175.
354. Lu SY, Huang CC, Hsiung CY, Eng HL, Huang HY. Primary lymphoepithelioma-like carcinoma of minor salivary gland: a case report with immunohistochemical and in situ hybridization studies. *Head Neck* 2006; 28: 182-186.
355. MacPhail L, Greenspan D. Herpetic gingivostomatitis in a 70-year-old man. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 79: 50-52.
356. Madinier I, Doglio A, Cagnon L, Lefe`bvre JC, Monteil RA. Southern blot detection of human papillomaviruses (HPVs) DNA sequences in gingival tissues. *J Periodontol* 1992; 63: 667-673.
357. Mayne S, Morse D, Winn D. Cancers of the oral cavity and pharynx. In: Schottenfeld D, Fraumeni J Jr, editors. *Cancer epidemiology and prevention*, 3rd edn. New York: Oxford University Press, 2006: 674-696.
358. Mbopi-Kéou FX, Bélec L, Teo CG, Scully C, Porter SR. Synergism between HIV and other viruses in the mouth. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 416-424.
359. McCullough MJ, Abdel-Hafeth S, Scully C. Recurrent aphthous stomatitis revisited; clinical features, associations, and new association with infant feeding practices? *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 615-620.

360. Matičić M, Poljak M, Kramar B, Seme K, Brinovec V, Meglic-Volkar J, Zakotnik B, Skaleric U. Detection of hepatitis C virus RNA from gingival crevicular fluid and its relation to virus presence in saliva. *J Periodontol* 2001; 72: 11-16.
361. McMinn PC. An overview of the evolution of enterovirus 71 and its clinical and public health significance. *FEMS Microbiol Rev* 2002; 26: 91-107.
362. Meer S, Altini M. Cytomegalovirus co-infection in AIDS-associated oral Kaposi's sarcoma. *Adv Dent Res* 2006; 19: 96-98.
363. Meer S, Coleman H, Altini M, Alexander T. Mandibular osteomyelitis and tooth exfoliation following zoster-CMV co-infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 70-75.
364. Melnick M, Mocarski ES, Abichaker G, Huang J, Jaskoll T. Cytomegalovirus-induced embryopathology: mouse submandibular salivary gland epithelial-mesenchymal ontogeny as a model. *BMC Dev Biol* 2006; 6: 42.
365. Mendieta C, Miranda J, Brunet LI, Gargallo J, Berini L. Alveolar bone necrosis and tooth exfoliation following herpes zoster infection: a review of the literature and case report. *J Periodontol* 2005; 76: 148-153.
366. Michaud DS, Joshipura K, Giovannucci E, Fuchs CS. A prospective study of periodontal disease and pancreatic cancer in US male health professionals. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 171-175.

367. Michaud DS, Liu Y, Meyer M, Giovannucci E, Joshipura K. Periodontal disease, tooth loss, and cancer risk in male health professionals: a prospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008; 9: 550-558.
368. Miller CS, Berger JR, Mootoor Y, Avdiushko SA, Zhu H, Kryscio RJ. High prevalence of multiple human herpesviruses in saliva from human immunodeficiency virus-infected persons in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2409-2415.
369. Miller CS, Johnstone BM. Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis, 1982–1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91: 622-635.
370. Mocarski ES Jr, Shenk T, Pass RF. Cytomegaloviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2702-2772.
371. Modlin JF. Enterovirus *deja vu*. *N Engl J Med* 2007; 356: 1204-1205.
372. Moles DR, Fedele S, Speight PM, Porter SR, dos Santos Silva I. Oral and pharyngeal cancer in South Asians and non-South Asians in relation to socioeconomic deprivation in South East England. *Br J Cancer* 2008; 98: 633-635.
373. Muto T, Tsuchiya H, Sato K, Kanazawa M. Tooth exfoliation and necrosis of the mandible—a rare complication following trigeminal herpes zoster: report of a case. *J Oral Maxillofac Surg* 1990; 48: 1000-1003.

374. Nebuloni M, Vago L, Boldorini R, Bonetto S, Costanzi G. VZV fulminant necrotizing encephalitis with concomitant EBV-related lymphoma and CMV ventriculitis: report of an AIDS case. *J Neurovirol* 1998; 4: 457-460.
375. Newland JR, Adler-Storthz K. Cytomegalovirus in intraoral Kaposi's sarcoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 67: 296-300.
376. Nicolatou-Galitis O, Athanassiadou P, Kouloulis V, Sotiropoulou-Lontou A, Dardoufas K, Polychronopoulou A, Gonidi M, Kyprianou K, Kolitsi G, Skarleas C, Pissakas G, Papanikolaou IS, Kouvaris J. Herpes simplex virus-1 (HSV-1) infection in radiation-induced oral mucositis. *Support Care Cancer* 2006; 14: 753-762.
377. Noel KE, Mardirossian G, Schneider L. Primary intraosseous Kaposi's sarcoma presenting as an asymptomatic periapical radiolucency: a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: e65-e70.
378. Oberste MS, Maher K, Kilpatrick DR, Pallansch MA. Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification. *J Virol* 1999; 73: 1941-1948.
379. Oda D, Persson GR, Haigh WG, Sabath DE, Penn I, Aziz S. Oral presentation of posttransplantation lymphoproliferative disorders. An unusual manifestation. *Transplantation* 1996; 15: 61. 435-440.

380. Ohyama Y, Nakamura S, Hara H, Shinohara M, Sasaki M, Ikebe-Hiroki A, Mouri T, Tsunawaki S, Abe K, Shirasuna K, Nomoto K. Accumulation of human T lymphotropic virus type I-infected T cells in the salivary glands of patients with human T lymphotropic virus type I-associated Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1972-1978.
381. Ojha J, Islam N, Cohen DM, Marshal D, Reavis MR, Bhattacharyya I. Post-transplant lymphoproliferative disorders of oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105: 589-596.
382. Ott G, Kalla J, Ott MM, Müller-Hermelink HK. The Epstein-Barr virus in malignant non-Hodgkin's lymphoma of the upper aerodigestive tract. *Diagn Mol Pathol* 1997; 6: 134-139.
383. Owotade FJ, Ugboko VI, Kolude B. Herpes zoster infection of the maxilla: case report. *J Oral Maxillofac Surg* 1999; 57: 1249-1251.
384. Pagano JS. Epstein-Barr virus: the first human tumor virus and its role in cancer. *Proc Assoc Am Physicians* 1999; 111: 573-580.
385. Palacios G, Oberste MS. Enteroviruses as agents of emerging infectious diseases. *J Neurovirol* 2005; 11: 424-433.
386. Pallansch M, Roos R. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 840-893.

387. Parra B, Slots J. Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 1996; 11: 289-293.
388. Pass RF. Cytomegalovirus infection. *Pediatr Rev* 2002; 23: 163-170.
389. Pauk J, Huang ML, Brodie SJ, Wald A, Koelle DM, Schacker T, Celum C, Selke S, Corey L. Mucosal shedding of human herpesvirus 8 in men. *N Engl J Med* 2000; 343: 1369-1377.
390. Pedersen A, Hornsleth A. Recurrent aphthous ulceration: a possible clinical manifestation of reactivation of varicella zoster or cytomegalovirus infection. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 64-68.
391. Pellett PE, Roizman B. The family Herpesviridae: a brief introduction. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2479-2499.
392. Peng T, Zhu J, Hwangbo Y, Corey L, Bumgarner RE. Independent and cooperative antiviral actions of interferon beta and interferon gamma against herpes simplex virus replication in primary human fibroblasts. *J Virol* 2008; 82: 1934-1945.
393. Piluso S, Ficarra G, Lucatorto FM, Orsi A, Dionisio D, Stendardi L, Eversole LR. Cause of oral ulcers in HIVinfected patients: a study of 19 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82: 166-172.
394. Puchhammer-Stöckl E, Görzer I. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus subtypes-the search for clinical significance. *J Clin Virol* 2006; 36: 239-248.

395. Quiñones-Avila Mdel P, Gonzalez-Longoria AA, Admirand JH, Medeiros LJ. Hodgkin lymphoma involving Waldeyer ring: a clinicopathologic study of 22 cases. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 651-656.
396. Rafailidis PI, Mourtzoukou EG, Varbobitis IC, Falagas ME. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology* 2008; 5: 47.
397. Ramer MA, Altchek A, Deligdisch L, Phelps R, Montazem A, Buonocore PM. Lichen planus and the vulvovaginalgingival syndrome. *J Periodontol* 2003; 74: 1385-1393.
398. Rams TE, Listgarten MA, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* subgingival presence, species-specific serum immunoglobulin G antibody levels, and periodontitis disease recurrence. *J Periodontal Res* 2006; 41: 228-234.
399. Reddy MS. Reaching a better understanding of non-oral disease and the implication of periodontal infections. *Periodontol* 2000 2007; 44: 9-14.
400. Regezi JA, Eversole LR, Barker BF, Rick GM, Silverman S Jr. Herpes simplex and cytomegalovirus coinfecting oral ulcers in HIV-positive patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 81: 55-62.
401. Reyes C, Pereira S, Warden MJ, Sills J. Cytomegalovirus enteritis in a premature infant. *J Pediatr Surg* 1997; 32: 1545-1547.

402. Rickinson AB, Kieff E. Epstein-Barr virus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2656-2700.
403. Riedel DJ, Gonzalez-Cuyar LF, Zhao XF, Redfield RR, Gilliam BL. Plasmablastic lymphoma of the oral cavity: a rapidly progressive lymphoma associated with HIV infection. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 261-267.
404. Rimar D, Rimar Y, Keynan Y. Human herpesvirus-8: beyond Kaposi's. *Isr Med Assoc J* 2006; 8: 489-493.
405. Rintala M, Grénman S, Puranen M, Syrjänen S. Natural history of oral human papillomasvirus infections in female and male partners: a prospective Finnish HPV Family Study. *J Clin Virol* 2006; 35: 89-94.
406. Rivera-Hidalgo F, Shulman JD, Beach MM. The association of tobacco and other factors with recurrent aphthous stomatitis in an U.S. adult population. *Oral Dis* 2004; 10: 335-345.
407. Rolland SL, Seymour RA, Wilkins BS, Parry G, Thomason JM. Post-transplant lymphoproliferative disorders presenting as gingival overgrowth in patients immunosuppressed with ciclosporin. A report of two cases. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 581-585.
408. Roizman B, Knipe DM, Whitley RJ. Herpes simplex viruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007: 2502-2601.

409. Rotundo R, Maggi F, Nieri M, Muzzi L, Bendinelli M, Prato GP. TT virus infection of periodontal tissues: a controlled clinical and laboratory pilot study. *J Periodontol* 2004; 75: 1216-1220.
410. Saboia-Dantas CJ, Coutrin de Toledo LF, Sampaio-Filho HR, Siqueira JF Jr. Herpesviruses in asymptomatic apical periodontitis lesions: an immunohistochemical approach. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 320-325.
411. Sallay K, Kulcsar G, Nasz I, Dan P, Geck P. Adenovirus isolation from recurrent oral ulcers. *J Periodontol* 1973; 44: 712-714.
412. Samonis G, Mantadakis E, Maraki S. Orofacial viral infections in the immunocompromised host. *Oncol Rep* 2000; 7: 1389-1394.
413. Sand L, Jalouli J, Larsson PA, Hirsch JM. Human papilloma viruses in oral lesions. *Anticancer Res* 2000; 20: 1183-1188.
414. Sandvej K, Krenács L, Hamilton-Dutoit SJ, Rindum JL, Pindborg JJ, Pallesen G. Epstein-Barr virus latent and replicative gene expression in oral hairy leukoplakia. *Histopathology* 1992; 20: 387-395.
415. Sandvej K, Zhou XG, Hamilton-Dutoit S. EBNA-1 sequence variation in Danish and Chinese EBV-associated tumours: evidence for geographical polymorphism but not for tumour-specific subtype restriction. *J Pathol* 2000; 191: 127-131.
416. Santucci M, Gallo O, Calzolari A, Bondi R. Detection of Epstein-Barr viral genome in tumor cells of Warthin's tumor of parotid gland. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 662-665.

417. Saqui-Salces M, Martinez-Benitez B, Gamboa-Dominguez A. EBV+ lymphoepithelial carcinoma of the parotid gland in Mexican Mestizo patients with chronic autoimmune diseases. *Pathol Oncol Res* 2006; 12: 41-45.
418. Saygun I, Kubar A, Özdemir A, Slots J. Periodontitis lesions are a source of salivary cytomegalovirus and Epstein-Barr virus. *J Periodontal Res* 2005; 40: 187-191.
419. Saygun I, Kubar A, Şahin S, Şener K, Slots J. Quantitative analysis of association between herpesviruses and bacterial pathogens in periodontitis. *J Periodontal Res* 2008; 43: 352-359.
420. Scheper MA, Nikitakis NG, Fernandes R, Gocke CD, Ord RA, Sauk JJ. Oral plasmablastic lymphoma in an HIVnegative patient: a case report and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100: 198-206.
421. Schiødt M. Less common oral lesions associated with HIV infection: prevalence and classification. *Oral Dis* 1997; 3(Suppl 1): S208-S213.
422. Schlüpen EM, Wollenberg A, Hänel S, Stumpfenhausen G, Volkenandt M. Detection of herpes simplex virus in exacerbated pemphigus vulgaris by polymerase chain reaction. *Dermatology* 1996; 192: 312-316.
423. Schneider LC, Schneider AE. Diagnosis of oral ulcers. *Mt Sinai J Med* 1998; 65: 383-387.

424. Schwartz O, Pindborg JJ, Svenningsen A. Tooth exfoliation and necrosis of the alveolar bone following trigeminal herpes zoster in HIV-infected patient. *Tandlaegebladet* 1989; 93: 623-627.
425. Scully C, Felix DH. Oral medicine—update for the dental practitioner. Aphthous and other common ulcers. *Br Dent J* 2005; 199: 259-264.
426. Scully C, Field EA, Randall C. Over-the-counter remedies for oral soreness. *Periodontol 2000* 2008; 48: 75-83.
427. Sepùlveda E, Brethauer U, Rojas J, Fernàndez E, Le Fort P. Oral ulcers in children under chemotherapy: clinical characteristics and their relation with herpes simplex virus type 1 and *Candida albicans*. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005; 10(Suppl 1): E1-E8.
428. Seymour RA, Rudralingham M. Oral and dental adverse drug reactions. *Periodontol 2000* 2008; 46: 9-26.
429. Shah KV. Do human papillomavirus infections cause oral cancer? *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1585-1586.
430. Sharma G, Pai KM, Suhas S, Ramapuram JT, Doshi D, Anup N. Oral manifestations in HIV / AIDS infected patients from India. *Oral Dis* 2006; 12: 537-542.
431. Ship JA, Chavez EM, Doerr PA, Henson BS, Sarmadi M. Recurrent aphthous stomatitis. *Quintessence Int* 2000; 31: 95-112.
432. Siegal B, Levinton-Kriss S, Schiffer A, Sayar J, Engelberg I, Vonsover A, Ramon Y, Rubinstein E. Kaposi's sarcoma in immunosuppression. Possibly the result of a dual viral infection. *Cancer* 1990; 65: 492-498.

433. Simkova A, Petrovicova A. Experimental infection of rhesus monkeys with Coxsackie A 4 virus. *Acta Virol* 1972; 16: 250-257.
434. Sinha A, Chander J, Natarajan S. Erythema multiforme presenting as chronic oral ulceration due to unrecognised herpes simplex virus infection. *Clin Exp Dermatol* 2006; 31: 737-738.
435. Slots J. Herpesviruses in periodontal diseases. *Periodontol* 2000 2005; 38: 33-62.
436. Slots J. Herpesviral-bacterial synergy in the pathogenesis of human periodontitis. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20: 278-283.
437. Slots J, Contreras A. Herpesviruses: a unifying causative factor in periodontitis? *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 277-280.
438. Slots J, Saygun I, Sabeti M, Kubar A. Epstein-Barr virus in oral diseases. *J Periodontal Res* 2006; 41: 235-244.
439. Söderberg-Nauclér C. HCMV microinfections in inflammatory diseases and cancer. *J Clin Virol* 2008; 41: 218-223.
440. Soto-Ramirez LE, Garcia-Vallejo F, Renjifo B, Vergara A, Borrero I, Marlink R, Essex M. Human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) specific antibodies and cell-free RNA in crevicular fluid-rich saliva from patients with tropical spastic paraparesis / HTLV-I-associated myelopathy. *Viral Immunol* 1995; 8: 141-150.
441. Starzl TE, Nalesnik MA, Porter KA, Ho M, Iwatsuki S, Griffith BP, Rosenthal JT, Hakala TR, Shaw BW Jr, Hardesty RL, Jaffe R, Bahnson HT. Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin- steroid therapy. *Lancet* 1984; 1: 583-587.

442. Steininger C, Puchhammer-Stöckl E, Popow-Kraupp T. Cytomegalovirus disease in the era of highly active antiretroviral therapy (HAART). *J Clin Virol* 2006; 37: 1-9.
443. Stern J, Shai E, Zaks B, Halabi A, Hourri-Haddad Y, Shapira L, Palmon A. Reduced expression of gamma interferon in serum and marked lymphoid depletion induced by *Porphyromonas gingivalis* increase murine morbidity and mortality due to cytomegalovirus infection. *Infect Immun* 2004; 72: 5791-5798.
444. Studd M, McCance DJ, Lehner T. Detection of HSV-1 DNA in patients with Behçet's syndrome and in patients with recurrent oral ulcers by the polymerase chain reaction. *J Med Microbiol* 1991; 34: 39-43.
445. Sun A, Chang JG, Kao CL, Liu BY, Wang JT, Chu CT, Yuan JH, Chiang CP. Human cytomegalovirus as a potential etiologic agent in recurrent aphthous ulcers and Behçet's disease. *J Oral Pathol Med* 1996; 25: 212-218.
446. Sunde PT, Olsen I, Enersen M, Grinde B. Patient with severe periodontitis and subgingival Epstein-Barr virus treated with antiviral therapy. *J Clin Virol* 2008; 42: 176-178.
447. Sweeney CJ, Gilden DH. Ramsay Hunt syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; 71: 149-154.
448. Syrjänen S, Kallio P, Sainio P, Fuju C, Syrjänen K. Epstein-Barr virus (EBV) genomes and c-myc oncogene in oral Burkitt's lymphomas. *Scand J Dent Res* 1992; 100: 176-180.

449. Syrjänen S, Leimola-Virtanen R, Schmidt-Westhausen A, Reichart PA. Oral ulcers in AIDS patients frequently associated with cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV) infections. *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 204-209.
450. Szkaradkiewicz A, Kruk-Zagajewska A, Wal M, Jopek A, Wierzbicka M, Kuch A. Epstein-Barr virus and human papillomavirus infections and oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Clin Exp Med* 2002; 2: 137-141.
451. Takahashi I, Kobayashi TK, Suzuki H, Nakamura S, Tezuka F. Coexistence of Pemphigus vulgaris and herpes simplex virus infection in oral mucosa diagnosed by cytology, immunohistochemistry, and polymerase chain reaction. *Diagn Cytopathol* 1998; 19: 446-450.
452. Teughels W, Sliepen I, Quirynen M, Haake SK, van Eldere J, Fives-Taylor P, van Ranst M. Human cytomegalovirus enhances *A. actinomycetemcomitans* adherence to cells. *J Dent Res* 2007; 86: 175-180.
453. Tezal M, Sullivan MA, Reid ME, Marshall JR, Hyland A, Loree T, Lillis C, Hauck L, Wactawski-Wende J, Scannapieco FA. Chronic periodontitis and the risk of tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 133: 450-454.
454. Tsai CC, Chen CL, Hsu HC. Expression of Epstein-Barr virus in carcinomas of major salivary glands: a strong association with lymphoepithelioma-like carcinoma. *Hum Pathol* 1996; 27: 258-262.
455. Ugar DA, Bozkaya S, Karaca I, Tokman B, Pinarli FG. Childhood craniofacial Burkitt's lymphoma presenting as maxillary

- swelling: report of a case and review of literature. *J Dent Child (Chic)* 2006; 73: 45-50.
456. Volvoikar P, Patil S, Dinkar A. Tooth exfoliation, osteonecrosis and neuralgia following herpes zoster of trigeminal nerve. *Indian J Dent Res* 2002; 13: 11-14.
457. Wakisaka N, Muroso S, Minato H, Furukawa M, Yoshizaki T. A case report: Epstein-Barr virus-associated undifferentiated carcinoma of the tongue base. *Auris Nasus Larynx* 2006; 33: 487-491.
458. Wan SK, Chan JK, Lau WH, Yip TT. Basaloid-squamous carcinoma of the nasopharynx. An Epstein-Barr virus-associated neoplasm compared with morphologically identical tumors occurring in other sites. *Cancer* 1995; 76: 1689-1693.
459. Wang D, Deng C, Tan X, Wang Y. Detection of Epstein-Barr viral genome in tumor cells of Warthin's tumor of parotid gland. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 1999; 17: 131-132.
460. Wanner M, Pol-Rodriguez M, Hinds G, Hutt C, Husain S, Grossman ME. Persistent erythema multiforme and CMV infection. *J Drugs Dermatol* 2007; 6: 333-336.
461. Wax TD, Layfield LJ, Zaleski S, Bhargava V, Cohen M, Lyerly HK, Fisher SR. Cytomegalovirus sialadenitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome: a potential diagnostic pitfall with fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol* 1994; 10: 169-172; discussion 172-174.
462. Whitley RJ. Herpes simplex virus infection. *Semin Pediatr Infect Dis* 2002; 13: 6-11.

463. Whitley RJ, Lakeman FD. Human herpesvirus 6 infection of the central nervous system: is it just a case of mistaken association? *Clin Infect Dis* 2005; 40: 894-895.
464. Whitt JC, Dunlap CL, Martin KF. Oral Hodgkin lymphoma: a wolf in wolf's clothing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104: 45-51.
465. Williams H, Crawford DH. Epstein-Barr virus: the impact of scientific advances on clinical practice. *Blood* 2006; 107: 862-869.
466. Wohl DA, Zeng D, Stewart P, Glomb N, Alcorn T, Jones S, Handy J, Fiscus S, Weinberg A, Gowda D, van der Horst C. Cytomegalovirus viremia, mortality, and end-organ disease among patients with AIDS receiving potent antiretroviral therapies. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 38: 538-544.
467. Woo SB, Lee SF. Oral recrudescence of herpes simplex virus infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83: 239-243.
468. Woo SB, Sonis ST. Recurrent aphthous ulcers: a review of diagnosis and treatment. *J Am Dent Assoc* 1996; 127: 1202-1213.
469. Wright WE, Davis ML, Geffen DB, Martin SE, Nelson MJ, Straus SE. Alveolar bone necrosis and tooth loss. A rare complication associated with herpes zoster infection of the fifth cranial nerve. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 56: 39-46.
470. Wu IB, Schwartz RA. Herpetic whitlow. *Cutis* 2007; 79: 193-196.

471. Yadav M, Arivananthan M, Chandrashekran A, Tan BS, Hashim BY. Human herpesvirus-6 (HHV-6) DNA and virus-encoded antigen in oral lesions. *J Oral Pathol Med* 1997; 26: 393-401.
472. Yazdi KA, Sabeti M, Jabalameli F, Eman eini M, Kolahdouzan SA, Slots J. Relationship between human cytomegalovirus transcription and symptomatic apical periodontitis in Iran. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 510-514.
473. Yen AM, Chen SC, Chang SH, Chen TH. The effect of betel quid and cigarette on multistate progression of oral pre-malignancy. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 417-422.
474. Yin MT, Dobkin JF, Grbic JT. Epidemiology, pathogenesis, and management of human immunodeficiency virus infection in patients with periodontal disease. *Periodontol 2000* 2007; 44: 55-81.
475. Yin HF, Jamlukhanova V, Okada N, Takagi M. Primary natural killer/T-cell lymphomas of the oral cavity are aggressive neoplasms. *Virchows Arch* 1999; 435: 400-406.
476. Young SK, Min KW. In situ DNA hybridization analysis of oral papillomas, leukoplakias, and carcinomas for human papillomavirus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71: 726-729.
477. Anderson EJ, Weber SG. Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 91-99.
478. Bible JM, Pantelidis P, Chan PK, Tong CY. Genetic evolution of enterovirus 71: epidemiological and pathological implications. *Rev Med Virol* 2007; 17: 371-379.

479. Bonderoff JM, Lloyd RE. CVB translation: lessons from the polioviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008; 323: 123-147.
480. Sällberg M. Oral viral infections of children. *Periodontology* 2000, Vol. 49, 2009, 87-95.
481. Chang LY, Lin TY, Hsu KH, Huang YC, Lin KL, Hsueh C, Shih SR, Ning HC, Hwang MS, Wang HS, Lee CY. Clinical features and risk factors of pulmonary oedema after enterovirus-71-related hand, foot, and mouth disease. *Lancet* 1999; 354: 1682-1686.
482. Chen MT, Billaud JN, Sallberg M, Guidotti LG, Chisari FV, Jones J, Hughes J, Milich DR. A function of the hepatitis B virus precore protein is to regulate the immune response to the core antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 14913-14918.
483. Deeks SG. Treatment of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 infection. *Lancet* 2003;362:2002-2011.
484. Dennehy PH. Rotavirus vaccines: an overview. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21: 198-208.
485. Desselberger U. Herpes simplex virus infection in pregnancy: diagnosis and significance. *Intervirol* 1998; 41: 185-190.
486. Elisofon SA, Jonas MM. Hepatitis B and C in children: current treatment and future strategies. *Clin Liver Dis* 2006; 10: 133-148, vii.
487. Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Fields virology*, 4th edn. Philadelphia, USA: Raven, 2001.
488. Fischler B. Hepatitis C virus infection. *Semin Fetal Neonatal Med* 2007; 12: 168-173.

489. Gallegos AM, Bevan MJ. Central tolerance: good but imperfect. *Immunol Rev* 2006; 209: 290-296.
490. Hambleton S, Gershon AA. Preventing varicella-zoster disease. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 70-80.
491. Hedner E, Vahlne A, Hirsch JM. Primary herpes simplex virus (type 1) infection delays healing of oral excisional and extraction wounds in the rat. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 471-476.
492. Hedner E, Vahlne A, Kahnberg KE, Hirsch JM. Reactivated herpes simplex virus infection as a possible cause of dry socket after tooth extraction. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51: 370-376(discussion 377-378).
493. Hviid A., Rubin S, Muhlemann K. Mumps. *Lancet* 2008; 371: 932-944.
494. Jacobsen KH, Koopman JS. Declining hepatitis A seroprevalence: a global review and analysis. *Epidemiol Infect* 2004; 132: 1005-1022.
495. Joura EA, Leodolter S, Hernandez M-Avila, Wheeler CM, Perez G, Koutsky LA, Garland SM, Harper DM, Tang GW, Ferris DG, Steben M, Jones RW, Bryan J, Taddeo FJ, Bautista OM, Esser MT, Sings HL, Nelson M, Boslego JW, Sattler C, Barr E, Paavonen J. Efficacy of a quadrivalent prophylactic human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like-particle vaccine against high-grade vulval and vaginal lesions: a combined analysis of three randomised clinical trials. *Lancet* 2007; 369: 1693-1702.

496. Kolokotronis A, Doumas S. Herpes simplex virus infection, with particular reference to the progression and complications of primary herpetic gingivostomatitis. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 202-211.
497. Kutok JL, Wang F. Spectrum of Epstein–Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 375-404.
498. MacArthur RD, Novak RM, Peng G, Chen L, Xiang Y, Hullsiek KH, Kozal MJ, van den Berg-Wolf M, Henely C, Schmetter B, Dehlinger M. A comparison of three highly active antiretroviral treatment strategies consisting of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors, protease inhibitors, or both in the presence of nucleoside reverse transcriptase inhibitors as initial therapy (CPCRA 058 FIRST Study): a long-term randomised trial. *Lancet* 2006; 368: 2125-2135.
499. Marodi L. Innate cellular immune responses in newborns. *Clin Immunol* 2006; 118: 137–144.
500. Milich DR, Jones JE, Hughes JL, Price J, Raney AK, McLachlan A. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 6599-6603.
501. Mitsuya H, Weinhold KJ, Furman PA, St Clair MH, Lehrman SN, Gallo RC, Bolognesi D, Barry DW, Broder S. 3 ζ -Azido-3 ζ -deoxythymidine (BW A509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy associated virus in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82: 7096-7100.

502. Ni YH, Huang LM, Chang MH, Yen CJ, Lu CY, You SL, Kao JH, Lin YC, Chen HL, Hsu HY, Chen DS. Two decades of universal hepatitis B vaccination in Taiwan: impact and implication for future strategies. *Gastroenterology* 2007; 132: 1287-1293.
503. Paavonen J, Jenkins D, Bosch FX, Naud P, Salmeron J, Wheeler CM, Chow SN, Apter DL, Kitchener HC, Castellsague X, de Carvalho NS, Skinner SR, Harper DM, Hedrick JA, Jaisamrarn U, Limson GA, Dionne M, Quint W, Spiessens B, Peeters P, Struyf F, Wieting SL, Lehtinen MO, Dubin G. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomized controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 2161-2170.
504. Prendergast A, Tudor-Williams G, Jeena P, Burchett S, Goulder P. International perspectives, progress, and future challenges of paediatric HIV infection. *Lancet* 2007; 370: 68-80.
505. Sauerbrei A, Wutzler P. The congenital varicella syndrome. *J Perinatol* 2000; 20: 548-554.
506. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370: 890-907.
507. Schneider-Schaulies J, Meulen V, Schneider-Schaulies S. Measles infection of the central nervous system. *J Neurovirol* 2003; 9: 247-252.

508. Shlomchik MJ. Sites and stages of autoreactive B cell activation and regulation. *Immunity* 2008; 28: 18-28.
509. Smeeth L, Cook C, Fombonne E, Heavey L, Rodrigues LC, Smith PG, Hall AJ. MMR vaccination and pervasive developmental disorders: a case-control study. *Lancet* 2004; 364: 963-969.
510. Sokal EM, Kelly DA, Mizerski J, Badia IB, Areias JA, Schwarz KB, Vegnente A, Little NR, Gardener SD, Jonas MM. Long-term lamivudine therapy for children with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006; 43: 225-232.
511. Sprent J. Proving negative selection in the thymus. *J Immunol* 2005; 174: 3841-3842.
512. Steiner I, Kennedy PG, Pachner AR. The neurotropic herpes viruses: herpes simplex and varicella-zoster. *Lancet Neurol* 2007; 6: 1015-1028.
513. Thompson WW, Price C, Goodson B, Shay DK, Benson P, Hinrichsen VL, Lewis E, Eriksen E, Ray P, Marcy SM, Dunn J, Jackson LA, Lieu TA, Black S, Stewart G, Weintraub ES, Davis RL, DeStefano F. Early thimerosal exposure and neuropsychological outcomes at 7 to 10 years. *N Engl J Med* 2007; 357: 1281-1292.
514. Tierney LM Jr, Wang KC. Images in clinical medicine. Koplik's spots. *N Engl J Med* 2006; 354: 740.
515. Vetsika EK, Callan M. Infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus. *Expert Rev Mol Med* 2004; 6: 1-16.
516. Wolinsky SM, Korber BT, Neumann AU, Daniels M, Kunstman KJ, Whetsell AJ, Furtado MR, Cao Y, Ho DD, Safrit JT. Adaptive

- evolution of human immunodeficiency virus-type 1 during the natural course of infection. *Science* 1996; 272: 537-542.
517. Agger WA, Caplan RH, Maki DG. Ocular sporotrichosis mimicking mucormycosis in a diabetic. *Ann Ophthalmol* 1978; 10: 767-771.
518. Ampel NM. Emerging disease issues and fungal pathogens associated with HIV infection. *Emerg Infect Dis* 1996; 2: 109-116.
519. Andriole VT. The 1998 Garrod lecture. Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal agents. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 151-162.
520. Anonymous. Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection. EC-clearinghouse on oral problems related to HIV infection and WHO collaborating centre on oral manifestations of the immunodeficiency virus. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 289-291.
521. Arathoon EG, Gotuzzo E, Noriega LM, Berman RS, DiNubile MJ, Sable CA. Randomized, double-blind, multicenter study of caspofungin versus amphotericin B for treatment of oropharyngeal and esophageal candidiases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 451-457.
522. Ariyaratnam S, Thakker NS, Sloan P, Thornhill MH. Potentiation of warfarin anticoagulant activity by miconazole oral gel. *BMJ* 1997; 314: 349.
523. Axell T, Samaranayake LP, Reichart PA, Olsen I. A proposal for reclassification of oral candidosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 84: 111-112.

524. Barkvoll P, Attramadal A. Effect of nystatin and chlorhexidine digluconate on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 67: 279-281.
525. Bell WA, Gamble J, Garrington GE. North American blastomycosis with oral lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1969; 28: 914-923.
526. Benjamin RP, Callaway L, Conant NF. Facial granuloma associated with fusarium infection. *Arch Dermatol* 1970; 101: 598-600.
527. Benson-Mitchell R, Tolley N, Croft CB, Gallimore A. Aspergillosis of the larynx. *J Laryngol Otol* 1994; 108: 883-885.
528. Berger CJ, Disque FC, Topazian RG. Rhinocerebral mucormycosis: diagnosis and treatment. Report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975; 40: 27-33.
529. Borradori L, Schmit JC, Stetzkowski M, Dussoix P, Saurat JH, Filthuth I. Penicilliosis marneffeii infection in AIDS. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31: 843-846.
530. Bradsher RW. Blastomycosis. *Clin Infect Dis* 1992; 14(Suppl. 1): S82-S90.
531. Braga PC, Maci S, Dal Sasso M, Bohn M. Experimental evidences for a role of subinhibitory concentrations of rilopirox, nystatin and fluconazole on adherence of *Candida* spp. to vaginal epithelial cells. *Chemotherapy* 1996; 42: 259-265.

532. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. In: Jawetz M., editor. Medical Mycology. Connecticut: Appleton & Lange, 1991: 320-321.
533. Budtz-Jorjenson E. Oral candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW, editors. Candida-associated denture stomatitis and angular chielitis. London: Wright, 1990: 156-183.
534. Cawley EP, Grekin RH, Curtis AC. Torulosis; a review of the cutaneous and adjoining mucous membrane manifestations. *J Invest Dermatol* 1950: 14: 327-344.
535. Cawson RA. Colour atlas of oral disease. In: Cawson RA, Binnie WH, Eveson JW, editors. The deep mycoses. London: Wolfe, 1994: 9.3-9.9.
536. Chambers MS, Lyzak WA, Martin JW, Lyzak JS, Toth BB. Oral complications associated with aspergillosis in patients with a hematologic malignancy. Presentation and treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995: 79: 559-563.
537. Cruikshank G, Vincent RD, Cherrick H, Derby K. Rhinocerebral mucormycosis. *J Am Dent Assoc* 1977: 95: 1164.
538. Cutler JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu Rev Microbiol* 1991: 45: 187-218.
539. de Almeida OP, Jorge J, Scully C, Bozzo L. Oral manifestations of paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1991: 72: 430-435.
540. de Almeida OP, Scully C. Oral lesions in the systemic mycoses. *Curr Opin Dent* 1991: 1: 423-428.

541. Deng Z, Ribas JL, Gibson DW, Connor DH. Infections caused by *Penicillium marneffeii* in China and Southeast Asia: review of eighteen published cases and report of four more Chinese cases. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 640-652.
542. Dias AP, Samaranayake LP. Clinical, microbiological and ultrastructural features of angular cheilitis lesions in Southern Chinese. *Oral Dis* 1995; 1: 43-48.
543. Dixon DM, Salkin IF, Duncan RA, Hurd NJ, Haines JH, Kemna ME, Coles FB. Isolation and characterization of *Sporothrix schenckii* from clinical and environmental sources associated with the largest U.S. epidemic of sporotrichosis. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1106-1113.
544. Dreizen S. Oral complications of cancer therapies: description and incidence of oral complications. *Monogr Natl Cancer Inst* 1990; 9: 11-15.
545. Dreizen S, Bodey GP, McCredie KB, Keating MJ. Orofacial aspergillosis in acute leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; 59: 499-504.
546. Dreizen S, Keating MJ, Beran M. Orofacial fungal infections. Nine pathogens that may invade during chemotherapy. *Postgrad Med* 1992; 91: 349-350, 353-344, 357-360 *passim*.
547. Dupont B, Drouhet E. Fluconazole in the management of oropharyngeal candidosis in a predominantly HIV antibody- positive group of patients. *J Med Vet Mycol* 1988; 26: 67-71.

548. Ellepola AN, Samaranayake LP. Antimycotic agents in oral candidosis: an overview: 1. Clinical variants. *Dent Update* 2000; 27: 111-112.
549. Ezsias A, Wojnarowska F, Juniper R. Topical use of miconazole antifungal oral gel on warfarinized patients: a word of caution. *Dent Update* 1997; 24: 421-422.
550. Finch RG, Snyder IS. Modern pharmacology. In: Craig CR, Stitzel RE, editors. *Antifungal drugs*. Boston: Little Brown, 1994: 647-656.
551. Fonesca JB. Oral lesions of paracoccidioidomycosis. *J Am Med Assoc* 1958; 166: 1633.
552. Fonseca R, Cardoso AS, Pomarico I. Frequency of oral manifestations in children infected with human immunodeficiency virus. *Quintessence Int* 2000; 31: 419-422.
553. Franklin IM, Elias E, Hirsch C. Fluconazole-induced jaundice. *Lancet* 1990; 336: 565.
554. Fromtling RA. Imidazoles as medically important antifungal agents: an overview. *Drugs Today* 1984; 20: 325-349.
555. Gluskin M, Solomon MP, Gold B, Corrado ML, Berger J. Mucormycotic slough of nasal floor and palate in the anephric patient. *J Am Dent Assoc* 1979; 98: 224-227.
556. Gosavi DK. Acute necrosis of the maxilla due to mucormycosis. *J Laryngol Otol* 1978; 92: 265-267.
557. Grbic JT, Mitchell-Lewis DA, Fine JB, Phelan JA, Bucklan RS, Zambon JJ, Lamster IB. The relationship of candidiasis to linear

- gingival erythema in HIV-infected homosexual men and parenteral drug users. *J Periodontol* 1995; 66: 30-37.
558. Greenspan D. Treatment of oropharyngeal candidiasis in HIV-positive patients. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31: S51-S55.
559. Hartwick RW, Batsakis JG. Sinus aspergillosis and allergic fungal sinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991; 100: 427-430.
560. Heinic GS, Greenspan D, MacPhail LA, Schiodt M, Miyasaki SH, Kaufman L, Greenspan JS. Oral *Histoplasma capsulatum* infection in association with HIV infection: a case report. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 85-89.
561. Hilmarsdottir I, Coutellier A, Elbaz J, Klein JM, Detry A, Gueho E, Herson S. A French case of laboratory-acquired disseminated *Penicillium marneffe* infection in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 357-358.
562. Holmstrup P, Samaranayake LP. Oral candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW, editors. *Acute and AIDS-related oral candidoses*. London: Wright, 1990: 133-155.
563. Howell RB, Jandinski JJ, Palumbo P, Shey Z, Houpt MI. Oral soft tissue manifestations and CD4 lymphocyte counts in HIV-infected children. *Pediatr Dent* 1996; 18: 117-120.
55. Imwidthaya P. Update of *Penicilliosis marneffe* in Thailand. *Mycopathologia* 1994; 127: 135-137.
564. Joseph EA, Mare A, Irving WR Jr. Oral South American blastomycosis in the United States of America. Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966; 21: 732-737.

565. Katz HI. Drug interactions of the newer oral antifungal agents. *Br J Dermatol* 1999; 141(Suppl. 56): 26-32.
566. Kirkpatrick CH. Candidiasis, pathogenesis, diagnosis and treatment. In: Bodey GP, editor. *Chronic mucocutaneous candidosis*. New York: Raven Press Limited, 1993: 167-183.
567. Kostiala I, Kostiala AA, Kahanpaa A, Elonan E. Acute fungal stomatitis in patients with haematologic malignancies. *J Infect Dis* 1982; 146: 101-104.
568. Kroidl A, Schaeben A, Oette M, Wettstein M, Herfordt A, Haussinger D. Prevalence of oral lesions and periodontal diseases in HIV-infected patients on antiretroviral therapy. *Eur J Med Res* 2005; 10: 448-453.
569. Kulak Y, Arikan A, Delibalta N. Comparison of three different treatment methods for generalized denture stomatitis. *J Prosthet Dent* 1994; 72: 283-288.
570. Lambert H, O'Grady FW. Antibiotics and chemotherapy. In: Lambert H, O'Grady FW, editors. *Antifungal agents*. London: Churchill Livingstone, 1992: 27-37.
571. Lesse AJ. Essentials of pharmacology. In: Smith CM, Reynard A, editors. *Antifungal agents*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1995: 404-411.
572. Lilic D, Cant AJ, Abinun M, Calvert JE, Spickett GP. Chronic mucocutaneous candidiasis. I. Altered antigen-stimulated IL-2, IL-4, IL-6 and interferon-gamma (IFN-gamma) production. *Clin Exp Immunol* 1996; 105: 205-212.

573. Limongelli WA, Rothstein SS, Smith LG, Clark MS. Disseminated South American blastomycosis (paracoccidioidomycosis): report of case. *J Oral Surg* 1978; 36: 625-630.
574. Listemann H, Schonrock-Nabulsi P, Kuse R, Meigel W. Geotrichosis of oral mucosa. *Mycoses* 1996; 39: 289-291.
575. Lucatorto FM, Franker C, Hardy WD, Chafey S. Treatment of refractory oral candidiasis with fluconazole. A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71: 42-44.
576. Lynch DP, Naftolin LZ. Oral *Cryptococcus neoformans* infection in AIDS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987; 64: 449-453.
577. MacFarlane TW, Samaranayake LP. Systemic infections. In: Jones JH, Mason DK, editors. *Oral manifestations of systemic disease*. 2nd edition. London, UK: Balliere Tindall, 1990: 339-386.
578. MacPhail LA, Hilton JF, Dodd CL, Greenspan D. Prophylaxis with nystatin pastilles for HIV-associated oral candidiasis. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996; 12: 470-476.
579. Martin MV. Oral candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW, editors. *Antifungal agents*. London: Wright, 1990: 238-255.
580. Martin MV, Farrelly PJ, Hardy P. An investigation of the efficacy of nystatin for the treatment of chronic atrophic candidosis (denture sore mouth). *Br Dent J* 1986; 160: 201-204.
581. Martinez-Canut P, Guarinos J, Bagan JV. Periodontal disease in HIV seropositive patients and its relation to lymphocyte subsets. *J Periodontol* 1996; 67: 33-36.

582. McGinnis MR, Rinaldi MG. Antibiotics in laboratory medicine. In: Lorian V, editor. Antifungal drugs: mechanisms of action, drug resistance, susceptibility testing and assays of activity in biological fluids. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996: 176-211.
583. Meyer RD, Young LS, Armstrong D, Yu B. Aspergillosis complicating neoplastic disease. *Am J Med* 1973; 54: 6-15.
584. Mincer HH, Oglesby RJ Jr. Intraoral North American blastomycosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966; 22: 36-41.
585. Moore M. Cryptococcosis with cutaneous manifestations; four cases with a review of published reports. *J Invest Dermatol* 1957; 28: 159-182.
586. Murray HW, Littman ML, Roberts RB. Disseminated paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis) in the United States. *Am J Med* 1974; 56: 209-220.
587. Myoken Y, Sugata T, Kyo TI, Fujihara M. Pathological features of invasive oral aspergillosis in patients with hematologic malignancies. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 54: 263-270.
588. Nagy-Agren SE, Chu P, Smith GJ, Waskin HA, Altice FL. Zygomycosis (mucormycosis) and HIV infection: report of three cases and review. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995; 10: 441-449.
589. Napoli JA, Donegan JO. Aspergillosis and necrosis of the maxilla: a case report. *J Oral Maxillofac Surg* 1991; 49: 532-534.
590. Newton AV. Denture sore mouth: a possible aetiology. *Br Dent J* 1962; 112: 357-360.

591. Nyst MJ, Perriens JH, Kimputu L, Lumbila M, Nelson AM, Piot P. Gentian violet, ketoconazole and nystatin in oropharyngeal and esophageal candidiasis in Zairian AIDS patients. *Ann Soc Belg Med Trop* 1992; 72: 45-52.
592. Odden K, Schenck K, Koppang H, Hurlen B. Candidal infection of the gingiva in HIV-infected persons. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 178-183.
593. Odds FC. *Candida and candidosis. A review and bibliography.* London: Balliere, Tindall, 1994.
594. Okuda C, Ito M, Sato Y, Oka K, Hotchi M. Disseminated cutaneous *Fusarium* infection with vascular invasion in a leukemic patient. *J Med Vet Mycol* 1987; 25: 177-186.
595. Page LR, Drummond JF, Daniels HT, Morrow LW, Frazier QZ. Blastomycosis with oral lesions. Report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979; 47: 157-160.
596. Pemberton MN, Sloan P, Ariyaratnam S, Thakker NS, Thornhill MH. Derangement of warfarin anticoagulation by miconazole oral gel. *Br Dent J* 1998; 184: 68-69.
597. Rangedara DC, Lewis RR, Cawson RA, Hay RJ. An unusual case of chronic tongue ulceration. *J Trop Med Hyg* 1985; 88: 223-226.
598. Reichart PA, Weigel D, Schmidt-Westhausen A, Pohle HD. Exfoliative cheilitis (EC) in AIDS: association with *Candida* infection. *J Oral Pathol Med* 1997; 26: 290-293.
599. Rippon JW. *Medical mycology.* Philadelphia: W B Saunders, 1982.

600. Rose HD, Gingrass DJ. Localized oral blastomycosis mimicking actinomycosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 54: 12-14.
601. Ruhnke M, Schmidt-Westhausen A, Trautmann M. In vitro activities of voriconazole (UK-109,496) against fluconazole-susceptible and -resistant *Candida albicans* isolates from oral cavities of patients with human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 575-577.
602. Salisbury PL III, Caloss R Jr, Cruz JM, Powell BL, Cole R, Kohut RI. Mucormycosis of the mandible after dental extractions in a patient with acute myelogenous leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83: 340-344.
603. Salman L, Sheppard SM. South American blastomycosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1962; 15: 671-676.
604. Samaranayake LP. Introduction and historical aspects. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW, editors. *Oral Candidosis*. London: Wright, 1990: 66-103.
605. Samaranayake LP. Oral mycoses in HIV infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 73: 171-180.
606. Samaranayake LP. *Candida krusei* infections and fluconazole therapy. *Hong Kong Med J* 1997; 3: 312-314.
607. Samaranayake LP. *Essential microbiology for dentistry*, 3rd edn. London: Churchill Livingstone, 2006.
608. Samaranayake LP, Furguson MM. Delivery of antifungal agents to the oral cavity. *Adv Drug Deliv Rev* 1994; 13: 161-179.

609. Samaranayake LP, Holmstrup P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. *J Oral Pathol Med* 1989; 18: 554-564.
610. Samaranayake LP, MacFarlane TW. *Oral candidosis*. London: Wright, 1990.
611. Samaranayake LP, Yaacob HB. Oral candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW, editors. *Classification of oral candidosis*. London: Wright, 1990: 124-132.
612. Schoen DH, Murray PA, Nelson E, Catalanotto FA, Katz RV, Fine DH. A comparison of periodontal disease in HIVinfected children and household peers: a two year report. *Pediatr Dent* 2000; 22: 365-369.
613. Schuman P, Capps L, Peng G, Vazquez J, el-Sadr W, Goldman AI, Alston B, Besch CL, Vaughn A, Thompson MA, Cobb MN, Kerkering T, Sobel JD. Weekly fluconazole for the prevention of mucosal candidiasis in women with HIV infection. A randomized, double-blind, placebocontrolled trial. Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. *Ann Intern Med* 1997; 126: 689-696.
614. Scully C, de Almeida OP. Orofacial manifestations of the systemic mycoses. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 289-294.
615. Scully C, de Almeida OP, Sposto MR. The deep mycoses in HIV infection. *Oral Dis* 1997; 3(Suppl. 1): S200-S207.

616. Sirisanthana V, Sirisanthana T. Disseminated *Penicillium marneffe* infection in human immunodeficiency virus- infected children. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 935-940.
617. Sugar AM. Mucormycosis. *Clin Infect Dis* 1992; 14(Suppl. 1): S126-S129.
618. Sugata T, Myoken Y, Kyo T, Fujihara M. Invasive oral aspergillosis in immunocompromised patients with leukemia. *J Oral Maxillofac Surg* 1994; 52: 382-386.
619. Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology* 1995; 141(Pt 7): 1507-1521.
620. Supparatpinyo K, Khamwan C, Baosoung V, Nelson KE, Sirisanthana T. Disseminated *Penicillium marneffe* infection in southeast Asia. *Lancet* 1994; 344: 110-113.
621. Tabachnick TT, Levine B. Mucormycosis of the craniofacial structures. *J Oral Surg* 1975; 33: 464-469.
622. Toth BB, Frame RR. Oral histoplasmosis: diagnostic complication and treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55: 597-600.
623. Traboulsi RS, Mukherjee PK, Ghannoum MA. In vitro activity of inexpensive topical alternatives against *Candida* spp. isolated from the oral cavity of HIV-infected patients. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31: 272-276.

624. Umadevi M, Adeyemi O, Patel M, Reichart PA, Robinson PG. Periodontal diseases and other bacterial infections. *Adv Dent Res* 2006; 19: 139-145.
625. Van't Wout JW. Fluconazole treatment of candidal infections caused by non-albicans *Candida* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 238-242.
626. Velegraki A, Nicolatou O, Theodoridou M, Mostrou G, Legakis NJ. Paediatric AIDS-related linear gingival erythema: a form of erythematous candidiasis? *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 178-182.
627. Warnakulasuriya KA, Samaranayake LP, Peiris JS. Angular cheilitis in a group of Sri Lankan adults: a clinical and microbiologic study. *J Oral Pathol Med* 1991; 20: 172-175.
628. Weems JJ Jr. *Candida parapsilosis*: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 756-766.
629. Wheat J. Endemic mycoses in AIDS: a clinical review. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 146-159.
630. White TC, Marr KA, Bowden RA. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 382-402.
631. Witorsch P, Utz JP. North American blastomycosis: a study of 40 patients. *Medicine (Baltimore)* 1968; 47: 169-200.
632. Wu-Hsieh BA, Lee GS, Franco M, Hofman FM. Early activation of splenic macrophages by tumor necrosis factor alpha is important in

- determining the outcome of experimental histoplasmosis in mice. *Infect Immun* 1992; 60: 4230-4238.
633. Zambon JJ, Reynolds HS, Genco RJ. Studies of the subgingival microflora in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Periodontol* 1990; 61: 699-704.
634. Bergquist R. Parasitic infections affecting the oral cavity *Periodontology* 2000, Vol. 49, 2009, 96-105.
635. Attar ZJ, Chance ML, el-Safi S, Carney J, Azazy A, El-Hadi M, Dourado C, Hommel M. Latex agglutination test for the detection of urinary antigens in visceral leishmaniasis. *Acta Trop* 2001; 78: 11-16.
636. Bucheton B, Abel L, Kheir MM, Mirgani A, El-Safi SH, Chevillard C, Dessein A. Genetic control of visceral leishmaniasis in a Sudanese population: candidate gene testing indicates a linkage to the NRAMP1 region. *Genes Immun* 2003; 4: 104-109.
637. Centers for Disease Control (CDC), Atlanta, Georgia, USA. Update: cutaneous leishmaniasis in U.S. military personnel-Southwest/Central Asia, 2002–2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53: 264.
638. Cervantes-Sandoval I, Serrano-Luna JD, García-Latorre E, Tsutsumi V, Shibayama M. Characterization of brain inflammation during primary amoebic meningoencephalitis. *Parasitol Int* 2008; 57: 307-313.
639. Chomicz L, Piekarczyk J, Starościak B, Fiedor P, Piekarczyk B, Wojtowicz A, Szubińska D, Swiderski Z, Rebandel H. Host-

- protozoans-bacteria-fungi interrelations in the mouths of patients with systemic illnesses. *Wiad Parazytol* 2001: 47: 559-563.
640. Cutress TW, Hunter PB, Beck DJ, de Souza P. A comparison of WHO periodontal status index with the periodontal and oral hygiene indices. *Community Dent Oral Epidemiol* 1978: 6: 245–252.
641. Courtenay O, Gillingwater K, Gomes PA, Garcez LM, Davies CR. Deltamethrin-impregnated bednets reduce human landing rates of sandfly vector *Lutzomyia longipalpis* in Amazon households. *Med Vet Entomol* 2007: 21: 168-176.
642. Dipineto L, Manna L, Baiano A, Gala M, Fioretti A, Gravino AE, Menna LF. Presence of *Leishmania infantum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in southern Italy. *J Wildl Dis* 2007: 43: 518-520.
643. Duboucher C, Caby S, Chabé M, Gantois N, Delgado-Viscogliosi P, Pierce R, Capron M, Dei-Cas E, Viscogliosi E. Human pulmonary trichomonoses. *Presse Med* 2007: 36 (5 Pt 2): 835-839.
644. Erlich HA, Gelfand D, Sninsky JJ. Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science* 1991: 252: 1643-1651.
645. Favoreto Junior S, Machado MI. Incidence, morphology and diagnostic studies of *Entamoeba gingivalis* (Gros, 1849). *Rev Soc Bras Med Trop* 1995: 28: 379-387.
646. Foglia Manzillo V, Oliva G, Pagano A, Manna L, Maroli M, Gradoni L. Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of *Leishmania* infection in kennelled stray dogs. *Vet Parasitol* 2006: 142: 142-145.

647. Gaspar da Silva D, Barton E, Bunbury N, Lunness P, Bell DJ, Tyler KM. Molecular identity and heterogeneity of trichomonad parasites in a closed avian population. *Infect Genet Evol* 2007; 7: 433-440.
648. Janvier F, Morillon M, Olliaro P. Visceral leishmaniasis: clinical sensitivity and resistance to various therapeutic agents. *Med Trop* 2008; 68: 89-101.
649. Kaushal V, Chhina DK, Kumar R, Pannu HS, Dhooria H, Chhina RS. *Acanthamoeba* encephalitis. *Indian J Med Microbiol* 2008; 26: 182-184.
650. Kupferberg AB. *Trichomonas vaginalis*: nutritional requirements and diagnostic procedures. *Int Rec Med Gen Pract Clin* 1955; 168: 709-717.
651. Kutisova K, Kulda J, Cepicka I, Flegr J, Koudela B, Teras J, Tachezy J. Tetratrichomonads from the oral cavity and respiratory tract of humans. *Parasitology* 2005; 131 (Pt 3): 309-319.
652. Limoncu ME, Ozbilgin A, Balcioglu IC, Ozbel Y. Evaluation of three new culture media for the cultivation and isolation of *Leishmania* parasites. *J Basic Microbiol* 2004; 44: 197-202.
653. Llanos-Cuentas A, Tulliano G, Araujo-Castillo R, Miranda-Verastegui C, Santamaria-Castrellon G, Ramirez L, Lazo M, De Doncker S, Boelaert M, Robays J, Dujardin JC, Arevalo J, Chappuis F. Clinical and parasite species risk factors for pentavalent antimonial treatment failure in cutaneous leishmaniasis in Peru. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 223-231.

654. Lucht E, Evengård B, Skott J, Pehrson P, Nord CE. Entamoeba gingivalis in human immunodeficiency virus type 1-infected patients with periodontal disease. Clin Infect Dis 1998; 27: 471-473.
655. Mahmoud MS, Rahman GA. Pulmonary trichomoniasis: improved diagnosis by using polymerase chain reaction targeting Trichomonas tenax 18S rRNA gene in sputum specimens. J Egypt Soc Parasitol 2004; 34: 197-211.
656. Murray CJL, Lopez AD eds. The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020, Vols 1–2. Cambridge, MA, USA: Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization and the World Bank, 1996.
657. Oskam L, Nieuwenhuijs JL, Hailu A. Evaluation of the direct agglutination test (DAT) using freeze-dried antigen for the detection of anti-Leishmania antibodies in stored sera from various patient groups in Ethiopia. Trans R Soc Trop Med Hyg 1999; 93: 275-277.
658. Palatnik-de-Sousa CB. Vaccines for leishmaniasis in the forecoming 25 years. Vaccine 2008; 26: 1709-1724.
659. Pomes CE, Bretz WA, de Leon A, Aguirre R, Milian E, Chaves ES. Risk indicators for periodontal diseases in Guatemalan adolescents. Braz Dent J 2000; 11: 49-57.
660. Prieto-Prieto J, Calvo A. Microbiological basis of oral infections and sensitivity to antibiotics. Med Oral Pathol Oral Cir Bucal 2004; 9 (Suppl. 15–18): 11-14.

661. Saxena A, Worthey EA, Yan S, Leland A, Stuart KD, Myler PJ. Evaluation of differential gene expression in *Leishmania major* Friedlin procyclics and metacyclics using DNA microarray analysis. *Mol Biochem Parasitol* 2003; 129: 103-114.
662. Sharifi I, FeKri AR, Aflatonian MR, Khamesipour A, Nadim A, Mousavi MR, Momeni AZ, Dowlati Y, Godal T, Zicker F, Smith PG, Modabber F. Randomized vaccine trial of single dose of killed *Leishmania major* plus BCG against anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Bam, Iran. *Lancet* 1998; 351: 1540-1543.
663. Silvestre R, Cordeiro-da-Silva A, Ouaisi A. Live attenuated *Leishmania* vaccines: a potential strategic alternative. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2008; 56: 123-126.
664. Smith DF, Peacock CS, Cruz AK. Comparative genomics: from genotype to disease phenotype in the leishmaniases. *Int J Parasitol* 2007; 37: 1173-1186.
665. Sundar S, Chakravarty J. Paromomycin in the treatment of leishmaniasis. *Expert Opin Investig Drugs* 2008; 17: 787-794.
666. Sundar S, Chatterjee M. Visceral leishmaniasis-current therapeutic modalities. *Indian J Med Res* 2006; 123: 345-352.
667. Sundar S, Olliaro PL. Miltefosine in the treatment of leishmaniasis: clinical evidence for informed clinical risk management. *Ther Clin Risk Manag* 2007; 3: 733-740.
668. Sundar S, Sahu M, Mehta H, Gupta A, Kohli U, Rai M, Berman JD, Murray HW. Noninvasive management of Indian visceral

- leishmaniasis: clinical application of diagnosis by K39 antigen strip testing at a kala-azar referral unit. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 581-586.
669. Zvetkova A, Isev V, Stoilova R. Humoral immune response against *Trichomonas tenax* in patients with chronic catarrhal gingivitis before and after specific Fasigyn treatment. *Stomatologiya (Sofia)* 1988; 70: 4-8.
670. Vr̀ablic J, Vodràzka J, Tomovà S, Stanik R, Catàr G. Morphology and diagnosis of the oral protozoans *Trichomonas tenax* and *Entamoeba gingivalis* using the Giemsa-Romanovsky stain. *Bratisl Lek Listy* 1998; 99: 567-572.
671. Little JW. Syphilis: An update. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100: 3-9.
672. Kinghorn GR. Syphilis. In: Cohen J, Powderly WG, editors. *Infectious diseases*. 2nd ed. St Louis: Elsevier; 2004. p. 725-7.
673. Corigliano MA. Syphilis. In: Ferri F, editor. *Ferri's clinical advisor: instant diagnosis and treatment*. St Louis: Mosby; 2004. p. 796-800.
674. Rudolph A. Syphilis. In: Hoeprich PD, Jordan MC, editors. *Infectious disease*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1989.
675. Centers for Disease Control and Prevention. Trends in primary and secondary syphilis and HIV infections in men who have sex with men-San Francisco and Los Angeles, California, 1998- 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53(26): 575-8.
676. Paz-Bailey G, Meyers A, Blank S, Brown J, Rubin S, Braxton J, et al. A case-control study of syphilis among men who have sex with

- men in New York City: association with HIV infection. *Sex Transm Dis* 2004;31(10):581-7.
677. Blocker ME, Levine WC, St Louis ME. HIV prevalence in patients with syphilis, United States. *Sex Transm Dis* 2000; 27(1): 53-9.
678. Grosskurth H, Mosha F, Todd J, Mwijarubi E, Klokke A, Senkoro K, et al. Impact of improved treatment of sexually transmitted diseases on HIV infection in rural Tanzania: randomized controlled trial. *Lancet* 1995;346: 530-6.
679. Centers for Disease Control and Prevention. 1993 Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1993; 42 (RR-14): 1-93.
680. Tramont EC. The impact of syphilis on humankind. *Infect Dis Clin North Am* 2004;18(1): 101-10.
681. Centers for Disease Control and Prevention. Primary and secondary syphilis, United States, 2000-2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51(43):971-3.
682. Centers for Disease Control and Prevention. 2003 surveillance report of sexually transmitted diseases (November 15, 2004). Centers for Disease Control and Prevention; 2004.
683. Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance report of sexually transmitted diseases (1993). Centers for Disease Control and Prevention; 1994. Available online: <http://wonder.cdc.gov/wonder/std/ostd3011.pcw.html>

684. Groseclose SL, Brathwaite WS, Hall PA, Connor FJ, Sharp P, Anderson WJ, et al. Summary of notifiable diseases, United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004;51(53): 1-84.
685. Groseclose SL, Brathwaite WS, Hall PA, Knowles CM, Adams DA, Connor F, et al. Summary of notifiable diseases, United States, 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;49(53): 1-102.
686. Groseclose SL, Hall PA, Knowles CM, Adams DA, Park S, Perry F, et al. Summary of notifiable diseases, United States, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001;48(53): 1-104.
687. Centers for Disease Control and Prevention. Primary and secondary syphilis-United States, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001;50(7): 113-7.
688. Centers for Disease Control and Prevention. Primary and secondary syphilis-United States, 2000-2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51(43): 971-3.
689. Department of Health and Human Services. Two Volumes, Healthy People 2010: With Understanding and Improving Health and Objectives for Improving Health. Washington, DC, United States Government Printing Office, 2000.
690. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK, editors. Oral pathology: clinical pathologic correlations. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2003.
691. Baustian GH, Kabongo ML, Jones RC, Opal SM, Mondy KE. Syphilis. Available online: <http://www.firstconsult.com/syphilis>

692. Consult M. Syphilis. Available online: <http://www.mdconsult.com/syphilis>
693. Barrett AW, Villarroel Dorrego M, Hodgson TA, Porter SR, Hopper C, Argiriadou AS, et al. The histopathology of syphilis of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 2004; 33(5): 286-91.
694. Brown DL, Frank JE. Diagnosis and management of syphilis. *Am Fam Physician* 2003; 68(2): 283-90.
695. Ferri FF. Ferri's clinical advisor: instant diagnosis and treatment. St Louis: Mosby; 2005.
696. Dobson S. Congenital syphilis resurgent. *Adv Exp Med Biol* 2004; 549: 35-40.
697. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for infection control in dental health-care settings. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2003;52(RR-17): 1-5.
698. Centers for Disease Control and Prevention. Centers for Disease Control: Recommended infection-control practices for dentistry. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1993;41(RR-8): 1-12.
699. Lee JY, Lee ES. Erythema multiforme-like lesions in syphilis. *Br J Dermatol* 2003;149(3): 658-60.
700. Tang MB, Yosipovitch G, Tan SH. Secondary syphilis presenting as a lichen planus-like rash. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; 18(2):185-7.
701. Neville BW. Oral & maxillofacial pathology. 2nd ed. St. Louis: Mosby; 2002.

702. Scully C, Bagan J. Oral mucosal diseases: Erythema multiforme. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2008; 46: 90-95
703. Farthing P, Bagan JV, Scully C. Mucosal disease series. Number IV. Erythema multiforme. *Oral Dis* 2005;11:261-7.
704. Hussain W, Craven NM. Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. *Clin Med* 2005;5:555-8.
705. Carrozzo M, Togliatto M, Gandolfo S. Eritema multiforme. Un fenotipo patologico eterogeneo. *Minerva Stomatol* 1999;48:217-26.
706. Farthing PM, Maragou P, Coates M, Tatnall F, Leigh IM, Williams DM. Characteristics of the oral lesions in patients with cutaneous recurrent erythema multiforme. *J Oral Pathol Med* 1995;24:9-13.
707. Leigh IM, Mowbray JF, Levene GM, Sutherland S. Recurrent and continuous erythema multiforme—a clinical and immunological study. *Clin Exp Dermatol* 1985;10:58-67.
708. Huff JC, Weston WL. Recurrent erythema multiforme. *Medicine (Baltimore)* 1989;68:133-40.
709. Brice SL, Krzemien D, Weston WL, Huff JC. Detection of herpes simplex virus DNA in cutaneous lesions of erythema multiforme. *J Invest Dermatol* 1989;93:183-7.
710. Darragh TM, Egbert BM, Berger TG, Yen TS. Identification of herpes simplex virus DNA in lesions of erythema multiforme by the polymerase chain reaction. *J Am Acad Dermatol* 1991;24:23–6.
711. Aslanzadeh J, Helm KF, Espy MJ, Muller SA, Smith TF. Detection of HSV-specific DNA in biopsy tissue of patients with

- erythema multiforme by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 1992;126:19-23.
712. Miura S, Smith CC, Burnett JW, Aurelian L. Detection of viral DNA within skin of healed recurrent herpes simplex infection and erythema multiforme lesions. *J Invest Dermatol* 1992;98:68-72.
713. Imafuku S, Kokuba H, Aurelian L, Burnett J. Expression of herpes simplex virus DNA fragments located in epidermal keratinocytes and germinative cells is associated with the development of erythema multiforme lesions. *J Invest Dermatol* 1997;109:550-6.
714. Sun Y, Chan RK, Tan SH, Ng PP. Detection and genotyping of human herpes simplex viruses in cutaneous lesions of erythema multiforme by nested PCR. *J Med Virol* 2003;71:423-8.
715. Scully C, Bagan JV. Adverse drug reactions in the orofacial region. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:221-39.
716. Diz Dios P, Scully C. Adverse effects of antiretroviral therapy: focus on orofacial effects. *Expert Opin Drug Saf* 2002;1:307-17.
717. Stewart MG, Duncan III NO, Franklin DJ, Friedman EM, Sulek M. Head and neck manifestations of erythema multiforme in children. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;111:236-42.
718. Wohrl S, Loewe R, Pickl WF, Stingl G, Wagner SN. EMPACT syndrome. *J Dtsch Dermatol Ges* 2005;3:39-43.
719. Malmstrom M, Ruukonen H, Kontinen YT, Bergroth V, Segerberg- Kontinen M, Hietanen J, et al. Herpes simplex virus antigens and inflammatory cells in oral lesions in recurrent erythema

- multiforme. Immunoperoxidase and autoradiographic studies. *Acta Derm Venereol* 1990;70:405-10.
720. Kokuba H, Imafuku S, Huang S, Aurelian L, Burnett JW. Erythema multiforme lesions are associated with expression of a herpes simplex virus (HSV) gene and qualitative alterations in the HSV-specific T-cell response. *Br J Dermatol* 1998;138:952-64.
721. Paul C, Wolkenstein P, Adle H, et al. Apoptosis as a mechanism of keratinocyte death in toxic epidermal necrolysis. *Br J Dermatol* 1996;134:710-4.
722. Caproni M, Torchia D, Schincaglia E, et al. The CD40/CD40 ligand system is expressed in the cutaneous lesions of erythema multiforme and Stevens–Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis spectrum. *Br J Dermatol* 2006;154:319-24.
723. Auquier-Dunant A, Mockenhaupt M, Naldi L, Correia O, Schroder W, Roujeau JC. Correlations between clinical patterns and causes of erythema multiforme majus. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: results of an international prospective study. *Arch Dermatol* 2002;138:1019-24.
724. Huff JC, Weston WL, Tonnesen MG. Erythema multiforme: a critical review of characteristics, diagnostic criteria, and causes. *J Am Acad Dermatol* 1983;8:763-75.
725. Schofield JK, Tatnall FM, Leigh IM. Recurrent erythema multiforme: clinical features and treatment in a large series of patients. *Br J Dermatol* 1993;128:542-5.

726. Conejo-Mir JS, del Canto S, Munoz MA, et al. Thalidomide as elective treatment in persistent erythema multiforme; report of two cases. *J Drugs Dermatol* 2003;2:40-4.
727. Bakis S, Zagarella S. Intermittent oral cyclosporin for recurrent herpes simplex-associated erythema multiforme. *Australas J Dermatol* 2005;46:18-20.
728. Van der Waal I, Axéll T. Oral leukoplakia: a proposal for uniform reporting. *Oral Oncology* 38;: 2002: 521–526.
729. Kramer IRH, Lucas RB, Pindborg JJ, Sobin LH. WHO Collaborating Centre for Oral Precancerous Lesions. Definition of leukopakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978;46:518-39.
730. Mehta FS, Hamner JE. Tobacco-related oral mucosal lesions and conditions in India. A guide for dental students, dentists, and physicians. Bombay: Basic Dental Research Unit, Tata Institute of Fundamental Research, 1993.
731. Batsakis JG, Suarez P, El-Naggar AK. Proliferative verrucous leukoplakia and its related lesions. *Oral Oncology* 1999;35:354-9.
732. Gupta PC, Mehta FS, Daftary DK, Pindborg JJ, Bhonste RB, Jalnawalla PN, et al. Incidence rates of oral cancer and natural history of oral precancerous lesions in a 10-year follow-up study of Indian villagers. *Community Dent Oral Epidemiol* 1980;8:283-333.
733. Sudbø J, Kildal W, Risberg B, Koppang HS, Danielsen HE, Reith A. DNA content as a prognostic marker in patients with oral leukoplakia. *N Engl J Med* 2001;344:1270-8.

734. Cruz IB, Snijders PJF, Meijer CJLM, Braakhuis BJ, Snow GB, Walboomers JM, et al. p53 expression above the basal cell layer in oral mucosa is an early event of malignant transformation and has predictive value for developing oral squamous cell carcinoma. *J Pathol* 1998;184:360-8.
735. Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN, Mao L, Lotan R, Shin DM, et al. Predicting cancer development in oral leukoplakia: ten years of translation research. *Clin Cancer Res* 2000;6:1702-10.
736. Oliver RJ, MacDonald DG, Felix DH. Aspects of cell proliferation in oral dysplastic lesions. *J Oral Pathol Med* 2000;29:49-55.
737. Karabalut A, Reibel J, Therkildsen MH, Praetorius F, Nielsen HW, Dabelsteen E. Observer variability in the histologic assessment of oral premalignant lesions. *J Oral Pathol Med* 1995;24: 198-200.
738. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1981;47:207-14.
739. Van der Waal I, Schepman KP, Van der Meij EH. A modified classification and staging system for oral leukoplakia. *Oral Oncol* 2000;36:264-6.
740. Scully C. Oral precancer: preventive and medical approaches to management. *Oral Oncol, Eur J Cancer* 1995;31B:16-26.
741. IARC (2004). GLOBOCAN 2002. Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide (2002 estimates).

742. Moore S, Johnson N, Pierce A et al. The epidemiology of lip cancer: a review of global incidence and aetiology. *Oral Dis* 1999; 5: 185-195.
743. Moore SR, Johnson NW, Pierce AM et al. The epidemiology of tongue cancer: a review of global incidence. *Oral Dis* 2000; 6: 75-84.
744. Moore SR, Johnson NW, Pierce AM et al. The epidemiology of mouth cancer: a review of global incidence. *Oral Dis* 2000; 6: 65-74.
745. Scully C, Moles D. Oral cancer. In: Heggenhougen KH, Quah S, eds *Encyclopedia of public health*. Vol 4. San Diego, CA: Academic Press, 2008 pp. 668-677.
746. Scully C, Bedi R. Ethnicity and oral cancer. *Lancet Oncol* 2000; 1: 37-42.
747. Bray F, Sankila R, Ferlay J et al. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. *Eur J Cancer* 2002; 38: 99-166.
748. La Vecchia C, Lucchini F, Negri E et al. Trends in oral cancer mortality in Europe. *Oral Oncol* 2004; 40: 433-439.
749. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol*. 2008 Sep 17.
750. Scully C, Field JK, Tanzawa H. Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma (SCCHN): 1. Carcinogen metabolism, DNA repair and cell cycle control. *Oral Oncol* 2000; 36: 256-263.
751. Scully C, Field JK, Tanzawa H. Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma 2: chromosomal aberrations. *Oral Oncol* 2000; 36: 311-327.

752. Scully C, Field JK, Tanzawa H. Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma 3: clinicopathological applications. *Oral Oncol* 2000; 36: 404-413.
753. Patel V, Leethanakul C, Gutkind JS. New approaches to the understanding of the molecular basis of oral cancer. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001. 12: 55-63.
754. Reibel J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14: 47-62.
755. Brinkman BM, Wong DT. Disease mechanism and biomarkers of oral squamous cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2006; 18: 228-233.
756. Mithani SK, Mydlarz WK, Grumbine FL et al. Molecular genetics of premalignant oral lesions. *Oral Dis* 2007; 13: 126-133.
757. Haddad RI, Shin DM. Recent advances in head and neck cancer. *New Engl J Med* 2008; 359: 1143-1154.
758. Vallecillo-Capilla M, Romero Olid MN, Olmedo Gaya MV et al. Factors related to survival from oral cancer in an Andalusian population sample (Spain). *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12: E518-E523.
759. Hirota SK, Braga FP, Penha SS et al. Risk factors for oral squamous cell carcinoma in young and older Brazilian patients: a comparative analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008; 13: E227-E231.
760. Johnson N. Tobacco use and oral cancer: a global perspective. *J Dent Educ* 2001; 65: 328-339.

761. Warnakulasuriya KA, Ralhan R. Clinical, pathological, cellular and molecular lesions caused by oral smokeless tobacco-a review. *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 63-77.
762. Vigneswaran N, Tilashalski K, Rodu B et al. Tobacco use and cancer. A reappraisal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 80: 178-182.
763. Boffetta P, Hecht S, Gray N et al. Smokeless tobacco and cancer. *Lancet Oncol* 2008; 9: 667-675.
764. Brunnemann KD, Prokopczyk B, Djordjevic MV et al. Formation and analysis of tobacco-specific N-nitrosamines. *Crit Rev Toxicol* 1996; 26: 121-137.
765. Hoffmann D, Hoffmann I. The changing cigarette, 1950-1995. *J Toxicol Environ Health* 1997; 50: 307-364.
766. Muwonge R, Ramadas K, Sankila R et al. Role of tobacco smoking, chewing and alcohol drinking in the risk of oral cancer in Trivandrum, India: a nested case-control design using incident cancer cases. *Oral Oncol* 2008; 44: 446-454.
767. Cogliano V, Straif K, Baan R et al. Smokeless tobacco and tobacco-related nitrosamines. *Lancet Oncol* 2004; 5: 708.
768. Merchant A, Husain SS, Hosain M et al. Paan without tobacco: an independent risk factor for oral cancer. *Int J Cancer* 2000; 86: 128-131.
769. Jacob BJ, Straif K, Thomas G et al. Betel quid without tobacco as a risk factor for oral precancers. *Oral Oncol* 2004; 40: 697-704.

770. Carpenter JM, Syms MJ, Sniezek JC. Oral carcinoma associated with betel nut chewing in the Pacific: an impending crisis? *Pac Health Dialog* 2005; 12: 158-162.
771. Guh JY, Chen HC, Tsai JF et al. Betel-quid use is associated with heart disease in women. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1229-1235.
772. Thomas SJ, Bain CJ, Battistutta D et al. Betel quid not containing tobacco and oral cancer: a report on a case-control study in Papua New Guinea and a meta-analysis of current evidence. *Int J Cancer* 2007; 120: 1318-1323.
773. Thomas SJ, Harris R, Ness AR et al. Betel quid not containing tobacco and oral leukoplakia: a report on a cross-sectional study in Papua New Guinea and a metaanalysis of current evidence. *Int J Cancer* 2008. 123: 1871-1876.
774. Reichart PA, Nguyen XH. Betel quid chewing, oral cancer and other oral mucosal diseases in Vietnam: a review. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 511-514.
775. Chen YJ, Chang JT, Liao CT et al. Head and neck cancer in the betel quid chewing area: recent advances in molecular carcinogenesis. *Cancer Sci* 2008; 99: 1507-1514.
776. Park S, Bae J, Nam BH et al. Aetiology of cancer in Asia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008. 9: 371-380.
777. Takeshima M, Saitoh M, Kusano K et al. High frequency of hypermethylation of p14, p15 and p16 in oral pre-cancerous lesions associated with betel-quid chewing in Sri Lanka. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 475-479.

778. Tsai YS, Lee KW, Huang JL et al. Arecoline, a major alkaloid of areca nut, inhibits p53, represses DNA repair, and triggers DNA damage response in human epithelial cells. *Toxicology* 2008; 249: 230-237.
779. Cheong SC, Chandramouli GV, Saleh A et al. Gene expression in human oral squamous cell carcinoma is influenced by risk factor exposure. *Oral Oncol.* 2009. Jan 13.
780. Fasanmade A, Kwok E, Newman L. Oral squamous cell carcinoma associated with khat chewing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104: e53-e55.
781. Sawair FA, Al-Mutwakel A, Al-Eryani K et al. High relative frequency of oral squamous cell carcinoma in Yemen: qat and tobacco chewing as its aetiological background. *Int J Environ Health Res* 2007; 17: 185-195.
782. Hashibe M, Straif K, Tashkin DP et al. Epidemiologic review of marijuana use and cancer risk. *Alcohol* 2005; 35: 265-275.
783. Boccia S, Hashibe M, Gallì P et al. Aldehyde dehydrogenase 2 and head and neck cancer: a meta-analysis implementing a Mendelian randomization approach. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 248-254.
784. Pelucchi C, Gallus S, Garavello W et al. Alcohol and tobacco use, and cancer risk for upper aerodigestive tract and liver. *Eur J Cancer Prev* 2008; 17: 340-344.

785. McCullough MJ, Farah CS. The role of alcohol in oral carcinogenesis with particular reference to alcohol-containing mouthwashes. *Aust Dent J* 2008; 53: 302-305.
786. La Vecchia C. Mouthwash and oral cancer risk: an update. *Oral Oncol* 2009; 45: 198-200.
787. Hashibe M, Brennan P, Chuang SC et al. Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 541-550.
788. Seitz HK, Cho CH. Contribution of alcohol and tobacco use in gastrointestinal cancer development. *Methods Mol Biol* 2009; 472: 217-241.
789. Rodriguez T, Altieri A, Chatenoud L et al. Risk factors for oral and pharyngeal cancer in young adults. *Oral Oncol* 2004; 40: 207-213.
790. Petti S. Lifestyle risk factors for oral cancer. *Oral Oncol* 2008.
791. Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KA. Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people-a comprehensive literature review. *Oral Oncol* 2001; 37: 401-418.
792. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007; 356: 1944-1956.
793. Scully C. Oral squamous cell carcinoma; from an hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission. *Oral Oncol* 2002; 38: 227-234.

794. Scully C. Oral cancer; the evidence for sexual transmission. *Br Dent J* 2005; 199: 203-207.
795. Haddad R, Crum C, Chen Z et al. HPV16 transmission between a couple with HPV-related head and neck cancer. *Oral Oncol* 2008; 44: 812-815.
796. Shillitoe EJ. The role of viruses in squamous cell carcinoma of the oropharyngeal mucosa. *Oral Oncol*. 2008; Oct 24.
797. Zheng TZ, Boyle P, Hu HF et al. Dentition, oral hygiene, and risk of oral cancer: a case-control study in Beijing, People's Republic of China. *Cancer Causes Control* 1990; 1: 235-241.
798. Dye BA, Wang R, Lashley R et al. Using NHANES oral health examination protocols as part of an esophageal cancer screening study conducted in a high-risk region of China. *BMC Oral Health* 2007; 17: 7-10.
799. Guha N, Boffetta P, Wünsch Filho V et al. Oral health and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck and esophagus: results of two multicentric case-control studies. *Am J Epidemiol* 2007; 166: 1159-1173.
800. Abnet CC, Kamangar F, Islami F et al. Tooth loss and lack of regular oral hygiene are associated with higher risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 3062-3068.
801. Holmes L Jr, Desvignes-Kendrick M, Slomka J et al. Is dental care utilization associated with oral cavity cancer in a large sample of

community-based United States residents? *Community Dent Oral Epidemiol* 2008: Nov19.

802. Meyer MS, Joshipura K, Giovannucci E et al. A review of the relationship between tooth loss, periodontal disease, and cancer. *Cancer Causes Control* 2008: 19: 895-907.

803. Tezal M, Sullivan MA, Reid ME et al. Chronic periodontitis and the risk of tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007: 133: 450-454.

804. Bloching M, Reich W, Schubert J et al. The influence of oral hygiene on salivary quality in the Ames Test, as a marker for genotoxic effects. *Oral Oncol* 2007: 43: 933-939.

805. Kurkivuori J, Salaspuro V, Kaihovaara P et al. Acetaldehyde production from ethanol by oral streptococci. *Oral Oncol* 2007: 43: 181-186.

806. Muto M, Hitomi Y, Ohtsu A et al. Cetaldehyde production by non-pathogenic Neisseria in human oral microflora: implications for carcinogenesis in upper aerodigestive tract. *Int J Cancer* 2000: 88: 342-350.

807. Dikshit RP, Ramadas K, Hashibe M et al. Association between diabetes mellitus and pre-malignant oral diseases: a cross sectional study in Kerala, India. *Int J Cancer* 2006: 118: 453-457.

808. Goutzanis L, Vairaktaris E, Yapijakis C et al. Diabetes may increase risk for oral cancer through the insulin receptor substrate-1 and focal adhesion kinase pathway. *Oral Oncol* 2007: 43: 165-173.

809. Pavia M, Pileggi C, Nobile CG et al. Association between fruit and vegetable consumption and oral cancer: a metaanalysis of observational studies. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1126-1134.
810. Zain RB. Cultural and dietary risk factors of oral cancer and precancer-a brief overview. *Oral Oncol* 2001; 37: 205-210.
811. Winn DM. Diet and nutrition in the etiology of oral cancer. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 437S-445S.
812. Garavello W, Giordano L, Bosetti C et al. Diet diversity and the risk of oral and pharyngeal cancer. *Eur J Nutr* 2008; 47: 280-284.
813. Suzuki T, Wakai K, Matsuo K et al. Effect of dietary antioxidants and risk of oral, pharyngeal and laryngeal squamous cell carcinoma according to smoking and drinking habits. *Cancer Sci* 2006; 97: 760-767.
814. Pelucchi C, Talamini R, Negri E et al. Folate intake and risk of oral and pharyngeal cancer. *Ann Oncol* 2003; 14: 1677-1681.
815. Richie JP Jr, Kleinman W, Marina P et al. Blood iron, glutathione, and micronutrient levels and the risk of oral cancer. *Nutr Cancer* 2008; 60: 474-482.
816. Rossi M, Garavello W, Talamini R et al. Flavonoids and the risk of oral and pharyngeal cancer: a case-control study from Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 1621-1625.
817. Sapkota A, Hsu CC, Zaridze D et al. Dietary risk factors for squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract in central and eastern Europe. *Cancer Causes Control* 2008; 19: 1161-1170.

818. Boccia S, Cadoni G, Sayed-Tabatabaei FA et al. CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 exons 3 and 4, and NAT2 polymorphisms, smoking, consumption of alcohol and fruit and vegetables and risk of head and neck cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 93-100.
819. Maserejian NN, Giovannucci E, Rosner B et al. Prospective study of fruits and vegetables and risk of oral premalignant lesions in men. *Am J Epidemiol* 2006; 164: 556-566.
820. Maserejian NN, Giovannucci E, Rosner B et al. Prospective study of vitamins C, E, and A and carotenoids and risk of oral premalignant lesions in men. *Int J Cancer* 2007; 120: 970-977.
821. Scully C. Oral precancer: preventive and medical approaches to management. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1995; 31B: 16-26.
822. Scheer M, Kuebler AC, Zöller JE. Chemoprevention of oral squamous cell carcinomas. *Onkologie* 2004; 27: 187-193.
823. Brown KS, Kane MA. Chemoprevention of squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Otolaryngol Clin North Am* 2006; 39: 349-363.
824. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol* 2008; Jul 30.
825. Roepman P, Wessels LF, Kettelarij N et al. An expression profile for diagnosis of lymph node metastases from primary head and neck squamous cell carcinomas. *Nat Genet* 2005; 37: 182-186.

826. Fialka F, Gruber RM, Hitt R et al. CPA6, FMO2, LGI1, SIAT1 and TNC are differentially expressed in early and late-stage oral squamous cell carcinoma—a pilot study. *Oral Oncol* 2008; 44: 941-948.
827. Bagan JV, Scully C. Recent advances in Oral Oncology 2008; squamous cell carcinoma aetiopathogenesis and experimental studies. *Oral Oncol*. 2009: Feb 2.
828. Angiero F, Berenzi A, Benetti A et al. Expression of p16, p53 and Ki-67 proteins in the progression of epithelial dysplasia of the oral cavity. *Anticancer Res* 2008; 28: 2535-2539.
829. Chiang WF, Liu SY, Yen CY et al. Association of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene copy number amplification with neck lymph node metastasis in carcinoma-associated oral carcinomas. *Oral Oncol* 2008; 44: 270-276.
830. Glazer CA, Chang SS, Ha PK et al. Applying the molecular biology and epigenetics of head and neck cancer in everyday clinical practice. *Oral Oncol*. 2008: Jul 30.
831. Ha PK, Chang SS, Glazer CA et al. Molecular techniques and genetic alterations in head and neck cancer. *Oral Oncol*. 2008: Jul 30.
832. Sun W, Zhou S, Chang SS et al. Mitochondrial mutations contribute to HIF1alpha accumulation via increased reactive oxygen species and up-regulated pyruvate dehydrogenase kinase 2 in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 476-484.
833. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257.

834. Drummond SN, De Marco L, Pordeus Ide A et al. TP53 codon 72 polymorphism in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2002; 22: 3379-3381.
835. Izzo JG, Papadimitrakopoulou VA, Liu DD et al. Cyclin D1 genotype, response to biochemoprevention, and progression rate to upper aerodigestive tract cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 198-205.
836. Ye Y, Lippman SM, Lee JJ et al. Genetic variations in cell-cycle pathway and the risk of oral premalignant lesions. *Cancer* 2008; 113: 2488-2495.
837. Duarte EC, Ribeiro DC, Gomez MV et al. Genetic polymorphisms of carcinogen metabolizing enzymes are associated with oral leukoplakia development and p53 overexpression. *Anticancer Res* 2008; 28: 1101-1106.
838. Losi-Guembarovski R, Còlus IM, De Menezes RP et al. Lack of association among polymorphic xenobiotic- metabolizing enzyme genotypes and the occurrence and progression of oral carcinoma in a Brazilian population. *Anticancer Res* 2008; 28: 1023-1028.
839. Yokoyama A, Tsutsumi E, Imazeki H et al. Contribution of the alcohol dehydrogenase-1B genotype and oral microorganisms to high salivary acetaldehyde concentrations in Japanese alcoholic men. *Int J Cancer* 2007; 121: 1047-1054.
840. Bouchardy C, Hirvonen A, Coutelle C et al. Role of alcohol dehydrogenase 3 and cytochrome P-4502E1 genotypes in susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *Int J Cancer* 2000; 87: 734-740.

841. Schwartz SM, Doody DR, Fitzgibbons ED et al. Oral squamous cell cancer risk in relation to alcohol consumption and alcohol dehydrogenase-3 genotypes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 1137-1144.
842. Zavras AI, Wu T, Laskaris G et al. Interaction between a single nucleotide polymorphism in the alcohol dehydrogenase 3 gene, alcohol consumption and oral cancer risk. *Int J Cancer* 2002; 97: 526-530.
843. Seitz HK, Stickel F. Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 599-612.
844. Hashibe M, McKay JD, Curado MP et al. Multiple ADH genes are associated with upper aerodigestive cancers. *Nat Genet* 2008; 40: 707-709.
845. Yokoyama A, Omori T. Genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases and risk for esophageal and head and neck cancers. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33: 111-121.
846. Matsuda T, Yabushita H, Kanaly RA et al. Increased DNA damage in ALDH2-deficient alcoholics. *Chem Res Toxicol* 2006; 19: 1374-1378.
847. Asakage T, Yokoyama A, Haneda T et al. Genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases, and drinking, smoking and diet in Japanese men with oral and pharyngeal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2007; 28: 865-874.
848. Yokoyama A, Tsutsumi E, Imazeki H et al. Salivary acetaldehyde concentration according to alcoholic beverage consumed

- and aldehyde dehydrogenase-2 genotype. *Alcohol Clin Exp Res* 2008; 32: 1607-1614.
849. Solomon PR, Selvam GS, Shanmugam G. Polymorphism in ADH and MTHFR genes in oral squamous cell carcinoma of Indians. *Oral Dis* 2008; 14: 633-639.
850. Boccia S, Boffetta P, Brennan P et al. Meta-analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and risk of head and neck and lung cancer. *Cancer Lett* 2009; 273: 55-61.
851. Buch SC, Nazar-Stewart V, Weissfeld JL et al. Case-control study of oral and oropharyngeal cancer in whites and genetic variation in eight metabolic enzymes. *Head Neck* 2008; 30: 1139-1147.
852. Hein DW, Doll MA, Fretland AJ et al. Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 29-42.
853. Patel BP, Rawal UM, Rawal RM et al. Tobacco, antioxidant enzymes, oxidative stress, and genetic susceptibility in oral cancer. *Am J Clin Oncol* 2008; 31: 454-459.
854. Zhuo W, Wang Y, Zhuo X et al. CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and oral cancer risk: association studies via evidence-based meta-analyses. *Cancer Invest* 2009; 27: 86-95.
855. Hatagima A, Costa EC, Marques CF et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and oral cancer: a case-control study in Rio de Janeiro, Brazil. *Oral Oncol* 2008; 44: 200-207.

856. Varela-Lema L, Taioli E, Ruano-Ravina A et al. Metaanalysis and pooled analysis of GSTM1 and CYP1A1 polymorphisms and oral and pharyngeal cancers: a HuGEGSEC review. *Genet Med* 2008; 10: 369-384.
857. Datta S, Majumder M, Biswas NK et al. Increased risk of oral cancer in relation to common Indian mitochondrial polymorphisms and Autosomal GSTP1 locus. *Cancer* 2007; 110: 1991-1999.
858. Wang Y, Spitz MR, Lee JJ et al. Nucleotide excision repair pathway genes and oral premalignant lesions. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 3753-3758.
859. Chiu CF, Tsai MH, Tseng HC et al. A novel single nucleotide polymorphism in ERCC6 gene is associated with oral cancer susceptibility in Taiwanese patients. *Oral Oncol* 2008; 44: 582-586.
860. Chiu CF, Tsai MH, Tseng HC et al. A novel single nucleotide polymorphism in XRCC4 gene is associated with oral cancer susceptibility in Taiwanese patients. *Oral Oncol* 2008; 44: 898-902.
861. Marques CF, Koifman S, Koifman RJ et al. Influence of CYP1A1, CYP2E1, GSTM3 and NAT2 genetic polymorphisms in oral cancer susceptibility: results from a case– control study in Rio de Janeiro. *Oral Oncol* 2006; 42: 632-637.
862. Majumder M, Sikdar N, Ghosh S et al. Polymorphisms at XPD and XRCC1 DNA repair loci and increased risk of oral leukoplakia and cancer among NAT2 slow acetylators. *Int J Cancer* 2007; 120: 2148-2156.

863. Serefoglou Z, Yapijakis C, Nkenke E et al. Genetic association of cytokine DNA polymorphisms with head and neck cancer. *Oral Oncol* 2008; 44: 1093-1099.
864. Gupta R, Sharma SC, Das SN. Association of TNFalpha and TNFR1 promoters and 3' UTR region of TNFR2 gene polymorphisms with genetic susceptibility to tobacco-related oral carcinoma in Asian Indians. *Oral Oncol* 2008; 44: 455-463.
865. Pu X, Lippman SM, Yang H et al. Cyclooxygenase-2 gene polymorphisms reduce the risk of oral premalignant lesions. *Cancer* 2009; Feb 5.
866. Lin YC, Huang HI, Wang LH et al. Polymorphisms of COX-2-765G>C and p53 codon 72 and risks of oral squamous cell carcinoma in a Taiwan population. *Oral Oncol* 2008; 44: 798-804.
867. Lingen MW, Kalmar JR, Karrison T et al. Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral Oncol* 2008; 44: 10-22.
868. Trullenque-Eriksson A, Muñoz-Corcuera M, Campo-Trapero J et al. Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009; Feb 16.
869. Guo Z, Yamaguchi K, Sanchez-Cespedes M et al. Allelic losses in OraTest-directed biopsies of patients with prior upper aerodigestive tract malignancy. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1963-1968.
870. Zhang L, Williams M, Poh CF et al. Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. *Cancer Res* 2005; 65: 8017- 8021.

871. Abbey LM, Kaugars GE, Gunsolley JC et al. Intraexaminer and interexaminer reliability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 80: 188-191.
872. Karabulut A, Reibel J, Therkildsen MH et al. Observer variability in the histologic assessment of oral premalignant lesions. *J Oral Pathol Med* 1995; 24: 198-200.
873. Fischer DJ, Epstein JB, Morton TH et al. Interobserver reliability in the histopathologic diagnosis of oral pre-malignant and malignant lesions. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 65-70.
874. Fischer DJ, Epstein JB, Morton TH Jr et al. Reliability of histologic diagnosis of clinically normal intraoral tissue adjacent to clinically suspicious lesions in former upper aerodigestive tract cancer patients. *Oral Oncol* 2005; 41: 489-496.
875. Boldrup L, Coates PJ, Hedberg Y et al. Expression of p63, COX-2, EGFR and beta-catenin in smokers and patients with squamous cell carcinoma of the head and neck reveal variations in non-neoplastic tissue and no obvious changes in smokers. *Int J Oncol* 2005; 27: 1661-1667.
876. Gabriel HE, Crott JW, Ghandour H et al. Chronic cigarette smoking is associated with diminished folate status, altered folate form distribution, and increased genetic damage in the buccal mucosa of healthy adults. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 835-841.
877. Proia NK, Paszkiewicz GM, Nasca MA et al. Smoking and smokeless tobacco-associated human buccal cell mutations and their

association with oral cancer – a review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1061-1077.

878. Sanz-Ortega J, Roig F, Al-Mousa MM et al. 17p13 (p53 locus), 5q21 (APC locus) and 9p21 (p16 locus) allelic deletions are frequently found in oral exfoliative cytology cells from smoker patients with non-small-cell lung cancer. *Histol Histopathol* 2007; 22: 541-545.

879. Sridhar S, Schembri F, Zeskind J et al. Smoking-induced gene expression changes in the bronchial airway are reflected in nasal and buccal epithelium. *BMC Genomics* 2008; 9: 259.

880. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953; 6: 963-968.

881. Thomson PJ, Hamadah O. Cancerisation within the oral cavity: the use of field mapping biopsies' in clinical management. *Oral Oncol* 2007; 43: 20-26.

882. Lippman SM, Hong WK. Second malignant tumors in head and neck squamous cell carcinoma: the overshadowing threat for patients with early-stage disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 17: 691-694.

883. Califano J, Westra WH, Meininger G et al. Genetic progression and clonal relationship of recurrent premalignant head and neck lesions. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 347-352.

884. Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA et al. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 2003; 63: 1727-1730.

885. Braakhuis BJ, Leemans CR, Brakenhoff RH. A genetic progression model of oral cancer: current evidence and clinical implications. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 317-322.
886. Braakhuis BJ, Brakenhoff RH, Leemans CR. Head and neck cancer: molecular carcinogenesis. *Ann Oncol* 2005; 16(Suppl 2): ii249-ii250.
887. Braakhuis BJ, Leemans CR, Brakenhoff RH. Expanding fields of genetically altered cells in head and neck squamous carcinogenesis. *Semin Cancer Biol* 2005; 15: 113-120.
888. Tabor MP, Brakenhoff RH, Ruijter-Schippers HJ et al. Genetically altered fields as origin of locally recurrent head and neck cancer: a retrospective study. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3607-3613.
889. Chiesa F, Sala L, Costa L et al. Excision of oral leukoplakias by CO₂ laser on an out-patient basis: a useful procedure for prevention and early detection of oral carcinomas. *Tumori* 1986; 72: 307-312.
890. Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J et al. Oral premalignant lesions: is a biopsy reliable? *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 262-266.
891. Van Houten VM, Tabor MP, van den Brekel MW et al. Molecular assays for the diagnosis of minimal residual head-and-neck cancer: methods, reliability, pitfalls, and solutions. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3803-3816.
892. Van Houten VM, van den Brekel MW, Denkers F et al. Molecular diagnosis of head and neck cancer. *Recent Results Cancer Res* 2000; 157: 90-106.

893. Cruz IB, Snijders PJ, Meijer CJ et al. p53 expression above the basal cell layer in oral mucosa is an early event of malignant transformation and has predictive value for developing oral squamous cell carcinoma. *J Pathol* 1998; 184: 360-368.
894. Warnakulasuriya S. Lack of molecular markers to predict malignant potential of oral precancer. *J Pathol* 2000; 190: 407-409.
895. Brennan JA, Mao L, Hruban RH et al. Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 1995; 332: 429-435.
896. Bilde A, von Buchwald C, Dabelsteen E et al. Molecular markers in the surgical margin of oral carcinomas. *J Oral Pathol Med* 2009; 38: 72-78.
897. Ball VA, Righi PD, Tejada E et al. p53 immunostaining of surgical margins as a predictor of local recurrence in squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Ear Nose Throat J* 1997; 76: 818–823.
898. Shaw RJ, Liloglou T, Rogers SN et al. Promoter methylation of P16, RARbeta, E-cadherin, cyclin A1 and cytoglobin in oral cancer: quantitative evaluation using pyrosequencing. *Br J Cancer* 2006; 94: 561-568.
899. Shaw RJ, Hall GL, Woolgar JA et al. Quantitative methylation analysis of resection margins and lymph nodes in oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2007; 45: 617-622.
900. Santhi WS, Sebastian P, Varghese BT et al. NF-kappaB and COX-2 during oral tumorigenesis and in assessment of minimal

residual disease in surgical margins. *Exp Mol Pathol* 2006; 81: 123-130.

901. Tjebbes GW, Leppers vd Straat FG, Tilanus MG et al. p53 tumor suppressor gene as a clonal marker in head and neck squamous cell carcinoma: p53 mutations in primary tumor and matched lymph node metastases. *Oral Oncol* 1999; 35: 384-389.

902. Cortesina G, Martone T, Galeazzi E et al. Staging of head and neck squamous cell carcinoma using the MET oncogene product as marker of tumor cells in lymph node metastases. *Int J Cancer* 2000; 89: 286-292.

903. Mutirangura A, Supiyaphun P, Trirekapan S et al. Telomerase activity in oral leukoplakia and head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 1996; 56: 3530-3533.

904. Kannan S, Tahara H, Yokozaki H et al. Telomerase activity in premalignant and malignant lesions of human oral mucosa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 413-420.

905. Thongprasom K, Mutirangura A, Cheerat S. Telomerase activity in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1998; 27: 395-398.

906. Sumida T, Hamakawa H, Sogawa K et al. Telomerase components as a diagnostic tool in human oral lesions. *Int J Cancer* 1999; 80: 1-4.

907. Kim HR, Christensen R, Park NH et al. Elevated expression of hTERT is associated with dysplastic cell transformation during human oral carcinogenesis in situ. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3079-3086.

908. Luzar B, Poljak M, Marin IJ et al. Human telomerase catalytic subunit gene re-expression is an early event in oral carcinogenesis. *Histopathology* 2004; 45: 13-19.
909. Yajima Y, Noma H, Furuya Y et al. Quantification of telomerase activity of regions unstained with iodine solution that surround oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2004; 40: 314-320.
910. Derka S, Vairaktaris E, Papakosta V et al. Cell proliferation and apoptosis culminate in early stages of oral oncogenesis. *Oral Oncol* 2006; 42: 540-550.
911. Hamidi S, Salo T, Kainulainen T et al. Expression of alpha(v)beta6 integrin in oral leukoplakia. *Br J Cancer* 2000; 82: 1433-1440.
912. Diniz-Freitas M, Garcia-Caballero T, Antùnez-Lòpez J et al. Reduced E-cadherin expression is an indicator of unfavourable prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2006; 42: 190-200.
913. Kuratomi Y, Kumamoto M, Kidera K et al. Diffuse expression of laminin gamma2 chain in disseminating and infiltrating cancer cells indicates a highly malignant state in advanced tongue cancer. *Oral Oncol* 2006; 42: 73-76.
914. MATHÈ M, Suba Z, Németh Z et al. Stromal syndecan-1 expression is an adverse prognostic factor in oral carcinomas. *Oral Oncol* 2006; 42: 493-500.

915. Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN et al. Predicting cancer development in oral leukoplakia: ten years of translational research. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1702-1710.
916. Scully C, Sudbø J, Speight PM. Progress in determining the malignant potential of oral lesions. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 251-256.
917. Hu S, Li Y, Wang J, Xie Y et al. Human saliva proteome and transcriptome. *J Dent Res* 2006; 85: 1129-1133.
918. Hu S, Loo JA, Wong DT. Human saliva proteome analysis. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1098: 323-329.
919. Hu S, Arellano M, Boontheung P et al. Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6246-6252.
920. Wong DT. Salivary diagnostics for oral cancer. *J Calif Dent Assoc* 2006; 34: 303-308.
921. Park NJ, Zhou X, Yu T et al. Characterization of salivary RNA by cDNA library analysis. *Arch Oral Biol* 2007; 52: 30-35.
922. Viet CT, Jordan RC, Schmidt BL. DNA promoter hypermethylation in saliva for the early diagnosis of oral cancer. *J Calif Dent Assoc* 2007; 35: 844-849.
923. Zimmermann BG, Park NJ, Wong DT. Genomic targets in saliva. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1098: 184-191
924. Xie H, Onsongo G, Popko J et al. Proteomics analysis of cells in whole saliva from oral cancer patients via value-added three-

dimensional peptide fractionation and tandem mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics* 2008; 7: 486-498.

925. Wang J, Henry S, Yu T et al. Salivary oral cancer transcriptome biomarkers (SOCTB) for clinical detection; 35th Annual Meeting of the American Association for Dental Research. 2006: Abstract #218.

926. Franzmann EJ, Weed DT, Civantos FJ et al. A novel CD44 v3 isoform is involved in head and neck squamous cell carcinoma progression. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 124: 426-432.

927. Reategui EP, de Mayolo AA, Das PM et al. Characterization of CD44v3-containing isoforms in head and neck cancer. *Cancer Biol Ther* 2007; 5: 1163-1168.

928. Franzmann EJ, Reategui EP, Carraway KL et al. Salivary soluble CD44: a potential molecular marker for head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 735-739.

929. Bahar G, Feinmesser R, Shpitzer T et al. Salivary analysis in oral cancer patients: DNA and protein oxidation, reactive nitrogen species, and antioxidant profile. *Cancer* 2007; 109: 54-59.

930. Giebutowicz J, Wroczyński P, Piekarczyk J et al. Fluorimetric detection of aldehyde dehydrogenase activity in human tissues in diagnostic of cancers of oral cavity. *Acta Pol Pharm* 2008; 65: 81-84.

931. Pickering V, Jordan RC, Schmidt BL. Elevated salivary endothelin levels in oral cancer patients-a pilot study. *Oral Oncol* 2007; 43: 37-41.

932. Zhong LP, Zhang CP, Zheng JW et al. Increased Cyfra 21-1 concentration in saliva from primary oral squamous cell carcinoma patients. *Arch Oral Biol* 2007; 52: 1079-1087.
933. Shpitzer T, Bahar G, Feinmesser R et al. A comprehensive salivary analysis for oral cancer diagnosis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133: 613-617.
934. Boyle JO, Mao L, Brennan JA et al. Gene mutations in saliva as molecular markers for head and neck squamous cell carcinomas. *Am J Surg* 1994; 168: 429-432.
935. Tavassoli M, Brunel N, Maher R et al. p53 antibodies in the saliva of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Int J Cancer* 1998; 78: 390-391.
936. Li Y, St. John MA, et al. Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. *Clin Cancer Res* 2004; 10(24):8442-50, Dec.15.
937. Forde MD, Koka S, et al. Systemic assessments utilizing saliva: part 1 general considerations and current assessments. *Int J Prosthodont* 2006; 19(1):43-52.
938. Wong DT. Towards a simple, saliva-based test for the detection of oral cancer, oral fluid (saliva), which is the mirror of the body, is a perfect medium to be explored for health and disease surveillance. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; May 6(3):267-72.
939. Wong DT. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(3):313-21.

940. Pesce MA, Spitalnik SL. Saliva and the clinical pathology laboratory. *Ann N Y Acad Sci* 2007; march: 1098: 192-9.
941. Molinolo AA, Amornphimoltham P, Squarize CH et al. Dysregulated molecular networks in head and neck carcinogenesis. *Oral Oncol*. 2008; Sep 18.
942. Friedrich RE, Bartel-Friedrich S, Plambeck K et al. p53 auto-antibodies in the sera of patients with oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 1997; 17: 3183-3184.
943. Maass JD, Gottschlich S, Goeroegh T et al. Head and neck cancer and p53-immunogenicity. *Anticancer Res* 1997; 17: 2873-2874.
944. Gottschlich S, Folz BJ, Goeroegh T et al. A new prognostic indicator for head and neck cancer-p53 serum antibodies? *Anticancer Res* 1999; 19: 2703-2705.
945. Jemal A, Siegel R, et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2007; 57(1):43-66.
946. Jemal A, Siegel R, et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2008; 58(2):71-96.
947. Schantz SP, Yu GP. Head and neck cancer incidence trends in young Americans, 1973-1997, with a special analysis for tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128:268.
948. Mork J, Lie AK, et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2001; 344:1125.

949. American Cancer Society, cancer facts and figures, 2005. cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp. Accessed 2009: Sept. 8.
950. Mashberg A, Samit AM. Early detection, diagnosis, and management of oral and oropharyngeal cancer. *CA Cancer J Clin* 1989; 39:67-88.
951. Silverman S, Gorsky M. Epidemiologic and demographic update in oral cancer: California and national data, 1973-1985. *J Am Dent Assoc* 1990; 120:495-9.
952. NIH/NCI SEER cancer mortality data, 1973-2005. seer.cancer.gov/data/access.html. Accessed 2009: Sept. 8.
953. Horowitz AM. Perform a death-defying act: the 90-second oral cancer examination. *J Am Dent Assoc* 2001; 32(supplement):36s-40s.
954. Horowitz AM, Drury TF, et al. Oral pharyngeal cancer prevention and early detection. Dentists' opinions and practices. *J Am Dent Assoc* 2000; April 31(4):453-62.
955. Alfano MC, Horowitz AM. Professional and community efforts to prevent morbidity and mortality from oral cancer. *J Am Dent Assoc* 2001; November 132(Suppl):24S-29S.
956. Downer MC, Jullien JA, Speight PM. An interim determination of health gain from oral cancer and precancer screening: preselecting high risk individuals. *Community Dent Health* 1998; June: 15(2):72-6.
957. American Cancer Society, California Division and Public Health Institute, California Cancer Registry. California Cancer Facts and Figures 2007. Oakland, American Cancer Society, California Division, September 2006.

958. Epstein JB, Silverman S Jr, et al. Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by visual examination, chemiluminescence and toluidine blue. *Oral Oncology* 2008; 44, 538-44.
959. Wong DT. Toward a simple, saliva-based test for the detection of oral cancer. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; May 6(3): 267-72.
960. Lingen MW, Kalmar JR, et al. Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral Oncol* 2008; 44:10-22.
961. Trullenque-Eriksson A, Muñoz-Corcuera M, et al. Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009; May: 14(5):E210-6.
962. Patton LP, Epstein JB, Kerr RA. Adjunctive techniques for oral cancer examination and lesion diagnosis: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc* 2008; 139:896-905.
963. Zhang L, Williams M, et al. Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. *Cancer Res* 2005; 65:80; 17-21.
964. Farah CS, McCullough MJ. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLite) in the visualisation of oral mucosal white lesions. *Oral Oncol* 2007; 43(8):820-4.
965. Potter TJ, Summerlin DJ, Campbell JH. Oral malignancies associated with negative transepithelial brush biopsy. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 674-7.
966. Sciubba JJ. Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. U.S.

- collaborative OralCDx study group. *J Am Dent Assoc* 1999; 130: 1445-57.
967. Rick GM. Oral brush biopsy: the problem of false positives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96:252.
968. Fedele S. Diagnostic aids in the screening of oral cancer. *Head Neck Oncol* 2009; January: 1(1):5.
969. Frist S. The oral brush biopsy: separating fact from fiction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 654-5.
970. Eisen D, Frist S. The relevance of the high-positive predictive value of the oral brush biopsy. *Oral Oncol* 2005; 41: 753-5.
971. Kennedy JC, Pottier RH. Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B* 1992; 14(4): 275-92.
972. Cassas A, Fukuda H, Battle A. Hexyl ALA ALA-based photodynamic therapy in epithelial tumors: in vivo and in vitro models. *Proc. SPIE vol. 3909: 114-23, optical methods for tumor treatment and detection: mechanisms and techniques in photodynamic therapy IX*, Dougherty TJ, ed., 2002.
973. Ebihara A, Liaw LH, et al. Detection and diagnosis of oral cancer by light-induced fluorescence. *Lasers Surg Med* 2003; 32(1): 17-24.
974. Leunig A, Rick K, et al. Fluorescence imaging and spectroscopy of 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX for the detection of neoplastic lesions in the oral cavity. *Am J Surg* 1996; 172(6): 674-7.

975. Leunig A, Mehlmann M, et al, Detection of squamous cell carcinoma of the oral cavity by imaging 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence. *Laryngoscope* 2000: 110(1):78-83
976. Leunig A, Mehlmann M, et al, Fluorescence staining of oral cancer using a topical application of 5-aminolevulinic acid: fluorescence microscopic studies. *J Photochem Photobiol B* 2001: 60(1): 44-9.
977. Chang CJ, Wilder-Smith P, Topical application of photofrin for photodynamic diagnosis of oral neoplasms. *Plast Reconstr Surg* 2005: 115(7): 1877-86.
978. Sharwani A, Jerjes W, et al. Assessment of oral premalignancy using elastic scattering spectroscopy. *Assessment of oral premalignancy using elastic scattering spectroscopy. Oral Oncology* 2006: 42(4): 343-9.
979. Rosin MP, Poh CF, et al. Visualization and other emerging technologies as change makers for oral cancer prevention. *Ann N Y Acad Sci* 2007: 1098: 167-83.
980. Lane PM, Gilhuly T, et al. Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *J Biomed Opt* 2006: March-April 11(2):024006.
981. Poh CF, Ng SP, et al. Direct fluorescence visualization of clinically occult high-risk oral premalignant disease using a simple hand-held device. *Head Neck* 2007: 29: 71-6.

982. Poh CF, Zhang L, et al. Fluorescence visualization detection of field alterations in tumor margins of oral cancer patients. *Clin Cancer Res* 2006; 12(22): 6716-22.
983. Bigio IJ, Bown SG. Spectroscopic-sensing of cancer and cancer therapy: current status of translational research. *Cancer Biol Ther* 2004; March 3(3): 259-67.
984. Schwarz RA, Gao W, et al. Noninvasive evaluation of oral lesions using depth-sensitive optical spectroscopy simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *Cancer* 2009; April: 15,115(8): 1669-79.
985. McGee S, Mirkovic J, et al. Model-based spectroscopic analysis of the oral cavity: impact of anatomy *J Biomed Opt* 2008; November-December 13(6): 064034.
986. Lane PM, Gilhuly T, et al. Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *J Biomed Opt* 2006; 11(2): 024006.
987. De Veld DC, Witjes MJ, et al. The status of in vivo autofluorescence spectroscopy and imaging for oral oncology. *Oral Oncol* 2005; 41: 117-31.
988. Wagnieres GA, Star WM, Wilson BC. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications. *Photochem Photobiol* 1998; 68(5): 603-32.
989. Ramanujam N. Fluorescence spectroscopy of neoplastic and non-neoplastic tissues. *Neoplasia* 2000; 2(1-2): 89-117.

990. Culha M, Stokes D, Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman scattering for cancer diagnostics: detection of the BCL2 gene. *Expert Rev Mol Diagn* 2003; September: 3(5): 669-75.
991. Choo-Smith LP, Edwards HG, et al. Medical applications of Raman spectroscopy: from proof of principle to clinical implementation. *Biopolymers* 2002: 67(1):1-9.
992. Bigio, IJ, Mourant JR. Ultraviolet and visible spectroscopies for tissue diagnostics: fluorescence spectroscopy and elastic-scattering spectroscopy. *Phys Med Biol* 1997: 42(5): 803-14.
993. Farrell TJ, Patterson MS, Wilson B. A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo. *Med Phys* 1992: 19(4): 879-88.
994. White WM, Rajadhyaksha M, et al. Noninvasive imaging of human oral mucosa in vivo by confocal reflectance microscopy. *Laryngoscope* 1999; 109(10): 1709-17.
995. Clark AL, Gillenwater AM, et al. Confocal microscopy for real-time detection of oral cavity neoplasia. *Clin Cancer Res* 2003; 9(13): 4714-21.
996. Wilder-Smith P, Osann K, et al. In vivo multiphoton fluorescence imaging: a novel approach to oral malignancy. *Lasers Surg Med* 2004: 35(2): 96-103.
997. Wilder-Smith P, Woong-Gyu Jung, et al. In vivo optical coherence tomography for the diagnosis of oral malignancy. *Lasers Surg Med* 2004: 35(4): 269-75.

998. Wilder-Smith P, Krasieva T, et al. Noninvasive imaging of oral premalignancy and malignancy. *J Biomed Opt* 2005; 10(5): 51601.
999. Kawakami-Wong H, Hammer-Wilson MJ, et al. In vivo optical coherence tomography-based scoring of oral mucositis in human subjects: a pilot study. *J Biomed Opt* 2007; 12(5): 051702.
1000. Muanza TM, Cotrim AP, et al. Evaluation of radiation-induced oral mucositis by optical coherence tomography. *Clin Cancer Res* 2005; 11(14): 5121-7.
1001. Wilder-Smith P, Lee K, et al. In vivo diagnosis of oral dysplasia and malignancy using optical coherence tomography: preliminary studies in 50 patients. (Accepted for publication *Laser Surg Med*, 2009.)
1002. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 1191-308.
1003. Béliveau R, Gingras Denis. Role of nutrition in preventing cancer. *Can Fam Physician* 2007; November 53(11): 1905-11.
1004. Hong WK, Spitz MR, Lippman SM. Cancer chemoprevention in the 21st century: genetics, risk modeling, and molecular targets. *J Clinical Oncol* 2000; Nov. 1, 18(21 suppl): 9s-18s.
1005. Jon Sudbø, Magne Bryne, et al. Molecular-based treatment of oral cancer. *Oral Oncol* 2003; 39: 749-58.
1006. Brown KS, Kane MA. Chemoprevention of squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Otolaryngol Clin North Am* 2006; 39: 349-63.

1007. Khuri FR, Shin DM. Head and neck cancer chemoprevention gets a shot in the arm. *J Clin Oncol* 2008; Jan: 20, 26(3): 345-7.
1008. Lichtenstein GR, Deren J, et al. The Bowman-Birk protease inhibitor: a novel therapy for the induction of remission in patients with active ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 2002; 67: 236-40.
1009. Armstrong WB, Kennedy AR, et al. Clinical modulation of oral leukoplakia and protease activity by Bowman-Birk inhibitor concentrate in a phase IIa chemoprevention trial. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4684-91.
1010. Klass CM, Shin DM. Current status and future perspectives of chemoprevention in head and neck cancer. *Current Cancer Drug Targets* 2007; 7: 623-32.
1011. Robinson NA, Wray D. Desquamative gingivitis: A sign of mucocutaneous disorders - a review. *Australian Dental Journal* 2003; 48:(4): 206-211.
1012. Scully C, Laskaris G. Mucocutaneous disorders. *Periodontol* 2000 1998; 18: 81-94.
1013. Sklavounou A, Laskaris G. Frequency of desquamative gingivitis in skin diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;56: 141- 144.
1014. Yih WT, Maier T, Kratochvil FJ, Zieper MB. Analysis of desquamative gingivitis using direct immunofluorescence in conjunction with histology. *J Periodontol* 1998;69: 678-685.
1015. Macleod RI, Ellis JE. Plasma cell gingivitis related to the use of herbal toothpaste. *Br Dent J* 1989;166: 375-376.

1016. Wray D. Pyostomatitis vegetans. *Br Dent J* 1984;157: 316-318.
1017. Jones LE, Dolby AE. Desquamative gingivitis associated with psoriasis. *J Periodontol* 1972;43: 35-37.
1018. Church LF, Schosser RH. Chronic ulcerative stomatitis associated with stratified epithelial specific antinuclear antibodies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;73: 579-582.
1019. Rees TD. Vesiculo-ulcerative diseases and periodontal practice. *J Periodontol* 1995;66: 747-748.
1020. Scully C, El-Kom M. Lichen planus: review and update on pathogenesis. *J Oral Pathol* 1985;14: 431-458.
1021. Jandinski JJ, Shklar G. Lichen planus of the gingiva. *J Periodontol* 1976;47: 724-733.
1022. Robinson NA. Lichenoid tissue reactions of the oral mucosa. *Singapore Dent J* 2000;23: 56-63.
1023. Scully C, Beyli M, Ferreiro MC, et al. Update on oral lichen planus: aetiopathogenesis and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9: 86-122.
1024. Eisen D. The evaluation of cutaneous, genital, scalp, nail, esophageal, and ocular involvement in patients with oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;88: 431-436.
1025. Odell EW, Morgan PR. Lichenoid, psoriasiform and other types of stomatitis. In: *Biopsy pathology of the oral tissues*. London: Chapman and Hall Medical, 1998: 37-51.

1026. Carrozzo M, Gandolfo S. The management of oral lichen planus. *Oral Dis* 1999; 5:196-205.
1027. Lozada-Nur F, Miranda C. Oral lichen planus: topical and systemic therapy. *Semin Cutan Med Surg* 1997;16: 295-300.
1028. Rønbeck BA, Lind PO, Thrane PS. Desquamative gingivitis: Preliminary observations with tetracycline treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69: 694-697.
1029. Vente C, Reich K, Rupprecht R, Neumann C. Erosive mucosal lichen planus: response to topical treatment with tacrolimus. *Br J Dermatol* 1999;140: 338-342.
1030. Weinberg MA, Insler MS, Campen RB. Mucocutaneous features of autoimmune blistering diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 84: 517-534.
1031. Dabelsteen E. Molecular biological aspects of acquired bullous diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 162-178.
1032. Scully C, Carrozzo M, Gandolfo S, Puiatti P, Monteil R. Update on mucous membrane pemphigoid: a heterogeneous immunemediated subepithelial blistering entity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 56-68.
1033. Dayan S, Simmons RK, Ahmed AR. Contemporary issues in the diagnosis of oral pemphigoid: a selective review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 424-430.
1034. Williams DM. Vesiculo-bullous mucocutaneous disease: benign mucous membrane and bullous pemphigoid. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 16-23.

1035. Kurihara M, Nishimura F, Hashimoto T, et al. Immunopathological diagnosis of cicatricial pemphigoid with desquamative gingivitis. A case report. *J Periodontol* 2001; 72: 243-249.
1036. Siegel MA. Intraoral biopsy technique for direct immunofluorescence studies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72: 681-684.
1037. Bean SF, Waisman M, Michel B, et al. Cicatricial pemphigoid: immunofluorescent studies. *Arch Dermatol* 1974; 110: 552-555.
1038. Kelly SE, Wojnarowska F. The use of chemically split tissue in the detection of circulating anti-basement membrane zone antibodies in bullous pemphigoid and cicatricial pemphigoid. *Br J Dermatol* 1988; 118: 31-40.
1039. Setterfield J, Shirlaw PJ, Kerr-Muir M, et al. Mucous membrane pemphigoid: a dual circulating antibody response with IgG and IgA signifies a more severe and persistent disease. *Br J Dermatol* 1998;138:602-610.
1040. Setterfield J, Shirlaw PJ, Bhogal BS, et al. Cicatricial pemphigoid: serial titres of circulating IgG and IgA antibasement antibodies correlate with disease activity. *Br J Dermatol* 1999; 140: 645-650.
1041. Tauber J, Melamed S, Foster S. Glaucoma in patients with ocular cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 1989; 96: 33-37.

1042. Lamey PJ, Rees TD, Binnie WH, Rankin KV. Mucous membrane pemphigoid. Treatment experience at two institutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 74: 50-53.
1043. Amagai M, Klaus-Kovtun V, Stanley JR. Autoantibodies against a novel epithelial cadherin in pemphigus vulgaris, a disease of cell adhesion. *Cell* 1991; 67: 869-877.
1044. Koulu L, Kusumi A, Steinberg MS, Klaus-Kovtun V, Stanley JR. Human autoantibodies against a desmosomal core protein in pemphigus foliaceus. *J Exp Med* 1984; 160: 1509-1518.
1045. Harman KE, Gratian MJ, Bhogal BS, et al. The use of two substrates to improve the sensitivity of indirect immunofluorescence in the diagnosis of pemphigus. *Br J Dermatol* 2000; 142: 1135-1139.
1046. Mignogna MD, Lo Muzio L, Bucci E. Clinical features of gingival pemphigus vulgaris. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 489-493.
1047. Harman KE, Seed PT, Gratian MJ, et al. The severity of cutaneous and oral pemphigus is related to desmoglein 1 and 3 antibody levels. *Br J Dermatol* 2001; 144: 775-780.
1048. Scully C, Almeida OD, Porter SR, Gilkes JJH. Pemphigus vulgaris: the manifestations and long-term management of 55 patients with oral lesions. *Br J Dermatol* 1999; 140: 84-89.
1049. Mignogna MD, Lo Muzio L, Mignogna RE, Carbone R, Ruoppo E, Bucci E. Oral pemphigus: long term behaviour and clinical response to treatment with deflazacort in sixteen cases. *J Oral Pathol Med* 2000; 29: 145-152.

1050. Bystryn JC, Steinman NM. The adjuvant therapy of pemphigus. An update. *Arch Dermatol* 1996; 132: 203-212.
1051. Jaremko WM, Beutner EH, Kumar V, et al. Chronic ulcerative stomatitis associated with a specific immunologic marker. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22: 215-220.
1052. Lorenzana ER, Ress TD, Glass M, Detweiler JG. Chronic ulcerative stomatitis: A case report. *J Periodontol* 2000; 71:104-111.
1053. Anuradha Ch, Reddy BV, Nandan SR, Kumar SR. Oral lichen planus. A review. *N Y State Dent J*. 2008 Jun-Jul; 74(4): 66-8.
1054. Huber MA. Oral lichen planus. *Quintessence Int* 2004; 35: 731-752.
1055. Academy report. Oral features of muco-cutaneous disorders. *J Periodontol* 2003; 74: 1545-1556.
1056. Moliaoglu N. Oral lichen planus: a review. *Brit J Oral & Maxillo Surgery* 2000; 38: 370-377.
1058. Gandolfo S, Carbone M, Carrozzo M, Gallo V:Oral lichen planus and hepatitis C virus (HCV) infection: is there a relationship? A report of 10 cases. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 119-22.
1059. Laskaris G, Sklavounou A, Angelopoulos A. Direct immunofluorescence in oral lichen planus. *Oral Surg* 1982; 53; 5: 483-487.
1060. Barnard NA, Scully C, Eveson JW, Cunningham S, Porter SR. Oral cancer development in patients with oral lichen planus. *J. Oral Pathol Med* 1993; 22: 421-4.

1061. Jafarzadeh H, Sanatkhani M, Mohtasham N. Oral pyogenic granuloma: a review. *J Oral Sci*: 2006 Dec; 48(4): 167-75.
1062. Greenberg MS, Glick M. *Burket's oral medicine: diagnosis and treatment*. 10th ed, BC Decker, Hamilton, 2003: 141-142.
1063. Vilmann A, Vilmann P, Vilmann H. Pyogenic granuloma: evaluation of oral conditions. *Br J Oral Maxillofac Surg*: 1986: 24, 376-382.
1064. Hullihen SP. Case of aneurism by anastomosis of the superior maxillae. *Am J Dent Sc*:1844: 4, 160-162.
1065. Yao T, Nagai E, Utsunomiya T, Tsuneyoshi M. An intestinal counterpart of pyogenic granuloma of the skin. A newly proposed entity. *Am J Surg Pathol*: 1995: 19, 1054-1060.
1066. Epivatianos A, Antoniadis D, Zaraboukas T, Zairi E, Pouloupoulos A, Kiziridou A, Iordanidis S. Pyogenic granuloma of the oral cavity: comparative study of its clinicopathological and immunohistochemical features. *Pathol Int*: 2005: 55, 391-397.
1067. Mills SE, Cooper PH, Fechner RE. Lobular capillary hemangioma: the underlying lesion of pyogenic granuloma. A study of 73 cases from the oral and nasal mucous membranes. *Am J Surg Pathol*: 1980: 4, 470-479.
1068. Mussalli NG, Hopps RM, Johnson NW. Oral pyogenic granuloma as a complication of pregnancy and the use of hormonal contraceptives. *Int J Gynaecol Obstet*: 1976: 14, 187-191.
1069. Miller RA, Ross JB, Martin J. Multiple granulation tissue lesions occurring in isotretinoin treatment of acne vulgaris-successful

- response to topical corticosteroid therapy. *J Am Acad Dermatol*: 1985; 12, 888-889.
1070. Bouquot JE, Nikai H. Lesions of the oral cavity. In *Diagnostic surgical pathology of the head and neck*, Gnepp DR ed, WB Saunders, Philadelphia, 2001: 141-233.
1071. Janier M. Infection and angiomatous cutaneous lesions. *J Mal Vasc*: 1999; 24, 135-138.
1072. Pilch BZ. *Head and neck surgical pathology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001: 389-390.
1073. Aguilo L. Pyogenic granuloma subsequent to injury of a primary tooth. A case report. *Int J Paediatr Dent*: 2002; 12, 438-441.
1074. Milano M, Flaitz CM, Bennett J. Pyogenic granuloma associated with aberrant tooth development. *Tex Dent J*: 2001; 118, 166-172.
1075. Bragado R, Bello E, Requena L, Renedo G, Texeiro E, Alvarez MV, Castilla MA, Caramelo C. Increased expression of vascular endothelial growth factor in pyogenic granulomas. *Acta Derm Venereol*: 1999; 79, 422-425.
1076. Igarashi A, Hayashi N, Nashiro K, Takehara K. Differential expression of connective tissue growth factor gene in cutaneous fibrohistiocytic and vascular tumors. *J Cutan Pathol*: 1998; 25, 143-148.
1077. Bachmeyer C, Devergie A, Mansouri S, Dubertret L, Aractingi S. Pyogenic granuloma of the tongue in chronic graft versus host disease. *Ann Dermatol Venereol*: 1996; 123, 552-554.

1078. Lee L, Miller PA, Maxymiw WG, Messner HA, Rotstein LE. Intraoral pyogenic granuloma after allogeneic bone marrow transplant. Report of three cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*: 1994; 78, 607-610.
1079. Davies MG, Barton SP, Atai F, Marks R. The abnormal dermis in pyogenic granuloma. Histochemical and ultrastructural observations. *J Am Acad Dermatol*: 1980; 2, 132-142.
1080. Nakamura T. Apoptosis and expression of Bax/Bcl-2 proteins in pyogenic granuloma: a comparative study with granulation tissue and capillary hemangioma. *J Cutan Pathol*: 2000; 27, 400-405.
1081. Al-Khateeb T, Ababneh K. Oral pyogenic granuloma in Jordanians: a retrospective analysis of 108 cases. *J Oral Maxillofac Surg*: 2003; 61, 1285-1288.
1082. Zain RB, Khoo SP, Yeo JF. Oral pyogenic granuloma (excluding pregnancy tumor)-a clinical analysis of 304 cases. *Singapore Dent J*: 1995; 20, 8-10.
1083. Sternberg SS, Antonioli DA, Carter D, Mills SE, Oberman H. *Diagnostic surgical pathology*. 3rd ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999: 69, 174.
1084. Goodman-Topper ED, Bimstein E. Pyogenic granuloma as a cause of bone loss in a twelve-year - old child: report of case. *ASDC J Dent Child*: 1994; 61, 65-67.
1085. Sooriyamoorthy M, Gower DB. Hormonal influences on gingival tissue: relationship to

- periodontal disease. *J Clin Periodontol*:1989: 16, 201-208.
1086. Tumini V, Di Placido G, D'Archivio D, Del Giglio Matarazzo A. Hyperplastic gingival lesions in pregnancy. I. Epidemiology, pathology and clinical aspects. *Minerva Stomatol*: 1998: 47, 159-167.
1087. Henry F, Quatresooz P, Valverde-Lopez JC, Pierard GE. Blood vessel changes during pregnancy: a review. *Am J Clin Dermatol*: 2006: 7, 65-69.
1088. Kanda N, Watanabe S. Regulatory roles of sex hormones in cutaneous biology and immunology. *J Dermatol Sci*: 2005: 38, 1-7.
1089. Ojanotko-Harri AO, Harri MP, Hurttia HM, Sewon LA. Altered tissue metabolism of progesterone in pregnancy gingivitis and granuloma. *J Clin Periodontol*: 1991: 18, 262-266.
1090. Yuan K, Lin MT. The roles of vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2 in the regression of pregnancy pyogenic granuloma. *Oral Dis*: 2004: 10, 179-185.
1091. Brooks JK. The effects of hormonal oral contraceptives on the female human periodontium and experimental animal models, a review of the literature. *J Baltimore Coll Dent Surg*: 1980: 33, 12-16.
1092. Nichols GE, Gaffey MJ, Mills SE, Weiss LM. Lobular capillary hemangioma. An immunohistochemical study including steroid hormone receptor status. *Am J Clin Pathol*: 1992: 97, 770-775.
1093. Fechner RE, Cooper PH, Mills SE. Pyogenic granuloma of the larynx and trachea. A causal and pathologic misnomer for granulation tissue. *Arch Otolaryngol*:1981: 107, 30-32.

1094. Willies-Jacobo LJ, Isaacs H Jr, Stein MT. Pyogenic granuloma presenting as a congenital epulis. *Arch Pediatr Adolesc Med*: 2000: 154, 603-605.
1095. Toida M, Hasegawa T, Watanabe F, Kato K, Makita H, Fujitsuka H, Kato Y, Miyamoto K, Shibata T, Shimokawa K. Lobular capillary hemangioma of the oral mucosa: clinicopathological study of 43 cases with a special reference to immunohistochemical characterization of the vascular elements. *Pathol Int*: 2003: 53, 1-7.
1096. Calonje E, Wilson-Jones E. Vascular tumors: tumors and tumor-like conditions of blood vessels and lymphatics. In *Lever's histopathology of the skin*, 8th ed, Elder D, Elenitsas R, Jaworsky C, Johnson B Jr eds, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997: 895.
1097. Bodner L, Dayan D. Growth potential of peripheral ossifying fibroma. *J Clin Periodontol*:1987: 14, 551-554.
1098. Hirshberg A, Leibovich P, Buchner A. Metastases to the oral mucosa: analysis of 157 cases. *J Oral Pathol Med*: 1993: 22, 385-390.
1099. Freitas TM, Miguel MC, Silveira EJ, Freitas RA, Galvão HC. Assessment of angiogenic markers in oral hemangiomas and pyogenic granulomas. *Exp Mol Pathol*:2005: 79, 79-85.
1100. Sonis ST, Fazio RC, Fang LST. *Principles and practice of oral medicine*. 2nd ed, WB Saunders, Philadelphia, 1995: 416.
1101. Requena L, Sanguenza OP. Cutaneous vascular proliferation. Part II. Hyperplasias and benign neoplasms. *J Am Acad Dermatol*: 1997: 37, 887-919.

1102. Powell JL, Bailey CL, Coopland AT, Otis CN, Frank JL, Meyer I. Nd:YAG laser excision of a giant gingival pyogenic granuloma of pregnancy. *Lasers Surg Med*:1994: 14, 178-183.
1103. White JM, Chaudhry SI, Kudler JJ, Sekandari N, Schoelch ML, Silverman S Jr: Nd:YAG and CO2 laser therapy of oral mucosal lesions. *J Clin Laser Med Surg*: 1998: 16, 299-304.
1104. Meffert JJ, Cagna DR, Meffert RM. Treatment of oral granulation tissue with the flashlamp pulsed dye laser. *Dermatol Surg*: 1998: 24, 845-848.
1105. Ishida CE, Ramos-e-Silva M. Cryosurgery in oral lesions. *Int J Dermatol*: 1998: 37, 283-285.
1106. Ichimiya M, Yoshikawa Y, Hamamoto Y, Muto M. Successful treatment of pyogenic granuloma with injection of absolute ethanol. *J Dermatol*: 2004: 31, 342-344.
1107. Moon SE, Hwang EJ, Cho KH. Treatment of pyogenic granuloma by sodium tetradecyl sulfate sclerotherapy. *Arch Dermatol*: 2005: 141, 644-646.
1108. Wang PH, Chao HT, Lee WL, Yuan CC, Ng HT. Severe bleeding from a pregnancy tumor. A case report. *J Reprod Med*: 1997: 42, 359-362.
1109. Steelman R, Holmes D. Pregnancy tumor in a 16-year-old: case report and treatment considerations. *J Clin Pediatr Dent*:1992: 16, 217-218.

1110. Taira JW, Hill TL, Everett MA. Lobular capillary hemangioma (pyogenic granuloma) with satellitosis. *J Am Acad Dermatol*: 1992; 27, 297-300.
1111. Scully C, Lo Muzio L. Oral mucosal diseases: Mucous membrane pemphigoid. *Br J Oral Maxillofac Surg* 46: 2008: 358-366.
1112. Liu HN, Su WP, Rogers III RS. Clinical variants of pemphigoid. *Int J Dermatol* 1986; 25: 17-27.
1113. Barnadas MA, Gonzalez MJ, Planaguma M, et al. Clinical, histopathologic, and therapeutic aspects of subepidermal autoimmune bullous diseases with IgG on the floor of salt-split skin. *Int J Dermatol* 2001; 40: 268-72.
1114. Bagan J, Lo Muzio L, Scully C. Mucous membrane pemphigoid. *Oral Dis* 2005;11:197–218.
1115. Ahmed AR, Hombal SM. Cicatricial pemphigoid. *Int J Dermatol* 1986; 25: 90-6.
1116. Silverman Jr S, Gorsky M, Lozada-Nur F, Liu A. Oral mucous membrane pemphigoid. A study of sixty-five patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986; 61: 233-7.
1117. Ahmed AR, Kurgis BS, Rogers III RS. Cicatricial pemphigoid. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24: 987-1001.
1118. Chan LS, Ahmed AR, Anhalt GJ, et al. The first international consensus on mucous membrane pemphigoid: definition, diagnostic criteria, pathogenic factors, medical treatment, and prognostic indicators. *Arch Dermatol* 2002; 138: 370-9.

1119. Yeh SW, Ahmed B, Sami N, Razzaque Ahmed A. Blistering disorders: diagnosis and treatment. *Dermatol Ther* 2003; 16: 214-23.
1120. Casiglia J, Woo SB, Ahmed AR. Oral involvement in autoimmune blistering diseases. *Clin Dermatol* 2001; 19: 737-41.
1121. Challacombe SJ, Setterfield J, Shirlaw P, Harman K, Scully C, Black MM. Immunodiagnosis of pemphigus and mucous membrane pemphigoid. *Acta Odontol Scand* 2001; 59: 226-34.
1122. Chan LS. Mucous membrane pemphigoid. *Clin Dermatol* 2001; 19: 703-11.
1123. Dabelsteen E. Molecular biological aspects of acquired bullous diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 162-78.
1124. Schmidt E, Zillikens D. Autoimmune and inherited subepidermal blistering diseases: advances in the clinic and the laboratory. *Adv Dermatol* 2000; 16: 113-57.
1125. Sciubba JJ. Autoimmune aspects of pemphigus vulgaris and mucosal pemphigoid. *Adv Dent Res* 1996; 10: 52--6.
1126. Stoopler ET, DeRossi SS, Sollecito TP. Mucous membrane pemphigoid. Update for the general practitioner. *N Y State Dent J* 2003; 69: 28-31.
1127. Balding SD, Prost C, Diaz LA, et al. Cicatricial pemphigoid auto-antibodies react with multiple sites on the BP180 extracellular domain. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 141-6.
1128. Bedane C, McMillan JR, Balding SD, et al. Bullous pemphigoid and cicatricial pemphigoid auto-antibodies react with ultrastructurally

- separable epitopes on the BP180 ectodomain: evidence that BP180 spans the lamina lucida. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 901-7.
1129. Bernard P, Prost C, Durepaire N, Basset-Seguin N, Didierjean L, Saurat JH. The major cicatricial pemphigoid antigen is a 180-kD protein that shows immunologic cross-reactivities with the bullous pemphigoid antigen. *J Invest Dermatol* 1992; 99: 174-9.
1130. Bhol KC, Goss L, Kumari S, Colon JE, Ahmed AR. Auto-antibodies to human $\alpha 6$ integrin in patients with oral pemphigoid. *J Dent Res* 2001; 80: 1711-5.
1131. Chan RY, Bhol K, Tesavibul N, et al. The role of antibody to human beta4 integrin in conjunctival basement membrane separation: possible in vitro model for ocular cicatricial pemphigoid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 2283-90.
1132. Kumari S, Bhol KC, Simmons RK, et al. Identification of ocular cicatricial pemphigoid antibody binding site(s) in human $\beta 4$ integrin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 379-85.
1133. Leverkus M, Bhol K, Hirako Y, et al. Cicatricial pemphigoid with circulating autoantibodies to beta4 integrin, bullous pemphigoid 180 and bullous pemphigoid 230. *Br J Dermatol* 2001; 145: 998-1004.
1134. Roh JY, Yee C, Lazarova Z, Hall RP, Yancey KB. The 120-kDa soluble ectodomain of type XVII collagen is recognized by autoantibodies in patients with pemphigoid and linear IgA dermatosis. *Br J Dermatol* 2000; 143: 104-11.
1135. Laskaris G, Satriano RA. Drug-induced blistering oral lesions. *Clin Dermatol* 1993; 11: 545-50.

1136. Van Joost T, Van't Veen AJ. Drug-induced cicatricial pemphigoid and acquired epidermolysis bullosa. *Clin Dermatol* 1993; 11: 521-7.
1137. Carrozzo M, Fasano ME, Broccoletti R, et al. HLA-DQB1 alleles in Italian patients with mucous membrane pemphigoid predominantly affecting the oral cavity. *Br J Dermatol* 2001; 145: 805-8.
1138. Delgado JC, Turbay D, Yunis EJ, et al. A common major histocompatibility complex class II allele HLA-DQB1* 0301 is present in clinical variants of pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8569-71.
1139. Yunis JJ, Mobini N, Yunis EJ, et al. Common major histocompatibility complex class II markers in clinical variants of cicatricial pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7747-51.
1140. Setterfield J, Theron J, Vaughan RW, et al. Mucous membrane pemphigoid: HLA-DQB1*0301 is associated with all clinical sites of involvement and may be linked to antibasement membrane IgG production. *Br J Dermatol* 2001; 145: 406-14.
1141. Egan CA, Taylor TB, Meyer LJ, Petersen MJ, Zone JJ. The immunoglobulin A antibody response in clinical subsets of mucous membrane pemphigoid. *Dermatology* 1999; 198: 330-5.
1142. Laskaris G, Nicolis G. Immunopathology of oral mucosa in bullous pemphigoid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 50: 340-5.
1143. Manton SL, Scully C. Mucous membrane pemphigoid: an elusive diagnosis? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 66: 37-40.

1144. Porter SR, Scully C, Midda M, Eveson JW. Adult linear immunoglobulin A disease manifesting as desquamative gingivitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 70: 450-3.
1145. Kuffer R. Bulous disease. In innovations and developments in noninvasive orofacial healthcare. In: Porter SR, Scully C, editors. *Science Reviews*. Northwod; 1996. p. 109-26.
1146. Domloge-Hultsch N, Gammon WR, Briggaman RA, Gil SG, Carter WG, Yancey KB. Epiligrin, the major human keratinocyte integrin ligand, is a target in both an acquired autoimmune and an inherited subepidermal blistering skin disease. *J Clin Invest* 1992; 90: 1628-33.
1147. Kawahara Y, Zillikens D, Yancey KB, et al. Subepidermal blistering disease with autoantibodies against a novel dermal 200-kDa antigen. *J Dermatol Sci* 2000; 23: 93-102.
1148. Zillikens D, Ishiko A, Jonkman MF, et al. Autoantibodies in anti-p200 pemphigoid stain skin lacking laminin 5 and type VII collagen. *Br J Dermatol* 2000; 143: 1043-9.
1149. Ghohestani RF, Nicolas JF, Rousselle P, Claudy AL. Identification of a 168-kDa mucosal antigen in a subset of patients with cicatricial pemphigoid. *J Invest Dermatol* 1996; 107: 136-9.
1150. Oyama N, Setterfield JF, PowellAM, et al. Bullous pemphigoid antigen II (BP180) and its soluble extracellular domains are major autoantigens in mucous membrane pemphigoid: the pathogenic relevance to HLA class II alleles and disease severity. *Br J Dermatol* 2006; 154: 90-8.

1151. Egan CA, Lazarova Z, Darling TN, Yee C, Yancey KB. Anti-epiligrin cicatricial pemphigoid: clinical findings, immunopathogenesis, and significant associations. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82: 177-86.
1152. Dayan S, Simmons RK, Ahmed AR. Contemporary issues in the diagnosis of oral pemphigoid: a selective review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 424-30.
1153. Scully C, Cawson RA. *Medical Problems in Dentistry*. Oxford: Butterworths; 1998.
1154. Chan LS, Yancey KB, Hammerberg C, et al. Immune-mediated subepithelial blistering diseases of mucous membranes. Pure ocular cicatricial pemphigoid is a unique clinical and immunopathological entity distinct from bullous pemphigoid and other subsets identified by antigenic specificity of autoantibodies. *Arch Dermatol* 1993; 129: 448-55.
1155. Hoang-Xuan T, Robin H, Demers PE, et al. Pure ocular cicatricial pemphigoid. A distinct immunopathologic subset of cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 1999; 106: 355-61.
1156. Tyagi S, Bhol K, Natarajan K, Livir-Rallatos C, Foster CS, Ahmed AR. Ocular cicatricial pemphigoid antigen: partial sequence and biochemical characterization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 14714-9.
1157. Alkan A, Gunhan O, Otan F. A clinical study of oral mucous membrane pemphigoid. *J Int Med Res* 2003; 31: 340-4.

1158. Fine RM, Weathers DR. Desquamative gingivitis: a form of cicatricial pemphigoid? *Br J Dermatol* 1980; 102: 393-9.
1159. Laskaris G, Sklavounou A, Stratigos J. Bullous pemphigoid, cicatricial pemphigoid, and pemphigus vulgaris. A comparative clinical survey of 278 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 54: 656-62.
1160. Scully C, Porter SR. The clinical spectrum of desquamative gingivitis. *Semin Cutan Med Surg* 1997; 16: 308-13.
1161. Stoopler ET, Sollecito TP, DeRossi SS. Desquamative gingivitis: early presenting symptom of mucocutaneous disease. *Quintessence Int* 2003; 34: 582-6.
1162. Venning VA, Frith PA, Bron AJ, Millard PR, Wojnarowska F. Mucosal involvement in bullous and cicatricial pemphigoid. A clinical and immunopathological study. *Br J Dermatol* 1988; 118: 7-15.
1163. Tricamo MB, Rees TD, Hallmon WW, Wright JM, Cueva MA, Plemons JM. Periodontal status in patients with gingival mucous membrane pemphigoid. *J Periodontol* 2006; 77: 398-405.
1164. Miziara ID, Sperandio F, Bohadana SC, Braga N, Romano FR, Miniti A. Cicatricial pemphigoid: report of five cases. *Ear Nose Throat J* 2002; 81: 442-8.
1165. Whiteside OJ, Martinez Devesa P, Ali I, Capper JW. Mucous membrane pemphigoid: nasal and laryngeal manifestations. *J Laryngol Otol* 2003; 117: 885-8.
1166. Cole WC, Leicht S, Byrd Jr RP, Roy TM. Cicatricial pemphigoid with an upper airway lesion. *Tenn Med* 2000; 93: 99-101.

1167. Egan CA, Hanif N, Taylor TB, Meyer LJ, Petersen MJ, Zone JJ. Characterization of the antibody response in oesophageal cicatricial pemphigoid. *Br J Dermatol* 1999; 140: 859–64.
1168. Park JH, Chun HJ, Jeon YT, et al. Esophageal cicatricial pemphigoid. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 909.
1169. Sallout H, Anhalt GJ, Al-Kawas FH. Mucous membrane pemphigoid presenting with isolated esophageal involvement: a case report. *Gastrointest Endosc* 2000; 52: 429-33.
1170. Fueston JC, Adams BB, Mutasim DF. Cicatricial pemphigoid-induced phimosis. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: S128-9.
1171. Lilly JP, Spivey JD, Fotos PG. Benign mucous membrane pemphigoid with advanced periodontal involvement: diagnosis and therapy. *J Periodontol* 1995; 66: 737-41.
1172. Mutasim DF, Pelc NJ, Anhalt GJ. Cicatricial pemphigoid. *Dermatol Clin* 1993; 11: 499-510.
1173. Higgins GT, Allan R, Hall R, Field EA, Kaye SB. Development of ocular disease in patients with mucous membrane pemphigoid involving the oral mucosa. *Br J Ophthalmol* 2006; 90: 964-7. April 13.
1174. Ahmed AR, Foster S, Zaltas M, et al. Association of DQw7 (DQB1*0301) with ocular cicatricial pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 11579–82.
1175. Sami N, Bhol KC, Beutner EH, et al. Simultaneous presence of mucous membrane pemphigoid and pemphigus vulgaris: molecular characterization of both auto-antibodies. *Clin Immunol* 2001; 100: 219-27.

1176. Aractingi S, Bachmeyer C, Prost C, Caux F, Flageul B, Ferman J. Subepidermal autoimmune bullous skin diseases associated with B-cell lymphoproliferative disorders. *Medicine (Baltimore)* 1999; 78: 228-35.
1177. Egan CA, Lazarova Z, Darling TN, Yee C, Cote T, Yancey KB. Antiepileptic drug-induced pemphigoid and relative risk for cancer. *Lancet* 2001; 357: 1850-1.
1178. Helander SD, Rogers III RS. The sensitivity and specificity of direct immunofluorescence testing in disorders of mucous membranes. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 65-75.
1179. Noursari HC, Anhalt GJ. Pemphigus and bullous pemphigoid. *Lancet* 1999; 354:667-72.
1180. Yancey KB, Egan CA. Pemphigoid: clinical, histologic, immunopathologic, and therapeutic considerations. *JAMA* 2000; 284: 350-6.
1181. Siegel MA, Balciunas BA. Oral presentation and management of vesiculo-bullous disorders. *Semin Dermatol* 1994; 13: 78-86.
1182. Mutasim DF. The accuracy of indirect immunofluorescence on sodium chloride-split skin in differentiating subepidermal bullous diseases. *Arch Dermatol* 1997; 133:1158-60.
1183. Lazarova Z, Yancey KB. Reactivity of auto-antibodies from patients with defined sub-epidermal bullous diseases against 1 mol/L salt-split skin. Specificity, sensitivity, and practical considerations. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 398-403.

1184. Kelly SE, Wojnarowska F. The use of chemically split tissue in the detection of circulating anti-basement membrane zone antibodies in bullous pemphigoid and cicatricial pemphigoid. *Br J Dermatol* 1988; 118: 31-40.
1185. Gately III LE, Nesbitt Jr LT. Update on immunofluorescent testing in bullous diseases and lupus erythematosus. *Dermatol Clin* 1994; 12: 133-42.
1186. Sacher C, Hunzelmann N. Cicatricial pemphigoid (mucous membrane pemphigoid): current and emerging therapeutic approaches. *Am J Clin Dermatol* 2005; 6: 93-103.
1187. Lamey PJ, Rees TD, Binnie WH, Rankin KV. Mucous membrane pemphigoid. Treatment experience at two institutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 74: 50-3.
1188. Lozada-Nur F, Miranda C, Maliksi R. Double-blind clinical trial of 0.05% clobetasol propionate (corrected from proprionate) ointment in orabase and 0.05% fluocinonide ointment in orabase in the treatment of patients with oral vesiculoerosive diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 77: 598-604.
1189. Vincent SD, Lilly GE, Baker KA. Clinical, historic, and therapeutic features of cicatricial pemphigoid. A literature review and open therapeutic trial with corticosteroids. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;76:453–9.
1190. Aufdemorte TB, De Villez RL, Parel SM. Modified topical steroid therapy for the treatment of oral mucous membrane pemphigoid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; 59: 256-60.

1191. Gonzalez-Moles MA, Ruiz-Avila I, Rodriguez-Archilla A, et al. Treatment of severe erosive gingival lesions by topical application of clobetasol propionate in custom trays. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95: 688-92.
1192. Wray D, McCord JF. Labial veneers in the management of desquamative gingivitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987; 64: 41-2.
1193. Urbanek VE, Cohen L. Benign mucous membrane pemphigoid. Management of an edentulous patient. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971; 31: 772-6.
1194. Eisen D, Ellis CN, Voorhees JJ. Topical cyclosporine for oral bullous disorders. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23: 936-7.
1195. Assmann T, Becker J, Ruzicka T, Megahed M. Topical tacrolimus for oral cicatricial pemphigoid. *Clin Exp Dermatol* 2004; 29: 674-6.
1196. Chuh AA. The application of topical tacrolimus in vesicular pemphigoid. *Br J Dermatol* 2004; 150: 622-3.
1197. Gunther C, Wozel G, Meurer M, Pfeiffer C. Topical tacrolimus treatment for cicatricial pemphigoid. *J Am Acad Dermatol* 2004; 50: 325-6.
1198. Hall VC, Liesegang TJ, Kostick DA, Lookingbill DP. Ocular mucous membrane pemphigoid and ocular pemphigus vulgaris treated topically with tacrolimus ointment. *Arch Dermatol* 2003; 139: 1083-4.

1199. Letko E, Ahmed AR, Foster CS. Treatment of ocular cicatricial pemphigoid with tacrolimus (FK 506). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 239: 441-4.
1200. Foster CS, Ahmed AR. Intravenous immunoglobulin therapy for ocular cicatricial pemphigoid: a preliminary study. *Ophthalmology* 1999; 106: 2136-43.
1201. Miserocchi E, Baltatzis S, Roque MR, Ahmed AR, Foster CS. The effect of treatment and its related side effects in patients with severe ocular cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 2002; 109: 111-8.
1202. Nayar M, Wojnarowska F. Cicatricial pemphigoid: a re-evaluation of therapy. *J Dermatol Treat* 1993; 4: 89-93.
1203. Ciarrocca KN, Greenberg MS. A retrospective study of the management of oral mucous membrane pemphigoid with dapsone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 159-63.
1204. Fine JD. Management of acquired bullous skin diseases. *N Engl J Med* 1995;333:1475-84.
1205. Huilgol SC, Black MM. Management of the immuno-bullous disorders. I. Pemphigoid. *Clin Exp Dermatol* 1995; 20: 189-201.
1206. Rogers III RS, Seehafer JR, Perry HO. Treatment of cicatricial (benign mucous membrane) pemphigoid with dapsone. *J Am Acad Dermatol* 1982; 6: 215-23.
1207. Truhan AP, Ahmed AR. Corticosteroids: a review with emphasis on complications of prolonged systemic therapy. *Ann Allergy* 1989; 62: 375-91.

1208. Lozada F. Prednisone and azathioprine in the treatment of patient with vesiculoerosive oral diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1981; 52: 257–63.
1209. Foster CS. Cicatricial pemphigoid. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1986; 84: 527–663.
1210. Brody HJ, Pirozzi DJ. Benign mucous membrane pemphigoid. Response to therapy with cyclophosphamide. *Arch Dermatol* 1977; 113: 1598-9.
1211. Epstein JB, Gorsky M, Epstein MS, Nantel S. Topical azathioprine in the treatment of immune-mediated chronic oral inflammatory conditions: a series of cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91: 56-61.
1212. Ahmed AR, Hombal SM, Cyclophosphamide (Cytosan). A review on relevant pharmacology and clinical uses. *J Am Acad Dermatol* 1984; 11: 1115-26.
1213. Ahmed AR, Moy R. Azathioprine. *Int J Dermatol* 1981; 20: 461-7.
1214. Duong DJ, Moxley III RT, Kellman RM, Pincus SH, Gaspari AA. Thalidomide therapy for cicatricial pemphigoid. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47: S193-5.
1215. Wozel G, Pfeiffer C. Leflunomid - ein neues Medikament zur pharmakologischen Immunmodulation. Leflunomide-a new drug for pharmacological immunomodulation. *Hautarzt* 2002; 53: 309-15.
1216. Rogers III RS. Dapsone and sulfapyridine therapy of pemphigoid diseases. *Australas J Dermatol* 1986; 27: 58-63.

1217. Ronbeck BA, Lind PO, Thrane PS. Desquamative gingivitis: preliminary observations with tetracycline treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69: 694-7.
1218. Ozog DM, Gogstetter DS, Scott G, Gaspari AA. Minocycline-induced hyperpigmentation in patients with pemphigus and pemphigoid. *Arch Dermatol* 2000; 136: 1133-8.
1219. Poskitt L, Wojnarowska F. Minimizing cicatricial pemphigoid orodynia with minocycline. *Br J Dermatol* 1995; 132: 784-9.
1220. Dragan L, Eng AM, Lam S, Persson T. Tetracycline and niacinamide: treatment alternatives in ocular cicatricial pemphigoid. *Cutis* 1999; 63:181-3.
1221. Mallon E, Wojnarowska F. Cicatricial pemphigoid presenting with unusual palmar involvement, successfully treated with a combination of nicotinamide and tetracycline. *Clin Exp Dermatol* 1994;19: 526-30.
1222. Poskitt L, Wojnarowska F. Treatment of cicatricial pemphigoid with tetracycline and nicotinamide. *Clin Exp Dermatol* 1995; 20: 258-9.
1223. Sakamoto K, Mori K, Hashimoto T, Yancey KB, Nakashima T. Antiepiligrin cicatricial pemphigoid of the larynx successfully treated with a combination of tetracycline and niacinamide. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 1420-3.
1224. Jolles S. A review of high-dose intravenous immunoglobulin (hdIVIg) in the treatment of the autoimmune blistering disorders. *Clin Exp Dermatol* 2001; 26: 127-31.

1225. Kumari S, Bhol KC, Rehman F, Foster CS, Ahmed AR. Interleukin 1 components in cicatricial pemphigoid. Role in intravenous immunoglobulin therapy. *Cytokine* 2001; 14: 218-24.
1226. Letko E, Bhol K, Foster SC, Ahmed RA. Influence of intravenous immunoglobulin therapy on serum levels of anti-beta 4 antibodies in ocular cicatricial pemphigoid. A correlation with disease activity. A preliminary study. *Curr Eye Res* 2000; 21: 646-54.
1227. Leverkus M, Georgi M, Nie Z, Hashimoto T, Brocker EB, Zillikens D. Cicatricial pemphigoid with circulating IgA and IgG auto-antibodies to the central portion of the BP180 ectodomain: beneficial effect of adjuvant therapy with high-dose intravenous immunoglobulin. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 116-22.
1228. Hashimoto Y, Suga Y, Yoshiike T, Hashimoto T, Takamori K. A case of anti-epiligrin cicatricial pemphigoid successfully treated by plasmapheresis. *Dermatology* 2000; 201: 58-60.
1229. Damoulis PD, Gagari E. Combined treatment of periodontal disease and benign mucous membrane pemphigoid. Case report with 8 years maintenance. *J Periodontol* 2000; 71: 1620-9.
1230. Hanson RD, Olsen KD, Rogers III RS. Upper aero-digestive tract manifestations of cicatricial pemphigoid. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1988; 97: 493-9.
1231. Eschle-Meniconi ME, Ahmad SR, Foster CS. Mucous membrane pemphigoid: an update. *Curr Opin Ophthalmol* 2005; 16: 303-7.

1232. Lorenzana ER, Rees TD, Hallmon WW. Esthetic management of multiple recession defects in a patient with cicatricial pemphigoid. *J Periodontol* 2001; 72: 230-7.
1233. Dağistan S, Goregen M, Miloğlu O, Çakur B. Oral pemphigus vulgaris: a case report with review of the literature. *J Oral Sci* 2008 Dec; 50(3): 359-62.
1234. Beutner EH, Jordon RE. Demonstration of skin antibodies in sera of pemphigus vulgaris patients by indirect immunofluorescent staining. *Proc Soc Exp Biol Med* 1964: 117, 505-510.
1235. Ben Lagha N, Poulesquen V, Roujeau JC, Alantar A, Maman L. Pemphigus vulgaris: a case-based update. *J Can Dent Assoc* 2005 : 71, 667-672.
1236. Chams-Davatchi C, Valikhani M, Daneshpazhooh M, Esmaili N, Balighi K, Hallaji Z, Barzegari M, Akhiani M, Ghodsi Z, Mortazavi H, Naraghi Z. Pemphigus: analysis of 1209 cases. *Int J Dermatol* 2005: 44, 470-476.
1237. Tam SR, McDermott MR, Castillo CJ, Saunder DN. Pemphigus vulgaris induced by electrical injury. *Cutis* 2006: 7, 161-165.
1238. Darling MR, Daley T. Blistering muco-cutaneous diseases of the oral mucosa-a review: part 2. Pemphigus vulgaris. *J Can Dent Assoc* 2006: 72, 63-66.
1239. Scully C, Challacombe SJ. Pemphigus vulgaris: update on etiopathogenesis, oral manifestations and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002: 13, 397-408.