
Clinical review

Dottor Vito Trinchieri

*Dipartimento Malattie Infettive e Tropicali
Università degli Studi "Sapienza" Roma.*

1. Malattie del cavo orale e ruolo dell'ossido nitrico

L'ossido nitrico (NO) è stato al centro dell'attenzione scientifica per molti anni a causa del suo importante ruolo in varie condizioni fisiologiche e patologiche, come il mantenimento del tono vascolare, lo shock settico, l'impotenza, la sindrome da distress respiratorio acuto, il broncospasmo e la neoplasia maligna. Le ricerche svolte sull'ossido nitrico sono state così ampie ed innovative da meritare l'assegnazione di due premi Nobel a lavori associati all'ossido nitrico e molti scienziati lo considerano una delle più grandi scoperte del XX secolo. Di recente, l'interesse per NO da parte di ricercatori e clinici è stato rivolto a cercare di capirne il ruolo in varie patologie del cavo orale e vi sono già molti elementi a sostegno di questo forte collegamento.

La sintesi dell'ossido nitrico (NO)

L'ossido nitrico viene sintetizzato da enzimi denominati NO sintasi (NOS). Vi sono tre tipi di enzimi NOS, ciascuno prodotto da geni distinti e denominato secondo l'ordine cronologico in cui è stato scoperto. NOS1 è stata la prima isoforma ad essere purificata e clonata da tessuto neurale. Viene detta anche nNOS. NOS3 è un'isoforma inizialmente trovata nelle cellule endoteliali e denominata eNOS. NOS1 e NOS3 sono definite anche costitutive in

quanto vengono continuamente espresse nelle cellule neurali ed endoteliali. La loro attività è anche funzione del livello di calcio intracellulare, quindi producono un livello di NO basso e transiente in condizioni fisiologiche. La NOS2 è un'isoforma calcio-indipendente ed inducibile, denominata anche iNOS. A differenza di NOS1 e NOS3, l'induzione di NOS2 determina una produzione continua di NO. Oltre al lipopolisaccaride (LPS) ed all'interferon-gamma (INF- γ), molti altri fattori inducono la produzione dell'enzima, come il fattore di necrosi tumorale- α (TNF- α), le interleuchine (IL-1, IL-10 e IL-12), il fattore attivante le piastrine (PAF) e il fattore nucleare kB (NF-kB). Una volta indotta, la NOS2 è in grado di produrre più a lungo una quantità maggiore di NO rispetto alle altre due isoforme (NOS1 e NOS3).

Parodontite/gengivite e NO

L'espressione di NOS2 (iNOS) si è rivelata maggiore nel tessuto con parodontite rispetto al tessuto sano¹. Alcuni studi hanno dimostrato che la presenza di NOS2 dipendeva dall'estensione dell'infiammazione nel tessuto² e che nella maggior parte dei casi le cellule NOS2-positive nel tessuto connettivo erano macrofagi³. Studi recenti hanno inoltre dimostrato che anche l'espressione di NOS2 nei fibroblasti gengivali è più elevata nel parodonto infiammato che nel tessuto gengivale sano. In diversi esperimenti su animali, tutti i parametri di laboratorio e microscopici dell'infiam-

mazione sono stati migliorati nel modello di parodontite indotta da legature somministrando inibitori dell'ossido nitrico sintasi quali mercaptoetilguanidina^{4, 5, 6, 7} o aminoguanidina⁵. Si evince quindi che la modulazione delle attività di NOS2 o la produzione di NO possono attenuare o prevenire la parodontite.

Mucosite orale e NO

L'eziologia che sottende a diverse affezioni orali causanti ulcere può andare dalla disfunzione autoimmune alla tossicità dell'agente chemioterapico: il ruolo della cascata infiammatoria è stato ben definito come importante fattore predisponente al processo di danno tissutale, indipendentemente dall'eziologia. Sebbene l'eziologia delle malattie infiammatorie della mucosa orale non sia chiara, il ruolo dell'Ossido Nitrico è stato studiato approfonditamente in varie condizioni quali la Sindrome di Behçet e la stomatite aftosa ricorrente, dimostrando che un aumentato livello di NO nella saliva è associato a tali patologie^{8, 9}.

2. L'importanza del controllo dell'infiammazione cronica del cavo orale per la prevenzione di patologie sistemiche^{10, 11}

Le attuali strategie per la prevenzione delle malattie cardiovascolari (CVD) sono la limitazione dell'assunzione di grassi tramite la dieta associata ad un trattamento farmacologico che abbassi i livelli sierici di colesterolo. Tuttavia, è ormai generalmente accettato che l'aterosclerosi non è soltanto dovuta ai troppi grassi ingeriti, ma si verifica anche e maggiormente in relazione a processi infiammatori cronici. Le evidenze epidemiologiche indicano un rapporto significativo tra parodontite e malattie cardiovascolari. Recenti studi hanno confermato che la parodontite causa un aumento della produzione di marcatori infiammatori sierici, e che questi diminuiscono non appena la parodontite viene controllata. Sebbene una causalità diretta non sia stata dimostrata, i dati attualmente disponibili suggeriscono fortemente che l'infezione cronica ed il processo infiammatorio della parodontite possano aumentare i fenomeni infiammatori sistemici, provocando una attivazione dei processi infiammatori a livello delle cellule dell'endotelio, che a loro volta accelerano lo sviluppo di lesioni aterosclerotiche.

È stato verificato che la severità della malattia parodontale è correlata sia con aumentati livelli di insulino-resistenza (che è spesso precursore del diabete di tipo 2) sia con elevati livelli di emoglobina A1c (un indicatore di scarso controllo glicemico nel diabete). Il controllo della parodontite riduce significativamente i livelli di A1c, parametro di controllo glicemico. Ulteriori studi hanno suggerito che le sostanze pro-infiammatorie come IL-1- β , IL-6 and TNF- α prodotte in corso di parodontite possano essere trasferite dal parodonto nel circolo sanguigno e stimolare la cellula a diventare più insulino-resistente; ciò sottolinea l'importanza del controllo della parodontite per impattare positivamente su malattie sistemiche come il diabete mellito.

Molte evidenze indicano come il controllo dell'infiammazione cronica associata alla parodontite contribuisca ad un migliore controllo, o addirittura alla prevenzione, di patologie sistemiche. Dato l'importanza della risposta immunitaria dell'ospite verso l'aggressione batterica come evento fondamentale nella patogenesi e nello sviluppo della parodontite, i clinici dovranno focalizzare maggiormente l'attenzione sul controllo del sistema immunitario dell'ospite, oltre agli approcci tradizionali di rimozione dei batteri attraverso mezzi meccanici e chimici.

3. Gengivite

La gengivite è un processo infiammatorio ad eziologia batterica limitata alla gengiva che causa la distruzione reversibile dei tessuti parodontali. Il quadro clinico è caratterizzato da spiccata sensibilità, sanguinamento e dolore alla masticazione. L'infiammazione nasce dalla presenza di tasche gengivali nelle quali si raccolgono i batteri responsabili di tale patologia. Obiettivamente è apprezzabile un cambiamento nel colore, nel contorno e nella consistenza del tessuto gengivale. La gengivite è detta *subclinica* quando non sono presenti segni clinicamente visibili, e *clinica* quando tali segni sono clinicamente apprezzabili. In termini di durata, la gengivite può essere acuta (di breve durata) o cronica (di lunga durata). Esistono diverse tipologie di malattie gengivali: a) le *malattie gengivali indotte da placca* presentano una infiammazione della gengiva come risposta ai batteri presenti al margine gengivale; b) le *malattie gengivali non indotte da placca* non sono provocate da placca batterica e non scompaiono dopo la rimozione della placca. Le cause principali possono essere molteplici: infezione virale o fungine, malattie dermatologiche, reazioni allergiche, trauma meccanico ecc. Il trattamento della gengivite di solito inizia con una buona pulizia eseguita da uno specialista dell'igiene orale o dal paziente stesso. Un buon protocollo di igiene orale a casa, con spazzolino e filo interdentale, è considerato un

passo fondamentale per prevenire e trattare la gengivite. Di recente, al protocollo delle normali cure domestiche per adulti è stato aggiunto lo sciacquo antisettico del cavo orale. Quasi sempre, la gengivite si può gestire con una buona igiene orale; tale condizione però è difficilmente ottenibile nei bambini per i quali è molto sentita l'esigenza di una procedura aggiuntiva efficace e di facile applicazione che consenta di prevenirne l'insorgenza.

***Lactobacillus brevis* CD2 e gengivite pediatrica¹²**

Polimeni A et al. **The Arginine-Deiminase Enzymatic System on Gingivitis: Preliminary Pediatric Study.** *Annali di Stomatologia* (2010) LIX 1:8-13.

- **Obiettivo dello studio:** valutare "in vivo" l'efficacia di *Lactobacillus brevis* CD2 per il trattamento della gengivite in pazienti pediatriche con gengivite marginale.
- **Disegno dello studio:** sono stati arruolati nello studio 21 pazienti con diagnosi di gengivite marginale, 16 maschi e 5 femmine, di età tra 5 e 12 anni. È stata somministrata ai pazienti gomma da masticare contenente *Lactobacillus brevis* CD2 con l'istruzione di masticare 3 gomme al giorno per 60 giorni. I parametri clinici dei pazienti, come sensibilità termica, sanguinamento, punteggio placca e punteggio di infiammazione gengivale sono stati rilevati all'inizio dello studio (T0), 30 giorni dopo (T1) e dopo 60 giorni (T2).

- **Risultati:** al tempo T1, 18 pazienti non mostravano più i segni di infiammazione.

I punteggi di placca, sensibilità e sanguinamento a pressione sono tutti migliorati nella maggior parte dei pazienti a fine trattamento.

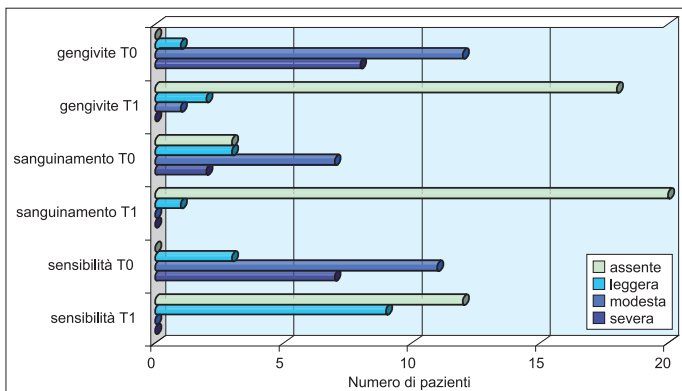


Fig. 1. Punteggi di gengivite, sanguinamento e sensibilità..

I pazienti avevano attività di Ossido Nitrico Sintasi (NOS) superiore e livelli di IgA inferiori rispetto ai soggetti sani all'inizio del trattamento (T0). Tuttavia, dopo il trattamento, i livelli di IgA e di attività NOS si erano modificati in modo significativo fino a raggiungere livelli simili a quelli dei soggetti sani.

- **Conclusione:** lo studio ha confermato l'effetto antinfiammatorio del *Lactobacillus brevis* CD2 per il trattamento della gengivite ed è stato ben tollerato nella popolazione pediatrica..

4. Parodontite

La gengivite, se non trattata, può progredire in parodontite a causa della diffusione della placca batterica al di sotto della gengiva marginale. La parodontite è un'infezione che interessa tutto il parodonto, provocando la distruzione dei tessuti parodontali. Le tossine prodotte dai batteri o il contatto batterico diretto con le cellule dell'epitelio, possono stimolare una reazione infiammatoria del tessuto parodontale, provocando una reazione autodistruttiva dei tessuti e dell'osso che sostengono i denti, causandone la caduta. La distruzione non è un processo continuo, ma accade in maniera intermittente. La parodontite è la causa principale della perdita dei denti negli adulti, e colpisce particolarmente i fumatori.

I tipici segnali di allarme della parodontite sono il rossore, la tumefazione, il sanguinamento e la retrazione gengivale, la formazione di tasche parodontali, la perdita ossea, la mobilità dentale e la suppurazione. La parodontite non provoca necessariamente dolore, e può interessare qualsiasi numero di denti. La malattia in genere progredisce in modo lento o moderato, e può presentarsi in forma localizzata o estesa a tutto il parodonto.

Secondo la gravità della malattia, esistono diverse opzioni terapeutiche, ma prima di qualsiasi trattamento parodontale, bisogna valutare se il paziente ha altre patologie concomitanti o se è fumatore.

- **Scaling e levigatura radicolare:** è un metodo non chirurgico e non invasivo, che consiste nella rimozione della placca dal dente al fine di arrestare gli stimoli aggressivi da parte delle tossine e dei batteri, seguito da terapia aggiuntiva quale il trattamento antimicrobico.
- **Trattamento chirurgico:** spesso è necessaria la rimozione chirurgica del tessuto parodontale infiammato o deformato per ripristinare funzione ed estetica nei tessuti affetti da parodontite.
- **Trattamento antimicrobico:** spesso gli agenti antimicrobici somministrati sistemicamente e/o localmente vengono prescritti dal medico come terapia aggiuntiva allo Scaling o al trattamento chirurgico. Si usano diversi agenti, quali tetraciclina, minociclina, metronidazolo, amoxicillina e clo-roexidina.

Alcuni agenti antimicrobici somministrati sistemicamente riportano risultati positivi come terapie aggiuntive allo Scaling per trattare la parodontite cronica non aggressiva in pazienti senza altre condizioni di comorbidità quali il diabete o deficit del sistema immunitario. Tuttavia, considerando il fatto che la malattia parodontale deriva da reazioni indesiderabili di un sistema ecologico complesso costituito da oltre 1000 specie di batteri, prevalentemente anaerobici gram-negativi, e tenendo presente che per i batteri parodontali la sensibilità ai diversi antibiotici varia notevolmente, un approccio

antibiotico semplicistico potrebbe rivelarsi problematico nel trattamento di questa patologia. Anche preoccupazioni quali il rischio di macchiare i denti, specialmente in seguito all'utilizzo di tetraciclina, o la possibilità di sviluppare resistenza agli antibiotici sono stati indicati come principali fattori limitanti per l'uso a lungo termine di antibiotici sistemici.

***Lactobacillus brevis* CD2 e malattia parodontale**¹³

Della Riccia DN, Bizzini F, Perilli MG, Polimeni A, Trinchieri V, Amicosante G, Cifone MG. **Anti-Inflammatory Effects of *Lactobacillus Brevis* (CD2) on Periodontal Disease in Vivo.** *Oral Diseases* 2007; 13:376-85.

- **L'obiettivo dello studio:** analizzare gli effetti *in vivo* di compresse orodispersibili contenenti *Lactobacillus brevis* CD2 con alta attività arginina deiminasi (AD). Sono stati considerati i seguenti parametri: 1) i segni clinici di parodontite, 2) l'attività dell'ossido nitrico sintasi (NOS) e delle metalloproteasi della matrice (MMP), la formazione di eicosanoidi, i livelli di interferone gamma (IFN- γ) e di immunoglobulina A (IgA) in campioni salivari. Il meccanismo anti-infiammatorio dell'estratto di *Lactobacillus brevis* CD2 è stato studiato *in vitro* su macrofagi ottenuti dal peritoneo di ratto, attivati con lipopolisaccaridi.

- **Disegno dello studio:** è stato eseguito in doppio cieco con trattamenti randomizzati e comparati con un gruppo di 8 volontari sani (maschi e femmine, età da 24 a 27 anni,

età media $33,6 \pm 7,96$) senza alcun segno clinico di patologia parodontale. Sono stati arruolati 21 pazienti adulti con parodontite (16 uomini e 5 donne, di età compresa tra 30 e 51 anni) per analizzare l'effetto di compresse orodispersibili contenenti almeno 10^9 batteri di *Lactobacillus brevis* CD2 sui segni e sintomi associati alla parodontite. I pazienti hanno assunto 4 compresse al giorno per 4 giorni, 5 pazienti (4 uomini e 1 donna, dai 29 ai 48 anni) con parodontite sono stati arruolati nello studio e trattati con terapia antibatterica tradizionale (spiromicina, 1 x 300mg al giorno).

Prima e dopo il trattamento con *Lactobacillus brevis* CD2, i pazienti sono stati sottoposti a visita parodontale completa di rilevazioni della perdita di adesione orale, profondità di sondaggio, punteggio indice di placca e di sanguinamento al sondaggio. Tutte le rilevazioni sulla malattia parodontale sono state fatte in 4 quadranti, in 6 siti per ogni dente, e per tutti i denti.

I pazienti in questo studio manifestavano diversi gradi di malattia parodontale, da moderato a severo. Non è stata osservata alcuna patologia sistemica e nessuno dei pazienti arruolati nello studio aveva assunto antibiotici nei 4 mesi precedenti.

- **Risultati:** i punteggi associati all'infiammazione gengivale, alla placca, al tartaro, alla sensibilità termica ed al sanguinamento al sondaggio prima e dopo trattamento con compresse orodispersibili contenenti *Lactobacillus brevis* CD2 sono riportati nella Figura 2.

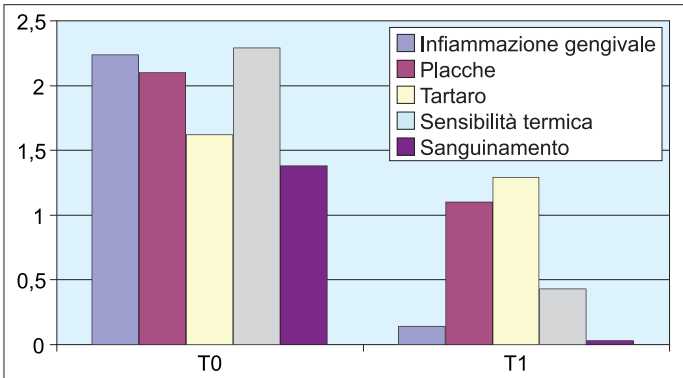


Fig. 2. Valutazioni Cliniche - Score medio nei vari parametri.

Dopo il trattamento, per 18 pazienti è stata osservata una completa guarigione, ed in 3 pazienti si è verificato un notevole miglioramento del quadro clinico. La tollerabilità è stata considerata ottimale in tutti i pazienti.

I pazienti che avevano ricevuto il trattamento antibatterico con spiromicina per 4 giorni non hanno presentato significative modificazioni dei segni e sintomi clinici.

La Figura 3 illustra, in pazienti sani e con parodontite, i livelli di attività NOS determinata come rapporto di nitriti e nitrati nella saliva. La saliva dei pazienti con parodontite mostrava livelli significativamente ($p < 0.01$) più alti di nitriti/nitrati rispetto ai soggetti normali. Il trattamento con *Lactobacillus brevis* CD2 è stato associato ad una riduzione significativa di questi livelli ($p < 0.01$).

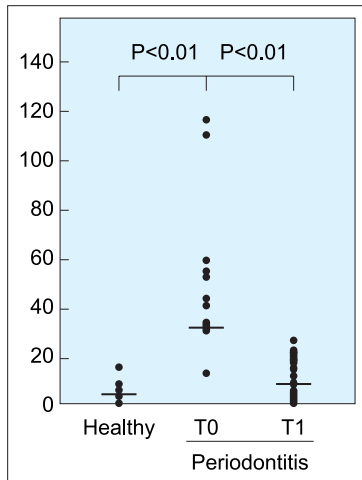


Fig. 3. Effetti di compresse contenenti *Lactobacillus brevis* sull'attività NOS da campione salivare.

I livelli di PGE2 nei campioni di saliva dei pazienti con parodontite risultavano significativamente più elevati rispetto ai soggetti sani. È stato interessante notare come i livelli di queste molecole associate con l'infiammazione fossero significativamente ridotti dopo il trattamento con compresse orodispersibili contenenti *Lactobacillus brevis* CD2 ($p < 0.01$) (Figura 4).

La concentrazione di IFN- γ nella frazione solubile dei campioni di saliva è stata significativamente più alta ($p < 0.01$) nei pazienti con parodontite rispetto ai soggetti sani. Il trattamento con compresse orodispersibili contenenti Lac-

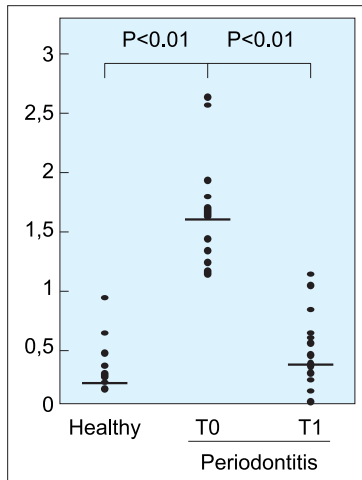


Fig. 4. Effetti di compresse contenenti *Lactobacillus brevis* su livelli di PGE2 da campione salivare.

tobacillus brevis ha dimostrato una forte e significativa riduzione di queste citochine pro-infiammatorie rispetto ai livelli basali ($p < 0.01$). I livelli di IgA erano significativamente ridotti nei pazienti rispetto ai controlli ($p < 0.05$), ma non sono stati significativamente modificati dal trattamento. La misurazione dell'attività delle MMP nella frazione solubile dei campioni di saliva ha dimostrato che i campioni di saliva dei pazienti con parodontite presentavano quantità superiori di MMP rispetto ai campioni dei soggetti sani, confermando studi precedenti. Il trattamento con le compresse orodispersibili ha determinato la quasi totale scomparsa delle MMP nei campioni di tutti i pazienti con parodontite.

I risultati hanno suggerito che l'arginina deiminasi batterica sia in grado di utilizzare l'arginina presente nel medium, prevenendo la sua assunzione da parte dei macrofagi, e di conseguenza l'attivazione di NOS. In presenza di estratti batterici, l'attività NOS è scomparsa e tutta l'arginina è stata convertita in citrullina attraverso l'arginina deiminasi batterica, come dimostrato dalla mancanza di effetto dell'inibizione di NOS.

- **Per meglio comprendere** i meccanismi che sono alla base dell'azione anti-infiammatoria del trattamento con *Lactobacillus brevis* CD2, è stata effettuata una serie di esperimenti utilizzando macrofagi ottenuti dal peritoneo di ratto, attivati "in vitro" con LPS in presenza o in assenza di estratti batterici di *Lactobacillus brevis* CD2. I risultati hanno indicato come l'attività di iNOS indotta da LPS, la generazione di PGE2 e l'attivazione di MMP fossero tutte quasi completamente abolite quando i macrofagi erano coltivati in presenza di estratti batterici, risultato che quindi costituisce una forte conferma delle osservazioni in vivo.

- **Conclusioni:** in tutti i pazienti arruolati, il trattamento con *Lactobacillus brevis* CD2 ha portato alla totale scomparsa o al miglioramento di tutti i parametri clinici associati alla malattia parodontale. L'efficacia clinica è stata accompagnata da una riduzione significativa dell'attività NOS salivare e dei livelli di PGE2, MMP e IFN- γ .

Questo studio dimostra che il *Lactobacillus brevis* CD2, grazie all'intrinseca attività arginina deiminasi, è in grado di competere con l'ossido nitrico sintasi perché utilizza lo stesso substrato, prevenendo così la formazione di ossido nitrico. Ha inoltre dimostrato come il *Lactobacillus brevis* CD2 possa essere considerato come un innovativo ed efficace approccio terapeutico alla malattia parodontale.

5. Sindrome di Behçet

La Sindrome di Behçet è una malattia infiammatoria complessa, multisistemica, caratterizzata da infiammazione oculare, ulcerazioni a livello del cavo orale e dei genitali che spesso hanno un andamento ricorrente. Altre regioni interessate possono comprendere l'albero vascolare, il sistema nervoso, l'apparato muscoloscheletrico, respiratorio e gastroenterico, con una miriade di manifestazioni cliniche.

Il segno più frequente è la stomatite aftosa (infiammazione della mucosa orale), con le lesioni che guariscono in un lasso di tempo che va da pochi giorni ad un mese. Analoghe lesioni si osservano, anche se con minor frequenza, a livello genitale.

I sintomi oculari comprendono uveite posteriore, iridociclite, ipopion transitoria (pus nella camera anteriore dell'occhio), irite e corioretinite (infiammazione della coroide e della retina). Nella maggior parte dei pazienti affetti da Sindrome di Behçet, si osserva ipersensibilità cutanea, con pus ed arrossamento cutaneo, che si sviluppa entro 24 ore nella sede di puntura sulla cute con ago sterile. Tipicamente, le lesioni cutanee hanno l'aspetto di un eritema nodoso localizzato più comunemente sulle gambe. L'interessamento vascolare comprende tromboflebite, trombosi arteriosa ed aneurisma. In rari casi, si verifica un'embolia polmonare.

Le lesioni della stomatite aftosa si possono trovare anche in

altre zone del tratto gastrointestinale. I sintomi variano dal lieve disagio gastroenterico alla colite ulcerosa o all'enterite regionale, con problemi di malassorbimento. L'artrite si osserva in circa due terzi dei pazienti interessando generalmente ginocchia e caviglie. Dal punto di vista istologico, si riscontra la presenza di linfociti, macrofagi e neutrofilii a livello perivascolare e sulla base dell'ulcera. I plasmociti sono rari nelle lesioni iniziali, ma si osservano spesso nelle fasi successive. Le lesioni tipo eritema nodoso mostrano un modello perivascolare di infiammazione nel derma profondo e nei setti adiposi. Può avere luogo l'invasione linfocitaria delle pareti vascolari; la necrosi fibrinoide, invece, non si evidenzia.

I corticosteroidi topici possono attenuare il dolore delle lesioni orali come anche gli sciacqui con lidocaina. I corticosteroidi sistemici continuano ad essere un'utile terapia per gran parte delle manifestazioni della Sindrome di Behçet riportando rapidamente sotto controllo l'infiammazione della cute, delle mucose e delle articolazioni. La terapia della Sindrome di Behçet severa continua ad essere più problematica. Spesso è necessaria una terapia aggiuntiva con agenti immunomodulanti per controllare manifestazioni gravi quali l'uveite e la meningoencefalite e per ridurre l'incidenza della tossicità degli steroidi a lungo termine. Tra i farmaci utilizzati vi sono azatioprina, clorambucil, petoxifilina e ciclosporina.

***Lactobacillus brevis* CD2 e Sindrome di Behçet¹⁴**

Tasli L, Mat C, De Simone C, Yazici H. *Lactobacillus* Lozenges in the Management of Oral Ulcers of Behçet's Syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24 (5 Suppl 42):SO83-6.

- **Obiettivo dello studio:** l'obiettivo del presente studio è stato quello di valutare l'utilizzo di compresse orodispersibili contenenti *Lactobacillus brevis* CD2 per il trattamento di ulcere aftose ricorrenti in corso di Sindrome di Behçet.
- **Disegno dello studio:** sono stati arruolati nello studio 25 pazienti con Sindrome di Behçet. Tutti i soggetti avevano un coinvolgimento della mucosa orale con presenza di ulcere. Nessuno dei pazienti faceva uso di immunosoppressori o terapia antibiotica al momento dell'arruolamento nello studio. Sono state somministrate 6 compresse orodispersibili contenenti almeno 10^9 batteri di *Lactobacillus brevis* CD2 al giorno per 7 giorni per ciascun paziente. Come gruppo di controllo, sono stati arruolati 10 pazienti con Sindrome di Behçet che presentavano un quadro clinico del cavo orale sovrapponibile a quello dei soggetti trattati. Il numero totale di ulcere orali è stato confrontato prima dell'inizio del trattamento (T0) alla fine del trattamento stesso (T1) e con un follow up ad una settimana dalla sospensione del trattamento (T2). È stato confrontato l'andamento delle ulcere orali tra i soggetti in trattamento e i 10 pazienti Behçet che non hanno assunto *Lactobacillus brevis* CD2.

• **Risultati:** il gruppo di pazienti trattati con *Lactobacillus brevis* CD2 ha mostrato una riduzione significativa del numero medio delle ulcere rispetto al gruppo di controllo dopo una settimana di trattamento (T1). Tale riduzione si è mantenuta anche al follow-up (T2). Il prodotto è stato ben tollerato e non sono stati riportati effetti collaterali (Figura 5)..

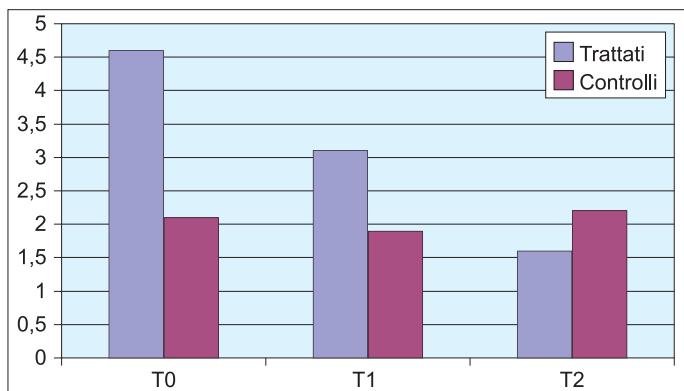


Fig. 5. Numero medio di ulcere.

• **Conclusioni:** *Lactobacillus brevis* CD2 si è dimostrato efficace nel controllo delle ulcere orali nella Sindrome di Behçet, offrendo un'opzione di sicuro interesse per il trattamento delle ulcere aftose ricorrenti che si osservano in corso di questa patologia.

6. Stomatite Aftosa recidivante.

La stomatite aftosa recidivante è una patologia autolimitantesi di frequente riscontro, che predilige soprattutto i soggetti giovani. Si osserva nel 20-30% della popolazione, più frequentemente tra le classi sociali più elevate ed ha una forte predisposizione genetica, ovvero se entrambi i genitori sono affetti da stomatite aftosa recidivante si avrà una probabilità di insorgenza precoce di tale patologia pari al 90%, che si riduce al 10% se ne è affetto solo uno dei due.

L'eziologia è ancora sconosciuta, sebbene siano stati descritti molti fattori predisponenti quali: traumi, stress, variazioni del sistema immunitario, sensibilità a cibi o sostanze ingerite come conservanti o la cinnamaldeide (sostanza contenuta in alcuni dentifrici), deficit di ferro, zinco e vitamine.

In base alle caratteristiche delle ulcere la stomatite aftosa recidivante viene suddivisa in tre forme: maggiore, minore ed erpetiforme. La forma maggiore è caratterizzata da ulcere dolorose di dimensioni >10 mm, che erodono la mucosa, causando un sanguinamento della lesione e la comparsa di una cicatrice come esito di guarigione, che generalmente avviene nell'arco di 2-3 settimane ed a volte anche di mesi. La forma minore è quella di più frequente riscontro rappresentando circa l'80% dei casi di stomatite aftosa recidivante. Clinicamente si presenta con piccole ulcere ben definite (<10 mm), di forma rotondeggiante oppure ovalare, dolorose, che guariscono in 7-10 giorni.

La forma erpetiforme viene così chiamata per la stretta somiglianza con le ulcerazioni da Herpes Simplex Virus. Le recidive si manifestano generalmente ogni 1-4 mesi, anche se alcuni pazienti presentano ulcere in maniera pressoché costante.

Il principale evento patogenetico è costituito dalla risposta infiammatoria, con produzione di citochine pro-infiammatorie quali: nitrossido (NO), interferon-gamma (IFN- γ) tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) e di altri mediatori dell'infiammazione come le prostaglandine (PGE2) e le metalloproteasi della matrice (MMP).

Il nitrossido (NO) è uno dei più potenti mediatori dei processi infiammatori ed è inoltre, un messaggero intra ed extracellulare in grado di espletare numerose azioni biologiche, tra cui la capacità di modulare la produzione di numerose citochine infiammatorie.

La non univoca eziologia della stomatite aftosa recidivante rende ragione dell'estrema varietà di trattamenti attualmente utilizzati, seppure con diversa efficacia: anestetici, adesivi tissutali, caustici, cortisonici ecc. Gli steroidi grazie alla loro azione antinfiammatoria, sono tra i farmaci maggiormente usati nel trattamento della stomatite aftosa recidivante, sebbene l'uso prolungato possa causare reazioni avverse come atrofia della mucosa orale e ridotta resistenza alle infezioni.

***Lactobacillus brevis* CD2 e stomatite aftosa recidivante**

Trinchieri V, Di Carlo S, Bossù M, Polimeni A. Use of Lozenges Containing *Lactobacillus brevis* CD2 in Recurrent Aphthous Stomatitis: a Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Oral Ulcers* 2011 *in press*.

- **Obiettivo:** l'obiettivo primario di questo studio è stato quello di valutare l'efficacia, la tollerabilità e il tempo di remissione della sintomatologia dolorosa, in pazienti con stomatite aftosa recidivante che hanno ricevuto compresse orodispersibili contenenti almeno 1 miliardo di *Lactobacillus brevis* CD2. Sono stati valutati, come end-points secondari, le variazioni dei livelli salivari di prostaglandina E2 (PGE2), Interferone- γ (IFN- γ) e Nitrossido (NO) valutato mediante i livelli di nitriti/nitrati. Sono stati considerati, inoltre, l'andamento del dolore e la somma dei diametri maggiori delle singole ulcere.

- **Disegno dello studio:** sono stati arruolati 30 pazienti con forma minore di stomatite aftosa recidivante, 15 pazienti (7 maschi e 8 femmine di età compresa tra 8 e 36 anni) età compresa da 8-36 anni, sono stati trattati con *Lactobacillus brevis* CD2 e 15 pazienti (8 maschi e 7 femmine di età compresa tra 10 e 35 anni) età compresa da 10-35 anni sono stati trattati con placebo. I pazienti hanno assunto compresse di *Lactobacillus brevis* CD2 o placebo per 4 volte al giorno per un periodo di 7 giorni, anche in caso di riduzione dei sintomi. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a valutazioni sia dei para-

metri clinici che di quelli di laboratori prima dell'inizio della terapia (T0) ed al termine del trattamento (T1).

- **Risultati:** tutti i pazienti arruolati hanno completato lo studio. Dal punto di vista clinico, al termine del trattamento, 14 dei 15 pazienti (93,3%) trattati con *Lactobacillus brevis* CD2 hanno presentato una completa guarigione, evento che si è verificato in soli 7 pazienti (46,6%) dei soggetti che avevano ricevuto il placebo, con una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p=0.01$).

La somma dei diametri maggiori delle singole ulcere valutata prima e dopo il trattamento risultava nettamente diminuita (da 112 mm a 3 mm) nei pazienti trattati con *Lactobacillus brevis* CD2 rispetto ai soggetti trattati con il placebo (da 121 mm a 54 mm).

I risultati ottenuti dallo studio mostrano, inoltre, una rapida riduzione del dolore nei soggetti trattati con *Lactobacillus brevis* CD2, infatti al terzo giorno di trattamento il dolore era ancora presente in un solo paziente, mentre persisteva in 10 dei 15 soggetti che avevano assunto il placebo (Figura 6).

Per quanto concerne i parametri salivari, si è osservata una netta riduzione di PGE2, IFN- γ e nitriti/nitrati, nei soggetti trattati con *Lactobacillus brevis* CD2, rispetto a quelli a cui era stato somministrato il placebo (Figura 7).

- **Conclusioni:** la rapidità con cui scompare il dolore è certamente l'aspetto più interessante che emerge da questo studio ed è correlata alla ridotta produzione di nitrossido che si è

osservata nei soggetti trattati con *Lactobacillus brevis* CD2. Il *Lactobacillus brevis* CD2 grazie alle sue capacità antinfiammatorie, può rappresentare un nuovo ed interessante approccio per il trattamento delle stomatite aftosa recidivante, soprattutto alla luce della sua efficacia e della sua rapidità di azione.

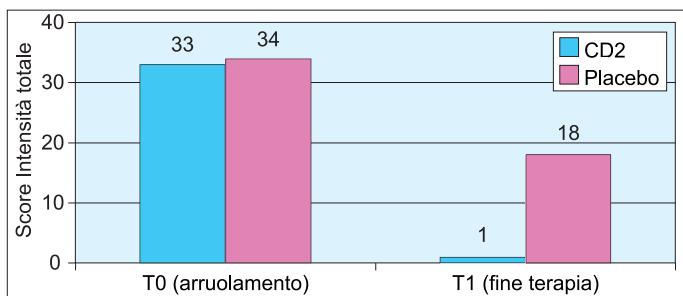


Fig. 6. Intensità dolore spontaneo.

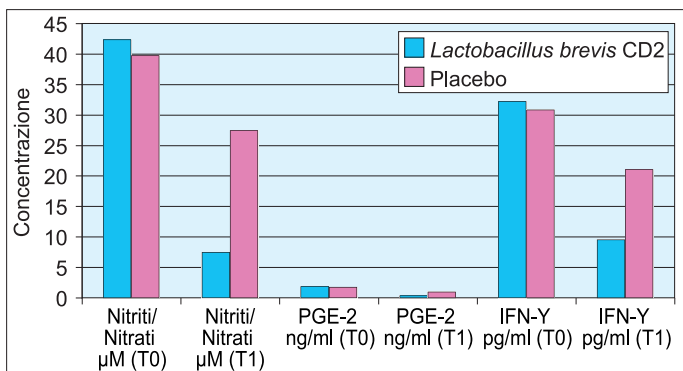


Fig. 7. Parametri Biochimici.

7. [®] : meccanismo d'azione

Il principio attivo è il *Lactobacillus brevis* CD2. Questo batterio è utilizzato da molti anni nell'industria alimentare ed è presente anche nel corpo umano, nell'intestino, nella vagina e nella cavità orale. Tali caratteristiche consentono un utilizzo sicuro nell'uomo.

Lactobacillus brevis CD2 ha dimostrato efficacia in diverse patologie orali infiammatorie, tra cui gengivite, parodontite e mucosite, grazie all'azione dell'arginina deiminasi, un enzima peculiare di questo batterio. L'organismo umano non ha questo enzima, ed utilizza l'arginina tramite due distinti enzimi: l'Arginasi e l'Ossido Nitrico Sintasi.

Attraverso l'arginasi, una cellula umana o batterica può produrre urea che, interagendo successivamente con l'ornitina, genera la produzione di poliammine (putrescine, spermidina) attraverso l'ornitina decarbossilasi (ODC). Le poliammine giocano ruoli importanti nella crescita, nell'apoptosi e nel differenziamento cellulari, sono implicate nella patogenesi dell'alitosi (Figura 8).

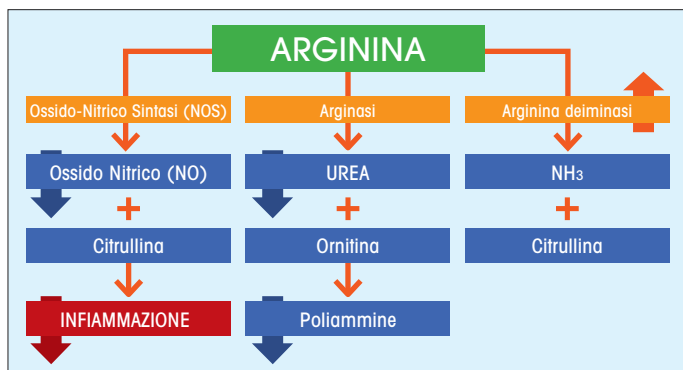


Fig. 8. Metabolismo dell'arginina.

Tramite l'ossido nitrico sintasi (NOS) i batteri o le cellule umane possono produrre l'ossido nitrico a partire dall'arginina. L'ossido nitrico ha vari ruoli in organi diversi. Nella cavità orale, un elevato livello di ossido nitrico è stato osservato nella gengivite, nella parodontite e nella mucosite. L'arginina deiminasi contenuta nel *Lactobacillus brevis* CD2 compete con arginasi e con NOS, producendo citrullina e NH_3 , con conseguente inibizione della produzione di poliammine e di NO.

Diminuendo la produzione di NO, *Lactobacillus brevis* CD2 modula i processi infiammatori dannosi e distruttivi che caratterizzano la gengivite, la parodontite e la stomatite aftosa con conseguente risoluzione dei quadri clinici.

Inibendo inoltre la produzione di poliammine, *Lactobacillus brevis* CD2 potrebbe essere di valido ausilio nel trattamento dell'alitosi.

8. Informazioni sul prodotto

compresse orodispersibili – solo per somministrazione orale.

Il dosaggio consigliato è da 1 a 4 compresse al giorno, fino a scomparsa dei sintomi.

Profilo di sicurezza

Uso storico e relazione commensale con l'essere umano

- *Lactobacillus brevis* è utilizzato da molti anni nella panificazione. La specie è presente nel pane a lievitazione naturale e nel formaggio.
- *Lactobacillus brevis* è stato isolato nella cavità orale umana, nell'intestino e nelle feci sia in adulti che in bambini.
- La presenza di *Lactobacillus brevis* nella cavità orale (nella saliva e nella placca) è ampiamente documentata.¹¹

Dati di sicurezza dal monitoraggio di studi clinici

è stato studiato in numerosi trials clinici sia nei bambini sia negli adulti senza segnalazioni di effetti collaterali. Non sono disponibili dati di sicurezza specifici per donne gravide e lattanti.

9. Bibliografia

1. Paquette DW, Williams RC. **Modulation of Host Inflammatory Mediators as a Treatment Strategy for Periodontal Diseases.** *Periodont* 2000;24:239-252.
2. Kendall Kendall HK, Haase HR, Li H, Xiao Y, Bartold PM. **Nitric Oxide Synthase Type-II is Synthesized by Human Gingival Tissue and Cultured Human Gingival Fibroblasts.** *J Periodont Res* 2000;35:194-200.
3. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. **Inducible Nitric Oxide Synthase Expression in Periodontitis.** *J Periodont Res* 2000;35:369-73.
4. Zsolt Lohinai, Peter Benedek, et al. **Protective Effects of Mercaptoethylguanidine, a Selective Inhibitor of Inducible Nitric Oxide Synthase, in Ligature-Induced Periodontitis in the Rat.** *British Journal of Pharmacology* 1998;123:353-360.
5. Di Paola R, Marzocco S, Mazzon E, Dattola F, Rotondo F, Britti D, De Majo M, Genovese T, and Cuzzocrea S. **Effect of Amino-guanidine in Ligature-Induced Periodontitis in Rats.** *J Dent Res* 2004;83:343-348.
6. David W, Paquette, Adam Rosenberg, Zsolt Lohinai, Garry J Southan, Ray C Williams, Steven Offenbacher and Csaba Szabo. **Inhibition of Experimental Gingivitis in Beagle Dogs With Topical Mercaptoalkylguanidines.** *J Periodontol* 2006;77:385-391.

7. Ohashi M, Iwase M, Nagumo M. Elevated Production of Salivary Nitric Oxide in Oral Mucosal Diseases. *J Oral Pathol Med* 1999;28:355-9.
8. Leitão RF, Ribeiro RA, Bellaguarda EA, Macedo FD, Silva LR, Oriá RB, Vale ML, Cunha FQ, Brito GA. Role of Nitric Oxide on Pathogenesis of 5-Fluorouracil Induced Experimental Oral Mucositis in Hamster. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2007;59:603-12.
9. King GL. The Role of Inflammatory Cytokines in Diabetes and Its Complications. *J Periodontal* 2008;79:1527-1534.
10. Friedewald Vincent E et al. The American Journal of Cardiology and Journal of Periodontology Editors' Consensus: Periodontitis and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *J Periodontal* 2009;80:1021-1032.
11. Badet C. Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: a Review of Literature the Open Microbiology. *Journal* 2008;2:38-48.
12. Ierardo G, Tropeni D, Luzzi V, Bossù M, Trinchieri V, Polimeni A. The Arginine-Deiminase Enzymatic System: Preliminary Pediatric Study. *Annali di Stomatologia* (2010) LIX 1:8-13.
13. Della Riccia DN Bizzini F, Perilli MG, Polimeni A, Trinchieri V, Amicosante G, Cifone MG. Anti-Inflammatory Effects of *Lactobacillus Brevis* CD2 on Periodontal Disease in Vivo. *Oral Diseases* 2007; 13:376-85.

14. Tasli L, Mat C, De Simone C, Yazici H. **Lactobacillus Lozenges in The Management of Oral Ulcers of Behçet's Syndrome.** *Clin Exp Rheumatol* 2006;24 (5 Suppl 42):SO83-6.

15. Trinchieri V, Di Carlo S, Bossù M, Polimeni A. **Use of Lozenges Containing Lactobacillus Brevis CD2 in Recurrent Aphthous Stomatitis: a Double-Blind Placebo-Controlled Trial.** *Oral Ulcers* 2011 *in press.*