UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELL'AQUILA

MESVA
Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELL'AQUILA
DIPARTIMENTO DI MEDICINA CLINICA, SANITÀ PUBBLICA, SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

DOTTORATO DI RICERCA IN
"SCIENZE DELLA SALUTE E DELL'AMBIENTE"
XXXIV CICLO

TESI DI DOTTORATO

Associazione fra sindrome metabolica e parodontite: ruolo dei singoli fattori di rischio e delle loro diverse combinazioni

SSD MED/28

Relatore
Prof. Mario Giannoni

Candidato
Dott. Luca Guerrini

Correlatore
Prof. Davide Pietropaoli

Coordinatrice
Prof.ssa Maria Grazia Cifone

A.A. 2020/2021

Indice

Abstract in English ... 3
Abstract in Italiano ... 4
1 Introduzione ... 5
1.1 Parodontite ... 5
1.2 Tipologie di malattia parodontale ... 6
1.3 Patogenesi della malattia parodontale ... 6
1.4 Valutazione della malattia parodontale ... 8
1.5 Le relazioni tra malattia parodontale, fattori non modificabili e malattie sistemiche ... 10
1.5.1 Età ... 10
1.5.2 Sesso ... 10
1.5.3 Etnia ... 11
1.5.4 Polimorfismi del gene ... 11
1.5.5 Microbiota specifico ... 11
1.5.6 Abitudine al fumo ... 11
1.5.7 Diabete mellito ... 12
1.5.8 Obesità ... 12
1.5.9 Osteoporosi ... 12
1.5.10 HIV ... 12
1.5.11 Fattori psicosociali ... 12
1.5.12 Aterosclerosi e malattie cardiovascolari ... 13
1.5.13 Complicanze gravidiche ... 13
1.6 Conoscenze pregresse sulle relazioni tra malattia parodontale e sindrome metabolica ... 13
2 Sindrome Metabolica ... 13
2.1 Sviluppo della malattia ... 14
2.2 Trattamenti attuali ... 15
3 Scopo e disegno dello studio ... 16
4 Materiali e Metodi ... 17
4.1 Fonte dei dati ... 17
4.2 Popolazione in studio ... 17
4.3 Esame parodontale ... 17
4.4 Definizione dello stato di salute parodontale e dell'attività della malattia ... 18
4.5 Definizione di Sindrome Metabolica ... 18
4.6 Classificazione delle covariate ... 19
4.7 Analisi statistica ... 19
5 Risultati ... 21
5.1 Popolazione in studio (PSM) ... 21
5.2 Caratteristiche della popolazione ... 21
5.3 Associazione tra parodontite, sanguinamento gengivale e diagnosi di MetS ... 26
5.4 Associazione fra strati di salute parodontale e MetS ... 26
5.5 Analisi delle combinazioni di fattori di MetS e parodontite ... 28
5.6 Indici di flogosi sistemica ... 30
5.7 Algoritmi di apprendimento automatico (ML) ... 31
6 Discussione ... 34
7 Conclusione ... 38
8 Bibliografia ... 39

Abstract in English

Background. Metabolic Syndrome (MetS) is characterized by the presence of at least three of the following factors, including hyperglycemia, hypertension, hypertriglyceridemia, high waist circumference, and low HDL cholesterol values. In this clinical condition, the patient is at high risk for cardiovascular events. The MetS is associated with periodontitis through inflammatory mechanisms, but the impact of the individual MetS factors on this association remains undetermined.

Materials and methods. The third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) was used to test whether individuals aged > 18 years undergoing periodontal examination (population) exposed to at least one MetS factor (exposure), matched with Propensity Score Matching for gender, age, race, and socioeconomic status to non-exposed individuals to any MetS factor (controls), were more likely to have periodontal disease (periodontitis and gingival bleeding, alone or in combination) (outcome) than their counterpart. Another aim was to explore the relationship between MetS factor combinations and periodontal disease. Univariate or multimodal logistic regression models explored the association between exposure and outcome. Machine learning was used to define the ability to predict periodontal health, starting from the MetS factors.

Results. Two groups composed of 1699 individuals each were analyzed. They were homogeneous for the major clinical-demographic confounders. The exposed group showed a higher risk of periodontitis (+ 26%) and gingival bleeding (+ 75%) than the unexposed. The association between the number of components of MetS grew linearly with gingival bleeding but not with periodontitis. The C reactive protein increased linearly significantly with the increase of the inflamed periodontal surface (PISA). The combination of hyperglycemia and arterial hypertension doubled the risk of periodontitis. The combination of all MetS factors tripled the risk of gingival bleeding.

Conclusion. MetS and periodontitis or gingival bleeding are associated conditions. Close monitoring by the clinician should be implemented in these high-risk patients. Further studies are needed to validate these findings and expand their clinical significance.

Abstract in Italiano

Background. La sindrome metabolica (MetS) è caratterizzata dalla sussistenza di almeno tre fattori tra iperglicemia, ipertensione, ipertrigliceridemia, elevata circonferenza vita e bassi valori di colesterolo HDL ed è una condizione clinica che pone il paziente ad elevato rischio di eventi cardiovascolari. La MetS è associata alla parodontite attraverso meccanismi proflogistici, ma l'impatto dei singoli fattori di MetS su questa associazione resta indeterminato.

Materiali e Metodi. Il terzo National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) è stato usato per testare se individui con età >18 anni sottoposti ad esame parodontale (popolazione) *esposti* almeno ad un fattore di MetS (esposizione), appaiati con Propensity Score Matching per genere, età, razza e stato socioeconomico ad individui *non esposti* ad alcun fattore di MetS (controlli), avessero più probabilità di avere malattia parodontale (parodontite e sanguinamento gengivale, da soli o in combinazione) (outcome) rispetto alla controparte, e per esplorare la relazione tra le combinazioni di fattori di MetS e la malattia parodontale. L'associazione fra esposizione ed outcome è stata esplorata con modelli di regressione logistica univariata o multimodale. L'apprendimento automatico è stato usato per definire la capacità di previsione della salute parodontale partendo dai fattori di MetS.

Risultati. Sono stati analizzati due gruppi di 1699 individui ciascuno, omogenei per i maggiori confondenti clinico-demografici. Gli esposti hanno mostrato un rischio più elevato di parodontite (+26%) e di sanguinamento gengivale (+75%) rispetto ai non esposti. L'associazione tra numero di componenti di MetS cresceva linearmente con la presenza di sanguinamento gengivale, ma non con la parodontite. La proteina C reattiva aumentava linearmente in maniera significativa all'aumentare della superficie parodontale infiammata (PISA). La combinazione di iperglicemia ed ipertensione arteriosa duplicava il rischio di parodontite, mentre la combinazione di tutti i fattori di MetS triplicava il rischio di sanguinamento gengivale.

Conclusioni. MetS e parodontite o sanguinamento gengivale sono condizioni associate. Uno stretto monitoraggio da parte del clinico dovrebbe essere attuato in questi pazienti ad alto rischio. Futuri studi sono necessari per validare questi risultati ed espanderne il significato clinico.

1 Introduzione

1.1 Parodontite

Con il termine parodonto si definisce tutto l'apparato di sostegno che sostiene il dente all'interno dell'alveolo, tramite diverse strutture quali la gengiva, il legamento parodontale, il cemento radicolare e l'osso alveolare.

Il parodonto ha due funzioni fondamentali, quella di mantenere ben saldo all'interno dell'alveolo l'elemento dentale e quella di attutire e ridistribuire le forze della masticazione che gravano sul dente stesso. Essendo un complesso di fibre, permette in stato fisiologico un piccolo grado di mobilità al dente, che ha un ruolo centrale nella gestione delle forze masticatorie.

Fisiologicamente il parodonto ospita un elevato numero di batteri, soprattutto aerobi nel caso di parodonto in salute, ed è caratterizzato da un complesso microbioma, per cui ad oggi non ci si focalizza più solamente sui cosiddetti complessi rossi e arancione di Socransky [1,2] per identificare la malattia parodontale.

Il parodonto è dunque considerabile un punto di passaggio, che non solo è posto tra la cavità orale e dunque il tubo digerente e le strutture ossee della mandibola e dei mascellari, bensì è anche posto molto vicino all'ambiente esterno e a tutto ciò che viene immesso nella cavità orale, come il cibo, le bevande, il fumo di sigaretta [3] e altre sostanze cosiddette di abuso, risentendo direttamente e indirettamente della loro azione.

La parodontite è attualmente definita come una malattia cronica infiammatoria multifattoriale, associata a placca dentaria in condizioni di disbiosi e caratterizzata da una progressiva distruzione dell'apparato di supporto del dente [4,5].

La comunità scientifica riconosce tra le caratteristiche principali la perdita del supporto del tessuto parodontale, che si mostra tramite una perdita di attacco clinico (Clinical Attachment Loss – CAL), la perdita di osso alveolare riscontrabile tramite esame radiodiagnostico, la presenza di tasche parodontali più o meno profonde (PPD) e il sanguinamento al sondaggio (Bleeding on Probing - BoP).

Nel contesto della parodontite, un paziente è definito un caso parodontale se manifesta una CAL interdentale $\geq$ 2 mm in almeno due denti non contigui, e una CAL orale o buccale $\geq$ 3 mm con una tasca $\geq$ 3 mm a due o più elementi dentari [4]. Tali perdite di attacco clinico non devono essere riconducibili a cause di natura extra parodontale, quali ad esempio i traumi.

La malattia parodontale è una malattia che può essere distinta in tre forme da un punto di vista fisiopatologico, quali la parodontite necrotizzante, la parodontite quale manifestazione di malattie sistemiche e la parodontite propriamente detta.
La parodontite, che cronicizzata e non trattata causa la perdita degli elementi dentari, è una malattia che ha elevate conseguenze sociali ed economiche, oltre che sullo stato della salute generale dell'individuo, come successivamente descritto.
Nel 2021, l'Economist Intelligence Unit ha stimato gli elevatissimi costi, diretti e indiretti, della malattia parodontale, ponendo l'accento sull'importanza delle terapie per ridurre questi costi.

1.2 Tipologie di malattia parodontale

Per diagnosticare e valutare quantitativamente la malattia parodontale, sono stati elaborati alcuni indici indicati di seguito. Tali indici permettono di individuare dei valori che ci possono far discernere tra uno stato fisiologico e patologico, oltre che a inquadrare in maniera approfondita il decorso della malattia.
In primo luogo, la malattia parodontale si manifesta in fenotipi differenti [5]

1- Parodontite necrotizzante
2- Parodontite cronica
3- Parodontite quale manifestazione di altre malattie sistemiche

Il sistema di classificazione generale punta a distinguere le forme più comuni di parodontite, cioè la parodontite cronica e aggressiva, dalla forma necrotizzante, manifestazione differente della malattia (caratterizzata da una fisiopatologia unica, presentazione clinica e trattamento distinti), e i rari difetti genetici maggiori o carenze acquisite nei componenti di difesa dell'ospite (caratterizzate da un disturbo sistemico primario che si esprime anche con una perdita precoce degli elementi dentari).

1.3 Patogenesi della malattia parodontale

La parodontite è provocata dalla risposta immunitaria dell'ospite contro i microrganismi patogeni parodontali. Come accennato in precedenza, recenti studi hanno ipotizzato che la parodontite sia causata principalmente dalla disbiosi della comunità batterica [6], piuttosto che da un'infezione da singoli batteri. Questo concetto innovativo ha spinto i ricercatori a identificare i batteri centrali nel processo e a studiare come il sistema immunitario dell'ospite rispondesse alla disbiosi. Uno dei sistemi di riconoscimento vitali per il cambiamento disbiotico microbico è costituito dai recettori toll-like (TLR).

Moonen et al. riportano che l'attivazione di TLR2 nei fibroblasti gengivali o nei monociti è responsabile della proliferazione delle cellule T [7]. Coerentemente con questo studio, è stato a lungo dimostrato che il sistema immunitario innato mediato da TLR da pattern molecolari associati ai patogeni (PAMP) attiva le risposte immunitarie dei linfociti T e B per produrre citochine infiammatorie e induce percorsi osteolitici, promuovendo l'infiammazione parodontale e il riassorbimento osseo. Tuttavia, è interessante notare che studi recenti hanno dimostrato che i linfociti T e B immunoregolatori sono attivati anche dal sistema immunitario innato attivato, suggerendo che diversi sistemi immunitari adattativi svolgono un ruolo protettivo nel contesto della parodontite.

È anche ben dimostrato che non solo i PAMP, ma anche diversi metaboliti secreti da batteri o cellule ospiti siano associati al progresso della malattia parodontale. Ad esempio, gli acidi grassi a catena corta (SCFA), incluse alcune loro forme deprotonate quali acetato, propionato e butirrato, che sono metaboliti di batteri Gram-negativi, sono frequentemente rilevati nella tasca parodontale dei pazienti con parodontite. Magrin et al. hanno rivelato che, tra gli SCFA, il butirrato potrebbe esacerbare la risposta infiammatoria dell'epitelio gengivale nel loro studio in vitro e nella revisione sistematica [8]. D'altra parte, i lipidi secreti dalle cellule mononucleate morenti del sangue periferico possono attivare la produzione di citochine infiammatorie dei macrofagi.

L'attivatore del recettore del ligando del fattore nucleare-kappa B (RANKL) costituisce la citochina principale per quanto riguarda la differenziazione e la funzione degli osteoclasti. Sebbene ancora da dimostrare fuori ogni dubbio, si ritiene che gli osteoblasti o le cellule stromali siano la fonte cellulare di RANKL nel contesto della parodontite. Pertanto, l’attenzione dei ricercatori si è focalizzata sullo studio degli osteoblasti e degli osteoclasti. Kelder et al. hanno riferito che le cellule osteoblastiche isolate dall'osso lungo mostravano un'attività osteogenica più significativa rispetto a quelle dell'osso alveolare [9,10]. D'altra parte, per studiare il ruolo delle citochine pro-infiammatorie nell'osteoclastogenesi indotta da RANKL, Ascone et al. hanno impiegato topi carenti di antagonisti del recettore IL-1 (IL1rn-/-). Di conseguenza, hanno dimostrato che l'interruzione dell'inibitore dell'IL-1 ha aumentato il numero di precursori degli osteoclasti nel midollo osseo, con conseguente aumento della perdita ossea [11].

Il pattern genetico del sistema immunitario dell'ospite appare essere associato all'insorgenza di malattia parodontale causata da batteri patogeni. Una revisione sistematica di Khouly et al. ha dimostrato che la modifica epigenetica, che cambia l'espressione genica mediante la metilazione del DNA ma non la sequenza del DNA,

può anche essere coinvolta nell'insorgenza della malattia parodontale [12]. Inoltre, anche gli altri fattori ambientali, tra cui la senescenza e lo stress, sono responsabili del progresso della parodontite. Sulla base delle prove sempre più emergenti in letteratura, in un articolo di revisione, è stato proposto un nuovo modello scientifico secondo cui le cellule senescenti, che ricevono stress ossidativo e conseguente danno al DNA, possano aggravare la reazione immunitaria innata contro i patogeni [13]. Lopes et al. hanno indicato che lo stress ossidativo cronico del sangue, indotto dallo stress, aggrava il riassorbimento osseo parodontale utilizzando il modello sperimentale del ratto [14].

Data la loro natura intrinseca, il liquido gengivale crevicolare (GCF) e la saliva possono essere interessanti fluidi diagnostici per la parodontite. In combinazione con la tecnologia avanzata per l'analisi proteomica, un articolo ha proposto un futuro sistema diagnostico affidabile utilizzando il fluido crevicolare [15]. Han et al. hanno riportato che il metodo della cromatografia ad esclusione dimensionale possa essere appropriato per l'isolamento di piccole vescicole extracellulari salivari, che ospita geni di metilazione del DNA e microRNA, come miR-146a-5p, riflettendo la condizione fisiologica [16]. È interessante notare che la revisione sistematica di Asa'ad et al. ha indicato che il miR-146a potrebbe essere usato come un biomarcatore nei pazienti con parodontite [17]. Studi futuri sulla biopsia liquida per la diagnosi e la stadiazione della parodontite potrebbero avere interessanti risvolti clinici.

1.4 Valutazione della malattia parodontale

La diagnosi parodontale viene correntemente eseguita secondo lo schema di classificazione definito nel 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions [18–20].

Un caso di salute parodontale clinica è definito dall'assenza di infiammazione [misurata come presenza di sanguinamento al sondaggio (BOP) in siti inferiori al 10%] e dall'assenza di attacco e perdita ossea derivanti da una precedente parodontite.

Un caso di gengivite è definito dalla presenza di infiammazione gengivale, valutata mediante sanguinamento al sondaggio in siti maggiori o uguali al 10% e dall'assenza di perdita di attacco rilevabile dovuta a precedente parodontite. La gengivite localizzata è definita come siti di sanguinamento dal 10% al 30%, mentre la gengivite generalizzata è definita come numero di siti con sanguinamento superiore al 30%.

Un caso di parodontite è definito dalla perdita del supporto del tessuto parodontale, che è comunemente valutata dalla perdita ossea radiografica o dalla perdita interprossimale dell'attacco clinico misurata mediante sondaggio. Altre descrizioni significative della parodontite includono il numero e le proporzioni dei denti con profondità della tasca di sondaggio oltre determinate soglie (comunemente >4 mm con BOP e ≥6 mm), il numero di denti persi a causa della parodontite, il numero di denti con lesioni intraossee e il numero di denti con lesioni della forcazione.

Un singolo caso di parodontite dovrebbe essere ulteriormente caratterizzato utilizzando un indice che descriva lo stadio e il grado della malattia. Lo stadio dipende molto dalla serietà della malattia alla presentazione e dalla complessità attesa nella gestione del caso, e comprende una descrizione della distribuzione e dell'estensione della malattia nella cavità orale. Il grado fornisce ulteriori dati sulle caratteristiche biologiche della malattia, quali l'analisi del tasso di progressione della parodontite, la valutazione del rischio di progressione successiva, l'analisi di possibili scarsi esiti del trattamento e la valutazione del rischio che la patologia o il suo trattamento possano avere un effetto negativo sulla salute generale del paziente.

La stadiazione, che è legata alla gravità della malattia e alla prevista complessità della gestione del caso, dovrebbe essere la base per il piano di trattamento del paziente basato sull'evidenza scientifica dei diversi interventi terapeutici [21]. Il grado, tuttavia, poiché fornisce informazioni aggiuntive sui fattori di rischio del paziente e sul tasso di progressione, dovrebbe essere la base per la pianificazione individuale delle cure [5].

Dopo il completamento della terapia parodontale, un paziente con parodontite stabile viene definito per la salute gengivale su un parodonto ridotto (sanguinamento al sondaggio in meno del 10% dei siti; profondità di sondaggio di 4 mm o meno e nessun sito di 4 mm con sanguinamento al sondaggio). Quando, dopo il completamento del trattamento parodontale, questi criteri sono soddisfatti ma il sanguinamento al sondaggio è presente in più del 10% dei siti, il paziente riceve una diagnosi di parodontite stabile con infiammazione gengivale. I siti con profondità di sondaggio persistenti uguali o maggiori di 4 mm che mostrano sanguinamento al sondaggio possono essere instabili e richiedere un ulteriore trattamento. Va chiarito che i pazienti trattati con successo, con parodontite stabile, presenteranno un rischio di parodontite ricorrente aumentato, e quindi se fosse presente un'infiammazione gengivale dovrebbero essere attuate misure adeguate al controllo dell'infiammazione, con lo scopo di ostacolare l'insorgenza della parodontite ricorrente.

La parodontite, secondo la classificazione del 2018 [19], dovrebbe essere differenziata dalle seguenti condizioni cliniche:

- Gengivite [19]
- Frattura della radice verticale [20]
- Carie cervicale [20]
- Frammenti di cemento [20]
- Lesioni da riassorbimento radicolare esterno [20]
- Tumori o altre condizioni sistemiche che si estendono al parodonto [20]
- Recessione locale indotta da trauma [20]
- Lesioni endo-parodontali [22]
- Ascesso parodontale [22]
- Malattie parodontali necrotizzanti [22]

1.5 Le relazioni tra malattia parodontale, fattori non modificabili e malattie sistemiche

Nello studio delle relazioni tra malattia parodontale e malattie sistemiche, le evidenze su una connessione sono state acquisite molto gradualmente e con fatica.
I primi studi risalgono già a molti anni fa, e nel 2012 nel corso di un convegno congiunto tra l'EFP (Federazione Europea Parodontologia) e l'American Academy of Periodontology, convocato con l'obiettivo di analizzare la letteratura in merito alle relazioni tra parodontite e malattie sistemiche, si è giunti a conclusione che ci possono essere sufficienti evidenze cliniche in merito a una relazione tra malattia parodontale e malattie sistemiche [23].

1.5.1 Età

Le evidenze hanno dimostrato come sia la prevalenza sia la gravità della malattia parodontale aumentino con l'avanzare degli anni, suggerendo quindi che l'età sia un indicatore per la perdita di supporto parodontale del dente [24,25].
Va anche considerato che l'effetto dato dall'età potrebbe rappresentare probabilmente l'effetto cumulativo di un'esposizione prolungata a diversi fattori di rischio [26].

1.5.2 Sesso

Nella letteratura non sono state riscontrate differenze fra uomini e donne nella predisposizione allo sviluppo della malattia parodontale, anche se gli uomini sembrano mostrare un peggior livello di salute parodontale in studi multipli su diverse popolazioni

[1,27,28]. Va considerata comunque la differente possibile applicazione di pratiche di igiene orale o la maggiore abitudine al fumo, che in molte popolazioni nei tempi passati è stata soprattutto riservata al sesso maschile.

1.5.3 Etnia

Per quanto riguarda l'etnia sono state riscontrate alcune differenze nella prevalenza tra alcuni paesi ma non è stato elaborato nessun modello coerente che consideri covariate quali l'età e l'igiene orale [29]. Negli Stati Uniti sono emerse alcune statistiche che tendevano a mostrare come gli afroamericani avessero una più elevata prevalenza di parodontite [30], ma non è stato possibile comprendere quanto la condizione socioeconomica abbia influito su questi dati. È evidente che gli indicatori socioeconomici tra diversi gruppi etnici non possano essere commisurati, ma probabilmente riflettono le ampie disuguaglianze storiche tra alcune etnie.

1.5.4 Polimorfismi del gene

Evidenze ricavate da studi tradizionalmente eseguiti su gemelli suggeriscono che i polimorfismi genetici possano essere modificatori significativi del fenotipo della parodontite [31–33], ma il ruolo dei polimorfismi a singolo nucleotide risulta non ancora ben chiaro.

1.5.5 Microbiota specifico

L'eziologia batterica delle condizioni di gengivite [34,35] e parodontite [36] è stata accertata da tempo in letteratura. Complessivamente, possiamo asserire che nell'ultimo ventennio ci si è focalizzati sul ruolo di specifici batteri nella progressione della malattia, concentrandosi sull'importanza della carica batterica, e non più sulla semplice presenza degli stessi. Conseguentemente a ciò, si è dimostrato che un metodo antimicrobico quale la stessa rimozione della placca sotto gengivale fosse il singolo trattamento più coerente per la parodontite [37–39].

1.5.6 Abitudine al fumo

È stato chiaramente dimostrato come l'abitudine al fumo di sigaretta possa influire sulla vascolarizzazione, sulla risposta immunitaria, sui processi di segnalazione cellulare e chiaramente sull'omeostasi dei tessuti. Essendo il tessuto parodontale un tessuto

particolare, caratterizzato da vasi di piccolissimo calibro, chiaramente è molto sensibile all'esposizione al fumo di sigaretta che avviene proprio in questa sede.

L'associazione tra il fumo di sigaretta e condizioni parodontali peggiorate è riscontrabile in numerosissimi studi [3].

Si è peraltro nel tempo dimostrato che la stessa abitudine al fumo causa un rischio statisticamente significativo di peggioramento e progressione della parodontite, considerando anche le altre covariate [40–42].

1.5.7 Diabete mellito

Il dibattito in letteratura scientifica sul diabete mellito come potenziale fattore di rischio per la parodontite è stato lungo, ma ultimamente sono stati descritti con certezza molti meccanismi biologicamente plausibili per cui il legame è stato dimostrato in maniera evidente [43].

1.5.8 Obesità

Per quanto riguarda l'obesità sono disponibili studi svolti anche sullo stesso database preso in considerazione in questo studio, ovvero il NHANES III [44], comunque appare evidente che l'associazione tra obesità e malattia parodontale sia esistente [45,46].

1.5.9 Osteoporosi

Per quanto riguarda il ruolo dell'osteoporosi nei confronti del rischio di malattia parodontale, ci sono stati alcuni studi che hanno associato una bassa densità minerale ossea a una perdita di attacco clinico, ovvero a una recessione gengivale. In ogni caso appare necessario attendere ulteriori ricerche su questo punto [23,47].

1.5.10 HIV

In letteratura attualmente non c'è unanime consenso sulla associazione tra il virus dell'immunodeficienza acquisita e la malattia parodontale. Va comunque considerato che l'aumento della sopravvivenza dei pazienti affetti da HIV sicuramente potrà avere un effetto sulla variabilità di alcuni dati in futuro [48].

1.5.11 Fattori psicosociali

È difficile quantificare lo stress in una maniera univoca, comunque occorre considerare che spesso lo stress e i comportamenti associati a una tale condizione possono

indirettamente peggiorare i fattori che poi comportano un rischio di parodontite aumentato[49].

1.5.12 Aterosclerosi e malattie cardiovascolari

Sul ruolo delle malattie cardiovascolari e dell'aterosclerosi, per quanto riguarda l'aumento del rischio di sviluppare una condizione di malattia parodontale, ci sono stati numerosi studi soprattutto negli ultimi anni che hanno dimostrato una associazione [43,50,51].

1.5.13 Gravidanza

Ad oggi è accertato a livello scientifico che il maggior rischio di parodontite in gravidanza, dovuto soprattutto a cause ormonali, ma non esclusivamente, può essere mitigato attraverso un aumento del ricorso al trattamento parodontale non chirurgico.
Ci sono recenti studi che dimostrano il ruolo di potenziale riduzione del rischio di mortalità perinatale del trattamento parodontale non chirurgico [52].

1.6 Conoscenze pregresse sulle relazioni tra malattia parodontale e sindrome metabolica

Un ampio spettro di prove scientifiche da studi epidemiologici dimostra favorevolmente l'associazione tra parodontite, obesità e sindrome metabolica [46]. Esistono meccanismi plausibili per spiegare come queste condizioni possano influenzarsi negativamente a vicenda. Al momento sono disponibili solo prove limitate da alcuni studi di intervento. Considerando il costo globale in termini di salute della parodontite e l'elevata incidenza dell'obesità, ciò ha importanti implicazioni cliniche ed epidemiologiche per il team odontoiatrico. È già riscontrabile in letteratura una associazione tra malattia parodontale e sindrome metabolica, senza che però vengano presi nel dettaglio in considerazione i singoli fattori della sindrome stessa.

2 Sindrome Metabolica

La Sindrome Metabolica, detta anche sindrome X o resistenza insulinica, è definita come una malattia multifattoriale con diversi fattori di rischio, che vanno dalla resistenza insulinica fino ad un anormale deposito adiposo addominale [53].

La sindrome metabolica è caratterizzata dalla sussistenza di almeno tre fattori di rischio cardiovascolare tra ipertensione, iperglicemia, ipertrigliceridemia, ridotti livelli di HDL, circonferenza vita aumentata.

L'esatta eziologia della sindrome metabolica non è stata completamente compresa. Normalmente il quadro clinico è caratterizzato da diabete, pressione alta e obesità. Sono stati studiati molti fattori scatenanti e meccanismi eziologici, quali la resistenza all'insulina, la disfunzione delle cellule β del pancreas, la disfunzione cellulare delle proteinchinasi e delle fosfatasi, la soppressione dell'espressione e della funzione del gene IRS1 e IRS2, obesità e tossicità lipidica, infiammazione cronica, alterazioni del ritmo circadiano e modifiche a genetica, epigenetica, microbiota intestinale ed effetti della dieta [54].

La sindrome metabolica risulta molto impattante su molte popolazioni, soprattutto quelle ad alto reddito e ad alto sviluppo socioeconomico, ma non solamente [55].

È stata già studiata in diversi lavori scientifici la relazione tra malattia parodontale e diabete, ipertensione e sindrome metabolica in generale [56–60]. Non ci si era ancora focalizzati sulla potenziale associazione tra malattia parodontale e singoli fattori della Sindrome Metabolica.

Quest'ultima è stata molto studiata negli ultimi anni, poiché rischia di rappresentare una potenziale pandemia, che coinvolge sia i paesi più ad alto reddito che quelli più poveri. Una chiara e univoca definizione manca ancora nella letteratura scientifica, sebbene vi sia consenso sulla sua definizione, che prende in considerazione la circonferenza addominale, la glicemia a digiuno, la pressione arteriosa (con valori leggermente differenti a seconda della classificazione seguita), il valore dei trigliceridi aumentato, il valore dell'HDL diminuito e la circonferenza addominale oltre determinati valori, come riportato in seguito.

2.1 Sviluppo della malattia

Come nelle altre sindromi, lo sviluppo dei processi patologici può essere indicato da alcuni sintomi premonitori, quali ad esempio un aumento del senso della fame, della sete o uno stimolo frequente ad urinare. Tali sintomi possono essere chiaramente ricondotti allo stato di iperglicemia.

2.2 Trattamenti attuali

I punti iniziali di trattamento sono considerati la perdita di peso e, in generale, la modifica degli stili di vita che hanno condotto il paziente a sviluppare la sindrome. Studi su popolazioni differenti hanno dimostrato che comunque lo stile di vita tipico dei paesi cosiddetti “occidentali” possa avere un’influenza sullo sviluppo della sindrome, sottolineando ancora una volta l’importanza delle abitudini di vita nell’eziopatogenesi della malattia [61].

In questo, la sindrome metabolica appare paragonabile alla malattia parodontale, poiché anche quest’ultima risente molto degli stili di vita [62].

Come esposto in precedenza, è già nota l’associazione tra malattia parodontale e vari fattori di sindrome metabolica; tuttavia, non erano state ancora verificate le associazioni tra malattia parodontale ed i singoli fattori di MetS, ovvero con le loro combinazioni.

3 Scopo e disegno dello studio

Lo scopo del presente lavoro è stato di rispondere al quesito clinico se individui con età >30 anni comparabili dal punto di vista di potenziali caratteristiche confondenti (sesso, età, razza e stato socio economico) (popolazione) *esposti* almeno ad un fattore di MetS (esposizione) avessero più probabilità di avere malattia parodontale rispetto a coloro i quali *non erano esposti* a nessun fattore di MetS (controlli) ed esplorare quale fra le combinazione dei fattori di MetS si associasse di più alla malattia parodontale (parodontite, sanguinamento gengivale) (outcome).

Lo studio proposto è di tipo retrospettivo trasversale *nested*, con gruppi appaiati con Propensity Score Matching (PSM).

4 Materiali e Metodi

4.1 Fonte dei dati

Il database NHANES III ha rappresentato la fonte dei dati per questo studio. I dati in esso contenuti possono essere visionati e scaricati attraverso il sito Internet del Center for Disease Control and Prevention (CDC) – National Center for Health Statistics (NCHS). Essendo basato sull'analisi di dati già disponibili, il presente studio non ha avuto necessità di revisione da parte dell'Internal Review Board dell'Università degli Studi dell'Aquila.

4.2 Popolazione in studio

La popolazione in studio è stata identificata da un campione probabilistico nazionale di 39695 civili statunitensi non istituzionalizzati di età pari o superiore a 2 mesi, valutato dal 1988 al 1994 [63]. La popolazione selezionata per questo studio comprende individui ambosessi di età pari o superiore a 30 anni, con valutazione parodontale completa in termini di sanguinamento al sondaggio (BoP), profondità di sondaggio parodontale (PPD) e perdita di attacco clinico (CAL) e con misurazioni della pressione arteriosa (PA) disponibili e valide. La soglia di età scelta riflette le attuali stime di prevalenza di malattia parodontale, come indicato nell'attuale definizione della malattia utilizzata negli studi epidemiologici [64,65].

4.3 Esame parodontale

I partecipanti non sono stati elegibili alla valutazione parodontale in presenza di almeno uno dei seguenti fattori di esclusione: storia di cardiopatia congenita, malattia cardiaca valvolare, pacemaker o altri dispositivi cardiaci artificiali, endocardite batterica, febbre reumatica, malattia renale che richiede dialisi, emofilia, protesi articolari, gravidanza, allattamento o neoplasia
[https://wwwn.cdc.gov/nchs/data/nhanes3/manuals/dental.pdf].
L'esame parodontale era costituito da una valutazione a due siti (vestibolo-mesiale e vestibolo-distale) di PPD, CAL e BoP per ciascun dente in due quadranti, mascellare e mandibolare, scelti casualmente da una funzione computerizzata partendo dall'assunto che le condizioni relative ai siti scelti casualmente sarebbero state rappresentative dello stato di salute orale. I terzi molari sono stati esclusi dall'analisi e dunque è stato possibile esaminare un massimo di 14 denti e 28 siti per individuo.

Pazienti con <5 elementi dentari naturali erano esclusi dalla valutazione parodontale. [https://wwwn.cdc.gov/nchs/data/nhanes3/manuals/dental.pdf].

4.4 Definizione dello stato di salute parodontale e dell'attività della malattia

La presenza di parodontite è stata definita in base alla definizione sviluppata appositamente per lo studio NHANES, ovvero ≥2 siti interprossimali con CAL ≥3 mm e ≥2 siti interprossimali con PPD ≥4 mm (non sullo stesso dente), oppure un sito con PPD ≥5 mm[1965], mentre la stabilità della malattia è stata definita come BoP <10% secondo recenti linee guida EFP/AAP [19,66].

Indipendentemente dallo stato parodontale, lo stato gengivale è stato valutato come segue: 1) gengive non sanguinanti quanto il BoP è risultato <10%; 2) gengivite quando BoP è risultato ≥10% [19,66]. Inoltre, i pazienti sono stati stratificati in base alla presenza di sanguinamento gengivale e stato parodontale. Nello specifico lo stato parodontale è stato definito come: 1) "*sano*", in assenza sia di parodontite che di sanguinamento gengivale (BoP<10%); 2) "*gengivite*", in presenza di sanguinamento gengivale (BoP≥10%), ma senza parodontite; 3) "*parodontite stabil*e", in presenza di segni clinici di parodontite, ma senza sanguinamento gengivale (BoP<10%); e 4) "*parodontite instabile*", con concomitante presenza di parodontite e sanguinamento gengivale (BoP≥10%) [19,66]. BoP è stato utilizzato anche come variabile continua (%). Inoltre, per ciascun paziente è stata calcolata la superficie infiammata parodontale (PISA, mm^2) con una funzione personalizzata [67].

4.5 Definizione di Sindrome Metabolica

La definizione di MetS era basata sulle linee guida del National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III statunitense (NCEP ATP III) [68,69]. Nello specifico, la diagnosi di MetS si formulava quando erano presenti almeno tre delle seguenti caratteristiche: a) circonferenza vita >108 cm negli uomini e >88 cm nelle donne; b) glicemia a digiuno ≥150 mg/dL; c) pressione arteriosa ≥130/85 mmHg; d) trigliceridi ≥ 100 mg/dL; e) valori di HDL ≤40 mg/dL negli uomini e ≤50 mg/dL nelle donne [68,69]. Gli individui che riferivano di utilizzare farmaci antipertensivi e/o antidiabetici sono stati classificati come ipertesi o diabetici a prescindere dai valori riscontrati durante la visita. I trigliceridi sierici sono stati misurati in maniera enzimatica attraverso un misuratore dedicato, così come il colesterolo HDL (Hitachi 704 Analyzer; Hitachi, Tokyo, Japan). La concentrazione sierica di glucosio è stata misurata utilizzando un assay enzimatico

(saggio Cobas Mira; Roche, Basilea, Svizzera). Maggiori dettagli riguardanti i metodi di campionamento e di analisi possono essere visionati nell'apposito sito dedicato (https://wwwn.cdc.gov/nchs/data/nhanes3/manuals/labman.pdf).

Tre misurazioni di pressione arteriosa (PA) valide, in accordo con le linee guida statunitensi [70], sono state ottenute applicando il protocollo operativo di NHANES, che ha previsto l'uso di uno sfigmomanometro a mercurio applicato sul braccio sinistro di un paziente che era a riposo seduto per 10 minuti. Maggiori dettagli relativi alla misurazione della PA sono consultabili (https://wwwn.cdc.gov/nchs/data/nhanes3/manuals/bpqc.pdf). Nelle analisi è stata utilizzata la media della seconda e della terza lettura della pressione arteriosa sistolica e diastolica.

4.6 Classificazione delle covariate

Oltre ai dati precedentemente indicati, altre variabili sono state utilizzate a scopo descrittivo o inferenziale. In particolare, i partecipanti sono stati stratificati per categorie di età (<45, 45-64 e ≥65 anni), sesso, razza (bianchi, neri, altro), reddito (PIR, proporzione al livello di povertà come definito dell'US Census Bureau), abitudine al fumo, stato glicemico (normoglicemia, pre-diabete o diabete mellito in base alla glicoemoglobina A1c [HbA1c] <5,7%, 5,7%-6,4% o ≥6,5%, rispettivamente), indice di massa corporea (BMI) (sottopeso, peso normale, sovrappeso o obeso in base a BMI <18,5, 18,5-25, 25-30 o ≥30, rispettivamente).

La PISA è stata derivata attraverso gli indici parodontali disponibili, come spiegato in letteratura [71]. Ulteriori parametri di interesse hanno incluso livelli sierici di marcatori infiammatori (proteina C-reattiva [CRP], ferritina, globuli bianchi [WBC]) e pannello lipidico.

4.7 Analisi statistica

L'obiettivo di questo studio è stato di testare l'associazione della parodontite con la sindrome metabolica. Gli obiettivi secondari erano testare quale combinazione di fattori di rischio di MetS si potesse associare più strettamente alla parodontite. La parodontite è stata la variabile dipendente.

Al fine di testare la nostra ipotesi in un contesto controllato, abbiamo adottato una tecnica utilizzata negli studi osservazionali che consente di avere stime di effetto migliori rispetto agli approcci standard (es. modelli multivariati) e consente di estendere

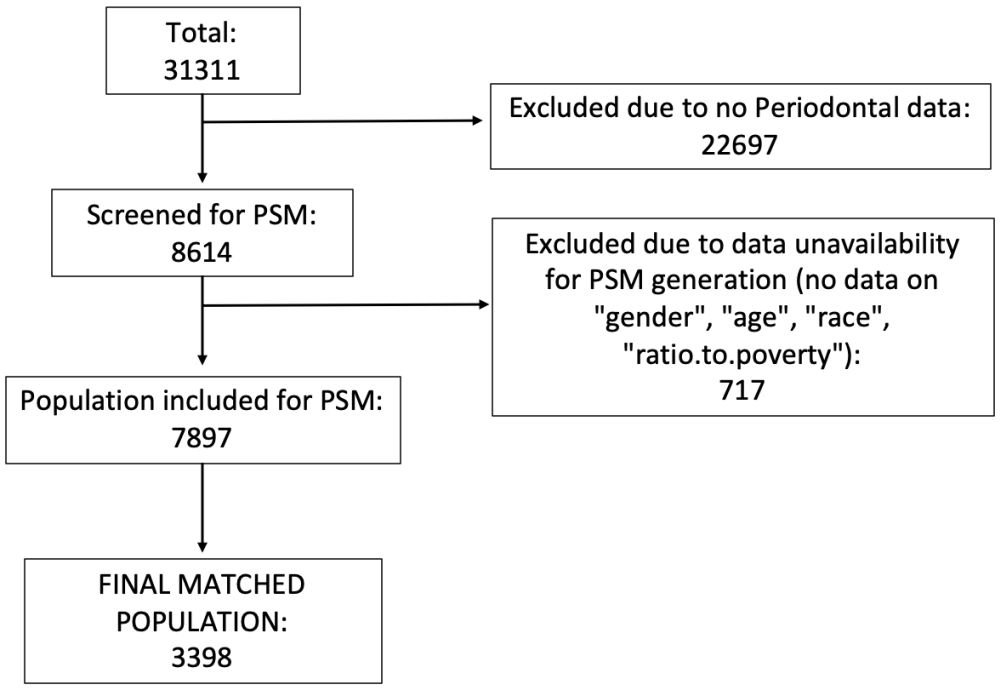
le stime ipotizzando vie di causa-effetto [72,73]. Questo approccio prende il nome di Propensity Score Matching (PSM) e consente di costruire un gruppo di controllo (esposti) scegliendo unità il più simili possibili nel gruppo test (non-esposti) sulla base di caratteristiche definite a priori. Nello specifico, per questo studio è stato applicato un confronto esatto 1:1 attraverso un modello additivo logistico generalizzato pesato per possibili fattori confondenti nell'associazione da esplorare (genere, età, reddito e razza) [74]. Poiché è stato raggiunto l'equilibrio tra i gruppi, questi fattori sono stati esclusi da ulteriori modelli di regressione a causa di un possibile eccesso di aggiustamento [75].
La forza dell'associazione tra parodontite/sanguinamento gengivale e MetS, e tra parodontite/sanguinamento gengivale e tutti le possibili combinazioni di fattori di rischio per MetS (n=31) è stata valutata attraverso un modello di regressione logistica. La regressione logistica multinomiale è stata invece usata per testare l'associazione tra strati di salute parodontale (sano, gengivite, parodontite stabile, parodontite instabile) e MetS e singoli fattori. Gli Odds Ratio (OR) e il 95% di intervallo di confidenza sono stati calcolati di conseguenza. Lo stato parodontale era la variabile dipendente.
Inoltre, due algoritmi di apprendimento automatico (Machine Learning, ML), Gradient Boosting Modeling (GBM) e Random Forest (RF), sono stati istruiti per verificare la capacità di prevedere la presenza di parodontite a partire dalla conoscenza dei fattori di MetS. La capacità di predizione degli algoritmi è stata testata attraverso l'analisi di sensibilità e specificità usando la tecnica AUC-ROC [76] . Gli algoritmi di apprendimento automatico sono stati addestrati come riportato in letteratura [76].
Le differenze nelle caratteristiche cliniche e demografiche sono state valutate con il test di Wilcoxon se continue e con χ^2 se categoriali. La correzione di Bonferroni è stata applicata come appropriato. I dati sono stati analizzati come registrati, senza imputazione per i dati mancanti. La significatività statistica è stata fissata a $p<0,05$. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando R (v4.1.2).

5 Risultati

5.1 Popolazione in studio (PSM)

Il database completo di NHANES III comprendeva un totale di 31311 partecipanti, di questi il 28% (n=8614) ha ricevuto una valutazione parodontale completa, ma l'8% è stato escluso perché presentava almeno un fattore di esclusione o non aveva informazioni per il processo di PSM. Un totale di 3398 pazienti con caratteristiche omogenee è stato selezionato dal PSM e sottoposto alle analisi del caso. In particolare, il gruppo di esposti ad almeno un fattore di MetS e quello di non esposti ad alcun fattore di MetS erano composti da 1699 individui ciascuno. Maggiori dettagli sulla riduzione del campione analizzato sono riportati in **Figura 1**.

Figura 1: Diagramma di riduzione della popolazione analizzata su cui è stato applicato il PSM



5.2 Caratteristiche della popolazione

I gruppi di esposti e non esposti erano appaiati 1:1 per genere (p=1.000), età (p=1.000) e razza (p=1.000), mentre erano omogenei per reddito (p=0.803), abitudine tabagica (p=0.159) e parodontite (p=0.91). Gli esposti mostravano valori di BMI, emoglobina glicata, PA sistolica e diastolica, parametri ematochimici, PISA, PPD e BoP più elevati

rispetto ai non esposti e presentavano una prevalenza di diabete e ipertensione maggiore rispetto al gruppo di confronto (**Tabella 1**). Gli esposti presentavano una prevalenza di gengivite (24.7%), e parodontite attiva (11.7%) maggiore rispetto ai non esposti e, per contro, condizioni di parodonto sano (51.7%) e parodontite stabile (11.9%) erano meno prevalenti. In accordo con ciò, PISA, PPD e BoP erano più alti nei pazienti esposti, ma non la CAL, che era uguale fra i gruppi analizzati (**Tabella 1**). Più della metà degli esposti mostrava circonferenza vita aumentata (55.4%) e bassi valori di HDL (50.4%), mentre ipertrigliceridemia (39.5%), ipertensione (38.3%) ed iperglicemia a digiuno (31.3%) interessavano oltre 3 pazienti su 10.

Tabella 1. Caratteristiche clinico-demografiche del campione analizzato

	level	**Non exposed to ANY MetS factor**	**Exposed to MetS factors**	p
n		1699	1699	
Gender (%)	Female	833 (49.0)	833 (49.0)	1
	Male	866 (51.0)	866 (51.0)	
Age (%)	<45yr	1153 (67.9)	1153 (67.9)	1
	45-65yr	386 (22.7)	386 (22.7)	
	>65yr	160 (9.4)	160 (9.4)	
Race (%)	Black	471 (27.7)	471 (27.7)	1
	Other	25 (1.5)	25 (1.5)	
	White	1203 (70.8)	1203 (70.8)	
Poverty level (mean (SD))		2.79 (1.82)	2.81 (1.91)	0.803
Smoking (%)	Yes	868 (51.1)	910 (53.6)	0.159
Number of MetS factors (%)	0	1699 (100.0)	0 (0.0)	<0.001
	1	0 (0.0)	692 (40.7)	
	2	0 (0.0)	543 (32.0)	
	3	0 (0.0)	280 (16.5)	
	4	0 (0.0)	149 (8.8)	
	5	0 (0.0)	35 (2.1)	
Increased waist (%)		0 (0.0)	913 (55.4)	<0.001
Hypertriglyceridemia (%)		0 (0.0)	496 (39.5)	<0.001
Low HDL-C (%)		0 (0.0)	818 (50.4)	<0.001
Hypertension (%)		0 (0.0)	650 (38.3)	<0.001
Hyperglicemia (%)		0 (0.0)	512 (31.3)	<0.001
BMI (%)	Underweight	66 (3.9)	11 (0.6)	<0.001
	Normal	1132 (66.8)	411 (24.2)	
	Overweight	459 (27.1)	668 (39.3)	
	Obese	38 (2.2)	608 (35.8)	
HbA1c (%)	Normal	1460 (91.0)	1285 (77.5)	<0.001
	Pre-diabetes	141 (8.8)	258 (15.6)	
	Diabetes	3 (0.2)	116 (7.0)	
Periodontitis (%)		358 (21.1)	400 (23.5)	0.091
Periodontal status (%)	Healthy	999 (58.8)	879 (51.7)	<0.001
	Gingivitis	342 (20.1)	420 (24.7)	

	Stable periodontitis	205 (12.1)	202 (11.9)	
	Active periodontitis	153 (9.0)	198 (11.7)	
PISA (mm^2) (mean (SD))		36.82 (72.68)	46.10 (76.81)	<0.001
PPD (mm) (mean (SD))		2.40 (0.48)	2.45 (0.49)	0.002
CAL (mm) (mean (SD))		2.04 (0.92)	2.07 (0.86)	0.262
BoP (mean (SD))		8.46 (13.47)	10.95 (15.41)	<0.001
Gingivitis (%)	No (BoP = 0)	810 (47.7)	702 (41.3)	<0.001
	Localized (BoP<10%)	394 (23.2)	379 (22.3)	
	Generalized (BoP >10%)	495 (29.1)	618 (36.4)	
WBC ($x10^9$/L) (mean (SD))		6.74 (2.00)	7.22 (2.28)	<0.001
Lymphocytes ($x10^9$/L) (mean (SD))		2.17 (0.65)	2.31 (0.91)	<0.001
Monocytes ($x10^9$/L) (mean (SD))		0.39 (0.20)	0.42 (0.23)	<0.001
Granulocytes ($x10^9$/L) (mean (SD))		4.18 (1.65)	4.49 (1.80)	<0.001
RBC ($x10^6$ cells/mcL) (mean (SD))		4.60 (0.47)	4.70 (0.49)	<0.001
Hb (g/dL) (mean (SD))		13.91 (1.43)	14.08 (1.52)	0.001
HCT (%) (mean (SD))		41.45 (4.00)	41.80 (4.17)	0.015
PLT ($x10^9$/L) (mean (SD))		268.04 (64.27)	276.89 (75.99)	<0.001
Ferritin (ng/dL) (mean (SD))		117.83 (128.21)	146.75 (166.37)	<0.001
LDL (mg/dL) (mean (SD))		119.78 (35.99)	131.12 (36.40)	<0.001
HDL (mg/dL) (mean (SD))		60.64 (14.39)	47.16 (15.28)	<0.001
CRP (mg/L) (mean (SD))		0.31 (0.52)	0.45 (0.81)	<0.001
Glucose (mg/dL) (mean (SD))		87.09 (7.37)	99.97 (34.77)	<0.001
Cholesterol (mg/dL) (mean (SD))		202.10 (39.48)	212.21 (44.66)	<0.001
Tryglicerides (mg/dL) (mean (SD))		81.06 (27.41)	163.62 (165.06)	<0.001
HbA1c % (mean (SD))		5.17 (0.44)	5.52 (1.05)	<0.001
Diabetes diagnosis (%)		4 (0.2)	116 (6.8)	<0.001
Insulin (%)		0 (NaN)	26 (25.0)	NaN
Oral Hypoglycemic drugs (%)		0 (NaN)	50 (48.1)	NaN
SBP (mmHg) (mean (SD))		116.11 (13.27)	125.34 (18.16)	<0.001
DBP (mmHg) (mean (SD))		71.93 (8.10)	77.65 (10.54)	<0.001
HT diagnosis (%)		0 (0.0)	550 (32.5)	<0.001
HT drugs (%)		0 (NaN)	238 (68.8)	NaN

Acronimi

HDL-C: High Density Lipoproteins Cholesterol; BMI: Body Mass Index; HbA1c: Glycated Hemoglobin; PISA: Periodontal Inflamed Surface Area; PPD: Periodontal Pocket Depth; CAL: Clinical Attachment Loss; BoP: Bleeding on Probing; WBC: White

Blood Cells; RBC: Red Blood Cells; Hb: Hemoglobin; HCT: Hematocrit; PLT: Platelets; LDL: Low Density Lipoproteins; HDL: High Density Lipoproteins; CRP: C-Reactive Protein; SBP: Systolic Blood Pressure; DBP: Diastolic Blood Pressure; HT: hypertension.

5.3 Associazione tra parodontite, sanguinamento gengivale e diagnosi di MetS

Gli individui che avevano una diagnosi di MetS mostravano un rischio aumentato del 26% di avere parodontite (OR 1.26; 95%C.I. 1.00-1.56; p=0.048) e del 75% di avere sanguinamento gengivale (OR 1.75; 95%C.I. 1.43-2.13; p<0.001). Analizzando singolarmente i componenti di MetS, avere solo iperglicemia a digiuno era associato ad un aumento del rischio del 69% (OR 1.69; 95%C.I. 1.37-2.08; p<0.001) ed avere solo ipertensione si associava ad un rischio del 29% più alto di parodontite (OR 1.29; 95%C.I. 1.06-1.57; p=0.012). Anche l'ipertrigliceridemia si associava ad una probabilità di parodontite del 27% più elevata rispetto a non avere tale condizione (OR 1.27, 95% C.I. 1.00-1.60; p=0.047). Invece, l'elevata circonferenza vita (OR 0.98; 95%C.I. 0.82-1.18; p=0.840), così come bassi valori di HDL (OR 0.98; 95%C.I. 0.81-1.19; p=0.831), non erano associati ad aumento del rischio. Diversamente dalla parodontite, tutti i fattori di MetS si associavano ad un rischio aumentato di sanguinamento gengivale. Nello specifico, l'iperglicemia a digiuno era associata ad un aumento del rischio del 74% (OR 1.74; 95% C.I. 1.44-2.11; p<0.001), l'ipertrigliceridemia del 56% (OR 1.56; 95% C.I. 1.27-1.92; p<0.001), la circonferenza vita aumentata del 45% (OR 1.45; 95% C.I. 1.24-1.71; p<0.001), l'ipertensione arteriosa del 39% (OR 1.39; 95% C.I. 1.16-1.66; p<0.001) e bassi livelli di colesterolo HDL del 36% (OR 1.36; 95% C.I. 1.15-1.60; p<0.001).

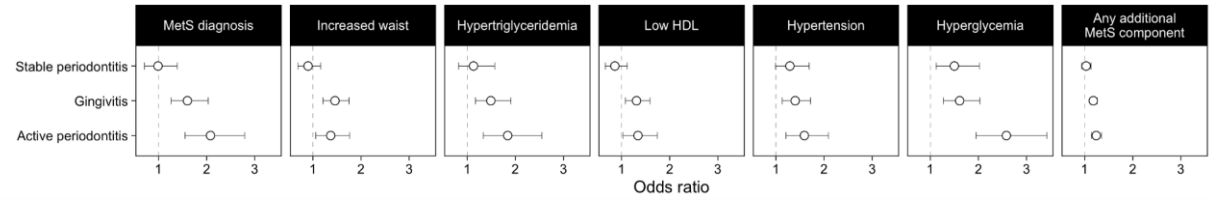
Per ogni incremento unitario di fattori di rischio per MetS si osservava un aumento del rischio di parodontite del 7% (OR 1.07; 95% C.I. 1.00-1.14; p=0.046), ed un aumento del rischio di sanguinamento gengivale del 19% (OR 1.19; 95% C.I. 1.13-1.26; p<0.001).

5.4 Associazione fra strati di salute parodontale e MetS

La regressione logistica multinomiale evidenziava che avere un qualunque componente di MetS si associava ad un rischio aumentato di avere forme attive di malattia parodontale – ovvero gengivite o parodontite attiva (**Figura 2**). È interessante notare che, invece, l'iperglicemia era associata anche ad un incremento di rischio di parodontite stabile del 50% (OR 1.50; 95% C.I 1.12-2.02; p=0.007). Inoltre, la diagnosi di MetS si associava ad un rischio doppio di avere parodontite attiva (OR 2.08; 95% C.I. 1.55-2.79; p<0.001) e del 60% maggiore di avere gengivite (OR 1.60; 95% C.I. 1.26-2.03; p<0.001) (**Figura 2**).

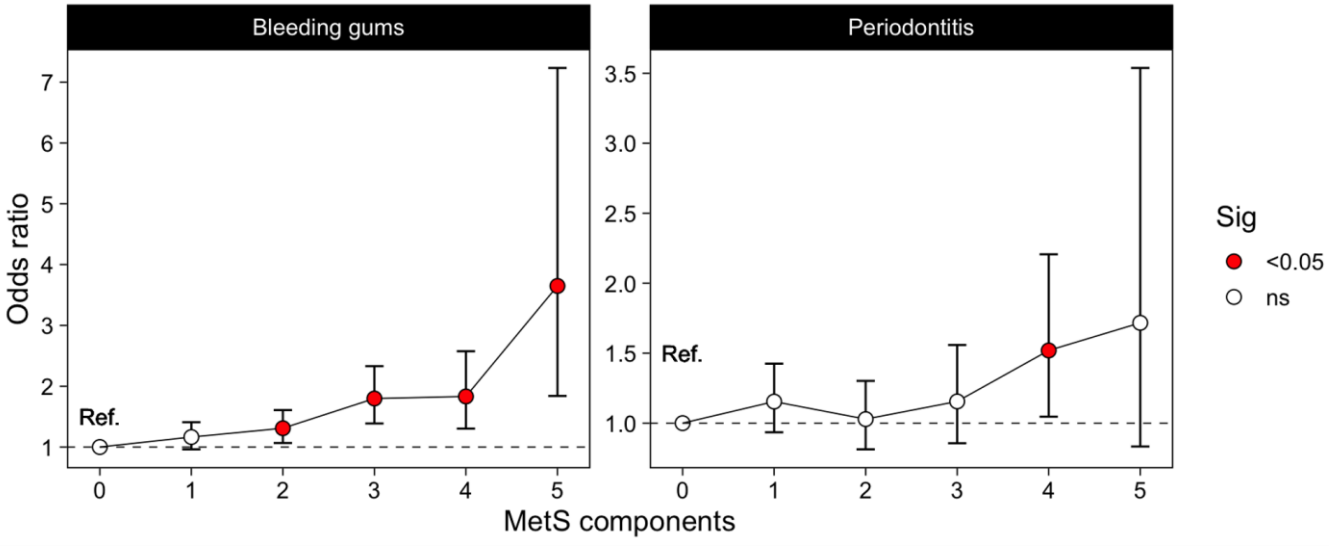
La maggiore associazione con la parodontite attiva era descritta dalla presenza dell'iperglicemia, che raddoppiava la probabilità di avere questa forma di malattia parodontale (OR 2.58; 2.24; 95% C.I. 1.95-3.42; p<0.001), seguita dall'ipertrigliceridemia (OR 1.84; 95% C.I 1.33-2.55; p<0.001).

Figura 2. Forest plot relativo ai risultati della regressione logistica multinomiale. Il parodonto sano è indicato come referenza.



Ogni componente aggiuntiva di MetS incrementava il rischio di gengivite del 18% (OR 1.18; 95% C.I. 1.11-1.26; p<0.001) e di parodontite attiva del 24% (OR 1.24; 95% C.I. 1.14-1.35; p<0.001) (**Figura 3**). Inoltre, avere almeno 2 componenti di MetS aumentava il rischio di sanguinamento gengivale del 31% rispetto a non avere alcun fattore di MetS (OR 1.31; 95% C.I. 1.07-1.61; p=0.010) e avere tutti i fattori di MetS incrementava lo stesso rischio di oltre tre volte (OR 3.65; 95% C.I. 1.84-7.23; p<0.001) (**Figura 3**). La stessa analisi eseguita sulla parodontite non garantiva la stessa forza di associazione, evidenziando che l'unica associazione significativa con questa condizione si verificava in presenza di 4 componenti di MetS (OR 1.52; 95% C.I. 1.05-2.21; p=0.028) (**Figura 3**).

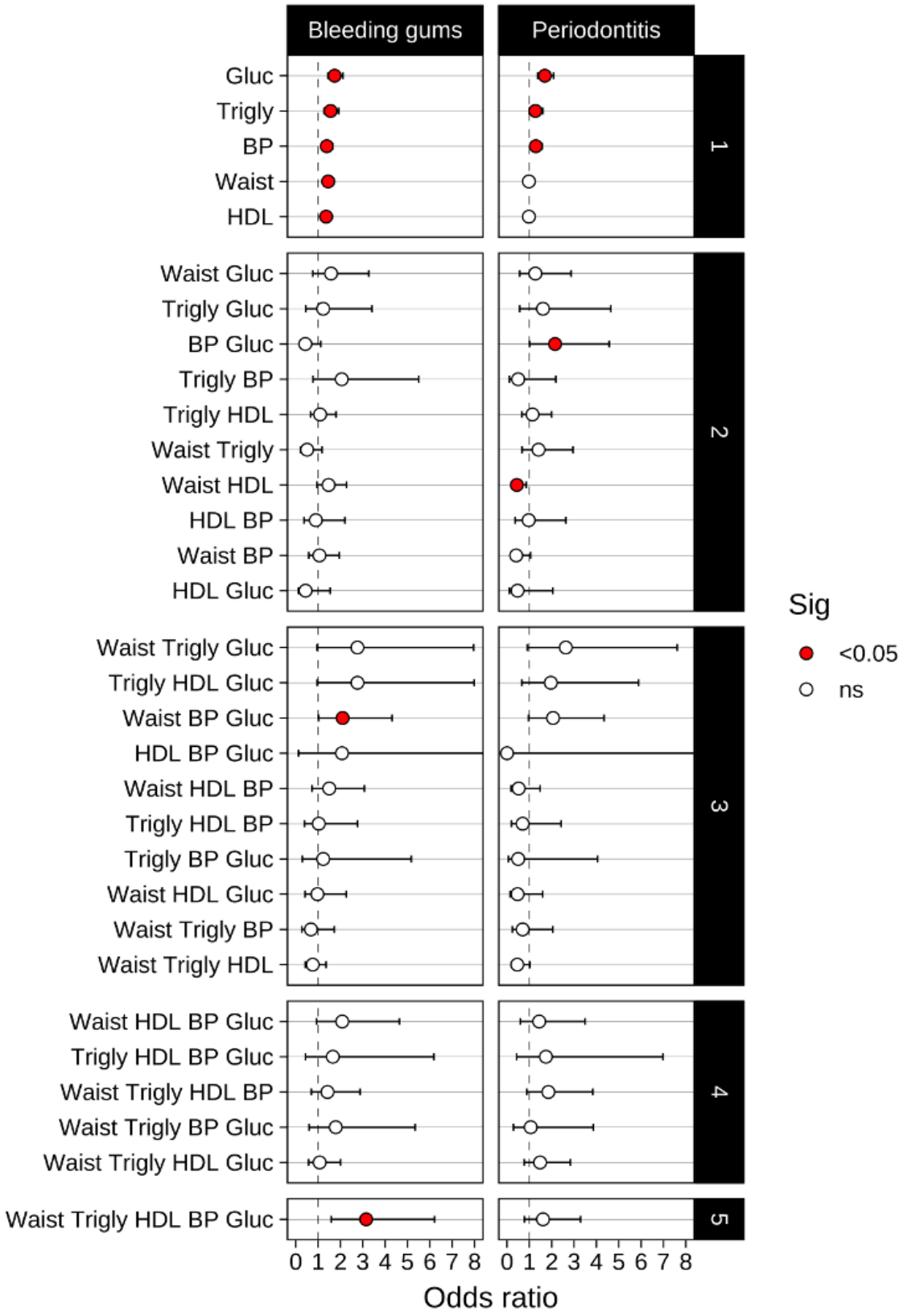
Figura 3. Associazione (OR e relativi 95% C.I.) fra numero di componenti di MetS e sanguinamento gengivale o parodontite. In rosso le differenze statisticamente significative rispetto a non avere alcun fattore di MetS.



5.5 Analisi delle combinazioni di fattori di MetS e parodontite

L'analisi delle combinazioni di MetS mostrava che i singoli componenti erano sempre stati associati ad un aumento della probabilità di avere sanguinamento gengivale, mentre erano i singoli fattori iperglicemia, ipertrigliceridemia e ipertensione ad associarsi con la parodontite (**Figura 4**). Non esisteva, invece, nessuna combinazione di due componenti di MetS che si associavano con il sanguinamento gengivale, mentre la combinazione di ipertensione ed iperglicemia si associava ad un rischio doppio di avere parodontite (OR 2.15; 95%C.I. 1.01-4.57; p=0,047). In aggiunta, la combinazione di colesterolo HDL sotto il valore ottimale e la circonferenza vita aumentata si associava ad una riduzione del rischio di parodontite del 56% (OR 0.44; 95%C.I. 0.23-0.86; p=0,016) (**Figura 4**). Analizzando la sussistenza di tre fattori contemporanei di MetS, risultava significativa solo l'associazione tra circonferenza vita aumentata, ipertensione, iperglicemia e sanguinamento gengivale (OR 2.10; 95%C.I. 1.02-4.31; p=0,043). Infine, avere quattro fattori di rischio per MetS non si associava né con sanguinamento gengivale né con parodontite; invece, avere tutti i cinque componenti della MetS si associava ad un aumento del rischio di sanguinamento gengivale di oltre tre volte (OR 3.15; 95% C.I. 1.59-6.21; p<0.001), ma la stessa condizione non incrementava il rischio per la parodontite (**Figura 4**).

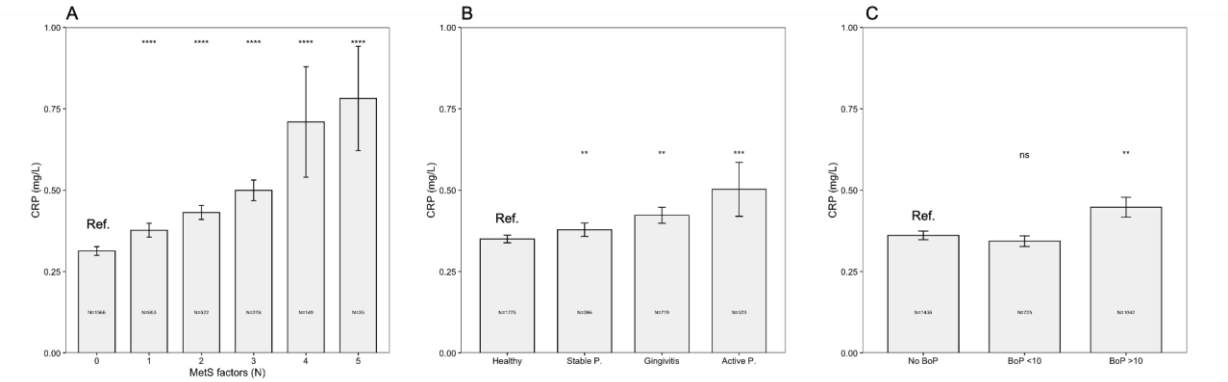
Figura 4. Analisi dell'associazione tra tutte le combinazioni di componenti di MetS e sanguinamento gengivale/parodontite (colonne) stratificate in base al numero dei fattori (righe). In rosso le associazioni statisticamente significative



5.6 Indici di flogosi sistemica

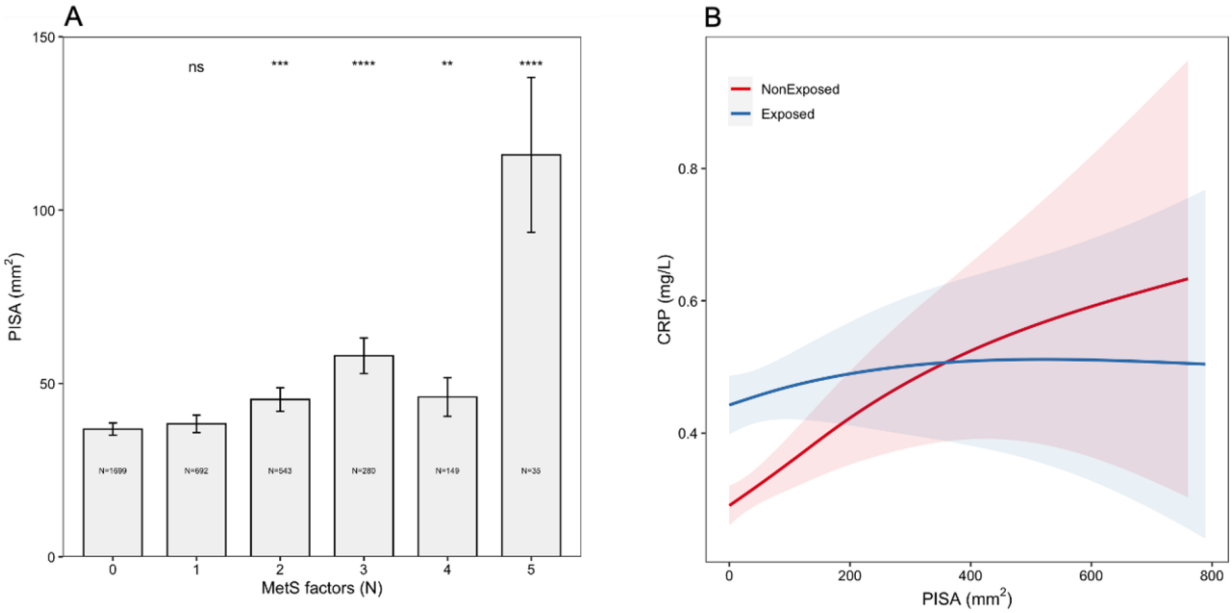
La proteina C reattiva (CRP) aumentava linearmente con l'aumentare del numero dei componenti di MetS (**Figura 5A**) e con l'aumentare della compromissione della salute parodontale (**Figura 5B**). Lo stato di sanguinamento gengivale generalizzato era associato a valori di CRP significativamente più elevati, rispetto ad avere gengive non sanguinanti o con sanguinamento ridotto (**Figura 5C**).

Figura 5. Analisi della CRP stratificata per numero dei componenti di MetS (pannello A), per strati di salute parodontale (pannello B) e per condizioni di sanguinamento gengivale (pannello C). Wilcoxon aggiustato per comparazioni multiple con Bonferroni. Ns: non significativo; * p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001



Coerentemente con la CRP, la superficie di parodonto infiammato (PISA) cresceva all'aumentare del numero dei fattori di MetS (**Figura 6°**), e l'analisi non lineare *Loess* fra PISA e CRP, stratificata fra esposti e non esposti, indicava che i non esposti mostravano, a parità di flogosi parodontale, una quantità di CRP inferiore rispetto agli esposti. La significatività si perdeva quando la superficie parodontale infiammata superava i 200 mm^2 (**Figura 6B**).

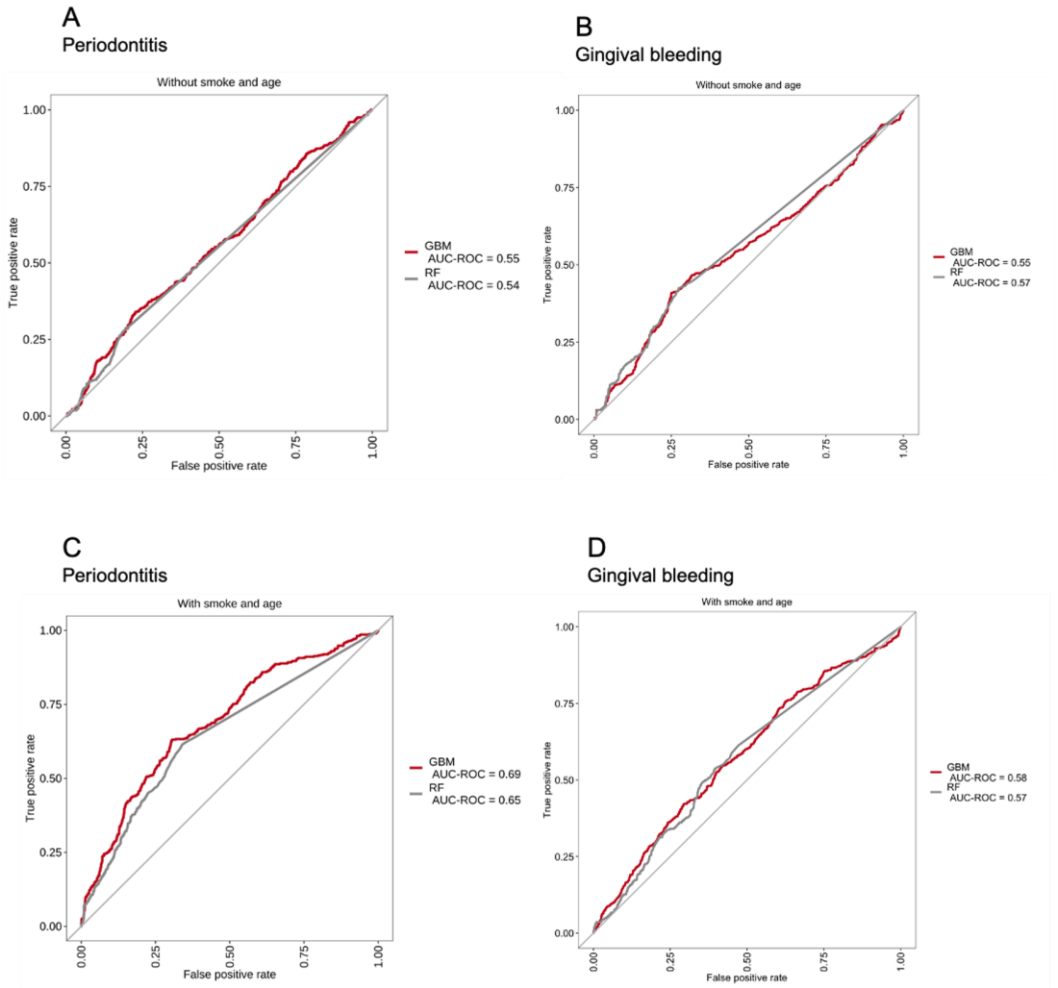
Figura 6. Valutazione fra il numero di fattori di MetS e superficie parodontale infiammata (PISA) (pannello A). Relazione non lineare fra PISA e CRP stratificata fra esposti e non esposti (pannello B). Wilcoxon aggiustato per comparazioni multiple con Bonferroni. Ns: non significativo; * p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001



5.7 Algoritmi di apprendimento automatico (ML)

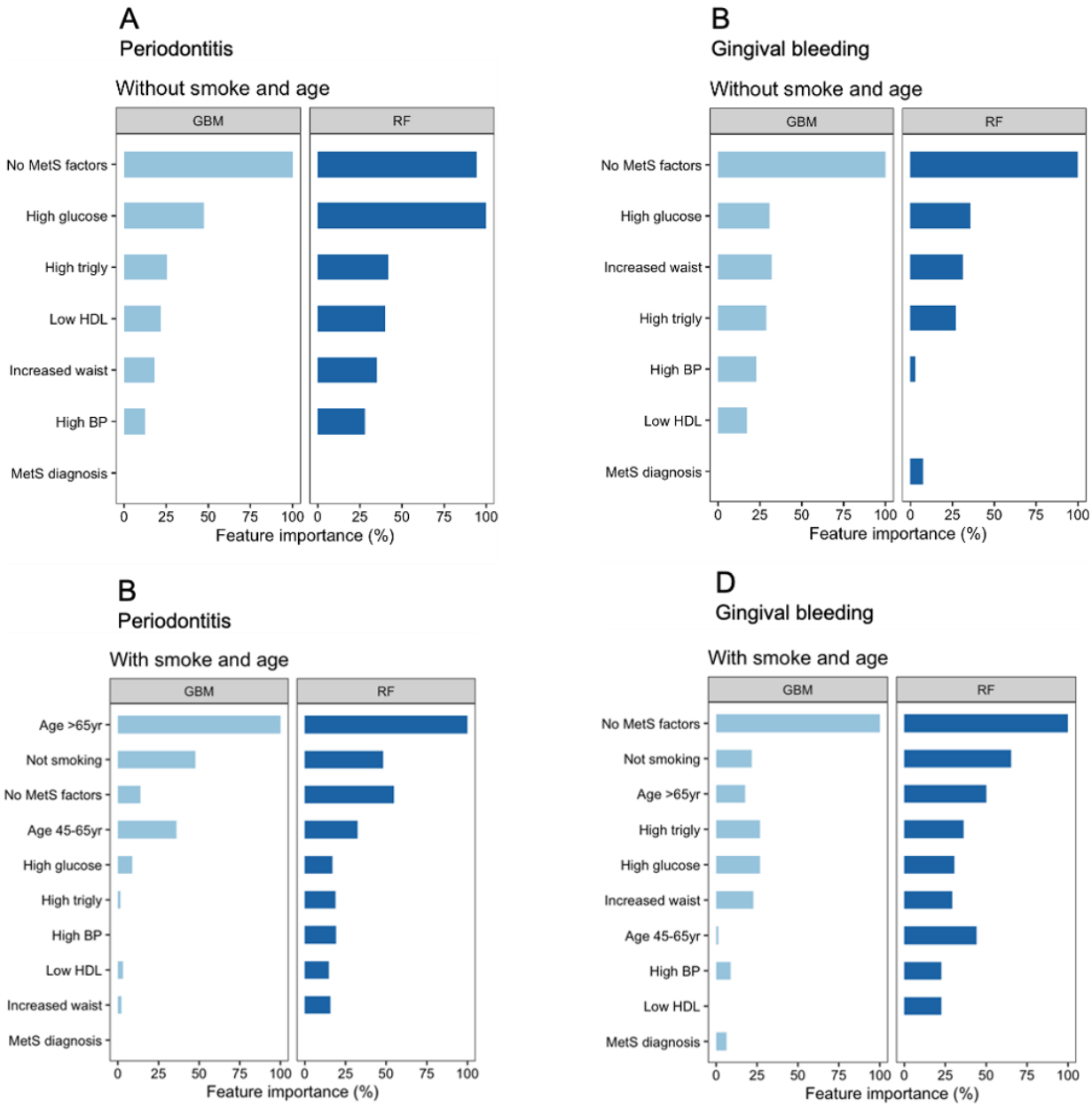
Gli algoritmi di ML erano in grado di predire moderatamente, a partire dai fattori di MetS, lo stato di parodontite (AUCROC GBM: 0.55; AUCROC RF: 0.54, **Figura 7A**) o quello di sanguinamento gengivale (AUCROC GBM: 0.55; AUCROC RF: 0.57, **Figura 7B**). La capacità nel predire la parodontite migliorava quando erano aggiunte informazioni circa l'età e l'abitudine al fumo dell'individuo (AUCROC GBM: 0.69; AUCROC RF: 0.65, **Figura 7C**), ma restava invariata allorquando gli algoritmi predicevano il sanguinamento gengivale (AUCROC GBM: 0.58; AUCROC RF: 0.57, **Figura 7D**). L'algoritmo che meglio prevedeva la parodontite era il GBM, utilizzando informazioni circa fattori di MetS, fumo ed età, con una accuratezza 69% (sensibilità: 0.53; specificità: 0.77).

Figura 7. Curve AUCROC del potere predittivo di GBM (rosso) e RF (grigio). Potere predittivo del ML per discriminare la parodontite utilizzando solo i fattori di MetS (pannello A) o con l'aggiunta di fumo ed età (pannello C). Potere predittivo del ML per discriminare il sanguinamento gengivale utilizzando solo i fattori di MetS (pannello B) o con l'aggiunta di fumo ed età (pannello D).



In termini di importanza relativa delle variabili nell'istruire gli algoritmi, sia per identificare la parodontite che per identificare il sanguinamento gengivale, il contributo maggiore nell'apprendimento era garantito dal conoscere se si avesse almeno un fattore di MetS e se si avesse iperglicemia (**Figura 8A e B**), mentre il fumo e l'età erano i maggiori contribuenti nell'apprendimento degli algoritmi quando erano usati come variabili per l'apprendimento (**Figura 8C e D**).

Figura 8. Grafico a barre dell'importanza relativa delle singole variabili nel processo di apprendimento degli algoritmi per identificare parodontite (pannelli A e C) e sanguinamento gengivale (pannelli B e D).



6 Discussione

I risultati di questo lavoro indicavano che la MetS, identificata con diagnosi di almeno tre su cinque componenti, si associava sia alla parodontite che al sanguinamento gengivale, identificato con BoP≥10%. Inoltre, guardando alla stadiazione EFP/AAP, la MetS si associava a forme di malattia parodontale attive, come la gengivite e la parodontite attiva, ma non alla parodontite stabile. Lo stato di sanguinamnto gengivale era più sensibile della parodontite nell'associazione con i singoli fattori di MetS. Infatti, il sanguinamento gengivale si associava a tutti i singoli componenti di MetS; invece, alla parodontite si associavano esclusivamente l'ipertrigliceridemia, l'iperglicemia e l'ipertensione arteriosa. In termini di combinazioni fra fattori di MetS e rischio di outcome, è interessante notare che avere ipertensione e iperglicemia si associava ad un rischio doppio di parodontite, ma una circonferenza vita elevata e bassi valori di HDL erano protettivi rispetto a questa associazione. La combinazione che sembrava peggiorare di più il rischio di avere sanguinamento gengivale, triplicandolo, era quella in cui sussistevano tutti i cinque fattori di MetS rispetto a chi non ne aveva alcuno. Inoltre, i marcatori di flogosi sistemica (CRP) aumentavano coerentemente all'aumentare del numero dei fattori di MetS e alla superficie parodontale infiammata (PISA).

Questi risultati sono in linea con le recenti evidenze di letteratura ed espandono le attuali conoscenze in materia, che indicano come pazienti affetti da MetS hanno un'elevata probabilità di avere parodontite. La letteratura finora disponibile, però, non prendeva in esame l'associazione di MetS con il sanguinamento gengivale o con la definizione di salute parodontale secondo le linee guida AAP/EFP [77,78] . Questo aspetto, invece, è particolarmente importante, perché il sanguinamento gengivale, rispetto alla parodontite, identifica meglio lo stato infiammatorio sistemico dell'individuo [79] . È stato dimostrato che la BoP si associa meglio di altri indici parodontali al carico infiammatorio sistemico, valutato come CRP e come numero di globuli bianchi circolanti [71].

Tra le numerose ipotesi che sono state formulate riguardo l'associazione fra MetS e parodontite, la più accreditata riguarda l'aspetto legato all'infiammazione cronica di basso grado, che, si ipotizza, possa sostenere ed aggravare lo stato infiammatorio parodontale [80,81]. In aggiunta, nuove evidenze, anche meta-analitiche, indicano come il fenomeno dell'immunomodulazione sia sesso-specifico. In particolare, è emerso che il genere femminile possa essere più suscettibile all'associazione tra MetS e

parodontite [80,82]. Infatti, un piccolo e recente studio di intervento sull'uomo ha dimostrato, in una coorte di individui con diagnosi di MetS, che l'esposizione ad un regime alimentare ristretto a 300-500 kcal quotidiane per due settimane si possa associare a diminuzione dell'indice di sanguinamento gengivale (BoP) nel sesso femminile, ma non in quello maschile [83] . Queste evidenze aprono le porte a nuovi orizzonti di ricerca basata sul genere e sulla parodontologia di precisione. Dal punto di vista meccanicistico, pur restando ampiamente da chiarire gli eventi molecolari sottostanti l'associazione, emergono linee di indirizzo da alcuni studi che si sono concentrati sulla valutazione di marcatori di infiammazione sistemica (CRP) e mediatori di flogosi in individui con MetS. In particolare, l'iperglicemia si associa sia all'aumento del danno parodontale che all'incremento di valori sierici di CRP [84,85]. Inoltre, Li e collaboratori hanno dimostrato, in un modello murino, che la parodontite viene aggravata dalla MetS e che l'attivazione osteoclastica è mediata da interleuchina-6 e interleuchina-1 [86]. Sempre gli stessi autori hanno dimostrato che l'ipertrigliceridemia ha un ruolo importante nella parodontite. In particolare, alte concentrazioni di acidi grassi (acido palmitico) amplificano l'espressione di interleuchina-1-alfa, interleuchina-1-beta, CXCL10, CD14, CD86, CSFs-2, MCP-1, TLRs e TNF-α. A supporto di questo, studi in vitro condotti su macrofagi hanno dimostrato una sovra regolazione dei CD36 dopo il trattamento con lipopolisaccaride ed acido palmitico rispetto ai macrofagi trattati con solo lipopolisaccaride o solo acido palmitico [87]. La parodontite e la MetS si associano, in maniera indipendente, ad elevati livelli di CD36, e quando la MetS e la parodontite si sviluppano contemporaneamente, l'effetto è additivo e l'espressione di CD36 nei tessuti parodontali è positivamente correlata con l'osteoclastogenesi [87].

In sintesi, studi sull'uomo e modelli animali dimostrano un'associazione tra queste condizioni, con la MetS che può alterare il microbioma e potenziare gli effetti deleteri della parodontite. È infatti di recente acquisizione l'evidenza che la MetS comporti una modificazione del microbiota intestinale [88]. Questo aspetto necessita comunque di essere interpretato con cautela, perché, come viene spiegato da Dadke e collaboratori, non è chiaro se queste modificazioni nel patrimonio microbiologico intestinale siano la causa o l'effetto della MetS [88]. Oltre a questo, per quanto concerne l'ambiente buccale, anche se vengono riportate alcune differenze nel microbioma orale fra soggetti esposti e non esposti a MetS, va tenuto presente che spesso questi studi possono essere limitati da aspetti metodologici [89,90].

Non sorprendentemente, il nostro studio riporta una forte associazione fra iperglicemia e parodontite. Infatti, tra i fattori di MetS maggiormente studiati in campo parodontale vi sono l'iperglicemia ed il diabete. È noto che la parodontite rappresenta la sesta complicanza più frequente del diabete [57] e, se, da un lato, gli individui con iperglicemia sviluppano molto frequentemente parodontite, dall'altro soggetti con parodontite sviluppano più frequentemente diabete incidente [56,91]. La relazione bidirezionale tra le due condizioni è molto visibile focalizzandosi sui numerosi studi di intervento condotti sull'uomo, che hanno dimostrato che il controllo della flogosi parodontale causa un miglioramento del controllo glicemico [92], mentre, in parallelo, interventi volti a migliorare l'iperglicemia generano un miglioramento della salute del parodonto [93]. Queste condizioni sono strettamente correlate per mezzo di meccanismi infiammatori condivisi, in cui, fra gli attori principali, possono essere riconosciuti i prodotti avanzati della glicosilazione (AGEs) ed i relativi recettori (RAGE), che hanno un dimostrato ruolo proflogistico e di attivazione osteoclastica [94].

Come evidenziano i nostri risultati, l'iperglicemia aumenta il rischio di parodontite del 69% e l'aggiunta anche dell'ipertensione fa raddoppiare questo rischio. A supporto di ciò, sono crescenti le evidenze che supportano un'associazione indipendente tra parodontite ed ipertensione arteriosa [59] o scarso controllo pressorio [95]. In aggiunta, è stato recentemente dimostrato che gengivite e malattia parodontale attiva si associano a pressione elevata o non ben controllata [71]. Anche in questo caso si suppone che meccanismi di infiammazione cronica di basso grado possano essere alla base di questa associazione [96]. Con il beneficio della scarsità di evidenze solide, è comunque interessante notare che, come per il diabete, il trattamento parodontale intensivo migliori il controllo pressorio in individui in condizione di pre-ipertensione [97] o in trattamento antipertensivo [58].

In aggiunta, occorre discutere anche il risultato relativo all' aspetto protettivo legato alla combinazione di bassi valori di colesterolo HDL e circonferenza vita aumentata. Infatti, sebbene per la circonferenza vita aumentata non esistano evidenze che indichino un ruolo protettivo dal punto di vista infiammatorio, cardiovascolare o parodontale, è invece recente il dibattito rispetto al ruolo potenzialmente proflogistico e pro-ateromasico legato ad alti valori di colesterolo HDL (>80 mg/dL) [98,99]. Infatti, sebbene alti valori di colesterolo HDL siano stati comunemente associati a riduzione del rischio cardiovascolare, evidenze supportano l'ipotesi che valori molto elevati si possano associare ad un aumento di mortalità, alla stregua del colesterolo LDL [100]. I

meccanismi molecolari ipotizzati alla base di questa osservazione sono attualmente poco chiari e necessitano di ulteriori specifiche indagini [99].

Infine, l'applicazione di algoritmi di apprendimento automatico, quali il GBM ed il RF, ha consentito di definire, con modesta approssimazione, lo stato parodontale a partire dalla conoscenza dei fattori di rischio di MetS. Questa considerazione è particolarmente rilevante se si pensa che possono essere sviluppati strumenti di stadiazione del rischio parodontale individuale, inserendo fra le variabili da considerare anche condizioni sistemiche, come quelle definite dalla MetS.

Questo studio ha dei limiti che devono essere discussi. La popolazione analizzata appartiene ad un contesto non europeo; un certo grado di sottostima della parodontite dovrebbe essere considerato, dal momento che NHANES utilizza un metodo di rilevamento a due siti per dente, investigati su un quadrante mandibolare ed uno mascellare; le informazioni circa l'uso di ipoglicemizzanti, antipertensivi e l'abitudine al fumo sono basate su informazioni autoriferite. Inoltre, va considerato che alcune variabili come vitamina D, calcio sierico ed urinario, accesso alle cure odontoiatriche non sono state valutate e potrebbero essere rilevanti ai fini delle stime [101].

Questo studio però ha anche dei punti di forza che devono essere tenuti in considerazione. Infatti, è stata utilizzata una coorte molto numerosa, multietnica, uniformemente appaiata attraverso l'ausilio di un robusto metodo di allocazione che ha tenuto conto dei maggiori confondenti; sono state impiegate tecniche statistiche rigorose che prevedevano l'applicazione di correzione per le stime calcolate; è stata impiegata una tecnica innovativa come quella dell'apprendimento automatico per valutare il potere predittivo delle variabili.

7 Conclusione

In conclusione, questo studio trasversale *nested* con gruppi appaiati conferma un certo grado di associazione fra MetS e malattia parodontale ed aggiunge alla letteratura disponibile che la MetS è indipendentemente associata al sanguinamento gengivale, che caratterizza la malattia parodontale attiva. Studi meccanicistici e d'intervento sono necessari per confermare queste osservazioni e trasferirle in contesti clinici.

8 Bibliografia

1. Okamoto, H., Yoneyama, T., Lindhe, J., Haffajee, A. & Socransky, S. Methods of evaluating periodontal disease data in epidemiological research. *J Clin Periodontol* **15**, 430–439 (1988).
2. Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* **38**, 135–187 (2005).
3. Palmer, R. M., Wilson, R. F., Hasan, A. S. & Scott, D. A. Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *J Clin Periodontol* **32 Suppl 6**, 180–195 (2005).
4. Tonetti, M. S., Greenwell, H. & Kornman, K. S. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol* **89 Suppl 1**, S159–S172 (2018).
5. Papapanou, P. N. *et al.* Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol* **89 Suppl 1**, S173–S182 (2018).
6. Huang, S. *et al.* Microbiota-based Signature of Gingivitis Treatments: A Randomized Study. *Scientific Reports* **6**, 1–9 (2016).
7. Moonen, C. G. J. *et al.* T cell proliferation is induced by chronically tlr2-stimulated gingival fibroblasts or monocytes. *International Journal of Molecular Sciences* **20**, (2019).
8. Magrin, G. L., Strauss, F. J., Benfatti, C. A. M., Maia, L. C. & Gruber, R. Effects of Short-Chain Fatty Acids on Human Oral Epithelial Cells and the Potential Impact on Periodontal Disease: A Systematic Review of In Vitro Studies. *International Journal of Molecular Sciences* **21**, 1–19 (2020).

9. Kelder, C., Hogervorst, J. M. A., Wismeijer, D. & Kleverlaan, C. J. Burst , Short , and Sustained Vitamin D 3 Applications Differentially Affect Osteogenic Differentiation of Human Adipose Stem Cells. 1–17.

10. Kelder, C., Kleverlaan, C. J., Gilijamse, M., Bakker, A. D. & de Vries, T. J. Cells derived from human long bone appear more differentiated and more actively stimulate osteoclastogenesis compared to alveolar bone-derived cells. *International Journal of Molecular Sciences* **21**, 1–17 (2020).

11. Ascone, G. *et al.* Increase in the Number of Bone Marrow Osteoclast Precursors at Different Skeletal Sites, Particularly in Long Bone and Jaw Marrow in Mice Lacking IL-1RA. *Int J Mol Sci* **21**, 1–16 (2020).

12. Khouly, I. *et al.* Molecular Sciences The Role of DNA Methylation and Histone Modification in Periodontal Disease: A Systematic Review. doi:10.3390/ijms21176217.

13. Aquino-Martinez, R., Khosla, S., Farr, J. N. & Monroe, D. G. Periodontal Disease and Senescent Cells: New Players for an Old Oral Health Problem? *Int J Mol Sci* **21**, 1–22 (2020).

14. De, G. *et al.* Imaging Microstructural Damage and Alveolar Bone Loss in Rats Systemically Exposed to Methylmercury: First Experimental Evidence. (2011) doi:10.1007/s12011-020-02492-2/Published.

15. Preianò, M., Savino, R., Villella, C., Pelaia, C. & Terracciano, R. Gingival Crevicular Fluid Peptidome Profiling in Healthy and in Periodontal Diseases. *Int J Mol Sci* **21**, 1–29 (2020).

16. Han, P., Bartold, P. M., Salomon, C. & Ivanovski, S. Salivary Small Extracellular Vesicles Associated miRNAs in Periodontal Status-A Pilot Study. *Int J Mol Sci* **21**, (2020).

17. Asa'ad, F., Garaicoa-Pazmiño, C., Dahlin, C. & Larsson, L. Expression of MicroRNAs in Periodontal and Peri-Implant Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci* **21**, 1–14 (2020).

18. G. Caton, J. *et al.* A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol* **45 Suppl 20**, S1–S8 (2018).

19. Chapple, I. L. C. *et al.* Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol* **89 Suppl 1**, S74–S84 (2018).

20. Jepsen, S. *et al.* Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol* **89**, S237–S248 (2018).

21. Sanz, M. *et al.* Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol* **47 Suppl 22**, 4–60 (2020).

22. Herrera, D., Retamal-Valdes, B., Alonso, B. & Feres, M. Acute periodontal lesions (periodontal abscesses and necrotizing periodontal diseases) and endo-periodontal lesions. *J Periodontol* **89 Suppl 1**, S85–S102 (2018).

23. Otomo-Corgel, J., Pucher, J. J., Rethman, M. P. & Reynolds, M. A. State of the science: chronic periodontitis and systemic health. *J Evid Based Dent Pract* **12**, 20–28 (2012).

24. van der Velden, U. Effect of age on the periodontium. *J Clin Periodontol* **11**, 281–294 (1984).

25. Burt, B. A. Periodontitis and aging: reviewing recent evidence. *J Am Dent Assoc* **125**, 273–279 (1994).

26. Papapanou, P. N., Lindhe, J., Sterrett, J. D. & Eneroth, L. Considerations on the contribution of ageing to loss of periodontal tissue support. *J Clin Periodontol* **18**, 611–615 (1991).

27. Susin, C., Valle, P., Oppermann, R. V., Haugejorden, O. & Albandar, J. M. Occurrence and risk indicators of increased probing depth in an adult Brazilian population. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 123–129 (2005).

28. Susin, C., Vecchia, C. F. D., Oppermann, R. V., Haugejorden, O. & Albandar, J. M. Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. *J Periodontol* **75**, 1033–1041 (2004).

29. Heller, K. E., Sohn, W., Burt, B. A. & Eklund, S. A. Water consumption in the United States in 1994-96 and implications for water fluoridation policy. *J Public Health Dent* **59**, 3–11 (1999).

30. Hyman, J. J. & Reid, B. C. Epidemiologic risk factors for periodontal attachment loss among adults in the United States. *J Clin Periodontol* **30**, 230–237 (2003).

31. Michalowicz, B. S. *et al.* Periodontal findings in adult twins. *J Periodontol* **62**, 293–299 (1991).

32. Michalowicz, B. S. Genetic risk factors for the periodontal diseases. *Compendium* **15**, (1994).

33. Schenkein, H. A. Finding genetic risk factors for periodontal diseases: is the climb worth the view? *Periodontol 2000* **30**, 79–90 (2002).

34. Löe, H., Theilade, E. & Jensen, S. B. Experimental Gingivitis in Man. *The Journal of Periodontology* **36**, 177–187 (1965).

35. Theilade, E., Wright, W. H., Jensen, S. B. & Löe, H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontal Res* **1**, 1–13 (1966).

36. Lindhe, J., Hamp, S. -E & Löe, H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodontal Res* **8**, 1–10 (1973).

37. Heitz-Mayfield, L. J. A., Trombelli, L., Heitz, F., Needleman, I. & Moles, D. A systematic review of the effect of surgical debridement vs non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* **29 Suppl 3**, 92–102 (2002).

38. Herrera, D., Sanz, M., Jepsen, S., Needleman, I. & Roldán, S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* **29 Suppl 3**, 136–159 (2002).

39. Hallmon, W. W. & Rees, T. D. Local anti-infective therapy: mechanical and physical approaches. A systematic review. *Ann Periodontol* **8**, 99–114 (2003).

40. Paulander, J., Axelsson, P., Lindhe, J. & Wennström, J. L. Intra-oral pattern of tooth and periodontal bone loss between the age of 50 and 60 years. A longitudinal prospective study. *Acta Odontologica Scandinavica* **62**, 214–222 (2004).

41. Paulander, J., Wennström, J. L., Axelsson, P. & Lindhe, J. Some risk factors for periodontal bone loss in 50-year-old individuals: A 10-year cohort study. *Journal of Clinical Periodontology* **31**, 489–496 (2004).

42. Paulander, J., Axelsson, P., Lindhe, J. & Wennström, J. L. Some characteristics of 50/55-year-old individuals with various experience of destructive periodontal disease: A cross-sectional study. *Acta Odontologica Scandinavica* **62**, 199–206 (2004).

43. Zhang, S. *et al.* Periodontitis and Risk of Diabetes in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) Study: A BMI-Modified Association. *J Clin Endocrinol Metab* **106**, E3546–E3558 (2021).

44. Saito, T., Shimazaki, Y., Koga, T., Tsuzuki, M. & Ohshima, A. Relationship between upper body obesity and periodontitis. *J Dent Res* **80**, 1631–1636 (2001).

45. Genco, R. J. & Borgnakke, W. S. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000* **62**, 59–94 (2013).

46. Jepsen, S., Suvan, J. & Deschner, J. The association of periodontal diseases with metabolic syndrome and obesity. *Periodontol 2000* **83**, 125–153 (2020).

47. Dolińska, E. *et al.* Periodontitis-Related Knowledge and Its Relationship with Oral Health Behavior among Adult Patients Seeking Professional Periodontal Care. *J Clin Med* **11**, (2022).

48. Ryder, M. I., Shiboski, C., Yao, T. J. & Moscicki, A. B. Current trends and new developments in HIV research and periodontal diseases. *Periodontol 2000* **82**, 65–77 (2020).

49. Genco, R. J. *et al.* Models to evaluate the role of stress in periodontal disease. *Ann Periodontol* **3**, 288–302 (1998).

50. Kodukula, K. *et al.* Talk to your gut: the oral-gut microbiome axis and its immunomodulatory role in the etiology of rheumatoid arthritis. *J Leukoc Biol* **98**, 1136 (2019).

51. Li, X., Kolltveit, K. M., Tronstad, L. & Olsen, I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev* **13**, 547–558 (2000).

52. Bi, W. G., Emami, E., Luo, Z. C., Santamaria, C. & Wei, S. Q. Effect of periodontal treatment in pregnancy on perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med* **34**, 3259–3268 (2021).

53. Lemieux, I. & Després, J. P. Metabolic syndrome: Past, present and future. *Nutrients* vol. 12 1–7 (2020).

54. Xu, H., Li, X., Adams, H., Kubena, K. & Guo, S. Etiology of Metabolic Syndrome and Dietary Intervention. *International Journal of Molecular Sciences 2019, Vol. 20, Page 128* **20**, 128 (2018).

55. Saklayen, M. G. HYPERTENSION AND OBESITY (E REISIN, SECTION EDITOR) The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. (1906) doi:10.1007/s11906-018-0812-z.

56. Borgnakke, W. S., Ylöstalo, P. v., Taylor, G. W. & Genco, R. J. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. *J Periodontol* **84**, S135–S152 (2013).

57. Löe, H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **16**, 329–334 (1993).

58. Sharma, S. *et al.* Periodontal therapy and treatment of hypertension-alternative to the pharmacological approach. A systematic review and meta-analysis. *Pharmacol Res* **166**, (2021).

59. Muñoz Aguilera, E. *et al.* Periodontitis is associated with hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc Res* **116**, 28–39 (2020).

60. Lamster, I. B. & Pagan, M. Periodontal disease and the metabolic syndrome. *International Dental Journal* **67**, 67–77 (2017).

61. Yoneda, M. *et al.* Prevalence of metabolic syndrome compared between native Japanese and Japanese-Americans. *Diabetes Res Clin Pract* **79**, 518–522 (2008).

62. Isola, G. The Impact of Diet, Nutrition and Nutraceuticals on Oral and Periodontal Health. *Nutrients* **12**, 1–6 (2020).

63. Ezzati, T. M., Massey, J. T., Waksberg, J., Chu, A. & Maurer, K. R. Sample design: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Vital Health Stat 2* 1–35 (1992).

64. Eke, P. I. *et al.* Update on Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. *J Periodontol* **86**, 611–622 (2015).

65. Eke, P. I., Page, R. C., Wei, L., Thornton-Evans, G. & Genco, R. J. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* **83**, 1449–1454 (2012).

66. Trombelli, L., Farina, R., Silva, C. O. & Tatakis, D. N. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Periodontol* **89 Suppl 1**, S46–S73 (2018).

67. Nesse, W. *et al.* Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol* **35**, 668–673 (2008).

68. Grundy, S. M., Brewer, H. B., Cleeman, J. I., Smith, S. C. & Lenfant, C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* **109**, 433–438 (2004).

69. Grundy, S. M. *et al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* **112**, 2735–2752 (2005).

70. Muntner, P. *et al.* Measurement of Blood Pressure in Humans: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertension* **73**, E35–E66 (2019).

71. Pietropaoli, D. *et al.* Association between periodontal inflammation and hypertension using periodontal inflamed surface area and bleeding on probing. *J Clin Periodontol* **47**, 160–172 (2020).

72. Elze, M. C. *et al.* Comparison of Propensity Score Methods and Covariate Adjustment: Evaluation in 4 Cardiovascular Studies. *J Am Coll Cardiol* **69**, 345–357 (2017).

73. Williamson, E. J. & Forbes, A. Introduction to propensity scores. *Respirology* **19**, 625–635 (2014).

74. Dugoff, E. H., Schuler, M. & Stuart, E. A. Generalizing observational study results: applying propensity score methods to complex surveys. *Health Serv Res* **49**, 284–303 (2014).

75. Nguyen, T. L. *et al.* Double-adjustment in propensity score matching analysis: choosing a threshold for considering residual imbalance. *BMC Med Res Methodol* **17**, (2017).

76. del Pinto, R. *et al.* Access to dental care and blood pressure profiles in adults with high socioeconomic status. *J Periodontol* (2021) doi:10.1002/JPER.21-0439.

77. Gobin, R., Tian, D., Liu, Q. & Wang, J. Periodontal Diseases and the Risk of Metabolic Syndrome: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)* **11**, 1035–1057 (2020).

78. Kim, O. S. *et al.* The severity of periodontitis and metabolic syndrome in Korean population: The Dong-gu study. *J Periodontal Res* **53**, 362–368 (2018).

79. Pietropaoli, D. *et al.* Active gingival inflammation is linked to hypertension. *J Hypertens* **38**, 2018–2027 (2020).

80. Pirih, F. Q. *et al.* Association between metabolic syndrome and periodontitis: The role of lipids, inflammatory cytokines, altered host response, and the microbiome. *Periodontol 2000* **87**, 50–75 (2021).

81. Mirzaei, A. *et al.* Association of hyperglycaemia and periodontitis: an updated systematic review and meta-analysis. *J Diabetes Metab Disord* **20**, 1327–1336 (2021).

82. Sayeed, G. & Varghese, S. Association Between Periodontitis and Metabolic Syndrome in Females: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Int Soc Prev Community Dent* **11**, 609–625 (2021).

83. Pappe, C. L. *et al.* Prolonged multimodal fasting modulates periodontal inflammation in female patients with metabolic syndrome: A prospective cohort study. *J Clin Periodontol* **48**, 492–502 (2021).

84. Saito, T., Murakami, M., Shimazaki, Y., Matsumoto, S. & Yamashita, Y. The extent of alveolar bone loss is associated with impaired glucose tolerance in Japanese men. *J Periodontol* **77**, 392–397 (2006).

85. Saito, T. *et al.* Association between alveolar bone loss and elevated serum C-reactive protein in Japanese men. *J Periodontol* **74**, 1741–1746 (2003).

86. Li, Y. *et al.* Metabolic syndrome exacerbates inflammation and bone loss in periodontitis. *J Dent Res* **94**, 362–370 (2015).

87. Lu, Z. *et al.* CD36 is upregulated in mice with periodontitis and metabolic syndrome and involved in macrophage gene upregulation by palmitate. *Oral Dis* **23**, 210–218 (2017).

88. Dabke, K., Hendrick, G. & Devkota, S. The gut microbiome and metabolic syndrome. *J Clin Invest* **129**, 4050–4057 (2019).

89. Gasmi Benahmed, A. *et al.* Association between the gut and oral microbiome with obesity. *Anaerobe* **70**, (2021).

90. Si, J., Lee, C. & Ko, G. P. Oral Microbiota: Microbial Biomarkers of Metabolic Syndrome Independent of Host Genetic Factors. *Front Cell Infect Microbiol* **7**, (2017).

91. Taylor, G. W. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol* **6**, 99–112 (2001).

92. D'Aiuto, F. *et al.* Systemic effects of periodontitis treatment in patients with type 2 diabetes: a 12 month, single-centre, investigator-masked, randomised trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* **6**, 954–965 (2018).

93. Wang, Y. B. *et al.* Causal Association Between Periodontitis and Type 2 Diabetes: A Bidirectional Two-Sample Mendelian Randomization Analysis. *Front Genet* **12**, (2022).

94. Lalla, E. *et al.* Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest* **105**, 1117–1124 (2000).

95. Pietropaoli, D. *et al.* Poor Oral Health and Blood Pressure Control Among US Hypertensive Adults. *Hypertension* **72**, 1365–1373 (2018).

96. del Pinto, R. *et al.* Hypertension and Periodontitis: A Joint Report by the Italian Society of Hypertension (SIIA) and the Italian Society of Periodontology and Implantology (SIdP). *High Blood Press Cardiovasc Prev* **28**, 427–438 (2021).

97. Czesnikiewicz-Guzik, M. *et al.* Causal association between periodontitis and hypertension: evidence from Mendelian randomization and a randomized controlled trial of non-surgical periodontal therapy. *Eur Heart J* **40**, 3459–3470 (2019).

98. Voight, B. F. *et al.* Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. *Lancet* **380**, 572–580 (2012).

99. Liu, C. *et al.* Association Between High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels and Adverse Cardiovascular Outcomes in High-risk Populations. *JAMA Cardiol* (2022) doi:10.1001/JAMACARDIO.2022.0912.

100. Madsen, C. M., Varbo, A. & Nordestgaard, B. G. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: two prospective cohort studies. *Eur Heart J* **38**, 2478–2486 (2017).

101. Northridge, M. E., Kumar, A. & Kaur, R. Disparities in Access to Oral Health Care. *Annu Rev Public Health* **41**, 513–535 (2020).