

---

---

## **Detección de Virus Papiloma Humano en el fluido gingival de pacientes con inmunodeficiencia humana y enfermedad periodontal.**

*Laura Escalona C.<sup>1</sup>, María Correnti<sup>1,2</sup>, Dayahindira Veitía<sup>2</sup>, Marianella Perrone<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Odontológicas “Raúl Vincentelli”, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

<sup>2</sup>Laboratorio de Genética Molecular, Instituto de Oncología y Hematología, MPPS, Venezuela.

**Palabras clave:** Virus Papiloma Humano, virus de Inmunodeficiencia adquirida, periodontitis, fluido gingival

**Resumen.** Evidencias sugieren que los virus pueden participar en la activación de la enfermedad periodontal, permitiendo el sobrecrecimiento de bacterias periodontopatógenas. El objetivo del estudio fue la detección molecular de VPH en fluido gingival (FG) de pacientes VIH+ con enfermedad periodontal. Se evaluaron muestras de FG de 20 pacientes VIH+ con enfermedad periodontal que asistieron al Centro de Atención de Pacientes con Enfermedades Infecciosas (CAPEI) de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela, 13 bajo terapia antirretroviral (HAART) y 7 VIH+ sin HAART. Se incluyeron 7 pacientes seronegativos con periodontitis crónica y como grupo control 7 pacientes seronegativos periodontalmente sanos. Se extrajo el ADN, se amplificó la región L1 de VPH con primers MY09 y MY11. Las muestras VPH+ fueron genotipificadas para los tipos 6, 11, 16, 18, 31 y 45. VPH fue detectado en 46% de los pacientes VIH+ bajo terapia. El conteo CD4+ en la población VPH+ no presentó diferencias con el grupo VPH-, y la carga viral mostró valores promedio significativamente mayores ( $200.470 \pm 324.244$  copias/mL) con respecto a los pacientes VPH- ( $10.246 \pm 23.805$  copias/mL). Las muestras VPH+ presentaron los genotipos 6 y 11, de los cuales 66,6% estaban coinfectados con ambos tipos. Las condiciones periodontales no presentaron diferencias entre los individuos con doble infección viral por VPH y VIH, y los que solo portaban VIH. VPH fue detectado solamente en fluido gingival de pacientes VIH+ con HAART, indicando que esta terapia puede influir en el estado inmunológico independientemente de las condiciones periodontales.

## **Detection of Human Papillomavirus in gingival fluid of Venezuelan HIV patients with periodontal disease.**

*Invest Clin 2011; 52(3): 207 - 215*

**Key words:** Human papillomavirus, human immunodeficiency virus, periodontitis, gingival crevicular fluid.

**Abstract.** Evidence suggests that viruses may be involved in the activation of periodontal disease, allowing the overgrowth of periodontal pathogens. The purpose of the present study was to detect the presence of Human Papillomavirus (HPV) in gingival crevicular fluid (GCF) in HIV+ Venezuelan patients with periodontal disease. We evaluated GCF samples from 20 HIV+ patients with periodontal disease from the Infectious Disease Center, Faculty of Dentistry, Central University of Venezuela, and were clinically examined to establish their periodontal conditions, 13 under HAART (antiretroviral therapy) and 7 without HAART. Seven seronegative patients with chronic periodontitis and 7 seronegative patients, without periodontal disease were included. DNA extraction was performed, the consensus primers MY09 and MY11 for the HPV L1 region were used for PCR amplification. Genotyping was made for the 6, 11, 16, 18, 31 and 45 genotypes. HPV were detected in 46% of HIV+ patients under therapy. The CD4 cell counts in the HPV+ patients were not significantly different from the HPV-group. The viral load in the HPV+ group was significantly higher ( $200,470 \pm 324,244$  copy/mL) than in the HPV- patients ( $10,246 \pm 23,805$  copy/mL). Genotypes 6 and 11 were observed in the HPV positive samples, of which 4/6 (66.6%) presented coinfection with both types. No significant differences in the periodontal conditions were observed between patients with HPV-HIV infection related to patients with only HIV. HPV was detected only in the gingival crevicular fluid of HIV+ patients under HAART independently of the periodontal conditions.

*Recibido: 06-12-2010 Aceptado 05-05-2011*

### **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años el interés por estudiar Virus Papiloma Humano (VPH) se ha incrementado debido a que este agente viral está involucrado en el desarrollo de diferentes patologías benignas y malignas localizadas en piel y tejidos mucosos. En la mucosa bucal se ha demostrado la presencia de una amplia variedad de genotipos de VPH como el 7, 13, 32, 6, 11, 16,18 y 35. Se ha reportado un aumento en la prevalen-

cia de VPH en personas portadoras de Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), sobre todo en los pacientes que se encuentran bajo terapia antirretroviral de alta actividad (HAART). Adicionalmente, existen reportes recientes sobre el riesgo de aparición de lesiones inducidas por VPH, cuando existe enfermedad periodontal, sugiriendo que los tejidos periodontales podrían actuar de reservorios para VPH (1-3).

VPHs posee ADN como material genómico y son epiteliotrópicos, se han identifi-

cado más de 120 genotipos; clasificados según su potencial oncogénico en virus de alto riesgo, como VPH 16 y 18, que han sido fuertemente asociados con cáncer ano-genital/cervical, por su capacidad para insertar fragmentos específicos de ADN (E6 y E7) dentro del genoma celular del hospedero. Como resultado de esta integración, se alteran o anulan funciones claves del factor supresor de tumores (p53 y pRb), conduciendo a defectos en la apoptosis, mecanismos de reparación del ADN, regulación del ciclo celular y finalmente la inmortalización celular, lo que induce al fenotipo maligno. Aunque en un porcentaje menor que el de la mucosa cervical, VPH de alto riesgo también se ha detectado en la mucosa bucal (3) y se han identificado por lo menos 30 genotipos a este nivel (4-9).

Las investigaciones de prevalencia reportan que en personas portadoras de VIH, ocurre un incremento de lesiones condilomatosas en cavidad bucal asociadas a VPH (10). Ha sido reportado 11% de prevalencia en un estudio realizado en Canadá (11) y 25% en un estudio realizado en Baltimore (12). Este incremento ha sido asociado al uso generalizado de HAART por parte de los pacientes VIH+, sugiriendo que alguna de las drogas o su combinación, podría ser un factor de riesgo para la infección de VPH.

En la actualidad el tratamiento para VIH radica en la inhibición de la replicación viral, para de esta forma disminuir la inmunosupresión (13). El avance en la terapéutica con la introducción de los inhibidores de proteasa específicos para VIH, combinados con terapia que bloquea la enzima transcriptasa reversa (Terapia de alta actividad antirretroviral o HAART), ha mejorado el pronóstico de la enfermedad, debido a que disminuye la replicación viral y estabiliza e incrementa el conteo de células T cooperadoras CD4+ (14).

A medida que progresa la enfermedad el deterioro del sistema inmune se refleja

en un aumento en la incidencia de enfermedades e infecciones oportunistas. La candidiasis bucal y leucoplasia pilosa, lesiones asociadas con hongos y virus respectivamente, constituyen las manifestaciones bucales frecuentemente asociadas a VIH, otras como las verrugas relacionadas a VPH, úlceras aftosas y Sarcoma de Kaposi también han sido ampliamente reportadas en la literatura (15).

Las enfermedades periodontales comprenden un grupo de entidades que varían en sus características patogénicas y componentes microbiológicos. La formación de placa dental dentro del sureo y su posterior colonización por microorganismos, se consideran los primeros eventos en el inicio de la enfermedad periodontal. La progresión inconstante de la misma, caracterizada por períodos de actividad y latencia, causa la destrucción de los tejidos de soporte y posterior pérdida de los dientes. No obstante, no siempre existe una clara relación entre la cantidad de placa dental y la pérdida ósea, lo que podría indicar la existencia de otros factores que contribuyen a la alteración de los tejidos periodontales. Diversos estudios sugieren que infecciones virales pueden participar en el desarrollo de la enfermedad periodontal, deteriorando las defensas locales, lo que permite el sobrecrecimiento de las bacterias periodontopatógenas e incremento de su poder de agresión, situación que a su vez potencia la acción viral (16-24).

Hormia y col. en 2005 (2) realizaron un estudio para detectar ADN de VPH utilizando la técnica de hibridación *in situ*, observando que el 26% (8/31) de las muestras presentaron el genoma de VPH, siendo el ADN localizado en la parte coronal del epitelio de unión en el saco gingival, sugiriendo que los tejidos periodontales pueden servir como reservorio de VPH en la mucosa bucal normal. En otras partes del cuerpo, tales como el tracto genital, VPH infecta ex-

clusivamente las células basales del epitelio vía microlesiones, donde el virus permanece latente. La única zona en la mucosa bucal donde las células basales están expuestas al medio ambiente es el saco periodontal.

El objetivo de esta investigación fue la detección de VPH en el fluido gingival de pacientes VIH+ con y sin terapia antirretroviral, diagnosticados con enfermedad periodontal.

### PACIENTES Y MÉTODOS

Se evaluaron muestras de fluido gingival (FG) provenientes de 20 pacientes VIH+ con enfermedad periodontal que asistieron al Centro de Atención a Pacientes con Enfermedades Infecciosas (CAPEI) de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela, de los cuales 13 (10 género masculino y 3 femenino) estaban bajo terapia antirretroviral (HAART) y 7 (7 masculino) VIH+ sin HAART. De igual forma se incluyeron en la investigación 7 (3 masculino y 4 femenino) pacientes seronegativos diagnosticados con periodontitis crónica. Como grupo control participaron 7 pacientes seronegativos periodontalmente sanos (2 masculino y 5 femenino).

Esta investigación fue aprobada por la Comisión de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela (UCV). Todos los pacientes elegibles firmaron un consentimiento informado, al inicio del estudio.

El estado inmunológico en el grupo portador de VIH fue evaluado y clasificado de acuerdo al conteo de células CD4+ y la carga viral en plasma: CD4+ > 500/mm<sup>3</sup>, CD4+ 200-500 células/mm<sup>3</sup>, CD4+ < 200 células/mm<sup>3</sup>. Carga viral Indetectable < 400 copias/mm<sup>3</sup>, <10.000 copias de ADN viral y > 10.000 copias. Fueron excluidos del estudio aquellos pacientes con historia de tratamiento periodontal o uso de anti-

bióticos en los seis meses previos a la realización del estudio.

HAART fue definida como un régimen antirretroviral que contenía un mínimo de tres drogas que incluyen, 3 nucleósidos inhibidores de la transcriptasa reversa (NRTIs), 2 NRTIs y 1 inhibidor de proteasa, o 2 NRTIs y 1 no nucleósido de la transcriptasa reversa (NNRTI).

El Índice de Placa (IP) (25), índice Gingival (IG) (26), Profundidad de Saco (PS) y Pérdida de Inserción (PI), fueron evaluados por un mismo examinador calibrado (Kappa 0,8) en seis sitios por diente en todos los dientes presentes, utilizando una sonda periodontal manual graduada tipo Williams (PQ-OW, Hu-fridey Instrumental Co).

### Muestra de fluido crevicular

La toma de muestra de fluido gingival, se realizó removiendo previamente la placa supragingival. Las muestras subgingivales fueron obtenidas aislando previamente la zona con rollos de algodón e insertando dentro del saco puntas de papel durante 30 segundos. Se seleccionó un diente por cada cuadrante que presentara una PS  $\geq$  a 4mm y PI  $\geq$  a 5mm y se colocaron cuatro puntas de papel por cada diente (mesiobucal, distobucal, mesiolingual/palatino y distolingual/palatino). Las puntas de papel fueron colocadas en 250  $\mu$ L de solución salina, posteriormente hervidas durante 5 minutos para liberar el ADN viral y almacenadas a -70°C hasta su posterior utilización.

### Detección de VPH por la técnica de PCR

La extracción del ADN-VPH se obtuvo utilizando el KIT QIAGEN™®, Para la amplificación de la región L1 de VPH se emplearon los primers genéricos MY09 y MY11. Las muestras que resultaron positivas fueron genotipificadas usando el KIT SEEPLEX (Seegene®) para los genotipos 6, 11, 16, 18, 31 y 45.

### Análisis estadístico

Se utilizaron estadísticos descriptivos para determinar los promedios y desviaciones estándar con respecto a las variables edad e índices periodontales evaluados. Para las comparaciones entre los diferentes grupos se emplearon las pruebas estadísticas no paramétricas Kruskal-Wallis, "U Mann-Whitney". Las pruebas de asociación se realizaron utilizando la Prueba Exacta de Fisher.

### RESULTADOS

Al evaluar el conteaje de células CD4+ entre los pacientes VIH+ con HAART y sin terapia (Tabla I), se encontraron valores mayores de CD4+ en el grupo bajo terapia. Con respecto a la carga viral, los valores fueron mayores en el grupo VIH+ sin HAART, siendo las diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p < 0,05$ ).

Referente a las variables: Índice de Placa, Índice Gingival, Profundidad de Sondaje y Pérdida de Inserción, no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos:

Al examinar las condiciones periodontales; IP, IG, PS y PI entre los grupos VIH+ sin HAART y el grupo seronegativo con periodontitis crónica, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p < 0,05$ ), siendo mayores los valores promedios para IG, PS y PI en el grupo de pacientes con periodontitis crónica. En relación al índice de placa no se observaron diferencias entre ambos grupos. Sin embargo, los pacientes VIH+ sin HAART presentaron valores mayores en los tres índices en comparación al grupo control ( $p < 0,05$ ), mientras que en relación al índice de placa dental, los valores fueron similares para todos los grupos evaluados.

En relación con los grupos VIH+ con HAART y VIH- con periodontitis crónica, se observaron valores de Sondaje y Pérdida de Inserción, mayores en el grupo de pacientes con periodontitis crónica, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Respecto al Índice de Placa e Índice Gingival, no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos.

El grupo VIH+ con HAART presentó valores mayores de las tres variables en comparación con el grupo control

**TABLA I**  
DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES PERIODONTALES, CONTAJE DE CÉLULAS CD4+ Y CARGA VIRAL EN LOS GRUPOS EN ESTUDIO

	n	Edad $\bar{X} \pm DS$	IP $\bar{X} \pm DS$	IG $\bar{X} \pm DS$	PS $\bar{X} \pm DS$	PI $\bar{X} \pm DS$	CD4+ $\bar{X} \pm DS$	Carga viral $\pm DS$	VPH+ n
VIH+ con HAART	13	37,6±8,4	1,3±0,3	1,5±0,5*	2,9±0,6*	3,1±0,7*	400,3±251*	98.042±232.016	6
VIH+ sin HAART	7	28,7±6,2	1,3±0,3	1,2±0,4*	2,7±0,3*	2,9±0,6*	154,4±89,2	265.664±304.935*	0
VIH- con Periodontitis Crónica	7	43±8,4	1,5±0,3	1,6±0,2*	3,7±0,5*	3,9±0,7*			0
Grupo Control	7	43±12	0,8±0,6	0,6±0,4	1,5±0,2	1,5±0,3			0
Total	34								6

IP: Índice de placa dental. IG: Índice Gingival. PS: Profundidad de sondaje. PI: Pérdida de inserción. CD4+: Células CD4. \* $p < 0,05$

( $p < 0,05$ ), aunque no hubo diferencias significativas con el índice de placa.

Los pacientes con periodontitis crónica mostraron valores promedios mayores estadísticamente significativos de todas las variables evaluadas con respecto al grupo control.

VPH fue detectado solamente en pacientes VIH+ bajo terapia (Tabla II), 6 de 13 (46%). El promedio de células CD4+ en la población positiva para la infección por VPH fue de  $425,6 \pm 321$  células/mm<sup>3</sup>, no encontrándose diferencias con el grupo que no presentó VPH ( $379 \pm 198$  células/mm<sup>3</sup>). En cuanto a la carga viral para el grupo VPH+ se observaron valores promedio significativamente mayores ( $200.470 \pm 324.244$  copias/mL) con respecto a los pacientes VPH- ( $10.247 \pm 23.805$  copias/mL). Las muestras positivas para VPH fueron genotipificadas, mostrando positividad solo para los tipos 6 y 11, de los cuales 4/6 (66,6%) presentaron coinfección con ambos genotipos.

Para evaluar la posible asociación entre las variables, dadas sus características y tamaño de la muestra, se decidió emplear la Prueba Exacta de Fisher. Los resultados demostraron una asociación entre la presencia de VIH+ con tratamiento antirretroviral y la presencia de VPH ( $p < 0,05$ ). La intensidad de esta asociación en Odds ratio fue de: OR= 1,857 (IC 95%: 1,123 y 3,072). Estos resultados indican que la asociación entre las variables es positiva y significativa.

En cuanto a las condiciones periodontales no se observaron diferencias entre los individuos que presentaron doble infección viral con VPH y VIH, con respecto a los que solo portaban VIH.

## DISCUSIÓN

No obstante el extraordinario progreso en el conocimiento y manejo de la patogénesis del VIH, se observa una persistencia y progresión de lesiones escamosas intraepi-

**TABLA II**  
DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES PERIODONTALES, CONTAJE CD4+, CARGA VIRAL E INFECCIÓN POR VPH EN PACIENTES VIH+ CON HAART

Pacientes VIH+ con HAART	Edad	Sexo	IP	IG	PS	PI	CD4+	Carga Viral	Tipo VPH+
1	50	M	1,04	1,06	2,5	3,26	253	400	-
2	50	M	1,1	1,4	2,6	3	700	400	-
3	39	M	1,97	2	4,4	5,03	479	250	-
4	37	M	1,3	1,5	2,96	3,17	723	50	6 y 11
5	49	F	1,1	0,6	2,73	2,9	227	400	-
6	27	M	1,81	2	3,28	3,28	279	673	6
7	35	M	1,5	1,2	2,4	2,4	80	750.000	6 y 11
8	36	M	0,96	2,67	3,4	3,5	293	64.000	-
9	37	M	1,14	1,47	2,56	3,23	331	50	6 y 11
10	23	F	1,5	1,8	2,52	2,57	228	452.000	6
11	40	M	0,74	1,11	2,68	2,74	913	50	6 y 11
12	29	F	1,3	1,7	2,45	2,77	158	6.206	-
13	37	M	1,41	1,55	3,46	3,46	541	72	-

IP: Índice de placa dental. IG: Índice Gingival. PS: Profundidad de sondaje. PI: Pérdida de inserción. -: negativo para VPH

teliales en pacientes VIH+, sugiriendo que HAART parece tener poco o ningún efecto benéfico sobre la historia natural de este tipo de lesiones (27).

Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que las diferencias significativas observadas en el estado inmunológico y en la carga viral en pacientes bajo terapia y sin HAART, no influyen sobre las condiciones periodontales, ya que se evidenciaron resultados similares entre los índices periodontales evaluados en ambos grupos.

Los pacientes diagnosticados con periodontitis crónica, presentaron valores mayores en los índices periodontales (IG, PS, PI) evaluados con respecto al grupo VIH+, comprometido inmunológicamente, que se encontraba sin HAART, sugiriendo que las condiciones inmunológicas locales, dada su persistencia y cronicidad determinan el desarrollo de una respuesta inflamatoria prolongada que contribuye a la destrucción de los tejidos periodontales, pudiendo ello ejercer una mayor influencia que las condiciones sistémicas. Resultados similares se observaron en los pacientes VIH+ con tratamiento antirretroviral, destacándose que los valores correspondientes al índice de placa fueron semejantes para los tres grupos.

En esta investigación, VPH fue detectado únicamente en el grupo de pacientes VIH+ con HAART (46%), resultados que confirman las observaciones realizadas por Sroussi y col. (13), quienes refieren que a pesar de que HAART disminuye la prevalencia de enfermedades oportunistas, se reporta un incremento de lesiones verrugosas relacionadas con VPH. Cameron y col. (10) reportan que este tipo de tratamiento parece jugar un papel importante en el incremento de la infección por VPH bucal en individuos HIV+.

En este estudio las condiciones inmunológicas para el grupo VPH+, referidas por el conteo de células CD4, no presenta-

ron diferencias en comparación con el grupo VPH- de los pacientes VIH+ con HAART.

La terapia antirretroviral de alta actividad o HAART, está asociada con disminución sostenida de la replicación viral y estabilización en el incremento del conteo de células CD4+ cooperadoras. Es generalmente aceptado que el riesgo a desarrollar manifestaciones bucales asociadas al VIH incrementa cuando disminuye el conteo CD4 y aumenta la carga viral. Sin embargo, esta observación es menos exacta en poblaciones con largo historial de infección por VIH debido, a que el conteo CD4 no mide directamente la función inmune. Es probable, que la presencia de infecciones oportunistas sea un reflejo del estatus de enfermedad por VIH. Esta desconexión entre infecciones oportunistas y de CD4+ podría ser explicada por un deterioro transitorio de la función inmune durante la respuesta inicial a la medicación contra el VIH, conocida como síndrome de reconstitución inmune (28, 29).

Cameron y col. (10) determinaron la prevalencia y el genotipo de VPH en muestras de saliva y el impacto del uso de HAART sobre marcadores del status de enfermedad e inmunosupresión como CD4+ y carga viral, reportando que el 35% de los sujetos fueron positivos para VPH-ADN. El conteo de células CD4 y la carga viral no se relacionó con el incremento del riesgo para la infección por VPH. Resultados similares fueron observados en el presente trabajo. En un estudio previo Cameron y col. (27) determinaron en saliva y exudado transmucoso bucal la presencia de anticuerpos de tipo IgG contra VPH 6, 11 y 16, observando en saliva 31% para los tipos 6 y 11 y 19% para el tipo 16 y en transudado de mucosa bucal 19% para los tipos 6/11 y 17% para el genotipo 16 en individuos VIH+.

Aun cuando estos autores refieren que VPH bucal fue detectado igualmente en pacientes con HAART y sin HAART, encon-

trándose con mayor frecuencia en aquellos pacientes con un efectivo tratamiento, nuestros resultados demostraron la presencia de VPH únicamente en pacientes VIH+ con HAART.

Con respecto al genotipo en nuestra investigación se observaron solo genotipos de bajo riesgo oncogénico, a diferencia de los resultados observados por Cameron y col. (10) que reportaron la presencia de tipos de alto riesgo.

El aumento en la infección por VPH puede deberse, al menos en parte, a una incrementada exposición a diversos tipos de VPH, también puede representar una desregulación del sistema inmune después del uso de HAART (30).

El virus papiloma humano, causa además de los efectos citopáticos (coilocitosis), proliferación de las células epiteliales, ya que la proliferación y migración del epitelio de unión es una característica de la enfermedad periodontal, este efecto biológico del VPH podría proveer un puente de unión entre la infección viral y la enfermedad periodontal.

Este es el primer reporte sobre detección de VPH en fluido gingival, demostrando que este tipo de muestra puede ser utilizado para la determinación de infección viral en cavidad bucal. VPH fue detectado solamente en fluido gingival de pacientes VIH+ con HAART, indicando que esta terapia puede influir en el estado inmunológico independientemente de las condiciones periodontales.

#### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela. Proyecto de Grupo: PG 10-00-6522-2006 y por el FONACIT: PG 2005000408. Agradecemos al Prof. José Ricardo Torres por el análisis estadístico de los datos

#### REFERENCIAS

1. **Campisi G, Giovanelli L.** Controversies surrounding human papilloma virus infection, head & neck vs oral cancer, implications for prophylaxis. *Head & Neck Oncology* 2009; 1:8.
2. **Hormia M, Willberg J, Ruukonen H, Syrjänen S.** Marginal periodontium as a potential reservoir of human papillomavirus in oral mucosa. *J Periodontol* 2005; 76:358-363.
3. **Correnti M, Rivera H, Cavazza ME.** Detection of human papillomaviruses of high oncogenic potential in oral squamous cell carcinoma in a Venezuelan population. *Oral Dis* 2004; 10(3):163-166.
4. **Syrjänen K, Syrjänen S, Lamberg M, Pyrhonen S, Nuutinen J.** Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. *Int J Oral Surg* 1983; 12:418-424.
5. **Syrjänen K, Syrjänen S.** Papillomavirus infections in human pathology. London: Wiley; 2000; 1-615.
6. **Jimenez C, Correnti M, Salma N, Cavazza ME, Perrone M.** Detection of human papillomavirus DNA in benign oral squamous epithelia lesions in Venezuela. *J Oral Pathol Med* 2001; 30:385-388.
7. **de Villiers EM, Neumann C, Le JY, Weidauer H, Zurhausen H.** Infection of the oral mucosa with defined types of human papillomaviruses. *Med Microbiol Immunol Berl* 1986; 174:287-294
8. **Chang F, Syrjänen S, Kellokoski J, Syrjänen K.** Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med* 1991; 20:305-317.
9. **Syrjänen SM.** HPV-related squamous cell tumours of the airways and esophagus: Clinical presentation. In: Von Krogh G, Gross G, eds. *Human Papillomavirus Infections in Dermatovenereology*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc.; 1997:181-199.
10. **Cameron J, Mercante D, O'Brien M, Gaffga A, Leigh J, Fidel P Jr, Hagensee M.** The impact of highly active antiretroviral therapy and immunodeficiency



- ciency on human papillomavirus infection of the oral cavity of human immunodeficiency virus-seropositive adults. *Sex Transm Dis* 2005; 32:703-709.
11. **Coutlee F, Trottier AM, Ghattas G, Leduc R, Toma E, Sanche G, Rodrigues I, Turmel B, Allaire G, Ghadirian P.** Risk factors for oral human papillomavirus in adults infected and not infected with human immunodeficiency virus. *Sex Transm Dis* 1997; 24:23-31.
  12. **Kreimer AR, Kreimer AR, Alberg AJ, Daniel R, Gravitt PE, Viscidi R, Garrett ES, Shah KV, Gillison ML.** Oral human papillomavirus infection in adults is associated with sexual behavior and HIV serostatus. *J Infect Dis* 2004; 189(4):686-698.
  13. **Sroussi HY, Epstein JB.** Changes in the pattern of oral lesions associated with HIV infection: implications for dentists. *JCDA* 2008; 73 (10):949-952.
  14. **Nicolatou-Galitis O, Velegraki A, Paikos S, Economopoulou P, Stefaniotis T, Papanikolaou IS, Kordossis T.** Effect of PI-HAART on the prevalence of oral lesions in HIV-1 infected patients. A Greek study. *Oral Dis* 2004; 10(3):145-150.
  15. **Greenspan D, Canchola AJ, MacPhail LA, Cheikh B, Greenspan JS.** Effect of highly active antiretroviral therapy on frequency of oral warts. *Lancet*. 2001 5; 357(9266): 1411-1412
  16. **Contreras A, Slots J.** Active cytomegalovirus infection in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1998; 13(4):225-230.
  17. **Contreras A, Umeda M, Chen C, Bakker I, Morrison JL, Slots J.** Relationship between herpesviruses and adult periodontitis and periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 1999; 70(5):478-484.
  18. **Slots J, Contreras A.** Herpesviruses: a unifying causative factor in periodontitis? *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15(5):277-280.
  19. **Kamma JJ, Contreras A, Slots J.** Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001; 28(9):879-885.
  20. **Yapar M, Saygun I, Ozdemir A, Kubar A, Sahin S.** Prevalence of human herpesviruses in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2003; 74(11): 1634-1640.
  21. **Passariello C, Palamara A, Garaci E, Pasquantonio G.** Herpesviruses and periodontal disease: a cautionary tale. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009; 22(2): 263-268.
  22. **Slots J.** Herpesviral-bacterial synergy in the pathogenesis of human periodontitis. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20(3):278-383.
  23. **Cappuyns I, Gugerli P, Mombelli A.** Viruses in periodontal disease - a review. *Oral Dis* 2005; 11(4):219-229.
  24. **Slots J.** Herpesviral-bacterial synergy in the pathogenesis of human periodontitis. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20:278-283.
  25. **Silness J, Loe H.** Periodontal disease in pregnancy. *Acta Odontol Scand* 1964; 22:112-135.
  26. **Loe H.** The gingival index and the retention index systems. *J Periodontol* 1967; 38:610-615.
  27. **Cameron JE, Snowwhite IV, Chaturvedi AK y Hagensee ME.** Human Papillomavirus-specific antibody status in oral fluids modestly reflects serum status in human immunodeficiency virus-positive individuals. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10(3):431-438.
  28. **Lipman M, Breen R.** Immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19(1):20-25.
  29. **Meys R, Gotch FM, Bunker CB.** Human papillomavirus in the era of highly active antiretroviral therapy for human immunodeficiency virus: an immune reconstitution-associated disease? *Br J Dermatol* 2010; 162(1):6-11.
  30. **Wienecke R, Brockmeyer NH, Kreuter A.** Human papilloma virus-induced disease in HIV-positive patients. *Hautarzt* 2006; 57(11): 994-998.