

FATTORI DI RISCHIO

**FATTORI DI RISCHIO
E MECCANISMI IMMUNO-
INFIAMMATORI CHE PORTANO
ALL'ATEROSCLEROSI:
FOCUS SUL RUOLO
DELLA DISBIOSI
DEL MICROBIOTA ORALE**

**Risk factors and immune-inflammatory
mechanisms that lead to atherosclerosis:
focus on the role of dysbiosis
in the oral microbiota**

**MARCO BUCCI¹, RICCARDO MATTIA RICCIARDI¹, ALESSIA CIPOLLONE¹,
DAMIANO D'ARDES¹, MARIA CRISTINA CURIA², FRANCESCO CIPOLLONE¹,
PAOLO MAGNI³**

¹Centro Regionale di Eccellenza per lo Studio dell'Aterosclerosi, dell'Iperensione
e delle Dislipidemie, Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento,
Università degli Studi "Gabriele d'Annunzio" di Chieti-Pescara;

²Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche,
Università degli Studi "Gabriele d'Annunzio" di Chieti-Pescara;

³Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari "Rodolfo Paoletti",
Università degli Studi di Milano

Indirizzo per la corrispondenza

Marco Bucci
mbucci@unich.it

SUMMARY

Cardiovascular diseases (CVD), including myocardial infarction and stroke, are currently the leading cause of morbidity, disability and mortality worldwide. Recently, researchers have focused their attention on the alterations of the gut and oral microbiota, investigating the possible role of their dysbiosis in the pathogenesis and/or progression of CVD. In this regard, it has been shown that endothelial dysfunction, a major feature of CVD, can also be induced by chronic periodontal infection, due to a systemic pro-inflammatory condition, as suggested by increased plasma levels of acute phase proteins, IL-6 and fibrinogen. Moreover, proatherogenic dysfunctions can also be promoted by direct bacterial invasion of the endothelium. This review reports the current evidence about the possible role of oral microbiota dysbiosis and the related immunoinflammatory components in the pathophysiology of atherosclerosis and associated CVD. It is concluded that integration of oral microbiota sampling into clinical practice may result in a more accurate assessment of CV risk in patients and even modify their prognosis.

Key words: *Atherosclerosis, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum, heterozygous familial hypercholesterolemia, secondary cardiovascular prevention.*

Aterosclerosi ed infiammazione cronica: meccanismi fisiopatologici ed evidenze cliniche

Le malattie cardiovascolari (CVD) rappresentano attualmente la principale causa di mortalità nel mondo e una causa significativa di morbilità (1). Tutti i pazienti vengono stratificati secondo le tabelle di rischio nel sistema "SCORE" (2), che stima il rischio di eventi cardiovascolari fatali entro 10 anni nei cittadini europei di età compresa tra 40 e 70 anni, in base a sesso, abitudini tabagiche, età, pressione arteriosa sistolica e colesterolo totale. L'aterosclerosi è una malattia cronica a carico di arterie di medio e grande calibro con patogenesi immuno-infiammatoria (3), in grado di causare ischemia attraverso un meccanismo emodinamico-stenotico, trombotico o tromboembolico (4).

La suscettibilità alle CVD raggiunge un alto livello di gravità nei pazienti con specifici genotipi come nell'Ipercolesterolemia Familiare (FH), disturbo autosomico dominante causato da mutazioni a carico dei geni che codificano il recettore delle lipoproteine a bassa densità (LDLR), l'apolipoproteina B (ApoB) o la proproteina convertente subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9). Esempio analogo è l'Ipercolesterolemia Poligenica, costituita da una serie di

mutazioni (polimorfismi a singolo nucleotide, SNPs) che sommati possono aumentare i livelli circolanti di LDL-C. L'impatto cumulativo di questi SNPs può essere quantificato calcolando un punteggio SNP per LDL-C (5). È interessante notare che la suscettibilità alle malattie cardiovascolari aterosclerotiche (ASCVD) differisce tra questi pazienti anche quando i livelli di LDL-C sono simili (6), suggerendo che altri fattori possano giocare un ruolo patogenetico per esse.

Negli ultimi decenni sono stati investigati nuovi fattori da correlare con l'infiammazione endoteliale, in particolare l'attenzione si è concentrata sul microbiota umano dato il riscontro di microbi selezionati delle popolazioni batteriche orali o intestinali su placche ateromasiche trombizzate dei pazienti sottoposti a tromboendarterectomia (7).

Nello studio condotto da Ross (8), l'aterosclerosi è stata descritta per la prima volta come una malattia infiammatoria, determinata quindi non solo dall'accumulo di lipidi ma con meccanismi cellulari e molecolari simili a malattie infiammatorie croniche o fibroproliferative come l'artrite reumatoide o la glomerulosclerosi (8). Diversi studi si sono interrogati se i marker plasmatici dell'infiammazione possano avere implicazioni prognostiche/terapeutiche. La proteina C-reattiva (CRP) è stata identificata

come il miglior indicatore di stato infiammatorio, nonostante una scarsa specificità (9). Pertanto è stato sviluppato un test diagnostico ad alta sensibilità per la CRP (hsCRP - Proteina C reattiva ad alta sensibilità) in grado di misurare livelli leggermente superiori ai valori di riferimento in contesti infiammatori cronici (10). Questo ha reso possibile dimostrare come un aumento della hsCRP sia associato ad un aumento del rischio di eventi cardiovascolari e sia, pertanto, impiegabile come predittore di eventi clinici indipendentemente dai livelli di colesterolo (11). Esistono tuttavia studi che non hanno confermato suddetta relazione (12, 13) ma, ciononostante, in alcune linee guida la CRP è tenuta in considerazione come indice prognostico, soprattutto nei pazienti con una classe di rischio intermedia (14).

Lo studio JUPITER del 2008 ha valutato l'effetto della rosuvastatina sul rischio cardiovascolare (CVR) nei pazienti in prevenzione primaria, senza dislipidemia e con elevata hsCRP (15). Rispetto al placebo i livelli di LDL sono diminuiti del 50%, i livelli di hsCRP del 37% e la mortalità è migliorata significativamente contro gli endpoint primari, con un'incidenza cumulativa di 0,77 nel gruppo statine e 1,36 nel gruppo di controllo, confermando le evidenze sperimentali a favore del potere anti-infiammatorio delle statine (16). Lo studio clinico CANTOS, invece, nel 2017 mirava a valutare l'impatto di un trattamento anti-infiammatorio piuttosto che ipolipemizzante sull'outcome cardiovascolare. Per tale motivo si è analizzato il beneficio di un trattamento con diverse dosi dell'anticorpo monoclonale anti-interleuchina (IL)-1 β Canakinumab rispetto al placebo in una popolazione con pregresso infarto miocardico ed elevati livelli di hsCRP (>2mg/dL). Il gruppo che ha goduto dei maggiori benefici cardiovascolari è stato quello con un'assunzione giornaliera di 150 mg di anticorpo monoclonale, con riduzione mediana della hsCRP del 37%, e un'incidenza di eventi cardiovascolari di 3,86/100 persone-anno rispetto a 4,50/100

persone-anno nel placebo, in assenza di modificazioni nel profilo lipidico (17).

Pertanto, entrambi gli studi hanno evidenziato la correlazione diretta tra la riduzione dello stato infiammatorio e la riduzione degli eventi cardiovascolari su base aterosclerotica (19). Di conseguenza, mirare a pathway infiammatori come nello specifico quello dell'inflammasoma contenente il dominio leucina e pirina-3 (NLRP3) e IL-1 β (16, 18) rappresenta una nuova frontiera per il trattamento delle malattie aterosclerotiche (20).

Le considerazioni sopra espresse ci hanno portato a esplorare ulteriori fattori che possono determinare l'insorgenza o aggravare questa infiammazione cronica, come la disbiosi del microbiota orale e intestinale (22-24) (quest'ultima già collegata alla dislipidemia (25)).

Il contributo della disbiosi del microbiota orale alla fisiopatologia delle malattie cardiovascolari aterosclerotiche: Evidenze cliniche e meccanismi molecolari

Negli ultimi anni, la ricerca ha nuovamente rivolto il proprio interesse verso le alterazioni delle specie microbiche che vivono nel nostro corpo - la disbiosi - in particolare del microbiota gastrointestinale e orale. Il "microbiota" è l'insieme dei diversi microrganismi viventi che costituiscono il microbioma (26), includendo batteri, archea, funghi, protisti e alghe. La "disbiosi" è la modifica della loro composizione ecologica rispetto a un soggetto altrimenti sano (27). Ci sono diverse condizioni che possono alterare il normale microbiota: la genetica dell'organismo ospite, la dieta, le infezioni e l'intervento medico come l'uso di antibiotici; questi fenomeni alterano l'equilibrio normale tra le specie che costituiscono la comunità, consentendo ad alcune di crescere a discapito di altre e diventare quindi virulente (27). Negli ultimi decenni numerosi studi hanno documentato cambiamenti significativi nelle comu-

nità microbiche di pazienti e modelli animali di malattie infiammatorie intestinali (28), diabete mellito (29), asma (30), allergie e persino autismo (31). Per la disbiosi nella cavità orale è stata osservata una batteriemia a basso grado dopo trattamenti come l'estrazione dentale o la tonsillectomia (32, 33). Da questo si è ipotizzato che l'infezione del tessuto parodontale possa causare una batteriemia transitoria con successiva invasione batterica diretta delle cellule endoteliali fino a determinare malattie cardiovascolari, malattie gastrointestinali, cancro del colon, resistenza insulinica e diabete mellito, o persino malattia di Alzheimer (34, 35). Mattila e collaboratori ad esempio hanno dimostrato la prevalenza di condizioni patologiche dentali infettive (carie, parodontite, lesioni periapicali e pericoroniti) nei pazienti scandinavi con una storia di recente infarto miocardico rispetto alle persone sane (36). Lo studio condotto da Keijser e collaboratori mediante analisi PCR su campioni di saliva e placca dentale, ha evidenziato che in essa sono presenti principalmente *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Spirochaetes*, mentre nella saliva predominano *Bacteroides*, *Firmicutes* e *Proteobacteria* (37). In totale sono circa 800 le specie microbiche che possono formare la placca dentale e in media 150 tra esse sono comunemente presenti in ciascun individuo, compresi gli anaerobi Gram-negativi (38). Nel corso degli anni, tra le affezioni della cavità orale, è stata particolarmente sottolineata l'importanza della parodontite (malattia infiammatoria-infettiva del parodonto con eziologia polimicrobica).

Esistono numerosi fattori di rischio per la parodontite: il fumo di sigaretta, il diabete mellito, l'immunosoppressione, l'accumulo eccessivo di placca batterica, una scarsa igiene orale, la predisposizione genetica, l'infiammazione preesistente e i fattori socio economici; i fattori protettivi sono invece la risposta immunitaria innata e adattativa, la genetica dell'ospite e l'integrità dell'anatomia dentale (38).

Koren e collaboratori hanno rilevato la

presenza di patogeni orali e intestinali come *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* e *Actinobacteria* mediante PCR su campioni umani ottenuti da placche ateromasiche post-endoarterectomia (7).

Una review del 2013 condotta da Reyes e collaboratori (39) ha mirato a valutare il ruolo proaterogeno diretto dei batteri parodontali attraverso sette test di evidenza, sulla base della letteratura epidemiologica, clinica e sperimentale preesistente: secondo queste evidenze, i batteri orali (Tabella 1) sarebbero in grado di diffondersi dalla cavità orale nella circolazione sistemica attraverso meccanismi multipli. La condizione più frequente deriva dalle manipolazioni nella cavità orale, sia durante le attività quotidiane che durante i trattamenti dentali (32). Un altro meccanismo comprovato è rappresentato dall'invasione transcellulare, con ingresso nei microcapillari gengivali in corrispondenza della tasca gengivale (40). Esiste anche una teoria ad oggi non provata, la "teoria del cavallo di Troia", che propone che i patogeni possano diffondersi tramite fagocitosi mediata dalle cellule immunitarie circolanti (41) e sfuggire in tal modo alla distruzione microbica (42). Nelle placche ateromasiche sono stati rilevati campioni (DNA, RNA o antigeni) di *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) (43) o *Veilonella* sp. (7), concludendo che più specie patogene possono raggiungere il sito interessato. Tuttavia, i risultati sono contrastanti a causa delle differenze nella metodica o secondo l'eziologia dell'ateroma (44).

Per molti anni i gruppi di ricerca hanno cercato di coltivare microrganismi patogeni parodontali dalle placche ateromasiche senza successo; infine, nel 2005, Kozarov e collaboratori hanno dimostrato la presenza di Pg e Aa vitali all'interno del tessuto ateromatoso coltivato con cellule endoteliali coronariche umane primarie (45), stabilendo la capacità in vitro dei patogeni parodontali di invadere le cellule cardiovascolari, in particolare per Pg (46).

Sono stati utilizzati diversi modelli animali per supportare l'ipotesi di un ruolo patogeno di Pg nell'aterosclerosi: nei modelli murini, Pg è stato segnalato come un importante fattore nell'accelerare lo sviluppo dell'aterosclerosi (47); nei suini normocolesterolemici, ha indotto lesioni aortiche e coronariche, mentre nei suini ipercolesterolemici la batteriemia da Pg ha potenziato l'aterosclerosi (48); infine, nei conigli con malattia parodontale, hanno sviluppato striature adipose nell'aorta più velocemente rispetto ai controlli (48). Le mutazioni non invasive di batteri parodontali causano, in vitro e in vivo, un carico di malattia decisamente inferiore: sono stati dimostrati varianti di Pg con una ri-

dotta capacità invasiva, che nei topi ApoE-gene-knockout (essenziali per la funzione dell'HDL), non causano l'accelerazione dell'aterosclerosi, a differenza del ceppo batterico normo-invasivo (49).

Anche uno stato infettivo può indurre disfunzione endoteliale (50): l'infezione parodontale cronica induce l'attivazione o la disfunzione endoteliale attraverso uno stato infiammatorio sistemico posto in evidenza dall'aumento dei livelli plasmatici di proteina di fase acuta, interleuchina (IL)-6 e fibrinogeno (51). Può inoltre verificarsi il rilascio sistemico di prodotti batterici, come vescicole di membrana o gingipains secrete da Pg (52) o componenti solubili rila-

Tabella I - Collegamento tra malattia parodontale e aterosclerosi.

Il collegamento tra malattia parodontale e aterosclerosi: prove e meccanismi		Bibliografia
1. Diffusione sistemica di batteri orali	Le procedure nella cavità orale possono causare batteriemia, portando a infiammazione sistemica e contribuendo allo sviluppo dell'aterosclerosi.	(32) Li X et al.
	La disseminazione batterica mediata dalle cellule immunitarie può verificarsi anche in assenza di malattia parodontale, poiché i batteri orali sono costantemente presenti nella cavità orale e possono essere assorbiti dalle cellule immunitarie.	(41) Carrion J. (42) Zeituni A.E. et al.
	I microcapillari gengivali nel solco gengivale forniscono un percorso diretto per i batteri per entrare nel flusso sanguigno, causando infiammazione sistemica e contribuendo allo sviluppo dell'aterosclerosi.	(40) Takeuchi H. et al.
2. Presenza di batteri orali nel tessuto ateromatoso	L'associazione tra malattia parodontale e aterosclerosi è stata supportata da numerosi studi e suggerisce che la malattia parodontale possa contribuire allo sviluppo dell'aterosclerosi.	(44) Figuero E. et al.
	Sono stati trovati campioni di tessuto ateromatoso contenenti DNA, RNA e antigeni da <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> e <i>Veillonella sp.</i>	(7) Omry Koren et al. (43) Haraszthy V.I. et al.
3. Sopravvivenza dei batteri orali all'interno del tessuto ateromatoso	È stato suggerito che i batteri orali possano essere in grado di sfuggire al sistema immunitario e persistere all'interno del tessuto mediante la formazione di biofilm o interagendo con le cellule ospiti.	(45) Kozarov E. et al.
	La presenza di <i>Porphyromonas gingivalis</i> e <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> vitali all'interno del tessuto ateromatoso fornisce evidenza che questi batteri possono sopravvivere all'interno del tessuto ateromasico.	
	All'interno delle colture di placche ateromasiche sono stati trovati <i>Porphyromonas gingivalis</i> e <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> vitali.	

Il collegamento tra malattia parodontale e aterosclerosi: prove e meccanismi		Bibliografia
4. Invasione dei batteri orali nelle cellule del tessuto interessato	I batteri orali potrebbero essere in grado di utilizzare adesine o altri fattori di virulenza per attaccare le cellule ospiti e quindi utilizzare sistemi di secrezione per iniettare proteine effettori nella cellula ospite, portando all'invasione.	(46) Deshpande R.G. et al.
	Studi in vitro sull'invasione cellulare di <i>Porphyromonas gingivalis</i> nel tessuto interessato e il contributo allo sviluppo dell'aterosclerosi.	
5. Induzione dell'aterosclerosi da parte dei batteri parodontali in modelli animali	È stato dimostrato che <i>Porphyromonas gingivalis</i> sia in grado di accelerare il processo aterosclerotico in modelli murini.	(47) Lalla E. et al.
	È stato dimostrato che <i>Porphyromonas gingivalis</i> induce lesioni aortiche e coronariche in maiali normocolesterolemici.	(48) Jain A. et al.
	È stato dimostrato che <i>Porphyromonas gingivalis</i> sia in grado di indurre aterosclerosi in maiali ipercolesterolemici a seguito di batteremia ricorrente.	
6. Riduzione del carico di malattia con specie mutanti non invasive di batteri parodontali	Le specie mutanti di <i>Porphyromonas gingivalis</i> con capacità di invasione ridotta non sono in grado di accelerare aterosclerosi nei topi knock-out per il gene Apo-E, essenziale per la funzione del colesterolo ad alta densità (HDL).	(49) Gibson F.C. 3 rd et al.
	Le specie mutanti di <i>Porphyromonas gingivalis</i> con capacità di invasione ridotta non causano accelerazione dell'aterosclerosi in questi topi, suggerendo che la capacità di invasione dei batteri orali possa essere un fattore importante nella loro capacità di contribuire allo sviluppo dell'aterosclerosi.	
	Una capacità di invasione ridotta potrebbe portare a una riduzione dell'infiammazione e dell'attivazione del sistema immunitario, il che a sua volta potrebbe portare a una riduzione dell'aterosclerosi.	
7. I postulati di Koch e il ruolo causativo dei batteri orali nell'aterosclerosi	Il ruolo causale dei batteri orali nell'aterosclerosi non è ancora stato stabilito utilizzando i postulati di Koch.	-
	Il materiale isolato dagli ateromi umani è stato dimostrato essere in grado di causare la malattia in modelli animali di infezione.	
	Dimostrare il ruolo causativo dei batteri orali nell'aterosclerosi è complesso a causa della natura complessa della malattia e dei molteplici fattori di rischio coinvolti.	

sciati da Aa (53). La disfunzione pro-aterogena può essere indotta dall'invasione diretta dei batteri nell'endotelio (39).

L'associazione clinica tra infezione parodontale cronica e aterosclerosi è stata approfondita da Desvarieux attraverso lo studio INVEST, che ha valutato 1056 soggetti senza storia di ictus o infarto miocardico attraverso un prelievo di placca gengivale e misurazione dell'IMT

(spessore intima-media) dell'arteria carotidea con ultrasuoni, da impiegare come marcatore morfologico della progressione dell'aterosclerosi subclinica. Una prima scoperta dell'INVEST nel 2003 ha evidenziato una maggiore prevalenza di placche aterosclerotiche nei pazienti con peggiore stato parodontale (soprattutto negli over 65 (65)). Nel 2005 è stata definita una relazione positiva tra IMT e concentra-

Tabella 2 - Principali review su patogeni orali e metabolismo lipidico.

Review di riferimento	Principali novità
Di Pietro et al. (54)	I patogeni orali promuovono cambiamenti patologici nel metabolismo lipidico.
Kim et al. (55)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ha la capacità di ossidare le lipoproteine producendo due varianti proteasiche diverse chiamate gingipains, Rgp e Kgp.
Ljunggren et al. (56)	Rgp e Kgp sono in grado di indurre la perossidazione lipidica.
Joo et al. (57)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> induce l'ossidazione delle lipoproteine ad alta densità (HDL), compromettendo la funzione ateroprotettiva.
Lönn et al. (58)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ha una maggiore capacità di ossidare le lipoproteine a bassa densità (LDL) rispetto a <i>C. pneumoniae</i> e <i>M. tuberculosis</i> .
Reyes et al. (59)	I pazienti con PD hanno un profilo alterato delle lipoproteine plasmatiche con modifiche strutturali verso una forma aterogenica.
Saito et al. (60)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> invade e danneggia le cellule endoteliali tramite ICAM-1.
Inagaki et al. (61) Xu et al. (62)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> influisce sulla permeabilità dell'endotelio vascolare tramite l'induzione del clivaggio proteolitico di molecole di adesione cellulare.
Farrugia et al. (63)	L'infezione provoca danni diretti alle cellule, con frammentazione mitocondriale e con accelerazione della progressione dell'aterosclerosi.
Oscarsson et al. (64)	Le molecole coinvolte nel clivaggio proteolitico sono principalmente molecole di adesione cellulare endoteliale-1 e VE-caderina.

zioni crescenti di odontopatogeni al basale, in particolare Pg (66). Successivamente, nel 2013, è stata esposta l'associazione tra un miglioramento clinico e microbiologico del parodonto e una minore progressione dell'IMT a 3 anni di follow-up (67).

In tal modo la parodontite è stata identificata come un significativo fattore di rischio per le malattie aterosclerotiche periferiche e carotidiche in meta-analisi che includono popolazioni ampie (22-24). Queste osservazioni suggeriscono che la disbiosi del microbiota orale e la parodontite correlata possano svolgere un ruolo nella fisiopatologia delle stesse promuovendo l'infiammazione cronica, la dislipidemia (68), il malfunzionamento dell'endotelio (69), e probabilmente altri processi patologici ancora misconosciuti (70). In particolare, lo stato parodontale complessivo dei pazienti con parodontite si riflette nell'abbondanza relativa di batteri specifici della placca subgingivale nel microbiota salivare (71), suggerendo l'affidabilità del campionamento di quest'ultimo in questo contesto.

Ultime evidenze: focus sull'ipercolesterolemia familiare eterozigote (HeFH)

Nello studio condotto da Curia, Magni e colleghi (72), sono state indagate l'abbondanza dei batteri patogeni parodontali Pg e Fn in pazienti con un precedente evento cardiaco su base aterosclerotica (IM o PCI), con o senza HeFH. I pazienti con ASCVD tendevano ad avere più protesi dentarie fisse (corone e impianti) rispetto ai soggetti sani; questa condizione indica pregresse infezioni, carie e perdita dei denti. I principali risultati suggeriscono che questi pazienti con ASCVD abbiano un'abbondanza significativamente maggiore di Pg rispetto ai soggetti sani e ai soggetti con HeFH in prevenzione primaria, indipendentemente dall'età e dal sesso. È interessante inoltre notare che un BMI inferiore a 30 kg/m² è stato associato a una prevalenza di Pg, indicando un possibile contributo maggiore dell'infiammazione cronica correlata agli eventi aterosclerotici (73, 74), mentre tali modelli pro-infiammatori nei sog-

getti con obesità possono derivare da uno scenario più complesso che può includere anche il ruolo del tessuto adiposo disfunzionale, le adipochine correlate e le citochine pro-infiammatorie (75, 76). Nell'intera coorte dello studio il BMI inoltre è stato correlato negativamente con l'abbondanza di Fn. È stato precedentemente riportato che il numero di batteri orali del complesso rosso (termine che identifica la triade composta da *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythi*, specie collegate nella formazione del biofilm su gengiva normale o in siti patologici e che risulta essere coinvolto nella parodontite aggressiva) era più elevato nei soggetti con alti BMI o circonferenze vita, indipendentemente dalla presenza di parodontite (77). È stata anche proposta una relazione bidirezionale tra obesità e malattia parodontale. I batteri orali potrebbero alterare le funzioni endocrine del tessuto adiposo bruno (78), esacerbare l'infiammazione dovuta all'obesità (79), indurre aumento di peso e nei casi di obesità murina indotta mediante la dieta aumentare il tessuto adiposo attraverso l'endotossinemia (80) e l'attivazione delle cellule immunitarie. L'infiammazione locale, come la parodontite, potrebbe influenzare la regolazione energetica e, allo stesso modo, l'obesità potrebbe aggravare la malattia parodontale (81). Al contrario, la quantità di Fn non è stata associata a pregressi eventi cardiaci e ha mostrato una relazione inversa con il BMI, suggerendo quindi che potrebbe non essere inclusa tra i fattori di rischio per le malattie cardiovascolari. Nella letteratura non è stato ancora riportata alcuna associazione (negativa) di Fn con il BMI, indicando che la nostra osservazione è innovativa. Va notato che proporzioni più elevate di diversi patogeni parodontali, inclusi *Fusobacterium nucleatum* ss *vincentii*, sono state riportate in pazienti obesi con parodontite cronica (82).

È importante sottolineare che la parodontite potrebbe aumentare il rischio di ASCVD, specialmente nei soggetti ad alto rischio come i pazienti con HeFH. Nello studio sopracitato

(72), i pazienti con ASCVD precedentemente diagnosticata hanno mostrato un'abbondanza significativamente maggiore di Pg, ma non sono state osservate differenze nell'abbondanza di Fn, rispetto ai soggetti sani e ai soggetti con HeFH in prevenzione primaria. È interessante notare che la differenza osservata era ancora presente dopo l'esclusione dei (pochi) fumatori da entrambi i gruppi. In seguito sono stati arruolati pazienti aggiuntivi; l'età mediana è risultata statisticamente più alta nei pazienti affetti da malattia cardiovascolare rispetto ai soggetti sani. Dato che l'età mediana di entrambi i gruppi, sebbene significativamente diversa, si estendeva ben oltre i 30 anni, possiamo considerare tale differenza di età come non rilevante dal punto di vista clinico, come dimostrato dall'analisi di confronto. Inoltre, è stato recentemente riportato che, in una coorte di giovani di 32 anni, una maggiore proporzione di Pg nei siti sub-gengivali era presente nella popolazione femminile rispetto alla maschile (83). La maggior parte dei pazienti reclutati, sia in prevenzione primaria che secondaria, era in trattamento con statine, che è stato dimostrato essere associato a una minore prevalenza di disbiosi del microbiota intestinale (84).

Nel sottogruppo di pazienti con HeFH in prevenzione secondaria, è stata osservata un'abbondanza di Pg maggiore rispetto a quella dei pazienti in prevenzione secondaria ma non affetti da HeFH. Anche se non è possibile correlare causalmente la prevalenza di Pg con l'insorgenza di ASCVD, si può ipotizzare che la presenza concomitante di ceppi odontopatogeni abbondanti, come Pg, se presente per anni, abbia potuto contribuire a un ulteriore aumento del rischio di ASCVD nei soggetti con HeFH, già di per sé condizione ad alto rischio. A supporto di questa ipotesi, nel gruppo di HeFH in prevenzione primaria, non sono state riscontrate differenze nell'abbondanza di Pg e Fn rispetto ai soggetti sani. Questo potrebbe indicare che il Pg giochi un ruolo di FR indipendente per lo sviluppo di ASCVD.

L'infezione orale da Pg potrebbe avere giocato un ruolo nella patogenesi delle malattie cardiovascolari aumentando l'infiammazione sistemica e deteriorando il metabolismo lipidico, particolarmente nel contesto di pazienti ad alto rischio o con HeFH. Un aumento simile di LDL-C nel siero altererebbe la concentrazione di colesterolo nella membrana cellulare e nel citoplasma dei macrofagi, il che potrebbe influenzare ulteriormente il riconoscimento di Pg da parte delle cellule immunitarie. La produzione aumentata di fattore di necrosi tumorale (TNF), interleuchina-6 (IL-6), proteina chemiotattica dei monociti-1 e sintetasi di ossido nitrico inducibile (iNOS) potrebbe facilitare anche la colonizzazione e la proliferazione di Pg nella cavità orale nell'ospite iperlipidemico (85).

È stata anche proposta una relazione tra l'infarto miocardico e un aumento degli anticorpi verso Pg nei pazienti con parodontite in prevenzione secondaria (86).

Al contrario Fn, pur avendo un ruolo segnalato nelle malattie tumorali, non sembra avere un'associazione con la malattia cardiovascolare aterosclerotica (87, 88). In ogni caso, il ruolo di Fn nell'aterosclerosi e nelle malattie cardiovascolari rimane controverso (89, 90) e necessita di ulteriori studi clinici.

Secondo i risultati dello studio di Curia, Magni e colleghi (72), rimane da stabilire se l'aumento dell'abbondanza di Pg osservato nei pazienti con ASCVD, ma non nei soggetti sani o nei pazienti con HeFH in prevenzione primaria, sia una conseguenza piuttosto che una causa di ASCVD. In alternativa, questo aumento di Pg potrebbe manifestarsi gradualmente con il deterioramento dell'omeostasi cardiovascolare. Pg potrebbe avere un ruolo patogenetico accelerando più che causando un processo patologico che è già stato attivato, come proposto da Maekawa et al. (76).

Si ipotizza a tal punto la possibilità di un equilibrio tra la prevalenza di Pg e Fn: più labile è, peggiore sarà la salute orale e cardiovascolare del soggetto.

Valutazione della salute orale e dell'infiammazione a basso grado nelle future strategie di rilevamento del rischio cardiovascolare

Le attuali evidenze di rete di interconnessione tra disbiosi orale, infiammazione e rischio cardiovascolare hanno diverse importanti implicazioni cliniche. Una considerazione clinica generale è che la comunicazione interdiscipli-

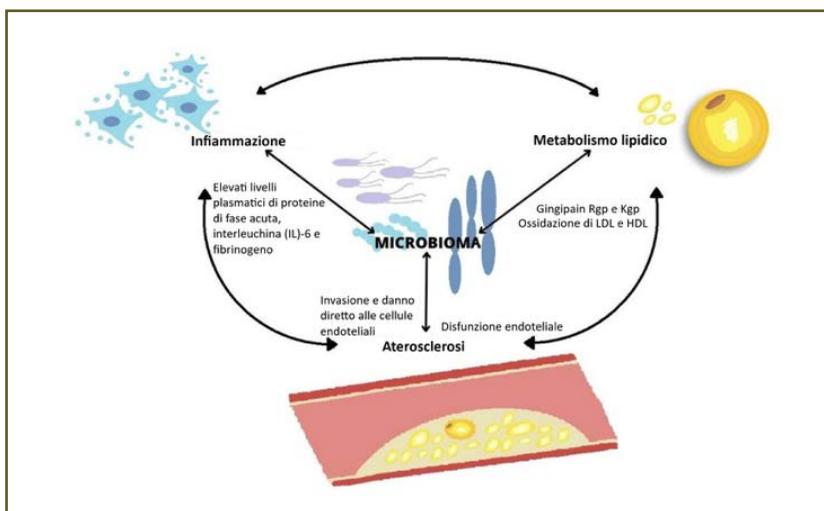


Figura 1
Interconnessione tra microbioma, infiammazione, metabolismo lipidico e aterosclerosi.

nare tra odontoiatri e clinici che si occupano di patologie cardiometaboliche dovrebbe essere rafforzata, portando i primi ad invitare i loro pazienti a sottoporsi a una valutazione cardiovascolare e, viceversa, i secondi a prendersi cura della loro salute orale, soprattutto in presenza di parodontite e altri disturbi del cavo orale. Un ulteriore passo potrebbe essere la valutazione contemporanea dello stato di salute del cavo orale e della presenza di infiammazione cronica a basso grado nel contesto di future strategie di valutazione e riduzione del rischio cardiovascolare (*Figura 1*).

La possibilità di integrare il campionamento del microbiota orale nella pratica clinica, alla luce del crescente supporto della letteratura, potrebbe agevolare la valutazione del rischio cardiovascolare e persino modificare la prognosi. Come visto nello studio di Curia, Magni et al è stata indagata la disbiosi orale e la sua

relazione con precedenti ASCVD in pazienti a rischio alto o molto alto di CVD, con o senza HeFH, rispetto a pazienti sani rilevando che una maggiore prevalenza orale di Pg è presente nei pazienti a rischio molto elevato con ASCVD diagnosticata in precedenza e suggerendo una potenziale relazione con gli eventi cardiovascolari. D'altro canto, anche se al momento i risultati sono contrastanti, le intuizioni su marcatori infiammatori più specifici rispetto all'hsCRP, come ad esempio il recettore del plasminogeno attivatore dell'urochinasi solubile (suPAR), e le nuove tecniche di monitoraggio saranno probabilmente la prossima innovazione nella valutazione del rischio cardiovascolare. Tutti questi dati nel loro insieme aprono le porte ad un nuovo orizzonte della prevenzione cardiovascolare in cui il microbiota orale e la cura della salute orale potrebbero svolgere un ruolo cruciale.

RIASSUNTO

Le malattie cardiovascolari (CVD), tra cui l'infarto del miocardio e l'ictus, sono attualmente la principale causa di morbilità, disabilità e mortalità a livello mondiale. Recentemente, i ricercatori hanno concentrato la loro attenzione sulle alterazioni del microbiota intestinale e orale, indagando sul possibile ruolo della loro disbiosi nella patogenesi e/o nella progressione delle CVD. A questo proposito, è stato dimostrato che la disfunzione endoteliale, una delle principali caratteristiche della CVD, può essere indotta anche dall'infezione parodontale cronica, a causa di una condizione pro-infiammatoria sistemica, come suggerito dall'aumento dei livelli plasmatici di proteine della fase acuta, IL-6 e fibrinogeno. Inoltre, le disfunzioni proaterogene possono essere promosse anche dall'invasione batterica diretta dell'endotelio. Questa rassegna riporta le attuali evidenze sul possibile ruolo della disbiosi del microbiota orale e delle relative componenti immunoinfiammatorie nella fisiopatologia dell'aterosclerosi e della CVD associata. A conclusione, l'integrazione del campionamento del microbiota orale nella pratica clinica può portare a una valutazione più accurata del rischio CV nei pazienti e persino modificare la loro prognosi.

Parole chiave: *Aterosclerosi, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum, ipercolesterolemia familiare eterozigotica, prevenzione cardiovascolare secondaria.*

Bibliografia

1. Cardiovascular Diseases (CVDs). Available online: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (accessed on 22 July 2022).
2. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, De Bacquer D, Ducimetière P, Jousilahti P, Keil U, Njølstad I, Oganov RG, Thomsen T, Tunstall-Pedoe H, Tverdal A, Wedel H, Whincup P, Wilhelmssen L, Graham IM. SCORE project group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: The SCORE project. *Eur Heart J.* 2003; 24: 987-1003, [https://doi.org/10.1016/S0195-668X\(03\)00114-3](https://doi.org/10.1016/S0195-668X(03)00114-3).
3. Falk, E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47 (Suppl. S8), C7-C12. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.09.068>.

4. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J (Eds.). Pathogenesis, prevention and treatment of Atherosclerosis. In Harrison's Principles of Internal Medicine, 19th ed; The McGraw-Hill Companies, Inc.: New York, NY, USA. 2017; Chapter 291.
5. Futema M, Bourbon M, Williams M, Humphries SE. Clinical utility of the polygenic LDL-C SNP score in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2018; 277: 457-463.
6. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, van Leeuwen EM, Natarajan P, Emdin CA, Bick AG, et al. Diagnostic Yield of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Severe Hypercholesterolemia. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2016; 67: 2578-2589.
7. Koren O, Spor A, Felin J, Fåk F, Stombaugh J, Tremaroli V, Behre CJ, Knight R, Fagerberg B, Ley RE, Bäckhed F. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011. 108; (Suppl. S1), 4592-4598. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011383107>.
8. Ross R. Atherosclerosis-An inflammatory disease. *N. Engl. J. Med*. 199; 340: 115126.
9. Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of *Pneumococcus*. *J. Exp. Med*. 1930; 52: 561571.
10. Sabatine MS, Morrow DA, Jablonski KA, Rice MM, Warnica JW, Domanski MJ, Hsia J, Gersh BJ, Rifai N, Ridker PM, Pfeffer MA, Braunwald E. PEACE Investigators. Prognostic significance of the Centers for Disease Control/ American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*. 2007; 115: 15281536.
11. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N. Engl. J. Med*. 1997; 336: 973979.
12. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N. Engl. J. Med*. 2004; 350: 13871397.
13. Miller DT, Zee RY, Suk Danik J, Kozlowski P, Chasman DI, Lazarus R, Cook NR, Ridker PM, Kwiatkowski DJ. Association of common CRP gene variants with CRP levels and cardiovascular events. *Ann. Hum. Genet*. 2005; 69: 623638.
14. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ; JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N. Engl. J. Med*. 2008; 359: 2195-2207.
15. Jain M, Ridker P. Anti-Inflammatory Effects of Statins: Clinical Evidence and Basic Mechanisms. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2005; 4: 977-987.
16. Baragetti A, Catapano AL, Magni P. Multifactorial Activation of NLRP3 Inflammasome: Relevance for a Precision Approach to Atherosclerotic Cardiovascular Risk and Disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21: 4459.
17. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M, Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ; CANTOS Trial Group. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N. Engl. J. Med*. 2017; 377: 1119-1131.
18. Cicolari S, Catapano AL, Magni P. Inflammaging and neurodegenerative diseases: Role of NLRP3 inflammasome activation in brain atherosclerotic vascular disease. *Mech. Aging Dev*. 2021; 195: 111467.
19. Bermúdez V, Rojas-Quintero J, Velasco M. The quest for immunotherapy in atherosclerosis: CANTOS study, interleukin-1 and vascular inflammation. *J. Thorac. Dis*. 2018; 10: 64-69.
20. Kong P, Cui ZY, Huang XF, Zhang DD, Guo RJ, Han M. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention. *Signal Transduct. Target. Ther*. 2022; 7: 131. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00955-7>.
21. Gearing AJ, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today*. 1993; 14: 506-512. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(93\)90267-O](https://doi.org/10.1016/0167-5699(93)90267-O).
22. Zeng XT, Leng WD, Lam YY, Yan BP, Wei XM, Weng H, Kwong JS. Periodontal disease and carotid atherosclerosis: A meta-analysis of 17,330 participants. *Int. J. Cardiol*. 2016; 203: 1044-1051.
23. Wang J, Geng X, Sun J, Zhang S, Yu W, Zhang X, Liu H. The risk of periodontitis for peripheral vascular disease: A systematic review. *Rev. Cardiovasc. Med*. 2019; 20: 81-89.
24. Kaschwich M, Behrendt CA, Heydecke G, Bayer A, Debus ES, Seedorf U, Aarabi G. The Association of Periodontitis and Peripheral Arterial Occlusive Disease-A Systematic Review. *Int. J. Mol. Sci*. 2019; 20: 2936.
25. Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circ. Res*. 2017; 120: 1183-1196.
26. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: A proposal. *Microbiome*. 2015; 3: 31.
27. Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cell Microbiol*. 2014; 16: 1024-1033.
28. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad.*

- Sci. USA. 2007; 104: 13780-13785.
29. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, Nielsen J, Bäckhed F. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013; 498: 99-103.
 30. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin. Exp. Allergy*. 2014; 44: 842-850.
 31. Parracho HM, Bingham MO, Gibson GRMc, Cartney AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J. Med. Microbiol.* 2005; 54: 987-991.
 32. Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000; 13: 547-558.
 33. Lockhart PB, Brennan MT, Sasser HC, Fox PC, Paster BJ, Bahrani-Mougeot FK. Bacteremia associated with toothbrushing and dental extraction. *Circulation* 2008; 117: 3118-3125.
 34. Leishman SJ, Do HL, Ford PJ. Cardiovascular disease and the role of oral bacteria. *J. Oral Microbiol.* 2010; 2: 5781.
 35. Bui FQ, Almeida-da-Silva CLC, Huynh B, Trinh A, Liu J, Woodward J, Asadi H, Ojcius DM. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed. J.* 2019; 42: 27-35. ISSN 2319-4170.
 36. Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesäniemi YA, Syrjälä SL, Jungell PS, Isoluoma M, Hietaniemi K, Jokinen MJ. Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ*. 1989; 298: 779-781.
 37. Keijsers BJ, Zaura E, Huse SM, van der Vossen JM, Schuren FH, Montijn RC, ten Cate JM, Crielaard W. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J. Dent. Res.* 2008; 87: 1016-1020.
 38. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2017; 3: 17038. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>.
 39. Reyes L, Herrera D, Kozarov E, Roldán S, Progulske-Fox A. Periodontal bacterial invasion and infection: Contribution to atherosclerotic pathology. *J. Clin. Periodontol.* 2013; 40 (Suppl. S14): S30-S50.
 40. Takeuchi H, Furuta N, Morisaki I, Amano A. Exit of intracellular *Porphyromonas gingivalis* from gingival epithelial cells is mediated by endocytic recycling pathway. *Cell. Microbiol.* 2011; 13: 677-691.
 41. Carrion J, Scisci E, Miles B, Sabino GJ, Zeituni AE, Gu Y, Bear A, Genco CA, Brown DL, Cutler CW. Microbial carriage state of peripheral blood dendritic cells (DCs) in chronic periodontitis influences DC differentiation, atherogenic potential. *J. Immunol.* 2012; 189: 3178-3187.
 42. Zeituni AE, Jotwani R, Carrion J, Cutler CW. Targeting of DC-SIGN on human dendritic cells by minor fimbriated *Porphyromonas gingivalis* strains elicits a distinct effector T cell response. *J. Immunol.* 2009; 183: 5694-5704.
 43. Haraszthy VI, Hariharan G, Tinoco EM, Cortelli JR, Lally ET, Davis E, Zambon JJ. Evidence for the role of highly leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of localized juvenile and other forms of early-onset periodontitis. *J. Periodontol.* 2000; 71: 912-922.
 44. Kozarov E, Dorn B, Shelburne C, Dunn W, Progulske-Fox A. Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: e17-e18.
 45. Figuero E, Sanchez-Beltran M, Cuesta-Frechoso S, Tejerina JM, del Castro JA, Gutierrez JM, Herrera D, Sanz M. Detection of periodontal bacteria in atherosclerotic plaque by nested polymerase chain reaction. *J. Periodontol.* 2011; 82: 1469-1477.
 46. Deshpande RG, Khan MB, Genco CA. Invasion of aortic and heart endothelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun.* 1998; 66: 5337-5343.
 47. Lalla E, Lamster IB, Hofmann MA, Bucciarelli L, Jerud AP, Tucker S, Lu Y, Papapanou PN, Schmidt AM. Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23: 1405-1411.
 48. Jain A, Batista EL, Jr Serhan C, Stahl GL, Van Dyke TE. Role for periodontitis in the progression of lipid deposition in an animal model. *Infect. Immun.* 2003; 71: 6012-6018.
 49. Gibson FC, 3rd Hong C, Chou HH, Yumoto H, Chen J, Lien E, Wong J, Genco CA. Innate immune recognition of invasive bacteria accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2004; 109: 2801-2806.
 50. Vita JA, Loscalzo J. Shouldering the risk factor burden: Infection, atherosclerosis, and the vascular endothelium. *Circulation*. 2002; 106: 164-166.
 51. Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Rabe P, Klinge B, Gustafsson A. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 2009; 36: 541-549.
 52. Fitzpatrick RE, Wijeyewickrema LC, Pike RN. The gingipains: Scissors and glue of the periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. *Future Microbiol.* 2009; 4: 471-487.
 53. Czerniuk MR, Surma S, Romańczyk M, Nowak JM, Wojtowicz A, Filipiak KJ. Unexpected Relationships: Periodontal Diseases: Atherosclerosis-Plaque Destabilization? From the Teeth to a Coronary Event. *Biology*. 2022; 11: 272. <https://doi.org/10.3390/biology11020272>.
 54. Di Pietro M, Filardo S, Falasca F, Turriziani O, Sessa R. Infectious agents in atherosclerotic cardiovascular diseases through oxidative stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18: 2459.

55. Kim HJ, Cha GS, Kim HJ, Kwon EY, Lee JY, Choi J, Joo JY. Porphyromonas gingivalis accelerates atherosclerosis through oxidation of high-density lipoprotein. *J. Periodontol. Implant. Sci.* 2018; 48: 60-68.
56. Ljunggren S, Bengtsson T, Karlsson H, Starkhammar Johansson C, Palm E, Nayeri F, Ghafouri B, Davies J, Svensäter G, Lönn J. Modified lipoproteins in periodontitis: A link to cardiovascular disease? *Biosci. Rep.* 2019; 39: BSR20181665.
57. Joo JY, Cha GS, Chung J, Lee JY, Kim SJ, Choi J. Peptide 19 of Porphyromonas gingivalis heat shock protein is a potent inducer of low-density lipoprotein oxidation. *J. Periodontol.* 2017; 88: 58-64.
58. Lönn J, Ljunggren S, Klarström-Engström K, Demirel I, Bengtsson T, Karlsson H. Lipoprotein modifications by gingipains of Porphyromonas gingivalis. *J. Periodontol. Res.* 2018; 53: 403-413.
59. Reyes L, Getachew H, Dunn WA, Progulsk-Fox A. Porphyromonas gingivalis W83 traffics via ICAM1 in microvascular endothelial cells and alters capillary organization in vivo. *J. Oral Microbiol.* 2020; 12: 1742528.
60. Saito A, Inagaki S, Kimizuka R, Okuda K, Hosaka Y, Nakagawa T, Ishihara K. Fusobacterium nucleatum enhances invasion of human gingival epithelial and aortic endothelial cells by Porphyromonas gingivalis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2008; 54: 349-355.
61. Inagaki S, Onishi S, Kuramitsu HK, Sharma A. Porphyromonas gingivalis vesicles enhance attachment, and the leucine-rich repeat BspA protein is required for invasion of epithelial cells by "Tannerella forsythia". *Infect. Immun.* 2006; 74: 5023-5028.
62. Xu T, Dong Q, Luo Y, Liu Y, Gao L, Pan Y, Zhang D. Porphyromonas gingivalis infection promotes mitochondrial dysfunction through Drp1-dependent mitochondrial fission in endothelial cells. *Int. J. Oral Sci.* 2021; 13: 28.
63. Farrugia C, Stafford GP, Potempa J, Wilkinson RN, Chen Y, Murdoch C, Widziolek M. Mechanisms of vascular damage by systemic dissemination of the oral pathogen Porphyromonas gingivalis. *FEBS J.* 2021; 288: 1479-1495.
64. Oscarsson J, Karched M, Thay B, Chen C, Asikainen S. Proinflammatory effect in whole blood by free soluble bacterial components released from planktonic and biofilm cells. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 206.
65. Desvarieux M, Demmer RT, Rundek T, Boden-Albala B, Jacobs DR Jr, Papapanou PN, Sacco RL; Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST). Relationship between periodontal disease, tooth loss, and carotid artery plaque: The Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST). *Stroke.* 2003; 34: 2120-2125.
66. Desvarieux M, Demmer RT, Rundek T, Boden-Albala B, Jacobs DR Jr, Sacco RL, Papapanou PN. Periodontal microbiota and carotid intima-media thickness: The Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST). *Circulation* 2005; 111: 576-582. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000154582.37101.15>.
67. Desvarieux M, Demmer RT, Jacobs DR, Papapanou PN, Sacco RL, Rundek T. Changes in clinical and microbiological periodontal profiles relate to progression of carotid intima-media thickness: The Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology study. *J. Am. Heart Assoc.* 2013; 2: e000254.
68. Pussinen PJ, Jauhiainen M, Vilkkuna-Rautiainen T, Sundvall J, Vesanen M, Mattila K, Palosuo T, Alftan G, Asikainen S. Periodontitis decreases the antiatherogenic potency of high density lipoprotein. *J. Lipid Res.* 2004; 45: 139-147.
69. Zhang J, Xie M, Huang X, Chen G, Yin Y, Lu X, Feng G, Yu R, Chen L. The Effects of. *Front. Immunol.* 2021; 12: 766560.
70. Pietiainen M, Liljestränd JM, Kopra E, Pussinen PJ. Mediators between oral dysbiosis and cardiovascular diseases. *Eur. J. Oral Sci.* 2018; 126 (Suppl. S1): 26-36.
71. Kageyama S, Takeshita T, Asakawa M, Shibata Y, Takeuchi K, Yamanaka W, Yamashita Y. Relative abundance of total subgingival plaque-specific bacteria in salivary microbiota reflects the overall periodontal condition in patients with periodontitis. *PLoS ONE.* 2017; 12: e0174782.
72. Curia MC, Pignatelli P, D'Antonio DL, D'Ardes D, Olmastroni E, Scorpiglione L, Cipollone F, Catapano AL, Piattelli A, Bucci M, et al. Oral Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum Abundance in Subjects in Primary and Secondary Cardiovascular Prevention, with or without Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *Biomedicines.* 2022; 10: 2144. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092144>
73. Matsushita K, Hamaguchi M, Hashimoto M, Yamazaki M, Yamazaki T, Asai K, Yamori M, Bessho K, Toda H, Hasegawa G, et al. The novel association between red complex of oral microbe and body mass index in healthy Japanese: A population based cross-sectional study. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2015; 57: 135-139. [CrossRef].
74. Akherati M, Shafaei E, Salehiniya H, Abbaszadeh H. Comparison of the frequency of periodontal pathogenic species of diabetics and non-diabetics and its relation to periodontitis severity, glycemic control and body mass index. *Clin. Exp. Dent. Res.* 2021; 7: 1080-1088. [CrossRef]
75. Neeland IJ, Ross R, Després JP, Matsuzawa Y, Yamashita S, Shai I, Seidell J, Magni P, Santos RD, Arsenault B, et al. Visceral and ectopic fat, atherosclerosis, and cardiometabolic disease: A position statement. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2019; 7: 715-725. [CrossRef]
76. Magni P, Dozio E, Ruscica M, Celotti F, Masini MA, Prato P, Broccoli M, Mambro A, Morè M, Strollo F. Feeding behavior in mammals including humans. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2009; 1163: 221-232. [CrossRef].

77. Maekawa T, Takahashi N, Tabeta K, Aoki Y, Miyashita H, Miyauchi S, Miyazawa H, Nakajima T, Yamazaki K. Chronic oral infection with *Porphyromonas gingivalis* accelerates atheroma formation by shifting the lipid profile. *PLoS ONE*. 2011; 6: e20240. [CrossRef] [PubMed].
78. Hatasa M, Ohsugi Y, Katagiri S, Yoshida S, Niimi H, Morita K, Tsuchiya Y, Shimohira T, Sasaki N, Maekawa S, et al. Endotoxemia by *Porphyromonas gingivalis* Alters Endocrine Functions in Brown Adipose Tissue. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 10: 580577. [CrossRef].
79. Nakarai H, Yamashita A, Nagayasu S, Iwashita M, Kumamoto S, Ohshima H, Hata M, Soga Y, Kushiyama A, Asano T, et al. Adipocyte-macrophage interaction may mediate LPS-induced low-grade inflammation: Potential link with metabolic complications. *Innate Immun.* 2012; 18: 164-170. [CrossRef] [PubMed].
80. Sasaki N, Katagiri S, Komazaki R, Watanabe K, Maekawa S, Shiba T, Udagawa S, Takeuchi Y, Ohtsu A, Kohda T, et al. Endotoxemia by *Porphyromonas gingivalis* Injection Aggravates Non-alcoholic Fatty Liver Disease, Disrupts Glucose/Lipid Metabolism, and Alters Gut Microbiota in Mice. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2470. [CrossRef] [PubMed].
81. Charupinijkul A, Arunyanak S, Rattanasiri S, Vathesatogkit P, Thienpramuk L, Lertpimonchai A. The effect of obesity on periodontitis progression: The 10-year retrospective cohort study. *Clin. Oral Investig.* 2022; 26: 535-542. [CrossRef].
82. Maciel S, Feres M, Gonçalves T, Zimmermann G, da Silva H, Figueiredo L, Duarte P. Does obesity influence the subgingival microbiota composition in periodontal health and disease? *J. Clin. Periodontol.* 2016; 43: 1003-1012. [CrossRef] [PubMed] *Biomedicines* 2022; 10: 2144 13 of 13.
83. Benn AML, Heng NCK, Thomson WM, Sissons CH, Gellen LS, Gray AR, Broadbent JM. Associations of sex, oral hygiene and smoking with oral species in distinct habitats at age 32 years. *Eur. J. Oral Sci.* 2022; 130: e12829. [CrossRef].
84. Vieira-Silva S, Falony G, Belda E, Nielsen T, Aron-Wisnewsky J, Chakaroun R, Forslund SK, Assmann K, Valles-Colomer M, Nguyen TTD, et al. Statin therapy is associated with lower prevalence of gut microbiota dysbiosis. *Nature*. 2020; 581: 310-315. [CrossRef].
85. Lei L, Li H, Yan F, Xiao Y. Hyperlipidemia impaired innate immune response to periodontal pathogen *porphyromonas gingivalis* in apolipoprotein E knockout mice. *PLoS ONE*. 2013; 8: e71849. [CrossRef].
86. Holmlund A, Hedin M, Pussinen P, Lerner U, Lind L. *Porphyromonas gingivalis* (Pg) a possible link between impaired oral health and acute myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 2011; 148: 148-153. [CrossRef] [PubMed].
87. Pignatelli P, Iezzi L, Pennese M, Raimondi P, Cichella A, Bondi D, Grande R, Cotellese R, Di Bartolomeo N, Innocenti P, et al. The Potential of Colonic Tumor Tissue. *Cancers* 2021; 13: 1032. [CrossRef] [PubMed].
88. Gholizadeh P, Eslami H, Kafil H. Carcinogenesis mechanisms of *Fusobacterium nucleatum*. *Biomed. Pharmacother.* 2017; 89: 918-925. [CrossRef].
89. Velsko IM, Chukkapalli SS, Rivera-Kweh MF, Chen H, Zheng D, Bhattacharyya I, Gangula PR, Lucas AR, Kesavalu L. *Fusobacterium nucleatum* Alters Atherosclerosis Risk Factors and Enhances Inflammatory Markers with an Atheroprotective Immune Response in ApoE(null) Mice. *PLoS ONE* 2015; 10: e0129795. [CrossRef].
90. Lee HR, Jun HK, Kim HD, Lee SH, Choi BK. *Fusobacterium nucleatum* GroEL induces risk factors of atherosclerosis in human microvascular endothelial cells and ApoE(-/-) mice. *Mol. Oral Microbiol.* 2012; 27: 109-123. [CrossRef] [PubMed].