

Revisiones Bibliográficas:

ASOCIACIÓN DE VIRUS EPSTEIN BARR CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

Recibido para publicación: 10/03/2008

Aceptado para publicación: 04/06/2008

- **Escalona LA**, Periodoncista. Profesor Asociado. Instituto de Investigaciones Odontológica "Raúl Vincentelli". Facultad de Odontología UCV.
- **Limonchy ME**. Odontólogo General egresada USM Docente Colaborador. Instituto de Investigaciones Odontológica "Raúl Vincentelli". Facultad de Odontología UCV.

RESUMEN

El presente artículo expone una revisión sobre las evidencias que vinculan virus Epstein Barr (VEB) con la enfermedad periodontal y los posibles mecanismos a través del cual las interacciones virus-bacteria-hospedero activan los procesos de destrucción periodontal.

La periodontitis es una infección multifactorial donde participan complejos bacterianos con tejidos del hospedero y se manifiesta clínicamente con la pérdida de los tejidos de soporte del diente. La destrucción de los tejidos periodontales sigue un patrón episódico, con períodos de latencia y activación. Resultados de diversos estudios sugieren que la coexistencia de virus Herpes, bacterias periodontopatogénicas y la respuesta inmune del hospedero son factores importantes en la evolución de la enfermedad. Los genomas de varios tipos de Herpes virus, entre ellos VEB, ha sido, identificado en muestras de tejido gingival, fluido crevicular y placa subgingival provenientes de pacientes diagnosticados con periodontitis. Sin embargo, el papel específico de este virus en la patogénesis de la enfermedad periodontal no está definido.

Palabras claves: Virus Epstein Barr, virus Herpes, enfermedad periodontal, periodontitis.

ABSTRACT

In the present article we expose a review about the evidences that link Epstein-Barr virus (EBV) presence in the development of the periodontal diseases and the mechanisms through which the host-bacterial-virus interactions activate the periodontal destruction.

Periodontitis is a multifactorial disease where bacterial complexes participate along with host tissues by which tooth-supportive tissues are lost. The destruction of periodontal tissues follow an episodic pattern, with periods of latency interrupted by periods of activation. Results of several studies suggest that coexistence of herpesviruses, periodontopathogenic bacterias and immune response of the host are important factors in the disease evolution. Genomes of several Herpesviruses, among them EBV, have been detected in gingival tissues, gingival crevicular fluid and subgingival plaque samples from patients with periodontitis. However, the specific role played by this virus in the pathogenesis of periodontal diseases has not been established.

Keywords: Epstein-Barr virus, Herpesviruses, periodontal diseases, periodontitis.

Introducción

Enfermedad Periodontal. Factores etiológicos.

El periodonto es un nicho ecológico único en el cuerpo humano. Antes de la erupción de los dientes, la mucosa que cubre la cavidad bucal está intacta. La presencia de los dientes cambia el escenario; tejidos óseo y blando rodean los dientes y se adhieren a ellos. Sin embargo, en la unión entre la encía y el diente, existe un espacio que favorece la acumulación de bacterias y otros microorganismos, este espacio es conocido como "surco gingival" en salud y, "saco periodontal" en enfermedad. En salud existe una

relación homeostática entre colonización microbiana y defensas del hospedero. La ruptura de esta relación, por la alteración de la microflora normal, o por una respuesta no apropiada del hospedero, inicia la enfermedad periodontal (1).

El balance entre los procesos de protección y destrucción del tejido es afectado significativamente por factores genéticos y ambientales. Está claro que las bacterias son necesarias para que se inicie la enfermedad periodontal, pero su presencia no es suficiente para que la misma ocurra en todos los individuos (2).

La placa dental se comporta como una biopelícula. Estas colonizan una amplia gama de superficies húmedas, entre ellas la cavidad bucal, dispositivos artificiales implantados en seres humanos como los catéteres, prótesis de cadera, lentes de contacto. Las biopelículas se componen de dos o más comunidades de microorganismos incluidos en un glucocáliz que está fijado a una superficie sólida. La razón de su existencia es que le permite a los microorganismos adherirse y multiplicarse sobre una determinada superficie (3).

El concepto de biopelícula aparece con Costerton (4) en el Reino Unido en los años 90, es un concepto microbiológico que posteriormente se adaptó a la odontología, y según el cual "La placa dental es un modelo de comunidad organizada compuesta de bacterias, adheridas a una superficie sólida, bañadas por un medio líquido, que necesitan de sistemas de comunicación, de nutrición, autodefensa y competencia inter bacteriana para que se mantengan".

Las biopelículas que colonizan las superficies dentarias pueden encontrarse entre las más complejas de la naturaleza. Esta complejidad se debe en gran medida a que el diente posee superficies no descamativas que permiten la colonización permanente y el desarrollo de sistemas ecológicos muy complejos. La asociación de bacterias en las biopelículas no es aleatoria, ya que existen asociaciones específicas que les permite su adhesión, crecimiento y multiplicación; así como, interacciones específicas entre las especies bacterianas y su medio ambiente que ejercen un rol importante en la etiología y patogénesis de la enfermedad periodontal.

La gingivitis es el resultado directo de una respuesta inflamatoria como mecanismo de defensa contra las bacterias de la placa. Diversos productos bacterianos tienen la capacidad de atravesar el epitelio de unión y alcanzar los tejidos subepiteliales. Las células del hospedero reaccionan ante la presencia de estos productos y liberan una serie de moléculas y sustancias responsables de mediar la respuesta inmunológica que se desarrolla en los tejidos. Ocurre un incremento en la vascularidad y quimiotaxis de los leucocitos, neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas y monocitos/macrófagos que actúan para destruir los patógenos bacterianos y sus productos, sin embargo, también ocurre la destrucción de los tejidos del hospedero (5).

El inicio y progresión de la enfermedad periodontal depende de numerosos factores. El hospedero debe ser susceptible; es decir, deben existir factores de riesgo para desarrollar la enfermedad. Estos factores de riesgo pueden ser sistémicos, como la diabetes y osteoporosis, genéticos como el síndrome de Papillon Lefevre y, hábitos como el tabaquismo, que es un factor de riesgo relacionado con el comportamiento del individuo.(5)

Otro factor a considerar es el medio local, el cual debe contener especies bacterianas que promuevan la infección o que no inhiban la actividad patogénica y favorezcan la expresión de los factores de virulencia del patógeno, para luego producir daño tisular.(5)

Los factores de virulencia pueden dividirse en tres categorías: sustancias que dañan las células tisulares, productos que inducen a las células a liberar moléculas biológicamente activas y mediadores que afectan la matriz extracelular como la interleucina1 β , prostaglandinas, factor de necrosis tumoral, interleucina 8 y factores quimiotácticos. Cabe destacar que algunos de estos factores presentan una actividad pleiotrópica; es decir, producen más de una respuesta, ya sea inhibiendo la respuesta protectora de las

células involucradas en los mecanismos de defensa, o produciendo daño directo a los tejidos.

Herpesvirus y su relación con la enfermedad periodontal.

La periodontitis es una enfermedad infecciosa que involucra la actividad de bacterias específicas, levaduras y probablemente herpes virus. Teóricamente, las infecciones virales pueden facilitar la destrucción de los tejidos periodontales por mediación inmunológica o por actividad lítica contra las células periodontales.

Investigaciones recientes (6,7,8,9,10,11) indican que la presencia de virus de la familia Herpesviridae como; Citomegalovirus (CMVH), Epstein-Barr (VEB) y Herpes simples (VHS), pueden estar involucrados en la patogénesis de la enfermedad periodontal. La detección de Herpes virus se ha asociado con un incremento en el número de bacterias asociadas a la enfermedad periodontal como son; *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescus*, *Actinobacillus actinomycetencomitans*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*. La activación de estos virus resulta en la supresión de las defensas inmunes de los tejidos periodontales, sobrecrecimiento de los microorganismos subgingivales, mayor liberación de citocinas y quimiocinas, iniciándose una cascada de eventos citotóxicos o inmunopatológicos, que producen destrucción de los tejidos periodontales.(12)

Un estudio microbiológico que incluya la detección de estas especies blanco (bacterias y virus) en los sitios con enfermedad, podrá permitir la aplicación de terapias más específicas para detener la progresión de la enfermedad.(13)

Por otra parte en la actualidad se ha evidenciado un aumento en la prevalencia de infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) en población joven y en niños, así como la posibilidad de transmisión de la infección por abuso sexual en este grupo de pacientes. Al respecto se ha planteado la posibilidad de que la infección por VIH, potencia la adquisición de la infección por otros virus tales como Virus Papiloma humano (VPH) y Virus Epstein Barr (VEB).(14)

Los virus Herpes son usualmente contraídos en la infancia a través de secreciones infectadas como la saliva, pueden causar lesiones en la mucosa bucal durante la infección primaria, permanecer en período de latencia por tiempo indefinido y ser reactivados por varias condiciones que producen daño en el sistema inmunológico.

Se distinguen ocho tipos de virus herpes en humanos que se subdividen en tres subfamilias en base a su patogenicidad, tipo de célula que infectan y las propiedades de su crecimiento.

Virus Herpes alfa que incluye los virus Herpes simples tipo 1 (VHS-1) y tipo 2 (VHS-2) y virus Varicela Zoster (VVZ). Esta familia tiene un patrón de crecimiento rápido, lisa las células infectadas y permanece latente en los ganglios de los nervios sensoriales. Con frecuencia inducen lesiones vesiculares en piel o mucosa.

Los virus Herpes beta incluyen citomegalovirus (CMVH), virus Herpes 6 (VHH-6) y virus Herpes 7 (VHH-7). Su replicación es lenta y produce gran cantidad de células multinucleadas (citomegalia). El genoma viral permanece latente en tejido linfocitario, glándulas secretoras, riñones y otros tejidos. Puede inducir enfermedades severas en pacientes inmunocomprometidos en particular; neumonía e infecciones primarias durante el embarazo que pueden conducir a anomalías congénitas. La infección primaria con virus Herpes 6 y 7 con frecuencia es asintomática pero puede dar lugar a exantema súbito.(15)

Los virus Herpes gamma incluyen Epstein-Barr (VEB) y virus Herpes 8 (VHH-8). Ellos infectan células linfocitarias donde permanecen en estado latente (linfocitos T y B) pero pueden también ser citolíticas para células epiteliales y fibroblastos. VEB es responsable de la mononucleosis infecciosa y el VHH-8 está implicado en el Sarcoma de Kaposi. (16)

Virus Epstein Barr

Herpes virus esta compuesto por una doble cadena de ADN y una cubierta derivada del huésped y puede estar en forma latente o activa, VEB infecta principalmente a los linfocitos B en donde se establece de manera latente. La reactivación del virus puede ocurrir espontáneamente o como resultado de una infección, fiebre, drogas, trauma del tejido, stress emocional, exposición a luz ultravioleta, u otros factores que alteren la defensa inmune del hospedero. La reactivación del Herpes virus causa mayor inmunosupresión y muestra una tendencia distinta de tropismo celular y de los tejidos.(15)

La infección por herpes virus induce una fuerte respuesta inmune, innata y adquirida; la cual, aunque incapaz de erradicar la infección es generalmente efectiva en controlar la replicación viral y prevenir la manifestación clínica (17). La respuesta inmune celular juega un papel clave en el control de la infección viral a través de los linfocitos T CD8 restringidos por el complejo mayor de histocompatibilidad clase I que reconocen péptidos viral sobre la superficie de células infectadas.

Para evadir la respuesta inmunológica, el Herpes virus codifica genes que interfieren con la activación del complejo mayor de histocompatibilidad clase I y clase II que restringe la actividad de linfocitos T y células asesinas naturales, modifica la función de las citoquinas y sus receptores, interactúa con factores del complemento y, modula las señales de transducción y actividades del factor de transcripción y otras funciones celulares.(18)

Con respecto a VEB se ha demostrado que esta familia viral afecta más del 90% de la población adulta a nivel mundial, es usualmente transmitido por secreciones orales o sangre, produciendo infecciones como la Mononucleosis Infecciosa, y el Linfoma de Burkitt. Existen además, estudios que apoyan el potencial carcinogénico de este virus en cáncer epitelial; así como, la evidencia de que puede infectar y replicarse dentro de las células del epitelio escamoso, lo que demuestra la importancia del estudio de este grupo viral y las lesiones asociadas.(14)

VEB ha sido frecuentemente asociado con transformación maligna, a través de una oncoproteína latente de membrana 1 (PLM-1) presente durante la persistencia viral. La expresión de esta proteína puede inducir la transformación oncogénica de los linfocitos B y la aparición de desórdenes linfoproliferativos. La detección del ADN del VEB en individuos inmunocompetentes, en patologías tales como el Carcinoma Nasofaríngeo, Linfoma de Burkitt, Linfoma de Hodgkin, Linfomas no Hodgkin, linfoepiteliomas y en carcinomas de glándulas salivales sugiere la implicación del VEB en la patogénesis de estos tumores (19)

Leucoplasia bucal pilosa es la principal lesión asociada e VEB y su presencia se asocia con estados avanzados de inmunosupresión, principalmente infección por VIH. Las células T del paciente VIH+ eliminan las células infectadas por VEB de forma menos eficiente que en personas inmunocompetentes 20. De igual forma el Virus Epstein Barr ha sido identificado como agente etiológico del Linfoma No Hodgkin y Linfoma de Burkitt en pacientes VIH+, estimándose un riesgo de aproximadamente entre 100 a 300 veces mayor comparada con la población general (21).

VEB se replica en células epiteliales o células B de la orofaringe, siendo las células B de memoria el principal sitio de persistencia. Mientras la infección por VEB en niños es con frecuencia subclínica, en adultos resulta en mononucleosis infecciosa. La mayor parte de los síntomas son atribuidos a la proliferación y activación de células T en respuesta a la infección. Los síntomas mas comunes de la mononucleosis infecciosa son fiebre, linfadenopatía y faringitis, menos comunes son la aparición de úlceras bucales, petequias en el paladar y ulceraciones gingivales(22).

Con la aplicación de técnicas de biología molecular disponibles hoy en día para diagnostico, se han podido identificar diferentes cepas o tipos de VEB, designados como tipo A y tipo B (o tipo 1 y 2), los cuales tienen amplia distribución mundial, aunque el tipo A parece ser mas prevalente en Europa, Japón y América, y el tipo B en África y Nueva Guinea. La coinfección entre los dos tipos no es común.

Klemenc y cols (23), encontraron una prevalencia de 43% de VEB en fluido gingival de pacientes con periodontitis; mientras que en pacientes clínicamente sanos no encontraron cantidades detectables del virus. Igualmente VEB fue detectado en mayor porcentaje en muestras subgingivales con elevado índice de placa e índice gingival. En cuanto a la profundidad de los sacos, VEB fue confirmado en mayor porcentaje cuando las muestras fueron tomadas en sacos con profundidades sondeables entre 3-6 mm, en comparación con muestras extraídas de sacos con menor profundidad. (24,25,26)

Wu Y y cols (27) detectaron con mas frecuencia la presencia de VEB-1 en pacientes con periodontitis crónica, que en pacientes con gingivitis o periodontalmente sanos, encontrando además una correlación positiva con el sangramiento al sondaje.

Es posible que los sacos periodontales sean un lugar apropiado donde la coexistencia de algunos virus y bacterias, se convierta en un factor adicional en el cual se dispara y se facilita la exacerbación de la enfermedad. Todos los herpes virus después de la infección primaria, persisten en diferentes partes del cuerpo humano por largo tiempo, pero en algunas circunstancias como la depresión de la respuesta inmunológica, stress y/o otras enfermedades, el virus latente puede ser reactivado.

Con el objeto de comprobar la relación entre la presencia de sacos periodontales, pérdida de inserción y la existencia de virus en la enfermedad periodontal, se han llevado a cabo diversas investigaciones. La detección de genomas de CMVH, VEB-1 y VHS en periodontitis severas, en periodontitis juvenil y en periodontitis asociadas a: síndrome de Papillón Lefèvre, síndrome de Down y VIH, fue demostrada por Slots y cols.(28) Saygun y cols. (29) también demostraron la presencia de CMVH y VEB-1 en muestras tomadas a pacientes con enfermedad periodontal.

Periodontopatogenicidad mediada por Herpes virus

Slots (28) el principal investigador en esta área sugiere que existen varios mecanismos que operan solos o en combinación:

Los Herpes virus pueden tener un efecto directo citopático sobre fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales, células inflamatorias como leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMN), linfocitos, macrófagos y posiblemente células óseas, que son constituyentes claves del tejido periodontal inflamado. Este efecto citopático puede también alterar el recambio y reparación de los tejidos.

Las infecciones activas por Herpes virus pueden deteriorar significativamente a las células involucradas en la defensa periodontal, permitiendo un sobrecrecimiento de los patógenos periodontales, predisponer a infecciones secundarias por la generación de anticuerpos contra los neutrófilos y; como consecuencia, neutropenia, anormalidades en las actividades de adherencia, quimiotáxis, fagocitosis, oxidativas, secretorias y antibacteriales de los leucocitos polimorfonucleares, que son las células de mayor importancia en el control de las infecciones periodontales (30). Pueden también infectar y alterar las funciones de monocitos, macrófagos y linfocitos en lesiones periodontales. VEB puede actuar como potente activador policlonal de linfocitos B, capaz de inducir la proliferación y diferenciación de células secretoras de inmunoglobulinas, características que pueden ser observadas en pacientes con periodontitis.

La interacción entre Herpesvirus y bacterias puede ser bidireccional, cuando enzimas bacterianas u otros productos inductores de inflamación tienen el potencial de activar Herpesvirus periodontales.

La infección por Herpesvirus induce la expresión de citocinas y quimiocinas. Puede sobrerregular la expresión de interleucina-1 β , factor de necrosis tumoral- α , monocitos y macrófagos. La interleucina-1 β y el FNT- α pueden estimular las metaloproteinasas de la matriz, disminuir la síntesis de los inhibidores de las metaloproteinasas y mediar la destrucción ósea periodontal. Estudios realizados en pacientes con enfermedad periodontal activa en algunas zonas, revelan niveles elevados de citocinas proinflamatorias.(31)

Herpesvirus pueden producir daño al tejido como resultado de una respuesta inmunopatológica. VEB induce la proliferación de linfocitos T citotóxicos, cuya función es reconocer y destruir las células infectadas por el virus. Los linfocitos B infectados por VEB pueden liberar estructuras virales antigénicas que conllevan a la producción de anticuerpos bloqueadores, formación de complejos inmunes y activación de las células T supresoras.

Slots y Contreras (13) sugieren que la patogénesis de algunos tipos de periodontitis es un proceso con múltiples pasos que involucran complejas interacciones entre virus herpes, bacterias y factores del hospedero. La fig. 1 describe el modelo propuesto para la enfermedad periodontal asociada a virus.

Los eventos iniciales en el desarrollo de la periodontitis son la formación de placa dental, seguido por la aparición de una gingivitis. En esta fase ocurre una respuesta de defensa a nivel de los tejidos caracterizada por infiltrado de linfocitos T, B y monocitos/macrófagos, los cuales podrían transportar virus Herpes a los tejidos gingivales. Si la inflamación gingival incrementa se elevaría el número de células inflamatorias infectadas con Herpes virus, lo que favorece el riesgo de progresión hacia periodontitis.

Modelo propuesto para el desarrollo de la enfermedad periodontal asociada a virus.

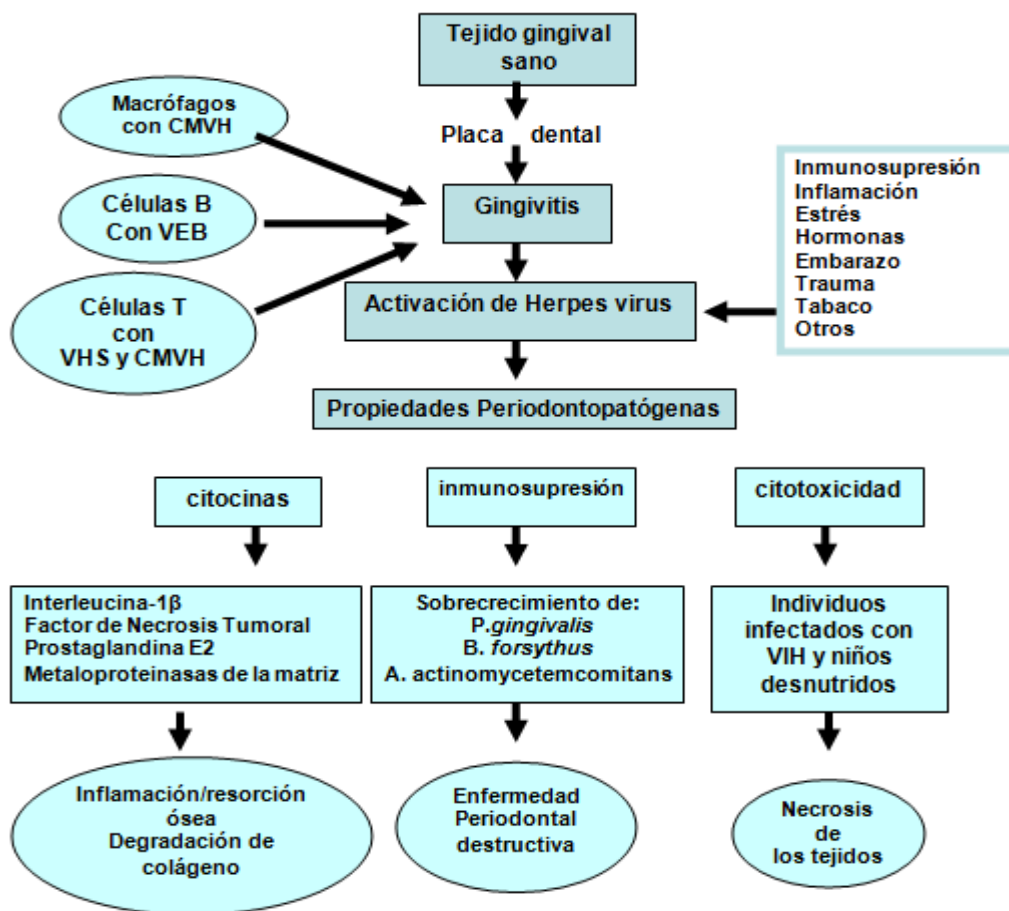


Fig 1
Tomado de Slots y Contreras (2000).(13)

Las evidencias que apoyan una asociación entre VEB y la enfermedad periodontal se basa en los resultados de estudios que han detectado la presencia del virus en tejidos gingivales, siendo mayor la prevalencia en zonas con enfermedad que en zonas sanas. Los análisis en fluido gingival y placa subgingival también reportan mayor presencia del virus en zonas periodontalmente enfermas que en zonas con gingivitis o sanas.(16)

Se ha realizado la detección de virus Herpes en su forma activa en fluido gingival de lesiones periodontales y en asociación con patógenos periodontales.(16,32,33,34,35,36,37)
Existen también argumentos en contra de la hipótesis que involucran los virus herpes en la etiología de la enfermedad periodontal (16):

1. La mayor parte de los trabajos que buscan asociación entre virus Herpes y enfermedad periodontal, han sido llevados a cabo por el mismo grupo o realizadas en colaboración y, casi todas las muestras analizadas en el mismo laboratorio; por lo tanto se hace necesaria la ejecución de mas estudios realizados por otros investigadores.
2. En cuanto a las técnicas aplicadas o empleadas para el estudio, RCP permite la detección de cantidades muy pequeñas de microorganismos o virus a través de manipulación selectiva de fragmentos de ADN. En algunas de las investigaciones reportadas se utilizó el nested RCP, el cual es altamente sensible y específico, pero es muy susceptible a contaminación y a producir falsos positivos. El RCP cuantitativo en tiempo real puede ser un método mas apropiado, ya que permite no sólo la detección, sino la cuantificación del virus (38).
3. Las poblaciones utilizadas para estos estudios muestran un amplio rango de edades, origen y estado socioeconómico desconocidos lo que constituye una limitación para comparar los diferentes grupos.
4. A pesar de la alta frecuencia de detección de virus en sitios periodontales, su papel etiológico es difícil de establecer. Una dificultad se relaciona directamente a la toma de la muestra. En zonas enfermas con profundidades incrementadas y sangramiento al sondaje, se pueden recolectar volúmenes más altos de fluido gingival crevicular (FGC), y las muestras pueden contener mayor cantidad de células sanguíneas. Adicionalmente dichas muestras pueden contener crecientes cantidades de biopelícula subgingival. Por lo tanto, las muestras provenientes de zonas con enfermedad son más propensas a contener virus provenientes de sangre, independientemente de una asociación específica con el proceso de enfermedad.

Otra explicación es que la reactivación del virus no sea la causa de mayor actividad de enfermedad periodontal; ya que puede ocurrir el caso contrario, la actividad de la enfermedad periodontal causada por infección bacteriana pueda disparar la reactivación del virus.

Conclusiones

Diferentes estudios, la mayoría provenientes del mismo grupo de investigación, han demostrado una asociación de los virus herpes con la enfermedad periodontal. El ADN viral ha sido detectado en el tejido gingival, así como en FGC y placa subgingival tomada de sitios enfermos. Además, la utilización de marcadores ha permitido detectar la presencia de activación de virus herpes en FGC proveniente de sacos periodontales.

Estos estudios sugieren que la presencia de los virus herpes juega un papel importante en la activación del proceso de enfermedad periodontal, a través de interacciones entre bacterias y Herpes virus, lo que puede explicar algunas de las características clínicas de la enfermedad. Una alteración, entre períodos prolongados de latencia interrumpidos por períodos de activación del Herpes virus, puede ser la responsable de los episodios de estallido y progresión de la enfermedad periodontal. Para que se

produzca la activación se necesita: (1) carga adecuada de virus Herpes en los sitios periodontales. (2) Activación de estos virus en el periodonto. (3) Respuesta protectora inadecuada de los linfocitos T citotóxicos contra los virus. (4) Presencia de bacterias periodontopatogénicas específicas. (5) Inadecuada respuesta protectora de anticuerpos contra las bacterias. El tropismo hacia los tejidos por parte de Herpes virus puede ayudar a explicar los patrones de destrucción localizada en la periodontitis.

Entre virus Herpes, VEB se encuentra asociado con enfermedades de la cavidad bucal como el linfoma de Burkitt, el carcinoma nasofaríngeo y la leucoplasia pilosa. Su presencia ha sido detectada con mayor frecuencia en pacientes con enfermedad periodontal crónica y enfermedad periodontal agresiva que en pacientes con gingivitis o periodontalmente sanos. Igualmente se ha encontrado una asociación significativa entre su presencia y la severidad de signos clínicos relacionados con actividad de enfermedad como el sangramiento al sondaje. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para llegar a resultados concluyentes sobre la implicación VEB en la activación de la enfermedad periodontal.

La investigación básica sobre virus Herpes puede beneficiarse de los hallazgos en el periodonto, ya que una de las dificultades para su investigación es la no disponibilidad de un material de estudio realmente accesible, especialmente en individuos sistémicamente sanos con infección latente por virus Herpes. Los sitios periodontales infectados por estos virus permiten la toma de muestras de una manera no invasiva y constituye un modelo de investigación de gran valor para el estudio de la patofisiología de la latencia y reactivación de los virus herpes así como su interacción con los patógenos periodontales.

BIBLIOGRAFIA

1. Mealey BL, Rose L. Periodontal inflammation and diabetes mellitus. *Connections: Oral and Systemic Health Review*. 2005;1: N° 2.
2. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Ann Periodontol*. 1998;3:108-120.
3. Fine DH. Mouthrinses as adjuncts for plaque and gingivitis management. A status report for the American Journal of dentistry. *Am J Dent*. 1988;1(6):259-263.
4. Costerton JW and Lappin-Scott HM. Introduction to microbial biofilms. In HM Lappin-Scott and JW Costerton (ed.), *Microbial biofilm*. 1995; p:1-11. Cambridge University Press. Cambridge.
5. Curtis, M.A, Slaney, J.M. & Aduse-Opoku, J. Critical pathways in microbial virulence. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32: (suppl. 6), 23-33.
6. Contreras A, Umeda M, Chen C, et al. Relationship between herpesviruses and adult periodontitis and periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 1999; 70:478-484.
7. Contreras A, Nowzari H, Slots J. herpesviruses in periodontal pocket and gingival tissue specimens. *Oral Microbial Immunol*. 2000;15:15-18.
8. Contreras A, Mardirossian A, Slots J. Herpesviruses in HIV- periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001; 28:96-102.
9. Kamma JJ, Contreras A, Slots J. Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2001; 28:879-885.
10. Saygun I, Kubar A, Ozdemir A, Slots J. Periodontitis lesions are a source of salivary

- cytomegalovirus and Epstein-Barr virus. *J Periodontal Res.* 2005;40(2):187-91.
11. Sugano N, Ikeda K, Oshikawa M, Idesawa M, Tanaka H, Sato S and Ito K. Relationship between *Porphyromonas gingivalis*, Epstein-Barr virus infection and reactivation in periodontitis. *J Oral Sciences.* 2004. 46(4):203-206.
 12. Slots J. Herpesviruses, the missing link between gingivitis and periodontitis. *J Int Acad Periodontol.* 2004.6(4):113-119.
 13. Slots J, Contreras A. Herpesviruses: a unifying causative factor in periodontitis?. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15:277-280.
 14. Goldenberg et al, 2004.
 15. Roizman B and Pellet PE. The familie Herpesviridae: A brief introduction. In Knipe DM and Howley PM. (Eds): *Fields Virology*, 4th edition. Philadelphia PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:2381-2397.
 16. Cappuyns I, Gugerli P, Mombelli A. Viruses in periodontal disease - a review. *Oral Dis* 2005; 11:219-229.
 17. Slots J. Herpesviruses in periodontal disease. *Periodontology* 2000. 2005; 38:33-62.
 18. Loenen WA, Bruggeman CA, Wiertz EJ. Immune evasion by human cytomegalovirus: lessons in immunology and cell biology. *Semin Immunol* 2001; 13:41-49.
 19. Gonzalez-Moles MA, Gutierrez J, Rodriguez MJ, Ruiz-Avila I, Rodriguez-Archilla A. Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP-1) expression in oral squamous cell carcinoma. *Laryngoscope.* 2002;112(3):482-7.
 20. Jenson H, McIntosh K, Pitt J et al. natural history of primary Epstein-Barr virus infection in children of mothers infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis.* 1999; 179:1395-1404.
 21. Baris D, Zahm SH. Epidemiology of lymphomas. *Curr Opin Oncol.* 2000 ;12(5):383-94.
 22. Rivera-Hidalgo F, Stanford TW. Oral mucosal lesions caused by infective microorganisms. I. Viruses and bacteria. *Periodontol* 2000 21:106-124.
 23. Klemenc P, Skalei? U, Artnik B, Nograšek P, Marin J. prevalence of some herpesviruses in gingival crevicular fluid. *J Clin Virol.* 2005;34:147-152.
 24. Contreras A, Slots J. Mammalian viruses in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1996; 11:381-386.
 25. Parra B, Slots J. Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol.* 1996; 11:289-293.
 26. Watanabe SA, Correia-Silva JF, Rebello MC, da Costa JE, Gomez RS. EBV-1 and HCMV in aggressive periodontitis in Brazilian patients.
 27. Wu Y, Yan J, Chen L, Sun W, Gu Z. Infection frequency of Epstein-Barr virus in subgingival

- simples from patients with different periodontal status and its correlation with clinical parameters. J Zhejiang Univ SCIENCE B 2006. 7(11):876-883.
28. Slots J. Herpesviral-bacterial synergy in the pathogenesis of human periodontitis. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20:278-283.
 29. Saygun I, Sahin S, Ozdemir A et al. Detection of human viruses in patients with chronic periodontitis and the relationship between viruses and clinical parameters. *J Periodontol.* 2002; 73: 1437-1443.
 30. Abramson JS, Mills EL. Depression of neutrophil function induced by viruses and its role in secondary microbial infections. *Rev Infect Dis.* 1988;10(2):326-41.
 31. Gemmel E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol 2000* 2007; 43:14-40.
 32. Contreras A, Slots J. Active cytomegalovirus infection in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1998; 13:225-230.
 33. Ting M, Contreras A, Slots J. Herpes virus in localized juvenile periodontitis. *J Periodontal Res* 2000; 35:17-25.
 34. Contreras A, Zadeh HH, Nowzari H, Slots J. Herpesvirus infection of inflammatory cells in human periodontitis. *Oral microbial Immunol* 1999; 14:206-212.
 35. Hanookai D, Nowzari H, Contreras A, Morrison JL, Slots J. Herpesviruses and periodontopathic bacteria in Trisomy 21 periodontitis. *J Periodontol* 2000; 71:376-384.
 36. Slots J, Sugar C, Kamma JJ. Cytomegalovirus periodontal presence is associated with subgingival *Dialister pneumosintes* and alveolar bone loss. *Oral Microbiol Immunol.* 2002; 17:369-374.
 37. Kamma JJ, Slots J. Herpes-viral interactions in aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003. 30:420-426.
 38. Burkardt HJ. Standardization and quality control of PCR analyses. *Clin Chem Lab Med.* 2000.38:87-91.