



Universidad
Nacional
de Córdoba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“VIRUS PAPILOMA HUMANO EN CAVIDAD BUCAL
Y SU POSIBLE RELACIÓN CON ENFERMEDAD
PERIODONTAL”**

TESISTA:

OD. LILIANA FUSTER ROSSELLÓ

DIRECTOR:

PROF. DRA. ESTELA RIBOTTA DE ALBERA

CÓRDOBA, 2010



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**VIRUS PAPILOMA HUMANO EN CAVIDAD BUCAL Y
SU POSIBLE RELACIÓN CON ENFERMEDAD
PERIODONTAL**

Trabajo de Tesis para Optar al Título de Doctor en Odontología

LILIANA FUSTER ROSSELLÓ
Odontóloga

Directora de Tesis
Profesora Doctora Estela Ribotta de Albera

Córdoba, República Argentina
Año 2010

TRIBUNAL DE TESIS

Anexo Resolución Honorable Consejo Directivo 187/03

Prof. Dra. Silvia López de Blanc

Prof. Dra. María Ester Esper

Prof. Dr. Alberto Dain

A mis Hijos
A Carlos
A mis Padres

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar en pocas palabras mi agradecimiento a aquellas personas que han contribuido a la realización de este trabajo.

En primer lugar, a la Dra. Estela Ribotta de Albera, directora de la tesis, por confiar en mí, incentivar me con su entusiasmo y permitirme crecer en su grupo de estudio de la Fundación Independencia, transmitiendo sin reservas toda su experiencia científica y profesional así como su pasión por la Periodoncia. Gracias por su calidez humana, su amistad y por su inestimable ayuda.

A la Dra. Margarita Fuster Juan, mi amada hermana, por ayudarme en todo momento desde la derivación de las pacientes de la Cátedra de Ginecología de la HUMN, hasta apoyarme profesionalmente con su experiencia como Doctora en ginecología así como en la contención permanente como persona; sin vos Marga este trabajo no hubiera sido posible.

A la Prof. Dra. Cecilia Cuffini, y a través de ella al Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanilla” de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba, quien, además de procesar las muestras, me ofreció desinteresadamente su aporte científico, su experiencia y su amistad.

Al Laboratorio de biología molecular de la Fundación para el Progreso de la Medicina, a través del Dr. Ariel Sánchez, por el tratamiento de las muestras.

A la Dra. Carla Bongioni, y a través de ella a la Cátedra de Patología y Citopatología de la HUMN, por el estudio histopatológico de los extendidos.

A la Dra. Graciela Quiroga y a través de ella al Servicio de Odontología de la HUMN, por facilitar mi trabajo poniendo a mi servicio todos los medios disponibles además de su constante interés.

Al Dr. Carlos Bongioni, Director de la HUMN por permitir la realización del presente trabajo en el citado nosocomio

Al Dr. Otilio Rosato, Jefe del Departamento de Patología Cervical de la II Cátedra de Clínica Ginecológica de la UNC, y, a través suyo, a todos sus integrantes, por la derivación de las pacientes.

A los miembros del Tribunal de Tesis, Prof. Dra. Silvia López de Blanc, Prof. Dra. María Ester Esper, Prof. Dr. Alberto Dain, por haber contribuido con su saber y experiencia y haber hecho de cada reunión un ámbito ameno y de inestimable ayuda que facilitó enormemente mi tarea.

A la Magister en Estadística Aplicada Silvia Joekes, Profesora Titular de Estadística I y II, Facultad de Ciencias Económicas – UNC, por el tratamiento estadístico de los datos más allá de lo numérico, conjugando excelencia académica y pasión por lo humano.

Por último, quiero darle las gracias a mi familia, a mis padres, por enseñarme el camino de la perseverancia, la constancia y la pasión por lo emprendido. A mis hijos, gracias por trasmitirme siempre palabras de aliento y por ceder el espacio de tiempo que debería haber sido vuestro.

Y gracias a Carlos, quien comparte toda mi vida, que supo de mis decepciones y de mis alegrías que es el árbol que me cobija y el otro remo en el mar que me llevará a la otra orilla.

“Clarividencia espiritual y rectitud de intención”

Siempre han guiado mi ser, mi decir y mi quehacer.

Gracias, Sixto Castellano S. J. †

La Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, no se hace solidaria con las afirmaciones de ésta tesis

El material clínico, utilizado en esta tesis, se encuentra en el archivo del Hospital Universitario Materno Neonatal (HUMN) y de Fundación Independencia. Las muestras citológicas y moleculares, por su parte, se encuentran en la Cátedra de Anatomía Patológica del HUMN y en el Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella" de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba, respectivamente.

No hay conflictos de Intereses asociados a este trabajo

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Capítulo	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Patogenia de la Enfermedad Periodontal	4
2.1.1. Características del terreno	10
2.2. Biología viral	18
2.2.1. Herpesvirus	21
2.2.2. Herpesvirus en las Enfermedades Periodontales	23
2.2.3. Patogenia de la Enfermedad Periodontal asociada a Herpesvirus	27
2.2.4. Virus Papiloma Humano	30
2.2.4.1. Características	30
2.2.4.2. Epidemiología	33
2.2.4.3. Infección del huésped	33
2.2.4.4. Espectro de la infección	36
2.2.4.4.1. HPV en mucosas	36
2.2.4.4.2. HPV en mucosa bucal	37
2.2.4.5. Transmisión del HPV	40
2.2.4.6. Criterios diagnósticos de lesiones por HPV en mucosas genital y bucal	41

Capítulo	Pág.
5. RESULTADOS	64
5.1. Caracterización de la población estudiada	64
5.2. Evaluación de las variables del examen bucal y clínico periodontal	66
5.3. Identificación del genoma viral	68
5.4. Identificación de la lesión citológica	69
5.5. Análisis de la relación entre variables	70
5.6. Relación entre el estado periodontal y la presencia del Virus Papiloma en el surco y/o bolsa periodontal y en la lengua	77
5.7. Análisis de las pacientes con el virus presente en boca y otras variables	82
5.8. Correlación gineco-periodontal	84
5.9. Relación entre los dos métodos diagnósticos de HPV “moleculares vs. citológicos”	85
5.10. Otros hallazgos clínicos	86
6. DISCUSIÓN	89
7. CONCLUSIONES	102
RESUMEN - ABSTRACT	106
BIBLIOGRAFÍA	108

Capítulo	Pág.
ABREVIATURAS	117

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Contenido	Pág.
I	Secuencia de colonización microbiana modificada con la presencia de los virus	7
II	Lesiones causadas por HPVs	40
III	Criterios diagnósticos de lesiones por HPV en mucosas genital y bucal	42
IV	Clasificación de las imágenes vulvoscópicas	43
V	Informe citológico	43
VI	Diagrama de flujo del estudio	49
VII	Representación de variables en el modelo conceptual	53
VIII	Categorías y criterios del diagnóstico periodontal	59

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N°	Contenido	Pág.
1	Virus de doble cadena de ADN no envuelto	32
2	Espectro de cambios en el epitelio escamoso cervical causados por la infección HPV	35
3	Relación porcentual de pacientes según examen ginecológico	65
4	Relación porcentual de pacientes según diagnóstico periodontal	68
5	Relación porcentual del diagnóstico periodontal según la edad de las pacientes	72
6	Relación porcentual del examen ginecológico según la edad de las pacientes	76
7	Relación entre diagnóstico periodontal y presencia de virus en lengua	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°	Contenido	Pág.
1	Variable considerada, edad, y su distribución porcentual por categorías	64
2	Variables consideradas, compañías sexuales, y sexo oral, y su distribución porcentual por categorías	65
3	Variable considerada, hábito de fumar, y su distribución porcentual por categorías	66
4	Variable considerada: identificación del HPV por PCR, y su distribución porcentual por categorías	69
5	Variable considerada: identificación del HPV por PAP, y su distribución porcentual por categorías	70
6	Distribución del diagnóstico periodontal según la edad de la paciente (Numérico y porcentual)	71
7	Distribución de la severidad de las periodontitis según la edad de la paciente (numérico y porcentual)	73
8	Distribución de la severidad de las periodontitis según los diferentes grupos etarios	73
9	Distribución de la extensión de las Periodontitis según la edad de las pacientes (numérico y porcentual)	74
10	Distribución porcentual de la edad respecto el examen ginecológico	75
11	Distribución porcentual del examen ginecológico según la edad de las pacientes	75
12	Distribución porcentual del diagnóstico periodontal y el hábito de fumar	77

Tabla N°	Contenido	Pág.
13	Distintas formas de distribución del diagnóstico clínico periodontal y viral por PCR en:	
	a) lengua;	78
	b) epitelio interno;	79
	c) epitelio externo	80
14	Distribución del diagnóstico periodontal y viral por PCR en lengua, correlacionando con la edad:	
	a) porcentual por diagnóstico periodontal;	
	b) porcentual por grupo de edad	81
15	Estudio de las características de las pacientes con PCR positivo en lengua - Variable de comparación: Índice Gingival	82
16	Estudio de las características de las pacientes con PCR positivo en lengua - Variable de comparación: Edad	83
17	Estudio de las características de las pacientes con PCR positivo en lengua - Variable de comparación: Compañía Sexual	83
18	Estudio de las características de las pacientes con PCR positivo en lengua - Variable de comparación: Sexo Oral	84
19	Correlación de las variables diagnóstico ginecológico y diagnóstico periodontal – Comparación gineco–periodontal	85
20	Correlación de los métodos diagnósticos del virus en lengua:	
	(a) Porcentual por PCR;	85
	(b) Porcentual por PAP	86
21	Aparición de Papilitis foliada en pacientes estudiadas según el diagnóstico clínico periodontal	87
22	Papilitis foliada en pacientes con PCR-lengua positivo	87

ÍNDICE DE FOTOS

Fotografía N°	Contenido	Pág.
1	Gel de agarosa al 1,5% teñido con bromuro de etidio de los productos de la PCR-HPV	63
2	Gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio de los productos de la RFLP	63
3	Lesión verrugosa en piso de boca	67
4	Lesión vegetante de labio	67
5	Lesiones vegetantes en paladar	67
6	Lesión vegetante en encía	67
7	Lesión vegetante en encía	67
8	Lesión vegetante en encía	67
9	Papilitis foliada en paciente N° 8	88
10	Papilitis foliada en paciente N° 7	88
11	Papilitis foliada en paciente N° 5	88
12	Papilitis foliada en paciente N° 5	88
13	Papilitis foliada en paciente N° 12	88
14	Papilitis foliada en paciente N° 11	88

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°	Contenido
I.	Ficha Ad-Hoc N° 1
II.	Ficha Ad-Hoc N° 2
III.	Fotografías de pacientes con Enfermedad Periodontal

1. INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Periodontales son el resultado de la acción de *múltiples agentes infecciosos* que interactúan con *respuestas celulares y humorales* interconectadas, en *huéspedes con réplicas inmunes determinadas*.¹

Ha sido difícil esclarecer, en su patogenia, el rol que desempeñan algunos microorganismos potencialmente patógenos, así como las respuestas del huésped que colonizan.

A la luz de los conocimientos actuales, no se alcanza a comprender por qué, en anfitriones con **factores de riesgo semejantes**, algunas infecciones periodontales ocasionan pérdida de inserción periodontal y de hueso alveolar, mientras que otras se limitan a la inflamación de la encía, con escasas consecuencias clínicas, o con ausencia de ellas.

Si bien no hay duda en responsabilizar a las bacterias del inicio de las manifestaciones inflamatorias en las lesiones periodontales, ellas no han podido justificar la diversidad y magnitud de las expresiones clínicas de la enfermedad.

La necesidad de profundizar conocimientos y la posibilidad de intervención de otros agentes infecciosos como factores etiológicos adicionales, ha despertado el interés por el estudio de los virus en la etiopatogenia de las Enfermedades Periodontales.

Los virus son causa de infecciones agudas y crónicas en el hombre, algunas de ellas potencialmente mortales, además de estar implicados en el 15 al 20% de las neoplasias malignas. En la cavidad bucal son importantes agentes ulcero-génicos y tumoro-génicos, a más de ser reconocido que pacientes con infecciones virales agudas tendrían mayor riesgo de sufrir ciertas infecciones bacterianas. En la actualidad es frecuente el descubrimiento de nuevos virus, y la vinculación de los ya conocidos con enfermedades clínicas cuyas causas eran desconocidas.^{2,3}

El hallazgo de la presencia viral en algunas lesiones periodontales, puede sugerir su implicancia en más enfermedades bucales de las que hasta el presente han sido reconocidos.⁴ Recientemente han sido detectados varios virus asociados a lesiones periodontales, tales como Virus del tipo Herpes, con capacidad para alterar los mecanismos de defensa del huésped, dando a las bacterias periodontopatógenas la oportunidad de aumentar su crecimiento en el área subgingival y hasta invadir los tejidos y las células con mayor eficacia. Es por esa razón que, junto al estudio de los factores de riesgo, el análisis de estos agentes infecciosos ha ampliado su espectro.^{5,6}

Se considera que la infección por el Virus Papiloma Humano (HPV —de las siglas en inglés, Human Papilloma Virus—) del tracto genital inferior femenino es la enfermedad de transmisión sexual más prevalente en la actualidad. Se calcula que uno de cada tres individuos sexualmente activos puede estar infectado con un tipo de HPV y se estima que en Argentina, son diagnosticados un millón de nuevos casos cada año.⁷

Por otro lado, es interesante observar la estrecha similitud, entre las infecciones por HPV de la mucosa bucal y genital, que comparten un mismo huésped. Esta semejanza podría basarse en aspectos etiológicos, clínicos e histopatológicos análogos, pudiendo ambas, además, estar negativamente influenciadas por factores de riesgo comunes, tales como la inmunodeficiencia del huésped, el hábito de fumar, las infecciones asociadas a bacterias anaerobias y/o espiroquetales, entre otras, las cuales pueden tener su expresión en el terreno periodontal.

El Virus Papiloma Humano (HPV) es un agente infeccioso viral asociado a los procesos de proliferación celular. Dado que, tanto la proliferación como la migración del epitelio de unión son considerados hechos fundamentales en el deterioro periodontal, los mecanismos biológicos de acción del HPV podrían influir en este terreno, aunque aún no ha podido ser fehacientemente involucrado en la iniciación y/o agravamiento de las lesiones periodontales.⁸

En nuestro medio no han sido publicados hasta el presente resultados que expresen la significación clínica de la detección de HPV en tejidos periodontales y su posible relación con la presencia de lesiones sugestivas del mismo, en el tracto genital inferior femenino (TGI).

Debido a ello y motivados por lo innovador de este campo de investigación en Periodoncia, se resolvió iniciar el estudio sobre influencia del HPV en manifestaciones clínicas periodontales de mujeres con lesiones ginecológicas potencialmente asociadas a HPV.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Patogenia de la Enfermedad Periodontal

Las Enfermedades Periodontales comprenden una serie de **entidades infecciosas** que asientan en el periodonto de protección e inserción de los dientes. Algunas están limitadas a la inflamación de la encía, con escasas consecuencias clínicas, mientras que otras ocasionan la pérdida de inserción periodontal y de hueso alveolar, con diferentes grados de severidad y extensión.

La iniciación, el progreso y las características clínicas de estas infecciones dependerán de un enmarañado laberinto de interacciones de múltiples factores que alteran los procesos biológicos de un huésped genéticamente susceptible. Desde los desencadenantes, como “**la microbiota bucal**”, con su compleja y variada composición, que coloniza un “**habitat**” de la boca del individuo en el cual confluyen varias determinantes que le otorgan características particulares. Estas determinantes preceden incluso al individuo mismo, como la comunidad en la que reside, donde la localización geográfica, las características raciales y étnicas, los antecedentes genéticos, las costumbres sociales, situaciones socioeconómicas, hábitos alimentarios y hasta la naturaleza de los microorganismos que colonizan a otros individuos ejercen su influencia. También son destacables los aspectos particulares del hospedero, como su estructura genética, el estado de salud, la dieta, el tabaquismo y drogodependencias, las personas con las que interactúa y los hábitos de higiene buco-dental. En la cavidad bucal, las determinantes de influencia

están referidas a las peculiaridades del eco-nicho, tales como los receptores de los tejidos duros y blandos, que afectan la adherencia inicial de algunas especies microbianas, y la naturaleza de las que ya están colonizando, además del medio y composición del líquido circulante, como saliva y/o fluido gingival. La interacción de todos estos factores, huésped, microorganismos, y entorno, influenciarán la susceptibilidad de un paciente a padecer enfermedades periodontales.^{9, 10}

El factor desencadenante de estas infecciones compete a la presencia de **biopelículas microbianas complejas** que colonizan primariamente en las proximidades de las regiones surculares, entre la superficie dentaria y el margen gingival, en la unión dento-gingival. Las biopelículas son estructuras compuestas por comunidades bacterianas incluidas en una matriz polimérica, el glucocáliz, autogenerada por ellas. Esta organización le confiere al biofilm propiedades especiales, como la protección frente a agentes antimicrobianos, ya que retarda la difusión de antibióticos y de inhibidores antibacterianos del hospedero. Los microorganismos que allí conviven, además, desarrollan mayores resistencias a estos agentes antimicrobianos, comparados con sus homólogos planctónicos, es decir, bacterias que viven fuera de la comunidad.¹¹

En huéspedes periodontalmente sanos, los microorganismos están controlados físicamente por la descamación de los epitelios, así como por la respuesta inmunitaria innata y adquirida. En sitios anatómicos especiales y únicos del organismo, como es la unión dento-gingival, **la superficie del diente que no se descama** podría facilitar la colonización de los mismos.¹²

Para el estudio del biofilm de placa dental se consideran tres componentes, que influyen en su composición, como son la superficie colonizable, la microbiota colonizadora y el fluido circulante, pudiendo ser este último saliva o fluido gingival, dependiendo de la ubicación supragingival o subgingival, respectivamente.

Dentro de la microbiota bucal con potencial de colonización se han descrito alrededor de 700 especies bacterianas, filotipos y sub-especies. Es aun poco claro cómo esta multitud de agentes microbianos compiten, coexisten y/o sinergizan para iniciar y hacer progresar a estos procesos patológicos. Por otra parte, frente a la posibilidad de que hasta el presente no hayan sido aisladas todas las bacterias y/o virus involucrados en la patogenia de Periodontitis graves, la investigación científica está frente a un desafío excepcional.

Autores como *Socransky, Haffajee y colaboradores*, según lo representan en el cuadro I, describieron posibles modelos de asociación de las comunidades microbianas bucales en salud y/o en diferentes enfermedades periodontales. Estos disímiles complejos microbianos fueron ordenados y estratificados en grupos que representan a los consorcios bacterianos, y han sido relacionados con la secuencia de colonización de la superficie dentaria y con el tipo y severidad de las enfermedades periodontales.¹³

En aras de comprender el mecanismo ecológico del biofilm de placa dental este se divide, por su ubicación, en supragingival y subgingival. El paso inicial es la formación del biofilm supragingival, del cual dependerá la presencia y el mantenimiento del subgingival.

La secuencia de formación de la biopelícula de placa bacterial se inicia con la adherencia de cocos grampositivos —colonizadores iniciales— a la película adquirida de la superficie del esmalte. Estas células cocoides solitarias crecen en número y se expanden por la superficie del diente. La presencia de *Streptococos*, tales como *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus s. p.*, *Streptococcus gordonil* y *Streptococcus intermedius*, que representan al complejo amarillo de Socransky, ha sido asociada con la aparición de Gingivitis subclínica.¹³

Cuadro I - Secuencia de colonización microbiana modificada con la presencia de los virus

(Adaptado de Socransky S.S., Haffajee A. D, Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Jr. "Microbial complexes in subgingival plaque", *Journal of Clinical Periodontology*; 1998, 25:34-144).



Consecutivamente se producen procesos de agregación bacteriana de mayor complejidad. Las poblaciones crecen en comunidades, lo que se denomina sucesión primaria. El microentorno íntimo cambia de aerobio/capnofílico a anaerobio facultativo. El nicho ecológico que representa la respuesta del huésped y la comunidad microbiana se reorganiza conformando la llamada sucesión secundaria. En este período, se pueden detectar formas filamentosas como *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga concisus*, y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo a*, representadas en el complejo verde, *Veillonella parvula* y *Actinomyces odontolyticus*, al violeta, y especies de *Actinomyces*, al azul, las cuales viran el medioambiente de anaerobio facultativo a anaerobio estricto. Así, se establece una comunidad estable con una amplia variedad de especies conformando su clímax. En este estado se pueden detectar *espiroquetas* y *microorganismos móviles* del complejo naranja, como *Campilobacter gracilis*, *Campilobacter rectus*, *Campilobacter showae*, *Eubacteriu nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium polymorphum*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella nigrescens*, y *Streptococcus Constellatus*, que estarían asociados a las transformaciones del surco gingival en bolsa periodontal. En este estadio, las interacciones de la biopelícula microbiana con las células de huéspedes susceptibles resultan en destrucción tisular local e instalación de Periodontitis. La placa contiene productos finales bioactivos, tales como ácidos orgánicos fermentados, componentes sulfurados, enzimas de digestión tisular, peptidoglucanos y lipopolisacáridos. Estos componentes se diseminan hasta la superficie del epitelio y aumentan tanto el flujo del fluido gingival como el edema, los cuales expresan el estado inflamatorio en los tejidos periodontales. Este

aporte, proveniente del suero, cambia el ecosistema del biofilm contiguo a la encía inflamada, haciendo que bacterias proteolíticas expandan su nicho ecológico y produzcan proteasas que aceleran la destrucción de los tejidos.

Dentro de estos **agentes infecciosos** específicos, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*, miembros del complejo rojo y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo b, son consideradas importantes especies patógenas **bacterianas**, asociadas a la etiopatogenia de Enfermedades Periodontales destructivas.¹⁴⁻¹⁶

Otros microorganismos, tales como **hongos**, -principalmente *Cándida albicans*- y **parásitos** -especialmente *Tricomonas tenax* y *Entamoeba gingivalis*- también podrían contribuir a la destrucción periodontal.¹⁷

Hallazgos recientes involucran al *Citomegalovirus (CMV)*, al *Virus del Epstein-Barr tipo 1 (EBV-1)* y al *Virus del Herpes Simple (HSV)* en la patogénesis de enfermedades periodontales. Estos virus fueron encontrados tanto en Periodontitis progresiva del adulto, como en Periodontitis agresiva localizada, en Periodontitis asociada al HIV, en Gingivitis necrosante y en abscesos periodontales. Se ha sugerido que estos Virus del tipo Herpes podrían aumentar la destrucción periodontal disminuyendo las defensas locales del huésped frente al reto bacteriano. Así, el CMV infectaría y dañaría a leucocitos polimorfonucleares, macrófagos y linfocitos T, y el EBV-1, a los linfocitos B de los tejidos periodontales. En estas células infectadas podrían, además, inducir la producción de citoquinas pro-inflamatorias, dando a las bacterias periodonto-patógenas la oportunidad de aumentar su desarrollo en el área

subgingival y posibilitar la ocasional invasión de los tejidos y células aledañas con mayor eficacia.¹⁸⁻²¹

2.1.1. Características del terreno

La unión dento-gingival es la zona donde interactúan los agentes infecciosos con las células y tejidos del huésped, originando una respuesta inflamatoria inespecífica inicial e inmuno-específica ulterior, característica de las lesiones periodontales. Éstas pueden permanecer confinadas a los tejidos gingivales o avanzar hasta producir pérdida de inserción conectiva y de hueso alveolar, alterando el soporte dentario.²²

Tal como fuera expresado, en la interfase diente-encía se producen hechos singulares. Por un lado, la superficie epitelial manifiesta su constante renovación y reparación y, por el otro, la superficie dentaria no descamativa proporciona un sustrato sólido, no solo para la adhesión de las células del epitelio de unión sino que también para la colonización microbiana y su propagación a la cavidad bucal.

Los epitelios de la cavidad bucal presentan diferencias histológicas de espesor, diferenciación y queratinización, adaptadas a las exigencias funcionales del área que revisten, según fuere, mucosa masticatoria representada por la encía y paladar duro, especializados del dorso de la lengua y de revestimiento, del resto de la cavidad oral.²³

La superficie epitelial de la unión dento-gingival está representada por el epitelio sulcular y de unión, los cuales, tal como el resto de los

epitelios que tapizan la cavidad bucal, son escamosos estratificados, aunque presentan claras diferencias histológicas y funcionales.

El epitelio sulcular está constituido por las capas basal o germinativa, espinocelular o estrato espinoso, la celular granular o estrato granuloso y la queratinizada o estrato córneo. Este epitelio queratinizado e impermeable conforma la frontera estructural entre el organismo y el medio externo, resguardando al periodonto de agresiones mecánicas y microbianas. Además de esta función **física de barrera**, la **descamación epitelial continua**, gracias a la rápida división y proliferación de los queratinocitos próximos a la membrana basal, constituyen otro mecanismo de defensa fundamental.²³

El epitelio de unión no queratinizado y semi-permeable, está constituido por dos estratos, la capa basal, en contacto con el tejido conectivo a través de la lámina basal externa, y la capa suprabasal, firmemente adherida a la superficie dentaria, por su diferenciación funcional “la Unión dento-gingival”. Esta unión ultramicroscópicamente está compuesta por hemidesmosomas ubicados en la membrana plasmática de las células **directamente adheridas al diente** o células **DAD** y, por una matriz extracelular denominada lámina basal interna. La velocidad de recambio de este epitelio es excepcionalmente rápida y duplica la del epitelio bucal del cual derivaría, en caso de ser lesionada, en el término de 5 días. La rápida descamación y la consecuente eliminación efectiva de las bacterias que se adhieren a estas células epiteliales es también, como en el resto de los epitelios, otro importante mecanismo de defensa en la unión dento-gingival.²⁴

Además de la función de barrera y descamación continua, los epitelios de unión y del surco, actuarían, por un lado, permitiendo el paso selectivo de ciertos antígenos y células al corion gingival y, por otro, censando el medio-ambiente dento-gingival y produciendo mediadores inflamatorios en respuesta a los estímulos bacterianos.^{25, 26} Autores como *Marshall y colaboradores*, hallaron que estas células epiteliales producirían una amplia gama de moléculas de defensa, tales como péptidos antimicrobianos, habiéndose descrito hasta la fecha a cuatro de estas familias (alfa-defensinas, beta-defensinas, catelicidinas y saposinas), las cuales serían capaces de eliminar tanto a bacterias grampositivas y gramnegativas, como a hongos y a determinados virus.²⁷

Otro de los mecanismos de defensa está representado por la presencia de células de Langerhans, descritas también como censores del desafío bacteriano. Ellas son miembros de la familia de células dendríticas, las cuales circulan por el torrente sanguíneo y están esparcidas por casi todos los tejidos del cuerpo donde tienen aspectos similares al de monocitos. En piel y mucosas, están ubicadas en las capas basales y suprabasales donde adquieren forma estrellada. Investigaciones recientes demuestran un incremento en su número en los procesos de gingivitis y periodontitis; y son también implicadas en las respuestas de la mucosa bucal y gingival al desafío bacteriano. En el sistema inmunitario innato se las denomina “centinelas”, siendo capaces de reconocer, capturar y presentar al antígeno, sirviendo de «puente» hacia la respuesta inmunitaria adaptativa.^{28, 29}

Uno de los principales objetivos de la investigación periodontal ha sido describir la reacción inflamatoria en los tejidos de soporte dentario y

sus posibles consecuencias sobre la integridad del hueso alveolar, siendo hasta el momento, menos explorados los efectos sobre las células del epitelio de unión. Es reconocido que, cuando el reto bacteriano en las inmediaciones de la unión dento-gingival, sobrepasa a los mecanismos protectores de la barrera epitelial, se generan respuestas específicas. Los queratinocitos epiteliales responden activamente produciendo, por un lado, moléculas de adhesión celular, —“molécula 1 de adhesión intercelular”— y por otro, sustancias quimiotácticas tales como C5a, leucotrieno B4, antígeno 3, asociado a la función linfocitaria, e interleucina 8. Estas con un gradiente de concentración que aumenta en sentido ápico-coronal, facilitan y guían la migración de los leucocitos, especialmente de Polimorfo Nucleares Neutrófilos (PMN), a través del epitelio de unión hacia el espacio extra-tisular para contener al desafío bacteriano. De este modo conformarían una barrera, que en la mayoría de los casos, impediría la invasión bacteriana al epitelio y al tejido conectivo subyacente, confinando el combate al espacio extra-tisular.³⁰

Una de las mayores contribuciones de *Page y Schroeder*, fundamentando las bases de la patogenia periodontal, fue la observación de que la lesión periodontal se iniciaría, como una **respuesta inflamatoria aguda inespecífica**, en el corión gingival. Ésta estaría caracterizada por reacciones vasculares, con formación de edema y fluido gingival, así como respuestas celulares, que darían lugar al infiltrado inflamatorio. En un primer momento este infiltrado es conformado por el aumento de la emigración de leucocitos polimorfonucleares del interior de los vasos, los cuales constituyen la **primera línea de defensa**. En los primeros estadios el infiltrado inflamatorio de este compartimiento tisular, que estaría dominado por linfocitos pequeños y medianos, principalmente linfocitos T,

evoluciona a un infiltrado inflamatorio donde predominan mayoritariamente linfocitos B y células Plasmáticas, compartido al mismo tiempo con linfocitos T, macrófagos y algunos neutrófilos. Los macrófagos, o monocitos activados representan una línea celular importante en la interacción de la respuesta “inespecífica↔específica” del huésped. De este modo, actúan como células presentadoras de antígenos y, junto con los PMN, como células microbicidas. Además secretan citoquinas pro-inflamatorias, las que regulan al resto de las células inflamatorias, como linfocitos y neutrófilos así como a células residentes, tales como fibroblastos. La activación de estas células mononucleares causada por antígenos bacterianos específicos o por mediadores de la inflamación de las propias células residentes o transeúntes, caracterizan la respuesta **inmunológica específica** con la finalidad de formar una **segunda línea de defensa monocítica–linfocítica**. Esta segunda barrera, junto a la producción de anticuerpos y mediadores de inflamación específicos es controlada por los linfocitos T, que regulan la diferenciación de linfocitos B a plasmocitos, la reactivación neutrofílica y las respuestas celulares específicas, limitando de este modo la extensión de la lesión.^{31, 32}

En el epitelio de unión pueden encontrarse, también, cantidades importantes de linfocitos, que contribuyen con las funciones protectoras del tejido. Recientemente se ha sugerido que, junto a la producción de anticuerpos por las células plasmáticas, las células del epitelio de unión poseen, también, funciones secretoras.³³

Los eventos descritos, son iniciados, guiados y regulados por citoquinas, quimioquinas, mediadores de la inflamación y prostaglandinas, tanto en las fases agudas como en las crónicas. Éstas actuarían como

mediadores en la comunicación intercelular cruzada al unirse a receptores de membrana específicos y así generarían una respuesta celular específica. La producción de determinadas citoquinas protectoras limitaría la severidad y la extensión de las lesiones, mientras que la producción de otras citoquinas pro-inflamatorias causaría la destrucción tisular y progreso de la enfermedad.

En Periodontitis, predominarían **niveles elevados** de citoquinas pro-inflamatorias, tales como Interleuquina 1 beta (IL-1B), Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-alfa) e Interferon gamma (INF- γ), como también de Metaloproteinasas de la matriz (MMPs), que son proteasas involucradas en la pérdida de tejido conectivo y de Prostaglandina E2 (PGE2), principal mediador de la destrucción ósea. Además, estaría también acompañada por **bajos niveles** de citoquinas inhibitoras de la inflamación, tales como Interleuquina 10 (IL-10), Factores del Crecimiento Transformante beta (TGF- β) e Inhibidores Tisulares de la Metaloproteinasa (TIMPs).

Además del infiltrado inflamatorio, las células residentes del periodonto normal tales como, las del epitelio de unión y del endotelio vascular, como fibroblastos y osteoblastos —las cuales funcionarían en el periodonto sano manteniendo la homeostasis tisular—, podrían ser secuestradas por agentes bacteriales o por sus factores de virulencias y/o por citoquinas, tales como IL-1 o TNF- α y PGE2, y convertirse en principales protagonistas de la destrucción. Los fibroblastos, por ejemplo, bajo condiciones de salud, presentarían los genes activados para la formación de colágeno y de TIMPs, mientras que estarían inactivados los genes para la producción de MMPs. Ocurriría lo contrario en las lesiones

periodontales activas, donde jugarían un rol fundamental en la destrucción tisular local.^{34, 35}

Dentro de los determinantes del huésped, los **factores de riesgo** condicionarían las respuestas **inmunes determinadas** y contribuirían a incrementar la **susceptibilidad** de cada individuo a estas infecciones. Entre ellos se destacan los factores genéticos, el tabaquismo, la diabetes, la inmunodepresión, el estrés y la edad. Los estudios realizados sobre la influencia de estos en la evolución de las lesiones periodontales se han centrado, principalmente, en la reacción inflamatoria y sus consecuencias sobre el periodonto, revelando que sería necesaria una adecuada respuesta tisular del huésped para que las defensas periodontales fueran eficaces. Las variables que modifican estas respuestas podrían causar una reacción excesiva o insuficiente y ambas conseguirían acelerar la destrucción tisular.^{36, 37}

Han sido descritas las consecuencias que los factores de riesgo, tales como la diabetes y el tabaquismo, tienen sobre fibroblastos y osteoblastos, sin embargo, se conoce menos sobre la influencia que estos y otros factores, tales como las infecciones virales, tendrían sobre el epitelio del surco gingival o el epitelio de unión. **Sería importante determinar si estos agentes pueden alterar el recambio celular u otros de sus mecanismos de protección y, en consecuencia, contribuir a la degeneración o proliferación epitelial incontrolada, la que mediatizaría la pérdida de inserción y/o el desplazamiento de las células del epitelio de unión y su consecuente conversión en epitelio de la bolsa periodontal.** También, sería probable que algunas respuestas de las células del epitelio de unión a productos bacterianos y/o del huésped, o a su

contaminación por virus epitelio-tropos, fueran un factor contribuyente a la patogenia de ciertas modalidades de enfermedades periodontales. Un ejemplo estaría representado por lo que ocurre en el síndrome de *Kindler* en el cual, por un defecto local de las células del epitelio de unión, las células DAD, afectadas en su capacidad de producir colágeno tipo IV, el cual forma parte de las fibrillas relacionadas con los hemidesmosomas, producirían pérdida de inserción tanto en la piel como en el epitelio gingival con la aparición precoz de Periodontitis.³⁸

En los procesos de destrucción periodontal están involucrados varios factores, tanto de virulencia microbiana como de defensa del huésped. El epitelio de unión, tal como fue descrito, está constituido por distintas poblaciones de células situadas en dos áreas anatómicas diferentes, una la porción coronal y la otra la apical, donde las condiciones ambientales son esencialmente diferentes, por lo cual diversas agresiones pueden causar respuestas celulares variadas. Estas células poseen un fenotipo distintivo que les permite cumplir funciones específicas en la defensa periodontal y adquirir o perder el rol activo durante la evolución de las enfermedades periodontales. Las células DAD coronales crecen en la proximidades del biofilm de placa dental, mientras que las porciones apical y lateral, reciben la influencia del tejido conectivo y de sus reacciones inflamatorias. El fluido gingival (FG) proporciona a las células DAD más coronales las condiciones necesarias para sobrevivir, aunque también contiene una variedad de moléculas biológicamente activas, con capacidad potencial para perturbar sus funciones vitales. Productos de los leucocitos polimorfonucleares y /o agentes inflamatorios pueden alcanzar altas concentraciones en el FG, e influir en la supervivencia y/o adherencia de las células DAD. Los ácidos lipoteicoicos bacterianos y los productos de

desecho metabólicos —como los ácidos propiónico y butírico—, interfieren con la división celular y por consiguiente, con la capacidad de recambio y reparación del epitelio de unión.

A medida que avance el conocimiento sobre la fisiología del epitelio de unión y sus reacciones moleculares frente a diversas agresiones externas, se podrá comprender mejor su rol en la pérdida de la adhesión dentogingival y analizar las causas que determinan mayor susceptibilidad a padecer deterioro periodontal.³⁹

Debido a las características de multifactorialidad causal, es aún difícil comprender por qué huéspedes con factores de riesgo semejantes, desarrollan lesiones limitantes mientras que otros son incontenibles en su progreso destructivo. El entendimiento profundo de la biopatología de las acciones microbianas directas o de sus factores de virulencia, así como de la respuesta del hospedero, podrían ayudar a concretar los determinantes moleculares responsables de que algunas Gingivitis evolucionen a Periodontitis o que Periodontitis estables progresen negativamente y, de ese modo, sentar las bases para nuevas estrategias de diagnóstico, prevención y tratamiento de las diferentes enfermedades periodontales.

2.2. Biología viral

Los virus son agentes infecciosos intracelulares obligados, debido a que son metabólicamente y patológicamente inertes, fuera de la célula anfitriona que contaminan.

El “virion”, o partícula viral completa, está formada por dos componentes básicos, el “genoma”, representado por el ácido nucleico — del tipo ADN o ARN—, y la “cápside”, o cubierta proteica protectora por él codificada. Algunos virus tienen una cubierta adicional o envoltorio, formado por una doble capa lipoproteica derivada de la membrana celular del anfitrión. De la superficie de este envoltorio se prolongan glucoproteínas que, además de representar la porción antigénica viral, actuarían a modo de proteínas de adherencia para las células mamíferas diana que infectan.

Los virus “envueltos” aseguran su supervivencia permaneciendo en medios húmedos ya que su envoltorio los hace vulnerables a los detergentes, a solventes o a la desecación, por lo que no pueden subsistir en el intestino del hombre. Estos se transmiten a través de fluidos— secreciones, sangre o tejidos—. Por el contrario, los virus “desnudos” — sin envoltura—, pueden sobrevivir a dichas condiciones adversas, conservando su capacidad infecciosa, por lo que son transmitidos eficazmente por vectores pasivos, de mano a mano, con el polvo ambiental y/o secreciones.

Las infecciones víricas generan en el huésped respuestas inmunitarias celulares y humorales. Los virus envueltos desencadenan, en general, respuestas inflamatorias mediadas por células y de hipersensibilidad de tipo tardío capaces de afectar la reproducción viral, al matar a las células infectadas. En este caso, la enfermedad es, con frecuencia, el resultado de respuestas inmunes inapropiadas. Los virus desnudos están, en general, controlados por la inmunidad humoral la que, al producir anticuerpos contra la estructura proteica de su superficie, causan

la inactivación y/o eliminación de los mismos, por lo que las vacunas resultan medios eficaces para su control.

Entre las patologías más frecuentes asociadas a virus se encuentran la Gingivoestomatitis herpética aguda, queratitis, conjuntivitis, encefalitis, vinculadas al Virus del Herpes Simple tipo 1 o HSV-1. Lesiones herpéticas en genitales relacionadas al Virus del Herpes Simple tipo 2 o HSV-2 α , Varicela y Herpes Zoster con el Virus de Varicela-Zoster o ZVV α , Mononucleosis infecciosa clásica, linfoma de Burkitt (África, Nueva Guinea), linfoma de Hodgkin, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma escamoso (sur de China), y leucoplaquia vellosa bucal, asociadas al virus de Epstein-Barr o EBV γ . La infección congénita sintomática caracterizada entre otras manifestaciones por retraso del crecimiento, ictericia, anomalías auditivas, así como retinitis, encefalitis, síndrome tipo mononucleosis, y rechazos de órganos trasplantados reconocen en su etiología al Citomegalovirus Humano o CMVH β . El Exantema súbito (Roséola infantil) en niños pequeños y enfermedad febril no diferenciada, están ligadas al Herpesvirus Humano 6 —HVH-6 β — y al Herpesvirus Humano 7 —HVH-7 β — respectivamente. El Sarcoma de Kaposi, al Herpesvirus humano 8 —HVH-8 γ — en pacientes con SIDA y tumores sólidos.⁴⁰⁻⁴⁶

El estudio de los virus se ha basado tradicionalmente en cultivos celulares, los cuales permiten identificar los efectos citopáticos característicos, así como las conformaciones morfológicas de los corpúsculos de inclusión intracitoplasmáticas e intracelulares. También es posible estudiarlos a través de técnicas inmunohistoquímicas e inmunoanálisis, donde se logra en muestras clínicas, la tipificación de los antígenos virales y la cuantificación de los anticuerpos específicos.

Actualmente, se utilizan, además, procedimientos moleculares, que detectan el ácido nucleico ya sea en forma directa, por medio de hibridación, o tras la ampliación genómica, como es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).⁴⁷

2.2.1. Herpesvirus

Desde la década del 90, se despertó especial interés por el estudio de los virus, y su posible vinculación con diversos tipos de enfermedades periodontales. En particular, se consideró que el Citomegalovirus Humano (CMVH) y el virus Epstein-Barr (EBV) desempeñaban algún rol en la compleja etio-patogenia de los tipos graves de Periodontitis.^{4, 5, 20}

Dentro de los 120 diferentes tipos de herpesvirus identificados hasta el momento, se reconocen 8 grupos principales que infectan a los seres humanos: el Virus del Herpes Simple (HSV) tipos 1 y 2, el Virus de la Varicela-Zoster, el EBV, el CMVH, el Herpesvirus Humano HVH-6, HVH-7 y HVH- 8.

En el hombre, la colonización inicial de la mayoría de los virus tipo herpes se produce en los primeros años de vida, y en la generalidad de los casos, es clínicamente imperceptible. A esta fase productiva inicial de la infección, —subclínica o clínica—le sigue una fase de latencia, durante la cual el genoma vírico se integra dentro del genoma de las células anfitrionas. Este último período asegura la supervivencia del genoma de los herpesvirus durante toda la vida del individuo contaminado.

Las infecciones clínicas por herpesvirus, por lo general, están limitadas a individuos inmunitariamente inmaduros o inmunodeprimidos, incapaces de generar una defensa suficiente del anfitrión. Periódicamente estos virus latentes, pueden experimentar una reactivación y volver a entrar en la fase productiva, como consecuencia de disminuciones de la inmunidad celular específica, pudiendo causar nuevas infecciones tanto sintomáticas como asintomáticas.

El stress físico y psicosocial, los cambios hormonales, las infecciones bacterianas, las medicaciones inmunosupresoras y otros acontecimientos que alteran, la inmunidad celular, pueden desencadenar la reactivación vírica.

En los huéspedes inmunocompetentes, que muestran respuestas inmunitarias antivíricas protectoras, las infecciones primarias o las reactivaciones de genomas de herpesvirus latentes son habitualmente asintomáticas, a pesar de la activa reproducción viral y la diseminación sistémica. Pero, en los pacientes inmunodeprimidos estas podrían producir un amplio espectro de respuestas, que oscilan desde infecciones subclínicas, hasta enfermedades sistémicamente diseminadas, y/o a su vez incrementar el riesgo o la gravedad de nuevas infecciones bacterianas, fúngicas y por otros virus.

Los herpesvirus poseen tropismo tisular, siendo selectivos respecto a los tejidos y órganos que contaminan. Así, por ejemplo, el CMVH infecta a monocitos y macrófagos, linfocitos T, células epiteliales de los ductos de las glándulas salivales, células endoteliales, fibroblastos y leucocitos polimorfonucleares, mientras que establecen su periodo de latencia

principalmente en las células mieloides. El EBV, por otro lado, tiene como objetivo a los linfocitos B tanto en la infección primaria como en su fase de latencia, pudiendo permanecer latente en el epitelio bucofaríngeo.

La transmisión vírica puede ser **vertical** —de madre a hijo— ya sea en el estadio prenatal, como es, por ejemplo, la infección por CMVH, o bien en el perinatal. También puede ser **horizontal**, por contacto directo o indirecto —de persona a persona—, tanto en niños como en adultos, dado que la saliva, las secreciones bucofaríngeas, la orina, las secreciones cervicouterinas y vaginales, el semen, la leche materna, las lágrimas, las heces y la sangre podrían servir como vehículos de transmisión.^{48, 49}

2.2.2. Herpesvirus en las Enfermedades Periodontales

Analizando las posibles relaciones entre Herpesvirus y las Periodontitis en el hombre, estudios pertinentes de los últimos 14 años, han encontrado asociaciones significativas entre esta patología y los virus tales como: HSV, CMVH, EBV y VHH-7, mientras que VHH-6 y VHH-8 fueron detectados en las biopsias de lesiones de periodontitis pertenecientes a pacientes con VIH positivo.^{50, 51}

Si bien las investigaciones realizadas en diversas áreas geográficas demuestran que la carga de estos virus varía según la edad, el país, la región dentro del país y los subgrupos de población, todos ellos han informado una elevada incidencia de ADN de herpesvirus en las lesiones de periodontitis, lo que demostraría fuerte asociación entre ambos.

Así por ejemplo en estudios hechos en Turquía, en el año 2002, el CMVH fue detectado en el 44% de las lesiones de Periodontitis crónica y en el 14% de las zonas periodontales sanas ($p < 0,05$); mientras que, sin llegar a ser significativo, el EBV-1, fue hallado en el 17% de las lesiones con periodontitis y el 14% en las zonas sanas, y el HSV en el 7% de las lesiones de periodontitis, pero en ninguna de las zonas sanas estudiadas.⁵² En 62 pacientes chinos, Ling y colaboradores, en el año 2004, encontraron el EBV en el 58% de las zonas de periodontitis con enfermedad activa, pero sólo en el 23% de las zonas de periodontitis inactiva y en el 19% de las zonas con gingivitis.⁵³ En Japón, Idesawa y colaboradores, detectaron el EBV en el 49% de las lesiones de Periodontitis crónica y en el 15% de las zonas periodontales sanas.⁵⁴ En Italia, se halló relación entre el HSV-1 y el VHH-7 con Enfermedad Periodontal. Los pacientes con infecciones periodontales combinadas de CMVH y EBV-1 exhibieron, como promedio, una progresión más rápida de periodontitis comparados con aquellos con monoinfección de Herpesvirus.^{55, 56}

Se especula que la capacidad de los herpesvirus para inmunosuprimir los tejidos que colonizan, podría predisponer el terreno para un aumento de la proliferación de *P. gingivalis*, así como de otras bacterias patógenas periodontales e incrementar el riesgo de progreso de la enfermedad. Kamma y colaboradores, en el año 2001, investigaron la presencia de ADN de CMVH, EBV-1 así como de determinadas bacterias patógenas periodontales en 16 pacientes con Periodontitis agresiva procedentes de Grecia. Tanto el CMVH, el EBV-1 y/o la coinfección de ambos fueron estadísticamente significativas asociados a la periodontitis.^{57, 58}

Los herpesvirus han sido principalmente relacionados con las Periodontitis agresivas. Así, *Kubar* y colaboradores en pacientes con dicho diagnóstico, hallaron que los sitios que mostraban presencia de CMVH presentaban mayor profundidad de bolsa periodontal y de pérdida de inserción en relación a las zonas donde no se encontraban dichos virus.⁵⁹ De igual modo, *Yapar* y colaboradores describieron también una estrecha relación entre ambos, donde detectaron al CMVH y al EBV, en el 71%, y en el 47% respectivamente de las lesiones profundas estudiadas y un 65% de la coinfección de ambos.⁶⁰ El mismo grupo de investigación encontró, además, una menor incidencia cualitativa y cuantitativa de estos herpesvirus en lesiones con Periodontitis crónicas.^{59, 61} *Michalowicz y cols.* estudiaron la presencia de CMVH, EBV-1, *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*, en 15 adolescentes con Periodontitis agresiva, en 20 adolescentes con pérdida de inserción periodontal incidental y en 65 controles sanos, seleccionados de forma aleatoria; los participantes del estudio eran de raza afro-caribeña que vivían en Jamaica. Los autores concluyeron que las probabilidades de padecer Periodontitis agresiva Localizada en estos adolescentes jamaquinos se multiplicaron en presencia conjunta de CMVH y *P. gingivalis*, en comparación con la ausencia de ambos agentes infecciosos. Además, ambos patógenos parecerían actuar de modo sinérgico, aumentando el riesgo y la gravedad de dicha enfermedad.⁶²

La encía de las lesiones con Periodontitis agresiva tiende a mostrar elevadas concentraciones de linfocitos T supresores así como de células de Langerhans, que podrían ser portadores potenciales del genoma del CMVH.^{63, 28} Por lo que estas células del infiltrado al ser examinadas por microscopia electrónica han revelado un fenómeno de morfogénesis vírica.⁶⁴

La presencia viral ha sido además implicada en la Gingivitis Necrosante. (GUN), enfermedad que afecta a individuos jóvenes inmunodeprimidos, que sufren stress, y a veces asociada también a estados de desnutrición o de infección por HIV. En estudios realizados en Nigeria, en niños desnutridos de 3 a 14 años de edad que padecían Gingivitis Necrosante, se encontró al CMVH en 13 de 22 (59,0%) de los niños enfermos mientras que no fue hallado en aquellos periodontalmente sanos. De igual modo el EBV-1 fue encontrado en 6 de 22 (27,3%) niños con GUN y en un 1 (5%) de los periodontalmente sanos, mientras que la coinfección de ambos virus se encontró en 8 (36,4%) de los enfermos periodontales y en ninguno de los sanos. Se detectó también la presencia significativamente mayor de ADN perteneciente a CMVH y a otros herpesvirus en lesiones necrocrosantes de niños desnutridos al compararlos con niños sin GUN y nutridos.^{52, 65}

En la saliva de pacientes VIH positivos ha sido detectado ADN viral de CMVH, EBV, HSV así como de VHH-8.⁶⁶ Esta presencia se ha relacionado tanto con lesiones inflamatorias gingivales y mucosas de gran extensión, así como con lesiones ulcerativas bucales.⁶⁷⁻⁶⁹

Herpesvirus también han sido involucrados en la patogenia de lesiones periapicales sintomáticas.^{70, 71} Estas exhiben una frecuencia más elevada de infecciones activas por CMVH y EBV que las lesiones asintomáticas de similar tamaño radiográfico.⁷² Aunque el CMVH parecería ser el herpesvirus endodontopático más importante, la coinfección de este con el EBV podría intervenir en los casos graves de afección periapical.⁷³

Basándose en la información actual, parece razonable añadir a las Periodontitis a la lista de enfermedades infecciosas que tienen al CMVH, al EBV y posiblemente a otros virus, como factores etiológicos contribuyentes.

2.2.3. Patogenia de la Enfermedad Periodontal asociada a Herpesvirus

Del análisis de los estudios pertinentes surgiría que, tanto la frecuencia de los sitios periodontales afectados, como la severidad y el progreso de la destrucción estarían acrecentados en aquellos tejidos periodontales infectados con herpesvirus, al ser comparados con los no contaminados.

En el mecanismo patogénico podrían actuar: (I) produciendo daño tisular directo. Se ha demostrado que causan efectos citopáticos sobre fibroblastos, queratinocitos del epitelio, células endoteliales e inflamatorias donde alterarían las propiedades fagocíticas y bactericidas de los neutrófilos periodontales, consideradas células de la primera línea de defensa y posiblemente también sobre los osteocitos.⁷⁴ Podrían además obstaculizar el recambio y la reparación tisular después de la terapia de regeneración periodontal.⁷⁵ (II) Actuarían también indirectamente, predisponiendo a sobre-infecciones bacterianas al perturbar las células inflamatorias involucradas en la defensa periodontal. En Periodontitis crónicas, la presencia gingival de ADN de CMVH o EBV-1 estaría relacionada con un aumento de la incidencia de patógenos periodontales

tales como *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *D. pneumosintes*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *C. rectus* y *T. denticola*.^{76,78} Las lesiones de Periodontitis agresivas localizadas sumadas a infecciones activas por CMVH tienden a dar recuentos elevados de *A. actinomycetemcomitans*.⁷⁹ El CMVH actuaría modulando las respuestas de los linfocitos T periodontales infectados frente a los antígenos, produciendo un relativo incremento de linfocitos CD8+ supresores, lo que a su vez ocasionaría un debilitamiento de la inmunidad en los tejidos. Estos Linfocitos T periodontales que albergan CMVH latentes y los linfocitos T cito-líticos (LTC) actúan por citotoxicidad directa o mediante la liberación de citoquinas antivíricas, constituyendo la primera respuesta del sistema inmunitario adaptativo frente a infecciones víricas primarias. Según las circunstancias individuales, la acción de estos LTC efectores, podría ser beneficiosa, perjudicial o neutral para el tejido anfitrión.⁸⁰ De modo similar a estas respuestas inmunitarias del huésped a infecciones por herpesvirus, las Periodontitis agresivas demuestran bajos cocientes de CD4+/CD8+, en tanto que dentro de estos linfocitos CD8+, predominan también los linfocitos T citolíticos (LTC), pudiendo correlacionarse esta respuesta a la colonización viral.⁸¹⁻⁸³ Además, la infección por CMVH provocaría un aumento de IL-1 β , TNF- α y de otras citoquinas pro-inflamatorias por parte de los monocitos y macrófagos.⁸⁴ Estas, en acción conjunta con los lipopolisacáridos de las bacterias gram-, que inducirían además liberación de estas citoquinas pro-inflamatorias, podrían, en forma sinérgica, estimular la transcripción genética de IL-1 β , aumentando exponencialmente en los sitios periodontales infectados.⁸⁵ El incremento de la concentración gingival de estas citoquinas pro-inflamatorias ha sido asociado a la vulnerabilidad del individuo a sufrir Enfermedades Periodontales destructivas.³¹ El EBV actuaría como un potente activador

de linfocitos B policlonales, induciendo su proliferación y diferenciación, los que secretarían determinadas inmunoglobulinas, asociadas al progreso de algunos tipos de enfermedades periodontales.³⁴ (III) También podrían favorecer la adherencia tisular de las bacterias periodontales patógenas. Teughels y cols. encontraron que la capacidad de las cepas de *A. actinomycetemcomitans* de adherir a las células epiteliales HeLa e invadirlas fue un 70% mayor cuando estas estaban infectadas por el CMVH. A su vez, en el caso de *P. gingivalis*, la capacidad fue de un 39% menor cuando las células epiteliales estaban infectadas.⁸⁶

El modelo conceptual para el desarrollo de Periodontitis está basado en las respuestas interactivas entre los herpesvirus, las bacterias y el anfitrión, en las cuales el concepto de enfermedad multifactorial puede ser incrementado. La reactivación de la latencia de herpesvirus podría producirse de forma espontánea o durante los períodos en los cuales las defensas del anfitrión se hallaran debilitadas por inmunodepresión, infecciones, traumatismo físico, cambios hormonales entre otros sucesos. Los agentes de activación de herpesvirus son también conocidos factores de riesgo y/o indicadores de enfermedades periodontales.^{37, 87} La activación vírica herpética conduciría a un aumento de las respuestas de los mediadores inflamatorios en macrófagos y en células del tejido conectivo en las lesiones periodontales. Tras alcanzar una carga viral crítica, los macrófagos y linfocitos activados desencadenarían un acumulo de citoquinas y quimioquinas tales como IL-1 β , TNF- α , IL-6, prostaglandinas, interferon y otros mediadores plurifuncionales, algunos de los cuales tendrían el potencial de extender la destrucción de los tejidos periodontales.^{88, 89}

Los tejidos periodontales podrían **albergar**, además de los herpesvirus, otros virus como el **HPV**, tal ha sido demostrado en numerosas investigaciones incluso en nuestro medio, por Bustos D., Grenon M., Benítez M., y col. (2001)⁹⁰⁻⁹⁷ Hormia y cols.(2005) sugirieron que **el periodonto puede servir de reservorio para el papilomavirus humano.**⁹⁸

2.2.4. Virus Papiloma Humano

2.2.4.1. Características

Los papilomasvirus humanos son virus epiteliotropos, infectan células epiteliales de piel y mucosas. En general, la mayoría de las infecciones son subclínicas y asintomáticas y residen especialmente en el área ano-genital, en la mucosa laringe-traqueo-bronquial, en la mucosa oral y en la piel. Cuando aparecen manifestaciones clínicas, estas se exteriorizan en forma de lesiones proliferativas benignas como verrugas y condilomas. Existe un subgrupo de estos virus que están asociados a lesiones premalignas y malignas, como leucoplasias y carcinomas.^{40, 45}

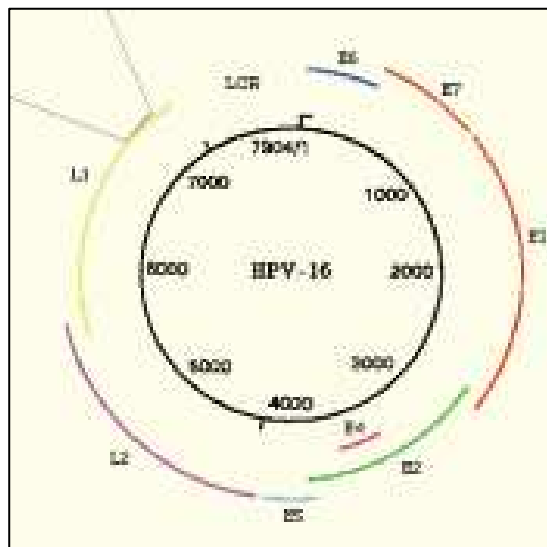
Es un grupo de virus ADN, anteriormente incluidos en la familia Papovaviridae —término acrónimo para los miembros de la familia, virus papiloma, polioma y de vacuolización—, del género Papilomavirus y actualmente está asignado por separado a la familia Papillomaviridae.⁹⁹ Su material genético, representado por Ácido Desoxiribonucleico, está constituido por 7.500 a 8.000 pares de bases, organizadas en doble cadena circular, conocido como episoma, y estabilizadas por la unión de proteínas

básicas celulares llamadas histonas. La cápside viral, que es la estructura que cubre su ADN, está compuesta por 72 capsómeros conformando una estructura icosaédrica, como puede observarse en el Gráfico N° 1(a). Es un virus desnudo, por lo que se hace difícil su neutralización, ya que la mayoría de los métodos desarrollados con este propósito se fundamentan en la destrucción y/o desestabilización de la cubierta viral. Los HPVs no pueden desarrollarse *in vitro* debido a la carencia de líneas celulares permisivas, ya que su replicación y expresión de proteínas virales tardías —cápside— ocurren sólo en células con cierto grado de especialización tales como los queratinocitos diferenciados, rasgo que pierden las células propagadas *in vitro*.

Las partículas virales están caracterizadas por su pequeño diámetro de 50 a 60 nm y, aunque resultan idénticas al ser evidenciadas mediante microscopía electrónica, según su aspecto en Gráfico N° 1(b), estudios recientes sobre detección del antígeno, utilizando métodos inmunohistoquímicos, permitieron identificar diferencias en la secuencia de nucleótidos del ADN. La clasificación del tipo y sub-tipo viral se fundamenta en la homología de la secuencia de los ácidos nucleicos y en la especie de huésped que infectan. Basados en su diferenciación filogenética se dividen en 12 géneros, designados cada uno por una letra del alfabeto griego. Los Papiloma virus **humanos** han sido agrupados dentro de cinco géneros y comprenden, hasta el momento, más de 100 tipos, según su diversidad genómica. Cada uno de los HPVs se asocia con una entidad clínica patológica diferente. La mayoría de los papilomavirus responsables de la patología en el hombre pertenecen al género (1) alfa-papilomavirus, (papilomavirus genital), (2) beta-papilomavirus (responsable de

epidermodisplasia verruciforme) y (3) gamma-pavilomavirus (la mayoría de los responsables de las lesiones cutáneas).^{46, 100-103}

(a)



(b)

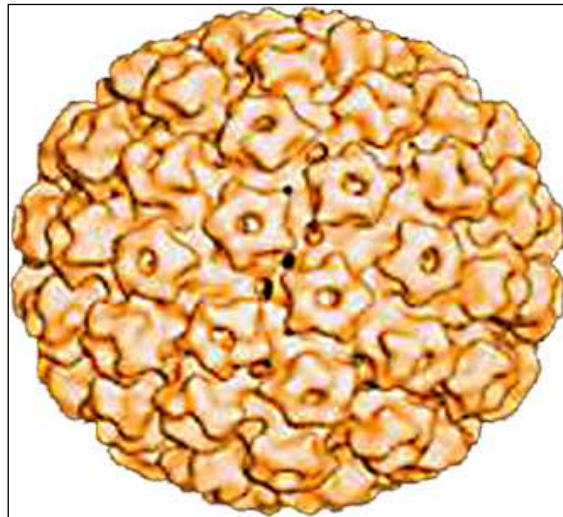


Gráfico N° 1: Virus de doble cadena de ADN no envuelto:

(a) Esquema; (b) Aspecto.

(Howley P.M., Lowy D.R. in "Knipe D.M., Howley P.M., eds., Philadelphia, Pa, Lippincott-Raven; 2001, 2197-2229)

2.2.4.2. Epidemiología

A nivel mundial se estima la existencia de 630 millones de individuos infectados por HPV, además de 190 millones diagnosticados con lesiones clínicas, hallándose la mayor prevalencia en América del Sur. Estudios epidemiológicos, en Estados Unidos de Norteamérica, muestran que 75% de la población entre 15 a 60 años de edad está infectada, 60% por demostración serológica, 10% con infección persistente —detección del ADN—, 4% con signos citológicos y 1% con lesiones clínicas.¹⁰⁴

2.2.4.3. Infección del huésped

El virus penetra la epidermis a través de abrasiones del epitelio, debido a que en la capa externa, compuesta por células muertas queratinizadas del estrato córneo, relativamente impermeables, éste no puede replicar. Por lo tanto, solo puede ingresar cuando se produce daño a nivel epidérmico, alcanzando a las células más profundas. La situación es similar en la mucosa oral queratinizada, no así en la no queratinizada — como es el caso del epitelio de unión— donde el virus podría acceder directamente, puesto que la superficie en contacto con el exterior está formada por células vivas, con alta capacidad de recambio y proliferación, además de estar inmersas en un medio húmedo. Estas circunstancias similares se observan en las células del cuello uterino de la zona anatómica de transición, localizadas entre el epitelio maduro del exocervix y el epitelio estratificado del canal endocervical, donde el virus coloniza con mayor predilección. La infección del epitelio plano estratificado de la piel y mucosas produce un efecto citopático caracterizado, entre otras cosas, por

una proliferación celular con crecimiento de papilas epiteliales y aumento de la altura del epitelio. A nivel nuclear, este virus induce alteraciones variables de la cromatina, formándose frecuentemente un halo perinuclear característico de la infección denominado “coilocito”.

La infección viral se presenta en dos formas, de mantenimiento y vegetativa. La contaminación episomal o de mantenimiento, se lleva a cabo en células basales del epitelio plano estratificado después de la entrada del virus a la célula. El mecanismo de duplicación del genoma viral es simple, cuando una célula basal se divide en dos células hijas, duplica el ADN viral y las proteínas virales. Esta presencia en las células basales y parabasales explica la persistencia de la infección y la latencia de la enfermedad. En un epitelio infectado por HPV, donde se está produciendo la mencionada réplica, no se sintetizan partículas virales completas; esto se conoce como **lesión no productiva**. Por su parte, en la infección vegetativa, se completa el ciclo biológico viral. Las proteínas virales estimulan la proliferación celular, alterando la adecuada diferenciación de los queratinocitos, y dando lugar en las células del estrato espinoso, a la replicación vegetativa y en las del estrato granular, a la síntesis de proteínas estructurales, lo que se conoce como **lesión productiva**. Esta está caracterizada por la síntesis de proteínas, el ensamble de los componentes, la maduración de la partícula viral y la salida al espacio intercelular para infectar a células contiguas, perpetuando así la infección.

De acuerdo al estado físico del ADN viral en la célula del huésped y al tipo viral involucrado, la población infectada se clasifica en dos grupos: de bajo y alto riesgo. En los pacientes de bajo riesgo, el ADN viral se

encuentra en forma vegetativa y los tipos virales más frecuentemente encontrados están asociados a lesiones intra-epiteliales de bajo grado de malignidad. En los grupos de alto riesgo, el ADN viral se encuentra integrando al genoma celular y vinculado a tipos virales asociados a las lesiones intra-epiteliales de alto grado de malignidad, según se representa en Gráfico N° 2.^{101, 105, 106}

En el hombre, la respuesta inmune humoral es escasa, además de no detectarse anticuerpos contra determinantes antigénicos de epitopes de tipo específico. Mediante Inmunohistoquímica, tal como la técnica de Inmunoperoxidas, se ha podido demostrar la presencia antigénica, la cual se correlaciona con infecciones permisivas tales como: verrugas cutáneas, condilomas y lesiones intra-epiteliales del tracto genital de bajo grado de severidad. Fue observado antígeno viral en el núcleo de las células del epitelio escamoso.⁹⁹⁻¹⁰¹

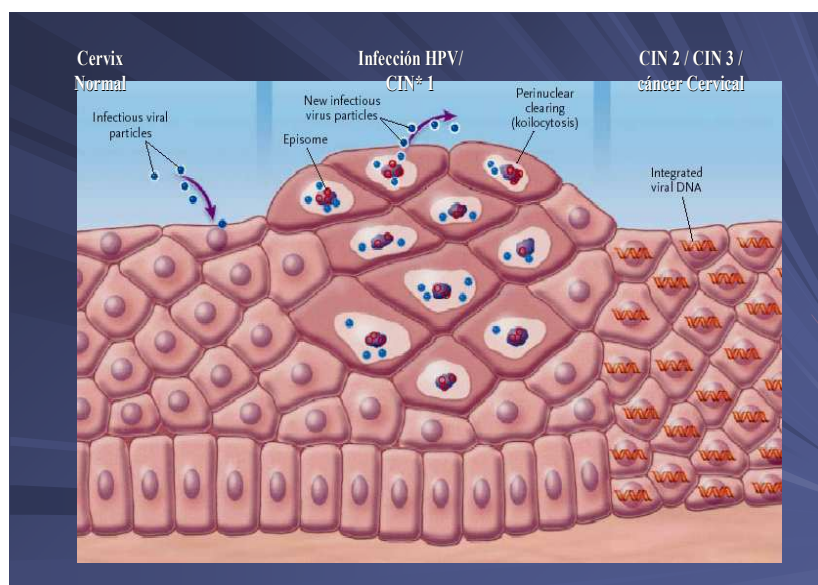


Gráfico N° 2 – Espectro de cambios en el epitelio escamoso cervical, causado por la infección de HPV.

(Adaptado de Goodman A., Wilbur DC. *N Engl J Med*, 2003, 349: 1555–1564)

CIN* = *Cervical Intraepithelial Neoplasia* (Neoplasia cervical intra-epitelial)

2.2.4.4. Espectro de la infección

2.2.4.4.1 HPV en mucosas

El cáncer cervical es la segunda patología maligna más frecuente en las mujeres de todo el mundo. Los virus papilomas también han sido implicados en la etiología de ciertos tipos de cáncer de la región anal, de la vulva, del pene, así como de la laringe y de la cavidad oral.^{105, 106}

Basados en su asociación con el carcinoma cervical se han clasificado en alto riesgo oncogénico, HPV's —16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, y 82—, y en bajo riesgo oncogénico HPV's — 6, 11, 42 y 36. El HPV 16, exhibe el grado más alto de oncogenicidad seguido por el HPV 18. Los HPV's, especialmente el 16, fueron implicados también, en un tercio de los carcinomas de células escamosas de la orofaringe, particularmente relacionado con el cáncer de amígdalas.¹⁰⁶⁻¹⁰⁹

Alrededor de 40 tipos de HPV's infectan al tracto genital femenino siendo asintomáticas la mayoría de estas infecciones. En estudios realizados en 1999, usando reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en especímenes de cáncer de cuello uterino, se concluyó que el ADN viral estaba presente en el 99,7 % de los casos.¹¹⁰ La infección por HPV del tracto genital inferior se divide en: clínica, subclínica y latente. La **clínica**, reconocible a la inspección visual, comprende al papiloma, condiloma plano y condiloma acuminado. La **subclínica**, no es perceptible a simple vista y es detectable por colposcopia y/o citología. Mientras que la **latente** sólo se evidencia mediante técnicas moleculares en pacientes con tejidos clínica e histológicamente normales.^{111, 112}

Las infecciones por HPV, relacionadas con modificaciones epiteliales oncogénicas progresivas en la vulva, vagina y en particular del cuello uterino, dependen de la confluencia de factores del hospedador y del medio ambiente que modulan el potencial oncogénico viral. Entre estos factores de riesgo se encuentran el inicio precoz de la actividad sexual y el número de contactos sexuales, que influyen tanto en la adquisición de **infecciones persistentes** por tipos de **alto riesgo** de HPV, así como en el progreso de los grados de la lesión. En mujeres con pareja sexual única, la presencia de HPV se observa en un 17-21% mientras que asciende al 69-83%, en aquéllas con más de cinco parejas. Igualmente, en esta transformación oncogénica han sido responsabilizados de modificar el curso de la infección otros factores, como el compromiso inmune y el efecto sinérgico entre el virus y otros cofactores carcinogénicos tales como el tabaquismo. La acción hormonal, incluyendo el uso prolongado de anticonceptivos orales, las carencias nutricionales, así como las infecciones de transmisión sexual, de origen viral por HSV, Citomegalovirus y/o microbianas, como bacterias anaerobias y espiroquetas también han sido involucradas en esta etiología. Por último, la predisposición genética, donde haplotipos del sistema mayor de histocompatibilidad que facilitan la integración del ADN viral al ADN del huésped además del lugar donde este se integra en la estructura cromosómica, predisponen a una mayor susceptibilidad del huésped a la progresión maligna.^{113, 153}

2.2.4.4.2. HPV en mucosa bucal

En forma similar a los hallazgos encontrados en la mucosa genital, resultados de estudios pertinentes demostraron la presencia del HPV en la

mucosa oral normal. Este hallazgo tuvo una aparición en un rango que varía del 81,1%, donde *Terai M* y col (1999, en Tokio, Japón), hallaron al HPV-18 en un 86,7%, -61 en un 60%, -59 un 23%, -16 en 6,7% y -6 en 3,3%, a un 10-13%, según fuera reportado en un meta-análisis y en una revisión bibliográfica realizada por *Syrjänen* (2000, Londres) y por *Miller y Johnstone* (2001, USA). En este último, 37 de los más de 100 tipos virales resultaron positivos, siendo HPV-16 el más común, seguido por el -6; por lo que surge que el epitelio oral puede representar un sitio latente para la persistencia del virus.¹¹⁴⁻¹¹⁷ El HPV fue hallado, también, en **lesiones benignas**, correspondientes a cuadros clínicos patológicos definidos como (1) papilomas, (2) condilomas acuminados, (3) verruga vulgar, asociados estos a HPV-6 y HPV-11, y (4) hiperplasia epitelial focal, relacionada a HPV-13 y HPV-32¹¹⁸⁻¹²¹ Fueron estudiadas 13 biopsias de lesiones con agrandamientos gingivales inducidos por ciclosporin de pacientes transplantados —por método de *hibridación in situ*— encontrándose la presencia del Virus Papiloma en un 92,3% (12/13), de las cuales cuatro fueron positivas, para HPV-6 y HPV-11, y una, para HPV-16. Las 4 biopsias de mucosa bucal normal de estos pacientes con agrandamiento gingival fueron, también, positivas para el ADN viral (4/4), siendo su tipificación negativa para HPV 6, 11, 16 y 18, mientras que el estudio histopatológico reveló la presencia de coilocitosis en 91% (11/12) de los casos identificados con la presencia del virus.⁹⁰ Del mismo modo, el HPV ha sido encontrado en **lesiones precursoras** —término propuesto por la OMS en el año 2005 para las lesiones consideradas pre-cancerosas—, donde alteraciones morfológicas en el tejido se manifiestan clínicamente como manchas blancas, denominadas leucoplasias, en las cuales el virus ha sido reconocido en un rango que varía entre 0 y 80 %, dependiendo de la especificidad de la técnica de identificación utilizada.¹²² Así *González*

Moles y col. (2001) demostraron que 33% de las leucoplasias displásicas fueron positivas para los virus -16 y -18, mientras que *Millar y White* (1996) encontraron positividad en el 14,8%.¹²³ En **lesiones malignas**, *Bustos, Paván* y col. (1999), por su parte, en lesiones cancerosas bucales en la ciudad de Córdoba (Argentina) encontraron positividad en un 27,27% de los carcinomas bucales estudiados por técnicas de hibridación *in situ*. Entre los positivos, 33,33% fueron carcinomas espinocelulares y 55,56% carcinomas verrugosos.¹²⁴ También las **bolsas periodontales** podrían servir de reservorio del Virus Papiloma Humano, habiéndose encontrado en el 26% de muestras gingivales del periodonto marginal de pacientes con Enfermedad Periodontal.¹²⁵ *Parra y Slots* (1996), investigaron la presencia de diferentes tipos de virus en el fluido gingival de pacientes con Periodontitis avanzada, encontraron HCMV en el 60%, EBV en el 30%, HSV en el 20%, HPV en el 17% y HIV (Virus de la Inmunodeficiencia Humana) en el 7% de las muestras estudiadas.⁵

De este modo, parecería que el comportamiento de las infecciones virales en la mucosa bucal sería similar a la de las infecciones encontradas en otras membranas mucosas del organismo, como ha sido representado en el Cuadro II, siguiente.^{126, 127}

Cuadro II - Lesiones causadas por HPVs.

Tipo de lesión	Localización	Tipos predominantes de HPV
Lesiones benignas		
Hiperplasia epitelial focal	Mucosa bucal	6, 11, 16, 18
Verruga común (vulgaris)	Piel, mucosa bucal	2, 4, 6, 7, 16
Verrugas plantares y palmares	Pies y manos	1, 2, 4
Verrugas planas	Preferentemente cutánea	3
Condiloma acuminado	Cervix, vulva, mucosa bucal	2, 6, 11, 16
Papilomatosis laríngea juvenil	Laringe	6, 11
Lesiones malignas o potencialmente malignas		
Leucoplasia	Mucosa bucal	16, 18
Papilomatosis de Bowen	Vulva	16
Neoplasia intraepitelial premaligna	Cervix	6, 11, 16, 18, 31, 40, 42, 44
Carcinoma	Cervix, mucosa bucal	16, 18
Papiloma/carcinoma	Laringe	16
Epidermoplastia verruciforme	Preferentemente cutánea	5, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 19, 29

2.2.4.5. Transmisión del HPV

La llegada del virus a la cavidad bucal incluye vías sexuales de transmisión a través del sexo genito-oral u oral-oral, y no sexuales como la transmisión vertical de padres a hijos y/o horizontal entre otros miembros de la familia, o bien por maniobras de auto-inoculación como traspaso dedos-boca, o por contacto con elementos contaminados.¹²⁸⁻¹³⁰

Por otra parte, se ha demostrado que la boca del ser humano ofrece a los microorganismos amplias posibilidades de colonización y supervivencia. En efecto, las superficies que constituyen los tejidos duros y blandos son mandatarias para la formación de diversas comunidades y para la determinación de la biodiversidad microbiana. Así, la saliva ha

demostrado tener idéntica bacteriología que la detectada en la lengua y esta ha sido sospechada de facilitar la contaminación intra-bucal desde un sitio infectado a otro, además de posibilitar la transmisión microbiana horizontal y vertical entre humanos, lo que justificaría la necesidad de investigar a los reservorios mucosos.^{130, 131}

2.2.4.6. Criterios diagnósticos de lesiones por HPV en mucosas genital y bucal

Las distintas metodologías de diagnóstico de las lesiones sugestivas de HPV se resumen en el Cuadro III.

Las **lesiones clínicas** en la mucosa genital y bucal se reconocen a la inspección visual. En la cavidad bucal la palpación, es además, otra maniobra importante para su hallazgo.¹²²

Las **lesiones subclínicas** se hacen visibles en el TGI, al ponerlas en contacto con ácido acético y permiten ser observadas a través de técnica de Colposcopia. En la cavidad oral, esta maniobra carece de valor diagnóstico, ya que en boca las lesiones aceto-blancas reflejan cambios causados por irritaciones no-específicas más que por infecciones por HPV. El colposcopio es un telescopio de enfoque próximo que permite al médico ver con detalle el cuello uterino, a través de la vagina.¹¹¹ De dicha observación se clasifican las imágenes vulvoscópicas en tipo I, II, III, IV y V, según se observa en Cuadro IV.

Aquí va el Cuadro III

Cuadro IV – Clasificación de las imágenes vulvoscópicas

(según Audisioy L. y Zarazaga C., Córdoba, 2000)

I	Mucosa Normal
II	Placas acetoblancas elevadas, mucosa acetoblanca sobre relieve, puntillado blanco amarillento elevado, lesiones rojas, fisuras, erosiones
III	Mucosa en empedrado, punteado blanco, puenteado rojo
IV	Mucosa aceto-blanca elevada papilar florida, lesiones exofíticas, espículas, vesículas y úlceras
V	Lesiones blancas, mosaico, base de leucoplasia, lesiones rojas por dermatitis seborreicas o eczema por contacto o lentigo, lesiones pigmentadas como nevus, úlceras como aftas, tumores benignos o malignos

La corroboración de la lesión clínica y subclínica es cito-histológica. En ellas, a través de estudios citológicos, según Técnica de Papanicolau, e histopatológicos mediante biopsias, la aparición de imágenes como coilocitos, disqueratosis, hiperqueratosis y disqueratosis, así como acantosis, papilomatosis con o sin pigmentación en la membrana basal respectivamente, serían sugestivas de la infección viral. Las lesiones son expresadas según el sistema Bethesda, que se detalla a continuación.¹³³

Cuadro V – Informe citológico

(Sistema Bethesda)

1	Dentro de límites normales
2	Cambios reactivos y reparativos
3	<p>Anomalías de células epiteliales en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SIL de bajo grado. Lesiones epiteliales pavimentosas de bajo grado, incluye CIN 1 (displasia leve) y HPV. • SIL de alto grado. Lesiones epiteliales pavimentosas de alto grado, incluye CIN 2 (displasia moderada) y CIN 3 (displasia severa - carcinoma <i>in situ</i>).

La confirmación de la presencia viral se realiza a través de estudios de biología molecular, capaces de detectar la molécula del ADN o parte de ella. Para tipificar al HPV presente en las muestras, se utilizan distintas técnicas de hibridación, que presentan diferencias en cuanto a las características de conservación de las muestras, la necesidad o no de extraer el ADN, la accesibilidad y el tiempo que demandan para su realización, la forma de lectura final, la sensibilidad y especificidad. Por ello es que los diferentes métodos disponibles en el laboratorio de Virología deben evaluarse comparativamente de acuerdo a la disponibilidad y al objetivo que se desea alcanzar para hacer una correcta elección. Dentro de los diversos procedimientos, contamos con la técnica de hibridación por Southern blot o “técnica patrón”, que utiliza células o tejidos frescos. Esta es sensible y específica, detecta nuevos tipos virales y subtipos aunque es poco accesible y de técnica laboriosa. La hibridación “in situ” se realiza sobre cortes histológicos y extendidos citológicos. Es rápida, accesible y, además de permitir correlacionar los tipos virales con la histología, conserva la arquitectura tisular y permite estudios retrospectivos, a más de, no requerir extracción previa del ADN, aunque, al ser poco específica, no distingue subtipos virales y puede generar falsos positivos. La amplificación del ADN por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utiliza cortes histológicos, células o tejidos frescos o fijados, es de muy alta sensibilidad y especificidad, puede combinarse con otras técnicas, pero en general es poco accesible y tiene el riesgo de contaminación cruzada.^{92, 97}

Debido a que la mayor parte de las infecciones ano-genitales son subclínicas, el diagnóstico se fundamenta en el trípode, colposcopia/ cito-

histología/ virología. El extendido citológico orienta, la colposcopia localiza, la histología diagnostica y la virología detecta el agente.

En la práctica cotidiana, aplicando la citología, colposcopia y biopsias dirigidas, accesibles a cualquier centro hospitalario, es posible establecer un diagnóstico en la mayoría de los casos y encarar un tratamiento adecuado. Sin embargo, desde el punto de vista infectológico, sólo detectando la partícula viral o parte de ella puede confirmarse su presencia. La detección de HPV y su genotipificación podría tener valor pronóstico del curso clínico de la lesión y así contribuir eficazmente al tratamiento del paciente infectado.^{102, 103, 126}

La búsqueda del conocimiento y la evidencia científica sobre aspectos de la etiopatogenia de las Enfermedades Periodontales estimula el diseño de nuevos protocolos que involucran a agentes posiblemente implicados en este tipo de lesiones. La predilección de los papilomavirus por los epitelios mucosos, la reciente implicancia del epitelio en la patogenia de las lesiones periodontales, la similitud de las lesiones bucales y genitales, sumado a la alta prevalencia de mujeres infectadas por HPV, animan la selección de esta temática para su estudio.

3. OBJETIVOS, HIPÓTESIS Y TIPO DE ESTUDIO

Bajo las premisas expuestas en la introducción, y en base a los aspectos recogidos en la revisión bibliográfica, los objetivos del presente estudio son los siguientes:

3.1. Objetivos

Analizar el estado periodontal de mujeres con lesiones genitales sugestivas a Virus del Papiloma Humano (HPV) e investigar su presencia en el surco o bolsa periodontal y en la lengua de las pacientes evaluadas.

3.2. Hipótesis

La presencia de HPV en la cavidad bucal modifica negativamente la salud de los tejidos periodontales.

3.3. Hipótesis nula

La presencia del HPV en la cavidad bucal no modifica la salud de los tejidos periodontales.

3.4. Tipo de estudio

El presente estudio responde a un diseño observacional controlado, de corte transversal, con la finalidad de establecer las relaciones existentes entre variables clínicas periodontales y la presencia del virus HPV y corroborar o desestimar la hipótesis formulada.

4. MATERIALES Y TÉCNICAS

4.1. Diseño experimental

4.1.1. Población bajo estudio

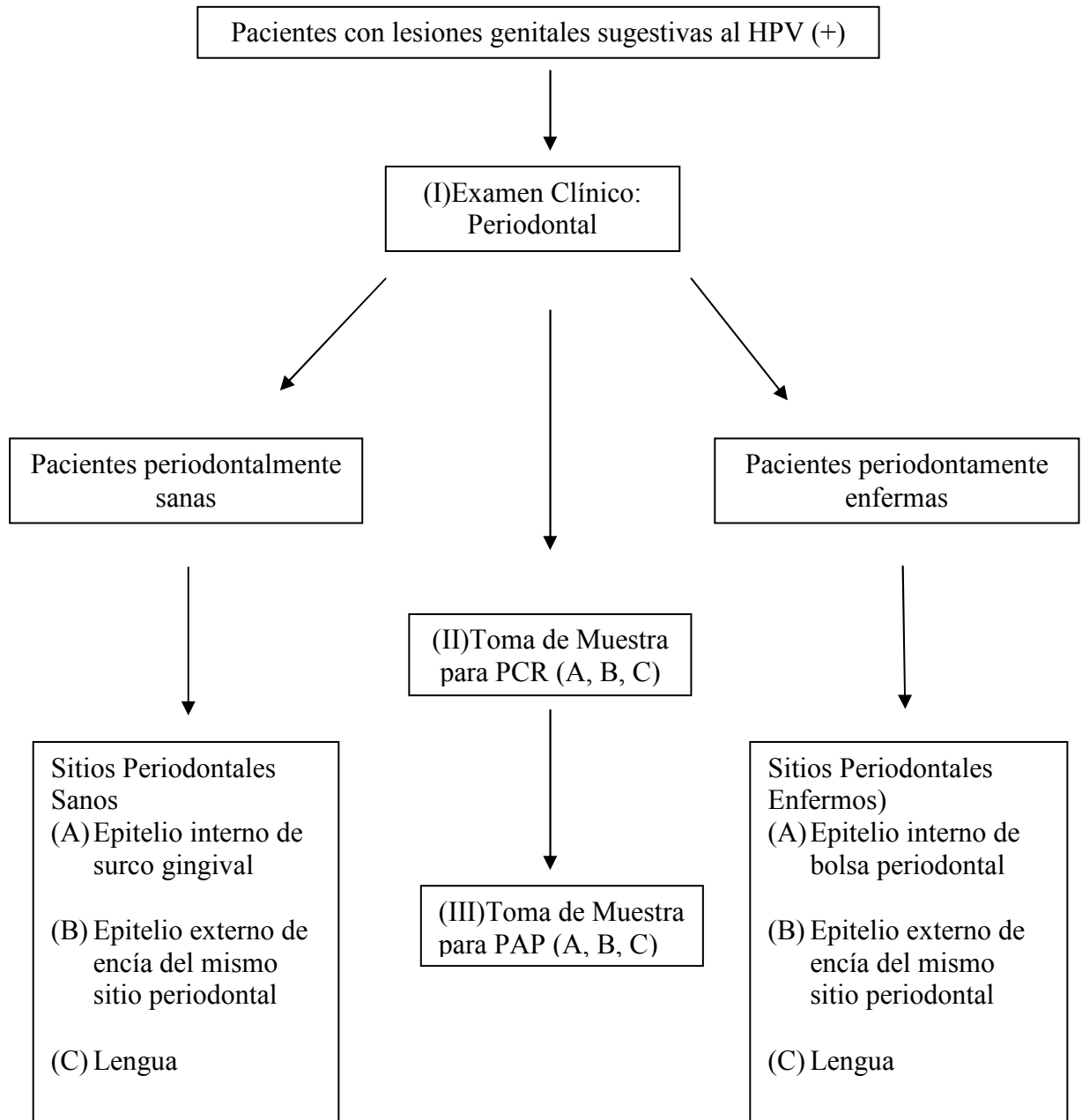
La población estudiada quedó conformada por 30 mujeres, entre quienes fueron derivadas de las que asistieron al control ginecológico del Servicio de Ginecología del Hospital Universitario Materno Neonatal de la ciudad de Córdoba (HUMN), durante el período comprendido entre el mes de marzo del año 2006 y febrero del 2008 y que además, reunieron los criterios de inclusión establecidos. Las pacientes, después de que les fuese exhaustivamente explicado los alcances de esta prueba y de que voluntariamente expresaran su consentimiento por escrito, fueron examinadas en el Servicio de Odontología del mismo nosocomio y en el Servicio de Periodoncia de Fundación Independencia.

El comité de ética y disciplina del la HUMN, evaluó y aprobó el proyecto de trabajo, a ser presentado a la Comisión de Doctorado de la Facultad de Odontología de la UNC.

4.1.2. Organización del estudio

En este apartado se incluye un diagrama de flujo que contiene a todas las etapas incluidas en el estudio, según se resumen en el Cuadro VI.

Cuadro VI- Diagrama de Flujo del Estudio



4.1.3. Evaluación médico - ginecológica

El Servicio de Ginecología del Hospital Universitario Materno Neonatal de la Ciudad de Córdoba (HUMN) aportó la Historia Sistémica de cada una de las pacientes y los resultados del examen ginecológico, colposcópico, citológico y anatomopatológico correspondiente (Departamento de Anatomía-Patológica del HUMN).

De cada informe brindado por el equipo médico, fueron extractados los datos demográficos, sistémicos y los referidos a conductas, los cuales figurarán en la Ficha Ad-Hoc N° 1, del Anexo correspondiente, que incluye:

a. Aspectos demográficos:

- **Sexo:** Femenino
- **Edad:** de 18 a 50 años, considerándose la cantidad de años cumplidos en el momento de la entrevista.
- **Nivel de instrucción:** primario, secundario, universitario.

b. Aspectos sistémicos:

- 1. Historia médica.** Contiene el registro de la evolución del estado sistémico a lo largo de la vida de las pacientes. Destacando, especialmente, a aquellas condiciones que involucran las funciones del sistema inmunológico o la respuesta inflamatoria de los tejidos periodontales, tales como, Diabetes, Agranulocitopénias, Neutropénias, Infecciones por HIV y otros virus tal como Virus del

Herpes, trasplante de órganos, ingesta de medicamentos como anti-inflamatorios no esteroideos, corticoides, antimicrobianos por vía sistémica o tópica desde por lo menos un mes previo al inicio de la prueba.

c. Aspectos ginecológicos:

2. Presencia de lesiones genitales sugestivas de HPV:

Incluye el aporte de estudios clínicos, colposcópicos, citológicos, según Técnica de Papanicolaou, e histopatológicos mediante biopsias. Los resultados fueron informados según el sistema Bethesda.¹³³

Para el presente trabajo fueron remitidas solo aquellas pacientes que presentaron alteraciones en la citología tales como anomalías de células epiteliales (CIN I, CIN II y CIN III).

d. Aspectos referidos a conductas:

- **Hábitos sexuales:** se interrogó sobre hábitos sexuales tales como práctica de sexo oral y número de parejas sexuales en un año. Fueron categorizadas en dos grupos: pareja estable y/o promiscua, esta última quienes compartieron más de tres parejas en un año.
- **Tabaquismo:** se indagó si fumaban o si alguna vez lo habían hecho, especificando cantidad de cigarrillos diarios, agrupándolos según consumo promedio en ≤ 10 , ≤ 20 ó >20 .
- **Drogadicción:** si consumían o habían consumido drogas.

4.1.4. Aplicación de criterios de inclusión y exclusión

En la prueba, fueron incluidas mujeres no menopáusicas entre 18 y 50 años, derivadas por el Servicio de Ginecología del Hospital Universitario Materno Neonatal de la ciudad de Córdoba (HUMN) cuyo diagnóstico ginecológico de SIL de bajo y alto grado (CIN1, CIN2, CIN3) comprendía la presencia de lesiones ginecológicas sugestivas de HPV tal como lo expresaba el informe de Papanicolau y la biopsia que las acompañaba en su historia médica-ginecológica. Los aspectos bucales exigidos fueron que presentaran por lo menos 12 dientes en boca, distribuidos en ambos maxilares.

Se excluyeron del estudio a mujeres menores de 18 años y mayores de 50 años y a aquellas que manifestaron enfermedades sistémicas graves. En especial Diabetes, agranulocitopenias, neutropenias, infecciones por HIV u otros virus tales como Virus del Herpes y quienes sufrieron transplantes de órganos. Fueron excluidas también, las medicadas con anti-inflamatorios no esteroideos, corticoides, antimicrobianos por vía sistémica o tópica hasta por lo menos 3 meses previos al inicio de la prueba así como quienes no presentaban lesiones ginecológicas sugestivas de HPV, según se representa en Cuadro VII.

Cuadro VII – Representación de variables en el modelo conceptual

Variables independientes	Variables dependientes
<p>1. Aspectos Demográficos: Edad: >de 18 y < de 50 años (no menopáusicas) Sexo: femenino</p> <p>2. Aspectos Sistémicos Diagnóstico de Lesiones sospechadas de HPV Genital (por Colposcopia, e Histopatología)</p> <p>3. Aspectos de Conductas Realiza o no sexo oral Parejas sexuales únicas o múltiples</p> <p>4. Aspectos Periodontales Diagnóstico periodontal Detección por PCR de HPV en sitios periodontales determinados</p> <p>5. Aspectos Bucales Generales Detección de HPV en lengua, por PCR Lesiones clínicas sugestivas de HPV en mucosa bucal</p>	<p>1. Pacientes periodontales sanas: Sitios periodontales sanos.</p> <p>2. Pacientes periodontales enfermas (Gingivitis, Periodontitis): Sitios periodontales enfermos, Gingivitis, Periodontitis.</p>

4.1.5. Estudios bucales y periodontales

4.1.5.1. Recolección de datos bucales

En todas las pacientes, se realizó la inspección de la cavidad bucal y el examen clínico periodontal. Los mismos se efectuaron en el Servicio de Odontología de HUMN como en el Departamento de Periodoncia de Fundación Independencia. Los datos obtenidos fueron expresados en la Ficha Ad-Hoc N°2.

4.1.5.2. Examen bucal

Las lesiones detectadas, tales como caries, lesiones estomatológicas y otras, fueron registradas y las pacientes derivadas a los servicios odontológicos pertinentes.

4.1.5.2.1. Criterios clínicos diagnósticos de lesiones estomatológicas sospechadas de HPV

Siguiendo los criterios expresados por Benitez M. (tesis doctoral)¹⁴⁴, se consideró presunción clínica de infección por HPV, a las lesiones blancas translúcidas dispuestas en forma de mancha, puntiformes o en parches que se denominaron **acantosis** y aquellas francamente vegetantes o verrugosas llamadas **vegetación** y **verrugosidad**, respectivamente.

Las lesiones vegetantes y verrugosas, según la clasificación de D. Grinspan de Verrugas virósicas, fueron consideradas en planas vulgares,

venéreas (condilomas acuminados) y filiformes, según las siguientes características clínicas:¹³⁴

- Verrugas planas: pápulas superficiales epiteliales, mucosas o epidérmicas, circunferenciales y consistentes a la palpación. Crecen lentamente y su diámetro no pasa generalmente de 3mm.
- Verrugas vulgares: lesión elevada, cuyo rasgo clínico fundamental es su superficie cubierta por múltiples digitaciones queratinizadas que le dan aspecto de verrugosidad. De color blanco nacarado, pueden ser únicas o múltiples.
- Verrugas venéreas: vegetación única o múltiple, de forma variable, hemisférica u ovoide, en ocasiones presenta pedículo. La superficie, de color rosado u opalino, es irregular, pudiendo presentar prolongaciones de cierta longitud.
- Verruga filiforme: lesión solitaria, constituida por múltiples, delgadas y largas digitaciones cornificadas en su punta o en casi toda su extensión que nacen sobre una base común de contorno circunferencial. No se observa en mucosa bucal, solo se ha encontrado en semimucosa labial cercana a las comisuras.

4.1.5.3. Examen periodontal

En todos los elementos dentarios presentes en boca fueron registrados los siguientes parámetros clínicos:

- **Índice de Placa Bacteriana**

Se realizó el índice de Placa Bacteriana de O'Leary, modificado por Lindhe, el cual expresa, en porcentajes, el promedio bucal de placa bacteriana presente en cuatro superficies dentarias (mesial, bucal, distal y palatina o lingual). Fueron registradas como positivas (+) aquellas superficies que demostraron presencia de placa bacteriana al pasar una sonda periodontal por su superficie y como negativas (-) a las restantes. Las que arrojaron resultados positivos fueron sumadas y, luego, divididas por el total de superficies presentes; el resultado fue multiplicado por 100 para expresar el porcentaje de placa presente en la boca de cada paciente.¹³⁵

- **Índice de Hemorragia Gingival**

Se confeccionó el índice de Hemorragia Gingival, modificado por Lindhe, el cual expresa en porcentajes el grado de inflamación gingival de la boca de las pacientes. La presencia o ausencia de sangrado fue establecida al colocar una sonda periodontal (*) de extremo romo dentro del surco/bolsa periodontal en forma vertical con suave presión. Fue registrada como positiva (+) cuando apareció sangrado visible desde el crévice gingival y hasta 30 segundos después de retirada la sonda. La sumatoria de superficies positivas, divididas por el total de superficies dentarias presentes, considerando 4 por diente, fue multiplicada por 100, lo que expresó la proporción de sangrado.¹³⁶

- **Profundidad de Sondaje Clínico (PSC)**

Fue realizada la maniobra clínica periodontal que registra y expresa, en milímetros, la profundidad del surco gingival y/o bolsa periodontal. La misma se llevó a cabo con sonda periodontal milimetrada tipo Marquis*. La cual fue insertada con ligera presión dentro del surco/bolsa periodontal, ubicándola paralela al eje largo del diente. Se registró la distancia, en milímetros, desde el vértice del margen gingival a la penetración apical de la sonda, en 6 sitios por diente (superficies mesio-bucales, bucales, disto-bucales, mesio-palatino/linguales, palatino/linguales, disto-palatino/linguales), de todos los elementos dentarios presentes en boca y de todas las pacientes estudiadas.¹³⁶

- **Nivel de Inserción Clínica (NIC)**

Al realizar el sondaje periodontal se registró, también, la cantidad de tejido periodontal perdido, reconociendo con la sonda de Marquis, la distancia, en milímetros, desde el límite amelo-cementario y su penetración apical, en 6 sitios por elemento dentario (mesio-bucal, bucal, disto-bucal, mesio-palatino/lingual, palatino/lingual, disto-palatino/lingual).¹³⁶

- **Movilidad dentaria**

Expresa, en grados, el incremento de la movilidad dentaria clínica. Fue determinado utilizando pinza para algodón cerrada y ubicada en fosa principal en los elementos posteriores y

* Sonda Periodont #Cp-12 Marquis con color codificado, Pcp12, Hu Friedy. (¿ por qué usas cursiva? no es necesario)

mediante toma de los elementos dentarios anteriores, ejerciendo suaves movimientos antero-posteriores y de intrusión. Se reconocieron como: Grado 1 (Movilidad dentaria de 0,2-1mm); Grado 2 (Movilidad dentaria de más de 1mm en sentido horizontal); Grado 3 (Movilidad dentaria también en sentido vertical).

4.1.6. Características de los grupos

De acuerdo con los parámetros clínicos referidos, la categorización en pacientes sanas, con gingivitis y/o con periodontitis se basó en la maniobra clínica de “sondaje periodontal” realizada, como ya ha sido señalado, con sonda periodontal milimetrada tipo Marquis y la determinación específica de profundidades de sondaje (PS) y nivel de inserción clínica (NIC). Estos son considerados referentes adecuados de la presencia o ausencia de destrucción periodontal en un paciente, así como en un sitio periodontal específico, conforme a los criterios del Workshop Internacional de 1999 para Clasificación de las Enfermedades Periodontales para determinar Periodontitis.¹³⁷ En la presente prueba se conformaron los grupos que se definen en el Cuadro VIII.

Cuadro VIII – Categorías y Criterios del Diagnóstico Periodontal

Categoría	Criterio	
Sano	PSC ≤ a 3mm NIC ≤ 0mm	
Gingivitis	PSC ≥ 4mm NIC ≤ a 0mm	
Periodontitis	PSC ≥ 5mm	NIC ≤ 2mm (leve)
	PSC ≥ 5mm	NIC ≤ 4mm (moderada)
	PSC ≥ 5mm	NIC ≥ 5mm (grave)

A todas las pacientes les fueron examinados todos los elementos dentarios, analizando las características de 6 sitios por elemento. Según los parámetros anteriores, se consideraron:

a Sitios Sanos

Índice de Hemorragia negativo

PS ≤ 3mm

NIC sin pérdida de Inserción Clínica

b Sitios con Gingivitis

Índice de Hemorragia positivo

PS ≥ 4mm

NIC sin pérdida de Inserción Clínica

c Sitios con Periodontitis

Índice de Hemorragia positivo

PS, bolsa periodontal ≥ 5mm

NIC: ≤ 2mm (leve), NIC ≤ 4mm (moderada), NIC ≥ 5mm (grave)

- **Pacientes periodontalmente sanas**

Las pacientes fueron consideradas periodontalmente sanas cuando no presentaban profundidades de sondaje mayores a 3mm y/o pérdida de inserción clínica periodontal interdental, además de carecer de hemorragia a dicha maniobra clínica y/o signos de inflamación clínica.

- **Pacientes con Gingivitis**

Las pacientes con diagnóstico de Gingivitis fueron quienes presentaron signos de inflamación gingival, con profundidades de sondajes iguales o mayores a 4mm, por lo menos en 2 sitios de diferentes elementos dentarios y sin pérdidas de inserción clínica.

- **Pacientes con Periodontitis**

Se diagnosticó Periodontitis cuando se registraron profundidades de sondaje que fueran iguales o mayores a 5mm y evidencias de pérdidas de inserción clínica. Según la severidad, fueron subdivididas en “leve”, cuando el NIC fue igual o menor a 2mm, “moderada”, si correspondió a valores entre 2 a 4mm, y “grave”, para valores iguales o mayores a 5mm, en uno o más dientes de la boca. Según su extensión, fueron consideradas de acuerdo con la sistematización por sitios como de “baja incidencia”, cuando abarcaban desde 1 a 10 sitios, “media”, de 11 a 20 superficies, y “alta”, a más de 20 sitios de diferentes elementos dentarios de la boca.¹³⁷

4.1.7. Toma de muestras para PCR y PAP

Una vez finalizado el análisis sistémico, bucal y periodontal, se tomaron tres muestras por paciente, dos de un mismo sitio periodontal (epitelio externo de encía y epitelio interno del surco/bolsa periodontal) y otra de lengua, para ser sometidas a estudios citológicos de Papanicolau (PAP) y posteriormente procesadas por Técnicas de Amplificación de ácidos nucleicos por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). La selección del sitio periodontal se realizó de acuerdo con el siguiente criterio: sitio sano, (superficie mesial de primeros molares, y en su ausencia, de segundos premolares) en pacientes sanas y sitio más enfermo, en pacientes con enfermedad periodontal.

Previa remoción de la placa supragingival, con torundas de algodón estéril y aislado el sitio con rollos de algodón; se procedió a escobillar la pared gingival interna con micro-cepillo estéril y con otro idéntico y de igual manera, la pared externa de encía, del mismo sitio, para la primera y segunda toma periodontal, respectivamente. Para la muestra de la lengua, se solicitó al paciente que tragara varias veces y con cepillo colector citológico estéril fueron escobilladas la porción ventral y bordes de la lengua, en su tercio medio y posterior. Luego fueron colocadas en tubos de plástico estériles con solución de TE buffer (10ml de Tris-HCL (ph 6,4) en 1ml de EDTA 0,2M (ph 7.5) e identificados los sitios de las tomas y el nombre de la paciente. Posteriormente fueron preservados a 4° C, hasta la extracción del ácido nucleico.¹³⁸

Previo a la inclusión de los micro-cepillos y/o cepillo colector citológico, dentro del tubo para el procesado, se realizó un extendido de

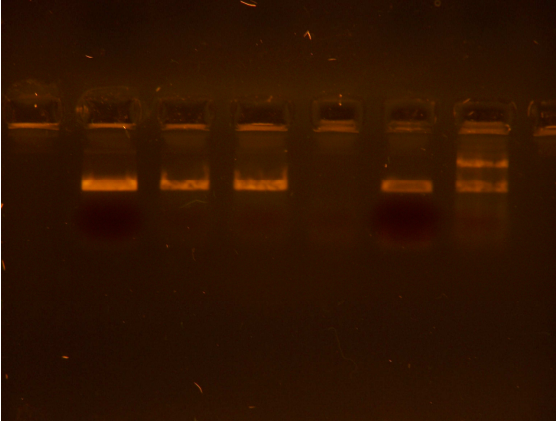
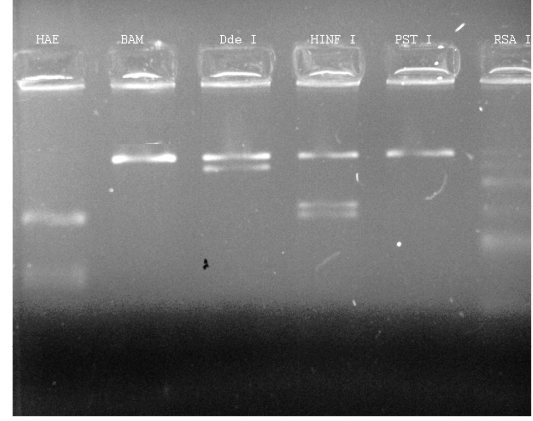
cada uno, en portaobjetos estériles, los cuales fueron fijados con laca e identificados para ser sometido a su estudio histológico.

4.1.8. Tratamiento de las muestras - Pruebas de laboratorio

Las muestras fueron procesadas mediante Técnica de Amplificación de ácidos nucleicos por Reacción en Cadena de la Polimerasa, en el Laboratorio de Biología Molecular de la Fundación para el Progreso de la Medicina (en un total de 26 muestras) por el Bioquímico Ariel G. Sanchez y en el Instituto de Virología "*Dr. J.M.Vanella*" de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba, (en un total de 78 muestras) por la Prof. Dra. Cecilia Cuffini. En ambos laboratorios se realizó la misma técnica de detección del ADN por biología molecular, con oligonucleótidos dirigidos hacia la región L1 y My9/11, siendo comunes a todos los Papilomavirus genéricos, y tratado con β -globina para confirmar la óptima calidad. A más de ser cotejadas en ambos laboratorios las muestras de tres pacientes, arrojando idénticos resultados. En las muestras procesadas en el Instituto de Virología de la UNC, se obtuvo, también, el genotipo por el estudio del Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), con enzimas de restricción, según se observa en fotografías 1 y 2.¹³⁸

Las tomas citológicas fueron procesadas por técnica de Papanicolao, donde, después de ser coloreadas con hematoxilina y EA y montadas con bálamo y cubreobjetos, fueron analizadas a través de microscopía óptica con objetivo 4 y 40 x, en la Cátedra de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Materno Neonatal, por la Dra. Carla D Bongioni. Para el

diagnóstico citológico, los coilocitos, ó “células vacías”, descritos como células epiteliales de núcleo relativamente pequeño e irregular rodeado por un halo claro perinuclear, son el signo patognomónico de la infección por HPV, y representan el efecto celular letal de la reproducción viral.^{149,150} Además, otros cambios morfológicos como, disqueratosis, macronucleosis y multinucleación de los queratinocitos han sido también asociados como signos directos a nivel de la microscopia óptica a dicha infección.¹⁵¹

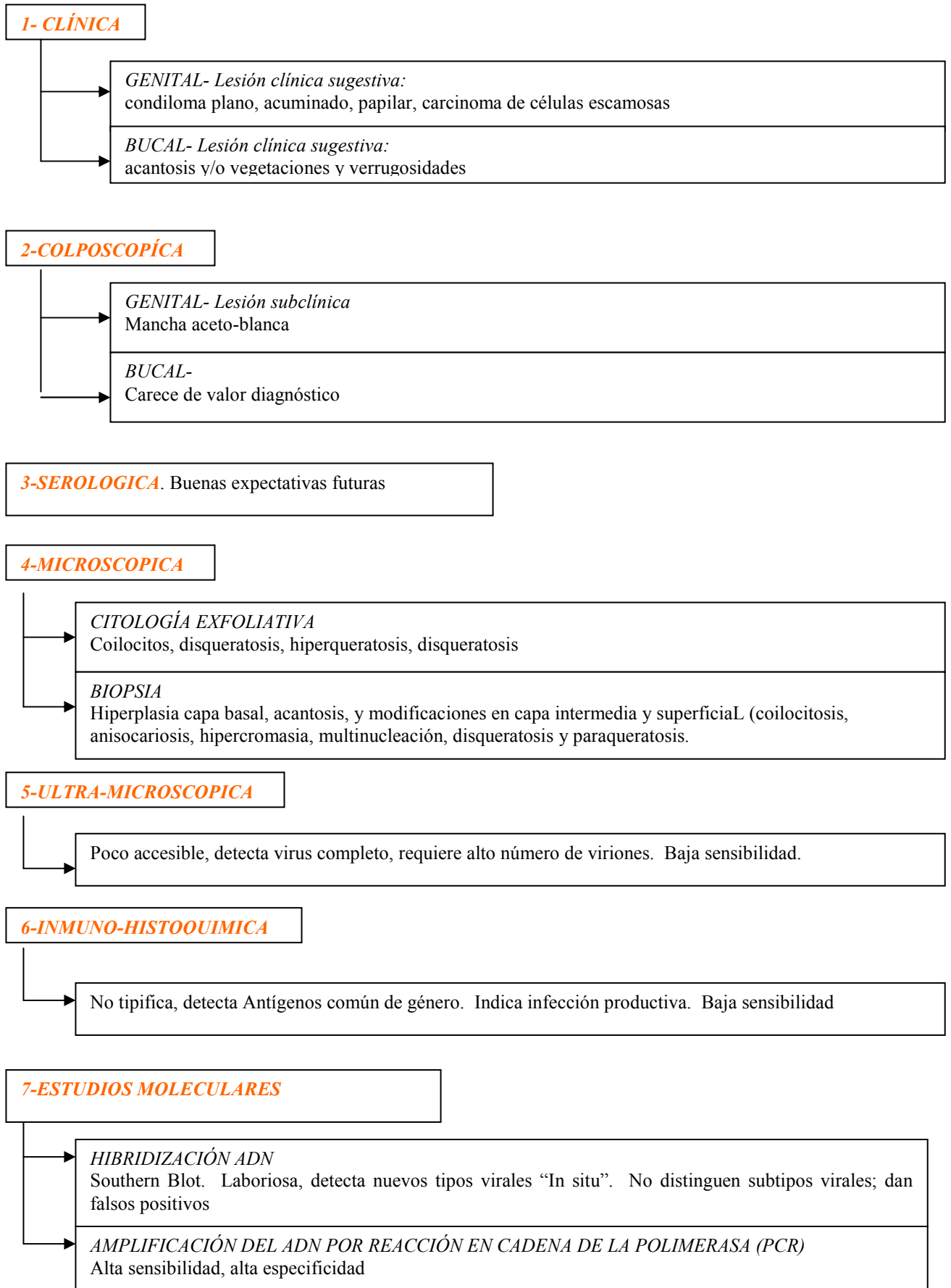
	
<p>Foto 1 - Gel de agarosa al 1,5% teñido con bromuro de etidio de los productos de la PCR-HPV</p>	<p>Foto 2 - Gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio de los productos de la RFLP</p>

4.2. Tratamiento estadístico de datos

Los datos se agruparon en cuadros, que incluyeron dos o más variables, recurriendo al “Test Chi Cuadrado” (χ^2) para verificar su relación. Para el análisis de concordancia entre los procedimientos diagnósticos, PCR-Lengua y PAP-Lengua, se empleó el “Índice de Kappa” (κ). La significación estadística se estableció en $p < 0,05$.

Cuadro III - Criterios diagnósticos de lesiones por HPV en mucosas genital y bucal

Metodología Diagnóstica



5. RESULTADOS

5.1. Caracterización de la población estudiada

La población estudiada la conformaron 30 pacientes, cuya edad promedio fue de 32 ± 8 años y su rango de 19 a 45 años. La variable que define la característica demográfica y su distribución porcentual, se muestra en la Tabla N° 1.

Tabla N° 1 - Variable considerada, edad, y su distribución porcentual por categorías

Variable	Categorías	Cantidad de pacientes	Porcentaje %
Edad	19-27	12	40,00
	28-36	8	26,67
	37-45	10	33,33

A partir de los resultados del examen ginecológico surge que el 63,3% (19/30) de las pacientes presentaron diagnóstico de CIN I, el 20% (6/30), de CIN II, mientras que el 16% (5/30), de CIN III, según se ilustra en Gráfico N° 3.

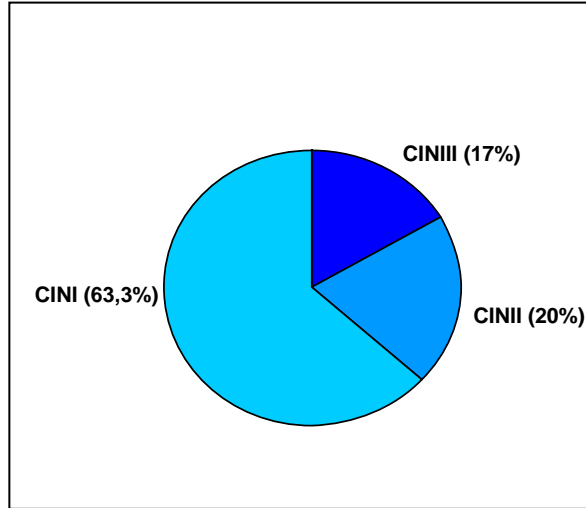


Gráfico N° 3 - Relación porcentual de pacientes según examen ginecológico

En cuanto a los aspectos referidos a conductas, el 80% de las pacientes (24/30) tenían parejas estables mientras que el 20% (6/30) manifestaron haber tenido parejas sexuales múltiples. Además, considerando sus hábitos sexuales, el 93,3% habían practicado sexo oral. Los hallazgos se muestran en la Tabla N° 2.

Tabla N° 2 - Variables consideradas: parejas sexuales, y sexo oral, y su distribución porcentual por categorías

Variable	Categorías	Cantidad de pacientes	Porcentaje %
Parejas Sexuales	Múltiples	6	20,0
	Única	24	80,0
Sexo oral	No practica	2	6,7
	Si practica	28	93,3

Respecto al hábito de fumar, 7 pacientes (23,33%) relataron ser fumadoras con una frecuencia menor o igual a 10 cigarrillos diarios. Según se observa en tabla N° 3.

Tabla N° 3 - Variable considerada, hábito de fumar, y su distribución porcentual por categorías

Variable	Categorías	Cantidad de pacientes	Porcentaje %
Hábito de Fumar	Fumador	7	23,33
	No Fumador	23	76,67

5.2. Evaluación de las variables del examen bucal y clínico periodontal

Durante el examen clínico estomatológico, el 30% (9/30) de las pacientes presentaron lesiones sugestivas al virus papiloma humano, compatibles con **acantosis** y/o **vegetaciones** y **verrugosidades**, según se puede apreciar en las Fotos N° 3 a 8, siguientes.

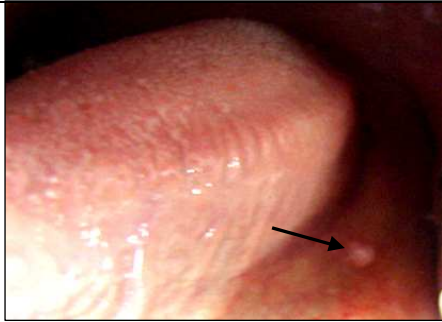


Foto 3 – Lesión en piso de boca

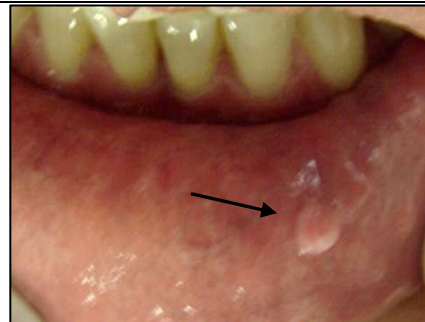


Foto 4 – Lesión de labio inferior



Foto 5 - Lesiones en paladar

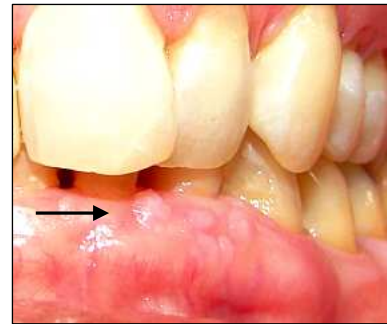


Foto 6 – Lesión en encía



Foto 7 - Lesiones en encía

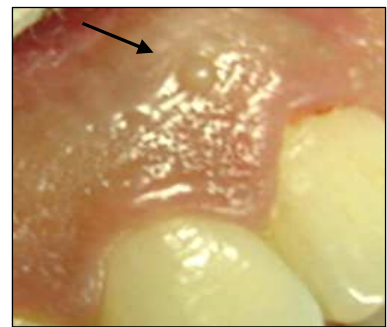


Foto 8 - Lesiones en encía

Lesiones sugestivas al virus papiloma humano, compatibles con vegetaciones y verrugosidades

Durante el examen clínico periodontal, el 23,33% (7/30) de las pacientes presentaron salud periodontal, el 36,67% (12/30) Periodontitis, y el 40% (11/30) Gingivitis, según se ilustra en la Gráfico N° 4.

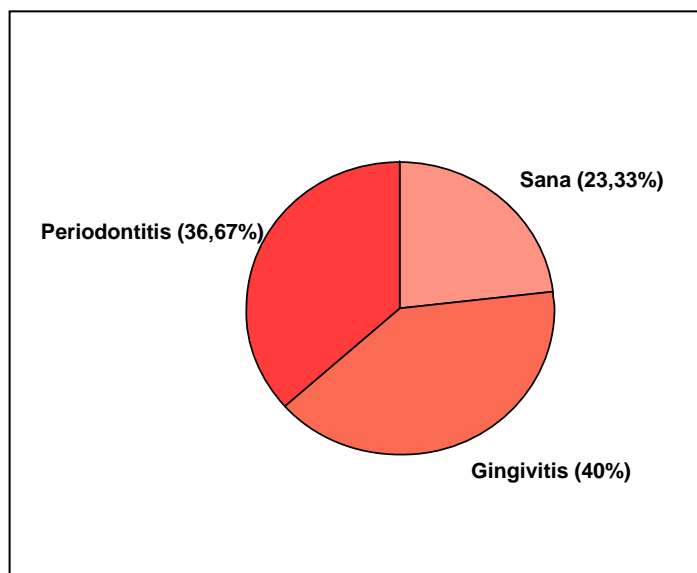


Gráfico N° 4 - Relación porcentual de pacientes según diagnóstico periodontal.

Al considerar la presencia de lesiones estomatológicas sugestivas al HPV **no se pudo establecer relación significativa entre esta y el diagnóstico periodontal.**

5.3. Identificación del genoma viral

Los resultados de los estudios moleculares de las muestras epiteliales obtenidas por escobillado de la lengua y del epitelio, interno y externo, del

sitio periodontal, demostraron la presencia del virus en un 30% (9/30), 13,33% (4/30) y 16,67% (5/30), respectivamente, del total de las 90 muestras estudiadas. **Con la singularidad de que siempre que el HPV estuvo presente, tanto en el epitelio interno como en el externo del sitio periodontal, fue detectado también en la lengua de las mismas pacientes.** Según se observa en Tabla N° 4.

Tabla N° 4 - Variable considerada: identificación del HPV por PCR, y su distribución porcentual por categorías

Variable	Categorías	Cantidad de pacientes	Porcentaje %
PCR-Lengua	Negativo	21	70,00
	Positivo	9	30,00
PCR-Interno	Negativo	26	86,67
	Positivo	4	13,33
PCR-Externo	Negativo	25	83,33
	Positivo	5	16,67

5.4. Identificación de la lesión citológica

En los estudios citológicos de Papanicolau (PAP) los hallazgos sugestivos de la presencia de HPV están representados principalmente por macronucleosis, hipercromasia, binucleaciones aisladas, paraqueratosis y disqueratosis dispersas. Un solo extendido presentó halos citoplasmáticos perinucleares, cuya PCR arrojó resultados negativos para HPV.

Estos signos fueron positivos en un 10% (3/30) de las muestras; en las citologías del epitelio interno y externo del sitio periodontal fueron en un 10% (3/30) y en un 13,33% (4/26), respectivamente.

Es llamativo destacar que el 77% de los extendidos con diagnóstico molecular viral positivo, presentaron presencia de infiltrado inflamatorio, tanto de leucocitos polimorfonucleares, como de mononucleares o ambos. Mientras que sólo lo hicieron el 33% de los extendidos con diagnóstico molecular viral negativo. Según se observa en tabla N° 5.

Tabla N° 5 - Variable considerada: identificación del HPV por PAP, y su distribución porcentual por categorías

Variable	Categorías	Cantidad de pacientes	Porcentaje %
PAP-Lengua	Negativo	27	90,00
	Positivo	3	10,00
PAP-Interno	Negativo	27	90,00
	Positivo	3	10,00
PAP-Externo	Negativo	26	86,67
	Positivo	4	13,33

5.5. Análisis de la relación entre variables

Con respecto a la edad de las pacientes y al diagnóstico periodontal, se observó la presencia de Periodontitis, en porcentajes significativamente

mayores ($p < 0,0059$) de 72,73% en el grupo de pacientes mayores, en edades comprendidas entre los 37 y 45 años. Esta proporción disminuye con la edad, siendo del 18,18% y del 9,09% en los grupos entre 28-36 años y 19-27 años, respectivamente. La Gingivitis prevaleció en las pacientes más jóvenes de 19 a 27 años y en las de 28 a 36 años, presente en un 50% y en un 41,67%, respectivamente. Las pacientes periodontalmente sanas prevalecieron en un 71,43%, en el grupo etario también más joven. Se ilustran estos datos en la Tabla N° 6 y el Gráfico N° 5.

Tabla N° 6 – Distribución del diagnóstico periodontal según la edad de la paciente (Numérico y porcentual)

Diagnóstico	EDAD			total
	19-27	28-36	37-45	
Gingivitis	6	5	1	12
Periodontitis	1	2	8	11
Sana	5	1	1	7
Total	12	8	10	30
	Porcentual [%]			
Gingivitis	50,00	41,67	8,33	100,00
Periodontitis	9,09	18,18	72,73	100,00
Sana	71,43	14,29	14,29	100,00
Total	40,00	26,67	33,33	100,00

Existe relación significativa entre diagnóstico y edad ($p < 0,0059$).

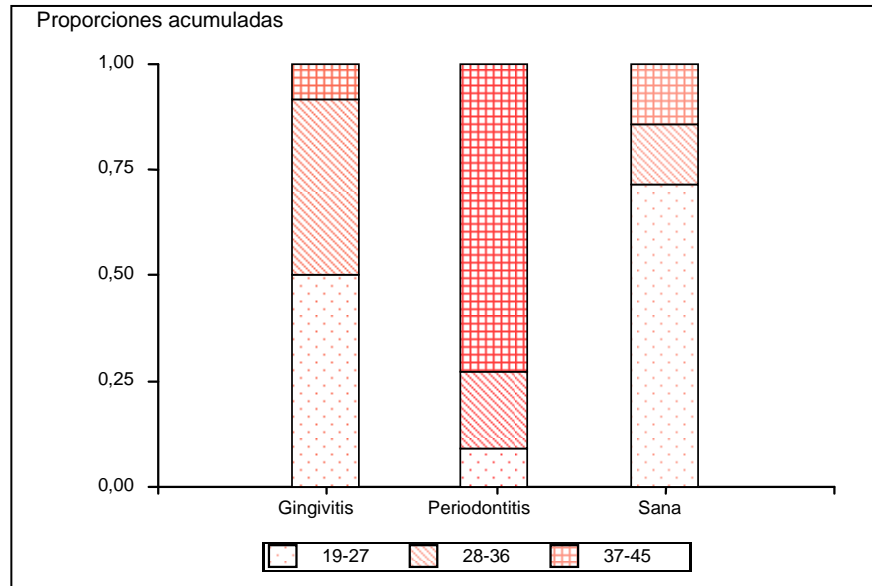


Gráfico N° 5 - Relación porcentual del diagnóstico periodontal según la edad de las pacientes

Al analizar la severidad y la extensión de las Periodontitis se encontró con **severidad leve** al 100% de las pacientes cuyas edades estuvieron comprendidas entre los 28-36 años; con **severidad moderada**, al 60% de las mujeres entre los 37-47 años y, compartiendo el 20% cada una, entre los 19-27 años y 28-36 años, mientras que con **severidad grave** estaban solo presentes las pacientes de entre 37-45 años de edad. La Tabla N° 7, expresa la severidad de las periodontitis según la edad, en número de casos y distribución porcentual.

Tabla N° 7 – Distribución de la severidad de las Periodontitis según la edad de la paciente (numérico y porcentual)

Severidad	EDAD			Total
	19-27	28-36	37-45	
Leve	0	1	0	1
Moderada	1	1	3	5
Grave	0	0	5	5
	Porcentual			
Leve	0,00	100,00	0,00	100,00
Moderada	20,00	20,00	60,00	100,00
Grave	0,00	0,00	100,00	100,00

Al analizar el grado de severidad de las Periodontitis presentes en cada grupo etario, se observó que aquellas comprendidas entre 19-27 años, solo presentaron Periodontitis moderada, las de 28-36 años, el 50% fue leve y/o moderada, mientras que las de 37-45 años, mostraron el 37,5% Periodontitis moderada y el 62,5% grave. Ver Tabla N° 8.

Tabla N° 8 – Distribución de la severidad de las Periodontitis según los diferentes grupos erarios

<i>Severidad</i>	<i>EDAD</i>		
	19-27	28-36	37-45
Leve	0,00	50,00	0,00
Moderada	100,00	50,00	37,50
Grave	0,00	0,00	62,50
Total	100,00	100,00	100,00

En cuanto a la extensión de las Periodontitis según la edad, las pacientes de 19-27 años presentaron involucrados sólo de 1 a 10 sitios, entre los 28-36 años, la Periodontitis se extendió a 11 a 20 sitios y/o a más de 20 sitios, en iguales proporciones, mientras que entre las de 37-45 años de edad, el 62,5% presentaba más de 20 sitios enfermos. Ver Tabla N° 9.

Tabla N° 9 – Distribución de la extensión de las Periodontitis según la edad de las pacientes (numérico y porcentual)

<i>Extensión</i>	<i>EDAD</i>		
	19-27	28-36	37-45
1 a 10 sitios	1	0	2
11 a 20 sitios	0	1	1
Más de 20 sitios	0	1	5
	Porcentual		
1 a 10 sitios	100,00	0,00	25,00
11 a 20 sitios	0,00	50,00	12,50
Más de 20 sitios	100,00	0,00	62,50

Al analizar la edad respecto al diagnóstico ginecológico, CIN I fue la patología más encontrada, tanto en las pacientes entre 19-27 años como entre 28-36 años y entre 37-45 años, en un 58,3%, 62,5% y 70,0%, respectivamente, como lo expresa la Tabla N° 10.

Tabla N° 10 – Distribución porcentual de la edad respecto el examen ginecológico

Examen Ginecológico	EDAD		
	19-27	28-36	37-45
CINI	58,33	62,50	70,00
CINII	16,67	25,00	20,00
CINIII	25,00	12,50	10,00
Total	100,00	100,00	100,00

Se destaca además al analizar la aparición de CIN III, que ésta fue la lesión ginecológica más frecuente, en un 60%, en el grupo de las pacientes más jóvenes Ver Tabla N° 11, y Gráfico N° 6.

Tabla N° 11 – Distribución porcentual del examen ginecológico según la edad de las pacientes

Examen Ginecológico	EDAD			Total
	19-27	28-36	37-45	
CIN1	36,84	26,32	36,84	100,0
CIN2	33,33	33,33	33,33	100,0
CIN3	60,00	20,00	20,00	100,0

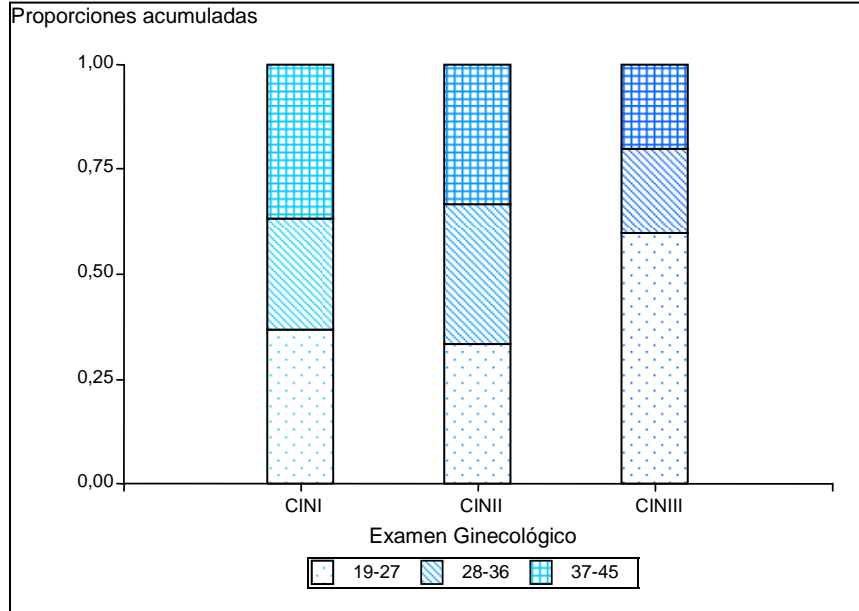


Gráfico N° 6 - Relación porcentual del examen ginecológico según la edad de las pacientes

Es conocida la influencia que tiene el cigarrillo en la etiopatogenia de las enfermedades periodontales. Al comparar el hábito de fumar con el diagnóstico periodontal, si bien no se encontró relación significativa, hubo una tendencia de las fumadoras a padecer de Periodontitis (57,1%) respecto de las no fumadoras (30,4%), según ha quedado reflejado en la Tabla N° 12 a. Al observar el grupo de las pacientes con diagnóstico periodontal, tanto de Gingivitis como de Periodontitis, resultaron ser fumadoras el 91,7% y el 63,6%, respectivamente, según se expresa en Tabla N° 12 b.

Tabla N° 12 – Distribución porcentual del diagnóstico periodontal y el hábito de fumar

(a)

Diagnóstico	Categoría de fumador	
	Fuma	No Fuma
Gingivitis	14,3	47,8
Periodontitis	57,1	30,4
Sana	28,6	21,7
Total	100,0	100,0

(b)

Diagnóstico	Categoría de fumador		Total
	Fuma	No Fuma	
Gingivitis	91,7	8,3	100,0
Periodontitis	63,6	36,4	100,0
Sana	71,4	28,6	100,0

No hay relación significativa entre diagnóstico y categoría de fumador.

5.6. Relación entre el estado periodontal y la presencia del virus papiloma en el surco y/o bolsa periodontal y en la lengua

Al correlacionar el **diagnóstico clínico periodontal** de las pacientes estudiadas con la **presencia del virus papiloma**, mediante técnicas de PCR, en las muestras epiteliales de lengua y del surco gingival y/o bolsa periodontal en su epitelio interno y externo, **no se encontró relación significativa**. Al considerar las pacientes con presencia del virus en lengua se observó que estas

tuvieron una tendencia ligeramente mayor al 55,56 % de padecer de Gingivitis, respecto al 33,33%, de los casos con igual patología periodontal y virus negativo en lengua. Ver Tabla N° 12.a y Gráfico 7. Cuando se evaluó el estado de los tejidos periodontales, el HPV se encontró en las pacientes con diagnóstico de Gingivitis en un 41,67%, en las de Periodontitis, en un 27,27%, mientras que en las sanas, en un 14,29%. Ver Tabla N° 13.a. Al considerar la presencia del HPV en el epitelio interno del surco y/o bolsa periodontal, se encontró en un 14,29%, 16,67% y 9,09%, mientras que en el epitelio externo fue del 14,29%, 18,18% y 16,67%, de las pacientes con diagnóstico periodontal de salud, Gingivitis y Periodontitis, respectivamente. Ver Tablas N° 13.b y 13 c. Estos datos modificaron sus proporciones al aplicarse la variable edad.

Tabla N° 13 – Distintas formas de distribución del diagnóstico clínico periodontal y viral por PCR en: a) lengua; b) epitelio interno; c) epitelio externo

Diagnostico	PCR-Lengua		Total
	Negativo	Positivo	
Gingivitis	7	5	12
Periodontitis	8	3	11
Sana	6	1	7
Total	21	9	30
Porcentual [%]			
Gingivitis	33,33	55,56	40,00
Periodontitis	38,10	33,33	36,67
Sana	28,57	11,11	23,33
Total	100,00	100,0	100,00
Porcentual [%]			
Gingivitis	58,33	41,67	100,00
Periodontitis	72,73	27,27	100,00
Sana	85,71	14,29	100,00
Total	70,00	30,00	100,00

No hay relación significativa entre diagnóstico periodontal y PCR-Lengua.

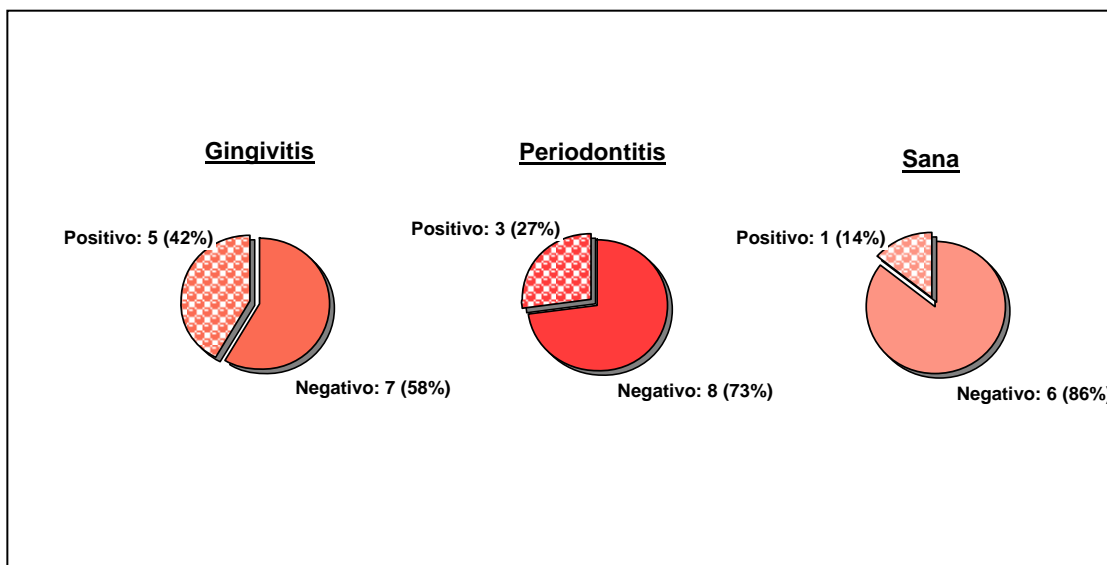


Gráfico N° 7 - Relación entre diagnóstico clínico periodontal y presencia de virus en lengua

Tabla N° 13 (b)

Diagnostico	PCR-Interno		Total
	Negativo	Positivo	
Gingivitis	10	2	12
Periodontitis	10	1	11
Sana	6	1	7
Total	26	4	30
Porcentual [%]			
Gingivitis	38,46	50,00	40,00
Periodontitis	38,46	25,00	36,67
Sana	23,08	25,00	23,33
Total	100,00	100,00	100,00
Porcentual [%]			
Gingivitis	83,33	16,67	100,00
Periodontitis	90,91	9,09	100,00
Sana	85,71	14,29	100,00
Total	86,67	13,33	100,00

No hay relación significativa entre diagnóstico y PCR-Interno

Tabla N° 13 (c)

Diagnostico	PCR-Externo		Total
	Negativo	Positivo	
Gingivitis	10	2	12
Periodontitis	9	2	11
Sana	6	1	7
Total	25	5	30
Porcentual [%]			
Gingivitis	40,00	40,00	40,00
Periodontitis	36,00	40,00	36,67
Sana	24,00	20,00	23,33
Total	100,00	100,00	100,00
Porcentual [%]			
Gingivitis	83,3	16,7	100,00
Periodontitis	81,8	18,2	100,00
Sana	85,7	14,3	100,00
Total	83,3	16,7	100,00

No hay relación significativa entre diagnóstico y PCR-Externo

Si al correlacionar el **diagnóstico clínico periodontal** con la **presencia del virus en boca** se agrega la variable **edad**, se advierte que se acerca a la significación ($p < 0,071$) y, atendiendo al número de la muestra, resulta ser altamente representativa. Como se aprecia en la Tabla N° 14.a y 14.b, donde, en las pacientes que presentaban el virus en lengua, la Gingivitis se mostró en un 75% en el grupo entre 19-27 años y en un 66,67% en el grupo entre 28-36 años, donde a su vez, se observó un 33,3% de Periodontitis, mientras que en el grupo de 37-45 años, la Periodontitis fue en el 100%.

Tabla N° 14 – Distribución del diagnóstico periodontal y viral por PCR en lengua, correlacionando con la edad: a) porcentual por diagnóstico periodontal; b) porcentual por grupo de edad.

(a)

Diagnóstico	PCR-Lengua:Negativo			PCR-Lengua:positivo			Total
	19-27	28-36	37-45	19-27	28-36	37-45	
Gingivitis	25,00	25,00	8,33	25,00	16,67	0,00	100,00
Periodontitis	9,09	9,09	54,55	0,00	9,09	18,18	100,00
Sana	57,14	14,29	14,29	14,33	0,00	0,00	100,00

(b)

Diagnóstico	PCR-Lengua:Negativo			PCR-Lengua:positivo		
	19-27	28-36	37-45	19-27	28-36	37-45
Gingivitis	37,50	60,00	12,50	75,00	66,67	0,00
Periodontitis	12,50	20,00	75,00	0,00	33,33	100,00
Sana	50,00	20,00	12,50	25,00	0,00	0,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Hay indicios de relación estadísticamente significativa entre las tres variables (p<0,071)

5.7. Análisis de las pacientes con el virus presente en boca y otras variables

Al estudiar el grado de inflamación de los tejidos periodontales en el grupo de pacientes con la presencia molecular del virus en boca, a pesar de no haberse encontrado diferencias significativas ($p>0,05$), se advirtió una tendencia del 66,67% a presentar un índice gingival moderado (34% a 66%), del 22,22%, a que dicho índice sea severo ($>66\%$), mientras que solo del 11%, a que sea leve. Ver Tabla N° 15.

Tabla N° 15 - Estudio de las características de las pacientes con PCR positivo en lengua - Variable de comparación: Índice Gingival

Variable- Índice Gingival		Cantidad de Pacientes	Porcentual [%]
Leve	< 33%	1	11,11
Moderado	34% a 66%	6	66,67
Severo	>66%	2	22,22

De las pacientes que presentaron el virus en boca, el 44,44% tenían entre 19-27 años, el 33,33%, entre 28-36 años, y el 22,22%, entre 37-45 años, según se aprecia en la Tabla N° 16, siguiente.

Tabla N° 16 - Estudio de las características de las pacientes con PCR positivo en lengua - Variable de comparación: Edad

Variable Edad	Cantidad de Pacientes	Porcentual[%]
19-27	4	44,44
28-36	3	33,33
37-45	2	22,22

En el análisis, del número de compañías sexuales se observó que el 88,89% de las pacientes tuvieron parejas únicas. Ver Tabla N° 17.

Tabla N° 17 - Estudio de las características de las pacientes con PCR positivo en lengua - Variable de comparación: Compañía Sexual

Variable Compañías Sexuales	Cantidad de Pacientes	Porcentual[%]
Múltiple	1	11,11
Única	8	88,89

En cuanto a los hábitos sexuales, el 88,89% practicaban sexo oral. Ver Tabla N° 18.

Tabla N° 18 - Estudio de las características de las pacientes con PCR positivo en lengua - Variable de comparación: Sexo Oral

Variable Sexo Oral	Cantidad de Pacientes	Porcentual[%]
Negativo	1	11,11
Positivo	8	88,89

Al tipificar las muestras de PCR positivas, el genotipo 16 del HPV fue detectado en mayor porcentaje (67 %), encontrando también el genotipo 6 y 52.

Al relacionar la presencia del virus por estudios moleculares en lengua, con la aparición de lesiones estomatológicas, estas se presentaron en el 45% de las pacientes que fueron Lengua-HPV positivo, mientras que el 76% lengua HPV-negativo no presentaron lesiones estomatológicas sugestivas a HVP.

5.8. Correlación gineco-periodontal

Con la finalidad de establecer puentes de aproximación entre la patología ginecológica y la periodontal se correlacionaron ambas variables. Si bien no se encontraron relaciones significativas entre las mismas, se destaca que el 60% de las pacientes con diagnóstico ginecológico de CIN III presentaban Gingivitis, el 20% de este grupo, presentaban salud periodontal, mientras que el 20% restante Periodontitis, según se aprecia en la Tabla N° 19, siguiente.

Tabla N° 19 – Correlación de las variables diagnóstico ginecológico y diagnóstico periodontal - Comparación gineco-periodontal

Diagnóstico	Examen ginecológico		
	CIN1	CIN2	CIN3
Gingivitis	36,84	33,33	60,00
Periodontitis	42,11	33,33	20,00
Sana	21,05	33,33	20,00
Total	100,00	100,00	100,00

No hay relación significativa entre diagnóstico periodontal y examen ginecológico

5.9. Relación entre los dos métodos diagnósticos de HPV, “moleculares vs. citológicos”

Al compararlos estadísticamente —según resultados del “*Kappa-analysis method*”—, no se encontró coincidencia entre ambos procedimientos diagnósticos, según se muestra en la Tabla N° 20 a y 20 b, siguiente.

Tabla N° 20 – Correlación de los métodos diagnósticos del virus en lengua: a) Porcentual por PCR; b) Porcentual por PAP

PCR-Lengua	(a) PAP-Lengua		Total
	Negativo	Positivo	
Negativo	95,24	4,76	100,00
Positivo	77,78	22,22	100,00
Total	90,00	10,00	100,00

Tabla N° 20 (b)

PCR-Lengua	PAP-Lengua		Total
	Negativo	Positivo	
Negativo	74,07	33,33	70,00
Positivo	25,93	66,67	30,00
Total	100,00	100,00	100,00

No hay coincidencia entre ambos procedimientos diagnósticos

5.10. Otros hallazgos clínicos

Estudiando otros hallazgos clínicos y frente al relato de algunas pacientes acerca de molestias en el tercio posterior de los bordes de la lengua, despertó el interés por observar estas áreas. Anatómicamente diferente a los dos tercios anteriores y, en ambos bordes linguales posteriores a la V formada por las papilas caliciformes, se hallan las papilas foliadas. *Grispan* las describe como pliegues de la mucosa, dispuestas a modo de cuatro o cinco elementos, orientadas transversalmente, cuya altura es de 2 a 3mm. Para observarlas adecuadamente se debe tomar la punta de la lengua con una gasa y llevarla hacia el lado opuesto. Dicho sector, considerado la porción faríngea de la lengua, está tapizado por estructuras linfoides que en su conjunto forman la amígdala lingual. La mayoría de los autores consideran que estas papilas foliadas constituyen la prolongación hacia adelante de esta amígdala lingual, la cual, conjuntamente con las amígdalas faríngeas, tubáricas y palatinas, configuran un sistema fisiológico de defensa del sector bucal, nasal y faríngeo. A toda esta organización, se la denomina anillo linfático de Waldeyer.¹⁵³

A la inspección clínica y en algunas pacientes despertó la atención el aspecto de estas papilas, las cuales se hallaban rojas, aumentadas de tamaño, elevadas y a veces separadas por surcos profundos en uno o ambos bordes de la lengua, siendo a veces sintomáticas o asintomáticas, como puede observarse en Fotos N° 9 a 14. Estas alteraciones han sido descriptas en la literatura como **Papilitis foliada**. El hallazgo tuvo una frecuencia de aparición del 53%, como puede observarse en la Tabla N° 21. Al comparar este signo clínico con otras variables, pudo determinarse que **las mujeres con diagnóstico viral por PCR, positivo en lengua, presentaron esta característica clínica en un 78% de los casos**, según se observa en la Tabla N° 22.

Tabla N° 21 – Aparición de Papilitis foliada en pacientes estudiadas según el diagnóstico clínico periodontal

Diagnóstico	Amígdala Lingual		Total
	Negativo	Positivo	
Gingivitis	33,33	66,67	100,00
Periodontitis	63,64	36,36	100,00
Sana	42,86	57,14	100,00

Tabla N° 22 – Papilitis foliada en pacientes con PCR-lengua positivo

Variable	Categorías	Cantidad de Pacientes	Porcentaje %
Amígdala lingual	Negativo	2	22,22
	Positivo	7	77,78



Foto 9 – Paciente N° 8



Foto 10 – Paciente N° 7



Foto 11 – Paciente N° 5



Foto 12 – Paciente N° 5



Foto 13-Paciente N° 12



Foto 14-Paciente N°11

Lesiones descriptas como Papilitis foliada

6. DISCUSIÓN

Ha sido enfatizado que las infecciones virales podrían tener un rol fundamental en la patogenia de las Enfermedades Periodontales. Los virus tipo herpes, dentro de los más estudiados, han abierto la puerta al interés por otras infecciones virales. El Virus Papiloma humano asociado a procesos proliferativos está biológicamente ligado al programa de diferenciación de los queratinocitos basales del huésped. Las células basales del epitelio de unión gingival, exfolian directamente al crevice gingival y poseen alta capacidad proliferativa y de recambio celular. En estas células epiteliales del periodonto marginal se demostró recientemente la presencia de syndecam-1 y de proteoglicanos de sulfato de heparan — receptores específicos de superficie de las células de huéspedes susceptibles— que representan condiciones básicas para la adhesión inicial, biología ulterior y supervivencia del HPV.^{140, 141}

En el presente estudio, el 30% (9/30) de las pacientes demostraron la presencia del virus en la lengua, mientras que el 13% (4/30) y 16,6% (5/30) en el epitelio, interno y externo, respectivamente, de los sitios periodontales estudiados, con la singularidad de que siempre que el HPV estuvo presente, tanto en el epitelio interno y/o externo del sitio periodontal, también se reveló en la lengua de las mismas pacientes. Los resultados confirman estudios previos que, a través de técnicas de biología molecular, encontraron la presencia del virus en un rango que variaba del 10-13% al 81,1%, en la mucosa bucal normal de la población adulta.¹¹⁴⁻¹¹⁷ La discrepancia en los hallazgos podría depender de la técnica de identificación viral utilizada, del sitio de toma de la muestra, así como del método de obtención. En la cavidad oral, parte de la mucosa es altamente

queratinizada, como es el caso de la encía insertada, donde la cantidad de células nucleadas podrían tener una mínima expresión en las muestras obtenidas particularmente por escobillado , pudiendo esta característica explicar también la discrepancia observada entre esta y los escobillados de lengua en un mismo paciente. Es importante, además, considerar que la carga de infección-enfermedad por HPV, es asimismo dispar en diferentes regiones del mundo, observándose mayor prevalencia e incidencia en países de escasos recursos y en los sectores más carenciados de la sociedad.¹⁴² En un estudio reciente realizado en nuestro medio, la Dra. Mónica Benítez reportó la presencia del HPV en un 8.7% de la mucosa bucal normal, en contraste con el 93% hallado en citologías de carcinomas y en 100% de leucoplasias y de líquenes, estudiados por técnicas de PCR-Southern blot.¹⁴³

En el presente trabajo, el hallazgo del virus en un 29.6% de las **muestras citológicas** extraídas de los sitios periodontales, tanto en los epitelios internos cuanto en los externos —en un 13% (4/30) y 16,6% (5/30) respectivamente, concuerda con lo hallado en el trabajo realizado en la Universidad de Turku, en Helsinki, Finlandia, por *M. Hormia, S. Syrjänen* y colaboradores quienes, en 31 **biopsias** de especímenes gingivales — del epitelio interno y del externo—, encontraron la presencia del virus en un 26% (8/31) de las muestras analizadas. En dicho estudio el HPV fue revelado tanto en el epitelio interno como en el epitelio oral de un sólo paciente, mientras que todas las demás muestras positivas pertenecían exclusivamente al epitelio externo.⁹⁸ La diferencia en la frecuencia del hallazgo en el epitelio interno podría radicar en que, y en coincidencia con los resultados de la Dra. Benítez anteriormente expuestos, los hallazgos del virus fueron significativamente mayores en los estudios moleculares de las

muestras **citológicas**, comparadas con las **biopsias**. Además, es interesante considerar que, al observar el trabajo realizado por Parra y Slots (1996) sobre la presencia de diferentes tipos de virus en el fluido gingival de pacientes con Periodontitis avanzada, hallaron al HPV en el 17% de las muestras estudiadas.⁵ Las tomas fueron realizadas colocando puntas de papel estéril dentro de las bolsas periodontales durante 20 segundos, previo a ser procesadas.¹⁴⁴ Cabría la posibilidad de que esta maniobra no recogiera apropiadamente células epiteliales en el papel humedecido de todas las puntas manipuladas. Por lo que es importante destacar que en el presente trabajo, además de que la identificación molecular del virus haya sido realizada a partir de muestras citológicas, lo novedoso radica en la **toma de la muestra**. Esta fue realizada utilizando micro-cepillos* para el escobillado epitelial, donde se podrían haber recolectado células epiteliales de forma más predecible.

Al tipificar en las muestras el genotipo 16, este fue detectado en mayor porcentaje (67%), encontrando también, en dos de las muestras, el genotipo -6 y -52. Tanto -16 como -52 son considerados de alto riesgo. Estos hallazgos concuerdan con otras investigaciones realizadas por Syrjänen (2000) y por Miller y Johnstone (2001), donde 37 de los más de 100 tipos virales resultaron positivos en la cavidad oral, siendo también HPV-16 el hallado con mayor frecuencia, seguido por el -6. El mayor porcentaje de los genotipos del estudio realizado por la Dra. M. Benítez correspondió al -16 seguido por el 18, tanto en lesiones precursoras como en cáncer, siendo el HPV 18 el único tipo revelado en los controles sanos. Por consiguiente, y en coincidencia con Hornia y colaboradores, el epitelio del periodonto marginal tanto surcular como oral podrían representar un

* Micro-aplicador dental, Microbrush-®-Plus, Microbrush-®_International

sitio latente para la persistencia viral.⁹⁸ Es importante remarcar que **en todos los casos en que el HPV estuvo presente en el epitelio interno y/o en el externo del sitio periodontal seleccionado, este fue también hallado en la lengua de las mismas pacientes por lo que podría ser sospechada de facilitar la contaminación intrabucal desde un sitio infectado a otro y además de posibilitar la transmisión del virus entre humanos, tanto en forma horizontal como vertical.**^{145, 146}

En los estudios citológicos de Papanicolau (PAP), los signos epiteliales sugestivos al virus tanto en lengua como en las citologías del epitelio interno y externo del sitio periodontal resultaron ostensiblemente menores, en un 10% (3/30), 10% (3/30) y en un 13,3% (4/30), respectivamente, al ser confrontados con los hallazgos encontrados con los métodos moleculares. Al comparar estadísticamente ambas formas de identificación —según resultados del “Kappa-analysis method”—, no se hallaron coincidencias entre ambos procedimientos diagnósticos. Estos datos concuerdan con la bibliografía, donde se consigna que, si bien la citología es el método diagnóstico más utilizado por su accesibilidad y bajo costo, su eficacia está limitada por la calidad de la obtención e interpretación de la muestra así como por su sensibilidad, la que no superaría el 60%.^{147, 148} Resulta interesante destacar también y reforzando el concepto anterior, que sólo el 22% de las PCRs positivas de lengua fueron PAP positivas, mientras que el 67% de los PAP positivos, resultaron PCR positivos.

Hay consenso general en que el principal desencadenante del cáncer cervical es el Virus Papiloma Humano, el cual está presente en el 95% de los cánceres invasores.¹⁵³ En Argentina son detectados aproximadamente

4.000 casos de cáncer de cuello de útero por año, y mueren en el mismo período unas 2.370 mujeres, lo que implicaría que por día fallecerían entre 5 y 6 mujeres por dicha causa.¹⁵⁴ En Córdoba, se advirtió sobre el incremento de casos de cáncer de cuello de útero producidos por el virus HPV, detectados en el Hospital Rawson entre 2004 y 2006.¹⁵⁵ Sumada a esta patología se señaló además que estas mujeres presentaban con mucha frecuencia otras enfermedades de transmisión sexual, como Trichomoniasis, Herpes, Sífilis o VIH, no pudiendo detectar hasta el momento cuáles fueron los factores que determinaron el aumento de casos. El inicio de las relaciones sexuales de este grupo de pacientes estudiadas, fue de 16 años mientras, que el 73% tuvo más de cinco parejas sucesivas. En investigaciones recientes se ha demostrado que las infecciones virales podrían variar según el país, y, dentro de cada país, según el área geográfica estudiada, los subgrupos de población y la edad, entre otros rasgos. Se estima que el 80% de las mujeres sexualmente activas podrían estar infectadas, siendo el aumento del número de parejas, el inicio precoz de las relaciones sexuales, las conductas de riesgo o la falta de protección con barreras físicas, consideraciones importantes en el acrecentamiento de lesiones precursoras y, por ende, de un aumento de los casos de cáncer de cuello de útero.¹⁵⁶⁻¹⁵⁹

Según el diseño experimental del presente estudio la totalidad de las pacientes estudiadas presentaban signos citológicos genitales sugestivos a infecciones por HPV, de las cuales la lesión intraepitelial de CIN I fue la patología más frecuente -en el 63% de los casos-, seguida por CIN II, en el 20% mientras que CIN III se presentó en el 16%. Es importante subrayar, respecto a la edad de las pacientes, que si bien CIN I, fue la patología más encontrada en todos los grupos etarios, comprendidos entre 19-27, 28-36 y

37-45 años en un 58%, 62,50 y 70% respectivamente, se observó además, un incremento de dicha patología directamente proporcional al aumento de edad. Al analizar la aparición de CIN III, ésta fue más prevalente en un 60% en el grupo de las pacientes más jóvenes. Se destaca aquí, además, el alto porcentaje de aparición de lesiones intraepiteliales, tanto de bajo grado como de alto grado en las pacientes más jóvenes.

Otra consideración particular de esta prueba está referida al hábito del sexo oral, citado como posible camino de llegada del virus a la boca. Esta vía de transmisión es cuestionada en parte por autores como M. Rintala, S. Syrjänen al encontrar que diferentes tipos de HPVs infectaban la mucosa oral y/o genital de la misma paciente. Estos autores, en un estudio prospectivo de 24 meses de seguimiento realizado en el año 2005 en el Departamento de Ginecología y Obstetricia y en el Departamento de Odontología de la Universidad de Turku (Finlandia), investigaron la presencia de HPVs de Alto Riesgo (HR HPV) en muestras de escobillados orales y genitales en ambos miembros de las parejas. La edad promedio de las mujeres era de 25,5 años y de 29 años en los hombres. Un 12% de las mujeres y 25% de los hombres, relataron realizar sexo oral en forma regular, mientras que solo el 20% y el 11,1% de las mujeres y hombres, respectivamente, nunca practicaron sexo oral. Estos autores hallaron que la prevalencia de HPV de Alto Riesgo (HR HPV) fluctuaba dentro de un rango entre el 16% y el 27% en ambos esposos durante el seguimiento. Además, el hábito de sexo genito-oral no pudo explicar el comportamiento de la infección oral en ambos cónyuges, concluyendo que la ruta oral-oral debería ser considerada un modo importante de transmisión del virus. La persistencia de la infección bucal en un miembro de la pareja podría ser un factor de riesgo significativo para la persistencia de infección intrabucal en

el otro esposo. En el presente estudio, el 98% de las integrantes relataron realizar sexo oral, revelando, como en el caso de la bibliografía anterior citada, que la práctica del sexo oral forma parte de la conducta habitual de la mayoría de las parejas en nuestra sociedad contemporánea y, si bien cuestionada por algunos autores, otros ratifican que podría ser un factor de riesgo importante para el incremento de las infecciones virales bucales.¹⁶⁰⁻¹⁶²

Se ha postulado también que estas células epiteliales infectadas transmiten el virus de un sitio a otro e inclusive de un huésped a otro durante la renovación celular, protegiéndolo, además, de las intensas condiciones hipotónicas de la saliva. De esta manera, no solo podrían infectar al mismo paciente en diferentes sitios de la cavidad bucal, sino también ser transmitido al ámbito familiar, al social y al profesional Odontólogo, al personal auxiliar y a otros pacientes en general. Es por eso que una exhaustiva historia clínica así como el manejo de condiciones rigurosas de bioseguridad son fundamentales para la protección personal y de terceros.

El estado periodontal de las pacientes incluidas en el presente estudio mostró parámetros similares al ser comparado con estudios clásicos de prevalencia de la enfermedad periodontal.¹⁶³ Como el “Dental Health Outcome Survey”, llevado a cabo en Estados Unidos en 1981, donde se evaluó el aspecto clínico de los tejidos periodontales con el Índice de Russel modificado, utilizando sonda periodontal. En concordancia con la presente prueba, el estudio citado consideró también la presencia de Gingivitis, así como de Periodontitis leve, moderada y severa.¹⁶⁴ El 17% de la población estudiada presentó salud gingival, hallazgo similar a lo encontrado en la presente prueba, donde el 23% de las mujeres estudiadas

eran sanas periodontales. En coincidencia con el estudio citado, la Gingivitis se expresó en el 37% de las pacientes evaluadas y no hubo correlación positiva con respecto al aumento de la edad. Así, dicho diagnóstico periodontal fue del 50%, 42% y 33% para las mujeres de edades comprendidas entre los 19-27, 28-36 y 37-45 años, respectivamente. De manera similar la Periodontitis estuvo presente en el 40% de la prueba, en comparación con el 36% de la población americana. Al considerar la edad de las pacientes en el estudio citado, se observó que su prevalencia aumentaba con la edad del 29% al 48%, respectivamente, entre los 19-44 años y el grupo ≥ 45 años. Mientras que en el presente trabajo se observó el aumento de la presencia de Periodontitis de 10%, 19% y de 73% en el grupo de edades comprendidas entre los 19-27 años, 28-36 años y 37-45 años respectivamente, en porcentajes significativamente mayores ($p < 0,006$). Es interesante destacar, en coincidencia con la citada bibliografía, que tanto la severidad como la extensión de Periodontitis estaban también influenciadas por la edad. Así cuando ésta estuvo presente en las pacientes más jóvenes, entre 19 a 27 años de edad, involucró en extensión sólo hasta 10 sitios periodontales, con severidad moderada. De 28 a 36 años la Periodontitis se extendió en un 50% de los casos de 11 a 20 sitios, y a más de 20 sitios el 50% restante, siendo la severidad también en un 50% leve o moderada. Entre 37-45 años esta patología avanzó en un 63% a más de 20 sitios periodontales y la severidad grave predominó en el 63% en las pacientes enfermas. Es de resaltar además, que tanto en el estudio citado, como en el presente, la severidad influyó en la extensión de la Periodontitis, así por ejemplo, cuando mayores fueron las profundidades de sondaje ≥ 7 mm— fue también mayor el número de sitios afectados. Hallazgos similares presentaron nuestras pacientes quienes, en las

Periodontitis severas, con nivel de inserción clínica ≥ 5 mm, presentaron mayor número de sitios afectados.

Una observación clínica interesante, asociada a un índice gingival moderado, fue que las características clínicas de las enfermedades periodontales observadas tenían apariencia crónica, con presencia de gran cantidad de cálculo infragingival en sus diferentes grados de severidad, como puede observarse en las fotografías que se incluyen en el Anexo III.

La estrecha similitud observada entre las infecciones por HPVs de la mucosa bucal y genital podría basarse en aspectos etiológicos, al compartir el mismo agente, así como clínicos e histopatológicos análogos. Además, ambas pueden estar influenciadas por factores de riesgo también compartidos, tales como la inmunodeficiencia del huésped, el hábito de fumar, infecciones bacterianas asociadas a bacterias anaerobias, espiroquetas, entre otros.

Hasta el presente, no han sido publicados resultados de estudios que reflejen en nuestro medio las consecuencias clínicas de la detección de HPV en boca y su posible relación con su hallazgo citológico en el TGI. Al correlacionar la patología ginecológica y la periodontal, si bien no se encontraron relaciones significativas entre ambas, se destaca que el 80% de las pacientes con diagnóstico ginecológico de CIN III presentaron patología Periodontal, ya sea Gingivitis el 60%, y Periodontitis el 20% restante.

Es llamativo considerar los hallazgos del Dr. Mine Tezal, quien en un trabajo reciente encontró que la infección por Virus Papiloma y la Periodontitis podrían tener un efecto sinérgico en la promoción de

carcinoma de lengua.¹⁶⁵ De este modo tanto la inflamación crónica y la infección bacteriana propia de esta Enfermedad Periodontal, junto con la infección persistente de HPV crearían un medioambiente propicio para la carcinogenesis. De los 30 pacientes estudiados en dicho estudio, entre 1999 y 2005, con diagnóstico de cáncer de lengua, el 63% presentaron tumores HPV-16 positivos, con el hallazgo de que ninguno fue HPV-18 positivo. El 90% de los pacientes con Tumores HPV-16 positivos, tuvieron diagnóstico de Periodontitis; en tanto que el 79% de los pacientes con tumores HPV-negativos no eran enfermos periodontales. Esto tendría una relevancia clínica fundamental en la prevención, diagnóstico precoz y tratamiento de las enfermedades relacionadas con el HPV, donde el diagnóstico precoz y el tratamiento oportuno de las Enfermedades Periodontales jugarían un rol fundamental en la prevención del cáncer de cabeza y cuello. Si bien no ha sido objeto del presente estudio, dado lo significativo del hallazgo es interesante analizar las siguientes variables: el diagnóstico periodontal, la presencia del virus en lengua y las lesiones estomatológicas compatibles con HPV. Al confrontarlas no se pudo establecer asociación significativa. Uno de los motivos fundamentales radicaría en el diseño del estudio donde la convivencia de ambas infecciones, tanto **la Periodontal** como la **Infección Viral persistente** en un mismo huésped a lo largo del tiempo, pueden relacionarse en estudios longitudinales y no de corte transversal como caracteriza al presente.

Acercas de el hallazgo clínico presentado, relacionado con la presencia en el tercio posterior de la lengua de las papilas foliadas, con apariencia agrandada y enrojecida, con una frecuencia de aparición del 53% en las pacientes estudiadas, y al compararlo con otras variables, llamó la atención que las mujeres con diagnóstico viral por PCR positivo en

lengua, presentaron en un 78% esta característica clínica. Estas alteraciones papilares descritas con el nombre de **papilitis foliada** asumen aspectos clínicos muy variables desde apenas marcadas como un ligero relieve en la parte más posterior de los bordes laterales de la lengua, hasta dar lugar a una o más formaciones de aspecto tumoral. Si se considera este amplio espectro de aspectos bajo los cuales se pueden presentar, es muy difícil decidir clínicamente cuándo existe realmente hipertrofia patológica. De manera que es arduo poder dar el nombre de papilitis foliada a un presumible aumento de volumen del sector estudiado, salvo que hubiera sido posible observar cambios al examinar al mismo paciente en consultas consecutivas, lo que no fue contemplado en el diseño de esta prueba. Los diversos órganos linfáticos, además, sufren modificaciones fisiológicas con el transcurso de la edad, por lo que sería importante determinar, cuándo se esta frente a un cuadro fisiológico o patológico. Las causas de la inflamación son, por lo general, infecciones nasofaríngeas o de vecindad, como amígdalas, o irritaciones por prótesis o piezas dentarias. Es significativo considerar que en la bibliografía se ha descrito la aparición del HPV en porcentajes mayores, del 51%, en los carcinomas tonsilares, respecto del resto de las neoplasias malignas extra-genitales.¹⁶⁶ En un estudio reciente realizado en Brasil donde se investigó la presencia de HPV por PCR en muestras de 4 sitios de la oro-faringe (amígdalas, paladar blando, base de la lengua y la pared posterior de la oro-faringe). Este se presentó en un 14% de los pacientes analizados, donde fueron identificados los genotipos -16, -18, -52 y -61, con mayor prevalencia en la zona de amígdalas y paladar blando.¹⁶⁷ Si bien no se ha podido determinar si la infección por HPVs en individuos sanos podría predisponer a ciertas enfermedades asociadas, como el cáncer orofaríngeo, y, teniendo en cuenta todas estas premisas, sería muy importante remarcar la necesidad de una

exhaustiva inspección bucal de nuestros pacientes, así como la pronta y oportuna derivación al profesional competente.

Respecto al objetivo principal del presente trabajo, y coincidiendo con los hallazgos de M. Hornia y col., **no se pudo asociar la presencia del Virus Papiloma en la cavidad oral, con el estado de salud/enfermedad periodontal de las pacientes estudiadas.** No obstante es interesante destacar que si al relacionar el diagnóstico periodontal con la presencia del virus en boca, se tiene en consideración la edad de las pacientes, se advierte un acercamiento a la significación estadística ($p < 0,07$) y de tal manera, y atendiendo al número de la muestra, este hallazgo resultaría ser sugestivamente representativo. De este modo, en las mujeres que demostraron tener el virus en lengua, y en el grupo de edades comprendidas entre 19 y 27 años, la Gingivitis se expresó en un 75%, mientras sólo lo hizo en el 37% de las que no presentaron el virus en boca. Las pacientes con edades comprendidas entre 28 y 36 años, y con presencia viral, presentaron Gingivitis en un 67% y Periodontitis en un 33,33%. En contraste, las pacientes con ausencia del virus en lengua exhibieron en un 60% Gingivitis y en un 20% Periodontitis. En tanto, en el grupo virus positivo y entre 37 a 45 años, se diagnosticó Periodontitis en un 100% de la muestra, mientras que ésta se manifestó en un 75%, en el mismo grupo etario con virus negativo.

Se abre así una incógnita sobre todo si se analiza que en los diferentes grupos etarios con ausencia del virus en boca, la prevalencia de la Enfermedad Periodontal fue similar a la encontrada en otras comunidades. Mientras que, y como se ha visto en la presente prueba y se ha expresado en el párrafo anterior, las pacientes con presencia viral

presentaron mayor prevalencia y severidad de patología periodontal. Además, se advirtió, al considerar el grado de inflamación de los tejidos periodontales, que el grupo de pacientes con virus en boca, tuvo una tendencia, en un 66,67%, a presentar un índice gingival moderado (34% a 66%), en tanto que el 22,22% compartieron un índice severo (>66%), mientras que solo en el 11,11%, fue leve (< 33%).

Teniendo en cuenta la historia natural de esta infección viral el hecho de que ciertas pacientes, ya sea por la incapacidad inmunológica de eliminar el virus, o por re-infecciones periódicas vía genito-oral y/o oral-oral u otras, podrían perpetuar su presencia en boca, determinando la diferencia entre una infección transitoria y una persistente. Acaso ésta sería una de las condiciones fundamentales, para influir tanto en lesiones proliferativas como inflamatorias de la cavidad bucal. Esta consideración abriría el camino a nuevas líneas de investigación.

7. CONCLUSIONES

En las características de la población estudiada destaca:

- 1) Desde el punto de vista ginecológico, que CIN I, fue la patología de aparición más frecuente en todas las edades, observando además un aumento directamente proporcional con esta. CIN III fue más prevalente, en un 60%, en el grupo de las pacientes más jóvenes. Es importante resaltar, el alto porcentaje de aparición de lesiones intraepiteliales, tanto de bajo, como de alto grado, también en las pacientes más jóvenes de nuestra población, pudiendo acarrear derivaciones futuras, por lo que el análisis de las posibles causas, así como las estrategias para el tratamiento del problema, comprometen a toda la comunidad profesional de nuestro medio.
- 2) En los aspectos de conducta, el 98% de las integrantes relataron haber realizado sexo oral, revelando que posiblemente la preocupación por la no concepción, haga que esta práctica forme parte de la conducta habitual de las parejas en nuestra sociedad contemporánea, y podría ser un factor de riesgo importante para el incremento de esta y/o de otras infecciones bucales.
- 3) Si bien el examen del estado periodontal mostró parámetros similares a los demostrados en estudios de prevalencia de enfermedad periodontal en otros países, como en la población americana. El aumento de la presencia de Periodontitis de 10% y 19% a 73% en el grupo de edades comprendidas entre los 19-27

años, 28-36 años y 37-45 años respectivamente, en porcentajes significativamente mayores ($p < 0,006$), implicaría una toma de conciencia para el odontólogo y en particular para el periodoncista de nuestro medio en cuanto a la prevención, el diagnóstico precoz y el tratamiento oportuno de esta enfermedad secuelizante de nuestra población.

- 4) Respecto a la **presencia del virus papiloma en la cavidad bucal, destaca de manera singular, la alta prevalencia del mismo, resultando positivas tanto el 30%, como el 15%, de las PCRs de lengua y de los sitios periodontales estudiados, respectivamente. Además, el genotipo -16, considerado de alto riesgo, fue hallado en mayor porcentaje (67%), encontrando también el genotipo -52, también de alto riesgo, y el -6.** Este dato de suma implicancia clínica compromete a observar más exhaustivamente la cavidad bucal de los pacientes, así como a indagar más profundamente en sus historias médicas para la pesquisa de lesiones precursoras de riesgo. Además, siempre que el HPV estuvo presente, tanto en el epitelio interno cuanto en el externo del sitio periodontal, fue detectado, también, en la lengua de las mismas pacientes por lo que esta podría ser sospechosa de facilitar la contaminación intrabucal desde un sitio infectado a otro y de posibilitar además la transmisión del virus entre humanos, tanto en forma horizontal como vertical.
- 5) La identificación molecular del virus a partir de muestras citológicas tuvo resultados similares a las experiencias que usaron la misma técnica. Lo novedoso y, que podría facilitar

futuras pruebas, radica en la toma de la muestra. Este se realizó utilizando micro-cepillos para el escobillado epitelial de los sitios periodontales (epitelio interno y externo del surco o de la bolsa) donde a pesar de lo mínimo del área, se pudieran recolectar células epiteliales de forma más predecible.

- 6) En la comparación de los métodos diagnósticos utilizados en la presente prueba, tanto PAP como PCR, no se hallaron coincidencias estadísticamente significativas entre ambos. Además si se destaca que sólo el 22% de las PCRs positivas de lengua fueron PAP positivas, mientras que el 67% de los PAP positivos, resultaron PCR positivos, frente a una lesión sugestiva de HPV se recomendaría realizar el estudio molecular, por parte del profesional pertinente, pues esta es una técnica no invasiva, de fácil ejecución, factible en nuestro medio, además de ser orientadora y predictora del pronóstico y tratamiento.

- 7) Respecto al objetivo principal del presente trabajo, **no se pudo asociar la presencia del Virus Papiloma en la cavidad bucal, con el estado de salud/enfermedad periodontal de las pacientes estudiadas.** Es interesante destacar que, si al relacionar el diagnóstico periodontal con la presencia del virus en boca, tenemos en consideración la edad de las pacientes, se advierte un acercamiento a la significación estadística ($p < 0,07$) de tal manera que, atendiendo al número de la muestra, este hallazgo resultaría ser sugestivamente representativo. De igual manera se abre un interrogante al considerar que las pacientes con presencia bucal del HPV presentaron mayor prevalencia y

severidad de patología periodontal, que aquellas donde el virus estuvo ausente. Teniendo en cuenta la historia natural de esta infección viral, donde las condiciones inmunológicas y/o de contagios reiterados del huésped puedan perpetuar la presencia del virus en boca podrían influir tanto en lesiones proliferativas como inflamatorias de la cavidad bucal. Esta consideración abriría el camino a nuevas líneas de investigación, que podrían tener como objetivo el estudio de la convivencia de infecciones, tanto Periodontal como Viral persistente en un mismo huésped a lo largo del tiempo.

- 8) De los resultados obtenidos en este trabajo se podría inferir, además, que, a la luz de los conocimientos actuales, la educación para la salud, debería incluir la educación sexual anterior a su inicio, así como el asesoramiento sobre el riesgo de diferentes hábitos sexuales de los pacientes, por parte de profesionales pertinentes, entre los cuales el odontólogo jugaría también un rol fundamental. Las recomendaciones sobre la prevención deberían incluir la utilización de métodos barrera como el uso de profiláctico. Los cuidados de bioseguridad en el consultorio odontológico son, a su vez, fundamentales para minimizar el contagio al personal auxiliar y a otros pacientes en general. La derivación al profesional pertinente en cuanto a la oportunidad de vacunación y una mayor interacción medico-odontológica, se suman a las medidas fundamentales tendientes a la prevención de la infección, tanto incidente como sobre todo la persistente.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue analizar el estado periodontal de mujeres con lesiones genitales sugestivas a Virus Papiloma Humano (HPV), e investigar su presencia en el surco/bolsa periodontal y en la lengua. Integraron la prueba 30 mujeres no menopáusicas de entre 18 y 50 años de edad, derivadas del Servicio de Ginecología del Hospital Universitario Materno Neonatal de la ciudad de Córdoba (HUMN), con lesiones genitales sugestivas de HPV. Se realizó la inspección de la cavidad bucal, el examen clínico periodontal y la toma de tres muestras por paciente, dos de un mismo sitio periodontal (epitelio externo de encía y epitelio interno del surco/bolsa periodontal) y otra de lengua, para ser sometidas a estudios citológicos de Papanicolau (PAP) y a estudios moleculares de Amplificación de ácidos nucleicos por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los datos fueron agrupados y analizados por el “Test Chi Cuadrado” (χ^2) y el “Índice de Kappa” (κ). Los resultados no demostraron asociación significativa entre la presencia del virus Papiloma en la cavidad bucal, y el estado de salud/enfermedad periodontal en éstas pacientes. Se destaca como hecho significativo la alta prevalencia del virus en las PCRs tanto en lengua (30%), como en los sitios periodontales estudiados (15%), siendo el genotipo -16 de alto riesgo (HR), identificado en mayores porcentajes (67%), encontrando, además, genotipo -52 (HR) y -6. Siempre que el HPV estuvo presente en los sitios periodontales fue detectado, también, en la lengua de las mismas pacientes, por lo que ésta podría facilitar la contaminación intrabucal y la transmisión del virus entre humanos, tanto en forma horizontal como vertical. Los hallazgos estimulan a continuar ésta línea de investigación en distintas geografías y en mayores grupos poblacionales.

Palabras clave: virus papiloma en TGI, en cavidad bucal y enfermedad periodontal.

Abstract

The aim of this study was to analyze the periodontal status of women with genital lesions suggestive of human papillomavirus (HPV), and investigate its presence in sulcus/periodontal pocket and in tongue. The study involved 30 non menopausal women, between 18 and 50 years old, derived from the Gynecology Service of the University Hospital of Maternal and Neonatal of Córdoba city (HUMN) with genital lesions suggestive of HPV. It was performed the inspection of the oral cavity, the periodontal clinical examination and the taking of three samples per patient, two from the same periodontal site (gum external epithelium and inner lining of the sulcus/periodontal pocket) and the other from the tongue. The samples were submitted to Pap cytology (PAP) and molecular studies of nucleic acid amplification Chain Reaction (PCR). The obtained data were grouped and analyzed by the "chi-square test" (χ^2) and the "kappa index" (κ). The results did not demonstrate a significant association between the presence of papillomavirus in the oral cavity with the health/periodontal disease of the patients. It is remarkable the high prevalence of HPV presence, in the 30% as well as in the 15% of the PCRs of the tongues and of the studied periodontal sites, respectively, being the -16, of high risk (HR), found in a superior percentage (67%), finding also -52 (HR) and -6 genotypes. When the HPV was detected at the periodontal sites it was always present in the tongue of the same patients, meaning that tongue could aid the intraoral contamination and the virus transmission between humans, in horizontal as well as in vertical manner. Findings estimate to continue the same line of research not only at other sites but also in greater population groups.

Keywords: papillomavirus in TGI in oral cavity and periodontal disease

ANEXO I

Ficha Ad-Hoc N° 1 - Evaluación Médico – Ginecológica

Fecha de Examen:.....

a. Aspectos Demográficos:

Nombre:.....

Dirección:.....

Tel.Particular:.....Tel. comercial:.....

Edad:.....Fecha de nacimiento:.....

Estado civil:.....

Ocupación:.....Lugar de trabajo:.....

Nivel de instrucción:

- Posgraduado
- Universitario: completo o incompleto
- Secundario: completo o incompleto
- Primario: completo o incompleto
- Ninguno

Nivel socio-económico:

- Trabajo remunerativo
- Trabajo no remunerativo
- No Trabaja
- Vivienda propia
- Vivienda alquilada
- Agua potable

b. Aspectos Sistémicos

Historia médica,
Padece o Padeció de:

- | | |
|---|--|
| <input type="radio"/> Diabetes..... | <input type="radio"/> Hepatitis infecciosa..... |
| <input type="radio"/> Sist inmune ,HIV, SIDA..... | <input type="radio"/> Enf venéreas..... |
| <input type="radio"/> Asma..... | <input type="radio"/> Digestivo (gastritis, ulceras, colitis) |
| <input type="radio"/> Alergias..... | <input type="radio"/> Alteraciones sanguíneas (anemias) |
| <input type="radio"/> Fiebre Reumática..... | <input type="radio"/> Recibido Transfusiones..... |
| <input type="radio"/> Problemas cardíacos..... | <input type="radio"/> Recibido Quimioterapia..... |
| <input type="radio"/> Prótesis articulares..... | <input type="radio"/> Recibido Radioterapia..... |
| <input type="radio"/> Marcapasos..... | <input type="radio"/> Herpes Frecuente..... |
| <input type="radio"/> Hipo-Hiper tensión..... | <input type="radio"/> Drogas Inmunosupresoras..... |
| <input type="radio"/> Problemas renales..... | Otras..... |
| <input type="radio"/> Tuberculosis..... | |

Medicada con:

- Corticoides en la actualidad:.....
- Antimicrobianos sistémicos y/o tópicos en los último mes.....
- Anticonceptivos orales:.....
- Otros.....

c. Aspectos Ginecológicos

Sistema Bethesda:

1. Dentro de límites normales
 2. Cambios reactivos y reparativos
 3. Anomalías de células epiteliales:
- Lesiones Epiteliales pavimentosas de Bajo grado (SIL de bajo grado), las que incluyen CIN I (displasia leve) y HPV.
 - Lesiones Epiteliales pavimentosas de Alto grado (SIL de Alto grado), las que incluyen CIN II (displasia moderada) y CIN III (displasia severa Cancer in Situ).
(Serán admitidas quienes presentan, 3. Anomalías de células epiteliales)

d. Aspectos referidos a Conductas

Practica:

- Practica sexo oral
- No practica sexo oral
- Pareja estable
- Compañías sexuales múltiples

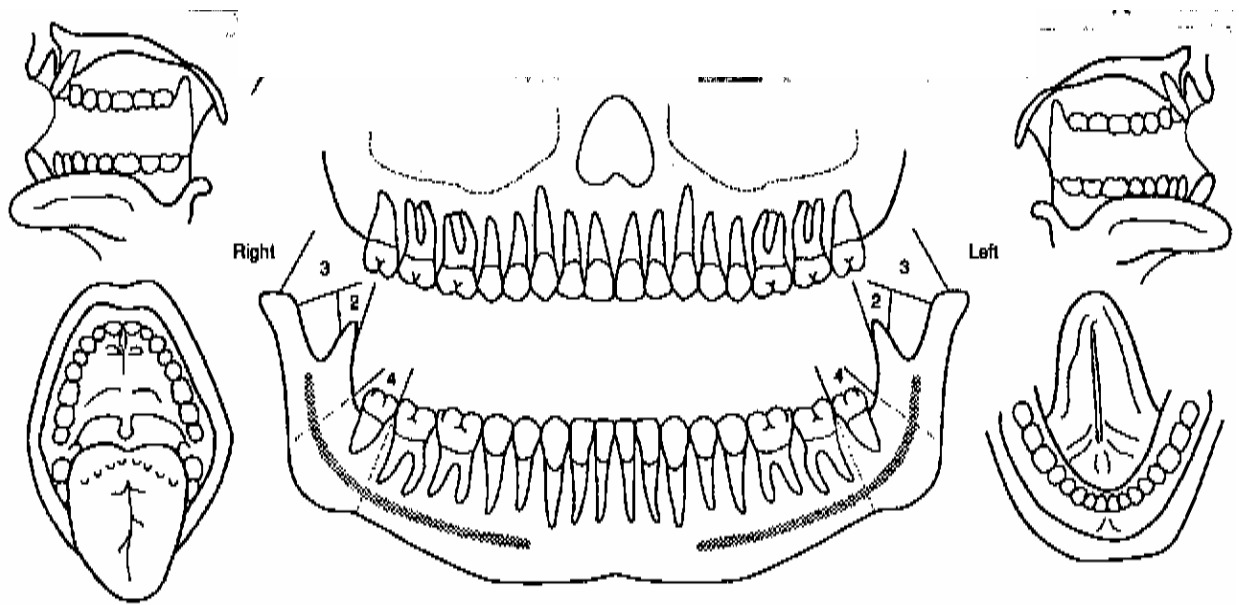
<p>Hábito de Fumar:</p> <ul style="list-style-type: none">○ No Fuma○ Fuma:○ Cuanto fuma por día (≤ 10, ≥20, >20)○ Cuando empezó a fumar (.....)○ Cuando dejó de fumar (.....)	<ul style="list-style-type: none">○ Drogas,○ Cuál:.....○ Via:○ Oral○ Evenosa○ Inhalatoria
--	---

Datos Clínicos:

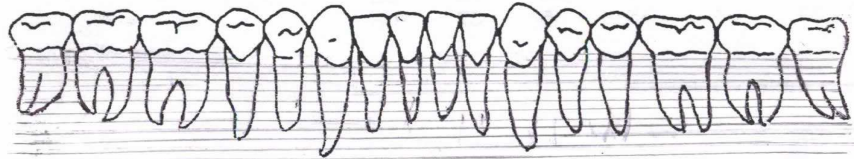
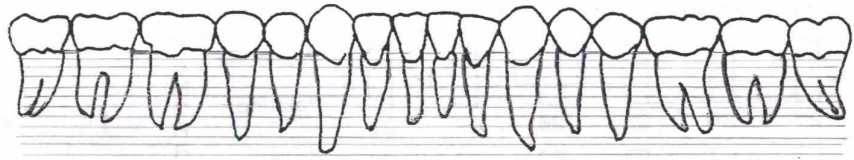
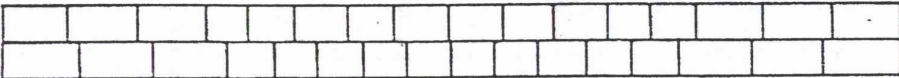
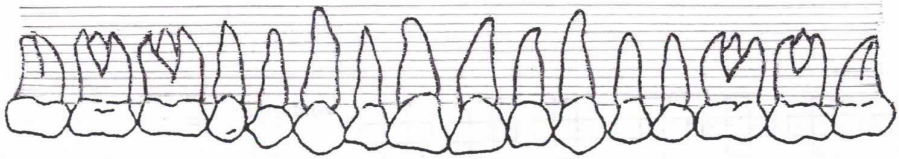
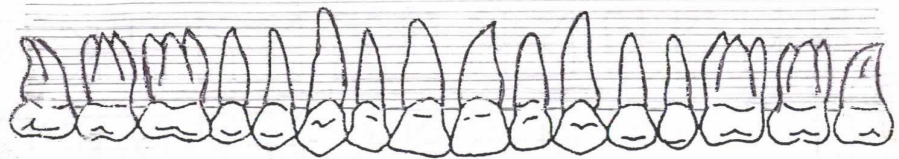
Pulso:.....Tensión Arterial:.....

Peso:.....Talla:.....

ANEXO II
Ficha Ad-Hoc N° 2 - Examen Estomatológico

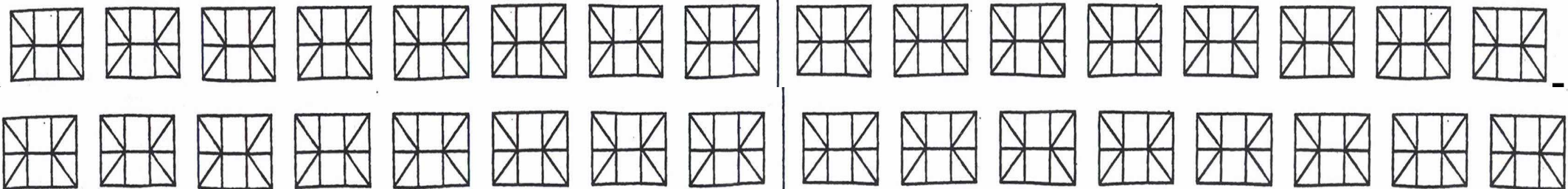
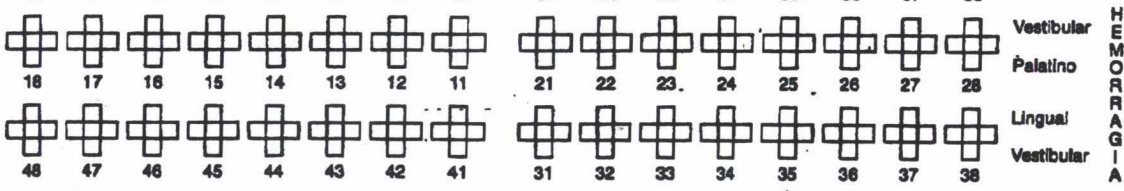
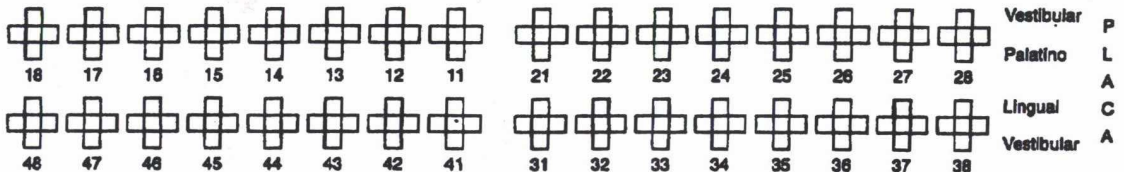


Observaciones.....
.....
.....



3.Examen Periodontal. HC N°:.....

Paciente:.....



BIBLIOGRAFÍA

1. Sigmund S, Socransky S, Haffajee A. *Ecología microbial periodontal*. Periodontology 2000, 2006; 12:135-187.
2. Slots J. *Oral viral infections of adults*. Periodontology 2000, 2009; 49: 60-86.
3. Bakaletz LO. *Viral potentiation of bacterial superinfection of the respiratory tract*. Trends Microbiol, 1995; 3:110-114.
4. Contreras A., Umeda M., Chen C., Bakker I., Morrison JL., Slots J. *Relationship between Herpesviruses and Adult Periodontitis and Periodontopathic Bacteria*. J. Periodontol 1999; 70:478-484.
5. Parra B. y Slots J. *Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction*. Oral Microbiol Inmumunol 1996; 5:289-293.
6. Nishihara T, Koseki T. *Origen microbiano de la periodontitis*. Periodontology 2000, 2005(ed. esp.); 11: 14-26 ISSN 0906-6713.
7. Bermejo A., Rodríguez E.A., et al., *Consenso de Papiloma Virus Humano (HPV) y Herpes Simplex Virus (HSV). Genital*, Sociedad Argentina de Dermatología; 30 de Sept 2004.
8. Bustos D.A., Pavan J.V., Carricart S.E., Talavera A.D., Secchi D., Carrica V., et al. *Detección del virus papiloma humano en lesiones cancerosas orales en la ciudad de Córdoba*. Fac. Cienc. Méd. de la U.N.C., 1999;56 (1): 65-71.
9. Socransky S.S., Haffajee D. *The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts*, J. Perodontol. 1992; 63: 322-331.
10. Kornman K.S., Page R.C., Tonetti M.S. *The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players*. Periodontol 2000, 1997; 14:33-53.
11. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg B.P. *Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections*. Science, 1999; 284:1318-1322.
12. Pollänen M.T., Salonen J.I., Uitto V.J. *Estructura y función de la interfaz diente-epitelio sanos y enfermos*, Periodontology 2000,2004(ed. esp.); 6:12-31.

13. Haffajee A.D., Socransky S.S. *Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases*. *Periodontology* 2000, 1994; 5:78-111.
14. Sigmund S., Socransky S.S., Haffajee A.D. *Periodontal microbial ecology*. *Periodontology* 2000, 2005; 38:135-187.
15. Holt S.C., Ebersole J.L. *Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola y Tannerella forsythia: el «complejo rojo», un prototipo de consorcio patógeno polibacteriano en la periodontitis*. *Periodontology* 2000, 2006(ed. esp.);12:72-122, ISSN 1695-1808.
16. Socransky S.S., Haffajee A. D, Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Jr. *Microbial complexes in subgingival plaque*. *J. Clin Periodontol*, 1998; 25 (2):34-144.
17. Aas J.A., Barbutto M., Alpagot T., Olsen I., Dewhirst F.E y Paster B.J. *Subgingival plaque microbiota in HIV positive patients*, 2009; 34:189-195.
18. Rotola A., Cassai E., Farina R., Caselli E., Gentili V., Lazzarotto T. y Trombelli L. *Human herpesvirus 7, Epstein–Barr virus and human cytomegalovirus in periodontal tissues of periodontally diseased and healthy subjects*, *J. Clin. Periodontol*. 2008; 35: 831–837.
19. Saygun I., Yapar M., Özdemir A., Kubar A. y Slots J. *Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus type 1 in periodontal abscesses*. *Oral Microbiol. Immunol.*, 2004; 19: 83–87.
20. Contreras M. y Slots J. *Herpesviruses in localized juvenile periodontitis*. *J. Periodont. Res*. 2000; 35:17-25.
21. Saygun I., Kubar A., Özdemir A., Yapar M. y Slots J. *Herpesviral–bacterial interrelationships in aggressive periodontitis*. *J. Periodont. Res.*, 2004; 39(2):81-86
22. Seymour Y., Taylor J., Gregory J. *Gritos y susurros: introducción a la inmunorregulación en la enfermedad periodontal*. *Periodontology* 2000 (ed. esp.), 2005; 10: 9, 13.
23. Lindhe J., Karring T., Lang N. P. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. Munksgaard, Copenhagen; ed Panamericana. 2000, Tercera ed ;p 24-34.
24. Squier C.A. *Keratinization of the sulcular epithelium a pointless pursuit*. *J. Periodontol*. 1981; 52: 426-429.

25. Schoeder H, Listgarten M. *The gingival tissues: the architecture of periodontal protection.*, Periodontol. 2000, 1997; 13: 91-120.
26. Overman D.O., Salonen J.L. *Characterization of the human junctional epithelial cells directly attached to the tooth in periodontal disease.* J. Dent. Res. 1994; 73: 1818-1823.
27. Marshall R.I. *Defensinas gingivales: conexión entre las respuestas inmunitarias innatas y de adaptación frente a la placa dental,* Periodontology 2000 (ed. esp.)2006; 10:14-20.
28. Segquier S., Godeau G., Brousse N. *Immunohistological and morphometric analysis of intra-epithelial lymphocytes and Langerhans cells in healthy and diseased human gingival tissues,* Arch. Oral Biol. 2000; 45: 441-452.
29. Cutler C.W., Jotwani R. *Presentación del antígeno y la función de las células dendríticas en la periodontitis.* Periodontology 2000 (ed. esp.) 2005; 10: 135-157.
30. Pöllänen Mt., Salonen Ji., Uitto V.J. *Estructura y función de la interfaz diente-epitelio sanos y enfermos.* Periodontology 2000, (ed. esp.) 2004; 6: 12-31.
31. Page R.C., Offenbacher S., Schroeder H.E., Seymour G.J., Korman K.S. *Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications an future directions.* Periodontol. 2000, 1997: 14: 216-248.
32. Dixon D., Bainbridge B., Darveau R. *Modulación de la respuesta inmunitaria innata en el periodonto.* Periodontology 2000 (ed. esp.) 2005; 10: 21-41.
33. Dale B., *Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease.* Periodontol. 2000, 2002; 30: 70-78.
34. Gemmell E., Seymour G.J. *Control inmunoregulador de los perfiles funcionales de las citoquinas Tc1/Tc2 en la Enfermedad Periodontal.* Periodontology 2000 (ed. esp.), 2005; 10: 21-41.
35. Taylor J.J., Preshaw P.M., Donaldson P.T. *Polimorfismos e inmunorregulación genética de las citoquinas en la enfermedad periodontal.* Periodontology 2000 (ed. esp.) 2005; 10: 158-182.
36. Offenbacher S., Beck J.D. *Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis.* Periodontology 2000,1997; 14:173-201.

37. Nunn M.E. *Interpretación de la etiología de la periodontitis: resumen de los factores de riesgo periodontales*. Periodontology 2000, (ed. esp.) 2004; 7:11-23.
38. Wiebe C.B., Larjava H.S. *Abnormal deposition of type VII collagen in Kildler síndrome*. Arch. Dermatol. Res. 1999; 251:6-13.
39. Overman D.O., Salonen J.I. *Characterization of human junctional epithelial cells directly attached to the tooth in periodontal disease*. J. Dent Res 1994: 1818-1823.
40. Vila Estapé J., Pumarola Suñe J. y Pumarola Suñe T. *Virus de interés oral-Papilomavirus humano*. Tratado de Odontología Prof. Bascones Martínez A., 1998; cap.10:651-652.
41. Rivera-Hidalgo F., Stanford T.W. *Oral mucosal lesions caused by infective microorganisms. Viruses and bacteria*. Periodontology 2000, 1999; 21:106-124.
42. Vossen M.T., Westerhout E.M., Soderberg-Naucler C., Wiertz E.J. *Viral immune evasion: a masterpiece of evolution*. Immunogenetics 2002; 54:527-542.
43. Abramsson J.S. *Virus-induced neutrophil dysfunction: role in the pathogenesis of bacterial infections*. Pediatr. Infect. Dis. J., 1994; 13:643-652.
44. Gonzales Moles M.A., Archilla A.R., Gonzales Moles S. *“Lesiones precancerosas de la Mucosa Oral. Concepto, clasificación epidemiología y etiología. Pre-cáncer y cáncer oral”*, Ediciones Avances Médico-Dentales, SL, Terna 2001; 1:15-21.
45. Pavan J.V., Coranti M., Sileoni S. *Virus Oncógenos Humanos, Nuevos Aportes*. Rev de la Fac de Ciencias Médicas, 1995; 53:37-44. ISSN 0014-6722.
46. Bernard Hu, Chan S.Y., Manos M.M. et al. *Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms*. J. Inf. Dis., 1994; 170:177-1085.
47. Parra B., Slots J. *Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction*. Oral Microbiol. Immunol., 1996; 5:289-293.

48. Syrjanen S., Puranen M. *Human papillomavirus infections in children: the potential role of maternal transmission*. Crit. Rev. Oral Biol. Med., 2000; 11(2):259-74.
49. Robert A.P., Mullaney P. *Genetic basis of horizontal gene transfer among oral bacteria*. Periodontology 2000, 2006; 42:36-46.
50. Contreras A., Slots J. *Herpesviruses in human periodontal disease*. J. Periodontal Res., 2000; 35: 3-16.
51. Contreras A. Mardirossian A., Slots J. *Herpesviruses in HIV-periodontitis*. J. Clin. Periodontol, 2001; 28: 96-102.
52. Contreras A., Falkler W.A. Jr., Enwown C.O., Idigbe E.O., Savahe K.O., Afolabi M.B., Onwujekwe D., Rams T.E., Slots J. *Human Herpesviridae in acute necrotizing ulcerative gingivitis in children in Nigeria*. Oral Microbiol. Immunol, 1997; 12:259-265.
53. Ling L.J., Ho C.C., Wu C.Y., Chen Y.T., Hung S.L. *Association between human herpesviruses and the severity of periodontitis*. J. Periodontol. 2004; 75:1479-1485.
54. Idesawa M., Sugano N., Ikeda K., Oshikawa M., Takane M., Seki K., Ito K. *Detection of Epstein-Barr virus in saliva by real-time PCR*. Oral Microbiol. Immunol, 2004; 19:230-232.
55. Santangelo R., D'Ercole S., Graffeo R., Marchetti S., Deli G., Nacci A., Piccolomini R., Cattani P., Fadda G. *Bacterial and viral DNA in periodontal disease: a study using multiplex PCR*. New Microbiol., 2004; 27:133-137.
56. Cassai E., Galvan M., Trombelli L., Rotola A. *HHV-6, HHV-7, HHV-8 in gingival biopsies from chronic adult periodontitis patients. A case-control study*. J Clin Periodontol, 2003; 30:184-191.
57. Kamma J.J., Contrera A., Slots J. *Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis*. J Clin Periodotol, 2001; 28:879-885.
58. Kamma J.J., Slots J. *Herpesviral-bacterial interactions in aggressive periodontitis*. J Clin Periodontol, 2003; 30:420-426.
59. Kubar A., Saygun I., Yapar M., Özdemir A., Slots J. *Real-time PCR quantification of cytomegalovirus in aggressive periodontitis lesions using TaqMan technology*. J. Periodontal Res., 2004; 39:81-86.

60. Yapar M., Saygun I., Özdemir A., Kubar A., Sahin S. *Prevalence of human herpesviruses in patients with aggressive periodontitis*. J. Periodontol., 2003; 74:1634-1640.
61. Kubar A., Saygun I., Özdemir A., Yapar M., Slots J. *Real-time PCR quantification of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in periodontal pockets and the adjacent gingival of periodontitis lesions*. J. Periodontal Res., 2005; 40:97-104.
62. Michalowicz B.S., Ronderos M., Camara-Silva R., Contrera A., Slots J. *Human herpesviruses and Porphyromonas gingivalis are associated with early-onset periodontitis*. J. Periodontol., 2000; 71:981-988.
63. Meng H.X., Zheng L.F. *T cells and T-cell subsets in periodontal diseases*. J. Periodontal Res., 1989; 24:121-126.
64. Burghilea B., Serb H. *Ultrastructural evidence of a Papova-tipe viral morphogenesis phenomenon in infiltrating cells from juvenile periodontal lesions. A case report*. Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol. 1990; 49:253-267.
65. Murayama Y., Kurihara H., Nagai A., Dompkowski D., Van Dyke T.E. *Acute necrotizing ulcerative gingivitis: risk factors involving host defense mechanisms*. Periodontol. 2000, 1994; 6:116-124.
66. Fons M.P., Flaitz C.M., Moore B., Prabhakar B.S., Nichols C.M., Albrecht T. *Multiple herpesviruses in saliva of HIV-infected individuals*. J. Am. Dent. Assoc., 1994; 125:713-719.
67. Itin P.H., Lautenschlager S. *Viral lesions of the mouth in HIV-infected patients*. Dermatology, 1997; 194:1-7.
68. Flaitz C.M., Nichols C.M., Hicks M.J. *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.
69. Syrjänen S., Leimola-Virtanen R., Schmidt-Westhausen A., Reichart P.A. *Oral ulcers in AIDS patients frequently associated with cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV)*. J. Oral Pathol. Med., 1999; 28:204-209.
70. Sabeti M., Simon J.H., Nowzari H., Slots J. *Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus active infection in periapical lesions of teeth with intact crowns*. J. Endod., 2003; 29:321-323.

71. Slots J., Sabeti H., Simon J.H. *Herpesviruses in periapical pathosis: an etiopathogenic relationship*. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod, 2003; 96:327-331.
72. Sabeti M., Simon J.H., Slots J. *Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus are associated with symptomatic periapical pathosis*. Oral Microbiol. Immunol. 2003; 18:327-328.
73. Slots J., Nowzari H., Sabeti M. *Cytomegalovirus infection in symptomatic periapical pathosis*. Int. Endod. J., 2004; 37:519-524.
74. Ogradi J., Sallay K., Kircsar G. *The decreased antibacterial activity of oral polymorphonuclear leukocytes coincides with the occurrence of virus-carrying oral lymphocytes and epithelial cells*. Folia Microbiol. (Praha), 1987; 32:438-447.
75. Smith Mac Donald E., Nowzari H., Contreras A., Fynn J., Morrison J.L., Slots J. *Clinical and microbiological evaluation of a bioabsorbable and a nonresorbable barrier membrane in the treatment of periodontal intraosseous lesions*. J. Periodontol., 1998; 69:445-453.
76. Contreras A., Umeda M., Chen C., Bakker I., Morrison J.L., Slots J. *Relationship between herpesviruses adult periodontitis and periodontopathic bacteria*. J. Periodontol., 1999; 70:478-484.
77. Saygun I., Kubar A., Ozdemir A., Yapar M. y Slots J., “*Herpes viral-bacterial interrelationships in aggressive periodontitis*”, J. Periodontal Res., 2004, 39:207-212.
78. Slots J., Kamma J.J., Sugar C. *The herpesvirus-*Porphyromonas gingivalis* axis*. J. Periodontal Res., 2003; 38:318-323.
79. Ting M., Contreras A., Slots J. *Herpesviruses in localized juvenile periodontitis*. J. Periodontal Res., 2000; 35:17-25.
80. Sester M., Sester U., Gärtner B.C., Girndt M., Meyerhans A., Köhler H. *Dominance of virus-specific CD8 T cells in human primary cytomegalovirus infection*. J. Am. Soc. Nephrol, 2002; 13:2577-2584.
81. Kinane D.F., Johnston F.A., Evans C.W., *Depressed herpes-to-suppressor T cell ratios in early-onset forms of periodontal disease*. J. Periodontal Res., 1989; 24:161-164.
82. Mathur A., Michalowicz B.S. *Cell-mediated immune system regulation in periodontal diseases*. Crit. Rev. Oral Virol. Med. 1997:76-89.

83. Petit M.D.A., Hovenkamp E., Hamann D., Roos M.T.L., Man Der Velden U., Miedema F., Loos B.G. *Phenotypical and functional analysis of T cells in periodontitis*. J. Periodontal Res., 2001; 36:214-220.
84. Mogensen T.H., Paludan S.R. *Molecular pathways in virus-induced cytokine production*. Microbiol. Biol. Rev., 2001; 65:131-150.
85. Wara-Aswapati N., Boch J.A., Auron P.E. *Activation of interleukin β gene transcription by human cytomegalovirus. Molecular mechanisms and relevance to peiodontitis*. Oral Microbio. Immunol, 2003; 18:67-71.
86. Teughels W., Vanranst M., Pauwels M., Dierickx K., Van Steenberghe D., Van Eldere J., Quirynen M. *Effects of human cytomegalovirus infection on epithelial adhesion by periodontopathogens*, Paneuropean IADR, 2002.28
87. Rees T.D. *A profile of the patient with periodontal disease*. Periodontol 2000, 2003; 32:9-10.
88. Kawashima N., Stashenko P. *Expression of bone-resorptive and regulatory cytokines in murine periapical inflammation*. Arch Oral Biol., 1999; 44:55-56.
89. Lader C.S., Flanagan A.M. *Prostaglandin E2, interleukin alpha and tumor necrosis factor-alpha increase human osteoclast formation and bone resortion in vitro.*, Endocrinology, 1998; 138:3157-3164.
90. Bustos D.A., Grenon M.S., Benitez M., de Boccardo G., Pavan J.V., Gendelman H. *Human papillomavirus infection in cyclosporin-induced gingival overgrowth in renal allograft recipients*. J. Periodontol., 2001; 72:741-744.
91. Fettig A., Pogrel M.A., Silverman S. Jr., Bramanti T.E., D. Costa M., Regezi J.Á. *Proliferative verrucous leukoplakia of the gingival*. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod, 2000; 90:723-730.
92. Madinier I., Doglio A., Cagnon L., Lefibre J.C., Monteil R.A. *Southern blot detection of human papillomaviruses (HPVs) DNA sequences in gingival tissues*. J. Periodontol, 1992; 63:667-673.
93. Maticic 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.

94. Maticic M., Poljak M., Kramar B., Tomazic J., Zakotnik B., Skaleric U. *Proviral HIV-1 DNA gingival crevicular fluido f HIV-1-infected patients in various stages of HIV disease.* J. Dent. Res., 2000; 79:1496-1501.
95. Parra B., Slots J. *Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction.* Oral Microbiol. Immunol, 1996; 11:289-293.
96. Rotundo R., Maggi F., Nieri M., Muzzi L., Bendinelli M., Pini Prato G.P. *The virus infection of periodontal tissues: a controlled clinical and laboratory pilot study.* J. Periodontol., 2004; 75:1216-1220.
97. Syrjänen S.M., Syrjänen K.J., Happonen R.P. *Human papillomavirus (HPV) DNA sequences in oral precancerous lesions and squamous cell carcinoma demonstrated by in situ hybridization.* J. Oral Pathol, 1988; 17:273-278.
98. Hormia M., Willberg J., Ruokonen H., Syrjanen S. *Marginal Periodontium as a Potencial Reservoir of human papillomavirus in Oral Mucosa.* J. Periodontol. 2005; 76:358-363.
99. Knipe D.M., Howley P.M., editors. *Fields Virology*, 5th. ed., Philadelphia: Lippincott, Williams & Wikins, 2007: 2299-2354.
100. Fuju Chang F., Syrjänen S., Kellokoski J., Syrjänen K. *Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease.* J. Oral Pathol. Medicine, 1991; 20(7):305-317.
101. Mc Murray H.R., Nguyen D., Westbrook T.F. y Mcance D.J., *“Biology of human papillomaviruses”*, J. Exp. Path., 2001, 82:15-23.
102. Howley P.M. y Lowy D.R., *Papillomaviruses*, in Knipe D.M., Howley P.M., ed, *Fields Virology*, 5th ed., Philadelphia: Lippincott, Williams & Wikins, 2007, 2299-2354.
103. Sociedad Argentina de Dermatologia, *Consenso de Papiloma Virus Humano (HPV) y Herpes Simplex Virus (HSV), Genital, Septiembre 2004.*
104. De Sanjosé S., Diaz M., Castellsague X. *Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis.*, Lancet Infect. Dis., 2007; 7:453-59.

105. Syrjänen S.M. *Human papillomavirus infections in the oral cavity.* Syrjänen S.M., Gissmann L. Koss L.G., eds., Papillomaviruses and human disease, New York, Springer Verlag, 1987: 104-37.
106. Mancuso S., Marcante M.L. *Concurrent HPV infection in oral and genital mucosa.* J. Oral Pathol. Med., 1998; 27(3):130-134.
107. Miller G.S., Johnstone B.M. *Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis.* 1982-1997. Oral Surg. Oral Méd. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod, 2001; 91:622-35.
108. Syrjänen S. *Hpv infections and tonsillar carcinoma.* J. Clin. Pathol, 2004; 57:449-455.
109. Syrjänen S. *Human Papillomavirus in head and neck cancer.* N Engl J Med 2007;357(3):313.
110. Walboomers J.M., Jacobs M.V., Manos M.M., Bosch F.X. *Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide.* J. Pathol., 1999; 198:12-19.
111. De Palo G, Stefanin B., Pilotti S. *Colposcopia y patología del tracto genital inferior.* Argentina; ed Panamericana 1992; 146-1154.
112. Rosato O.A., *Indicadores de H.P.V. en Patología Cervical humana en la Gestante.* tesis Doctoral, 1995, 1-82.
113. Hebner CM, Laimonis A. *Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity.* Reviews in Medical Virology 2006; (16):83-97
114. Terai M., Hashimoto K., Yoda K., Sata T. *High prevalence of human papillomaviruses in the normal oral cavity of adults.* Oral Microbiol and Immunol, 1999; (14): 201-205.
115. Syrjanen K. y Syrjanen S., “*Papillomavirus infections in Human Pathology*”, London, Wiley, 2000, 1-615.
116. Miller C.S., Johnstone B.M. *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; 91:622-35.
117. Madinier I., Doglio A., Cagnon L., Lefebvre J.C., Monteil R.A. *Southern blot detection of human papillomaviruses (HPVs) DNA sequences in gingival tissues.* J. Periodontol., 1992; 63:667-673.

118. Zeuss M.S., Miller C.S., White D.R. *Human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions*. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol, 1991; 71:71-720.
119. Pavan J.V., Bustos D., Carricart Talavera S.A., Panico R.L., Secchi D. et al. *Presencia del Virus Papiloma Humano en lesiones proliferativas de la mucosa oral*. Patol. Méjico, 1997; 35:299-304.
120. Giovannelli, Campisi G., Lama A., Giambalvo O., Osborn J., Margitta V., Ammatuna P., *Human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions*. J. Infect. Cis., 2002; 185:833-836.
121. Sand L., Larsson P.A., Hirsch J.M. *Human papilloma viruses in oral lesions*. Anticancer Res., 2000; 20:1183-1188.
122. González Moles M.A., Archilla A.R., González Moles S. *Lesiones precancerosas de la Mucosa Oral. Concepto, clasificación epidemiología y etiología. Pre-cáncer y cáncer oral.*, Ed Avances médico-dentales, SL, Tema 2001; 1: 15.
123. Millar C., White D. *Human Papillomavirus Expresión in oral mucosa, premalignant conditions and squamous cell carcinoma. A retrospective review of the literature*. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 1996; 82:57-68.
124. Bustos A., Pavan J.V., Carricart S.E., Talavera A.D., Secchi D., Carrica V., Panico R.L., Gendelman H. *Detección del Virus Papiloma Humano en lesiones cancerosas orales en la Ciudad de Córdoba*. Rev. Fac. Cienc. Med., Córdoba, 1999; 56(1):65-71.
125. Marketta Hormia, Jaana Willberg, Hellevi Ruokonen y Stina Syrjänen; *"Marginal Periodontium as a Potencial Reservoir of Human Papillomavirus in Oral Mucosa"*, J. Periodontol., 2005, 76:358-363.
126. Kellokoski J.K., Syrjanen S.M., Chang F., Yliskoski M., Syrjanen K.J. *Southern blot hybridization and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections*. J. Oral Pathol. Med, 1992; Nov., 21(10):459-64.
127. Panici P.B., Scambia G., Perrone L., Battaglia F., Cattani P., Rabitti C., Dettori G., Capelli A., Sedlis A., Mancuso S. *Oral condyloma lesions in patients with extensive genital human papillomavirus infection*. J. Obstet. Gynecol., 1992; Aug, 167(2):451-8.

128. Syrjanen S., Puranen M. *Human papillomavirus infections in children: the potential role of maternal transmission*. Crit. Rev. Oral Biol. Med., 2000; 11(2):259-74.
129. Pakarian F., Kaye J., Cason J., Kell B., Jewers R., Derias N.W., Raju K.S., Best J.M., *Cancer associated human papillomaviruses: perinatal transmission and persistence*. Br. J. Obstet. Gynaecol., 1994; Jun, 101(6):514-7.
130. Rintala M., Grenman S., Purnen M., Syrjänen S. *Natural history of oral papillomavirus infections in spouses: A prospective finish HPV Family Study*. J. Clinical Virol., 2006; 35:89-94.
131. Mant C, Kell B, Rice P, Best JM, Bible J, Cason J. *Buccal exposure to human papillomavirus type 16 is a common yet transitory event of childhood*. J Medical Virology, 2003; 71:593-598.
132. Saygun I., Kubar A., Özdemir A., Slots J. *Periodontitis lesions are a source of salivary cytomegalovirus an Epstein-Barr virus*. J. Periodontal Res., 2005; 40:187-191.
133. National Cancer Institute Workshop: *The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses*. JAMA, 1989; 262:931-934.
134. Grinspan D. *Enfermedades de la Boca, Semiología Patología y Terapeutica de la Mucosa Bucal*, Buenos Aires: Editorial Mundi tomo II, 1976; 959-983.
135. Lindhe J., Karring T., Lang N. P. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. Munksgaard, Copenhagen; ed Panamericana. 2000; Tercera ed ,p. 396.
136. Lindhe J., Karring T., Lang N. P. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. Munksgaard, Copenhagen; ed Panamericana. 2000; Tercera ed,p. 390.
137. Lindhe J., Karring T., Lang N. P. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. Munksgaard, Copenhagen; ed Panamericana. 2000; Tercera ed, p. 397.
138. International Workshop for Clasiffication of Periodontal Diseases and Contition. *Annal of Periodontology*, 1999, 4:32-38.
139. Bernard H.U., Chan S.H., Manos M.M. *Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by PCR amplification*,

- restriction fragment length polymorphism, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms.* J. Infect. Dis., 1994; 170:1077-85.
140. Gillison M.L., D'Souza G., Westra W., Sugar E., Xiao W., Begum S. y Visdidi R., *Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers.* J. Nat. Cancer Inst., 2008; 100:407-420.
 141. Hornia M., Sahlberg C., Thesleff I., Airene T. *The epithelium-tooth interface-a basal lamina rich in laminin-5 and lacking other known laminin isoforms.* J. Dent. Res., 1998; 77:1479-1485.
 142. Mullen L.M., Richards D.W., Quaranta V. *Evidence that laminin-5 is a component of the tooth surface internal basal lamina, supporting epithelial cell adhesion.* J. Periodontal Res., 1999; 34:1-24.
 143. Rossi do Sacramento P., Babeto E., Colombo J., Cabral Ruback M.J., Lopes Bonilha J., Maximino Fernandes A., Pereira Sobrinho J., Pereira de Souza F., Lina Villa L., Rahal P., *The prevalence of human papillomavirus in the oropharynx in healthy individuals in a Brazilian population.* J. Med. Virol., 2006; 78:614-618.
 144. Benitez Mónica B., Tesis Doctoral.2008; Resultados:85-122
 145. Contreras A., Slots J. *Mammalian viruses in human periodontitis.* Oral Microbiol. Immunol., 1996; 11:381-386.
 146. Robert A.P., Mullaney P. *Genetic basis of horizontal gene transfer among oral bacteria.* Periodontology 2000, 2006; 42:36-46.
 147. Mogens Kiliam, Frandsen E.V.G., Dorte Hawbek, Kmud Poulsen. *The etiology of periodontal disease revisited by population genetic analysis.* Periodontology 2000, 2006; 42:158-179.
 148. Stina Syrjänen, Jukka Saastamoinen, Fujun Chang, Hongxiu Ji, Kari Syrjänen. *Colposcopy, punch biopsy, in situ DNA hybridization, and the polymerase chain reaction in searching for genital human papillomavirus (HPV) infections in women with normal PAP smears.* J of Med Virol, 1990; (31):259-266.
 149. Nanda K. *Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review.* Ann. Intern. Med., 2000; 132(10):810-819.
 150. Eindler B., Crum C. P., Fujii T., Ferenczy A., Boon M., Braun L., Lancaster W., Richart R. *Koilocytotic lesions of the cervix. The*

- relationship of mitotic abnormalities to the presence of papillomavirus antigens and nuclear dna content. Cancer* 1984; 53:1081-1087.
151. Dunn AEG, Ogilvie MM. *Intranuclear virus particles in human genital wart tissues: observations on the ultrastructure of epidermal layer. J Ultrastruct Res* 1966; 22:282-95.
 152. Grinspan D. *Semiologia Patología, Clínica y Terapeutica de la Mucosa bucal Tomo III; 1970, 1699:1702*
 153. Papanicolaou GN: *Atlas of Exfoliative Cytology. Cambridge, Mass, Harvard University Press, 1954, 20:21.*
 154. Schiffman Mark H. y Brinton Louise A. *The epidemiology of cervical carcinogenesis., Cancer, 1995; 76:1888-901.*
 155. INDEC, Instituto Nacional de Estadísticas y Censos Argentina, 2002, available from <http://www.indec.gov.ar>.
 156. Guerra R.A. *Incremento de casos de cáncer de cuello de útero en el Hospital Rawson. 2007; Maestría en Salud Materno Infantil, Facultad de Ciencias Médicas, Secretaría de Graduados, UNC.*
 157. Morelato R.A., López de Blanc S.A. *Oral cancer mortality in the province of Cordoba, Argentine Republic, period 1975-2000. A comparative study with other populations. Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal, 2006; 11:E230-5.*
 158. PAHO, Panamerican Health Organization. available from: <http://www.publications.paho.org>
 159. Tachezy R., Klozar J., Rubenstein L., Smith E., Saláková M., Smahelová J., Ludvíková V., Rotnáglová E., Kodet R., Hamsíková E. *Demographic and risk factors in patients with head and neck tumors. J of Med Virol, 2009; (81):878-887*
 160. Smith E.M., Ritchie J.M., Summersgill K.F., Klussmann J.P., Lee J.H., Wang D., Haugen T.H., Turek L.P. *Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. Int J of Cancer, 2004; (108):766-772.*
 161. Rintala M., Grénman S., Puranen M., Syrjänen S. *Natural history of oral papillopmavirus infections in spouses: Aprospective Finnish HPV Family Study. J of Clin Virol, 2006; 35:89-94.*

162. Kellokoski J., Syrjänen S., Syrjänen K., Yliskoski M. *Oral mucosal changes in women with genital HPV infection.* J of Oral Pathol & Med, 1990 (19):142-148.
163. Summersgill, Klusmann J.P., Lee J.H., Wang D., Haugen T.H., Turek L.P. *Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers.*, Intern J of Cancer, 2004 (108), Issue 5: 766-772,
164. Hugoson A., Norderyd O. *Has the prevalence of periodontitis changed during the last 30 year?.* J of Clin Periodontol. 2008 (35):338-345, Journal compilation ©, Blackwell Munksgaard Ltd.
165. Albandar J M. *Periodontal diseases in North America.* Periodontology 2000, 2002; (29):31-69.
166. Tezal M. *HPV and Periodontitis Work Together to Raise Tongue Cancer Risk.* Reuters Health Information 2008; <http://www.medscape.com/viewarticle/572574>.
167. Syrjänen S. *HPV infection and tonsillar carcinoma.* J. Clin. Pathol, 2004; 57:449-55.
168. Rossi do Sacramento P., Babeto E., Colombo J., Cabral Ruback M.J., Lopes Bonilha J., Maximino Fernandes A., Pereira Sobrinho J., et al. *The prevalence of human papillomavirus in the oropharynx in healthy individuals in a Brazilian population.* J. of Med. Virol., 2006; (78):614–618.

ABREVIATURAS

ADN:	Ácido desoxirribonucleico
ARN:	Ácido ribonucleico
CIN:	Neoplasia cervical intra-epitelial
CMVH:	Citomegalovirus Humano
DAD:	Células Directamente adheridas al Diente
FG:	Fluido Gingival
GUN:	Gingivitis úlceronecrótizante
HUMN:	Hospital Universitario Materno Neonatal
HSV:	Virus Herpes Simple
HPV:	Virus Papiloma Humano
HVH:	Virus Herpes Humano
HR HPV:	Virus Papiloma Humano de Alto Riesgo
IL-1B:	Interleuquina 1 beta
IL-6:	Interleuquina 6
IL-10:	Interleuquina 10
INF- γ :	Interferon gamma
LTC:	Linfocitos T Cito-líticos
MMPs:	Metaloproteinasas de la matriz
NIC:	Nivel de Inserción Clínica
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PAP:	Papanicolau
PGE2:	Prostaglandina E2

PCR:	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PSC:	Profundidad de -sondaje
PMN:	Polimorfo Nucleares Neutrófilos
RFLP:	Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción
SIDA:	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
TGF- β :	Factores del Crecimiento Transformante beta
TIMPs:	Inhibidores Tisulares de la Metaloproteinasa
TNF- α :	Factor de Necrosis Tumoral alfa
VEB:	Virus de Epstein-Barr
VHS:	Virus Herpes Simple
VVZ:	Virus Varicela-Zoster