

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO

Dipartimento di Scienze Chirurgiche

Scuola di Medicina

Corso di Laurea Magistrale e Specialistica in ODONTOIATRIA e PROTESI DENTARIA



TESI DI LAUREA

“Valutazione della flora batterica sottogengivale in pazienti caucasici con gengivite desquamativa: studio caso-controllo”

“Microbiological plaque estimation in Caucasian patients with desquamative gingivitis: a case-control study”

Relatore: Chia.mo Prof. Paolo Giacomo Arduino

Candidato: Danilo Sasia

Anno accademico **2015 - 2016**

Vincitore Premio M. Calandriello

INDICE

| | |
|--|-----------|
| RIASSUNTO | 4 |
| INTRODUZIONE | 6 |
| PARTE PRIMA | 7 |
| <i>1.A CENNI DI ANATOMIA PARODONTALE</i> | 7 |
| <i>1.B LA MALATTIA GENGIVALE</i> | 16 |
| - Classificazione | 16 |
| - Gengiva clinicamente sana | 18 |
| - Gengivite placca dipendente | 20 |
| - Diagnosi e trattamento | 22 |
| - Conclusione | 24 |
| <i>1.C LA MALATTIA GENGIVALE NON INDOTTA DA PLACCA E TARTARO</i> | 25 |
| - Gengivite desquamativa | 25 |
| - Epidemiologia | 29 |
| - Diagnosi differenziale | 30 |
| - Progressione delle lesioni e implicazioni sistemiche | 31 |
| - Trattamento | 32 |
| - Conclusioni | 33 |
| <i>CENNI DI MICROBIOLOGIA</i> | 33 |
| PARTE SECONDA | 36 |
| <i>MATERIALI E METODI</i> | 36 |
| - Reclutamento | 36 |
| - Protocollo operativo | 37 |
| Fase clinica | 37 |
| Fase di laboratorio | 40 |
| Fase di organizzazione dei dati | 42 |
| Analisi statistica | 42 |
| Risultati e tabelle | 43 |
| PARTE TERZA | 48 |
| <i>DISCUSSIONE</i> | 48 |
| <i>CONCLUSIONI</i> | 52 |
| BIBLIOGRAFIA | 53 |
| APPENDICE | 57 |
| RINRAZIAMENTI | 70 |

RIASSUNTO

Gengivite desquamativa (DG) è un'espressione che fa riferimento ad un particolare tipo di quadro clinico, in cui si osserva la presenza di aree gengivali più o meno estese con eritema, infiammazione intensa, desquamazione epiteliale, atrofia, ulcerazioni e lesioni vescicolo-bollose. Essa ricorre più frequentemente nel sesso femminile e si verifica prevalentemente dopo i 30 anni. È clinicamente rilevante perché non solo può condizionare la salute orale ma anche e soprattutto essere l'anticipazione o talvolta l'unica manifestazione di una malattia sistemica già in atto. Nello specifico, nonostante sia elevato il numero di patologie che possono associarsi a gengivite desquamativa, le due più frequenti sono rappresentate dal Lichen Planus Orale (OLP) e dal Pemfigoide delle Membrane Mucose (MMP). La DG interessa principalmente la gengiva vestibolare nella sua porzione marginale anche se, in alcuni casi, può coinvolgere l'intero spessore della gengiva aderente, sia nell'arcata superiore che in quella inferiore. Si tratta di una malattia cronica caratterizzata da periodi di remissione ed esacerbazione, motivo per cui i pazienti che la presentano, possono essere asintomatici per lunghi periodi di tempo oppure lamentare una sintomatologia prolungata in cui dominano bruciore e dolore intensi.

Lo scopo di questo studio, tra i primi in letteratura in questa direzione, è descrivere la prevalenza di undici specie batteriche parodontopatogene nella DG e confrontare i risultati ottenuti con quelli invece connessi alla gengivite indotta da placca (GI).

Si sono quindi considerati individui afferenti, nel periodo di tempo compreso tra il 2012 e il 2016, ai Reparti di Parodontologia e Patologia e Oncologia Orale della Dental School di Torino. La popolazione è stata suddivisa in due gruppi, uno caso e uno controllo, ciascuno formato da 33 pazienti di origine caucasica e residenti in Piemonte. Per ogni gruppo sono poi stati fissati specifici criteri di inclusione ed esclusione, indispensabili per valutare l'idoneità o meno all'inserimento del soggetto all'interno del lavoro di ricerca. Il gruppo caso ha riguardato 19 pazienti affetti da OLP e i restanti 14 da MMP, sempre comunque in presenza di DG, mentre il gruppo controllo era composto da individui solamente con GI.

Il protocollo operativo di cui ci si è avvalsi ha previsto il susseguirsi di tre fasi principali: la prima di approccio clinico sul paziente al fine di valutare i parametri parodontali e raccogliere, nei siti opportunamente selezionati, i campioni del biofilm sottogengivale; la seconda di analisi in laboratorio del materiale biologico prelevato e la terza di organizzazione dei dati acquisiti nei passaggi precedenti.

L'analisi dei campioni è stata eseguita presso la Divisione di Microbiologia e Virologia dell'ospedale Molinette di Torino, ed è stato usato il test genetico molecolare *Micro-*

IDent®plus11. Esso si basa sulla tecnologia “DNA strip” e permette, dopo l'estrazione e l'amplificazione del DNA a partire dai campioni raccolti e la successiva reazione di ibridazione inversa, di poter identificare in modo combinato i seguenti batteri parodontopatogeni: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens* e *Capnocytophaga spp.*

Non sono state rilevate differenze degne di nota tra la microflora degli individui del gruppo caso con OLP e quelli con MMP. Nonostante ciò, i risultati evidenziano come *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum* e *E. corrodens*, abbiano una frequenza di riscontro e dei livelli di presenza che sono statisticamente più alti nei pazienti con DG rispetto a quelli con GI. Tuttavia, analizzando i dati con i modelli di regressione logistica multivariata e in seguito ad aggiustamento degli ORs per età, BMI, FMPS, FMBS e numero di denti mancanti, si è visto che la colonizzazione sottogengivale di *A. actinomycetemcomitans* e *F. nucleatum* non era più associata in modo statisticamente significativo al rischio di avere DG. Questo a differenza di quanto constatato per *Eikenella corrodens* che, se presente in abbondanti quantità a livello sottogengivale, aumenta di ben 15 volte il rischio di avere manifestazioni di DG. Inoltre, di recente si è osservato un suo coinvolgimento nei processi di degradazione delle componenti della matrice extracellulare in seguito a stimolazione dei fibroblasti a produrre enzimi come le gelatinasi. Tali considerazioni sono piuttosto importanti, dal momento che suggeriscono come i patogeni parodontali possano avere un ruolo chiave nell'eziopatogenesi della DG e nel progressivo peggioramento, in questi pazienti, dello stato di salute parodontale. Non c'è evidenza scientifica, comunque, che la DG possa essa stessa portare a perdita di attacco e distruzione di osso alveolare. Motivo per cui le peggiori condizioni parodontali rilevabili in tali soggetti e documentate in letteratura, sembrano piuttosto essere dovute ad una peggiore igiene orale, le cui manovre risultano spesso difficoltose a causa della frequente sintomatologia associata alle loro caratteristiche manifestazioni gengivali.

Le conclusioni a cui si è giunti sottolineano quindi l'importanza di promuovere l'igiene orale non solo domiciliare ma anche e soprattutto professionale, in modo tale che le sedute ad essa dedicate si ripetano più frequentemente e siano seguite con maggiore rigore dai pazienti con DG rispetto a quelli con GI. Ulteriori studi volti in questa direzione e con numerosità più elevate di pazienti partecipanti, potranno certamente portare ad informazioni sempre più precise circa le dinamiche con cui, manifestazioni orali e disordini autoimmuni sistemici, possano vicendevolmente influenzarsi.

INTRODUZIONE

La presente tesi si propone di indagare le possibili differenze, per quanto riguarda la flora batterica sottogengivale, tra due gruppi di pazienti caucasici: il primo costituito da 33 soggetti con gengivite desquamativa e diagnosi di Lichen Planus Orale o Pemfigoide delle Membrane Mucose, e il secondo formato da altrettanti individui con gengivite indotta da placca e non affetti da disordini mucocutanei di alcun tipo.

Lo studio è stato possibile grazie alla collaborazione tra specialisti dei reparti di Parodontologia e di Patologia e Oncologia Orale della Dental School di Torino che, attraverso la pianificazione e la validazione di un protocollo iniziale, hanno posto le basi per la raccolta di una serie di parametri concernenti lo stato parodontale dei soggetti in esame. Tutto ciò al fine di analizzare, mediante la metodica di laboratorio PCR e a partire dai campioni raccolti, il profilo microbiologico degli stessi, dal momento che fino ad oggi, in letteratura, sono estremamente rari studi orientati in questa direzione.

PARTE PRIMA

1.A CENNI DI ANATOMIA PARODONTALE

Parodonto.

Con il termine parodonto (o periodonto, da *peri* = intorno, *odontos* = dente) si comprendono i seguenti tessuti: la gengiva (G), il legamento parodontale (PL), il cemento radicolare (RC) e l'osso alveolare. Quest'ultimo a sua volta è formato dall'osso alveolare proprio (ABP), che costituisce la sottile lamina ossea che riveste l'alveolo del dente, e dal processo alveolare (AP) (Figura 1).

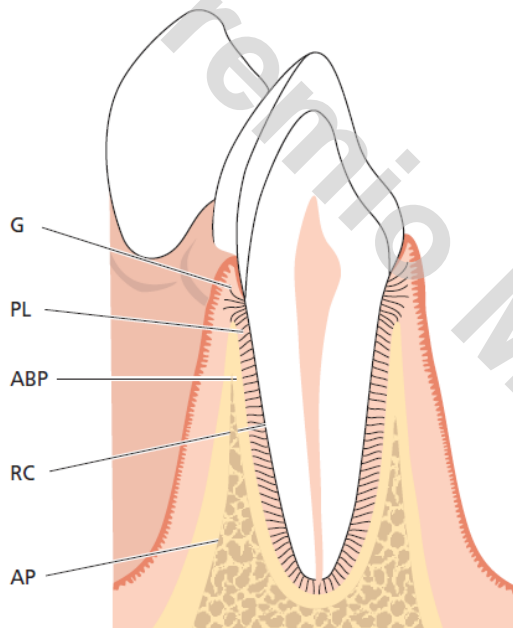


Figura 1. Il parodonto e i tessuti di cui è costituito. J. Lindhe, N.P. Lang, T. Karring: Parodontologia Clinica e Implantologia Orale. Volume I: pag 3. Quinta edizione: Edi-Ermes 2010.

La funzione principale del parodonto è mantenere l'elemento dentario fortemente vincolato al tessuto osseo dei mascellari e conservare l'integrità della mucosa masticatoria della cavità orale. Tale apparato di supporto forma un'unità funzionale, biologica e di sviluppo che va incontro a determinati cambiamenti con l'età ed è soggetta ad alterazioni morfologiche dovute a modificazioni funzionali e dell'ambiente orale.

Osso alveolare.

L'osso alveolare è quella porzione dell'osso mascellare e della mandibola che costituisce e sostiene gli alveoli dentari, e si sviluppa in concomitanza con la formazione e l'eruzione dei denti. Come accennato in precedenza, le pareti degli alveoli sono rivestite da osso compatto

mentre l'area tra gli alveoli e tra le pareti di osso compatto è occupata da osso spugnoso. Entrambi sono in continuo rimodellamento, in risposta agli spostamenti dei denti e ai cambiamenti funzionali delle forze che agiscono su di essi.

L'osso spugnoso occupa la maggior parte dei setti interdentali ma solo una porzione relativamente piccola delle superfici ossee vestibolari e palatali. Esso contiene trabecole ossee la cui architettura e la cui grandezza sono determinate soprattutto geneticamente, nonostante ci sia, anche in questo senso, un'influenza delle forze a cui i denti sono sottoposti durante la loro funzione.

L'osso compatto o osso alveolare proprio, che nelle radiografie appare come una lamina dura, è perforato da numerosi canali di Volkmann attraverso i quali i vasi sanguigni e linfatici, nonché le fibre nervose, passano dall'osso alveolare al legamento parodontale. Su di esso si inseriscono poi porzioni di fibre collagene del legamento parodontale che prendono il nome di fibre di Sharpey.

Cemento radicolare.

Il cemento è un tessuto calcificato specializzato che ricopre le superfici delle radici dei denti e, occasionalmente, piccole porzioni della corona. Ha molte caratteristiche in comune con il tessuto osseo, ma non contiene vasi sanguigni o linfatici, non è innervato, non va incontro al riassorbimento fisiologico e al rimodellamento ma è caratterizzato da una continua deposizione nel corso della vita. Come altri tessuti mineralizzati, è costituito da fibre collagene contenute in una matrice organica. Il suo contenuto minerale, principalmente idrossiapatite, corrisponde a circa il 65% del peso, poco più di quello dell'osso dove era pari al 60%. Il cemento fissa le fibre del legamento parodontale alla radice, contribuisce ai processi di riparazione successivi ad un danno della superficie radicolare e può essere suddiviso in:

1. cemento acellulare a fibre estrinseche: si trova nella porzione coronale e intermedia della radice, contiene principalmente fasci di fibre di Sharpey, connette il dente all'osso alveolare proprio ed è il cemento più mineralizzato;
2. cemento cellulare a stratificazione mista: si rileva nel terzo apicale delle radici e nelle forcazioni, e contiene fibre intrinseche, estrinseche e cementociti;
3. cemento cellulare a fibre intrinseche: si riscontra soprattutto nelle lacune di riassorbimento e contiene fibre intrinseche e cementociti.

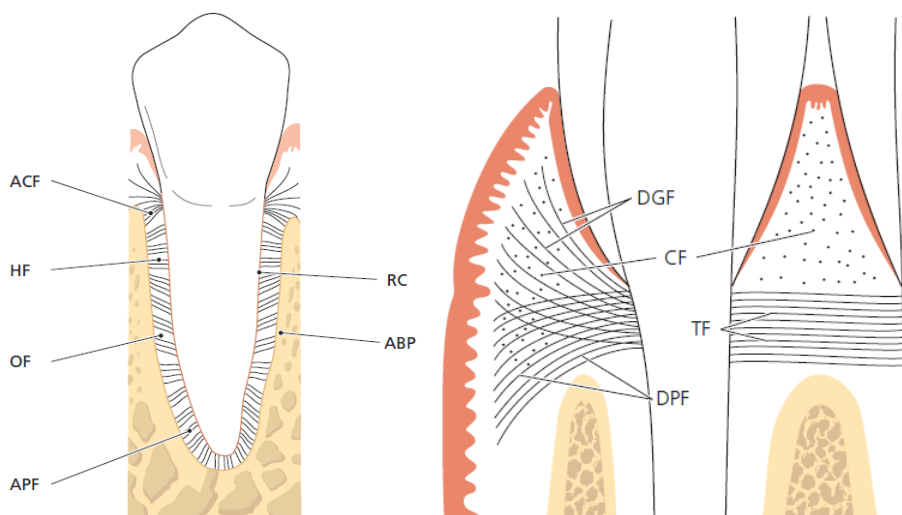
I vari tipi di cemento sono prodotti dalle cellule del legamento parodontale che ne rivestono la superficie e dai cementoblasti. Questi, nel momento in cui rimangono incorporati nel cemento, prendono il nome di cementociti e divengono fondamentali per il trasporto dei

nutrienti e dunque il mantenimento della vitalità di tale tessuto mineralizzato. Occorre poi specificare che le porzioni di fibre principali del legamento parodontale contenute nel cemento radicolare e nell'osso alveolare proprio sono definite fibre di Sharpey e formano il sistema di fibre estrinseche che dal lato del dente si attaccano alla dentina periferica. Il sistema di fibre intrinseche, invece, è prodotto dai cementoblasti ed è composto da fibre orientate più o meno parallelamente all'asse lungo del dente. Infine, l'ampiezza del cemento aumenta considerevolmente procedendo dal colletto verso l'apice radicolare, passando rispettivamente da 20-50 μm a 150-250 μm .

Legamento parodontale.

Il legamento parodontale è il tessuto connettivo molle, cellulare e riccamente vascolarizzato che circonda le radici dei denti e congiunge il cemento radicolare con la parete dell'alveolo e che in direzione coronale prosegue nella lamina propria della gengiva. Lo spazio del legamento parodontale ha la forma di una clessidra, con la parte più stretta situata circa a metà radice. La sua ampiezza è compresa nell'intervallo tra 0,2-0,4 mm. Il legamento parodontale permette la distribuzione e il riassorbimento, da parte del processo alveolare e nello specifico attraverso l'osso alveolare proprio, delle forze che si sviluppano durante la funzione masticatoria e gli altri contatti tra i denti. La mobilità di un elemento dentario è in larga misura determinata dall'ampiezza, dall'altezza e dalla qualità del legamento stesso.

Il dente risulta quindi unito all'osso mediante fasci di fibre collagene che, in relazione alla loro organizzazione, possono essere distinti in quattro gruppi principali (*Figura 2*): fibre della cresta alveolare (ACF); fibre orizzontali (HF); fibre oblique (OF); fibre apicali (APF). Coronalmente alla cresta alveolare, invece, si ha modo di osservare fasci di fibre collagene che penetrano nella gengiva e suddivisibili in alcune categorie (*Figura 3*): fibre circolari (CF); fibre dentogengivali (DGF); fibre dentoperiostali (DPF) e fibre transettali (TF). Queste ultime sono essenziali per il mantenimento dell'integrità dell'attacco dentogengivale.



Da sinistra: *Figura 2 e 3.* Fibre di connessione tra dente e strutture vicine. J. Lindhe, N.P. Lang, T. Karring: *Parodontologia Clinica e Implantologia Orale.* Volume I: pag 28 e 23. Quinta edizione: Edi-Ermes 2010.

L'orientamento dei fasci di fibre collagene varia continuamente durante la fase di eruzione del dente. Solo quando esso ha raggiunto il contatto in occlusione ed è realmente funzionante, le fibre del legamento parodontale si associano in gruppi di fibre collagene dentoalveolari ben orientate, che andranno incontro ad un rimodellamento costante.

Le fibre proprie del legamento parodontale sono definite principali e si sviluppano contemporaneamente all'eruzione dell'elemento dentario, andando poi ad organizzarsi in fasci che decorrono con continuità dall'osso al cemento, solo con l'inizio della funzione e dei contatti occlusali del dente. Il legamento parodontale contiene anche delle fibre ossitalaniche con decorso prevalentemente parallelo all'asse lungo del dente, e alcune fibre elastiche associate ai vasi sanguigni. La sua popolazione cellulare è invece rappresentata da fibroblasti, cementoblasti, osteoblasti, osteoclasti, cellule epiteliali e fibre nervose.

Mucosa orale, tessuto gengivale e strutture di adesione.

La mucosa orale non ha soluzione di continuità con la cute delle labbra e con le mucose del palato molle e della faringe. In essa si distinguono la mucosa masticatoria, comprendente la gengiva ed il rivestimento del palato duro, la mucosa specializzata, che copre il dorso della lingua, e infine la mucosa di rivestimento, che è a livello delle altre aree della cavità orale.

La gengiva è dunque quella parte di mucosa masticatoria che riveste il processo alveolare e circonda il colletto dei denti. È costituita da uno strato epiteliale e uno strato sottostante di tessuto connettivo definito lamina propria, e raggiunge la sua forma e la sua organizzazione definitive in concomitanza con l'eruzione dei denti. In direzione coronale, appare normalmente di colore rosa corallo e termina con il profilo festonato del margine gengivale libero. In direzione apicale, invece, la gengiva continua con la mucosa alveolare di rivestimento, decisamente bassa rispetto al piano osseo sottostante, di colore rosso più scuro e il cui inizio è generalmente ben riconoscibile mediante una linea di confine definita giunzione o linea muco gengivale, non presente a livello palatino, dove si riscontra la sola mucosa masticatoria. La gengiva si può ulteriormente differenziare in gengiva libera (FG) e gengiva aderente (AG).

La gengiva libera è di colore rosa corallo, ha superficie opaca, consistenza compatta e comprende il tessuto gengivale presente sulle superfici vestibolare e orale dei denti, e la gengiva interdentale che forma le papille interdentali. Sui versanti vestibolare e linguale degli elementi dentari, la gengiva libera si estende in direzione apicale dal margine gengivale, che dopo la completa eruzione dentaria si localizza sulla superficie dello smalto a circa 1,5-2 mm dalla giunzione smalto cemento (CEJ), fino al solco gengivale libero, che è situato invece allo stesso livello della giunzione smalto-cemento.

La forma della gengiva o papilla interdentale è determinata dai rapporti di contatto fra i denti, dall'ampiezza delle loro superfici interprossimali e dal decorso della giunzione smalto cemento. Per questo motivo nelle regioni anteriori ha forma piramidale, mentre in quelle posteriori è più appiattita procedendo in direzione buccolinguale. La presenza delle papille interdentali determina un andamento festonato, più o meno accentuato, del margine gengivale libero.

La gengiva aderente ha una consistenza compatta, un colore rosa corallo e mostra in circa il 40% della popolazione adulta, delle piccole depressioni che le conferiscono il tipico aspetto a buccia d'arancia. Risulta essere saldamente fissata all'osso alveolare e al cemento sottostanti per mezzo di fibre connettivali che la rendono praticamente immobile rispetto al tessuto sottostante. Essa è delimitata in direzione coronale dal solco gengivale libero o, qualora non si rientri nel 30-40% di soggetti adulti in cui si ha modo di osservarlo clinicamente, da un piano orizzontale posto in corrispondenza della CEJ. Quest'ultima condizione ha una frequenza minore a livello di incisivi e premolari inferiori e maggiore a livello di premolari superiori e molari inferiori. La gengiva aderente si estende poi apicalmente fino alla giunzione mucogengivale (MGJ) (Figura 4), oltre la quale continua con la mucosa alveolare di rivestimento. Considerando l'ampiezza della gengiva aderente in relazione all'età dei pazienti, si è osservato come essa aumenti significativamente passando dai 20-30 ai 40-50 anni. Dal momento che la giunzione mucogengivale, valutata in rapporto al bordo inferiore della mandibola, rimane stabile nel corso degli anni, l'aumento di ampiezza con il trascorrere del tempo può indicare che i denti, come risultato dell'abrasione occlusale, vadano incontro a una lenta eruzione nel corso di tutta la vita.

La mucosa alveolare, di colore rosso più scuro e posta in posizione apicale rispetto alla gengiva aderente, è invece scarsamente aderente all'osso sottostante mostrandosi dunque mobile nei confronti del tessuto sottostante.

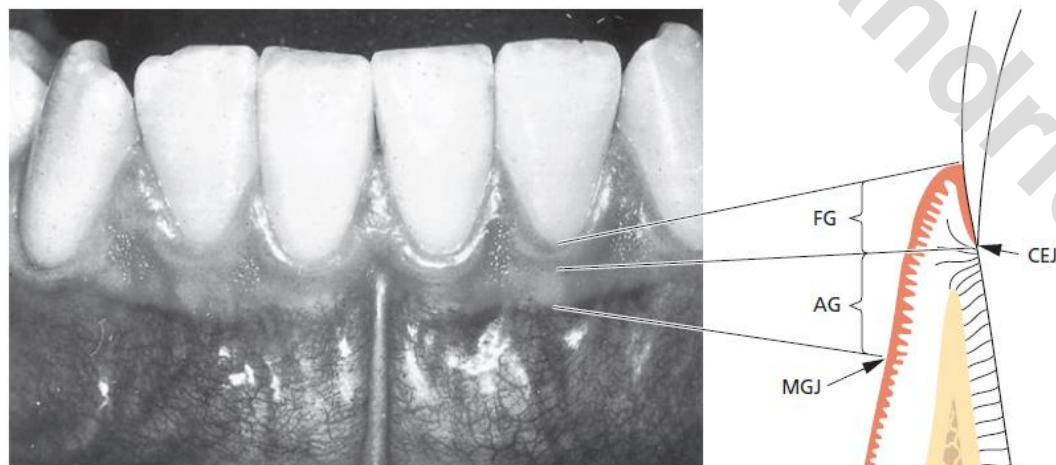
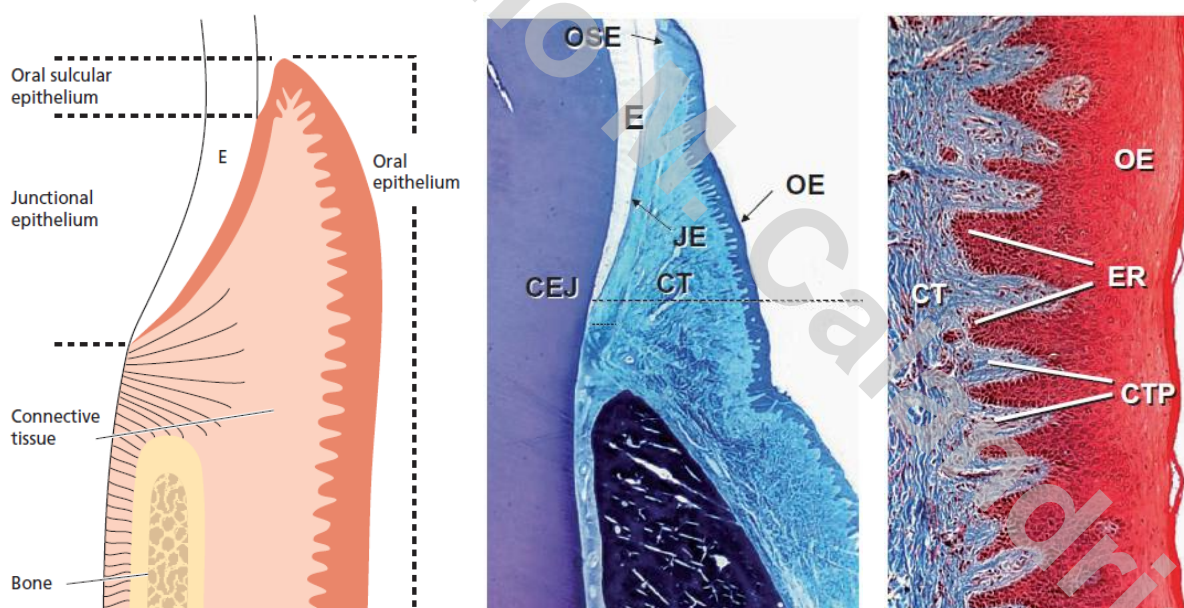


Figura 4. Anatomia gengivale. J. Lindhe, N.P. Lang, T. Karring: Parodontologia Clinica e Implantologia Orale. Volume I: pag. 6. Quinta edizione: Edi-Ermes 2010.

La gengiva libera, come già anticipato, comprende tutte le strutture tissutali epiteliali e connettivali (CT) situate coronalmente alla linea orizzontale passante a livello della giunzione smalto-cemento, e l'epitelio che la riveste può essere differenziato in: (*Figure 5 e 6*)

- epitelio orale (OE): prospiciente la cavità orale;
- epitelio orale sulculare (OSE): rivolto verso il dente ma non in contatto con la sua superficie;
- epitelio giunzionale (JE): mediante il quale si realizza il contatto fra gengiva e dente.

Il confine tra l'epitelio orale e il sottostante tessuto connettivo ha un decorso ondulato a causa della proiezione di papille connettivali (CTP), separate le une dalle altre da creste epiteliali (ER) dette digitazioni epiteliali, nel tessuto soprastante (*Figura 7*). Dunque, le depressioni visibili sulla superficie esterna della gengiva, sono in realtà le aree in cui si verifica l'unione fra le varie creste epiteliali nei tessuti più profondi. Nella gengiva clinicamente sana, non infiammata, le digitazioni epiteliali e le papille connettivali mancano nella zona di confine tra epitelio giunzionale e tessuto connettivo sottostante, mentre sono presenti non solo a livello dell'epitelio orale ma anche in corrispondenza di quello sulculare orale.



Da sinistra: *Figura 5, 6 e 7*. Anatomia e istologia gengivale. J. Lindhe, N.P. Lang, T. Karring: Parodontologia Clinica e Implantologia Orale. Volume I: pag. 8 e 9. Quinta edizione: Edi-Ermes 2010.

L'epitelio orale, squamoso, stratificato e cheratinizzato, può essere suddiviso sulla base del grado di differenziazione delle cellule produttrici di cheratina, nei seguenti strati cellulari: strato basale, strato spinoso, strato granuloso e strato corneo. In base poi all'istologia cellulare degli strati più esterni si può parlare di ortocheratinizzazione, quando i nuclei cellulari sono assenti, oppure paracheratinizzazione, quando si ha modo di osservare residui nucleari.

Oltre ai cheratinociti, che comprendono circa il 90% della popolazione cellulare, nell'epitelio orale e specialmente nello strato basale o comunque nelle sue vicinanze, si ritrovano anche le cellule chiare, così definite per il loro tipico aspetto istologico e rappresentate da:

- melanociti: sono sempre presenti indipendentemente dal colore della carnagione, producono melanina e sono responsabili della pigmentazione melanica che a volte si osserva sulla gengiva;
- cellule di Langherans: si ritiene abbiano un qualche ruolo nel meccanismo di difesa della mucosa orale ed è infatti stato ipotizzato che reagiscano con gli antigeni in procinto di penetrare nell'epitelio scatenando una risposta immunologica in grado di bloccarli;
- cellule di Merkel: si pensa svolgano una funzione sensoriale;
- cellule infiammatorie.

Le cellule dello strato basale hanno forma cilindrica o cuboide e sono in contatto con la membrana basale, che è probabilmente un loro prodotto e separa l'epitelio dal tessuto connettivo. Esse vanno incontro a divisione mitotica ed è infatti grazie a questa caratteristica che l'epitelio si rinnova. Per tale ragione si parla spesso di strato germinativo, poiché lo strato basale può essere considerato il compartimento delle cellule progenitrici dell'epitelio. Quando due cellule figlie si sono formate dalla divisione cellulare, una vecchia cellula basale adiacente viene spinta all'interno dello strato spinoso e comincia, come cheratinocita, ad attraversare l'epitelio. Essa impiegherà circa un mese per raggiungere la superficie esterna dell'epitelio, dove avrà inizio la sua desquamazione nello strato corneo.

Lo strato spinoso è formato da 10-20 file di cellule relativamente larghe e dotate di corti processi citoplasmatici, che si susseguono ad intervalli regolari assomigliando a delle vere e proprie spine.

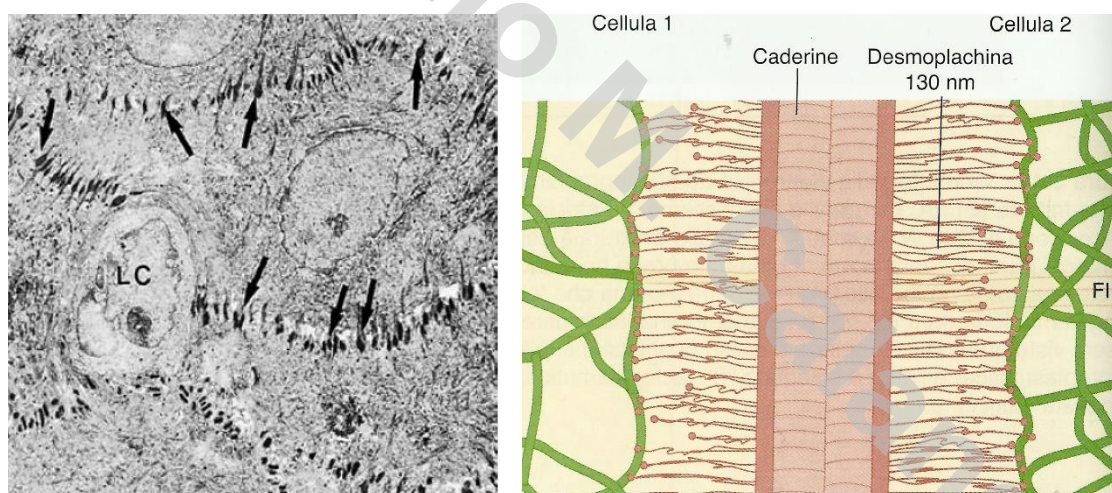
Lo strato granuloso non è uno strato sempre presente bensì è tipico delle superfici cheratinizzate. In tale strato cominciano ad apparire corpuscoli di cheratoialina elettroni-densi e raggruppamenti di granuli contenenti glicogeno.

L'ultimo strato, quello corneo, è un sottile strato formato dalla cheratina ormai matura e da cellule senza più nucleo.

In condizioni normali si ha un completo equilibrio tra le cellule rinnovate e quelle desquamate che mantiene costante lo spessore dell'epitelio. Man mano che la cellula basale migra attraverso l'epitelio tende ad appiattirsi, orientando il suo asse lungo in modo che risulti parallelo alla superficie epiteliale.

In aggiunta a complessi intercellulari, costituiti da proteine e carboidrati, la coesione tra le cellule è assicurata dai desmosomi, localizzati fra i processi citoplasmatici delle cellule adiacenti e il cui numero è direttamente correlato alla solidità della coesione cellulare. (1)

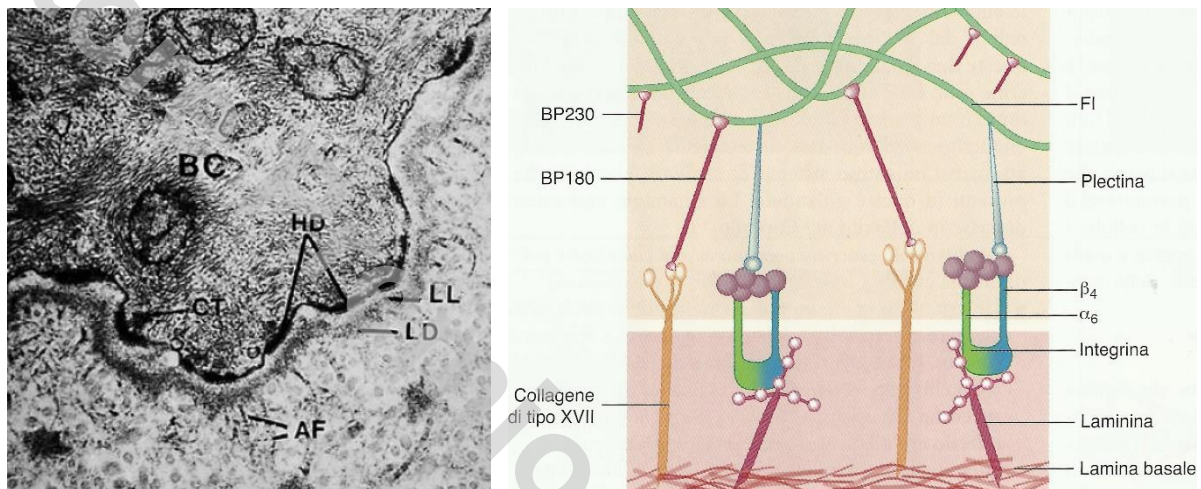
Il desmosoma presenta una placca elettrondensa citoplasmatica (*Figura 8*) definita di adesione o di attacco, e uno spazio intercellulare denominato desmoglea (*Figura 9*). Le placche di adesione sulle quali si inseriscono i numerosi filamenti intermedi (FI) o tonofilamenti intracellulari dei cheratinociti, sono costituite da proteine tra cui spiccano le desmoglobine, placoglobine e placofiline. Lo spazio extracellulare tra due cellule adiacenti o desmoglea, vede invece la presenza di proteine transmembrana della famiglia della caderine e nello specifico le desmogleine e desmocolline, la cui funzione è incrementare le forze di adesione nel sito di giunzione. A queste proteine si aggiungono poi quelle del gruppo delle plachine: la plectina, l'envoplachina, la periplachina e la desmoplachina. Quest'ultima, in particolare, serve ad accoppiare i siti di adesione intercellulare alla rete di filamenti intermedi, in quanto attraversa completamente la placca venendosi in tal modo a trovare in una posizione strategica per favorire il contatto della maggior parte delle componenti desmosomiali. Le cellule chiare, ad eccezione di quelle di Merkel, non presentano attacchi desmosomiali con le cellule adiacenti (2) e (3).



Da sinistra: *Figura 8*: Alcuni desmosomi indicati con le frecce e situati fra le singole cellule epiteliali. J. Lindhe, N.P. Lang, T. Karring: *Parodontologia Clinica e Implantologia Orale*. Volume I: pag. 13. Quinta edizione: Edi-Ermes 2010. *Figura 9*: Rappresentazione schematica della struttura desmosomiale. Telser Alvin G., Young John K., Baldwin Kate M. *Istologia*. Elsevier 2007.

Immediatamente al di sotto dello strato di cellule basali (BC) si nota una zona elettrondensa detta lamina lucida (LL). Sotto la lamina lucida si vede una zona elettrondensa che ha circa lo stesso spessore della precedente ed è chiamata lamina densa (LD). Da quest'ultima si proiettano a ventaglio delle fibre di ancoraggio (AF) che si propagano e disperdono liberamente nel tessuto connettivo. La membrana cellulare delle cellule epiteliali a contatto con la lamina lucida presenta una serie di unità emidesmosomiali (HD),

elettron-dense, poste ad intervalli variabili lungo il suo percorso. I tono-filamenti citoplasmatici (CT) che si trovano all'interno della cellula, convergono verso gli emidesmosomi, che risultano dunque coinvolti nell'attacco dell'epitelio alla sottostante membrana basale (*Figura 10*). Morfologicamente essi ricordano un mezzo-desmosoma, ma i componenti molecolari sono piuttosto differenti. Infatti in un emidesmosoma si osservano strutture quali collagene, laminina, integrine, plectine, BP230 e BP130, dalla cui interazione si ottiene un saldo ancoraggio della cellula alla lamina basale e al tessuto connettivo sottostante (*Figura 11*). Al contrario, una loro compromissione dovuta alle più svariate ragioni, può ostacolare in maniera più o meno grave questo attacco (1) e (2).



Da sinistra: *Figura 10*: Alcuni desmosomi indicati con le frecce e situati fra le singole cellule epiteliali. J. Lindhe, N.P. Lang, T. Karring: *Parodontologia Clinica e Implantologia Orale*. Volume I: pag. 13. Quinta edizione: Edi-Ermes 2010. *Figura 11*: Rappresentazione schematica della struttura emidesmosomiale. Telser Alvin G., Young John K., Baldwin Kate M. *Istologia*. Elsevier 2007.

Nell'attraversamento dell'epitelio dallo strato basale alla superficie, i cheratinociti vanno incontro ad un processo continuo di differenziazione e specializzazione. Passando infatti dallo strato basale a quello granuloso si ha un aumento sia del numero di tonofilamenti contenuti nel citoplasma che dei desmosomi, mentre organuli come i mitocondri, le lamelle del reticolo endoplasmatico rugoso e i complessi di Golgi diminuiscono progressivamente. Nello strato corneo il cheratinocita non presenta più l'apparato di sintesi delle proteine e si trasforma in una cellula piena di corpuscoli cheratoialini, che desquama distaccandosi dalla superficie dell'epitelio. Quindi, una volta che la cellula ha lasciato la membrana basale, non può più dividersi, ma fino allo strato granuloso mantiene comunque la capacità di produrre proteine. La cheratinizzazione può essere indotta anche in epitelii non cheratinizzanti per via di un'eccessiva abrasione degli stessi. Una particolarità della gengiva è il fatto che essa risulti essere priva di sottomucosa: la lamina propria aderisce saldamente, per mezzo di una ricca rete di fibre collagene, al periostio dell'osso alveolare, creando quello che viene definito mucoperiostio, caratteristico anche del rafe palatino.

L'elemento tissutale predominante della gengiva è comunque il connettivo o lamina propria. Le sue componenti principali sono le fibre collagene per circa il 60% del volume del tessuto, i fibroblasti per il 5%, i vasi e i nervi per il 35%, e una sostanza fondamentale amorfa o matrice nel quale tutti i costituenti sono immersi.

Oltre alle fibre collagene, che predominano nel tessuto connettivo gengivale e costituiscono le componenti essenziali del parodonto, si ha modo di individuare:

- le fibre reticolari: numerose nella zona di tessuto adiacente alla membrana basale e nell'ambito del tessuto connettivo lasso che circonda i vasi sanguigni;
- le fibre ossitalaniche: scarsamente presenti nella gengiva e invece molto abbondanti nel legamento parodontale;
- le fibre elastiche: si ritrovano nel tessuto connettivo della gengiva e del legamento parodontale soltanto in associazione con i vasi sanguigni, mentre nella mucosa alveolare sono presenti a livello della lamina propria e della sottomucosa (1).

1.B LA MALATTIA GENGIVALE

Classificazione.

La comprensione dell'eziologia, della patogenesi e delle condizioni predisponenti le malattie gengivali, cambia continuamente con il passare del tempo e il conseguente aumento delle conoscenze scientifiche a riguardo (4). Tutti i tentativi di formulare una classificazione univoca delle malattie parodontali, sono sempre stati oggetto di inevitabili controversie da parte della società scientifica internazionale. Nonostante ciò, nell'ultimo secolo, gli esperti sono riusciti periodicamente a sviluppare nuovi sistemi di classificazione per le malattie parodontali o ad affinare quelli già esistenti (5).

In particolare nel 1999, con lo storico "*International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions*" ci si è posto, tra i vari obiettivi, quello di discutere ed eventualmente correggere i problemi associati al sistema di classificazione fino ad allora in uso. Primo fra questi era l'inclusione della gengivite e delle sue numerose sfaccettature, nell'ambito di un sistema di classificazione che ne rispecchiasse la complessità e l'importanza dapprima sul piano diagnostico e in seguito su quello terapeutico e prognostico (6) e (7).

Il risultato finale è stato il disegno di un nuovo sistema di classificazione, aggiornato sulla base delle conoscenze tratte dai dati clinici disponibili e soprattutto in grado di offrire un inquadramento adeguato e completo circa le patologie gengivali (*Figura 12*) e le restanti condizioni e patologie parodontali (*Figura 13*):

* Può interessare il parodonto in cui non vi sia perdita di attacco o con perdita di attacco che tuttavia non sta progredendo

- | | |
|--|--|
| <p>I. Gingival Diseases</p> <p>A. Dental plaque-induced gingival diseases*</p> <p>1. Gingivitis associated with dental plaque only</p> <p>a. without other local contributing factors</p> <p>b. with local contributing factors (See VIII A)</p> <p>2. Gingival diseases modified by systemic factors</p> <p>a. associated with the endocrine system</p> <p>1) puberty-associated gingivitis</p> <p>2) menstrual cycle-associated gingivitis</p> <p>3) pregnancy-associated</p> <p>a) gingivitis</p> <p>b) pyogenic granuloma</p> <p>4) diabetes mellitus-associated gingivitis</p> <p>b. associated with blood dyscrasias</p> <p>1) leukemia-associated gingivitis</p> <p>2) other</p> <p>3. Gingival diseases modified by medications</p> <p>a. drug-influenced gingival diseases</p> <p>1) drug-influenced gingival enlargements</p> <p>2) drug-influenced gingivitis</p> <p>a) oral contraceptive-associated gingivitis</p> <p>b) other</p> <p>4. Gingival diseases modified by malnutrition</p> <p>a. ascorbic acid-deficiency gingivitis</p> <p>b. other</p> <p>B. Non-plaque-induced gingival lesions</p> <p>1. Gingival diseases of specific bacterial origin</p> <p>a. <i>Neisseria gonorrhoea</i>-associated lesions</p> <p>b. <i>Treponema pallidum</i>-associated lesions</p> <p>c. streptococcal species-associated lesions</p> <p>d. other</p> <p>2. Gingival diseases of viral origin</p> <p>a. herpesvirus infections</p> <p>1) primary herpetic gingivostomatitis</p> <p>2) recurrent oral herpes</p> <p>3) varicella-zoster infections</p> <p>b. other</p> | <p>3. Gingival diseases of fungal origin</p> <p>a. <i>Candida</i>-species infections</p> <p>1) generalized gingival candidosis</p> <p>b. linear gingival erythema</p> <p>c. histoplasmosis</p> <p>d. other</p> <p>4. Gingival lesions of genetic origin</p> <p>a. hereditary gingival fibromatosis</p> <p>b. other</p> <p>5. Gingival manifestations of systemic conditions</p> <p>a. mucocutaneous disorders</p> <p>1) lichen planus</p> <p>2) pemphigoid</p> <p>3) pemphigus vulgaris</p> <p>4) erythema multiforme</p> <p>5) lupus erythematosus</p> <p>6) drug-induced</p> <p>7) other</p> <p>b. allergic reactions</p> <p>1) dental restorative materials</p> <p>a) mercury</p> <p>b) nickel</p> <p>c) acrylic</p> <p>d) other</p> <p>2) reactions attributable to</p> <p>a) toothpastes/dentifrices</p> <p>b) mouthrinses/mouthwashes</p> <p>c) chewing gum additives</p> <p>d) foods and additives</p> <p>3) other</p> <p>6. Traumatic lesions (factitious, iatrogenic, accidental)</p> <p>a. chemical injury</p> <p>b. physical injury</p> <p>c. thermal injury</p> <p>7. Foreign body reactions</p> <p>8. Not otherwise specified (NOS)</p> |
|--|--|

Figura 12: Classificazione delle patologie gengivali ideata in occasione dell'International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions, del 1999. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol Am Acad Periodontol. dicembre 1999;4(1):1-6.

[†] Può ulteriormente essere classificata sulla base dell'estensione e della severità. In relazione all'estensione distinguiamo la forma Localizzata se si ha il coinvolgimento del 30% o meno dei siti e Generalizzata se interessa più del 30% dei siti. Per la severità si fa invece riferimento all'entità della perdita di attacco clinico (CAL) come segue: Modesta se CAL è pari a 1 o 2 mm; Moderata se 3 o 4 mm; e Severa se maggiore o uguale a 5 mm.

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> II. Chronic Periodontitis[†] <ul style="list-style-type: none"> A. Localized B. Generalized III. Aggressive Periodontitis[†] <ul style="list-style-type: none"> A. Localized B. Generalized IV. Periodontitis as a Manifestation of Systemic Diseases <ul style="list-style-type: none"> A. Associated with hematological disorders <ul style="list-style-type: none"> 1. Acquired neutropenia 2. Leukemias 3. Other B. Associated with genetic disorders <ul style="list-style-type: none"> 1. Familial and cyclic neutropenia 2. Down syndrome 3. Leukocyte adhesion deficiency syndromes 4. Papillon-Lefèvre syndrome 5. Chediak-Higashi syndrome 6. Histiocytosis syndromes 7. Glycogen storage disease 8. Infantile genetic agranulocytosis 9. Cohen syndrome 10. Ehlers-Danlos syndrome (Types IV and VIII) 11. Hypophosphatasia 12. Other C. Not otherwise specified (NOS) V. Necrotizing Periodontal Diseases <ul style="list-style-type: none"> A. Necrotizing ulcerative gingivitis (NUG) B. Necrotizing ulcerative periodontitis (NUP) VI. Abscesses of the Periodontium <ul style="list-style-type: none"> A. Gingival abscess B. Periodontal abscess C. Pericoronal abscess | <ul style="list-style-type: none"> VII. Periodontitis Associated With Endodontic Lesions <ul style="list-style-type: none"> A. Combined periodontic-endodontic lesions VIII. Developmental or Acquired Deformities and Conditions <ul style="list-style-type: none"> A. Localized tooth-related factors that modify or predispose to plaque-induced gingival diseases/periodontitis <ul style="list-style-type: none"> 1. Tooth anatomic factors 2. Dental restorations/appliances 3. Root fractures 4. Cervical root resorption and cemental tears B. Mucogingival deformities and conditions around teeth <ul style="list-style-type: none"> 1. Gingival/soft tissue recession <ul style="list-style-type: none"> a. facial or lingual surfaces b. interproximal (papillary) 2. Lack of keratinized gingiva 3. Decreased vestibular depth 4. Aberrant frenum/muscle position 5. Gingival excess <ul style="list-style-type: none"> a. pseudopocket b. inconsistent gingival margin c. excessive gingival display d. gingival enlargement (See I.A.3. and I.B.4.) 6. Abnormal color C. Mucogingival deformities and conditions on edentulous ridges <ul style="list-style-type: none"> 1. Vertical and/or horizontal ridge deficiency 2. Lack of gingiva/keratinized tissue 3. Gingival/soft tissue enlargement 4. Aberrant frenum/muscle position 5. Decreased vestibular depth 6. Abnormal color D. Occlusal trauma <ul style="list-style-type: none"> 1. Primary occlusal trauma 2. Secondary occlusal trauma |
|--|--|

Figura 13: Classificazione delle restanti condizioni e patologie parodontali ideata in occasione dell'*International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions*, del 1999. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol Am Acad Periodontol.* dicembre 1999;4(1):1-6.

Gengiva clinicamente sana.

Prima di approfondire le circostanze che causano o comunque risultano correlate alle patologie e condizioni gengivali elencate nella penultima tabella, occorre avere ben presente l'aspetto e le caratteristiche del tessuto gengivale in condizioni di salute. Gengiva clinicamente sana è l'espressione usata per descrivere il livello di salute gengivale raggiungibile dai pazienti che praticano, meticolosamente e con costanza, le corrette manovre di igiene orale domiciliare. La superficie orale di una gengiva in questa condizione è costituita da un epitelio orale cheratinizzato che prosegue nell'epitelio giunzionale, il quale a sua volta aderisce tramite gli emidesmosomi all'elemento dentario. A sostegno degli epitelii orale e giunzionale vi è una abbondante quota di tessuto connettivo ricco di fibre collagene le quali,

da un lato mantengono la morfologia dei tessuti gengivali, dall'altro assistono l'attacco emidesmosomiale, relativamente debole, dell'epitelio giunzionale al dente. Al di sotto dell'epitelio giunzionale vi è un plesso dentogengivale contenente un gran numero di piccoli vasi, i quali riforniscono i tessuti di fattori nutritivi e cellule di difesa.

La gengiva clinicamente sana presenta costantemente una certa quota di infiltrato infiammatorio sia a livello dell'epitelio giunzionale che a livello connettivale. Esso è la risposta alla presenza costante di prodotti batterici nella regione del solco gengivale e contiene principalmente linfociti e macrofagi. Trasudati ed essudati di fluido contenente quantità variabili di proteine del plasma lasciano i vasi del plesso dentogengivale e arrivano nella regione del solco gengivale sotto forma di liquido crevicolare. Tra i leucociti, nella regione del solco gengivale prevalgono i neutrofili, che sembrano migrare continuamente in quella zona attraverso l'epitelio giunzionale. Questo fenomeno è dovuto alle chemiotassi di prodotti derivanti dal biofilm nonché da fattori rilasciati dall'ospite.

I siti con gengiva clinicamente sana sembrano affrontare stimolazioni microbiche continue senza progredire in gengivite clinica, probabilmente grazie ai numerosi e diversi fattori difensivi tra i quali (1):

- la barriera intatta costituita dall'epitelio giunzionale;
- l'esfoliazione costante e regolare di cellule epiteliali nel cavo orale;
- il flusso positivo di fluido verso il solco gengivale, in grado di rimuovere i microrganismi non attaccati e i loro prodotti nocivi;
- la presenza nel fluido gengivale crevicolare di anticorpi rivolti verso i prodotti microbici;
- la funzione fagocitica dei neutrofili e dei macrofagi;
- l'effetto dannoso sui microbi esercitato dal complemento.

Nel momento in cui queste caratteristiche architetture, morfologiche e biologiche vengono ad essere guastate, ecco che si può instaurare una condizione di infiammazione gengivale clinicamente evidenziabile come gengivite attraverso parametri generali ma fortemente indicativi dello stato di salute tissutale:

| Parametro | Gengiva Normale | Gengivite |
|----------------|--|---|
| <i>Colore</i> | Colore rosa corallo (correlato a pigmentazione mucocutanea) | Tonalità rossa-rosso/bluastro |
| <i>Profilo</i> | Profilo smerlato che avvolge i denti. La papilla gengivale riempie lo spazio interdentale, mentre la gengiva marginale, rispetto alla superficie dentale, assume l'aspetto di una lama dentata | L'edema smussa i tessuti marginali portando alla perdita dell'aspetto di una lama e creando tessuti papillari bubolosi, con conseguente minimizzazione della smerlatura del tessuto |

| | | |
|--|-------------------|---------------------------------|
| <i>Consistenza</i> | Ferma ed elastica | Il tessuto è molle ed edematoso |
| <i>Sanguinamento dopo sollecitazione</i> | Negativo | Positivo |
| <i>Essudato gengivale</i> | Minimo | Significativamente maggiore |
| <i>Temperatura del solco</i> | Circa 34 °C | Lievemente maggiore |

Il quadro clinico di gengivite può verificarsi per cause molto differenti tra loro e che possono in una buona percentuale dei casi non essere correlate all'accumulo di placca sulla superficie dei denti.

Come anticipato, possiamo in conclusione distinguere le malattie gengivali in (4):

- patologie gengivali indotte da placca dentale;
- patologie gengivali non indotte dalla placca.

Gengivite placca dipendente.

Il rapporto tra ospite e microbo, che è un punto importante in tutti gli stati gengivali, cambia nel momento in cui sta per manifestarsi una gengivite. Questa, infatti, si manifesterà quando l'accumulo e la ritenzione di placca e prodotti batterici nocivi, saranno tali da permettere a questi ultimi di dare inizio ad una risposta infiammatoria sostanziale nell'ospite.

Caratteristiche universali delle patologie gengivali indotte da placca sono: segni clinici di infiammazione, reversibilità della patologia successiva a rimozione del fattore eziologico, presenza di placca batterica in grado di avviare la lesione.

Tra i segni clinici di infiammazione si riscontrano profili gengivali edematosi e traslucidi, colore dei tessuti alterato, temperatura del solco più elevata, sanguinamento al sondaggio e aumento dell'essudato gengivale (1)(8)(9). I segni clinici di infiammazione tissutale che indicano la presenza di un quadro di gengivite, devono tuttavia essere associati a livelli stabili, cioè invariati, di attacco, su un parodonto che non presenti perdita di attacco clinico e di osso alveolare, oppure su un parodonto ridotto ma stabile. A questo va aggiunto come fattori locali e sistemici possano modificare lo stato infiammatorio gengivale. Tra i fattori locali abbiamo le caratteristiche anatomiche del dente, i restauri dentali, gli apparecchi ortodontici, le fratture radicolari e i riassorbimenti radicolari cervicali (10). Tra quelli sistemici, invece, si collocano gli squilibri del sistema endocrino, le patologie ematologiche, i farmaci e la malnutrizione (11).

I dati epidemiologici indicano come la gengivite indotta da placca sia prevalente nelle popolazioni dentate di tutte le età e come la patologia sia considerata la forma più comune di malattia parodontale (12). Nei bambini la sua prevalenza continua ad aumentare con il passare degli anni fino a raggiungere l'apice durante la pubertà (13).

La gengivite indotta da placca è un'infiammazione gengivale determinata da batteri situati sul margine gengivale. Si è spesso supposto, quale sua causa, la relazione tra placca e

infiammazione delle gengive, ma l'eziologia batterica della placca è stata confermata solamente da studi sperimentali sulla gengivite umana (14).

La gengivite indotta da placca parte quindi dal margine gengivale e può diffondersi al resto della gengiva. I suoi normali esiti clinici includono l'eritema, l'edema, il sanguinamento e la perdita del collagene. Recenti studi riconducono la distruzione tissutale non solo a enzimi microbici che digeriscono direttamente il tessuto, ma anche e più probabilmente alla risposta dell'ospite a tali enzimi. In alcuni siti la lesione infiammatoria può essere limitata alla gengiva per periodi di tempo prolungati senza che si manifesti nessuna progressione della malattia all'interno dei tessuti più profondi. In altre zone, al contrario, le lesioni gengivali finiranno per determinare un'attiva distruzione parodontale, come conseguenza di un'ampia gamma di fattori pertinenti all'ospite e al parassita.

Negli stadi iniziali della gengivite i sintomi clinici dell'infiammazione possono apparire poco evidenti, mentre quelli istopatologici sottostanti, benché presenti in un piccolo comparto di tessuti gengivali, risultano essere piuttosto marcati. Si hanno alterazioni nella rete vascolare e molti capillari si aprono. L'essudato di fluido gengivale crevicolare e le proteine derivanti dal plesso dentogengivale crescono, rendendo il tessuto gonfio ed edematoso. Le cellule infiammatorie, e nello specifico in un primo momento prevalentemente macrofagi e linfociti, abbandonano i vasi e si accumulano nel tessuto connettivo lateralmente all'epitelio giunzionale. Successivamente all'espansione dell'infiltrato infiammatorio, sono invece le plasmacellule a dominare la lesione. In tale contesto è poi importante sottolineare come la lesione nella gengiva sia strettamente correlata alla presenza e all'estensione del biofilm sulla relativa superficie dentale. I risultati di indagini effettuate su materiale autoptico umano indicano che la distanza tra placca e tartaro sulla superficie dentale e la lesione infiammatoria nella gengiva non superava mai i 1-2 mm (15). Nel 1976 Page e Schroeder hanno classificato la progressione della malattia gengivale in quattro fasi o lesioni (16):

- Lesione iniziale: dopo un giorno di accumulo della placca a livello del terzo cervicale del dente, si sviluppa infiammazione e a livello del plesso microvascolare sottostante l'epitelio giunzionale si nota la dilatazione di arteriole, capillari e venule. La pressione idrostatica del microcircolo aumenta, portando alla formazione di spazi intercellulari fra cellule adiacenti dell'endotelio capillare e ciò conduce ad una permeabilità decisamente superiore. Dunque si incrementa il fluido gengivale crevicolare, importante per diluire le sostanze nocive emesse dal biofilm e sciacquare via dal solco gengivale i batteri e i loro prodotti. Già in questa prima fase di risposta dell'ospite, i polimorfonucleati migrano grazie a specifiche molecole di adesione: ICAM-1 e ELAM-1, che consentono loro di lasciare il vaso

sanguigno di provenienza. I linfociti, invece, sono trattenuti nei tessuti connettivi a contatto con gli antigeni, le citochine o le molecole di adesione e per questo non sono rapidamente persi attraverso l'epitelio giunzionale e dentro la cavità orale, come accade per i polimorfonucleati;

- Lesione precoce: si manifesta dopo circa una settimana di accumulo della placca e può perdurare a lungo. I vasi sotto l'epitelio giunzionale rimangono dilatati, ma aumentano di numero a causa dell'apertura di letti capillari prima inattivi e ciò si riflette in un maggiore arrossamento della gengiva marginale, sintomo clinico caratteristico di questa fase (17)(18). Predominano in questa fase linfociti e polimorfonucleati, e si osservano segni di degenerazione nei fibroblasti e di distruzione delle fibre collagene interne alla lesione. Le cellule basali dell'epitelio giunzionale e sulculare sono in attiva proliferazione, allo scopo di rinforzare la barriera meccanica opposta ai batteri della placca e ai loro prodotti. Segue la perdita della porzione coronale dell'epitelio giunzionale e la formazione di una nicchia tra epitelio e superficie dello smalto tale da permettere poi il formarsi del biofilm sottogengivale;
- Lesione stabilizzata: vede aumentare ulteriormente il fluido gengivale crevicolare e divenire cellule dominanti le plasmacellule. La perdita di collagene continua a mano a mano che l'infiltrato infiammatorio si espande, creando spazi favorevoli all'accumulo dei leucociti. L'epitelio giunzionale è sostituito da epitelio della tasca, non più adeso saldamente alla superficie del dente, talvolta ulcerato, decisamente permeabile e dunque in grado di permettere un'ulteriore migrazione apicale del biofilm;
- Lesione avanzata: quando la tasca diventa più profonda, la placca continua la sua crescita in direzione apicale e prospera in questa nicchia ecologica anaerobica. In questa fase i tessuti gengivali oppongono una resistenza ridotta al sondaggio parodontale. L'epitelio della tasca migra quindi in direzione apicale, superando la giunzione smalto-cemento, e le cellule dominanti sono nuovamente le plasmacellule. La lesione non è più limitata ai tessuti gengivali e l'infiltrato infiammatorio si estende lateralmente e apicalmente nel tessuto connettivo del vero apparato di attacco, determinando anche il coinvolgimento dell'osso alveolare stesso (19).

Diagnosi e trattamento.

La diagnosi completa di gengivite indotta da placca può essere effettuata solamente attraverso una sezione istologica, dalla quale si avrà modo di osservare l'infiltrato di cellule

infiammatorie nel tessuto connettivo adiacente alla componente batterica, una riduzione marcata delle fibre collagene e una migrazione dell'epitelio dentogengivale in direzione apicale. Già all'esame obiettivo, come anticipato, sono comunque numerosi i segni che possono indirizzare verso tale diagnosi e tra questi abbiamo la variazione di colore e forma dei tessuti, il maggiore sanguinamento al sondaggio, la minore resistenza ai tessuti connessa ad un aumento della profondità di tasca, la possibilità di recessioni, l'aumentata mobilità, la migrazione e l'affollamento dentale.

Risulta dunque importante eseguire sul paziente il cosiddetto sondaggio parodontale, manovra fondamentale per poter giungere ad una diagnosi, dopo aver integrato i dati raccolti con quelli derivanti dagli esami radiografici. La valutazione va eseguita su tutti i pazienti, su tutti i denti e su tutti i siti al fine di stimare il grado di perdita di attacco. Durante il sondaggio è opportuno indagare i seguenti parametri (20):

- profondità di sondaggio: si valuta tramite sonda millimetrata calcolando la distanza tra il margine gengivale libero e il fondo della tasca. Si tratta di una misurazione clinica, per cui può essere soggetta a errori di tecnica e di misurazione che possono impedire il rilevamento di una profondità che coincida con quella reale, peraltro verificabile solo con una sezione istologica;
- recessione: rappresenta la migrazione apicale del margine gengivale. Si calcola misurando la distanza tra la CEJ e il margine gengivale libero;
- livello di attacco clinico: è la distanza tra la CEJ e la punta della sonda. Consente di valutare contemporaneamente l'entità della recessione e la profondità di tasca;
- sanguinamento al sondaggio: ogni dente viene suddiviso in sei siti di cui, per ognuno, si verifica la presenza di sanguinamento dopo esecuzione del sondaggio. La sua assenza è indice di stabilità delle condizioni parodontali, mentre la presenza di sanguinamento non indica necessariamente che sia in atto una progressione della malattia parodontale, ma deve far pensare ad una maggiore probabilità di aggravamento della stessa;
- indice di placca: ogni dente viene suddiviso in sei siti di cui, per ognuno, si verifica la presenza o meno della placca. È in grado di fornire al clinico un'idea piuttosto chiara circa le condizioni di igiene orale del paziente, e ciò può condizionare pesantemente le opzioni terapeutiche a lui proposte;
- sondaggio delle forcazioni: viene eseguito, nel caso di elementi pluriradicolati, con una specifica sonda e in direzione sia verticale che orizzontale, permettendoci così di stimare il grado di riassorbimento osseo nelle tre dimensioni dello spazio;

- mobilità dentale: può essere verticale, orizzontale o entrambe, e definisce la capacità funzionale di supporto del parodonto residuo.

L'esame obiettivo deve comunque essere sempre associato ad una attenta anamnesi, al fine di poter riscontrare eventuali patologie sistemiche e terapie farmacologiche in atto.

Le misure di igiene meccanica orale personali e professionali sono aspetti cruciali per il trattamento delle patologie gengivali indotte da placca, e si collocano nel capitolo della terapia parodontale non chirurgica. Un'igiene orale adeguata riduce infatti l'accumulo di placca sulle superfici dentali e diminuisce l'incidenza di vari tipi di patologie gengivali. Per un controllo meccanico della placca efficace, praticato dal soggetto stesso, è essenziale l'uso adeguato di spazzolini manuali o elettrici, unito alla pulizia meccanica interdentale (21). Anche i dentifrici hanno un ruolo importante in questo senso, poiché in primo luogo aumentano il potere scrostante e di pulitura meccanica dello spazzolino, e secondariamente perché sono anche sistemi di somministrazione di alcuni farmaci in grado di ridurre i batteri nei biofilm dentali e nei tessuti gengivali infiammati. Oltre a ciò, gli agenti farmacologici supplementari, applicati dal soggetto stesso e somministrati localmente, quali la clorexidina, possono rappresentare un'opzione efficace anche per i soggetti con limitazioni fisiche o mediche che ostacolano la loro capacità di provvedere a cure domestiche sufficienti. L'intervento professionale è invece richiesto in aggiunta all'igiene praticata dal singolo soggetto, laddove i fattori che trattengono la placca, quali la presenza di tartaro sopra e sottogengivale, restauri difettosi o fattori anatomici, impediscano all'individuo di rimuovere efficacemente la placca dentale.

Alla luce di quanto sottolineato, dunque, i risultati attesi in seguito a terapia causale sono: riduzione del sanguinamento e della profondità della tasca, risoluzione dell'infiammazione gengivale, diminuzione della mobilità dentale e ovviamente miglioramento del controllo della placca da parte del paziente (1).

Conclusione.

Ad oggi è noto come in alcuni pazienti le lesioni infiammatorie restino confinate al solo tessuto gengivale, mentre in altri determinino un coinvolgimento dei tessuti parodontali profondi con conseguente perdita di attacco e riassorbimento di osso alveolare. Si è infatti raggiunta la consapevolezza che le differenze nella risposta infiammatoria alla placca dentale non possono essere totalmente attribuite alla sua quantità e qualità (22). Quindi, la propensione dei siti gengivali infiammati a trasformarsi in forme distruttive di patologia parodontale può dipendere dalla predisposizione e dalla risposta dell'individuo alla gengivite. Nonostante ciò, l'intervento che risulta essere più efficace nel trattamento e nella prevenzione

di patologie infiammatorie a carico dei tessuti parodontali, è una corretta e adeguata igiene orale sia domiciliare che professionale, al fine di ridurre l'accumulo di placca e diminuire l'incidenza delle patologie gengivali.

1.C MALATTIA GENGIVALE NON INDOTTA DA PLACCA E TARTARO

L'infiammazione gengivale, che si manifesta clinicamente come gengivite, non è sempre dovuta ad un accumulo di placca sulla superficie dentaria e le reazioni gengivali infiammatorie non indotte da placca presentano spesso caratteristiche peculiari (23). Esse possono verificarsi per cause differenti, per esempio come conseguenza di una specifica infezione batterica, virale o fungina non associata a una reazione infiammatoria correlata alla placca. Lesioni gengivali di origine genetica si osservano nella fibromatosi gengivale ereditaria e diverse alterazioni mucocutanee si palesano con un'infiammazione gengivale. Esempi tipici sono il Lichen Planus, il Pemfigoide, il Pemfigo Volgare e l'Eritema Multiforme. Altre situazioni di infiammazione gengivale non correlata alla placca sono le lesioni allergiche e quelle di natura traumatica.

Gengivite desquamativa.

Gengivite desquamativa è un termine clinico che fa riferimento ad un particolare tipo di affezione gengivale spesso associata a disordini che condividono una patogenesi di tipo immunomediato ed una possibile manifestazione clinica comune a livello del cavo orale, per l'appunto nota con l'espressione di gengivite desquamativa (24). Nello specifico, vista la notevole frequenza di associazione della gengivite desquamativa con il Lichen Planus Orale, il Pemfigoide delle Membrane Mucose e il Pemfigo Volgare, vale la pena introdurre a parte questi ultimi tre disordini mucocutanei.

Il Lichen Planus Orale (LPO) è una malattia infiammatoria cronica ad andamento ciclico, con una prevalenza compresa tra lo 0,1 e il 4% della popolazione e che interessa maggiormente soggetti di sesso femminile e in particolare di età collocabile nel range tra i 40 e i 70 anni.

Si tratta di una malattia disimmune causata da un'anomala risposta immunitaria cellulo-mediata in cui i cheratinociti dello strato basale dell'epitelio vengono riconosciuti come estranei a causa di alterazioni dei loro antigeni di superficie.

Dal punto di vista clinico si manifesta con lesioni orali a cui si aggiungono, in una buona percentuale dei casi, quelle cutanee e extra-orali (25).

Il quadro orale permette la classificazione del lichen in due forme principali: quella bianca, in cui si notano strie bianche che si intersecano a formare lesioni reticolari, papulari e a placca, e quella rossa, dominata invece da lesioni di tipo atrofico, ulcerativo ed erosivo. Esistono anche forme miste, date dalla simultanea presenza dei caratteri dell'una e dell'altra forma.

La diagnosi è permessa unendo criteri clinici e istologici abbastanza patognomonici. Dal punto di vista clinico si osserva:

- la presenza di lesioni simmetriche, bilaterali, più o meno sintomatiche e localizzate nelle sedi tipiche, ovvero mucose geniene, lingua e gengive;
- la presenza di lesioni tipiche lineari-reticolari, ad eccezione delle varietà a placca, atrofiche ed erosive;
- il cambiamento delle lesioni nel tempo;

I criteri istopatologici sono invece rappresentati da:

- infiltrato linfocitario a banda alla giunzione epitelio-stromale;
- segni di degenerazione idropica e vacuolare in alcune aree dello strato basale;
- assenza di displasia;
- para o ipercheratosi degli strati superficiali dell'epitelio (26) (27).

Il Pemfigoide delle Membrane Mucose (MMP) è una dermatosi bollosa rara e di origine autoimmune, che colpisce prevalentemente donne la cui età media è solitamente intorno ai 60 anni. È una malattia autoimmune in cui si producono autoanticorpi diretti contro le componenti degli emidesmosomi, in particolare verso gli antigeni BP Ag1 e BP Ag2, rispettivamente con peso molecolare di 230 e 180 kDa, e la laminina-5, portando dunque ad un distacco a livello della membrana basale con la successiva formazione di bolle subepiteliali. In base poi all'antigene interessato e alla localizzazione delle lesioni, si ha modo di individuare diverse varianti di MMP (28).

Si localizza in maniera elettiva a livello gengivale dando origine ad eritema, edema, desquamazione ed erosioni a causa della rottura delle bolle subepiteliali precedentemente formatesi. È spesso riscontrabile anche l'interessamento oculare, con formazione di sinecchie fibrose che possono portare al symblepharon, cioè alla fusione della sclera con la congiuntiva, all'ankyloblepharon o fusione delle due palpebre fra loro, con conseguente entropion, ovvero ribaltamento dei margini palpebrali, e trichiasi, ossia sfregamento delle ciglia sulla cornea. Il risultato finale, laddove non si intervenga al più presto, è la cecità. Va aggiunto che, sebbene

meno frequentemente, si può avere anche un interessamento della cute, dei genitali e della mucosa esofagea, nasofaringea e laringea.

Per quanto riguarda la diagnosi, essa può essere fatta sulla base di elementi derivanti dalla clinica, dall'analisi istopatologica delle lesioni e dall'immunofluorescenza. Clinicamente è infatti possibile constatare, oltre alla presenza di erosioni mucose multiple sempre sintomatiche, la positività al segno di Nikolsky, poiché la manipolazione della mucosa orale determina lo scollamento dello strato epiteliale e la formazione di una bolla. Istologicamente si osserva inizialmente edema extracellulare e vacuolizzazione a livello della membrana basale, a cui segue l'infiltrazione della lamina propria da parte di cellule infiammatorie. L'immunofluorescenza diretta su tessuto, invece, evidenzia caratteristici depositi lineari di IgG e C3 lungo la membrana basale (26) (27). Essa richiede campioni biotici con un epitelio intatto, il che non è semplice vista la tendenza alla separazione epiteliale come conseguenza della patologia o come risultato traumatico in seguito alla biopsia. Per ridurre al minimo il problema, dunque, ad oggi è consigliabile, specie in caso di lesioni gengivali, effettuare una prima biopsia perilesionale e una seconda biopsia in corrispondenza di una zona di gengiva non interessata dalla lesione (29).

Il Pemfigo è una dermatosi bollosa di origine autoimmunitaria che esiste in varie forme cliniche, di cui quella più frequente e in grado di interessare più spesso la mucosa orale, è certamente la variante volgare. Il pemfigo volgare è una malattia rara che vede ogni anno da 1 a 5 nuovi casi per milione di abitanti, non mostra predilizioni di sesso e colpisce prevalentemente la popolazione adulta con una età intorno ai 50 anni.

È una malattia autoimmune in cui si ha la presenza di autoanticorpi rivolti contro alcune proteine, in particolare le desmogleine 1 e 3, che partecipano alla struttura dei desmosomi e che sono dunque coinvolte nell'adesione intercellulare. A differenza del MMP, quindi, si ha la formazione di una bolla intraepiteliale tra le cellule spinose e quelle basali, poiché lo strato basale rimane adesso alle strutture sottostanti. Tali formazioni, tuttavia, risultano difficilmente visibili nel cavo orale a causa della loro facile rottura per i traumi masticatori, manifestandosi dunque come erosioni dolorose non solo a livello gengivale ma anche in corrispondenza delle mucose geniene, del palato e delle labbra.

Il pemfigo volgare esordisce nel 50-80% dei casi con manifestazioni orali, che possono precedere di diversi mesi le lesioni cutanee oppure rappresentare le uniche manifestazioni. In una piccola percentuale di casi, possono essere presenti solo lesioni cutanee.

Per quanto riguarda la diagnosi, essa può essere fatta sulla base di elementi derivanti dalla clinica, dall'analisi istopatologica delle lesioni e dall'immunofluorescenza. Clinicamente

è infatti possibile constatare, oltre alla presenza di erosioni mucose multiple sempre sintomatiche ma tendenzialmente più superficiali a quelle del MMP, la positività al segno di Nikolsky, poiché la manipolazione della mucosa orale determina lo scollamento dello strato epiteliale e la formazione di una bolla. Istologicamente si osservano zone di acantolisi sovrabasale, con perdita della normale adesione intercellulare e formazione di una bolla all'interno della quale si osservano le cosiddette cellule di Tzanck, che altro non sono se non cellule spinose distaccatesi a causa del processo di acantolisi. L'immunofluorescenza diretta, invece, evidenzia caratteristici depositi di IgG e C3 a livello degli spazi intercellulari e aventi una caratteristica morfologia a reticolo. Nell'80-90% dei pazienti si ritrovano, mediante l'immunofluorescenza indiretta sul siero, gli autoanticorpi circolanti (26) (27).

Prinz fu il primo ad usare, nel lontano 1932, l'espressione di "gingivite cronica desquamativa" nel caso di pazienti affetti da grave desquamazione epiteliale a livello gengivale (30).

La gengivite desquamativa (DG) vede la presenza di aree gengivali con eritema, intensa infiammazione, desquamazione epiteliale, atrofia, ulcerazione e lesioni vescicolo-bollose. È clinicamente rilevante perché non solo può condizionare la salute orale ma anche e soprattutto essere l'anticipazione o talvolta l'unica manifestazione di una malattia sistemica già in atto. Non vi è evidenza che la DG stessa possa portare a perdita di attacco e distruzione di osso alveolare, poiché le peggiori condizioni parodontali rilevabili in tali pazienti sembrano piuttosto essere dovute ad una pessima igiene orale, le cui manovre risultano spesso difficoltose a causa della frequente sintomatologia associata alle lesioni orali. Anche se l'aspetto clinico della DG non viene generalmente modificato dalle misure di igiene orale convenzionali, una pessima igiene orale comporta ovviamente un fattore di rischio per la salute parodontale (31) (32).

A differenza della gengivite indotta da placca, la DG è più comune nelle donne e specialmente in quelle di media età ed interessa principalmente la gengiva vestibolare nella sua porzione marginale anche se, in alcuni casi, può coinvolgere l'intero spessore della gengiva aderente, sia nell'arcata superiore che in quella inferiore. Tali vescicole e/o bolle si estendono dunque apicalmente dal margine gengivale libero alla mucosa alveolare, nell'ambito di tessuti di un colore rosso vivo, molto doloranti e talvolta anche sanguinanti. Inizialmente predominano l'eritema e una leggera desquamazione, successivamente l'epitelio gengivale diventa progressivamente più fragile, dando luogo a lesioni vescicolo-bollose che, se soggette anche a traumi di piccola entità, lasciano il posto ad erosioni (24) (Figura 14). Il quadro clinico può coinvolgere solo aree più o meno estese della gengiva oppure interessare,

in aggiunta, siti extraorali mucocutanei, come la laringe, la congiuntiva, l'esofago, la mucosa nasale e genitale, e la cute.



Figura 14: quadro di gengivite desquamativa in un paziente affetto da Pemfigoide delle Membrane Mucose. Reparto di Patologia e Oncologia Orale, Dental School, Torino.

Tranne alcune eccezioni, queste condizioni non sono associate a fattori eziologici ben identificabili ed isolabili. Tuttavia le possibili cause sembrerebbero essere rappresentate da:

- trauma meccanico: porta ad abrasione e irritazione tissutale. In questi casi è presente una minima perdita di tessuto, nessuna ulcerazione ed un eritema modesto. Una tecnica di spazzolamento troppo aggressiva o parafunzioni possono essere la causa di queste forme localizzate di desquamazione gengivale;
- reazioni ad alcuni prodotti per l'igiene orale: in particolare dentifrici desensibilizzanti o prodotti per il controllo del tartaro;
- condizioni sistemiche: si riscontrano nella maggior parte dei casi e si ipotizzano nel momento in cui non è possibile attribuire l'aspetto clinico osservato ai fattori locali precedenti.

La DG è una malattia cronica caratterizzata da periodi di remissione ed esacerbazione: i pazienti possono essere asintomatici per lunghi periodi di tempo oppure lamentare una sintomatologia intensa in cui dominano bruciore e dolore.

Epidemiologia.

Come anticipato, la gengivite desquamativa è molto spesso associata al Pemfigoide delle Membrane Mucose (35-48% dei casi), seguito dal Lichen Planus Orale (24-45% dei casi) e dal Pemfigo Volgare (PV) (3-15% dei casi): questi risultano essere le principali cause di gengivite desquamativa (24).

Da uno studio condotto su 414 pazienti, presentanti Pemfigo volgare, Pemfigoide delle Membrane Mucose e Lichen planus orale, si è evidenziato come le lesioni gengivali fossero sotto forma di gengivite desquamativa in 49 soggetti e come fossero così distribuite: il 41,6%

delle DG in pazienti con MMP, il 9,1% in individui con PV e il 6,8% in soggetti con OLP (33). La rimanente proporzione di casi è dovuta ad altre condizioni meno comuni, sebbene la loro esatta prevalenza sia difficile da determinare a causa dei pochi studi effettuati. Queste includono l'Eritema Multiforme, il Lupus Eritematoso, la Graft-Versus-Host Disease, la Stomatite Ulcerativa Cronica, la Gengivite Plasmacellulare, la Malattia IgA Lineare, la Dermatite Erpetiforme, l'Epidermolisi Bollosa Acquisita, la Psoriasi e le forme paraneoplastiche. La DG è stata anche associata ad un gruppo di disordini non immunomediati che includono gli squilibri endocrini, nonostante permangano limitate evidenze scientifiche sull'argomento (33)

La gengivite desquamativa ricorre più frequentemente nel sesso femminile rispetto al sesso maschile e si verifica in un range compreso tra i 7 e i 78 anni di età, ma prevalentemente dopo i 30 anni (24).

Diagnosi differenziale.

La diagnosi delle patologie associate alla gengivite desquamativa necessita, come descritto in precedenza, di una lunga successione di procedure cliniche, istopatologiche e di laboratorio.

Quando le lesioni gengivali sono state riconosciute, il primo passaggio diagnostico richiede un'attenta analisi della storia medica del soggetto. L'inizio e la progressione delle lesioni gengivali devono essere attentamente investigate perché molte patologie associate alla gengivite desquamativa hanno un esordio subacuto di cui i pazienti spesso non sono consapevoli, specie se si tratta di Lichen Planus Orale e Pemfigoide delle Membrane Mucose. Questo è meno vero per i pazienti con Pemfigo Volgare, i quali hanno modo di individuare, di solito, un periodo di intensa sintomatologia parallelo alla diffusione delle lesioni in numerosi siti del cavo orale, e a cui poi segue il coinvolgimento delle altre mucose e della pelle. La presenza di sintomi e segni prodromici deve essere attentamente valutata perché può indicare una forma severa di Eritema Multiforme, specie se sono presenti malessere, febbre, rash cutanei, tosse, artromialgia e miocarditi. Le infezioni, l'assunzione di farmaci e di sostanze topiche, quali prodotti per l'igiene orale, dentifrici, collutori, cosmetici, additivi alimentari, devono essere indagati perché essi costituiscono i principali fattori precipitanti dell'Eritema Multiforme.

Quanto viene riferito dal paziente è molto importante soprattutto per valutare la possibilità di cura e trattamento del paziente. È inoltre utile rilevare i sintomi e lo score del dolore, per documentare la gravità del quadro e la risposta alla terapia. La valutazione delle condizioni sistemiche è di primaria importanza nella pianificazione del trattamento, poiché

molti dei disordini associati alla gengivite desquamativa vengono trattati con corticosteroidi sistemici e/o agenti immunosoppressivi, che possono causare gravi effetti collaterali (24).

Il secondo passaggio diagnostico prevede un accurato esame clinico della mucosa orale al fine di valutare la presenza di lesioni con aspetto clinico caratteristico, mentre la cute e le altre mucose devono essere analizzate da specialisti quali dermatologi, ginecologi, otorinolaringoiatri e oftalmologi. Questo è particolarmente importante per il Lichen Planus Orale, poiché presenta lesioni confinate alla gengiva solo in una piccola percentuale di casi (7-10%), mentre di solito vede il coinvolgimento di molteplici siti orali su cui si palesano aspetti e morfologie abbastanza patognomoniche. L'esame obiettivo del cavo orale serve anche per identificare i materiali dentari e la loro relazione topografica con le lesioni (34). Infatti, alcuni materiali restaurativi e protesici, possono indurre lesioni lichenoidi la cui scomparsa si può avere proprio con la rimozione di quegli stessi materiali. La valutazione del segno di Nikolsky non è utile per la diagnosi di Lichen Planus, mentre è fondamentale nel Pemfigoide delle Membrane Mucose e nel Pemfigo Volgare.

Il terzo passaggio diagnostico richiede la raccolta di campioni di citologia esfoliativa e/o l'esecuzione della biopsia. Una parte del tessuto prelevato viene fissato in formalina e sottoposto all'esame istopatologico, mentre l'altra parte viene subito congelata per poter poi eseguire l'immunofluorescenza diretta. L'immunofluorescenza indiretta, eseguita invece sul sangue del paziente, non sempre viene richiesta e spesso ha il fine di completare il processo diagnostico (33). Per quanto riguarda l'infiltrato infiammatorio, spesso caratteristico del profilo istologico delle patologie tra le quali occorre fare diagnosi differenziale, va detto come talvolta perda la sua specificità e non risulti dunque utile ai fini diagnostici, poiché può modificarsi a seconda della colonizzazione batterica della lesione. Questo è tanto più vero nel caso di ampie lesioni erosive createsi subito dopo la rottura delle bolle.

Progressione delle lesioni e implicazioni sistemiche.

Ciascuna delle patologie associate alla gengivite desquamativa è caratterizzata da implicazioni orali e sistemiche differenti. Il dolore gengivale e le lesioni orali possono impedire significativamente le corrette procedure di igiene orale quotidiana, portando ad un aumento dei depositi di placca e tartaro (35). L'accumulo della placca e del tartaro aumentano l'infiammazione già associata alle lesioni, portando a un peggioramento dei sintomi ed incrementando anche il rischio, a lungo termine, di sviluppare malattia parodontale. È fondamentale, dunque, educare e monitorare il paziente al fine di raggiungere un ottimo controllo della placca.

Inoltre, il trattamento farmacologico sistemico o topico che le già elencate condizioni sistemiche associate a GD richiedono, è fortunatamente in grado di contribuire a ridurre l'infiammazione e la sintomatologia, favorendo per via indiretta anche il miglioramento dell'igiene orale. Le procedure d'igiene devono poi essere eseguite evitando il più possibile di generare traumatismi, poiché molti dei disordini associati alla gengivite desquamativa sono caratterizzati dal fenomeno di Koebner, secondo cui un trauma meccanico può indurre l'esacerbazione delle lesioni e dell'infiammazione.

La formazione di bolle sottoepiteliali può poi determinare il crearsi di cicatrici, le quali possono condurre alla cecità e alla stenosi laringea (Pemfigoide delle Membrane Mucose), a quella esofagea (Lichen Planus), e a quella anale e genitale (Pemfigoide delle Membrane Mucose e Lichen Planus). Un rischio ridotto ma comunque rilevante di trasformazione maligna coinvolge i pazienti con Lichen Planus Orale, e questo sottolinea ulteriormente l'importanza di monitorare nel tempo tali soggetti (36).

Trattamento.

È necessario limitare il disagio e il dolore del paziente, controllando la progressione delle lesioni e i loro sintomi. Il principale trattamento applicato è quello diretto nei confronti dei processi immunopatologici che reagiscono con l'epitelio e causano i sintomi.

Farmacologicamente, si utilizzano come prima scelta i corticosteroidi, che possono essere somministrati per via topica o per via sistemica. Nei pazienti con Lichen Planus il trattamento è diretto ad alleviare i sintomi ed a guarire le lesioni a carattere erosivo ed ulcerativo, e in questo i corticosteroidi topici sembrano essere i farmaci più efficaci e con minori effetti collaterali (24). Quando la sintomatologia viene ridotta e le lesioni volgono a guarigione, la terapia può essere temporaneamente sospesa rispettando il principio della riduzione progressiva di farmaco somministrato.

Ottimizzare il controllo della placca, come anticipato in precedenza, può prevenire il danno parodontale e ridurre i sintomi associati alla gengivite desquamativa. Inoltre, il trattamento farmacologico sistemico o topico contribuisce a favorire l'igiene orale e riduce, in parte, l'infiammazione.

Gli studi a lungo termine non hanno mostrato nessun effetto collaterale riguardo le applicazioni topiche dei farmaci già nominati. In alcuni casi, tuttavia, questi agenti potrebbero favorire la crescita delle specie funginee della candida e richiedere quindi il trattamento con agenti micotici topici o sistemici.

In conclusione, i corticosteroidi locali permangono il trattamento maggiormente utilizzato, soprattutto in caso di Lichen Planus Orale, anche se la mancanza di aderenza e sostantività di questo farmaco topico presso i siti affetti riduce l'efficacia del trattamento

stesso. Infatti, i consueti movimenti della bocca non permettono un adeguato tempo di contatto tra farmaco e superficie affetta.

Conclusioni.

In letteratura non sono presenti molti studi che analizzino la correlazione tra peggioramento dello stato parodontale in soggetti affetti da GD e accumulo di placca. Tuttavia, è stato dimostrato che l'efficacia di adeguate misure di controllo di placca e tartaro, sia professionali che domiciliari, in associazione ad un regime di corticosteroidi nella maggior parte dei casi topici, migliorano la salute gengivale dei pazienti affetti da GD. In seguito all'educazione del paziente alle corrette manovre di igiene orale, che prevedono il ricorrere alla tecnica di Bass modificata per lo spazzolamento dei denti, l'utilizzo delle pastiglie rivelatrici di placca batterica e ovviamente del filo interdentale, si è notata una riduzione sostanziale degli indici di placca e sanguinamento pari al 15% in pazienti con GD e Lichen Planus Orale (23).

CENNI DI MICROBIOLOGIA

Nell'arco di tutta la vita, ogni superficie del nostro organismo è esposta alla colonizzazione da parte di microrganismi i quali, generalmente, vivono in sintonia con l'ospite. Per quanto riguarda il cavo orale, il costante rinnovamento delle superfici tramite l'esfoliazione evita l'accumulo di grandi masse di microrganismi. Al contrario, i denti presentano superfici dure non esfoliabili che favoriscono lo sviluppo di estesi depositi batterici. Si ritiene che il loro accumulo e metabolismo sulle superfici orali solide siano la causa principale di carie dentale, gengiviti, parodontiti, infezioni perimplantari e mucositi. È stato valutato che circa 700 specie batteriche diverse sono in grado di colonizzare il cavo orale e il numero di batteri presenti nei siti sottogengivali varia da 10^3 , nei solchi sani e poco profondi, a oltre 10^8 , nelle tasche parodontali profonde. Nella placca sopragengivale, invece, il loro numero può addirittura superare 10^9 su una singola superficie dell'elemento dentario. Nonostante questa innumerevole varietà microbica, le malattie parodontali sembrano essere causate da un numero definito di patogeni parodontali, che agiscono da soli o interagendo tra loro. L'associazione di batteri presenti nelle biopellicole miste non è casuale. Vi sono associazioni specifiche tra le specie batteriche sottogengivali. Da uno studio di Socransky et al. del 1998 (37) sono stati riconosciuti sei gruppi strettamente associati di specie batteriche, riportati nella *Figura 15*.

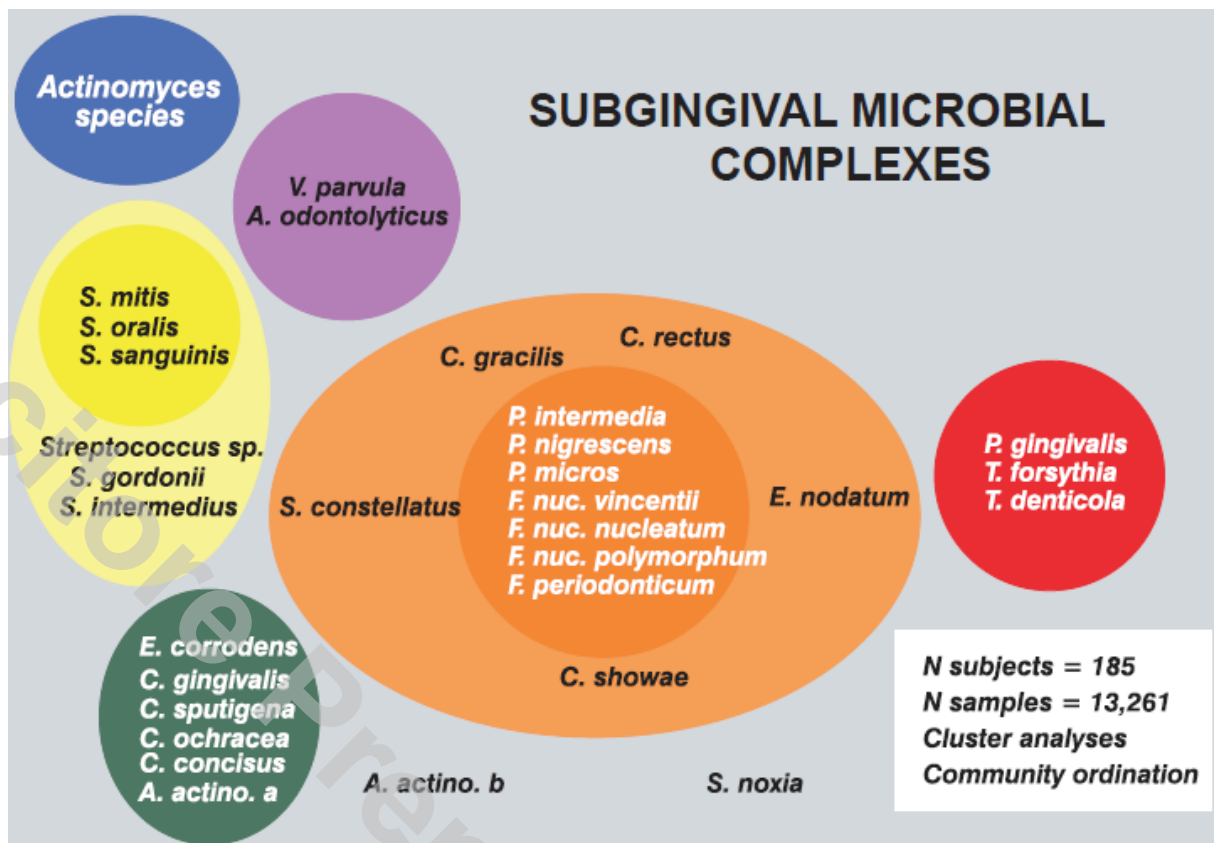


Figura 15: Diagramma di associazione tra specie sottogengivali. I complessi a sinistra sono formati dalle specie che si ritiene colonizzino la superficie dentale e proliferino in stadio precoce. Il complesso arancione diventa numericamente più consistente in un secondo tempo e si presume che funga da tramite tra i primi colonizzatori e le specie del complesso rosso, che predominano dal punto di vista numerico nelle fasi tardive di sviluppo della placca. J. Lindhe, N.P. Lang, T. Karring: Parodontologia Clinica e Implantologia Orale. Volume I: pag. 234. Quinta edizione: Edi-Ernes 2010.

Caratteristiche comuni nell'indurre la malattia infettiva sono: la necessità di attaccarsi ad una o più superfici, il bisogno di percepire e sfruttare le condizioni dell'ambiente circostante, la capacità di attivare o disattivare diversi fattori virulenti e quella di sfuggire ai meccanismi di difesa dell'ospite.

Gli organismi che causano malattia a carico dei tessuti parodontali risiedono in biopellicole, le quali forniscono un ambiente protettivo nei loro confronti e in grado di favorirne il metabolismo. Anche fattori ritentivi quali restauri incongrui, aree demineralizzate, o semplicemente fessure e tubuli dentinali, rappresentano luoghi di rifugio protetti nei quali viene favorito lo sviluppo di complesse comunità microbiche.

Il World Workshop of Periodontology del 1996, ha indicato come i tre più importanti patogeni parodontali siano l'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, il *Porphyromonas gingivalis* e la *Tannerella forsythia*.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans è un bastoncello Gram negativo, immobile, saccarolitico, capnofilo, arrotondato sui lati. È in grado di produrre una quantità di metaboliti patogeni, tra cui una leucotossina e una tossina dilatante citoletale. Recentemente è stato

dimostrato che tale batterio è in grado di invadere le cellule epiteliali della gengiva e le cellule endoteliali vascolari.

Si sospetta che colonizzi inizialmente la cavità orale aderendo alle superfici dell'epitelio orale. Esiste infatti una specifica adesina proteica, chiamata Aae, che si lega ad un recettore dei carboidrati sulle cellule dell'epitelio buccale e successivamente, mediante fimbrie, consente la migrazione del batterio fino a raggiungere la placca sopragengivale. Da qui si sposta nell'ambiente sottogengivale, dove invade il rivestimento epiteliale della tasca parodontale e probabilmente il connettivo sottostante (38).

Porphyromonas gingivalis è un bastoncello Gram negativo, asaccarolitico, anaerobio e non mobile, con morfologia variabile da quella di un cocco a quella di un bastoncello corto. Produce svariate collagenasi e proteasi, emolisine, endotossine, acidi grassi, ammoniaca e acido solfidrico ma, dettaglio più importante, è in grado di inibire la migrazione dei PMN (39) e influire sulla produzione e degradazione delle citochine (40).

Tannerella forsythia è un bastoncello Gram negativo, anaerobio, affusolato e altamente pleomorfo. È stato dimostrato che la crescita di questo microrganismo aumenta se coltivato insieme al *Fusobacterium nucleatum*, condizione che si verifica facilmente negli ambienti sottogengivali. La presenza di tale patogeno è rilevata maggiormente negli ambienti sottogengivali e sembra essere direttamente proporzionale alla profondità della tasca (41).

A questi tre batteri se ne aggiungono altri la cui attività parodontopatogena è evidente in letteratura, anche se necessita di ulteriori approfondimenti e chiarimenti. Questi ultimi sono principalmente rappresentati da: *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens* e *Capnocytophaga spp.*

PARTE SECONDA

MATERIALI E METODI

Reclutamento.

Lo studio di seguito riportato considera pazienti afferenti, nel periodo di tempo compreso tra il 2012 e il 2016, ai Reparti di Parodontologia e Patologia e Oncologia Orale del Centro Interdipartimentale di Ricerca Dental-School, appartenente al Dipartimento di Scienze Chirurgiche dell'Università di Torino e situato in Via Nizza 230. La popolazione è stata suddivisa in due gruppi, uno caso e uno controllo, ciascuno formato da 33 pazienti di origine caucasica e residenti in Piemonte. Per ogni gruppo sono poi stati fissati specifici criteri, indispensabili per valutare l'idoneità o meno all'inserimento del soggetto all'interno dello studio:

Gruppo caso. Costituito da 33 soggetti afferenti al Reparto di Patologia e Oncologia Orale, 19 affetti da Lichen Planus Orale e i restanti 14 da Pemfigoide delle Membrane Mucose.

Criteri di inclusione ai fini del lavoro di ricerca: aver effettuato diagnosi clinica e istologica di OLP facendo riferimento ai criteri WHO (42) già elencati nella sezione precedente; essere giunti a diagnosi clinica e istopatologica di MMP (43) sulla base della comparsa di processi subepiteliali di natura vescicolo-bollosa e dell'immunofluorescenza diretta; aver constatato la presenza di segni e sintomi di gengivite desquamativa;

Criteri di esclusione: aver riscontrato istologicamente segni di displasia; aver seguito la terapia per OLP e MMP nei sei mesi precedenti lo studio; essere donne in stato di gravidanza o in fase di allattamento.

Gruppo controllo. Formato da 33 soggetti afferenti al Reparto di Parodontologia, affetti semplicemente da gengivite indotta da placca, e il più possibile somiglianti al gruppo caso per quanto riguarda gli aspetti del sesso e dell'età.

Criteri di inclusione ai fini del lavoro di ricerca: aver rilevato segni e sintomi clinici di gengivite indotta da placca in pazienti che non hanno mai presentato gengivite desquamativa o altre manifestazioni connesse a OLP o MMP; aver verificato l'assenza di malattia parodontale e aver misurato indici di sanguinamento al sondaggio $\geq 20\%$ (7);

Criteri di esclusione: aver assunto antibiotici negli ultimi tre mesi o terapia eziologica parodontale negli ultimi sei mesi precedenti alla raccolta del campione e alla registrazione dei dati; essere fumatori.

Ogni soggetto partecipante allo studio ha compreso, accettato e firmato un consenso informato precedentemente approvato dal comitato etico.

Protocollo operativo.

Il protocollo operativo di cui ci siamo avvalsi ha previsto il susseguirsi di tre fasi principali: la prima di approccio clinico su paziente, la seconda di analisi dei campioni raccolti in laboratorio e la terza di organizzazione dei dati acquisiti nei passaggi precedenti.

Fase clinica.

1) Per ogni paziente, sono state raccolte le seguenti informazioni:

- nome e cognome, sesso, età, abitudine al fumo, peso, altezza, quadro anamnestico generale e odontoiatrico, e i restanti dati anagrafici di routine;
- per i soggetti appartenenti al gruppo caso ovviamente la patologia, tra OLP e MMP, di cui erano portatori e la severità delle lesioni correlate alla gengivite desquamativa;
- profondità di sondaggio o *probing depth* (PD): è la distanza in millimetri tra il margine gengivale libero e il fondo clinico della tasca gengivale. È stato eseguito un sondaggio di tipo circonferenziale, con movimenti verticali e senza mai uscire dal solco, effettuandolo su sei siti, tre vestibolari e tre linguali/palatini, per ogni dente. Nel farlo si è mantenuta la sonda parallela all'asse lungo del dente, il tutto per evitare errori di rilevazione. Dalle singole misurazioni si è poi giunti ad un PD medio rappresentativo del paziente;
- recessione o *recession* (REC): rappresenta la migrazione apicale del margine gengivale rispetto alla giunzione amelo-cementizia (CEJ) ed è stata valutata per ognuno dei sei siti sondati, in millimetri;
- livello di attacco clinico o *clinical attachment level* (CAL): è la distanza in millimetri tra la CEJ e il fondo della tasca gengivale e si calcola, nei casi in cui il margine gengivale sia apicale alla CEJ, sommando i valori di REC e PD. Dalle singole misurazioni si è poi giunti ad un CAL medio rappresentativo del soggetto;
- *full mouth plaque score* (FMPS): è una percentuale, si ricava dall'indice di placca rilevato sulle sei superfici di ogni elemento dentario ed è nello specifico

dato dal rapporto tra il numero dei siti con placca e il numero dei siti complessivi, il tutto moltiplicato per cento;

- *full mouth bleeding score* (FMBS): è una percentuale, si ricava dall'indice di sanguinamento al sondaggio rilevato sulle sei superfici di ogni elemento dentario ed è nello specifico dato dal rapporto tra il numero dei siti con sanguinamento e il numero dei siti complessivi, il tutto moltiplicato per cento. Si è considerato positivo a tale parametro ogni sito che, dopo inserimento della sonda durante il sondaggio, sanguinasse entro i 20 secondi dalla rimozione della stessa dal solco;
- numero di denti mancanti, escludendo poi dal conteggio i terzi molari;
- eventuale compromissione delle forcazioni degli elementi pluriradicolati e rilevamento della mobilità dentale;

La fase di raccolta dei dati è stata eseguita avvalendosi dei seguenti strumenti: a) sonda parodontale PCPUNC Hu-Friedy® (o sonda North Carolina): è graduata a intervalli di millimetri, con le tacche a 5, 10 e 15 mm segnate in grassetto in modo da renderla di facile lettura; b) kit di prima visita: composto da specchietto, pressella e specchio; c) cartella parodontale: su cui annotare i parametri registrati clinicamente; d) modulistica: per l'anamnesi, la parte anagrafica e i consensi informati; e) sonda di Nabers: è graduata ad intervalli di 3 mm ed è necessaria per il sondaggio delle forche.

2) Successivamente si è proceduto con il campionamento mediante i seguenti passaggi:

- scelta del sito di prelievo: per i controlli si sono individuati quattro siti per ogni paziente, uno per quadrante, caratterizzati dal PD maggiore ma entro i 3 mm e da positività agli indici di placca e sanguinamento; per i casi, invece, si sono selezionati quattro siti per ogni soggetto che, oltre ad avere il valore di PD precedente, fossero chiara manifestazione della gengivite desquamativa in atto;
- preparazione del sito selezionato: è stata delicatamente rimossa la placca batterica sopragengivale mediante l'ausilio di curettes e garze sterili; per contenere il più possibile l'umidità della zona si è tenuto attivo l'aspiratore e si è soffiata aria per tutte le fasi precedenti al posizionamento dei coni di carta. Infine si sono collocati batuffoli sterili di cotone nel vestibolo orale per allontanare i tessuti circostanti ed evitare che interferissero con le manovre;
- prelievo vero e proprio (*Figure 16 e 17*): per ogni sito sono stati posizionati, nel solco gengivale, due coni di carta sterili standardizzati e con diametro in punta pari a 0,30 mm. Li si è lasciati in sede per 20 secondi, in modo che si impregnassero adeguatamente della placca e del fluido crevicolare

sottogengivale, al termine dei quali sono stati posti in provette eppendorf sterili da 1,5 ml precedentemente etichettate con i dati del paziente e i siti di prelievo. I restanti coni di carta derivanti dai prelievi in corrispondenza degli altri siti selezionati, sono stati introdotti nella medesima provetta, poiché il test di laboratorio ha poi fornito dalla loro analisi un risultato unico per individuo, che fosse però il prodotto di prelievi multipli e in punti differenti;

- conservazione del materiale biologico: le provette eppendorf sono state quindi inviate al Reparto di Microbiologia dell'Ospedale Molinette di Torino e conservate alla temperatura di circa -18 C° fino alle successive analisi in laboratorio.



Figura 16 e 17: a sinistra: momento del posizionamento del cono di carta a livello sottogengivale in sede 2.5 MV e a destra: collocamento dello stesso all'interno di una provetta eppendorf. Reparto di Parodontologia, Dental School, Torino.

La fase di campionamento è stata eseguita avvalendosi dei seguenti strumenti (Figure 18 e 19): a) due apribocca e uno specchio laterale per la documentazione delle procedure cliniche; b) un aspira saliva, un puntale siringa aria acqua e alcuni batuffoli di cotone sterili per il controllo dell'umidità; c) una confezione di coni di carta ad uso endodontico; d) provette eppendorf; e) pressella e forbici; f) sonda parodontale PCPUNC e curettes Hu-Friedy®; g) garze sterili per la rimozione della placca sopragengivale.

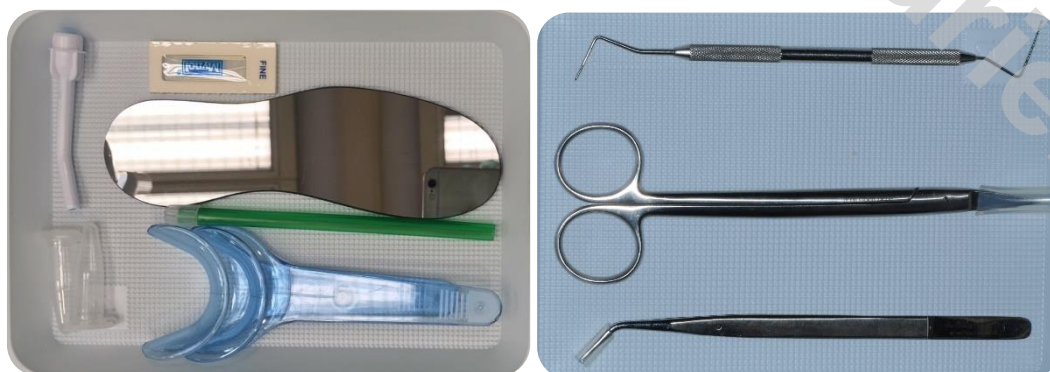


Figura 18 e 19: alcuni dei materiali utilizzati nella fase di campionamento. Reparto di Patologia e Oncologia Orale, Dental School, Torino.

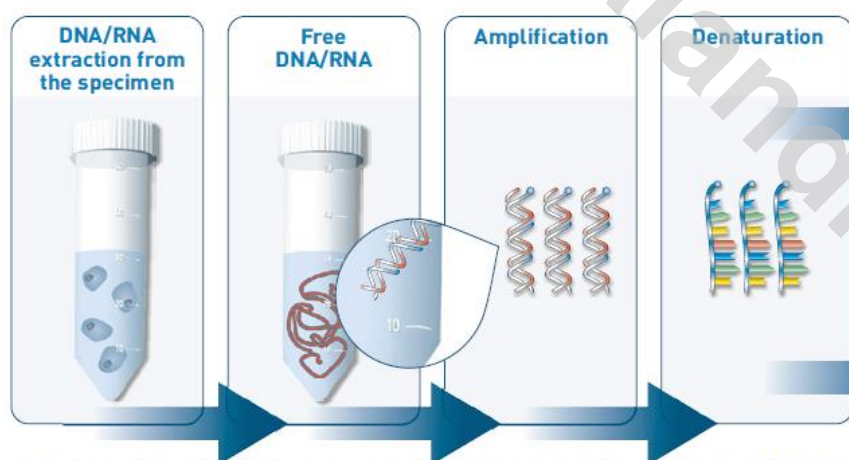
Fase di laboratorio.

L'analisi dei campioni è stata eseguita presso la Divisione di Microbiologia e Virologia, A.O.U CDSS - Ospedale Molinette di Torino, ed è stato usato il test genetico molecolare *Micro-IDent®plus11* (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany). Esso permette l'identificazione combinata, a partire dai campioni prelevati a livello del solco gengivale nella fase precedente, dei seguenti undici batteri parodontopatogeni: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens* e *Capnocytophaga spp* (*C. gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena*).

Principi della procedura.

Il test *micro-IDent®plus11* si compone di quattro fasi: a) estrazione del DNA a partire dal materiale biologico raccolto; b) amplificazione del materiale genetico presente; c) reazione di ibridazione inversa; d) lettura dei risultati.

Il test si basa sulla tecnologia DNA•STRIP (Figure 20 e 21): sulle strips sono presenti specifiche *probes*, ossia frammenti di DNA di lunghezza variabile utili per rilevare, nel DNA in esame, la presenza di determinate sequenze nucleotidiche (o DNA target) ad esse complementari ed in precedenza amplificate (e per questo definite ampliconi). Dopo la denaturazione, il singolo filamento di amplicone lega specificatamente la sua *probe* nel processo di ibridazione e tale processo si visualizza con reazioni enzimatiche colorimetriche successive. Come risultato finale si osserva uno specifico pattern a bande sulla DNA•STRIP.



Starting point of the analysis is a specimen from which the nucleic acid (DNA or RNA) is extracted. The nucleic acid is selectively amplified in a subsequent PCR reaction. Since single-stranded nucleic acid is required for both technologies, amplification is followed by a denaturation step.

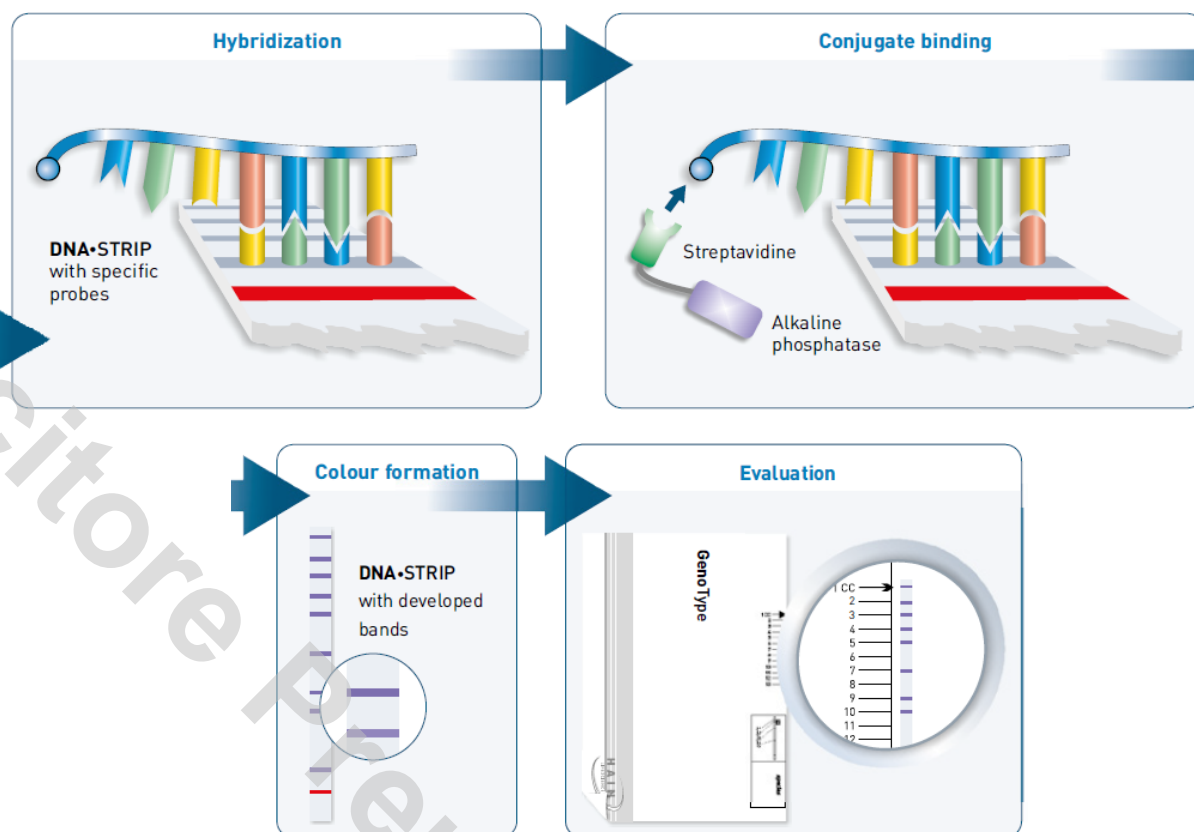


Figura 20 e 21: Tecnologia DNA•STRIP del test micro-IDent@plus11. Fonte: http://www.hain-lifescience.de/uploadfiles/file/technologie/technik_eng.pdf

a) Estrazione del DNA: i campioni sono stati lisati grazie a 200 μl di tampone di lisi, poi incubati per 30 minuti a 56 C°. In seguito, le provette sono state centrifugate per 5 minuti alla massima velocità ed è stato quindi raccolto il lisato ottenuto. Da questo si è estratto e purificato il DNA batterico mediante il macchinario automatico QIASymphony (Qiagen, Hilden, Germany), basato sulla tecnologia delle biglie magnetiche. Il volume finale di eluito è stato 90 μl ;

b) Amplificazione del DNA: due diverse reazioni di amplificazione *PCR multiplex* sono state eseguite per ogni campione, ricorrendo a primers biotinilati. Nelle due mix di amplificazione sono stati aggiunti 2,5 μl di DNA per ognuna. Le reazioni PCR si sono portate a termine grazie al termociclatore SEEAMP (Seegen e Inc., Seoul, Korea), seguendo profili di temperatura per tempi specifici, come indicato nel protocollo dell'apparecchiatura stessa.

c) Ibridazione: i prodotti della PCR sono stati identificati attraverso l'ibridazione su strisce di nitrocellulosa contenenti specifiche *probes* per i batteri parodontopatogeni ricercati. In particolare, il coniugato streptavidina-fosfatasi alcalina, lega gli ampliconi biotinilati attraverso la porzione della streptavidina. Infine, la fosfatasi alcalina trasforma il substrato in colore precipitato, che diventa visibile sulla membrana della strip. Quindi il successo di questa fase si evidenzia mediante il verificarsi o meno della reazione colorimetrica.

d) Lettura dei risultati: una mascherina (Figura 22) permette la facile e rapida interpretazione del pattern di bande ottenute. Per ogni batterio sono state analizzate due variabili: la prevalenza, cioè la presenza o meno sulla strip della banda ad esso correlata, e un valore semi-quantitativo derivante dall'intensità di colorazione della banda corrispondente e classificabile come segue:

- (valore 0) = $x < 10^3$

+ (valore 1) = $10^3 < x < 10^4$

++ (valore 2) = $10^4 < x < 10^6$

+++ (valore 3) = $10^6 < x < 10^7$

++++ (valore 4) = $x > 10^7$

Dove:

x = batterio parodontopatogeno considerato;

- = assenza della banda nella posizione predefinita e quindi assenza del batterio;

Da + a ++++ = colore sempre più intenso della banda riferita ad uno specifico microorganismo.

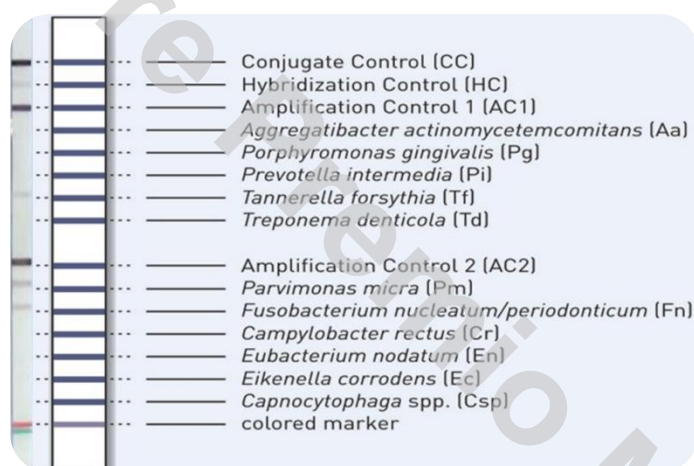


Figura 22: Esempio di lettura tramite mascherina di una strip derivante da un paziente del gruppo controllo. In particolare gli si sono attribuiti i seguenti valori: 1 per la Tannerella Forsythia; 2 per il Peptostreptococco Micros e 2 per il Fusobacterium Nucleatum.

Fase di organizzazione dei dati.

Analisi statistica.

I dati sono stati riportati come frequenza assoluta e percentuale o come media e deviazione standard rispettivamente per le variabili qualitative e quantitative.

Le variabili riferite ai batteri sono state entrambe considerate come continue e categoriche e si sono suddivise, infatti, in tre categorie: “assente”, con valore 0; “bassa presenza”, con valore 1 o 2; “alta presenza”, con valore 3 o 4.

Le differenze tra i casi e i controlli e tra i diversi tipi di gengivite non indotta da placca, sono state valutate usando il test di Wilcoxon della somma dei ranghi, mentre per le variabili quantitative si è ricorsi al test esatto di Fisher o a quello del chi quadrato. Per le variabili qualitative si è valutato, a seconda delle situazioni, quello più opportuno.

L'odds ratio (OR) e l'intervallo di confidenza al 95% (95% CI) per valutare il rischio di gengivite desquamativa associato all'esposizione ai batteri, sono stati ottenuti con modelli di regressione logistica univariati e multivariati, aggiustati per età, BMI, FMPS, FMBS e

numero di denti mancanti. Non sono invece stati aggiustati per CAL e PD a causa della collinearità.

Tutte le analisi sono state realizzate usando SAS 9.2 e per i test a due code il livello di significatività è stato fissato al 5%.

Risultati e tabelle.

Inizialmente si sono selezionati 88 pazienti ma 14 di questi, nello specifico 6 casi e 8 controlli, sono stati esclusi a causa di una diagnosi non perfettamente conforme ai criteri di costruzione dello studio, mentre altri 8 pazienti hanno rifiutato di firmare il consenso informato impedendoci di proseguire oltre. Alla fine, quindi, sono stati inclusi nello studio un totale di 66 soggetti: 33 per il gruppo caso e altrettanti per quello controllo.

Le caratteristiche demografiche e i parametri parodontali medi del cavo orale dei partecipanti al lavoro di ricerca, al momento del loro inserimento nello studio, sono riportati nella *tabella 1*. Nel gruppo caso, l'età media è di 68.85 anni (\pm 13.55), mostrando un'alta percentuale di pazienti affetti da OLP o MMP e DG nella sesta (10 soggetti), nella settima (8 soggetti) e nell'ottava (8 soggetti) decade di vita. Come ci si poteva aspettare, invece, i controlli sono decisamente più giovani rispetto ai casi, questo a causa della natura della gengivite indotta da placca, che generalmente colpisce individui dalla giovinezza alla mezza età, e a causa dei criteri di inclusione stabiliti. I pazienti con DG presentano dei valori medi decisamente più alti in modo statisticamente significativo, di FMPS ($p < 0.0001$), di FMBS ($p < 0.0001$), di PD ($p < 0.0001$) e del numero di denti mancanti ($p < 0.0001$), se confrontati con il gruppo controllo. Tuttavia, queste differenze piuttosto marcate, sembrerebbero non essere dovute alla DG in sé quanto piuttosto alla minore compliance dei soggetti con DG nell'eseguire le manovre e nell'utilizzo dei prodotti per l'igiene orale domiciliare, assumendo quindi nel complesso una scarsa rilevanza clinica. Questo è tanto più vero osservando i valori di PD che, nonostante siano differenti in modo statisticamente significativo tra i due gruppi, risultano entro i 3 mm considerati fisiologici sia per casi che per i controlli.

| Parameters | Controls (n=33) | Cases (n=33) | p-value* |
|---------------|-----------------|---------------|----------|
| Age | 57.58 (12.99) | 68.85 (13.55) | 0.002 |
| BMI | 24.63 (2.62) | 25.97 (3.66) | 0.13 |
| PD | 2.14 (0.32) | 2.73 (0.69) | <0.0001 |
| CAL | 2.35 (0.33) | 3.48 (0.98) | <0.0001 |
| FMPS | 53.58 (20.92) | 73.35 (21.41) | 0.001 |
| FMBS | 38.51 (11.55) | 70.61 (25.76) | <0.0001 |
| Missing teeth | 2.18 (3.47) | 7.82 (5.18) | <0.0001 |

Tabella 1: Caratteristiche generali della popolazione. Definizioni: BMI: body mass index; PD: probing pocket depths; CAL: clinical attachment level; FMPS: full mouth plaque scores; FMBS: full mouth bleeding upon probing scores. *P-values from Wilcoxon sum rank test.

Nella *tabella 2* sono riassunte le frequenze e i valori di presenza degli undici batteri parodontopatogeni indagati sia nel gruppo caso che in quello controllo. Considerando l'intero campione, *Peptostreptococcus micros* e *Campylobacter rectus* sono le uniche due specie rilevate in misura minore nei casi rispetto ai controlli, sebbene in modo non statisticamente significativo. Invece *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* e *Eikenella corrodens*, hanno una prevalenza e dei valori di presenza nell'ambiente sottogengivale che sono statisticamente più alti nei pazienti con DG rispetto a quelli con gengivite indotta da placca (GI).

| Bacterium* | Cases mean (SD) | Controls mean (SD) | p-value [§] | Value = 0 N co/N ca | Value = 1-2 N co/N ca | Value = 3-4 N co/N ca | p-value [¶] |
|------------|-----------------|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| AA | 0.61 (1.20) | 0.12 (0.70) | <u>0.02</u> | 32/25 | 0/5 | 1/3 | <u>0.02</u> |
| PG | 1.03 (1.21) | 0.88 (1.36) | 0.38 | 21/16 | 7/14 | 5/3 | 0.19 |
| PI | 0.73 (1.31) | 0.39 (1.06) | 0.23 | 28/24 | 3/4 | 2/5 | 0.48 |
| BF | 1.39 (1.34) | 0.91 (1.23) | 0.11 | 19/14 | 11/8 | 3/11 | 0.06 |
| TD | 0.88 (1.27) | 0.61 (1.00) | 0.46 | 22/20 | 8/7 | 3/6 | 0.60 |
| PM | 0.58 (0.94) | 0.79 (1.05) | 0.35 | 19/23 | 11/9 | 3/1 | 0.48 |
| FN | 2.64 (1.22) | 2.00 (1.25) | <u>0.01</u> | 7/5 | 12/2 | 14/26 | <u>0.003</u> |
| CR | 0.48 (0.83) | 0.58 (1.12) | 0.94 | 24/24 | 5/9 | 4/0 | 0.07 |
| EN | 0.21 (0.78) | 0.15 (0.62) | 0.66 | 31/30 | 1/2 | 1/1 | 0.99 |
| EC | 1.70 (1.47) | 0.91 (1.16) | <u>0.02</u> | 18/11 | 12/10 | 3/12 | <u>0.03</u> |
| CS | 1.48 (1.28) | 1.30 (1.33) | 0.52 | 14/10 | 12/15 | 7/8 | 0.60 |

Tabella 2: Frequenza e livelli di presenza espressi con valori da 0 a 4°, dei batteri indagati, nei pazienti appartenenti al gruppo caso e controllo. °0 = species non-presented; 1-2 = species < 10⁶; 3-4 = species > 10⁶. *AA: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; PG: *Porphyromonas gingivalis*; PI: *Prevotella intermedia*; BF: *Tannerella forsythia*; TD: *Treponema denticola*; PM: *Peptostreptococcus micros*; FN: *Fusobacterium nucleatum*; CR: *Campylobacter rectus*; EN: *Eubacterium nodatum*; EC: *Eikenella corrodens*; CS: *Capnocytophaga spp.* §Wilcoxon sum rank test. ¶Fisher's exact test.

La *tabella 3*, invece, mostra gli ORs crudi e aggiustati per i tre batteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* e *Eikenella corrodens*. Dopo aggiustamento per età, BMI, FMPS, FMBS e numero di denti mancanti, si è visto che la colonizzazione sottogengivale di *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Fusobacterium nucleatum* non era più associata in modo statisticamente significativo al rischio di avere DG. Questo a differenza di *Eikenella corrodens* che, se presente e con alti valori a livello sottogengivale, aumenta di 15 volte il rischio di avere manifestazioni di DG.

| Bacterium* | Quantity [°] | Crude OR | 95% CI | Adjusted OR | 95% CI |
|------------|-----------------------|----------|------------|-------------|-------------|
| AA | 0 | Ref | | Ref | |
| | 1-4 | 8.62 | 1.00-74.57 | 0.54 | 0.03-9.69 |
| FN | 0 | Ref | | Ref | |
| | 1-2 | 0.23 | 0.03-1.54 | 0.45 | 0.03-6.05 |
| | 3-4 | 2.60 | 0.70-9.72 | 1.68 | 0.27-10.53 |
| EC | 0 | Ref | | Ref | |
| | 1-2 | 1.36 | 0.44-4.20 | 2.34 | 0.36-15.05 |
| | 3-4 | 6.55 | 1.50-28.49 | 15.70 | 1.81-136.46 |

Tabella 3: Modelli di regressione univariata e multivariata per i 3 batteri selezionati * AA: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; FN: *Fusobacterium nucleatum/periodonticum* e EC: *Eikenella corrodens*. I modelli multivariati sono stati aggiustati per età, BMI, FMPS, FMBS e numero di denti mancanti. ° 0 = species non-presented; 1-2 = species < 10⁶; 3-4 = species > 10⁶.

Infine la tabella 4 descrive le differenze tra le frequenze e i valori di presenza degli undici batteri indagati, questo non solo nell'ambito del gruppo caso e quindi in presenza di DG ma anche in relazione alla patologia autoimmune diagnosticata. Il gruppo caso, costituito da 33 soggetti, è stato così composto: 19 pazienti affetti da OLP e 14 da MMP. Tuttavia, come è possibile notare, non sono state rilevate differenze statisticamente significative per quanto riguarda il profilo microbiologico delle due tipologie di pazienti con DG.

| Bacterium* | OLP mean (SD) | MMP mean (SD) | p-value [§] | Value = 0 N g1/N g2 | Value = 1-2 N g1/N g2 | Value = 3-4 N g1/N g2 | p-value [¶] |
|------------|---------------|---------------|----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| AA | 0.63 (1.34) | 0.57 (1.02) | 0.79 | 15/10 | 2/3 | 2/1 | 0.84 |
| PG | 1.37 (1.34) | 0.57 (0.85) | 0.08 | 7/9 | 9/5 | 3/0 | 0.19 |
| PI | 0.74 (1.33) | 0.71 (1.33) | 0.96 | 14/10 | 2/2 | 3/2 | 0.99 |
| BF | 1.74 (1.33) | 0.93 (1.27) | 0.11 | 6/8 | 5/3 | 8/3 | 0.37 |
| TD | 0.89 (1.24) | 0.86 (1.35) | 0.82 | 11/9 | 4/3 | 4/2 | 0.99 |
| PM | 0.58 (0.96) | 0.57 (0.94) | 0.94 | 13/10 | 5/4 | 1/0 | 0.99 |
| FN | 2.53 (1.39) | 2.79 (0.97) | 0.95 | 4/1 | 0/2 | 15/11 | 0.22 |
| CR | 0.42 (0.84) | 0.57 (0.85) | 0.48 | 15/9 | 4/5 | 0/0 | 0.44 |
| EN | 0.26 (0.93) | 0.14 (0.53) | 0.77 | 17/13 | 1/1 | 1/0 | 0.99 |
| EC | 1.63 (1.57) | 1.79 (1.37) | 0.76 | 8/3 | 3/7 | 8/4 | 0.12 |
| CS | 1.16 (1.26) | 1.93 (1.21) | 0.08 | 8/2 | 8/7 | 3/5 | 0.18 |

Tabella 4: Presenza o assenza, e livelli di presenza espressi con valori da 0 a 4°, dei batteri indagati, nei pazienti appartenenti al gruppo caso, quindi con DG, ma suddivisi in relazione alla patologia autoimmune che è stata loro diagnosticata (OLP=g1 o MMP=g2). °0 = species non-presented; 1-2 = species < 10⁶; 3-4 = species > 10⁶. *AA: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; PG: *Porphyromonas gingivalis*; PI: *Prevotella intermedia*; BF: *Tannerella forsythia*; TD: *Treponema denticola*; PM: *Peptostreptococcus micros*; FN: *Fusobacterium nucleatum*; CR: *Campylobacter rectus*; EN: *Eubacterium nodatum*; EC: *Eikenella corrodens*; CS: *Capnocytophaga spp.* §Wilcoxon sum rank test. ¶Fisher's exact test.

Dai dati raccolti durante la fase clinica è poi stato possibile completare quanto affermato in precedenza mediante la costruzione e l'analisi delle seguenti tabelle.

| COMPLESSO | Frequenza di riscontro Casi TOTALE | Frequenza di riscontro Casi OLP | Frequenza di riscontro Casi MMP |
|-----------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | 66.67% | 78.95% | 50.00% |
| | 87.88% | 78.95% | 100.00% |
| | 30.30% | 26.32% | 35.71% |
| | 78.79% | 68.42% | 92.86% |
| | 24.24% | 21.05% | 28.57% |

Tabella 5: Analisi delle frequenze di riscontro dei vari complessi batterici nel gruppo caso e successiva loro suddivisione in relazione alla patologia diagnostica: OLP o MMP. In grassetto le % maggiori e minori di ogni colonna.

La tabella 5 analizza la frequenza di riscontro dei complessi batterici non solo genericamente nel gruppo caso, ma anche in relazione alla patologia diagnostica in quegli stessi pazienti: OLP o MMP.

| COMPLESSO | Frequenza di riscontro Controlli TOTALE |
|-----------|--|
| | 48.49% |
| | 78.79% |
| | 27.27% |
| | 63.64% |
| | 3.03% |

Tabella 6: Analisi delle frequenze di riscontro dei vari complessi batterici nel gruppo controllo. In grassetto le % maggiori e minori.

La tabella 6 si sofferma sulla frequenza di riscontro dei complessi batterici nel gruppo controllo, rappresentato da soggetti con gengivite indotta da placca.

Entrambe le tabelle, così come le successive, si basano sulla suddivisione degli undici batteri parodontopatogeni indagati in complessi così costituiti: il rosso da *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*; l'arancione da *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros* e *Fusobacterium nucleatum*; il giallo da *Campylobacter rectus* e *Eubacterium nodatum*; il verde da *Eikenella corrodens* e *Capnocytophaga spp* (*C. gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena*); infine l'azzurro da *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Analizzando le due tabelle si osserva come il complesso batterico più rappresentato sia nel gruppo caso che in quello controllo, sia l'arancione, con una frequenza di riscontro rispettivamente di 87,88 e 78,79%. Quello meno presente è invece l'azzurro, che si ritrova nel 24,24% dei soggetti con DG e nel 3,03% di quelli con GI. Nello specifico, poi, nei pazienti con OLP si osserva il primato del complesso rosso e di quello arancione con un'identica percentuale del 78,95%. Interessante è constatare, invece, come almeno uno dei tre batteri del gruppo arancione sia stato ritrovato in tutti i pazienti con MMP. Infine, il complesso azzurro risulta il meno frequente tanto negli individui con OLP quanto in quelli con MMP, collocandosi in un range tra il 20 e il 30%.

Le successive tabelle 7 e 8, invece, analizzano la frequenza di riscontro dei singoli batteri indagati sia nei controlli che nei casi, in quest'ultimo caso differenziando ancora i risultati in base alla patologia diagnosticata.

Il *Fusobacterium nucleatum* è risultato essere associato alle percentuali di riscontro più alte sia nei soggetti genericamente affetti da DG, con l'84,85%, sia in quelli con DG e OLP (78,95%), DG e MMP (92,86%) e anche in quelli con la sola GI per il 78,79%. L'*Eubacterium nodatum* è invece il meno rappresentato nei pazienti con DG in generale (9,09%), in quelli con DG e Lichen Planus Orale (10,53%) e DG e Pemfigoide delle Membrane Mucose (7,14%). Infine, nella tabella 8 e in corrispondenza della colonna relativa al gruppo controllo, si ha modo di verificare come il microrganismo connesso alle minori percentuali di riscontro sia l'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (3,03%).

Queste ultime quattro tabelle non considerano i livelli di presenza dei batteri precedentemente espressi con i valori 0, 1, 2, 3 e 4, ma solamente la presenza o meno degli stessi.

| SERIE BATTERICA | Frequenza di riscontro Casi TOTALE | Frequenza di riscontro Casi OLP | Frequenza di riscontro Casi MMP |
|--|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Aggregatibacter actinomycetemcomitans | 8/33 (24.24%) | 4/19 (21.05%) | 4/14 (28.57%) |
| Porphyromonas gingivalis | 17/33 (51.52%) | 12/19 (63.16%) | 5/14 (35.71%) |
| Prevotella intermedia | 9/33 (27.27%) | 5/19 (26.32%) | 4/14 (28.57%) |
| Tannerella forsythia | 19/33 (57.58%) | 13/19 (68.42%) | 6/14 (42.86%) |
| Treponema denticola | 13/33 (39.39%) | 8/19 (42.11%) | 5/14 (35.71%) |
| Peptostreptococcus micros | 10/33 (30.30%) | 6/19 (31.58%) | 4/14 (28.57%) |
| Fusobacterium nucleatum | 28/33 (84.85%) | 15/19 (78.95%) | 13/14 (92.86%) |
| Campylobacter rectus | 9/33 (27.27%) | 4/19 (21.05%) | 5/14 (35.71%) |
| Eubacterium nodatum | 3/33 (9.09%) | 2/19 (10.53%) | 1/14 (7.14%) |
| Eikenella corrodens | 22/33 (66.67%) | 11/19 (57.90%) | 11/14 (78.57%) |
| Capnocytophaga Spp | 23/33 (69.70%) | 11/19 (57.90%) | 12/14 (85.71%) |

| SERIE BATTERICA | Frequenza di riscontro Casi TOTALE | Frequenza di riscontro Controlli TOTALE |
|--|------------------------------------|---|
| Aggregatibacter actinomycetemcomitans | 8/33 (24.24%) | 1/33 (3.03%) |
| Porphyromonas gingivalis | 17/33 (51.52%) | 12/33 (36.36%) |
| Prevotella intermedia | 9/33 (27.27%) | 5/33 (15.15%) |
| Tannerella forsythia | 19/33 (57.58%) | 14/33 (42.42%) |
| Treponema denticola | 13/33 (39.39%) | 11/33 (33.33%) |
| Peptostreptococcus micros | 10/33 (30.30%) | 14/33 (42.42%) |
| Fusobacterium nucleatum | 28/33 (84.85%) | 26/33 (78.79%) |
| Campylobacter rectus | 9/33 (27.27%) | 9/33 (27.27%) |
| Eubacterium nodatum | 3/33 (9.09%) | 2/33 (6.06%) |
| Eikenella corrodens | 22/33 (66.67%) | 15/33 (45.46%) |
| Capnocytophaga Spp | 23/33 (69.70%) | 19/33 (57.58%) |

Sopra: *Tabella 7*: Analisi delle frequenze di riscontro dei singoli batteri nel gruppo caso e successiva loro suddivisione in relazione alla patologia diagnostica: OLP o MMP. In grassetto le % maggiori e minori di ogni colonna.

A sinistra: *Tabella 8*: Analisi delle frequenze di riscontro dei singoli batteri nel gruppo controllo e successivo confronto degli stessi parametri valutati però nel gruppo caso. In grassetto le % maggiori e minori di ogni colonna.

PARTE TERZA

DISCUSSIONE

L'attuale letteratura scientifica internazionale è fortemente carente di studi caso-controllo che analizzino l'associazione tra i più comuni batteri parodontopatogeni del biofilm sottogengivale, in soggetti con gengivite desquamativa e in individui invece con gengivite indotta da placca. In effetti questo sembrerebbe essere ad oggi l'unico studio che tenta di affrontare questa questione in modo approfondito.

Precedentemente, Lo Russo e co-autori (44) esaminarono una serie di pazienti affetti da DG (8 con OLP e 4 con MMP) con lo scopo di studiare le correlazioni tra i parametri clinici caratteristici delle parodontiti indotte da placca e la microbiologia parodontale. Essi notarono qualche variazione dei valori di PD, CAL, FMPS e REC non dipendenti dalla DG bensì dalla patologia (OLP o MMP) diagnosticata, e constatarono invece una correlazione statisticamente significativa tra le lesioni gengivali in soggetti con OLP e la presenza di *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Gli autori, tuttavia, sottolinearono i limiti dello studio dovuti alla modesta numerosità del campione e dunque la necessità di ulteriori lavori di ricerca che si focalizzassero sugli aspetti clinici e microbiologici parodontali dei disordini correlati a DG, in modo da chiarirne meglio la possibile interferenza con le patologie correlate alla placca.

Al contrario Ertugrul e co-autori (45), notarono come nei soggetti affetti da OLP ci fossero dei livelli di riscontro per *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Prevotella intermedia* sensibilmente più alti rispetto ai pazienti privi di diagnosi di OLP. Ciò li portò a concludere come, nel Lichen Planus Orale, la maggior propensione ad essere infettati da microrganismi parodontopatogeni potesse aiutare a comprendere l'importanza di certe specie batteriche nella progressione delle problematiche parodontali correlate a tale patologia.

Nonostante la mancanza di un gruppo di controllo, questi due studi sono stati particolarmente utili per l'identificazione del profilo microbico sottogengivale in pazienti con disordini autoimmuni orali.

Nel presente studio si è ricorsi alla tecnica PCR per identificare, a partire da campioni sottogengivali prelevati da pazienti con DG e GI, undici patogeni parodontali. Nonostante siano stati analizzati più siti, si sono poi trasferiti tutti i coni di carta in un'unica provetta con lo scopo di aumentare la probabilità di riscontro dei batteri presenti (46). È poi stato

dimostrato che la conta batterica non aumenta solo con quanto appena descritto, ma anche campionando i siti per ogni quadrante con la maggiore profondità di sondaggio, pur rimanendo nel nostro caso entro i limiti dettati dai criteri di inclusione iniziali (47). In aggiunta a ciò Nickles e co-autori, hanno verificato come l'analisi unica dei campioni di placca sottogengivale prelevati da quattro siti opportunamente selezionati, sia tanto valida quanto quella derivante da sei siti ai fini della descrizione dei livelli dei patogeni parodontali caratteristici del paziente (48).

In questo studio il *Fusobacterium nucleatum* è risultato essere significativamente più alto nei campioni sottogengivali di pazienti con DG rispetto a quelli con GI, seguito da *Eikenella corrodens* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, anch'essi caratterizzati da un'elevata frequenza di riscontro nei casi, nello specifico rispettivamente del 66,7% e del 24,2%. Nonostante gli alti tassi di frequenza e i rilevanti livelli di presenza degli altri batteri in DG, ad eccezione delle uniche due specie meno rappresentate nei casi rispetto ai controlli (*Peptostreptococcus micros* e *Campylobacter rectus*), non sono state trovate differenze statisticamente significative se confrontati con i soggetti affetti da GI. I dati derivanti dai lavori di ricerca precedenti sono piuttosto conflittuali: mentre uno (44) aveva notato la presenza di *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in tutti i campioni sottogengivali prelevati da siti con DG in pazienti OLP positivi, l'altro studio non giunse affatto alle medesime conclusioni (49). Solamente un lavoro riporta una prevalenza del 48,1% di *Eikenella corrodens* in corrispondenza di siti orali con lesioni asintomatiche e di carattere non ulcerativo in soggetti con OLP (50).

Rispetto al numero dei lavori di ricerca che analizzano il microbiota delle parodontiti, sono relativamente pochi quelli che si occupano invece globalmente del microbiota delle gengiviti in pazienti sani.

In presenza di GI, le frequenze di riscontro del *Fusobacterium nucleatum* (78,79%) e *Campylobacter rectus* (27,27%) misurate, sembrerebbero essere in linea con quelle valutate in altri studi (51) e (52). I dati pubblicati in letteratura mostrano come il *Fusobacterium nucleatum* sia uno dei più abbondanti batteri Gram negativi e anaerobi presenti nella placca sopra e sottogengivale, sia in soggetti sani sia in quelli con malattia parodontale (53). Questo è confermato anche nelle *tabelle 7 e 8*, dove se ne constata l'ubiquità tanto nel gruppo caso quanto in quello controllo. Il *Fusobacterium nucleatum*, oltre ad indurre nei leucociti il rilascio di citochine, elastasi e radicali dell'ossigeno, svolge il ruolo fondamentale nell'ecosistema sottogengivale di specie ponte, in grado dunque di facilitare la coaggregazione tra le diverse specie batteriche presenti (1). Tra i batteri analizzati, la coinfezione delle specie appartenenti al complesso rosso, ossia *Porphyromonas gingivalis*,

Tannerella forsythia e *Treponema denticola*, è stata rilevata nel 18,2% dei pazienti, valore che ricade nel range definito da altri autori e compreso tra il 6 e il 26% (54). L'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, invece, ha interessato un solo paziente con GI, mostrandosi il batterio con la minor prevalenza. Questo risultato sembrerebbe essere simile a quello ottenuto in altri lavori di ricerca effettuati in Europa (55) (52), mentre sarebbe nettamente più basso rispetto ad alcuni studi portati a termine in America (51) (56) (57). È possibile che tali differenze nelle frequenze di riscontro di questo importante batterio parodontopatogeno possano essere dovute, almeno in parte, alla diversa razza e origine geografica dei pazienti.

È importante evidenziare come siano state evidenziate differenze statisticamente significative tra gruppo caso e controllo per quanto riguarda la percentuale di siti con sanguinamento al sondaggio, PD e numero di denti persi. I parametri parodontali valutati sui pazienti con DG sono simili a quelli pubblicati dal nostro stesso gruppo di ricerca precedentemente, e confermano che la loro condizione parodontale è decisamente peggiore rispetto ai controlli, indipendentemente dallo stato di salute o di infiammazione dei tessuti parodontali (32) (58) (59).

Nonostante la carenza di informazioni circa l'impatto e la potenziale influenza della gengivite desquamativa connessa a OLP o MMP sulla comparsa e progressione di patologie parodontali correlate alla placca, ad oggi si sono ipotizzati alcuni meccanismi che potrebbero avere un ruolo in questo senso. In primo luogo, come effetto indiretto, la DG potrebbe compromettere l'efficacia delle manovre di igiene orale domiciliare a causa della sintomatologia connessa alle sue lesioni, determinando dunque un accumulo importante di placca batterica. D'altro canto, gli effetti diretti delle lesioni associate a DG sulla malattia parodontale potrebbero essere dovuti alla condivisione degli stessi meccanismi e mediatori patogenetici. Infatti, la patogenesi dei problemi parodontali placca correlati, coinvolge una risposta infiammatoria locale, a sua volta favorita dal rilascio di citochine quali IL-1 e TNF- α , e l'attivazione del sistema immunitario stimolata dai fattori batterici. Analogamente, i disordini associati alla gengivite desquamativa e nello specifico OLP e MMP, vedono come protagonisti proprio lo svilupparsi di reazioni autoimmuni e infiammatorie, nonché il rilascio di molecole quali, ad esempio nel caso di OLP, proprio il TNF- α (60).

In effetti la patogenicità dei microrganismi è correlata tanto alla particolare capacità innata o infiammatoria o immunitaria del singolo ospite quanto alla virulenza dei batteri stessi. Ad esempio, la distruzione tissutale, potrebbe essere il risultato di enzimi microbici che digeriscono direttamente il tessuto ma anche, e più probabilmente, della risposta dell'ospite nei confronti di tali enzimi o componenti fisiologiche batteriche, quali i lipopolisaccaridi della membrana esterna dei Gram negativi (1).

Con l'obiettivo di distinguere la DG rispetto alla GI e stabilire il rischio di DG sulla base dei parametri microbiologici, si è ricorsi a modelli di regressione logistica multivariati opportunamente aggiustati per i parametri parodontali. Dalle analisi risulta che alti livelli sottogengivali di *Eikenella corrodens* aumentino di 15 volte il rischio di avere manifestazioni di DG. Anche la presenza di *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Fusobacterium nucleatum* mostrava un'associazione statisticamente significativa con DG, ma solamente nell'analisi univariata e non nei modelli multivariati. È ormai noto come i patogeni parodontali si organizzino, nell'ambiente sottogengivale, in complessi (37). In particolare *Eikenella corrodens* ne forma uno con *Campylobacter concisus* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Un altro studio mette in risalto come la presenza di *Eikenella corrodens* sia associata a *Capnocytophaga spp* o a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (61). Di fatto, la possibilità di organizzarsi in complessi, favorisce enormemente la presenza del batterio nel biofilm sottogengivale.

L'*Eikenella corrodens* è un piccolo bastoncello Gram negativo, riconosciuto come patogeno in alcune forme di malattia quali l'osteomielite, le infezioni del sistema nervoso centrale e quelle del canale radicolare. Di recente si è osservato, nell'ambito del cavo orale, come sia attivamente coinvolto nei processi di degradazione delle componenti della matrice extracellulare stimolando i fibroblasti a produrre enzimi come le gelatinasi (62). Ertugrul e co-autori constatarono, in soggetti OLP positivi, un'elevata presenza di gelatinasi nel fluido crevicolare e nei tessuti gengivali, suggerendo come tale incremento dei livelli enzimatici, unito a scarse condizioni di igiene orale, potesse condurre a serie problematiche a carico dei tessuti parodontali (63). Recentemente, si è osservato un coinvolgimento dell'*Eikenella corrodens* nell'ambito del complesso fenomeno del quorum sensing, mediante il quale i batteri percepiscono il loro numero, regolano l'espressione di geni particolari e comunicano grazie all'accumulo di specifici composti di segnalazione. Il batterio in esame sembrerebbe infatti essere in grado di modulare, in relazione alla sua fase di crescita, i quantitativi della molecola AI-2 (*autoinducer-2*), considerata un segnale universale di mediazione dei messaggi tra comunità di microrganismi miste e a cui le specie commensali rispondono nel caso di bassi livelli, mentre i patogeni nel caso di alti livelli. Da qui si era dunque ipotizzato che quando i patogeni si insediavano in una comunità di specie miste, la produzione di alti livelli di AI-2 potesse favorire la crescita della componente patogena e minimizzare quella delle specie commensali. *Eikenella corrodens*, risultando in grado di produrre e degradare AI-2 facendone variare i quantitativi e dunque i segnali trasmessi ai batteri circostanti, conferma il suo ruolo di specie ponte tra i colonizzatori precoci e tardivi dell'ambiente sottogengivale (64).

Diversi studi dimostrano come il controllo della quantità e qualità della placca batterica sottogengivale possa essere fatto mediante terapia parodontale (65). Nello specifico Tanner e co-autori misero in rilievo come nei siti trattati con successo, l'*Eikenella corrodens* fosse presente in proporzioni nettamente inferiori rispetto a quelle di partenza (66).

I risultati microbiologici a cui siamo giunti, dunque, forniscono ulteriori prove scientifiche dell'importanza di promuovere l'igiene orale non solo domiciliare ma anche e soprattutto professionale, in modo tale che le sedute di quest'ultima si ripetano più frequentemente e siano seguite con maggiore rigore dai pazienti con GD rispetto a quelli con GI. Ovviamente questo in parallelo con il trattamento farmacologico, laddove lo si ritenga necessario, caratteristico della patologia mucocutanea diagnosticata. I limiti di questo lavoro di ricerca sono principalmente la numerosità dei pazienti e gli ampi intervalli di confidenza di alcune delle associazioni rilevate. Tuttavia, non si deve dimenticare che, tanto il Lichen Planus Orale quanto il Pemfigoide delle Membrane Mucose, sono malattie infiammatorie e disturbi mucocutanei piuttosto rari, arrivando ad interessare meno dell'1% della popolazione e di questi, per di più, circa il 70% dei soggetti presenta manifestazioni di GD.

CONCLUSIONI

In questo studio caso-controllo, si sono rilevate differenze microbiologiche tra la placca sottogengivale di pazienti con gengivite desquamativa e quella di soggetti con gengivite indotta da placca. Questo suggerisce come i patogeni parodontali possano avere un ruolo chiave nell'eziopatogenesi della DG e fornisce nuove conoscenze nell'ambito delle manifestazioni orali connesse ai disturbi autoimmuni sistemici. Per questa ragione, i pazienti affetti da DG devono essere avvertiti circa il rischio di incorrere in complicanze parodontali e devono essere informati sull'importanza di sottoporsi a controlli dentali regolari per evitare il peggioramento delle condizioni dei tessuti parodontali. Nonostante ciò, studi prospettici futuri più ampi sapranno darci ulteriori preziose informazioni a riguardo.

BIBLIOGRAFIA

1. J. Lindhe, N. P. Lang, T. Karring. Parodontologia clinica e Implantologia orale. Quinta Edizione. Vol. I. Edi-Ermes; 2010.
2. Telser Alvin G., Young John K., Baldwin Kate M. Istologia. Elsevier; 2007.
3. P. L. Amerio, M. G. Bernengo, S. Calvieri, S. Chimenti, M. Pippione. Dermatologia e venereologia. Edizione II. Minerva Medica; 2012.
4. F. A. Carranza, M. G. Newman, H. H. Takei. Parodontologia clinica. Edizione IX. Delfino; 2002.
5. Armitage GC. Classifying periodontal diseases--a long-standing dilemma. *Periodontol* 2000. 2002;30:9-23.
6. 1999 International International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, October 30-November 2, 1999. *Ann Periodontol Am Acad Periodontol*. dicembre 1999;4(1):i, 1-112.
7. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol Am Acad Periodontol*. dicembre 1999;4(1):1-6.
8. Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta*. ottobre 1971;15(2):107-13.
9. Loe H, Holm-Pedersen P. Absence and presence of fluid from normal and inflamed gingivae. *Periodontics*. agosto 1965;3:171-7.
10. Blieden TM. Tooth-related issues. *Ann Periodontol Am Acad Periodontol*. dicembre 1999;4(1):91-7.
11. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol Am Acad Periodontol*. dicembre 1999;4(1):7-19.
12. Page RC. Oral health status in the United States: prevalence of inflammatory periodontal diseases. *J Dent Educ*. giugno 1985;49(6):354-67.
13. Scherp HW. Current concepts in periodontal disease research: epidemiological contributions. *J Am Dent Assoc* 1939. maggio 1964;68:667-75.
14. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*. giugno 1965;36:177-87.
15. Waerhaug J. The gingival pocket; anatomy, pathology, deepening and elimination. *Odontol Tidskr*. 1952;60(Suppl 1):1-186; 70 figures.
16. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. marzo 1976;34(3):235-49.
17. Egelberg J. The topography and permeability of vessels at the dento-gingival junction in dogs. *J Periodontal Res Suppl*. 1967;1:1-39.
18. Lindhe J, Rylander H. Experimental gingivitis in young dogs. *Scand J Dent Res*. novembre 1975;83(6):314-26.
19. Grant PR, Mulvihill JE. The fine structure of gingivitis in the beagle. 3. Plasma cell infiltration of the subepithelial connective tissue. *J Periodontal Res*. 1972;7(2):161-72.

20. G. Ricci, M. Aimetti. Diagnosi e terapia parodontale. Quintessenza; 2013.
21. P. Garmyn, S. Yepsen, G. A. van der Weijden, D. F. Kinane et al. Proceedings of the European Workshop on Mechanical Plaque Control. In Chicago: Quintessence; 1998.
22. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. II. Identification of «high-responder» and «low-responder» subjects. *J Clin Periodontol.* aprile 2004;31(4):239–52.
23. Holmstrup P. Non-plaque-induced gingival lesions. *Ann Periodontol Am Acad Periodontol.* dicembre 1999;4(1):20–31.
24. Lo Russo L, Fedele S, Guiglia R, Ciavarella D, Lo Muzio L, Gallo P, et al. Diagnostic pathways and clinical significance of desquamative gingivitis. *J Periodontol.* gennaio 2008;79(1):4–24.
25. Walsh LJ, Savage NW, Ishii T, Seymour GJ. Immunopathogenesis of oral lichen planus. *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol.* ottobre 1990;19(9):389–96.
26. Giuseppe Ficarra. Manuale di Patologia e Medicina Orale. Ed. III. McGraw-Hill Education; 2006.
27. P. G. Arduino, R. Broccoletti, M. Carbone. Testo atlante di Patologia Gengivale - Non placca correlata - Valutazioni cliniche e protocolli operativi. Martina; 2014.
28. Chan LS. Mucous membrane pemphigoid. *Clin Dermatol.* dicembre 2001;19(6):703–11.
29. Nisengard RJ, Rogers RS. The treatment of desquamative gingival lesions. *J Periodontol.* marzo 1987;58(3):167–72.
30. H. Prinz. Chronic Diffuse Desquamative Gingivitis. *Dent Cosm.* 1932;74:331.
31. Lo Russo L, Guiglia R, Pizzo G, Fierro G, Ciavarella D, Lo Muzio L, et al. Effect of desquamative gingivitis on periodontal status: a pilot study. *Oral Dis.* gennaio 2010;16(1):102–7.
32. Arduino PG, Farci V, D’Aiuto F, Carcieri P, Carbone M, Tanteri C, et al. Periodontal status in oral mucous membrane pemphigoid: initial results of a case-control study. *Oral Dis.* gennaio 2011;17(1):90–4.
33. Markopoulos AK, Antoniadis D, Papanayotou P, Trigonidis G. Desquamative gingivitis: a clinical, histopathologic, and immunologic study. *Quintessence Int Berl Ger* 1985. novembre 1996;27(11):763–7.
34. Ostman PO, Anneroth G, Skoglund A. Amalgam-associated oral lichenoid reactions. Clinical and histologic changes after removal of amalgam fillings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* aprile 1996;81(4):459–65.
35. Holmstrup P, Schiøtz AW, Westergaard J. Effect of dental plaque control on gingival lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* maggio 1990;69(5):585–90.
36. Mignogna MD, Lo Russo L, Fedele S, Ruoppo E, Califano L, Lo Muzio L. Clinical behaviour of malignant transforming oral lichen planus. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* dicembre 2002;28(8):838–43.
37. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* febbraio 1998;25(2):134–44.
38. Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ. Intracellular *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in buccal epithelial cells collected from human subjects. *Infect Immun.* aprile 2001;69(4):2700–7.

39. Madianos PN, Papapanou PN, Sandros J. Porphyromonas gingivalis infection of oral epithelium inhibits neutrophil transepithelial migration. *Infect Immun.* ottobre 1997;65(10):3983–90.
40. Darveau RP, Belton CM, Reife RA, Lamont RJ. Local chemokine paralysis, a novel pathogenic mechanism for Porphyromonas gingivalis. *Infect Immun.* aprile 1998;66(4):1660–5.
41. Machtei EE, Hausmann E, Dunford R, Grossi S, Ho A, Davis G, et al. Longitudinal study of predictive factors for periodontal disease and tooth loss. *J Clin Periodontol.* giugno 1999;26(6):374–80.
42. WHO Collaborating Centre for Oral Precancerous Lesions. Definition of leukoplakia and related lesions: An aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1 ottobre 1978;46(4):518–39.
43. Chan LS, Ahmed AR, Anhalt GJ, Bernauer W, Cooper KD, Elder MJ, et al. The first international consensus on mucous membrane pemphigoid: definition, diagnostic criteria, pathogenic factors, medical treatment, and prognostic indicators. *Arch Dermatol.* marzo 2002;138(3):370–9.
44. Lo Russo L, Gallo C, Pellegrino G, Lo Muzio L, Pizzo G, Campisi G, et al. Periodontal clinical and microbiological data in desquamative gingivitis patients. *Clin Oral Investig.* aprile 2014;18(3):917–25.
45. Ertugrul AS, Arslan U, Dursun R, Hakki SS. Periodontopathogen profile of healthy and oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *Int J Oral Sci.* giugno 2013;5(2):92–7.
46. Schacher B, Baron F, Rossberg M, Wohlfeil M, Arndt R, Eickholz P. Aggregatibacter actinomycetemcomitans as indicator for aggressive periodontitis by two analysing strategies. *J Clin Periodontol.* luglio 2007;34(7):566–73.
47. Krigar D-M, Kaltschmitt J, Krieger JK, Eickholz P. Two subgingival plaque-sampling strategies used with RNA probes. *J Periodontol.* gennaio 2007;78(1):72–8.
48. Nickles K, Scharf S, Röllke L, Mayer I, Mayer M, Eickholz P. Detection of subgingival periodontal pathogens--comparison of two sampling strategies. *Clin Oral Investig.* aprile 2016;20(3):571–9.
49. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Fernandes CB, de Carvalho-Filho J, Franco GCN, et al. Etiological Analysis of Initial Colonization of Periodontal Pathogens in Oral Cavity. *J Clin Microbiol.* aprile 2008;46(4):1322–9.
50. Bornstein MM, Hakimi B, Persson GR. Microbiological findings in subjects with asymptomatic oral lichen planus: a cross-sectional comparative study. *J Periodontol.* dicembre 2008;79(12):2347–55.
51. Collins JR, Arredondo A, Roa A, Valdez Y, León R, Blanc V. Periodontal pathogens and tetracycline resistance genes in subgingival biofilm of periodontally healthy and diseased Dominican adults. *Clin Oral Investig.* marzo 2016;20(2):349–56.
52. Farina R, Guarnelli ME, Figuero E, Herrera D, Sanz M, Trombelli L. Microbiological profile and calprotectin expression in naturally occurring and experimentally induced gingivitis. *Clin Oral Investig.* ottobre 2012;16(5):1475–84.
53. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol.* giugno 2001;183(12):3770–83.
54. Cortelli SC, Cortelli JR, Romeiro RL, Costa FO, Aquino DR, Orzechowski PR, et al. Frequency of periodontal pathogens in equivalent peri-implant and periodontal clinical statuses. *Arch Oral Biol.* gennaio 2013;58(1):67–74.

55. Lau L, Sanz M, Herrera D, Morillo JM, Martín C, Silva A. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: a comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol.* dicembre 2004;31(12):1061–9.
56. Imbrunite AV, Okuda OS, Maria de Freitas N, Moreira Lotufo RF, Nunes FD. Detection of herpesviruses and periodontal pathogens in subgingival plaque of patients with chronic periodontitis, generalized aggressive periodontitis, or gingivitis. *J Periodontol.* dicembre 2008;79(12):2313–21.
57. da Silva-Boghossian CM, do Souto RM, Luiz RR, Colombo APV. Association of red complex, *A. actinomycetemcomitans* and non-oral bacteria with periodontal diseases. *Arch Oral Biol.* settembre 2011;56(9):899–906.
58. Gambino A, Cafaro A, Arduino PG, Conrotto D, Broccoletti R. LLLT in combination with non-surgical periodontal therapy in patients with gingival oral lichen planus: a pilot study. *Ann Stomatol (Roma).* 2013;4(Suppl 2):19.
59. Arduino PG, Lopetuso E, Carcieri P, Giacometti S, Carbone M, Tanteri C, et al. Professional oral hygiene treatment and detailed oral hygiene instructions in patients affected by mucous membrane pemphigoid with specific gingival localization: a pilot study in 12 patients. *Int J Dent Hyg.* maggio 2012;10(2):138–41.
60. Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, et al. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med Off Publ Am Assoc Oral Biol.* 2002;13(4):350–65.
61. Müller HP, Heinecke A, Borneff M, Knopf A, Kiencke C, Pohl S. Microbial ecology of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* and *Capnocytophaga* spp. in adult periodontitis. *J Periodontal Res.* agosto 1997;32(6):530–42.
62. Dahan M, Nawrocki B, Elkaïm R, Soell M, Bolcato-Bellemin AL, Birembaut P, et al. Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva. *J Clin Periodontol.* febbraio 2001;28(2):128–36.
63. Ertugrul AS, Dursun R, Dundar N, Avunduk MC, Hakki SS. MMP-1, MMP-9, and TIMP-1 levels in oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *Arch Oral Biol.* luglio 2013;58(7):843–52.
64. Karim MM, Nagao A, Mansur FJ, Matsunaga T, Akakabe Y, Noiri Y, et al. The periodontopathogenic bacterium *Eikenella corrodens* produces an autoinducer-2-inactivating enzyme. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2013;77(5):1080–5.
65. Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol 2000.* 2006;42:219–58.
66. Tanner AC, Dzink JL, Ebersole JL, Socransky SS. *Wolinella recta*, *campylobacter concisus*, *bacteroides gracilis*, and *Eikenella corrodens* from periodontal lesions. *J Periodontal Res.* luglio 1987;22(4):327–30.