TESI DI DOTTORATO CICLO XXXI

Rapporto tra Deficit Cognitivo Lieve e Parodontite. Studio osservazionale in un campione di pazienti geriatrici

Facoltà di Farmacia e Medicina

Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive

Dottorato di Ricerca In Malattie Infettive, Microbiologia e Sanità Pubblica

Giuseppe Alessio Messano

Matricola 1039965

Docente/Tutor

Prof. Stefano Petti

Prof. Evaristo Ettorre

Prof. Licia Manzon

A.A. 2018/2019

Sommario

1. Il deficit cognitivo e la malattia paradontale 1
1.1 L'etiologia microbiologica della malattia parodontale 1
1.2 Patogenesi del deficit cognitivo correlato alla malattia parodontale 3
1.3 Neuroinfiammazione e neurodegenerazione 10
1.4 La barriera emato-encefalica e l'ipotesi patogenetica dell'AD 24
1.5 Trattamento dei patogeni parodontali 27
2. Associazione tra parodontite e MCI 28
2.1 La definizione di Parodontite 28
2.2 Diagnosi clinica ed indici 34
2.3 Associazione tra salute orale e MCI 45
3. La demenza 52
3.1 Cos'è la demenza 52
3.2 La malattia di Alzheimer 54
3.3 Il concetto di MCI 65
3.4 Epidemiologia MCI 68
3.5 Biomarkers di AD e MCI 69
3.6 Risonanza magnetica (MRI) e Tomografia ad emissione di positroni 69
3.7 Biomarkers 72
3.8 Terapia 72
4. Obiettivo tesi 74
5. Materiali e metodi 75
5.1 Disegno dello studio 75
5.2 Pazienti 76
5.3 Esame parodontale 78
5.4 Test Utilizzato 80
5.4 Analisi statistica 83
6. Risultati 84
7. Discussione-Conclusioni 96
8. Bibliografia 101

1. Il deficit cognitivo e la malattia paradontale

1.1 L'etiologia microbiologica della malattia parodontale

Il corpo umano comprende circa 10 volte più batteri che cellule umane. Nella bocca di un uomo adulto più di 500 specie diverse hanno la capacità di formare colonie. Inoltre, i batteri che possono colonizzare ciascun cavo orale sono almeno 150. La maggior parte di questi microrganismi sono simbiotici e utili, cosicché le cellule batteriche e dell'ospite possano formare una relazione che giovi ad entrambe le parti.

All'interno del cavo orale, a livello dei 5 ecosistemi maggiori (superfici dure, tasche parodontali/perimplantari, epitelio buccale, dorso della lingua e tonsille), i batteri hanno la facoltà di costituire quella che viene chiamata placca dentale, una struttura talmente organizzata da essere definita un vero e proprio *biofilm*. Quest'ultimo è costituito da una matrice intercellulare di materiali inorganici e organici derivanti dalla saliva, che si caratterizza di una fitta rete molto eterogenea di canali aperti pieni di fluido che attraversano la massa della placca e permettono il passaggio di nutrienti a favore dei batteri.

Nello specifico con il termine placca si intende un materiale gelatinoso bianco-giallastro che ricopre i denti, soprattutto in conseguenza di una scarsa igiene. Nella placca si distingue una frazione corpuscolata, costituita da batteri (60-70% del volume totale) e una frazione amorfa, costituita dalle glicoproteine salivari e dagli zuccheri ingeriti. La placca si origina in seguito alla formazione, sullo smalto, di una pellicola costituita da glicoproteine salivari, che si depositano sul dente su cui precipitano gli ioni calcio.

Successivamente si ha colonizzazione da parte di batteri della saliva che producono polisaccaridi extracellulari che favoriscono l'adesione di altre specie batteriche, in totale se ne identificano più di trenta, gli streptococchi sono i più frequenti.

Il fenomeno che caratterizza la formazione del biofilm batterico riguarda in particolar modo la *coaggregazione*, in cui ogni nuova cellula batterica può comportarsi come un ponte per il raggruppamento di nuovi tipi batterici. Mediante tale fenomeno i microrganismi creano una rete di comunicazione (*quorum sensing*) che permette scambi di informazioni che rende la loro condizione più stabile e difficilmente attaccabile dagli agenti esterni. La resistenza dei batteri agli agenti antisettici e chemioterapici aumenta esponenzialmente all'interno del biofilm. In questa condizione gli organismi sono da 1000 a 1500 volte più resistenti agli antibiotici se paragonati al loro stato planctonico.

La continua deposizione di placca dentale e quindi la formazione di biofilm determinano la transizione dei microrganismi da gram-positivi a gram-negativi e non solo, confrontando il microbiota in fase di salute e successivamente di gengivite e di parodontite, ossia nella condizione orale ormai in stato di infiammazione, possono essere identificati i seguenti cambiamenti microbici:

- Da cocchi a bastoncelli (e nella fase successiva a spirochete)
- Da organismi immobili a mobili
- Da anaerobi facoltativi ad anaerobi obbligati

I primi colonizzatori usano l'ossigeno ed abbassano il potenziale ossido-riduttivo dell'ambiente favorendo la crescita delle specie anaerobie.

Le specie patogene anaerobie, in associazione alla suscettibilità dell'ospite risultano determinanti dell'insorgenza della malattia parodontale.

Le specie batteriche coinvolte sono dunque specifiche e riguardano in particolare modo:

- *Aggregatibacter actinomycetencomitans*
- *Porphyromonas gingivalis*
- *Prevotella intermedia e Prevotella nigrescens*
- *Campylobacter rectus*
- *Fusobacterium nucleatum*
- *Tannerella forsythia*
- *Le spirochete*

1.2 Patogenesi del deficit cognitivo correlato alla malattia parodontale

Porphyromonas gingivalis

La parodontite è definita come "una malattia infiammatoria dei tessuti di sostegno dei denti causati da microrganismi specifici o gruppi di microrganismi specifici, con conseguente progressiva distruzione del legamento parodontale e osso alveolare con un aumento di sondaggio e formazione di tasche di profondità variabile e recessione ossea, o entrambi".

Se non trattata, porta alla perdita progressiva dell'osso alveolare e dei denti. La malattia parodontale è un problema globale che colpisce circa 743 milioni di persone in tutto il mondo ed è considerata una causa primaria di perdita dei denti in età avanzata.

È ormai largamente riconosciuto che la malattia parodontale si possa andare ad associare a numerosissimi disordini sistemici legati alla salute dell'individuo in una relazione di biunivocità, tra questi possiamo annoverare il diabete mellito, l'aterosclerosi, infarto del miocardio, l'ictus, la cardiopatia coronarica, le infezioni respiratorie, l'artrite reumatoide, l'osteoporosi, il parto pretermine. In alcuni pazienti, dunque, l'infezione parodontale si propone di essere un fattore di rischio per le malattie sistemiche in quanto può giocare un ruolo determinante nell'insorgenza dell'infiammazione di molti distretti corporei.

Nel 2016 è stato organizzato l'EFP Perio workshop, in collaborazione con l'Organizzazione europea per la ricerca della carie (ORCA), che si è concentrato sul rapporto tra carie e malattie parodontali. Durante il workshop, 75 esperti invitati dalle due organizzazioni hanno esaminato le prove disponibili sui legami comuni tra queste importanti condizioni orali. Sono state sottolineate le cause e i fattori di rischio associati e gli aspetti di prevenzione che possono influenzare sia le malattie parodontali che le carie.

Più di recente alcuni studi hanno rilevato la correlazione tra l'infezione parodontale legata a diverse specie batteriche del cavo orale e l'eziologia del decadimento cognitivo. Tra queste ricerche, appare molto significativa quella che mette in relazione la malattia

parodontale, determinata da una presenza significativa di *Porphyromonas gingivalis* e la malattia di Alzheimer.

Sia la malattia parodontale che la malattia di Alzheimer sono condizioni infiammatorie che interessano la popolazione adulta globale.

La malattia parodontale cronica implica la presenza di patogeni come *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* oltre che l'abbondante presenza di *P. gingivalis*, queste specie batteriche hanno un'armatura di difesa che può eludere la sorveglianza immunitaria che caratterizza l'ospite, per creare e mantenere un ambiente infiammatorio tossico per crescere e per sopravvivere.

La malattia di Alzheimer invece sappiamo essere una condizione neurodegenerativa caratterizzata da una scarsa memoria, ad oggi sembra che i patogeni parodontali siano sempre più legati a questa condizione di demenza. Studi epidemiologici, clinici e molecolari hanno dimostrato che l'infiammazione cronica associata alla malattia parodontale può essere dunque correlata ad un rischio maggiore di demenza, e quindi anche alla malattia di Alzheimer.

I principali patogeni parodontali conducono ad una infiammazione sistemica e cronica a causa della batteriemia transitoria ricorrente, con conseguente elevato livello di citochine e chemochine sistemiche.

P. gingivalis è uno dei batteri più pericolosi per la Salute della bocca. Inizia ad infiltrarsi nelle gengive già durante l'adolescenza: sotto i 30 anni 1 persona su 5 ha bassi livelli di questi batteri nelle gengive. Se si mantengono sotto i livelli di guardia, con una

corretta igiene orale, il *Porphyromonas gingivalis* non crea problemi. Diversamente, il batterio cresce a dismisura favorendo l'insorgere di infiammazione, quindi rossore delle gengive, gonfiore, sanguinamento per arrivare all'erosione del tessuto gengivale e quindi alla parodontite (piorrea). In queste condizioni si ha una stimolazione della risposta immunitaria e i batteri passano dalla bocca al torrente circolatorio (sangue), raggiungendo tutti i tessuti. Con le conseguenze che abbiamo visto sopra. Per evitare tutto questo è consigliabile una corretta e regolare igiene orale, spazzolando i denti e usando il filo interdentale, e sottoporsi ad una pulizia orale, da un igienista dentale, almeno una volta all'anno. Oltre a fattori genetici, che possono favorire una disbiosi orale, anche l'avanzare degli anni e cattive abitudini come il fumo, possono peggiorare questa condizione. Infatti, recentemente uno studio ha dimostrato, tramite esperimenti in vivo, l'invasività del *P. gingivalis*, utilizzando i modelli di topo ApoE. I topi sono stati infettati a livello parodontale oltre che da *P. gingivalis*, anche da *T. denticola*, *T. forsythia* e *Fusobacterium nucleatum* come infezioni mono e poli batteriche. Dopo aver ottenuto un'infezione gengivale cronica e aver effettuato un'identificazione molecolare mediante sequenziamento dei nucleotidi, un numero statisticamente significativo di cervelli di topi ApoE conteneva il DNA genomico del *P. gingivalis*. L'ipotesi chiave fondamentale che si è evinta aiuta a spiegare il fatto che ci possa essere un contributo da parte del *P. gingivalis* nell'eziologia e nello sviluppo precoce di una condizione neurodegenerativa come per l'appunto la malattia di Alzheimer. *P. gingivalis* può accedere al SNC durante stadi sani, ma solo individui con tratti di suscettibilità infiammatoria sono probabili

sviluppare una componente flogistica progressiva che rappresenterebbe l'inizio di processi a carico della malattia neurodegenerativa.

Quindi *P. gingivalis* potrebbe rappresentare un collegamento mancante che, andrebbe a delineare la possibilità secondo cui un'infezione guidata possa identificarsi come la fase iniziale nello sviluppo del decadimento cognitivo. Inoltre la specie batterica del *P. gingivalis* presenta un meccanismo di evasione immunitaria caratteristico in cui il batterio effettua un'azione di adesione agli eritrociti tramite il recettore del complemento. Questo permette ai batteri di passare inosservati rispetto all'attività di difesa dei fagociti che sono circolanti, nonché di usufruire di un meccanismo di trasporto per il movimento, attraverso la circolazione sistemica. Le strategie di evasione immunitaria del *P. gingivalis* sono di grande importanza dunque non solo nella malattia parodontale, ma anche in relazione alle altre malattie sistemiche, in quanto questo batterio e i suoi fattori di virulenza accedono agli organi di diversi distretti corporei compresa quindi anche l'area cerebrale. Dunque *P. gingivalis*, i suoi prodotti e tutti i mediatori dell'infiammazione generati all'interno del sangue possono potenzialmente raggiungere organi del corpo remoti.

Purtroppo, anche le stesse procedure dentali di routine, compresi l'estrazione dentale, la chirurgia parodontale, lo scaling, addirittura lo spazzolamento e l'utilizzo del filo interdentale possono indurre la propagazione dei batteri orali nel circolo sistemico.

Dunque, tali batteri, tramite il meccanismo di evasione immunitaria, hanno la possibilità di raggiungere siti distanti dal cavo orale e determinare complicazioni in soggetti predisposti allo sviluppo di patologie flogistiche.

Data la resilienza di *P. gingivalis* nell'ospite umano, anche una minore presenza di esso nel cervello per almeno tre decenni sarebbe sufficiente a contribuire ad un livello basso ma persistente di infiammazione locale. Recentemente nell'ottobre 2018 Vladimir Ilievski del Department of Periodontics, College of Dentistry, University of Illinois at Chicago, aveva già confermato che i patogeni *P. gingivalis* possono trasferirsi dalla bocca al cervello e che in quel caso si osserva un aumento di placche beta-amiloidi e di processi neuroinfiammatori nel cervello. Questa ricerca però si concludeva lasciando margine al dubbio infatti: gli scienziati non potevano assicurare che la migrazione dei batteri fosse la causa diretta della neuropatologia.

Oggi, Stephen S. Dominy in un suo recente studio del 2019 pubblicato su Science Advances dimostra il legame di causa ed effetto tra parodontite e Alzheimer. I ricercatori hanno osservato la presenza del batterio *P.gingivalis* nei 50 campioni di tessuto cerebrale di pazienti con Alzheimer deceduti e hanno trovato il Dna dei microbi nel liquido cerebro-spinale di pazienti vivi. Non solo. Nel 90% dei campioni di cervello con Alzheimer sono state trovate tracce evidenti dell'enzima prodotto dal batterio chiamato gingipain. A maggiori quantità dell'enzima corrispondevano maggiori quantità della proteina tau e dell'ubiquitina, entrambe coinvolte nella malattia di Alzheimer. Infatti in modelli animali, l'infezione orale da *P.gingivalis* ha portato alla colonizzazione del cervello e all'aumento

di produzione di amiloide-beta (Aβ), un componente delle placche amiloidi comunemente associate al AD. Il gruppo di studio ha anche trovato gli enzimi tossici dell'organismo (gingipain) nei neuroni dei pazienti con AD. I gingipain vengono secreti e trasportati sulle superfici esterne delle membrane batteriche e si è dimostrato che mediano la tossicità del *P.gingivalis* in varie cellule.

Un dato interessante: piccole tracce di gingipain e delle due proteine, tau e ubiquitina, sono state rinvenute anche nei campioni di tessuto cerebrale di 50 persone anziane decedute che non avevano sofferto della malattia neurodegenerativa. Ciò dimostra, dicono gli autori, che le infezioni di *P.gingivalis* nel cervello non possono essere attribuite a una scarsa igiene orale dovuta alla distrazione dei pazienti affetti da Alzheimer. Si tratterebbe piuttosto dei primi segnali della malattia che può impiegare anni prima di svilupparsi.

Attualmente per bloccare la neurotossicità del *P.gingivalis*, nel suo studio Dominy col partner Cortexyme ha deciso di progettare una serie di terapie a piccole molecole che puntano le gingipain.

Negli esperimenti preclinici dettagliati nel documento dello studio, i ricercatori hanno dimostrato che inibendo il composto COR388, si riduce il carico batterico di una infezione cerebrale indotta da *P.gingivalis*, si blocca la produzione di Aβ42, si riduce la neuroinfiammazione e si proteggono i neuroni dell'ippocampo, la parte del cervello che media la memoria e di frequente si atrofizza nelle prime fasi dello sviluppo del AD.

1.3 Neuroinfiammazione e neurodegenerazione

Uno studio svolto nel 2002, si è posto l'obiettivo di investigare a livello molecolare impiegando tecniche immunologiche, se effettivamente le specie batteriche di *Treponema* fossero in grado di infettare il cervello umano. Nell'ambito di questo studio Miklossy ha osservato la presenza di spirochete nel sangue, nel fluido spinale cerebrale e nel cervello di 14 persone con AD. Isolando le spirochete nel sangue di quattro donatori, ha concluso che la struttura di ciò che aveva separato era coerente con le specie di *Treponema* o di *Borrellia*. Da ciò è stato suggerito che le spirochete nel sangue potevano avere una derivazione parodontale, e proprio questo suggerimento ha sollevato la possibilità che la somministrazione orale di *Treponema* potesse determinare un'infezione a livello cerebrale. In aggiunta lo studio ha preso in considerazione la possibilità che il batterio potesse farsi strada attraverso il nervo trigemino.

Treponema è un genere di Batteri della famiglia Spirochetacee, con varie specie patogene e non patogene. Quelle patogene causano infezioni alla bocca, all'intestino e alle regioni genitali dell'Uomo e di altri animali. Alcune sono anaerobie obbligate, ma altre sono considerate microaerofile. Le cellule hanno struttura elicoidale e grandezza 0,1-0,4 × 5-20 μm.

L'eziologia e la patogenesi dell'AD non sono state ben definite. Ciò che è chiaro riguarda il fatto che sono coinvolti meccanismi di infiammazione, ma lo stimolo per queste risposte di protezione non è stato individuato. Sebbene il sospetto che virus e

batteri possano provocare reazioni infiammatorie sia sempre più significativo, si è dimostrato difficile verificare l'associazione tra microrganismi e AD.

Alcuni Treponema a trofismo orale sono altamente invasive, e l'ipotesi per avvalorare l'associazione con il decadimento cognitivo riguarda il fatto che le spirochete orali potrebbero diffondere attraverso i percorsi neurologici. Per esempio, sia *B. burgdorferi* che *Treponema pallidum* sono stati identificati all'interno degli assoni dei nervi periferici in animali sperimentali ed entrambe le spirochete erano in grado di invadere il sistema nervoso centrale.

Judith Miklossy nel 2011 ha affermato che la persistenza spirochetale scaturisce un'infezione cronica che può causare lentamente una demenza progressiva accompagnata da atrofia cerebrale e deposizione amiloide.

Nelle patologie in cui si verifica la progressione della demenza, le specie batteriche ritenute agenti causali stabiliscono tra loro un rapporto di co-infezione il quale potenzia l'andamento infiammatorio-cronico. Le spirochete patogene in questione sono state rilevate impiegando la metodica della PCR e appartengono al genere *Treponema*, in particolare sono stati riconosciuti: *T. pectinovorum*, *T. amylovorum*, *T. lecithinolyticum*, *T. media*, *T. socranskii*.

Inoltre, è stato dimostrato che l'infezione da parte delle spirochete, si verifica anni, o addirittura decenni prima della manifestazione della demenza.

Il riconoscimento che gli agenti patogeni possano produrre lentamente e progressivamente delle malattie croniche, ha portato ad un nuovo concetto di malattie

infettive. Contributo importante di questa modificazione è stato il lavoro pioneristico di Marshall e Warren, il quale ha stabilito che l'Helicobacter pylori può essere la causa di ulcere gastriche. Ma già Fischer e i suoi colleghi circa un secolo fa avevano discusso sulla possibilità di associazione tra la presenza di microrganismi e la formazione di placche senili. La demenza di Alzheimer ha, in genere, un inizio subdolo: le persone iniziano a dimenticare alcune cose, per arrivare al punto in cui non riescono più a riconoscere nemmeno i familiari e hanno bisogno di aiuto anche per le attività quotidiane più semplici. La demenza di Alzheimer oggi colpisce circa il 5% delle persone con più di 60 anni e in Italia si stimano circa 500mila ammalati. È la forma più comune di demenza senile, uno stato causato da una alterazione delle funzioni cerebrali che implica serie difficoltà per il paziente nel condurre le normali attività quotidiane. La malattia colpisce la memoria e le funzioni cognitive, si ripercuote sulla capacità di parlare e di pensare ma può causare anche altri problemi fra cui stati di confusione, mutamenti di umore e disorientamento spazio-temporale. La malattia prende il nome da Alois Alzheimer, neurologo tedesco che per la prima volta nel 1907 ne descrisse i sintomi e gli aspetti neuropatologici. All'esame autoptico, il medico notò segni caratteristici nel tessuto cerebrale di una donna che era morta in seguito a una insolita malattia mentale. Infatti, evidenziò la presenza di agglomerati, poi definiti placche amiloidi, e di fasci di fibre aggrovigliate, i viluppi neuro-fibrillari. Oggi le placche formate da proteine amiloidi e i viluppi, vengono considerati gli effetti sui tessuti nervosi di una malattia di cui, nonostante i grossi sforzi, ancora non si conoscono le cause. Nei pazienti affetti da demenza di Alzheimer si osserva una perdita

di cellule nervose nelle aree cerebrali vitali per la memoria e per altre funzioni cognitive. Si riscontra, inoltre, un basso livello di quelle sostanze chimiche, come l'acetilcolina, che agiscono come neurotrasmettitori e sono quindi coinvolte nella comunicazione tra le cellule nervose. Il decorso della malattia è lento e in media i pazienti possono vivere fino a 8-10 anni dopo la diagnosi della malattia.

La demenza di Alzheimer si rivela con lievi problemi di memoria, fino a concludersi con grossi danni ai tessuti cerebrali, ma la rapidità con cui i sintomi si acutizzano varia da persona a persona. Nel corso della malattia i deficit cognitivi si acuiscono e possono portare il paziente a gravi perdite di memoria, a porre più volte le stesse domande, a perdersi in luoghi familiari, all'incapacità di seguire delle indicazioni precise, ad avere disorientamenti sul tempo, sulle persone e sui luoghi, ma anche a trascurare la propria sicurezza personale, l'igiene e la nutrizione. I disturbi cognitivi possono, tuttavia, essere presenti anche anni prima che venga formulata una diagnosi di demenza di Alzheimer. Ad oggi l'unico modo di fare una diagnosi certa di demenza di Alzheimer è attraverso l'identificazione delle placche amiloidi nel tessuto cerebrale, possibile solo con l'autopsia dopo la morte del paziente. Questo significa che durante il decorso della malattia si può fare solo una diagnosi di Alzheimer "possibile" o "probabile". Per questo i medici si avvalgono di diversi test: esami clinici, come quello del sangue, delle urine o del liquido spinale, test neuropsicologici per misurare la memoria, la capacità di risolvere problemi, il grado di attenzione, la capacità di contare e di dialogare, Tac cerebrali per identificare ogni possibile segno di anormalità. Tutti questi esami permettono al medico di scartare

altre possibili cause che portano a sintomi analoghi, come problemi di tiroide, reazioni avverse a farmaci, depressione, tumori cerebrali, ma anche malattie dei vasi sanguigni cerebrali. Come in altre malattie neurodegenerative, la diagnosi precoce è molto importante sia perché offre la possibilità di trattare alcuni sintomi della malattia, sia perché permette al paziente di pianificare il suo futuro, quando ancora è in grado di prendere decisioni.

Le caratteristiche patologiche della malattia di Alzheimer sono la progressiva atrofia cerebrale, l'accumulo di placche senili corticali e di grovigli neurofibrillari. Quest'ultimi contengono filamenti elicoidali accoppiati (PHFs), e il componente principale del PHFs è la proteina tau associata al microtubulo. Gli agenti patogeni determinano la fosforilazione di questa proteina, la cui principale funzione è quella di stabilizzare i microtubuli stessi.

L'azione spirochetale prevede di attaccare le cellule dell'ospite attraverso componenti superficiali come collagene e proteine di legame. Inoltre, il sistema immunitario consente alle cellule dell'organismo umano di riconoscere le spirochete e quindi di attuare dei meccanismi di difesa che sono pro-infiammatori e di attivare le risposte immunitarie adattative. Queste specie batteriche però sono in grado di eludere i meccanismi di difesa dell'ospite, impiegando una vasta gamma di strategie per superare il riconoscimento antigenico come la fagocitosi e la lisi del complemento. Il blocco della cascata del complemento consente loro la sopravvivenza e la proliferazione anche in cellule immunitarie appartenenti all'ospite. Dunque, l'evasione delle spirochete darà

come risultato la loro sopravvivenza e la loro proliferazione nel cervello. Inoltre, l'accumulo nell'area cerebrale di "ferro paralitico" che è caratteristico delle paresi generali determinerà un'azione del ferro libero che sarà quella di sopprimere gli effetti battericidi del siero e migliorare fortemente la virulenza batterica. In ultima analisi il ferro aumenta la formazione di intermedi di ossigeno reattivo causando la perossidazione lipidica con successivo danneggiamento ossidativo di proteine e acidi nucleici.

È importante specificare che il risultato dell'infezione spirochetale è determinato dalla predisposizione genetica del paziente, dalla virulenza e dalla biologia dell'agente infettivo e da vari fattori ambientali, come l'esercizio, lo stress e la nutrizione. Ad ogni modo i risultati ottenuti dalla review del 2011 hanno mostrato un'associazione statisticamente significativa tra le spirochete e la malattia di Alzheimer, dato che tali specie batteriche sono state osservate nel 90% dei casi di AD.

Borrelia burgdorferi

In vitro, *B. burgdoferi* invade le cellule neuronali e gliali per causare nell'ospite una reazione molto simile a quella riscontrata nell'AD. Indagini istochimiche e immunoistochimiche hanno mostrato granuli introcitoplasmatici negli astrociti, molto simili alla degenerazione granulovaculare trovata nelle cellule neuronali dell'Alzheimer. Inoltre tramite la *western blot* è stata rilevata in queste cellule l'iperfosforilazione della proteina tau.

La frammentazione nucleare nelle cellule astrocitiche dei ratti esposti a forme pleomorfiche di *B. burgdorferi* ha suggerito che le spirochete possano causare danni funzionali e apotosi.

Inoltre l'esposizione della cellula gliale di ratto alla proteina lipidica ricombinante (L-OspA) della superficie esterna della *B. burgdorferi* induce la proliferazione e l'apoptosi degli astrociti. Gli astrociti in risposta alla L-OspA producono IL-6 e TNF-α.

In vivo l'esposizione del cervello di scimmia a *B. burgdorferi* induce la produzione di citochine (IL-6, IL-8, IL-β e cox-2), chemochine e linfociti dalle cellule gliali, con conseguente apoptosi gliale e neuronale.

Herpes simplex

L'Herpes simplex virus di tipo 1 ed altri agenti patogeni, tra cui *Chlamydophila pneumoniae*, sono in grado di infettare il cervello e di eludere le difese immunitarie dell'ospite. Studi in vitro e in modelli animali hanno indicato che gli agenti patogeni possono indurre la formazione di placche amiloidi e l'iperfosforilazione della proteina tau.

L'HSV-1 è un virus neurotropo che infetta la maggior parte degli uomini, raggiungendo una prevalenza del 90% nel sesto decennio di vita. L'infezione permane per tutta la vita, in quanto il virus risiede nei gangli trigeminali del sistema nervoso periferico in forma latente tramite la presenza del genoma virale, ma non del virione. La sua riattivazione porta alla replicazione virale e alla esacerbazione di infezioni acute come l'herpes labialis.

Nel 1982 Melvin Ball ipotizzò che l'HSV-1 potesse essere una delle cause dell'AD. La sua teoria considerava il fatto che, il virus una volta riattivato a livello dei gangli trigeminali, potesse risalire attraverso le vie nervose fino all'area del sistema limbico. I sopravvissuti alla encefalite da Herpes simplex hanno mostrato chiari segni di declino a livello del sistema cognitivo, comportamentale e della memoria.

Alcuni studi hanno dimostrato che HSV-1 è altamente prevalente nei cervelli degli anziani. Questo è stato confermato da Jamieson et al, i quali hanno impiegato la reazione a catena della polimerasi (PCR), per rilevare il DNA di HSV-1 in campioni cerebrali autoptici. La presenza del virus è stata riscontrata in una percentuale molto alta (circa 70%) nei cervelli colpiti dalla malattia di Alzheimer. In particolar modo è stato osservato che le aree maggiormente contaminate da HSV-1 erano le aree più colpite dall'AD, vale a dire la zona temporale, la corticale frontale e l'ippocampo.

Nei cervelli giovani invece la presenza virale è stata riscontrata in percentuale molto più bassa.

Nel cervello dei portatori dell'allele APOE-ε4 il rischio a favore dell'insorgenza dell'AD aumenta. La malattia di Alzheimer è stata associata alla presenza di entrambi i fattori, ossia HSV-1 nel cervello e la presenza dell'allele APOE-ε4. La concentrazione virale nel cervello dei soggetti portatori dell'allele andava a rappresentare più del 50% dei pazienti con l'AD che erano stati presi in considerazione nello studio.

Burgos e colleghi hanno inoculato nel topo il virus dell'Herpes simplex di tipo 1 e hanno misurato la concentrazione del DNA virale nel cervello. Trentasette giorni dopo

l'inoculazione di HSV-1, la concentrazione di DNA nel cervello per ApoE+/+ nel topo normale era 13.7 volte maggiore rispetto ai topi knockout con ApoE-/-. La concentrazione di DNA per l'Herpes simplex era 13.6 volte maggiore per i topi transgenici con ApoE4, rispetto a quelli con ApoE3. Dunque, l'apolipoproteina E4 è apparsa favorire la latenza dell'HSV-1 molto più dell'apolipoproteina E3. Di conseguenza il dosaggio dell'ApoE4 si è dimostrato essere direttamente correlato alla concentrazione del virus nel cervello.

Guzman-Sanchez e collaboratori successivamente hanno confermato che questa apolipoproteina interagisce con HSV-1 e sperimentando su modelli animali, hanno dimostrato che ne aumenta la carica virale.

Un topo di due mesi, wild-type e uno ApoE knockout, sono stati entrambi infettati con HSV-1 e sono stati seguiti per 16 mesi, da questo esperimento è stato notato che la carica virale ha avuto un importante incremento legato all'età del soggetto.

Wozniak e i suoi collaboratori hanno dimostrato che il virus dell'Herpes simplex di tipo 1 coesiste con Aβ (beta-amiloide) nelle placche amiloidi della malattia di Alzheimer. Tale impressionate co-localizzazione del DNA di HSV-1 e Aβ con le placche senili sono frutto di studi su cervelli postmortem. Questa scoperta è stata possibile impiegando la PCR *in situ*, la quale ha rilevato il DNA dell'HSV-1 e utilizzando tecniche di immunoistochimica per rilevare le placche amiloidi. Nei cervelli con AD, il 90% conteneva il DNA di HSV-1, e il 72% dei cervelli con il DNA del virus erano associati a placche. Invece l'associazione tra il DNA virale con le placche era molto più bassa nei cervelli di persone anziane, rispetto ad anziani con la malattia di Alzheimer ($p<0.001$).

La co-localizzazione del DNA di HSV-1 e di Aβ con le placche amiloidi nel cervello dei malati di Alzheimer, colloca il virus in diretta giustapposizione con molti biomarker relativi a tale demenza e suggerisce un ruolo significativo dell'HSV-1 nella patogenesi dell'AD.

Livelli elevati di citochine pro-infiammatorie sono state ritrovati nei cervelli dei pazienti affetti dalla malattia di Alzheimer. L'infezione da Herpes simplex di tipo uno induce l'espressione di citochine, comprese l'interleuchina-1β (IL-1β), il tumor necrosis factor-α (TNF-α), IL-6, IL-8, macrofagi e chemochine nelle cellule microgliali umane. La persistente espressione di citochine si è verificata a livello dei gangli trigeminali in topi infettati da HSV-1. L'effetto diretto del virus a livello neuronale e la conseguente risposta dell'ospite all'infezione può condurre ad un danno ossidativo dovuto ad un incremento nella formazione di specie di ossigeno e nitrogeno reattivo. L'interazione tra HSV-1 e lo stress ossidativo, dunque, promuove il processo neurodegenerativo riscontrato nell'AD.

Inoltre, in alcuni studi i dati supportano l'ipotesi che il virus dell'Herpes simplex in combinazione con l'APOE-ε4 possa essere la causa maggiore nell'insorgenza dello "sporadic AD". Come proposto da Itzhaki, l'elevata presenza del virus può determinarne una sua riattivazione con conseguente accesso cerebrale, soprattutto negli individui più anziani, attraverso il sistema nervoso periferico. La riattivazione del virus causa così dei danni mediante processi infiammatori ed effetti ossidativi. Questo condurrebbe ad una

deposizione di Aβ ed una anormale fosforilazione della proteina tau, che eventualmente porterebbe alla formazione di placche amiloidi e NFTs.7

Recentemente nel 2019, il Dipartimento di Sanità pubblica e malattie infettive della Sapienza, in collaborazione con il CNR, l'Università Cattolica del Sacro Cuore e l'IRCCS San Raffaele Pisana, suggerisce l'herpes come fattore di rischio per l'insorgenza della malattia di Alzheimer. Lo studio, che apre la strada a nuove strategie terapeutiche e preventive, è pubblicato sulla rivista PLoS Pathogens. Infatti, si sostiene come le vescicole provocate sulle labbra dal virus herpes simplex 1 (HSV-1), che di solito si presentano ripetutamente nel corso della vita, sinora non erano mai state associate alla comparsa di patologie neurodegenerative. In particolare, poco o nulla si sapeva dei danni che le numerose recidive di tale infezione possono generare a carico del cervello. Il team di ricercatori italiani coordinato da Anna Teresa Palamara del Dipartimento di Sanità pubblica e malattie infettive della Sapienza, nei laboratori affiliati all'Istituto Pasteur Italia, in collaborazione con l'Istituto di Farmacologia traslazionale del CNR di Roma, l'Università Cattolica-Fondazione Policlinico A. Gemelli IRCCS e l'IRCCS San Raffaele Pisana, ha messo in luce sperimentalmente, per la prima volta, che il virus herpes simplex può contribuire all'insorgenza dell'Alzheimer.

Lo studio ha dimostrato, in un modello animale, che riattivazioni ripetute del virus inducono la comparsa e l'accumulo nel cervello di biomarcatori di neurodegenerazione tipici della malattia di Alzheimer, quali il peptide beta-amiloide (principale componente delle placche senili), la proteina tau iperfosforilata (che forma grovigli neurofibrillari) e

neuro-infiammazione. L'accumulo di questi biomarcatori molecolari di malattia si accompagna a deficit cognitivi che diventano irreversibili con l'aumentare del numero delle riattivazioni virali. Infatti, le recidive dell'infezione che evolvono in vescicole sono dovute al fatto che il virus si annida, in forma latente, in alcune cellule nervose situate fuori dal cervello. In seguito a diverse condizioni di stress (quali ad esempio infezioni concomitanti, calo delle difese immunitarie, esposizione a radiazioni ultraviolette, ecc.) il virus si riattiva, va incontro a replicazione e successiva diffusione alla regione periorale. In alcuni individui, il virus riattivato può spingersi fino al cervello producendo in quella sede danni che tendono ad accumularsi nel tempo. Come già ricordato, in studi precedenti, condotti in modelli cellulari, il virus herpes simplex è in grado di promuovere la formazione di biomarcatori molecolari di neuro-degenerazione. Ma in questo studio si è andati oltre perché i risultati sono stati validati nel modello animale (topi) e nell'aver dimostrato che l'accumulo di questi biomarcatori si associa a deficit di memoria, che è senza dubbio il tratto caratterizzante della malattia di Alzheimer.

Naturalmente viene confermato come non tutti coloro che soffrono di herpes labialis devono temere di andare incontro a neuro-degenerazione. In attesa di conferme di natura clinica nell'uomo, la ricerca suggerisce comunque che negli individui nei quali si stabilisce un'infezione erpetica latente nel cervello, la ripetuta riattivazione del virus nel corso degli anni costituisce un fattore di rischio aggiuntivo per l'insorgenza della malattia di Alzheimer. Risulta, pertanto, fondamentale comprendere quali siano i fattori genetici

e/o metabolici dai quali dipende che il virus raggiunga il cervello e lì si annidi in forma latente.

Citomegalovirus

Il CMV è un β-herpes virus prevalente negli umani, il quale causa persistenti e asintomatiche infezioni negli ospiti immunocompetenti.

Diversi studi hanno mostrato un'associazione tra l'infezione da CMV e l'aumentato rischio nell'insorgenza di un eventuale decadimento cognitivo con conseguente sviluppo dell'AD. Aiello e i suoi collaboratori hanno riscontrato che individui con alti livelli di anticorpi IgG contro il CMV, presentavano un declino cognitivo più rapido nel corso dei quattro anni di studio. Tarter e i suoi hanno studiato invece il declino cognitivo di vari gruppi di età, in relazione sia al CMV sia all'HSV-1. In bambini con età compresa tra i 6 e 16 anni, la sieropositività al virus dell'Herpes simplex di tipo 1 era associata a livelli più bassi nei test di lettura e ragionamento spaziale. Entrambe le sieropositività nell'età media compresa tra i 20 e 59 anni mostravano un decadimento nella velocità di ragionamento. Tra gli anziani la sieropositività all'HSV-1 era associata ad un immediato decadimento della memoria. I dati vanno ad indicare che il virus dell'Herpes simplex induce effetti negli individui di diverse età, differentemente dal CMV che sembra indurre maggiori conseguenze in soggetti di età media. Lo studio suggerisce che gli individui che acquisiscono precocemente l'infezione da *Herpesviridae* nel corso della loro vita, potrebbero correre rischi maggiori nello sviluppo di disparità cognitive.

Gao, Hong e Griffin hanno avanzato l'ipotesi che un'infiammazione incontrollata può condurre ad una malattia neurodegenerativa. Loro hanno proposto la teoria per cui i processi patologici a carico del SNC scaturiscano da un rapporto di reciprocità tra l'ambiente e la suscettibilità individuale. L'interazione tra i neuroni danneggiati e fuori controllo, insieme all'attivazione della microglia, creerebbe un circolo vizioso auto-propagato che è causa di infiammazioni a lungo termine e della progressione della malattia neurodegenerativa cronica.

La sovra espressione cronica dell'IL-1β è stata riscontrata in cervelli affetti dalla malattia di Alzheimer ed è stata indotta da patogeni *in vitro* e *in vivo*. È stato dimostrato che l'IL-1β aumenta la produzione neuronale di AβPP, dei livelli di apolipoproteineE e i livelli di S100β astrocita-mediati. I livelli di BACE-1 (beta secretase 1) nei neuroni sono incrementati dalle citochine, dallo stress ossidativo molecolare e da patogeni come HSV-1.

Insieme alla y-secretas, BACE-1 catalizza la conversione di AβPP in Aβ, determinando così elevati livelli di forme tossiche di Aβ. Quest'ultima attiva i recettori RAGE della microglia, che sembrano mediare, la risposta pro-infiammatoria verso Aβ.

Aβ fibrillare attiva le proteine CD36 sulla superficie delle cellule microgliali e i recettori scavenger A e B (SR-A e SR-B). L'attivazione di questi recettori induce la produzione di specie di ossigeno reattivo da parte della microglia. Questo ciclo è ulteriormente accelerato dai prodotti derivanti dalla rottura delle membrane neuronali stesse, dai composti citosolici, dall'eccesso di glutammato, che in aggiunta vanno quindi

ad attivare la microglia. C'è una perdita di omeostasi causata da un processo strettamente controllato e regolato, dove le citochine anti-infiammatorie sono utilizzate per la riparazione tissutale e il recupero funzionale. Dunque, la risultante dell'infiammazione incontrollata e l'amplificato ciclo di citochine induce danneggiamento neuronale, apoptosi e la progressione di malattie croniche.

1.4 La barriera emato-encefalica e l'ipotesi patogenetica dell'AD

La rottura della barriera emato-encefalica con conseguente aumentata permeabilità è coinvolta nella fisiopatologia dell'AD. Studi post-mortem hanno dimostrato che il danneggiamento della BEE nei pazienti con l'Alzheimer può essere dovuto all'accumulo nell'ippocampo e nella corteccia di proteine emo-derivate incluse albumina, fibrinogeno, trombina e immunoglobulina. La rottura della BEE sembra essere uno degli eventi iniziali, nella fase di invecchiamento del cervello umano e sembra dare un importante contributo al decadimento cognitivo. Montagne e i suoi collaboratori hanno utilizzato un avanzato contrasto dinamico migliorato, impiegando il protocollo MRI con una risoluzione spaziale e temporale che quantifica la permeabilità della BEE nei cervelli umani viventi. Hanno dimostrato dunque una correlazione tra la rottura della BEE e l'età a livello dell'ippocampo, una delle prime aree che viene colpita dal decadimento cognitivo. È stato dimostrato dalle analisi del CSF che la rottura della BEE nell'ippocampo e la suddivisione della corona dentata peggiorano con il Mild Cognitve Impairment che è correlato con il danneggiamento dei periciti associati sempre alla

barriera ematoencefalica. Le evidenze suggeriscono che le proteine pro-infiammatorie, Aβ e geni APOE4, sono fattori che contribuiscono alla rottura della barriera emato-encefalica. I dati suggeriscono delle associazioni patogene con ognuno di questi fattori.

La BEE è localizzata a livello delle micro-vascolature cerebrali e rappresenta la più grande interfaccia per gli scambi tra cervello e sangue. La BEE forma una barriera fisica, enzimatica e di trasporto tra i vasi e il parenchima cerebrale. Le cellule endoteliali micro-vascolari del cervello (BMCEs), allineano i vasi così da formare una barriera sulla superficie endoteliale dei vasi stessi. I periciti e gli astrociti vanno a formare una barriera continua in associazione con la membrana basale sulla superficie addominale del vaso. Le BMECs formano contatti intercellulari tramite due tipi di giunzioni conosciute come giunzioni aderenti (AJs) e giunzioni strette (TJs). Le TJs nelle BMECs sono composte da proteine di membrana come occludine, claudine, molecole di adesione giunzionale e molecole di adesione cellule selettive, che sono collegate all'actina del citoscheletro attraverso proteine citoplasmatiche. L' AJs contiene caderine legate a microfilamenti di actina tramite zone sub membranose di catenina. Queste giunzioni promuovono alta resistenza elettrica transendoteliale e ristretta permeabilità paracellulare. Tale meccanismo di conseguenza blocca il trasporto di una vasta area di molecole e regola il passaggio di ioni, macromolecole e molecole polari dal sistema circolatorio. Le cellule endoteliali della BEE sono prive di fenestrazioni e presentano un ridotto numero di vescicole pinocitiche che restringono il flusso transcellulare. Ad ogni modo, alcune

molecole e soluti sono trasportati attraverso la BEE medianti diversi meccanismi che includono trasporto, recettori, assorbimento mediato, transcitosi e diffusione passiva.

La BEE: neuro-infiammazione e patogeni.

Alcuni patogeni possono attraversare la barriera ematoencefalica sia transcellularmente che paracellularmente, oppure tramite un meccanismo definito "cavallo di Troia" dove i fagociti vengono infettati. Il *Neisseria meningitidis* è un esempio di batterio che riesce ad attraversare la BEE transcellularmente, il *Borellia burgdorferi* la attraversa paracellularmente, invece l'ultimo meccanismo sopra citato è tipico del *Chlamydophila pneumonie*. In aggiunta agli agenti patogeni, possono attraversarla direttamente anche le citochine incluse IL-1α, IL-1β, IL-6, TNFα, queste oltrepassano la BEE servendosi del sistema di trasporto e attaccando direttamente i tessuti cerebrali.

Le infezioni a carico del SNC ed altri disordini associati all'elevata presenza di citochine pro-infiammatorie, vanno ad incrementare la permeabilità della BEE. Citochine come l'IL-1, agiscono sulle cellule endoteliali del cervello al fine di incrementare l'espressione delle molecole di adesione endoteliale come le chemochine, incluse le CCL2, le selettine e le ICAM-1, le quali contribuiscono alla permeabilità della BEE. Inoltre, le citochine proinfiammatorie aumentano l'espressione delle matrici metalloproteinasiche (MMPs), che degradano le componenti della matrice extracellulare nella membrana basale dell'endotelio e delle tight junctions, anche questo fenomeno aumenta la permeabilità delle BEE. Labus e i suoi collaboratori hanno riscontrato in un modello di barriera emato-encefalica *in vitro* che l'IL-1β induce una risposta

infiammatoria e la rottura dello strato endoteliale, inoltre tale citochina pro-infiammatoria riduce l'espressione delle tight junction protein ZO-1 ed incrementa la permeabilità paracellulare e l'attraversamento della BEE.

1.5 Trattamento dei patogeni parodontali

Una migliorata igiene orale ed una meticolosa cura dentale hanno dimostrato benefici nei pazienti con demenza. Infatti, Kikutani e i suoi collaboratori hanno studiato gli effetti della cura orale in un gruppo di pazienti in casa di riposo, i quali erano affetti da demenza vascolare e da Alzheimer. Il gruppo che ha ricevuto cure orali ha mostrato alti livelli di cure dentali, per l'attuazione di questo protocollo sia le infermiere che i cargivers hanno pulito i denti e le bocche dei pazienti con lo spazzolino per circa cinque minuti dopo ogni pasto della giornata per un anno. Il gruppo che ha ricevuto cure orali ha avuto un declino significativamente minore nel punteggio del MMSE, comparato al gruppo non-oral care.

Per quanto riguarda invece gli antibiotici sistemici sono stati ampiamente usati nel trattamento delle infezioni parodontali; sebbene, linee guida chiare riguardo all'uso di questi per il trattamento della parodontite nella pratica clinica generale non sono ancora disponibili. Trattamenti antibiotici aggiuntivi di durata pari a 14 giorni nelle malattie parodontali moderate con utilizzo di amoxicillina e metronidazolo in aggiunta al tradizionale scaling e root planing hanno dimostrato una riduzione marcata della conta batterica a discapito di specie patogene come *P. gingivalis, T. denticola, e B. forsythus* ad un anno dal trattamento. Diversi pazienti trattati con trial clinici, affetti da blanda o

moderata malattia parodontale, hanno dimostrato benefici clinici e microbiologici maggiori utilizzando azitromicina e metronidazolo combinati con scaling, root planing e chirurgia per la riduzione della tasche, rispetto a pazienti trattati senza l'ausilio di antibiotici. Dunque pazienti trattati con terapia antibiotica aggiuntiva hanno mostrato risultati migliori sia dal punto di vista microbiologico che clinico.

2. Associazione tra parodontite e MCI

2.1 La definizione di Parodontite

Per malattia parodontale si intende un gruppo di patologie infiammatorie che colpiscono i tessuti di supporto del dente derivanti da un accumulo di placca; all'interno di questo gruppo si distinguono generalmente due forme di malattia: la gengivite e la parodontite. La prima è un'infiammazione reversibile che si limita ai tessuti gengivali e perciò non determina una perdita di attacco, mentre per parodontite si intende un gruppo di patologie infiammatorie che determinano l'irreversibile distruzione dei tessuti di supporto del dente.

La parodontite rappresenta la prima causa di perdita dei denti nella popolazione adulta dei paesi industrializzati e in quanto tale provoca significativi disturbi di vita relazionale ed estetica del sorriso, nonché la più grave perdita o deficit delle funzioni masticatoria e fonatoria.

La prevalenza della malattia parodontale nella popolazione sembra variare in base alla razza, all'area geografica e alle fasce di età colpite (meno dell'l% in età pediatrica e circa il 30% nella popolazione adulta).

La classificazione, sulle malattie e condizioni riguardanti i tessuti del parodonto, più recente accettata a livello internazionale è stata presentata durante il Congresso Internazionale del 1999 per la Classificazione delle malattie parodontali organizzato dall'Accademia Americana di Parodontologia (APP). Tale classificazione riconosce sette tipi differenti di infezioni parodontali, le quali sono sinteticamente riassunte nel seguente schema:

Malattie gengivali	• Malattie gengivali indotte da placca • Lesioni gengivali non indotte dalla placca
Parodontite cronica	• Localizzata • Generalizzata
Parodontite aggressiva	• Localizzata • Generalizzata
Parodontite come manifestazione di malattie sistemiche	

Malattie parodontali necrotizzanti	• GUN • PUN
Ascessi del parodonto	• Ascesso gengivale • Ascesso parodontale • Ascesso pericoronale
Parodontite associata a lesioni endodontiche	• Lesione endodontica-parodontale • Lesione parodontale-endodontica • Lesione combinata
Alterazioni e condizioni di sviluppo o acquisite	• Fattori locali connessi al dente che predispongono alle malattie gengivali o parodontali indotte da placca • Alterazioni muco-gengivali e condizioni connesse ai denti • Alterazioni muco-gengivali e condizioni di creste edentule

In particolare, la *parodontite* è definita come “malattia infiammatoria dei tessuti di sostegno del dente causata da specifici microrganismi o gruppi di specifici microrganismi che causano una distruzione progressiva del legamento parodontale e dell’osso alveolare con formazione di tasche, recessione o entrambe”. La caratteristica clinica che distingue la parodontite dalla gengivite è la presenza di una perdita di attacco (CAL) clinicamente rilevabile. Spesso è accompagnata dalla formazione di tasche e da cambiamenti della densità e dell’altezza dell’osso alveolare sottostante. In alcuni casi, la recessione della gengiva marginale può accompagnare la perdita di attacco e quindi mascherare il progresso della malattia, se la misurazione della profondità delle tasche viene effettuata senza considerare come punto di repere il livello di attacco clinico. I segni clinici dell’infiammazione, ad esempio una variazione del colore, dei contorni, della consistenza del parodonto e di emorragia, non sono sempre indicativi della perdita di attacco. Tuttavia, la presenza di sanguinamento al sondaggio nelle visite di controllo si è dimostrato un indicatore affidabile della presenza dell’infiammazione e di una potenziale perdita di attacco successiva nel sito di sanguinamento. La perdita di attacco associata alla parodontite può progredire continuamente o essere il risultato di fasi di attività e remissione della malattia.

L’infezione parodontale ha inizio da specifici patogeni invasivi orali che colonizzano il biofilm della placca batterica sulla superficie radicolare del dente, in particolare *Actinobacillus actinomycetemcomitans, Tannerella forsythia, Porphyromonas gingivalis,*

Prevotella intermedia, Fusubacterium nucleatum, Campylobacter rectus, Peptostreptococcus micros e spirochete.

Grazie ai primi studi con opportuna microscopia è stato dimostrato in modo chiaro che il numero e la proporzione dei diversi gruppi di batteri sottogengivali è differente nel parodonto sano rispetto a quello malato. Il numero totale dei batteri, determinato dal calcolo microscopico per grammo di placca, risultò due volte più alto nei siti ammalati che in quelli sani. Le differenze tra lo stato di salute e di malattia del parodonto è evidente quando vengono esaminati i morfotipi dei batteri prelevati dai siti sani e da quelli malati. Usando un microscopio a contrasto di fase o a campo scuro, si trova un minor numero di cocchi ed uno maggiore di bacilli mobili e spirochete nei siti malati rispetto a quelli sani.

Al momento attuale riguardo l'eziologia della parodontite vengono esaminati tre gruppi di fattori che determinano se si presenterà la parodontite in un soggetto: un ospite sensibile, la presenza delle specie patogene e l'assenza, o bassa proporzione, di batteri benefici. Perciò, la manifestazione clinica della distruzione parodontale è la risultante di un'interazione complessa degli aspetti eziologici, ovvero i patogeni specifici della placca dentale e i tessuti dell'ospite. In generale, una piccola quantità di placca batterica può essere controllata dai meccanismi di difesa del corpo senza distruzioni, ma quando si rompe l'equilibrio tra la carica batterica e la risposta dell'ospite, può avviarsi la distruzione parodontale. Questo avviene nei soggetti eccessivamente sensibili all'infezione parodontale o quando il paziente viene infettato da un'enorme quantità di

batteri o da un biofilm estremamente patogeno. I fattori locali e sistemici possono altrettanto modulare la suscettibilità dell'individuo.

Inoltre, benché la parodontite inizi da microbi sottogengivali, è stato accettato che i mediatori della decomposizione dei tessuti connettivi derivino primariamente dalla risposta dell'ospite all'infezione patogena. Infatti, in un individuo suscettibile, i fattori microbici virulenti stimolano il rilascio di enzimi provenienti dall'ospite e di citochine pro-infiammatorie che conducono alla distruzione dei tessuti parodontali. Il coinvolgimento dei prodotti dei microrganismi parodontali come le endotossine sull'induzione della risposta immune innata, il segnale su recettori toll (TLR), la produzione di strutture molecolari associate ai patogeni (PAMP) e il loro ruolo nella patogenesi della malattia parodontale, sono essenziali per la diffusione della gravità della malattia.

Nella gengiva infiammata e nei fluidi orali, come il fluido crevicolare gengivale e la saliva, sono stati rivelati dei livelli alti di enzimi capaci della distruzione dei tessuti, come le collagenasi e altre citochine pro-infiammatorie derivanti dall'ospite e indotte dai patogeni parodontali. Oltre agli antimicrobici tradizionalmente usati per combattere l'infezione batterica della parodontite, altri approcci aggiuntivi per gestire la malattia hanno come obiettivo il blocco dei modificatori della risposta dell'ospite come gli inibitori delle proteasi o delle citochine pro-infiammatorie, come il TNFα e l'interluchina-lβ.

2.2 Diagnosi clinica ed indici

Una definizione standard di base di malattia parodontale rappresenta un requisito fondamentale per la sorveglianza di una popolazione ampia circa la patologia in questione. Diverse definizioni sono state utilizzate in passato negli studi sulla popolazione, ma mai sono state accettate come standard universale. Nel Febbraio del 2003, la Division of Oral Health nel Centro per il Controllo e Prevenzione delle Malattie (CDC), in collaborazione con l'American Academy of Periodontology (APP), ha designato un gruppo di lavoro per esaminare la fattibilità di una sorveglianza di una popolazione base per la parodontite, con l'obiettivo di sviluppare una definizione clinica standard. A tal fine è stata condotta un'indagine nazionale sulla malattia parodontale negli Stati Uniti dal 1960 al 2000, con l'aggiunta di altri studi clinici correlati.

È stato osservato come, generalmente, la diagnosi della parodontite si basa sulla presenza ed entità dell'infiammazione gengivale, spesso misurata come BOP, PD, CAL ed estensione della perdita di osso alveolare, quest'ultima valutata radiograficamente. Inoltre si può prendere in considerazione l'età, la presenza di recessione gengivale, la mobilità dentale, l'assunzione di farmaci, la storia dentale, inclusi precedenti trattamenti, la presenza di segni e sintomi, quali dolore, ulcerazioni e depositi microbici. Ma è bene evidenziare che, nella maggior parte dei casi, le diagnosi si basano esclusivamente sulla misurazione della PD e CAL, ragione per cui è necessario descrivere accuratamente questi

due indici e le misurazioni annesse, data l'importanza che rappresentano per la diagnosi clinica sulla popolazione.

Innanzitutto, PD e CAL sono misurate tramite una sonda parodontale manuale, più comunemente, o una sonda forza-controllata, con una precisione di 1 mm. In entrambi i casi lo strumento risulta essere affusolato, a forma di bastoncello calibrato in mm, con una punta arrotondata e smussa.

Esso si inserisce con una decisa, ma delicata pressione fino al fondo della tasca, facendo attenzione a mantenere il gambo allineato con l'asse lungo della superficie del dente. Dopodiché la sonda deve essere fatta "camminare" in maniera circonferenziale attorno ad ogni superficie dentale per valutare le zone di maggiore profondità. Le forze di sondaggio sono state studiate da molti ricercatori e sembra siano tollerate ed appropriate forze nell'ordine di 0,75 N.

La profondità di tasca (PD) è la distanza tra la base della tasca ed il margine gengivale. Essa può cambiare di volta in volta anche nella malattia parodontale non trattata per i cambiamenti di posizione del margine gengivale e quindi può non essere correlata al reale attacco esistente attorno al dente.

Il livello di attacco (CAL), invece, è la distanza tra la base della tasca ed un punto prefissato sulla corona, come la giunzione amelo-cementizia (CEJ). I cambiamenti nel livello di attacco possono essere dovuti solo a guadagno o perdita dello stesso e permettono un'indicazione migliore per l'analisi del grado di distruzione parodontale. Infatti, CAL è considerata il gold standard della parodontite ed anche un'importante

misurazione del grado di attività della malattia, perciò rappresenta un indice più accurato rispetto a PD, ma al contempo è richiesto più tempo all'operatore per rilevare CAL rispetto a PD, ragion per cui viene maggiormente utilizzata quest'ultima nella routine clinica, mentre CAL è maggiormente preso in considerazione negli studi clinici ed epidemiologici.

Per quanto riguarda l'ottenimento del valore CAL, per il quale è richiesto un procedimento più complesso e preciso, come affermato poc'anzi, quando il margine gengivale è localizzato sulla corona anatomica, il livello di attacco viene misurato sottraendo, dalla profondità della tasca, la distanza dal margine gengivale alla giunzione smalto-cemento. Se queste sono uguali, la perdita di attacco è uguale a zero. Quando il margine gengivale coincide con la giunzione amelo-cementizia la perdita di attacco è uguale alla profondità di tasca. Quando il margine gengivale è localizzato apicalmente alla giunzione amelo-cementizia, la perdita di attacco è maggiore della profondità di tasca e quindi la distanza tra la giunzione smalto-cemento ed il margine gengivale dovrà essere sommata alla profondità di tasca.

La precisione e riproducibilità delle misurazioni di PD e CAL sono importanti perché le definizioni dei casi di parodontite sono basati largamente su entrambe e quindi variazioni relativamente piccole di questi valori possono portare a grandi cambiamenti nella prevalenza della malattia. Negli studi epidemiologici, le misurazioni di CAL e PD possono essere prese su tutti i denti oppure su tutti i denti in due quadranti scelti a caso (uno mascellare e uno mandibolare), oppure, anche su l'unico sito di ogni sestante con la

malattia più avanzata. In sintesi tali indici possono essere utilizzati con varie modalità in relazione alle necessità e condizioni cliniche specifiche.

È stata analizzata la deviazione standard (SD) di ripetute misurazioni di CAL effettuate da esaminatori esperti, usando una sonda manuale, ed è emerso che essa è compresa tra 0,8 e 1,07 mm. Non solo, le misure di PD e CAL sono considerate aventi una precisione inferiore a 1 mm nel 90% dei casi, quando eseguita da esaminatori esperti ed addestrati.

Diversi fattori influenzano la precisione nella misurazione di PD e CAL, e i risultati possono essere sovrastimati oppure sottostimati rispetto all'attuale stato di malattia. Durante il sondaggio, la punta della sonda può incontrare ed arrestarsi a livello di depositi di tartaro o imperfezioni superficiali radicolari, e così non penetrare fino al fondo della tasca. Evidenze istologiche mostrano che nei siti di infiammazione, la punta della sonda non si ferma alla base del solco o della tasca, ma può estendersi fino alle fibre di fissaggio intatte o fino alla cresta alveolare ossea. Così, per una data forza, la PD varia, in una certa misura, con l'infiammazione; i risultati sono considerati molto più accurati per i siti sani rispetto a quelli malati. L'uso di sonde automatiche con forza standard permettono di ottenere registrazioni automatiche. Le sonde automatiche possono sottovalutare la PD e CAL nei pazienti non trattati. Alcuni dati dimostrano che risultati simili vengono ottenuti sia con sonde manuali sia con sonde automatiche. Inoltre, anche la variabilità dell'esaminatore deve essere considerata un fattore che influenza la precisione della misurazione.

Alcuni studi hanno riferito che gli esami parziali della bocca portano ad una sottostima della prevalenza e della gravità della parodontite. Grandi studi, come anche varie indagini nazionali condotte in questi ultimi anni, hanno utilizzato registrazioni della bocca parziali, selezionando casualmente due quadranti (uno mascellare e uno mandibolare) nell'ipotesi che questi erano rappresentativi di tutto lo stato della bocca. Generalmente, i piccoli studi hanno usato esami di tutta la bocca.

A tal proposito l'evidenza suggerisce che gli esami "mezza-bocca" sono sufficientemente precisi per studi sulla prevalenza, ma sono meno adeguati per studi sull'incidenza, in cui i cambiamenti possono essere piccoli. Così, tutte le stime di prevalenza dovrebbero essere considerate sottostimate.

La recessione gengivale rappresenta un'aggiuntiva complicanza nell'eseguire e interpretare le misurazioni di PD e CAL e nel formulare, conseguentemente, la definizione di parodontite per il caso specifico. La perdita di attacco può essere causata dalla formazione della tasca parodontale, dalla recessione gengivale, o dalla combinazione di entrambi. In alcune forme di malattia parodontale, la perdita di attacco si traduce in un'eccessiva recessione gengivale, piuttosto che in una tasca parodontale.

Inoltre, in molti gruppi, specialmente quelli riguardanti la popolazione giovane, le misurazioni di PD e CAL sono bene correlate tra loro, ed entrambe sono accettate come misurazioni dello stato parodontale. Tuttavia, passata la mezza età, la perdita di attacco sembra aumentare maggiormente rispetto a PD; tuttavia, mentre si sviluppa progressivamente la recessione gengivale, piccoli aumenti di PD non sono equivalenti ai

maggiori incrementi di CAL, e quindi CAL e PD non sono più ben correlati. Perciò utilizzare PD come unica misurazione dello stato parodontale o della progressione della malattia può essere fuorviante perché la malattia grave può essere sottostimata significatamene, soprattutto nella popolazione anziana. Al contrario, i modelli di progressione della malattia basati solo sul CAL hanno solo un discreto successo, data la bassa o moderata sensibilità che hanno. Tutte queste osservazioni forniscono un forte sostegno a favore dell'utilizzazione di entrambi gli indici, PD e CAL, nel determinare la definizione specifica di parodontite per il caso.

Infine, la valutazione radiografica dell'estensione e del modello di perdita ossea è utilizzata per misurare la gravità e l'estensione della malattia parodontale. Infatti, la radiografia è uno strumento importante nella diagnosi della malattia parodontale, nella determinazione della prognosi e nella valutazione della terapia, ma negli studi epidemiologici non viene utilizzata in maniera predominante a causa dell'esposizione alle radiazioni, della macchina radiografica specifica necessaria, dei problemi tecnici e del tempo richiesto per l'ottenimento delle pellicole. Inoltre, quando vengono lette visivamente le radiografie devono mostrare dal 30% al 50% di demineralizzazione e ciò comporta una sottostima della distruzione ossea.

I primi studi sull'applicazione di metodi e tecniche epidemiologiche per la malattia gengivale e parodontale sono iniziati più di mezzo secolo fa. A quel tempo, il livello di conoscenza circa l'eziologia, patogenesi e storia naturale della malattia parodontale era

scarso. Le due maggiori malattie parodontali, la gengivite e parodontite, erano combinate e considerate essere un continuo l'una dell'altra.

Non solo, strumenti per misurare lo stadio della patologia, criteri di malattia, classificazioni e definizioni standard del caso non esistevano. I primi studi epidemiologici erano focalizzati esclusivamente sull'infiammazione gengivale. Gli sforzi di questi ricercatori dimostrarono la validità dell'approccio epidemiologico e stimolarono lo sviluppo di concetti più sofisticati e tecniche per misurare la prevalenza e l'estensione della malattia parodontale. Basandosi su queste osservazioni, furono sviluppati due indici: l'indice parodontale di Russel (PI) e l'indice di malattia parodontale (PDI). Entrambi gli indici erano basati sul concetto che la gengivite è uno stadio iniziale della parodontite, e senza intervento, progredisce in parodontite. Entrambi gli indici si focalizzano sull'infiammazione dei tessuti molli e la formazione della tasca parodontale.

Il PI era un indice visivo della presenza di infiammazione e tasche parodontali. Lo stato parodontale di ogni dente e il suo tessuto di supporto era definito come: clinicamente normale, con una leggera infiammazione gengivale, gengivite con tasche parodontali, avanzata distruzione parodontale, o parodontite con perdita di funzione, e la definizione veniva attribuita utilizzando una scala da 0 a 8. I punteggi dei denti venivano sommati e, poi, calcolato il punteggio medio per il paziente. Lo stato parodontale del paziente era descritto come normale, gengivite, iniziale distruzione parodontale, provata distruzione parodontale o finale distruzione parodontale. Questa terminologia e la quantificazione di accompagnamento sembra essere il primo tentativo di classificazione dell'estensione e

della gravità della malattia parodontale. Il PI è stato utilizzato ampiamente nelle indagini epidemiologiche di numerose popolazioni, incluse le prime due indagini nazionali negli Stati Uniti. Ma il PI era viziato, concettualmente e metodologicamente, in quanto la gengivite non è più considerata la fase iniziale della parodontite, e l'indice non prende in considerazione misure specifiche della parodontite, come il PD, CAL e perdita ossea radiografica. Di conseguenza, l'indice non è più considerato valido.

Dal 2003 il CDC (Center for Disease Control and Prevention) e AAP (American Academy of Periodontology) hanno iniziato a lavorare per migliorare ed espandere la sorveglianza di parodontite nella popolazione adulta americana. L'obiettivo strategico di questa collaborazione era di sviluppare delle definizioni di caso per la parodontite in modo da usarle nella sorveglianza sulla popolazione. La mancanza di definizioni globalmente accettate di parodontite ha rappresentato da sempre una sfida, ed ha suggerito e dimostrato di essere il maggior fattore limitante nel determinare e confrontare le stime sulla prevalenza della parodontite attraverso sondaggi. Quindi, un primo passo necessario per la sorveglianza è stato quello di sviluppare definizioni standard universalmente accettate e riconosciute. Gli indici utilizzati sono stati PD e CAL e le rispettive misurazioni sono state ottenute dai siti interprossimali di individui selezionati.

In una prima relazione è stata sviluppata la definizione di parodontite lieve, e dunque inclusa nella classificazione, ma successivamente sono state revisionate anche le altre definizioni dei casi. In tal modo è stato possibile determinare la prevalenza totale della patologia parodontale nella popolazione ed avere un quadro più esaustivo circa le varie

definizioni di caso. Per parodontite lieve è stata proposta la seguente definizione: due o più siti interprossimali con CAL maggiore o uguale a 3 mm, e due o più siti interprossimali con PD maggiore o uguale a 4 mm (non sullo stesso dente) oppure un sito con PD maggiore o uguale a 5 mm. Questa definizione è stata sviluppata tramite il consenso del gruppo di lavoro per catturare i casi importanti prima del raggiungimento dello stato di malattia moderata utilizzando le migliori tecniche ed evidenze epidemiologiche.

Tale definizione di parodontite lieve nasce anche dall'esigenza di riconciliare le definizioni di parodontite per la sorveglianza sulla popolazione proposte dagli Stati Uniti con quelle europee. Infatti, la pubblicazione relativa l'inclusione di quest'ultima definizione di parodontite lieve è stata chiamata "La riconciliazione tra le definizioni di caso della CDC-APP e le definizioni europee di parodontite per la sorveglianza e ricerca epidemiologica".

In particolare, le definizioni di parodontite proposte dal gruppo di lavoro del CDC e dal gruppo di lavoro europeo furono messe a confronto tramite una serie di dati parodontali di analisi ottenute da sei siti per dente per tutti i denti (eccetto i terzi molari) da un gruppo di 456 individui (229 maschi e 227 femmine; con un'età compresa tra 35 e 82 anni), tra cui 218 bianchi non ispanici, 126 afro-americani non ispanici e 112 individui ispanici, con un numero maggiore di 2 denti naturali.

Le definizioni europee consistevano in due livelli di gravità della malattia basati esclusivamente sulla misurazione di CAL da tutti i siti. In particolare, un caso iniziale di

parodontite era definito dalla presenza di CAL maggiore o uguale a 3 mm in due o più denti non adiacenti, e la sostanziale gravità ed estensione della malattia era definita dalla presenza di CAL maggiore o uguale a 5 mm nel 30% dei denti presenti. Poiché la definizione europea iniziale includeva tutti i casi, esclusi quelli gravi, i loro casi iniziali furono confrontati con la lieve e moderata parodontite fornita dalla combinazione di CDC-AAP.

Le relazioni tra i casi presi dalla CDC-AAP e le definizioni europee furono valutati per la loro relativa sensibilità, specificità e percentuale di errata classificazione dei casi e furono osservati nel complesso.

È stato analizzato che il 29.4% del totale ha la parodontite come definita dalla CDC-APP, tra cui 4.8% ha una forma grave, 17.5% ha una forma moderata e il 7.0% ha una forma lieve. Utilizzando la definizione europea, un totale di 46.5% ha la parodontite, di cui 4.8% con una sostanziale gravità ed estensione e il 41.7% con una parodontite iniziale.

La CDC-AAP combina lieve/moderata e la definizione europea iniziale individua una prevalenza rispettivamente del 24.6% e 41.7%.

Tuttavia, le definizioni di parodontite grave della CDC-AAP e Europea individuano entrambi un 4.8% di parodontite grave.

Le definizioni dei casi di parodontite della CDC-AAP ed europee furono confrontate utilizzando due parametri: 1) l'abilità di individuare similarmente la prevalenza della parodontite, che è rilevante per la sorveglianza della popolazione base; e 2) l'abilità di individuare gli stessi casi e non casi di parodontite, che è rilevante per l'epidemiologia e

la ricerca. Nel complesso, la definizione europea ha rilevato il 42% di prevalenza di casi iniziali rispetto al 24.6% della CDC-AAP di casi lievi/moderati. Tuttavia, le definizioni della CDC-AAP ed europea hanno rilevato la stessa prevalenza di parodontite severa (4.8%).

Le differenze osservate nella prestazione della definizione della CDC-AAP ed Europea possono essere attribuite a diversi fattori. Primo, le definizioni europee erano originariamente sviluppate per la ricerca per identificare le persone a rischio di malattia e non per la sorveglianza basata sulla popolazione. La definizione di caso iniziale era basata sull'applicazione di una più sensibile soglia che richiede solo CAL maggiore o uguale a 3 mm in due o più siti non adiacenti. Questa bassa soglia include un grande pool di casi, tra cui quelli a rischio per lo sviluppo della malattia. Nel complesso, la definizione di malattia iniziale ha una soglia bassa quando confrontata con la definizione di caso più conservativa della CDC-AAP e prende in considerazione ulteriormente PD, o due o più siti interprossimali con PD maggiore o uguale a 4 mm oppure uno o più di un sito con PD maggiore o uguale a 5 mm, la quale aumenta la sensibilità di includere casi veri.

L'utilizzo solamente della misurazione di CAL per considerare la parodontite, come nella definizione europea, senza includere ulteriormente PD è riconosciuto come un'importante limitazione di questa definizione.

Secondo, il numero dei siti utilizzati per ogni definizione può influenzare la prevalenza dei casi individuati. La definizione europea utilizza misurazioni da tutti i siti rispetto alla definizione della CDC-AAP che utilizza solo quattro siti interprossimali per

le misurazioni. I siti interprossimali sono molto più affidabili nella rilevazione della malattia vera, mentre le misurazioni di metà viso o metà lingua potrebbero essere influenzati dall'abrasione e retrazione gengivale per spazzolamento, con una sottostima risultate della malattia. È interessante notare che entrambe le definizioni di malattia furono sviluppate basandosi su misurazioni ottenute dai siti interprossimali e rispettando criteri molto rigorosi per individuare i casi di parodontite grave.

Perciò, in accordo con i dati valutati accuratamente sia dagli Stati Uniti che dall'Europa, è stato possibile introdurre la definizione di parodontite lieve, e quindi una nuova definizione di caso per la sorveglianza della parodontite, la quale completa le due precedenti definizioni per indagini precise sulla prevalenza totale della malattia. Da una prospettiva di salute pubblica, il monitoraggio della parodontite lieve è importante nella popolazione perché questa categoria è particolarmente responsabile delle cure cliniche preventive di routine e delle pratiche di igiene orale personali per prevenire e controllare la parodontite, ed è critica per predire il rischio di sviluppo della malattia da moderata a grave nel futuro.

2.3 Associazione tra salute orale e MCI

Mild Cognitive Impairment (MCI), in italiano compromissione cognitiva lieve, nota anche come disturbo neurocognitivo minore (nel DSM V) è una condizione diagnosticata agli individui che hanno deficit cognitivi che sono maggiori rispetto a quelli che

statisticamente si possono aspettare per la loro età e istruzione, ma che non interferiscono significativamente con le loro attività giornaliere.

Lo si considera come la frontiera o stato di transizione tra l'invecchiamento normale e la demenza (quest'ultima denominata disturbo neurocognitivo maggiore nel DSM V). Anche se il MCI si può presentare con una grande varietà di sintomi, quando la perdita di memoria diventa il sintomo predominante spesso lo si definisce "MCI amnestico" (a-MCI) e viene visto frequentemente come un fattore di rischio per la malattia di Alzheimer.

Partendo dai presupposti che la MCI è spesso considerata come precursore dello stato di demenza, un’eventuale associazione tra quest’ultima e la malattia parodontale, attualmente non verificata da nessuno studio, potrebbe influenzare significativamente gli approcci terapeutici nei confronti di entrambe le patologie. Perciò se da un lato, l’obiettivo della ricerca proposta con tale tesi è quello di verificare una possibile correlazione tra MCI e parodontite, dall’altro lato è essenziale menzionare i già avvenuti studi relativi al deterioramento cognitivo ed altre problematiche dentali. Tra questi ricordiamo l’analisi sperimentale condotta nel 2015 da Xi Chen, Jennifer J. Clarck, Hong Chen e Supawadee Naorungroj, circa l’associazione tra deterioramento cognitivo, capacità di eseguire autonomamente le cure di igiene orale e gravità della carie dentale nella popolazione anziana. L’evidenza quotidiana di questi pazienti affetti da MCI mostra una compromissione progressiva delle attività della normale routine giornaliera, includendo anche le cure domiciliari per il mantenimento di una buona salute orale, motivo per cui i ricercatori sono stati spinti nel verificare l’associazione poco prima citata. Nello specifico

è stato osservato che i pazienti MCI hanno difficoltà a rimanere un tempo sufficiente impegnati nello spazzolamento dei denti, solitamente a causa di un deficit di attenzione, oppure dimenticano di rimuovere la placca dopo i pasti, oppure di rimuovere la protesi prima di coricarsi la notte, per un deficit di memoria.

Nello studio trasversale sopracitato di Xi Chen sono stati analizzati 600 anziani, e per ognuno estratte valutazioni mediche (storia medica e farmaci assunti), dentali (esame orale completo, correlato di radiografia OPT), e funzionali-cognitive (tra cui anche la capacità di igiene orale domiciliare, tramite la quale i pazienti sono stati classificati in autosufficienti, richiedenti assistenza e non collaboranti), dalle quali è stato possibile suddividere i pazienti in tre principali gruppi:

1) pazienti senza compromissione cognitiva (492),

2) pazienti MCI (57),

3) pazienti con demenza (51).

I dati raccolti da Xi Chen sono stati elaborati secondo il metodo presentato dal protocollo di ricerca, e l'analisi finale ha dimostrato che il livello cognitivo, la capacità individuale di igiene orale e la patologia cariosa sono inter-correlate. Difatti il 42% dei pazienti con demenza e il 37% dei pazienti con MCI, alla prima visita, presentavano almeno cinque denti cariati, una percentuale notevolmente superiore rispetto al solo 25% dei pazienti cognitivamente normali con almeno cinque carie all'esame iniziale. Anche la capacità di igiene orale è stata valutata in relazione alla gravità dalla carie ed infine osservato che il gruppo MCI e il gruppo demenza mostravano rispettivamente un rischio

di 1,7 e 1,8 maggiore di avere un dente cariato rispetto al gruppo cognitivamente normale; al contempo però l'associazione tra carie dentale e deficit cognitivo risulta insignificante, quando sono rispettate adeguate misure di igiene orale, ad esempio, anche, tramite assistenza del paziente. Tale risultato, quindi, suggerisce che una più attenta gestione, analisi, valutazione medica e dentale nel paziente anziano da parte del dentista o igienista dentale può migliorare significativamente l'igiene domiciliare, partendo da una semplice, ma efficace istruzione all'igiene orale, ma soprattutto coinvolgendo nella cura dentale anche terzi, come parenti o assistenti, al fine di ottenere un minor rischio carie in pazienti affetti da MCI o demenza, i quali come risultato della loro patologia presentano un progressivo deterioramento delle normali attività quotidiane, incluse ovviamente le cure dentali.

Uno studio giapponese più recente, pubblicato nel 2014, ha, invece, analizzato il rapporto tra la perdita dei denti e la graduale compromissione lieve della memoria nell'anziano paziente. L'analisi prospettica condotta, della durata di cinque anni, ha avuto come obiettivo quello di verificare l'effetto della perdita dei denti sulla sindrome MMI (Mild Memory Impairment, deficit di memoria lieve), verificando ad ogni follow-up lo sviluppo di quest'ultima in relazione al numero di denti residui. Non solo oltre ad MCI, anche MMI rappresenta un importante fattore di rischio per la demenza, come dimostrano i seguenti risultati dei sondaggi compiuti sulla popolazione anziana, secondo i quali il 21,2% dei pazienti affetti da MMI progressivamente sviluppa una demenza, nello specifico il 10,6% AD (Morbo di Alzheimer), nonostante MMI non determini gravi

danneggiamenti dell'attività della vita quotidiana. In virtù di quanto affermato spesso MCI e MMI vengono tra loro paragonate e assimilate, seppur rappresentino due stati cognitivi differenti, ma, in ogni caso, spesso preludio di una demenza successiva. In tale studio i ricercatori hanno preferito analizzare MMI, piuttosto che MCI, in quanto quest'ultimo è caratterizzato da uno stato cognitivo che interferisce con le attività della routine quotidiana, perciò la perdita dei denti sarebbe stata fortemente influenzata dall'eventuale mancata igiene orale domiciliare, mentre prendendo come riferimento MMI è stato osservato esclusivamente l'effetto della perdita dei denti sulla progressione della stessa sindrome. Il numero dei soggetti partecipanti allo studio è stato di 2.335, i quali risultavano sia all'esame iniziale che ai successivi follow-up cognitivamente sani ed, eventualmente, affetti esclusivamente da MMI, mentre sono stati esclusi coloro che mostravano già segni e sintomi di demenza, o anche MCI. La definizione di MMI seguita da tale progetto di ricerca, e che quindi ha permesso una precisa distinzione con altri stati cognitivi, è stata quella proposta da Ishikawa e coll., secondo cui MMI è caratterizzata da:

1) nessun danneggiamento delle attività della vita quotidiana (ADL),

2) normale funzione cognitiva generale,

3) compromissione oggettiva della memoria,

4) assenza di demenza o depressione.

Gli esami dentali sono stati eseguiti da due odontoiatri calibrati per la tecnica da entrambi eseguita, i quali hanno suddiviso i soggetti all'esame obiettivo in cinque gruppi

basati sul numero di denti rimanenti: gruppo edentulo e gruppi con 1-8 denti, 9-16 denti, 17-24 denti e 25-32 denti. Ad ogni follow-up veniva eseguito nuovamente un esame completo e, eventualmente, apportate le modifiche circa il gruppo di appartenenza delle condizioni dentali e cognitive. Dopo circa 5 anni i vari dati sono stati elaborati ed è stato dimostrato che, i soggetti con un numero di denti inferiore (precisamente meno di 10) dall'inizio al termine dello studio hanno avuto un deterioramento della memoria maggiore del 50% rispetto ai soggetti con un numero superiore di denti residui. Tali risultati, quindi, convalidano, l'associazione tra perdita dei denti e disfunzione cognitiva, mostrando che il numero di denti persi rappresenta un fattore di rischi per MMI, ragion per cui è necessario intervenire preventivamente con misure di profilassi e terapeutiche ad un'età relativamente ancora giovane, in modo tale da ridurre la probabilità di insorgenza e progressione di disturbi della memoria. Non solo, lo studio verificando il legame tra le due condizioni pone le basi per la ricerca dei fattori biologici che regolano questo nesso causale. Le spiegazioni attualmente più accreditate risultano essere le seguenti:

1) l'infiammazione cronica legata alla malattia parodontale,

2) fattori genetici correlati sia alla malattia parodontale sia a MMI,

3) una riduzione dei recettori sensoriali,

4) ulteriori fattori di confusione correlati sia alla perdita dei denti sia alla MMI.

In ultima istanza è opportuno citare la ricerca anglosassone concernente specificatamente la parodontite e il morbo di Alzheimer, tramite la quale, partendo da un campione di 60 pazienti affetti da AD, è stato possibile confermare l'ipotesi iniziale

secondo cui la malattia parodontale è associata ad un aumento del declino cognitivo, in quanto l'infiammazione cronica parodontale determina uno stato infiammatorio sistemico, caratterizzato dalla presenza nel siero di alti livelli della proteina C-reattiva (CRP) e delle citochine pro-infiammatorie (ad esempio TNFα), e al contempo da una bassa quota di marcatori anti-infiammatori (IL-10), il quale influisce sulla progressione di AD. I 60 partecipanti selezionati per lo studio di coorte presentavano un livello di gravità del morbo di Alzheimer compreso tra lieve e moderato, non erano fumatori e hanno avuto la capacità di fornire il proprio consenso nel partecipare alla ricerca, firmando un apposito modulo informativo. Per ciò che riguarda le valutazioni cognitive e dentali, i pazienti sono stati dapprima sottoposti ad un esame cognitivo specifico per AD, ovvero la scala ADAS-cog, e successivamente al Mini-Mental test (MMSE), in modo tale da ottenere anche un risultato cognitivo secondario. L'esame dentale, invece, è stato condotto da un igienista dentale, il quale ha raccolto per ogni dente, suddiviso in sei siti, l'indice di placca, l'indice di sanguinamento e la profondità di tasca, cosicché è stato possibile formulare, in secondo momento, una valutazione circa l'assenza o presenza di parodontite rispettando i criteri stipulati dall'Accademia Americana di Parodontologia (AAP). Terminati 6 mesi dalla prima visita ne è stata eseguita una seconda, in cui sono stati rivalutati i pazienti per gli identici indici inziali, ma da un numero di 60 partecipanti si è passato a 52, per vari motivi, tra cui decesso, sopraggiunta condizione di fumatore intermittente, non volontà di sottoporsi nuovamente alla visita cognitiva e dentale. Dall'analisi finale non è emerso una significativa e chiara associazione tra la gravità di

demenza e il grado di parodontite, piuttosto è stato dimostrato che la presenza di parodontite è associata ad un aumento del declino cognitivo dopo un follow-up di 6 mesi, come evidenziato dal ridotto punteggio dell'ADAS-cog in relazione alla presenza di parodontite. Mentre non è stato rilevato alcun rapporto significativo tra il livello nel siero degli anticorpi di P. *gingivalis* e il declino cognitivo, a causa o del ruolo supplementare che potrebbero avere altri microrganismi o del livello anticorpale presentato da alcuni individui, in quanto l'esposizione a P. *gingivalis* non ha causato la malattia parodontale.

3. La demenza

3.1 Cos'è la demenza

La popolazione mondiale sta celermente invecchiando e parallelamente aumenta il numero di persone affette da demenza, le quali mostrano gravi difficoltà intellettive e motorie, con perdita totale o parziale di autosufficienza, che si riflette significativamente su parenti e società. La demenza è un importante problema di salute pubblica, in quanto costituisce la causa principale di incapacità a lungo termine nella terza età, con un energico impatto clinico e medico legato essenzialmente alla non totale comprensione dei meccanismi patogenetici e, perciò assenza di un trattamento in grado di far regredire la malattia. Le stime più recenti, fomite dal Centro per il Controllo e Prevenzione delle Malattie (CCM), suggeriscono che ci sarà un continuo incremento nei successivi anni nella popolazione, raddoppiando all'incirca ogni venti anni, a causa dei cambiamenti

demografici in atto e della crescente aspettativa di vita, tanto che è atteso un numero di ben 65 milioni di persone nel 2030 affette da demenza e 115,4 milioni di casi nel 2050. In particolare, negli Stati Uniti sono 5 milioni le persone che vivono con tali degenerazioni del SNC, causando spesso anche la morte degli stessi. Parallelamente, l'impatto socio-economico delle demenze è enorme, con costi assistenziali che ammontano attualmente all'1% del PIL mondiale (600 miliardi di dollari). L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha, pertanto, riconosciuto le demenze come una priorità per la sanità pubblica. Infatti, nelle linee guida pubblicate dall'Organizzazione mondiale della sanità (Oms) il 14 maggio 2019, si sottolinea come una modifica degli stili di vita (come l'abitudine al fumo, il consumo eccessivo di alcol, una alimentazione non equilibrata) o il controllo di alcune malattie (quali l'ipertensione, diabete, obesità, depressione, ipercolesterolemia) e fattori non strettamente sanitari (come l'isolamento sociale e gli stimoli cognitivi) possano essere implicati nell'insorgenza della demenza e, in generale, del decadimento cognitivo.

La demenza si definisce come un deterioramento cronico acquisito delle funzioni superiori ed in presenza di un livello di coscienza normale. È una sindrome caratterizzata da un complesso di segni e sintomi, che comporta un progressivo deterioramento delle funzioni intellettive. Possono essere varie le abilità cognitive alterate nella demenza, tra cui la memoria, il linguaggio, il ragionamento, la capacità decisionale, l'attenzione e l'orientamento, di entità tale da interferire con il regolare ed abituale svolgimento delle comuni attività quotidiane. Quindi cambiamenti cognitivi e comportamentali

interferiscono con il lavoro, le attività sociali, i rapporti e, perfino, con la semplice routine giornaliera dell'individuo. Esistono casi di demenza irreversibile e reversibile. Quest'ultima, definita anche pseudo-demenza, è una condizione relativamente rara e si manifesta successivamente ad un'altra condizione medica, quale, ad esempio, depressione, deficit nutrizionali (es. vit.B12), disordini metabolici ed endocrini (es. ipotiroidismo), tumori del cervello o abuso di sostanze. Inoltre, esistono alcune classi di farmaci potenzialmente in grado di determinare un deterioramento cognitivo negli anziani, tra cui anticolinergici, psicotropici, analgesici, sedativi-ipnotici. Invece, la demenza irreversibile, anche detta primaria o pura, coinvolge i processi neurodegenerativi e/o vascolari del cervello. Esistono diverse demenze irreversibili, tra cui la demenza frontotemporale, demenza a Corpi di Lewy (LBD), demenza associata al morbo di Parkinson, demenza Fronto-Temporale (FTD), demenza vascolare e mista, infine, il morbo di Alzheimer (AD), il quale rappresenta tra tutte la forma più comune e diffusa (circa il 70% delle demenze negli Stati Uniti).

La diagnosi delle varie forme di demenza è clinico-strumentale e si basa su criteri diagnostici ben definiti. Sono di cruciale importanza: l'anamnesi, l'esame obiettivo generale e neurologico, la valutazione neuropsicologica e le indagini di laboratorio e le indagini strumentali.

3.2 La malattia di Alzheimer

Lo psichiatra e neuropatologo tedesco dott. Alois Alzheimer descrisse per primo tale condizione di demenza degenerativa che in seguito venne definita come Alzheimer (AD). Nel suo epocale intervento alla conferenza del 1906 e in un successivo articolo del 1907, descrisse il caso di Auguste D., una donna di 51 anni con "un'insolita malattia della corteccia cerebrale", la quale aveva presentato una progressiva perdita di memoria e di linguaggio, associata a disorientamento, disturbi comportamentali (allucinazioni, illusioni, paranoia) e disagio psicosociale. Sorprendentemente, molte delle osservazioni cliniche e scoperte patologiche che il dott. Alzheimer descrisse più di un secolo fa continuano a rimanere al centro della conoscenza medica attuale circa la malattia.

AD è un importante problema di salute pubblica, rappresentando la forma più comune di demenza (50-60% di tutte le forme dementigene), con un significativo peso sulla salute globale, sulla società e sulle finanze dello stato. Una stima di circa 5 milioni di americani ha AD, ogni 68 secondi viene eseguita una nuova diagnosi. Negli Stati Uniti, AD è la quinta causa di morte negli anziani, e circa 200 miliardi sono spesi annualmente per gestire la cura degli individui che vivono con la demenza. In tutto il mondo, è stato stimato che 35 milioni di persone hanno AD ed altri tipi di demenza, e circa 65 milioni di persone sono previste nel 2030.

La prevalenza di AD è più alta nelle femmine, e ciò riflette l'aspettativa di vita più lunga delle donne. Un basso livello di educazione ed istruzione è stato associato ad un maggior rischio di demenza, legato all'idea che l'educazione serve ad aumentare la riserva ed elasticità cognitiva per la patologia AD. Un grande numero di evidenze

suggeriscono che il fattore di rischio cerebrovascolare gioca un ruolo significativo sia nello sviluppo che nella progressione di AD; le persone con una storia di diabete, ipertensione, obesità e fumo hanno un maggior rischio di AD. Storie familiari di AD in parenti di primo grado e storie di traumi cerebrali con perdita di coscienza sono altri fattori di rischio per lo sviluppo di AD.

AD è una malattia multifattoriale, in cui intervengono molteplici cause, non tutte conosciute, e sono associati diversi fattori modificabili e non con lo sviluppo e la progressione. L'età è il più grande fattore di rischio per lo sviluppo di AD. Infatti, la probabilità di sviluppare AD aumenta esponenzialmente con l'età, approssimativamente raddoppia ogni 5 anni dopo i 65 anni. La grande maggioranza di individui affetti da AD ha un'età di 65 anni o più, ed è caratteristico un esordio tardivo (95% di tutti i casi). Da un punto di vista genetico, l'AD può essere distinta in forme sporadiche, che costituiscono il 90% circa dei casi, e in forme familiari, caratterizzate dalla presenza di almeno due casi di malattia nei familiari di I grado. Nel 10-20% delle forme familiari è possibile, inoltre, individuare forme di malattia geneticamente determinate, a trasmissione autosomica dominante, sostenute da mutazioni a carico dei geni codificanti per APP (Proteina Precursore dell'Amiloide), PSEN1 (Presenilina 1) e PSNE2 (Presenilina 2) e localizzati rispettivamente sui cromosomi 21,14 e 1, che determinano un'aumentata produzione del peptide beta-amieloide. Tali mutazioni genetiche sono associate con lo sviluppo di AD prima dei 65 anni (minore del 5% dei casi). Per quanto concerne le forme sporadiche, sono stati identificati numerosi polimorfismi e mutazioni con significato protettivo o

favorente. L'unico attualmente convalidato è il polimorfismo dell'apoliproteina E: soggetti eterozigoti e omozigoti per il genotipo 4 hanno, infatti, un rischio di sviluppare AD rispettivamente 2-3 e 6-8 volte maggiore rispetto agli altri genotipi. Le forme genetiche sporadiche di AD sono molto complesse e ancora non ben comprese. Inoltre, gli individui con la sindrome di Down (trisomia 21) hanno un aumentato rischio di sviluppare una leggera-tardiva AD.

AD è un progressivo disordine neurodegenerativo del cervello, che determina una rilevante distruzione delle strutture e funzioni cerebrali. A livello cellulare, AD è caratterizzato da una progressiva perdita dei neuroni corticali, specialmente le cellule piramidali, le quali mediano le funzioni cognitive più alte. Importanti evidenze scientifiche suggeriscono che AD causa ben presto una disfunzione sinaptica, distruggendo la comunicazione all'interno dei circuiti neuronali fondamentali per la memoria ed altre funzioni cognitive. La degenerazione relativa all'AD inizia nel lobo temporale medio, specificatamente nella corteccia entorinale e nell'ippocampo. I danni a tali strutture cerebrali si traducono clinicamente con deficit nella memoria ed apprendimento, tipiche manifestazioni iniziali di AD. La degenerazione si diffonde poi in tutta la corteccia temporale associata e nelle aree parietali. Dato che la malattia progredisce, la degenerazione può essere osservata anche nella corteccia frontale ed, infine, nella gran parte della neocorteccia rimanente. Inoltre, è certo che AD provoca danni a più componenti del sistema limbico, tra cui la formazione dell'ippocampo ed i principali tratti di fibre che collegano quest'ultima alla corteccia celebrale (fornice e

cingolo), amigdala, giro del cingolo e talamo. Questo modello di diffusa neurodegenerazione, che colpisce sia la regione limbica sia quella neocorticale, è strettamente collegato con i progressivi deficit cognitivi e cambiamenti comportamentali che i pazienti con AD presentano. Oltre al deterioramento cognitivo di più domini (memoria, linguaggio, ragionamento, esecuzione e funzione visivo-spaziale), i pazienti mostrano una ridotta capacità a svolgere le attività della vita quotidiana, con spesso disturbi psichiatrici, emotivi e della personalità.

È stato teorizzato che il danno neuronale presente in AD è correlato alla deposizione di proteine anomale sia all'interno che all'esterno dei neuroni. Tali lesioni sono il segno distintivo dell'Alzheimer, note come "placche" o "grovigli". Le proteine anomale vengono depositate nella corteccia secondo un modello stereotipato di diffusione, il quale segue i percorsi neuronali che mediano la memoria ed altre funzioni cognitive. Quindi sotto il profilo neuropatologico, l'AD è caratterizzata microscopicamente dalla presenza di placche amieloidi extracellulari, ma anche di grovigli neurofibrillari intraneuronali. Le così definite placche senili o amieloidi sono costituite da un nucleo centrale di fibrille di beta-amilode, circondate da un anello di neuriti distrofici e da cellule gliali reattive. Normalmente, le cellule per tutta la vita rilasciano Aβ solubile dopo la scissione di APP, un recettore di superfice. AD comporta una scissione anormale di APP, la quale determina una precipitazione di Aβ in foglietti beta densi e successiva formazione di placche senili.

Si ritiene che poi la microglia e gli astrociti stabiliscano una risposta infiammatoria per eliminare gli aggregati amieloidi, e proprio questa infiammazione provoca la

distruzione dei neuroni adiacenti e dei loro neuriti (assoni e dendriti). I “grovigli neurofibrillari” (NFT) sono aggregati intracellulari della proteina tau, iperfosforilata anormalmente, la quale in condizioni fisiologiche è una proteina stabilizzante i microtubuli, con, inoltre, un ruolo fondamentale nel trasporto intracellulare (assonale e vescicolare). Perciò è possibile che gli NFT interferiscono con il normale trasporto assonale dei componenti necessari per il corretto funzionamento neuronale e la sopravvivenza, causando, in ultima istanza, la morte dei neuroni, dovuta, appunto, alla perdita della fisiologica funzione di stabilità per i microtubuli e, quindi, il citoscheletro. L’evidenza scientifica sostiene che tali alterazioni neurologiche della corteccia cerebrale siano uno dei primi processi patologici in AD, precedendo l’esordio clinico della malattia di 10-20 anni e interessando principalmente, nelle fasi iniziali della degenerazione, le regioni mesiali dei lobi temporali, l’ippocampo e le strutture paraippocampali, l’amigdala, la corteccia entorinale, nonché le strutture sottocorticali (quali il Nucleo colinergico di Meyert), per poi coinvolgere diffusamente la corteccia cerebrale. In ultima istanza, si ritiene che l’eccessiva produzione di sostanza amiloide, per aumentata sintesi e/o ridotta clearence, determinerebbe un’abnorme fosforilazione della proteina tau con conseguente disfunzione citoscheletrica, morte neuronale e deficit neurotrasmettitoriali.

Nonostante ciò, rimane ancora aperto il dibattito circa la sequenza temporale degli eventi nello sviluppo di AD, a partire dalla deposizione di placche amiloidi fino alla formazione di NFT. A riguardo, un recente studio suggerisce che la genesi di NFT può

verificarsi nel tronco cerebrale, piuttosto che nel lobo temporale medio, e anche precedere la formazione di placche amiloidi nella neocorteccia.

La Malattia di Alzheimer si caratterizza clinicamente per l'esordio insidioso di disturbi cognitivi che evolvono con un andamento lentamente peggiorativo. È possibile distinguere forme tipiche, con deficit mnesico e progressivo interessamento di altri domini cognitivi (funzioni simboliche, visuo-spaziali, esecutive), e forme atipiche, dette anche pseudo-focali, che si manifestano, soprattutto nelle fasi iniziali, con preminenti deficit delle funzioni cognitive "posteriori" (visuo-spaziali, gnosiche) o anteriori (funzioni esecutive, memoria di lavoro).

I disturbi più frequenti nell'esordio clinico sono: amnesie relative a eventi recenti (il paziente dimentica gli appuntamenti, i luoghi in cui mette gli oggetti), difficoltà nel reperimento di vocaboli e nell'orientamento temporale. Anche altre funzioni superiori possono essere alterate precocemente: il pensiero astratto è spesso impoverito e diminuisce la capacità di giudizio, che porta il soggetto a ridurre il proprio rendimento professionale ed ad avere difficoltà nei rapporti interpersonali.

La progressione della malattia si caratterizza per l'ulteriore aggravamento del disturbo mnesico e per l'insorgenza di un marcato disorientamento spaziale, prima al di fuori della propria abitazione, e successivamente anche nell'ambiente domestico. Si può verificare la comparsa di disturbi del linguaggio, di tipo fluente e non fluente, con parafasie fonemiche e semantiche, e di difficoltà nella comprensione, denominazione e ripetizione. Sono frequenti le turbe disprassiche, prevalentemente di tipo ideo-motorio e

costruttivo, e gnosiche come prosopoagnosia (difficoltà nel riconoscimento di fisionomie e volti familiari). Tali disturbi cognitivi acquisiscono progressivamente un impatto sempre più rilevante sul normale funzionamento individuale in termini di attività quotidiana.

Nella fase avanzata della malattia, il paziente perde la capacità di svolgere qualsiasi tipo di attività, non è più autonomo e diventa spesso incontinente; la memoria a breve e a lungo termine è completamente compromessa e il soggetto può essere mutacico e acinetico. Si manifesta disfagia, che può rendere necessaria un'alimentazione artificiale; il rischio di complicanze, quali malnutrizione, disidratazioni, polmoniti, fratture e piaghe da decubito diviene elevato e il sovrapporsi di tali condizioni patologiche riduce ulteriormente l'aspettativa, oltre che la qualità di vita del soggetto. L'exitus sopraggiunge generalmente per patologie internistiche intercorrenti (per lo più di natura infettiva).

Un aspetto di notevole rilevanza è la presenza, variabile, ma comunemente riscontrabile nel corso della malattia (oltre il 70% dei casi) di disturbi comportamentali e di sintomi psichici come: deliri, allucinazioni, agitazione, aggressività, comportamenti sociali inappropriati e ansia, depressione, apatia, disturbi del sonno, della condotta alimentare e sessuale. I differenti disturbi affettivo-comportamentali tendono a presentarsi con modalità e frequenza diverse nelle varie fasi della malattia.

Il gold standard per la diagnosi di AD è la valutazione patologica basata sull'autopsia (post-mortem). La presenza e distribuzione di placche amieloidi e NFT nel cervello è usata per stabilire la diagnosi definitiva di AD e lo stadio della malattia. A livello clinico,

la diagnosi di AD è largamente basata sulla storia medica, esame psichico e neurologico e valutazione neuropsicologica, nonché l'esclusione di altre eziologie, usando test selettivi accessori. La diagnosi clinica di AD ha un'accuratezza del 70-90% rispetto alla diagnosi patologica, con maggiore precisione raggiunta in specifici contesti come i disordini della memoria clinici. Il cardine della diagnosi clinica è rappresentato da un insieme di criteri stabiliti per la prima volta nel 1984 e, poi, aggiornati nel 2011 dal gruppo di lavoro del National Institute on Aging Alzheimer's Association (NIA-AA). Quando il deterioramento cognitivo del paziente ha un decorso clinico atipico o si ha il sospetto che sia causa di altri fattori eziologici, oltre ad AD, si consiglia la diagnosi di demenza come "possibile AD". I pazienti con AD hanno generalmente risultati normali su esami fisici e neurologici.

Studi di laboratori e neuroimmagini sono utilizzati solamente per scopi di sperimentazione o come criteri clinici aggiuntivi di AD, soprattutto per escludere lesioni cerebrali strutturali o per identificare cause reversibili di demenza. Gli unici studi di laboratorio che l'Accademia Americana di Neurologia consiglia da eseguire di routine, per un chek-up completo, sono il livello nel siero di vit.B12, il livello dell'ormone stimolante la tiroide (TSH) e il livello di tiroxina libera. La risonanza magnetica o la tomografia computerizzata senza contrasto possono essere utili per escludere casi di idrocefalo normoteso, ematomi cerebrali, tumori cerebrali e lesioni cerebrovascolari.

Non c'è una cura per AD, e la terapia farmacologica per la malattia è ancora in fase di sperimentazione. I farmaci approvati per il trattamento di AD "probabile" aiutano nel

controllare i sintomi, ma non rallentano la progressione della malattia o ne invertono il decorso. Ad oggi, il pilastro della terapia per AD è rappresentato da farmaci costituiti da neurotrasmettitori, i quali agiscono al livello dei circuiti cerebrali. AD determina principalmente danni verso i neuroni producenti glutammato e acetilcolina, e a livello delle sinapsi associate, e tale danno è ben collegato con i primi sintomi cognitivi di AD. Gli inibitori dell'acetilcolinesterasi aiutano a migliorare la memoria e l'attenzione nei pazienti con AD, interferendo con la ricaptazione dell'acetilcolina, aumentando così i livelli del neurotrasmettitore nella sinapsi. Al momento esistono tre inibitori della colinesterasi approvati dalla FDA: *rivastigmina* e *galantamina* (per AD da lieve a moderato) e *donepezil* (per tutti gli stadi di AD). La *Mematine* è un altro farmaco approvato dalla FDA per le forme moderate-severe di AD, ma appartiene ad una diversa classe di farmaci noti come antagonisti dei recettori NMDA (glutammato). Tali classi di farmaci sono generalmente ben tollerate, con possibili effetti avversi, quali, tra i più comuni, disturbi gastrointestinali, vertigini e mal di testa.

Negli ultimi anni, sono stati valutati negli studi clinici un ampio numero di farmaci potenzialmente in grado di modificare la malattia, e ulteriori sono ancora in corso di valutazione in alcuni studi.

I farmaci che agiscono per ridurre la quantità di proteina Aβ nel cervello hanno ricevuto più attenzione, dato il ruolo patogenetico importante attribuito ad Aβ dalla letteratura. Esiste una classe di tali farmaci rappresentata da inibitori dell'enzima secretasi (proteasi), che attaccano le APP per produrre Aβ. Un'altra strategia che è stata

sperimentata prevede l'utilizzo di farmaci che promuovono la clearence di Aβ attraverso l'immunizzazione attiva o passiva. Ma purtroppo ancora non è stata dimostrata l'efficacia clinica di questi farmaci. Diverse spiegazioni sono state proposte per giustificare i fallimenti ripetuti osservati negli studi clinici, utilizzando tali agenti modificanti la malattia. Una possibilità è legata al fatto che Aβ potrebbe non svolgere un ruolo così dominante nella patogenesi, come precedentemente ipotizzato; comunque è un problema che è al centro di controversie tuttora e lo sarà nel prossimo futuro. Indipendentemente da ciò, altre strategie terapeutiche per AD sono oggetto di indagine insieme a terapie su base amiloide, anche se non sono stati segnalati ancora grandi successi clinici. Una strada promettente sembra essere lo sviluppo di farmaci che hanno come target la proteina tau anomala che comprende la NFT. Un'altra fonte importante di potenziali farmaci per AD è rappresentata dal pool di farmaci, attualmente sul mercato e quindi approvati, prescritti per indicazioni non-AD, come il diabete, l'ipertensione e le malattie infettive. Questa strategia di farmaco "multiuso" o "riposizionato" può accelerare la scoperta di nuovi trattamenti per AD, ed è stato utilizzato già in passato per altre patologie neurodegenerative (ad esempio, farmaci antivirali *amandatina* per la malattia di Parkinson). Una spiegazione alternativa per i fallimenti degli studi clinici è che le prove sono state condotte in pazienti con lieve o moderata demenza AD, in una fase in cui il processo patologico è probabilmente irreversibile il danno al cervello è troppo grande per una terapia anti-AD, cosicché non è stato ottenuto un effetto clinicamente significativo. La diagnosi precoce di AD e l'intervento terapeutico tempestivo è un punto critico, in

quanto la malattia può iniziare anni, o addirittura decenni, prima della comparsa della demenza clinica. Perciò, una maggiore attenzione viene posta nell'eseguire studi clinici in popolazioni senza demenza, ma che sono a rischio di sviluppare AD, come nel caso di persone affette da MCI (Deterioramento Cognitivo Lieve).

3.3 Il concetto di MCI

Nel 2011 sono stati pubblicati i nuovi criteri diagnostici (National Istitute on Aging-Alzheimer's Association) che prevedono un uso sistematico delle più recenti acquisizioni in ambito biochimico, neuroradiologico e genetico e che identificano tre categorie diagnostiche corrispondenti a tre differenti gradi di espressione clinica della Malattia di Alzheimer:

1. Demenza sostenuta dalla Malattia di Alzheimer: il processo neurodegenerativo si manifesta con un quadro di demenza;

2. Deterioramento Cognitivo Lieve: il deterioramento cognitivo è di entità tale da non interferire con il funzionamento sociale e occupazionale del paziente;

3. AD prodromica: stadio della malattia nel quale, pur non essendo presenti gli elementi clinici per formulare una diagnosi di demenza o MCI, si rilevano altri elementi (ad esempio strumentali, biochimici, genetici) che fanno ipotizzare il futuro sviluppo.

Infatti, la MCI è una sindrome caratterizzata da disturbi della memoria o da altri disturbi cognitivi che eccedono il normale declino cognitivo associato con il processo di invecchiamento. La MCI è spesso considerata come precursore dello stato di demenza o

come uno stato di transizione tra il fisiologico invecchiamento e la demenza. I criteri clinici più utilizzati per la diagnosi di MCI sono quelli proposti da Petersen e colleghi presso la Clinica Mayo. I ricercatori hanno anche proposto diversi sottotipi di MCI in base ai profili neuropsicologici distinti. La MCI amnesico comporta solo deficit di memoria, mentre la MCI non amnesico determina danni in sfere cognitive diverse da quella relativa alla memoria (ad esempio la funzione esecutiva, l'attenzione, il linguaggio e la funzione visivo-spaziale).

Inoltre, esiste la MCI multi-dominio, la quale è caratterizzata da un deterioramento sia della funzione memoria sia della funzione non-memoria.

La percentuale dei soggetti affetti da MCI amnesico con età superiore ai 65 anni varia a seconda dei criteri adottati. Il Cohort Studies of Memory and International Consortium (2015) ha cercato di fornire dei criteri uniformi alla definizione di MCI. Grazie al lavoro svolto, è stato possibile stimare una prevalenza di MCI pari al 5.9% in soggetti di età uguale o superiore ai sessant'anni, con un incremento pari, per fascia di età, dal 4.5% nei soggetti di età compresa tra i 60 e i 69 anni al 5.8% in soggetti di età compresa tra i 70 e i 79 anni, fino al 7.1%, in soggetti di età compresa tra gli 80 e gli 89 anni. Un dato epidemiologico interessante è sicuramente dato dal tasso annuale di incidenza di demenza in soggetti con MCI. In tal senso, è stata condotta da Mitchell e Shiri-Feshki nel 2009 una meta-analisi di 41 studi di coorte di soggetti che presentavano MCI con un follow-up di almeno tre anni: si è rilevato che meno della metà dei soggetti ha sviluppato in seguito una forma di demenza (. In questo contesto così variegato, nel 2016 sono state inoltre

pubblicate due meta-analisi che descrivono la regressione spontanea del MCI a un normale profilo cognitivo. Nella prima meta analisi di Canevalli del 2016 sono stati inseriti studi longitudinali condotti su soggetti che presentavano MCI, pubblicati tra il 1999 e il 2015. Sono stati inclusi studi che presentavano un follow-up ≥ a 2 anni e riportavano il numero di casi di MCI che poi evolvevano in un profilo cognitivo normale. Gli studi sono stati qualitativamente misurati con la scala Quality in Prognostic Studies (QUIPS). Il tasso di conversione da MCI al profilo cognitivo normale era pari al 18%, con una differenza che va dall'8% negli studi condotti in ambito clinico al 25% nella popolazione generale. In una seconda meta-analisi di Malek-Ahmadi, condotta nel 2016 su 25 studi, il tasso di conversione da MCI al profilo cognitivo normale era del 24%, con un valore del 14% riportato negli studi di popolazione, rispetto al 31% rilevato negli studi condotti in ambito clinico. In conclusione, così come gli studi di meta-analisi confermano, non necessariamente la presenza di MCI è prodromica di una qualche forma di demenza. Tuttavia, nonostante l'ampia letteratura di riferimento, attualmente persiste l'assenza di criteri diagnostici universalmente accettati da tutta la comunità scientifica. Di conseguenza, fare una diagnosi di Mild Cognitive Impairment diventa particolarmente difficoltoso e molto spesso l'unica ancora di salvezza è data dalla figura del clinico, che, grazie alla sua esperienza e alla sua capacità discriminativa, è in grado di effettuare una diagnosi il più accurata e affidabile possibile.

3.4 Epidemiologia MCI

Studi epidemiologici basati su grandi popolazioni sia degli Stati Uniti sia dell'Europa hanno stimato che la prevalenza di MCI negli gli adulti di età compresa tra i 65 anni o più è del 3-24%, con una maggiore prevalenza nei soggetti più anziani. Studi prospettici longitudinali mostrano tassi annui di progressione verso la demenza del 3-15%, con tassi più elevati per le persone inserite in studi clinici di coorte specifici rispetto a quelli di coorte di comunità. Nel complesso, il tasso di progressione da MCI a demenza è più elevato rispetto al tasso di incidenza annua della demenza nella popolazione generale, il quale è di circa 1-2%. Tra i pazienti con MCI progressiva verso una demenza, AD è sicuramente la più diffusa. Tuttavia, il rischio di progressione di MCI varia in relazione al sottotipo di quest'ultima; MCI amnesica e MCI multi-dominio evolvono più frequentemente in AD, mentre MCI non amnesico progredisce più spesso in forme di demenza non-AD, come la demenza vascolare. Inoltre, i pazienti con MCI multi-dominio hanno un maggior rischio di sviluppare AD rispetto ai pazienti con MCI amnesico. Allo stesso tempo, se da un lato molti individui da MCI sviluppano una demenza, dall'altro lato una parte consistente di pazienti rimane cognitivamente stabile e addirittura può migliorare, tornando ad uno stato cognitivo normale. In conclusione, la ricerca epidemiologica suggerisce che il concetto di MCI è utile per descrivere la fase di pre-demenza in AD, ma è pur sempre da considerarsi una sindrome eterogenea in termini di eziologia e risultati.

3.5 Biomarkers di AD e MCI

Diverse metodiche di neuroimmagini (soprattutto la Risonanza Magnetica ad alta risoluzione) e con biomarkers sono utilizzati per studiare AD e MCI. In un primo momento, sono necessari dei biomarkers di AD per migliorare la selezione dei pazienti negli studi clinici, mentre in un secondo momento i biomarkers sono necessari per identificare i pazienti ad alto rischio, che necessitano di un trattamento precoce, per il monitoraggio della malattia, e quindi della sua progressione, e per osservare la risposta al trattamento. Quindi tali metodiche hanno la capacità di mostrare, sin dalle fasi iniziali, una riduzione degli indici morfometrici a livello della corteccia entorinale e dell'ippocampo.

3.6 Risonanza magnetica (MRI) e Tomografia ad emissione di positroni

La risonanza magnetica utilizza un forte campo di onde elettromagnetiche non invasivo capace di descrivere la struttura del cervello, misurando l'energia rilasciata dai protoni all'interno dei vari tessuti, come la materia grigia, la sostanza bianca e nel liquido cerebrospinale (CSF). La risonanza magnetica volumetrica è stata utilizzata per studiare gli schemi regionali di atrofia cerebrale in pazienti con MCI e AD. L'atrofia della regione mesiale del lobo temporale, che coinvolge in particolare l'ippocampo e la corteccia entorinale, è la caratteristica più importante per predire la progressione di MCI in AD,

tanto che in quest'ultima risulta evidente tramite MRI. Inoltre, con la risonanza magnetica volumetrica, nei pazienti con AD si nota anche un marcato allargamento dei ventricoli laterali, porzioni adiacenti al lobo temporale mediale. Il tensore di diffusione (DTI) è un'altra tecnica basata sulla risonanza magnetica che, misurando la diffusione delle molecole d'acqua, è in grado di delineare l'organizzazione della materia bianca nel cervello, permettendo ai ricercatori di valutare quantitativamente l'integrità dei tratti di fibre di materia bianca. Studi con il DTI hanno dimostrato che AD e MCI determinano un'interruzione delle vie principali della sostanza bianca nel cervello, in particolar modo quelle del sistema limbico (ad esempio, fornice e cingolo). Infine, la risonanza magnetica funzionale (fMRI) è una tecnica di neuroimmagini che valuta indirettamente la funzione del cervello attraverso la misurazione del livello di ossigeno nel sangue (emodinamica). In caso di AD si osserva un ipoperfusione a livello delle regioni parietotemporali bilateralmente. Una promettente applicazione della risonanza magnetica funzionale (nota come "stato di riposo" fMRI) consiste nella misurazione dell'attività cerebrale intrinseca, indipendentemente da qualsiasi stimolo esterno. Studi effettuati con tale tecnica di "stato di riposo" fMRI hanno dimostrato che MCI e AD sono associati ad una diminuzione della comunicazione (connettività funzionale) all'interno della rete cerebrale coinvolta nella memoria e nell'elaborazione delle informazioni.

La tomografia ad emissione di positroni, utilizzando il 18F-fluorodeossidoglucosio come tracciante radioattivo, è una tecnica di imaging nucleare, che misura il metabolismo regionale cerebrale. Il primo segno evidenziabile su una scansione FDG-PET di AD è

ipometabolismo del giro cingolato posteriore. Questo ipometabolismo è anche rilevabile durante la fase di MCI della malattia. Inoltre, FDG-PET ha dimostrato di aver un valore aggiunto, in quanto è in grado di distinguere tra le varie forme di demenza, in particolare tra AD e la demenza frontotemporale. Un recente progresso è lo sviluppo di immagini amieloidi ottenute con PET-in vivo, utilizzando un ligando radioattivo speciale che lega le placche amieloidi nel cervello. Il composto B di Pittsburgh (PiB) è un legante amieloide a base di carbonio 11, che è ampiamente utilizzato in ambito di ricerca. Nei pazienti con AD il legame di PiB risulta aumentato nel lobi parietali, temporali e frontali del cervello, indicativo di una distribuzione capillare corticale della deposizione amieloide. La FDA ha approvato diversi ligando-amieloidi per uso clinico nel 2012, infatti recentemente è stato introdotto nella pratica clinica l'uso di tracciati PET (18F florbetapir; 18F florbetaben), in grado di dimostrare l'accumulo di proteina beta amiloide nel tessuto cerebrale in vivo. La PET di immagini amiloidi è uno strumento diagnostico straordinario che rileva, in maniera non invasiva, le lesioni caratteristiche di AD, ma rimangono ancora preoccupazione riguardanti il suo uso clinico. Oltre al suo costo elevato, c'è preoccupazione per l'utilità clinica di una scansione amiloide positiva. Al tempo stesso una scansione amiloide negativa sembra escludere che il deterioramento cognitivo del paziente sia causato da AD (alto valore predittivo negativo), mentre una scansione amiloide positiva risulta meno informativa, in quanto può essere positiva anche in adulti più anziani cognitivamente normali e in persone con altre condizioni neurologiche non-AD (basso valore predittivo positivo). Per ora, la PET basata su immagini amiloidi non è

prevista per un uso clinico di routine in pazienti con AD, ma è stata approvata solo per un uso limitato (ad esempio per escludere AD o per la selezione di pazienti in studi clinici).

3.7 Biomarkers

I biomarkers del fluido cerebrospinale (CSF) e del plasma sanguigno sono ricercati per la diagnosi di AD. Diversi studi hanno utilizzato test immunologici per misurare i livelli di varie proteine nel CSF, scoprendo che i pazienti con AD presentano una diminuzione dei livelli del peptide acido amino isoforma 42 (Ab 42) ed elevati livelli del peptide tau fosforilato (P-tau). Un recente studio longitudinale ha dimostrato che il rapporto di base Ab 42/P tau potrebbe permettere con precisione di prevedere la progressione da MCI a AD. Nel 2007, i biomarkers plasmatici sono stati proposti come promettente alternativa ai biomarkers del CSF per la diagnosi precoce di AD. Negli ultimi anni, altri studi hanno esaminato l'utilità di cellule segnale, immunitarie, metaboliche e di proteine plasmatiche correlate alla malattia, ma i risultati rimangono ancora contradditori. Sarà necessario un ulteriore complesso lavoro per standardizzare la misurazione delle proteine del CSF e del plasma e, quindi, determinare l'utilità clinica dei biomarkers per la diagnosi di AD.

3.8 Terapia

Attualmente non esistono farmaci in grado di guarire la malattia o di bloccarne il decorso; tuttavia sono disponibili con l'indicazione specifica di ''trattamento della malattia di Alzheimer", alcune molecole in grado di determinare un miglioramento sintomatico e, secondo alcuni studi, un rallentamento della progressione del quadro clinico. Questi farmaci appartengono a due classi principali, gli anticolinesterasici e gli antiglutamatergici. I primi sono rappresentati da molecole quali il donepezil, la rivastigmina e la galantamina, che agiscono bloccando l'enzima acetilcolinesterasi e, nel caso della rivastigmina, anche la butirrilcolinesterasi, determinando, come diretta conseguenza della loro azione, una maggiore disponibilità di acetilcolina a livello degli spazi intersinaptici. Tra gli antiglutamatergici, l'unica molecola attiva con questa indicazione è la mematina, anatagonista non competitivo del recettore NMDA, ad azione sintomatica e neuroprotettiva. Vi sono infine i trattamenti non farmacologici, quali le terapie di stimolazione cognitiva e l'attività fisica, che possono portare benefici al paziente. Infine, è fondamentale, come per tutte le forme di demenza, il coinvolgimento attivo dei familiari e l'avvio di percorsi assistenziali sul territorio, che consentono le cure nel modo più adeguato.

In conclusione, da quando Alois Alzheimer descrisse il primo caso di AD più di un secolo fa, sono stati fatti grandi progressi nella comprensione degli aspetti biologici e clinici della malattia. Ulteriori progressi sono stati fatti nella caratterizzazione delle fasi di pre-demenza, come MCI, migliorando così le opzioni diagnostiche e terapeutiche di AD. La capacità di trovare una "cura" per AD dipende non solo dall'acquisizione completa dei

processi cellulari e molecolari a monte della malattia, ma anche dai biomarkers capaci di fornire una diagnosi precoce di AD ed un intervento terapeutico tempestivo nei soggetti maggiormente a rischio.

4. Obiettivo tesi

Un recente meta analisi del 2019 di Nangle MR et Al. ha fornito prove di un'associazione tra apprendimento e memoria, attenzione complessa e funzione esecutiva con la salute orale in età avanzata. Conoscere in maniera dettagliata come specifici tipi di declino cognitivo si collegano alla salute orale ha potenziali implicazioni per l'identificazione precoce negli anziani di possibili sviluppi di MCI.

Gli studi inclusi in questa revisione sistematica suggeriscono che le persone anziane con demenza hanno alti livelli di placca e molti problemi di salute orale legati ai tessuti molli orali, come sanguinamento gengivale, tasche parodontali, stomatite, lesioni della mucosa e flusso salivare ridotto.

Infatti, con l'invecchiamento della popolazione, ci si può aspettare una maggiore prevalenza di demenza e un aumento dei problemi di salute orale. È interessante avere una visione d'insieme della prevalenza di problemi orali nelle persone con demenza ma anche analizzare quale dei problemi di salute orale sia il più specifico segno di allarme per un possibile sviluppo di MCI.

Il nostro studio ha lo scopo principale di valutare se la profondità di tasca (PD) che è considerata indice ideale di malattia parodontale è associata in qualche modo al Mild Cognitive Impairment (MCI).

Infatti, è stata evidenziata un'associazione tra malattia parodontale e il morbo di Alzheimer, soltanto che non è stato ancora riconosciuto se il morbo sia responsabile della malattia, a causa appunto delle carenze comportamentali che questo implica, o viceversa. Per questo motivo il problema è stato spostato su pazienti con diagnosi di MCI perché ancora in grado di provvedere alla loro cura personale.

5. Materiali e metodi

5.1 Disegno dello studio

È stato effettuato uno studio di tipo osservazionale. I pazienti oggetto di studio presentavano caratteristiche peculiari necessarie ed uguali per tutti, dovevano essere affetti da un deficit cognitivo e quindi presentare la diagnosi di MCI ma non di Alzheimer, non dovevano presentare una diagnosi di depressione, non dovevano mostrare edentulia in ultimo non dovevano essere sottoposti a trattamento parodontale. L'esame orale effettuato su questi pazienti aveva lo scopo di verificare l'associazione tra il Mild Cognitive Impairment e la malattia parodontale. In aggiunta venivano registrate altre importanti informazioni per verificare l'effetto di variabili di confondimento come le malattie cardiovascolari che sono correlate con entrambe le patologie oggetto di studio. I

metodi utilizzati venivano scelti in quanto il più standardizzabili possibili, sia per valutare il deficit cognitivo, sia per valutare la malattia parodontale. Dunque, per garantire la ripetibilità dello studio è stato scelto per quanto riguarda la malattia parodontale il metodo di valutazione dell'OMS, ossia il Periodontal Screening and Recording, per il deficit cognitivo invece ci si è serviti del MoCA test (Montreal Cognitive Assestment).

5.2 Pazienti

I pazienti selezionati, erano afferenti al Centro UVA (Unità di Valutazione Alzheimer Prima Clinica Medica Geriatrica) di responsabilità del Professor Evaristo Ettorre, i quali presentavano diagnosi accertata di MCI, escludendo quindi la presenza di Alzheimer che avrebbe provocato una notevole distorsione dei risultati.

Non essendoci studi scientifici precedenti per calcolare il numero di pazienti necessario abbiamo deciso di selezione un campione consecutivo di 50 pazienti.

I pazienti selezionati dovevano presentare un livello di igiene orale mediamente buono, misurato tramite indice di sanguinamento gengivale durante il sondaggio (gingival bleeding index, GBI). La percentuale di siti con sanguinamento gengivale al sondaggio, corrispondente al livello di gengivite moderata, doveva essere pari o minore al 50% del totale dei siti esaminati.

I pazienti venivano accolti presso il Centro UVA dove venivano raccolte tutte le informazioni riguardanti l'anamnesi patologica, prossima e remota, le terapie farmacologiche in atto e pregresse e tutte le informazioni riguardanti le patologie

cardiovascolari. I pazienti oggetto di studio venivano invitati successivamente ad effettuare una serie di esami parodontali nel reparto di Odontoiatria Geriatrica di responsabilità della Prof.ssa Licia Manzon, dove fornivano il consenso informato all'ulteriore anamnesi e all'esame orale che andavano ad effettuare. Solamente i pazienti che hanno fornito il loro consenso venivano inclusi nella ricerca. Per effettuare questo studio non vi è stata la necessità di chiedere l'autorizzazione al comitato etico trattandosi di uno studio osservazionale.

5.3 Esame parodontale

I pazienti in giornate stabilite venivano ricevuti presso il reparto di Odontoiatria Geriatrica, dove erano sottoposti ad anamnesi e ad esame parodontale. Per quanto riguarda l'anamnesi sono state raccolte le seguenti informazioni: età, sesso, eventuale ipertensione, ischemia cardiaca, eventuale assunzione di cardioaspirina, di statine e di farmaci antidepressivi. Per quanto riguarda l'esame parodontale è stata utilizzata la sonda modificata dell'OMS che presenta una punta arrotondata di 0,5 mm, un'area colorata che si estende da 3,5 a 5,5 mm e un ulteriore area delimitata da due bande nere tra 8,5 e 11,5 mm.

Pocket scores:

0 = Absence of condition

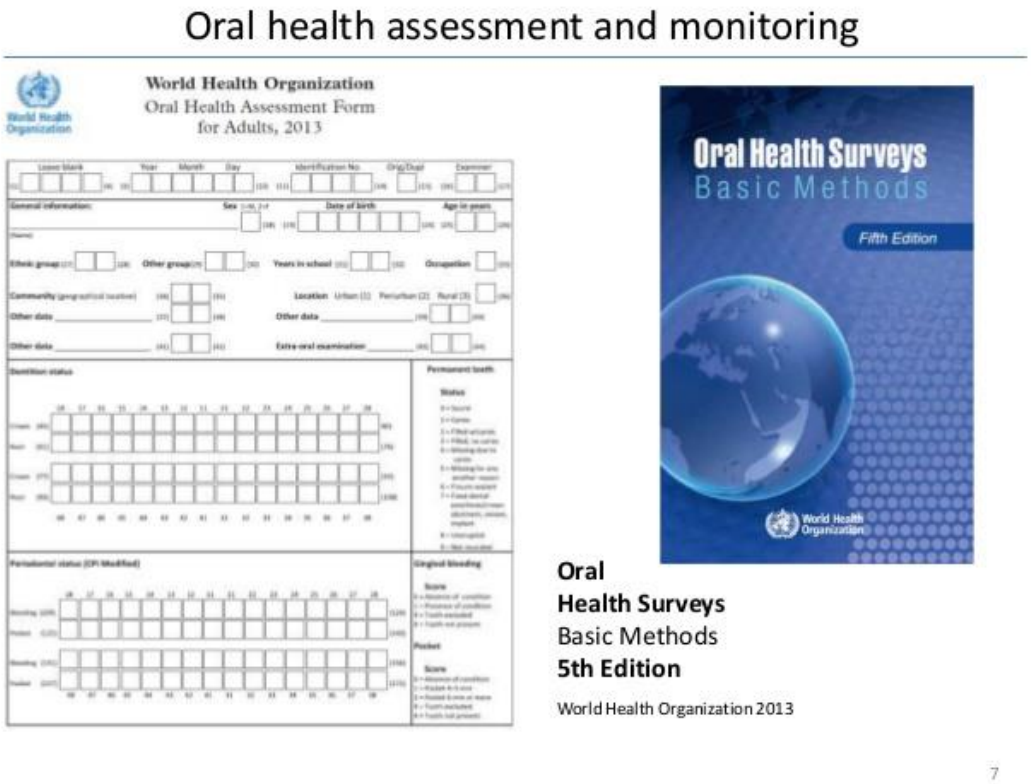
1 = pocket 4-5 mm

2 = 6 mm or more

X = Tooth not present

Per il rilevamento della profondità di tasca la sonda è stata inserita parallela all'asse verticale del dente ed è stata fatta "camminare" in maniera circonferenziale attorno ad ogni superficie dentale per valutare le zone di maggiore profondità. Tale profondità di tasca corrisponde alla distanza che intercorre tra la base della tasca e il margine gengivale.

Per garantire la certezza della valutazione clinica, precedentemente sono state effettuate una serie di sedute di training e di calibratura. La calibratura prevista per questo studio è stata intra-esaminatore, in cui 5 pazienti sono stati oggetto di sondaggio parodontale, il quale è stato ripetuto a distanza di una settimana. La percentuale di concordanza tra le due sedute di misurazione è stata pari all'80%. La cartella utilizzata per questo studio è stata quella dell'Organizzazione Mondiale della Sanità. Pur essendoci diversi metodi per valutare lo stato parodontale, si è preferito fare riferimento alla metodica dell'OMS, in quanto pur perdendone in precisione la calibratura risulta più precisa, con una conseguente standardizzazione più valida e una maggiore affidabilità dei dati.



5.4 Test Utilizzato

Ai fini della valutazione del deficit cognitivo è stato utilizzato il MoCA test. Quest'ultimo risulta breve e prevede 30 domande per le quali occorrono circa 10 minuti per completare le risposte. È stato pubblicato nel 2005 da un gruppo di lavoro della McGill University a Montreal. Il MoCA valuta differenti tipi di abilità cognitive, inclusi orientamento, memoria a breve termine, funzioni esecutive, abilità di linguaggio, attenzione e abilità visuospaziale. A differenza del Mini-Mental State Exam (MMSE), un altro metodo ampiamente utilizzato per lo screening della malattia dell'Alzheimer, il MoCA include il *clock-drawing test* e un test per le funzioni esecutive conosciuto come *Trails B.* Il punteggio nel MoCA test va da un minimo di 0 a un massimo di 30. Il

punteggio da 26 in su è considerato normale. I punteggi che rilevano una condizione di MCI, si aggirano intorno al 22.1, quelli invece per la malattia di Alzheimer intorno al 16.2.

La ripartizione dei punteggi è la seguente:

• Funzioni esecutive e visuospaziali: 5 punti

• Denominazione animale: 3 punti

• Attenzione: 6 punti

• Linguaggio: 3 punti

• Astrazione: 2 punti

• Short-term Memory: 5 punti

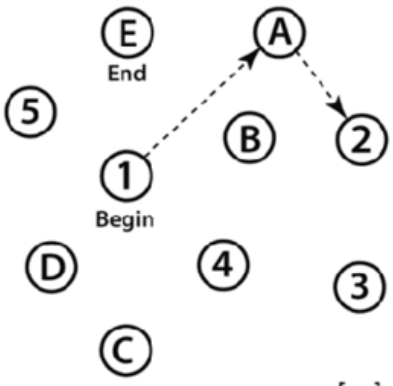
• Orientamento: 6 punti

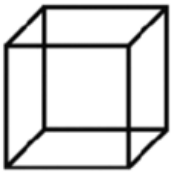
• Livello di educazione: 1 punto viene aggiunto al punteggio del test-taker se ha 12 anni o meno di educazione formale. Il MoCA è relativamente semplice, è un breve test che aiuta i professionisti della salute a determinare rapidamente se una persona presenta funzioni cognitive anormali e se necessita di una più veloce elaborazione diagnostica. I vantaggi del MoCA includono dunque brevità, semplicità e affidabilità come test di screening per la malattia di Alzheimer.

MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MOCA)
Version 7.1 Original Version

NAME :
Education : Date of birth :
Sex : DATE :

VISUOSPATIAL / EXECUTIVE





Copy cube

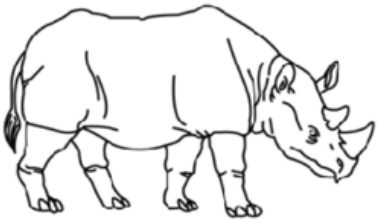
[ ] [ ]

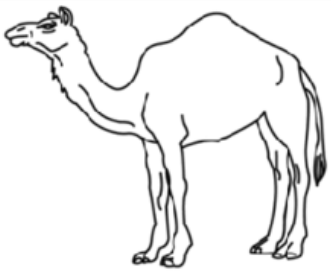
Draw CLOCK (Ten past eleven)
(3 points)

[ ] Contour [ ] Numbers [ ] Hands

POINTS ___/5

NAMING





[ ] [ ] [ ] ___/3

MEMORY

Read list of words, subject must repeat them. Do 2 trials, even if 1st trial is successful. Do a recall after 5 minutes.

	FACE	VELVET	CHURCH	DAISY	RED
1st trial					
2nd trial					

No points

ATTENTION

Read list of digits (1 digit/ sec.).

Subject has to repeat them in the forward order [ ] 2 1 8 5 4
Subject has to repeat them in the backward order [ ] 7 4 2 ___/2

Read list of letters. The subject must tap with his hand at each letter A. No points if ≥ 2 errors
[ ] F B A C M N A A J K L B A F A K D E A A A J A M O F A A B ___/1

Serial 7 subtraction starting at 100 [ ] 93 [ ] 86 [ ] 79 [ ] 72 [ ] 65
4 or 5 correct subtractions: **3 pts**, 2 or 3 correct: **2 pts**, 1 correct: **1 pt**, 0 correct: **0 pt** ___/3

LANGUAGE

Repeat : I only know that John is the one to help today. [ ]
The cat always hid under the couch when dogs were in the room. [ ] ___/2

Fluency / Name maximum number of words in one minute that begin with the letter F [ ] _____ (N ≥ 11 words) ___/1

ABSTRACTION

Similarity between e.g. banana - orange = fruit [ ] train – bicycle [ ] watch - ruler ___/2

DELAYED RECALL

	FACE	VELVET	CHURCH	DAISY	RED	
Has to recall words **WITH NO CUE**	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]	Points for UNCUED recall only
Optional Category cue						
Optional Multiple choice cue						

___/5

ORIENTATION

[ ] Date [ ] Month [ ] Year [ ] Day [ ] Place [ ] City ___/6

© Z.Nasreddine MD www.mocatest.org

Normal ≥ 26 / 30

TOTAL ___/30
Add 1 point if ≤ 12 yr edu

Administered by: _____

5.4 Analisi statistica

Le variabili di studio sono state:

• la variabile dipendente: MCI

• la variabile indipendente: PD

• le variabili di confondimento: età, sesso, malattie cardiovascolari, depressione.

In un primo momento abbiamo valutato la frequenza delle variabili di confondimento (ipertensione, ischemia cardiaca, assunzione di aspirina, statine e antidepressivi) nel campione di pazienti. Mentre successivamente, per analizzare l'associazione tra l'MCI, espresso tramite un punteggio specifico MoCA, e PD abbiamo effettuato una regressione semplice tra la variabile indipendente X, ovvero PD, e la variabile dipendente Y, ovvero MoCA. La retta di regressione fornisce l'immagine più probabile dell'associazione tra le due variabili, in quanto se risulta orizzontale mostra semplicisticamente che al variare di X, Y non cambia. Invece una retta inclinata risultante dalla regressione evidenzia una proporzionalità tra le due variabili, sia essa diretta o indiretta. Infine, abbiamo valutato l'associazione tra ogni singola componente MoCA (funzioni esecutive visuo-spaziali, denominazione animale, attenzione, memoria a breve termine, linguaggio, astrazione, orientamento, livello di educazione) e PD, sempre utilizzando una regressione semplice, in modo tale da osservare se ci fosse eventualmente una componente maggiormente correlata alla perdita di attacco parodontale.

6. Risultati

Caratteristica	Media o percentuale
Età	75,00 (range 65-84)
Sesso	Maschi 60%
	Femmine 40%
Malattie cardiocircolatorie	
Ipertensione	66,7%
Infarto del miocardio	6,7%
Assunzione Farmaci	
Acido acetilsalicilico	33,3%
Statine	40,0%
Antidepressivi	20,0%

Tabella 1

Nella *tabella 1* sono evidenziate le varie frequenze che le variabili di confondimento assumono nel campione di pazienti valutati. L'età media è stata di 75, considerando che il range di età dei pazienti è stato compreso tra 65 anni e 84 anni. Per ciò che concerne il sesso, ben il 60% dei partecipanti era di sesso maschile, mentre poco meno della metà,

ovvero il 40%, era di sesso femminile. Inoltre, con un'alta frequenza rispetto alle altre variabili di confondimento è stata la presenza di ipertensione, difatti circa il 66,7% dei pazienti soffre di ipertensione, mentre l'infarto del miocardio è stato registrato per il 6,7% dei pazienti. Significativa è anche la frequenza riguardante l'assunzione dei tre farmaci specifici analizzati per codesto studio, ovvero aspirina (acido acetilsalicilico), statine e antidepressivi, i quali mostravo rispettivamente percentuali di frequenza equivalenti a 33,3%, 40% e 20%.

MoCA	**Valore medio (range)**
Punteggio totale	22,3 (20-25)
Punteggi parziali (punteggio massimo)	
Livello visuo-spaziale-esecutivo (5)	3,9 (0-5)
Denominazione (3)	2,9 (2-3)
Attenzione (6)	4,6 (3-6)
Linguaggio (3)	2,0 (1-3)
Astrazione (2)	1,5 (0-2)
Memoria a breve termine (5)	0,7 (0-2)
Orientamento (6)	5,7 (4-6)

Tabella 2

Nella *tabella 2* univariata è rappresentato il livello cognitivo (Montreal Cognitive Assessment, MoCA) dei pazienti, considerando che il deficit cognitivo moderato (MCI) si indentifica con punteggi inferiori a 26 su un punteggio massimo di 30. Il valore medio del punteggio risultante dal test MoCA per il campione di pazienti è di 22,3. Inoltre, dall'analisi dei risultati emerge che la componente maggiormente colpita dal deficit cognitivo risulta essere quella della memoria a breve termine, per la quale il punteggio medio è di 0,7, rispetto ad un punteggio massimo attribuibile nel test per tale componente di 5.

Caratteristica	**Media (range) o percentuale**
Numero di denti presenti	16,5 (12-28)
PD medio (range 0-2)	0,6 (0,05-1,3)
Individui con PD massimo 2 (6 + mm)	60%
Individui con PD massimo 1 (4-5 mm)	40%
Individui con PD massimo 0 (tasca 0- mm)	0,0%

Tabella 3

La *tabella 3* univariata mostra lo stato parodontale dei pazienti, prendendo in esame il numero dei denti e la profondità di tasca (PD) misurata secondo le indicazioni della WHO 2013 (media e distribuzione di frequenza). Innanzitutto, la media dei denti presenti è stata di 16,5, un numero pressoché soddisfacente considerando che il range dei denti presente è oscillato enormemente tra i seguenti valori: 12-28.

Invece, per ciò che concerne la profondità di tasca, misurata seguendo le ultime disposizioni dell'OMS enunciate nel 2013, il valore medio PD è stato di 0,6. Il 60% dei pazienti

ha mostrato un PD equivalente a 2 e quindi una profondità di tasca maggiore ai 6 mm. Invece il 40% dei pazienti selezionati per lo studio presentava un PD uguale a 1 e quindi una profondità di tasca compresa tra 4-5 mm. Per nessun paziente è stato registrato un PD di 0.

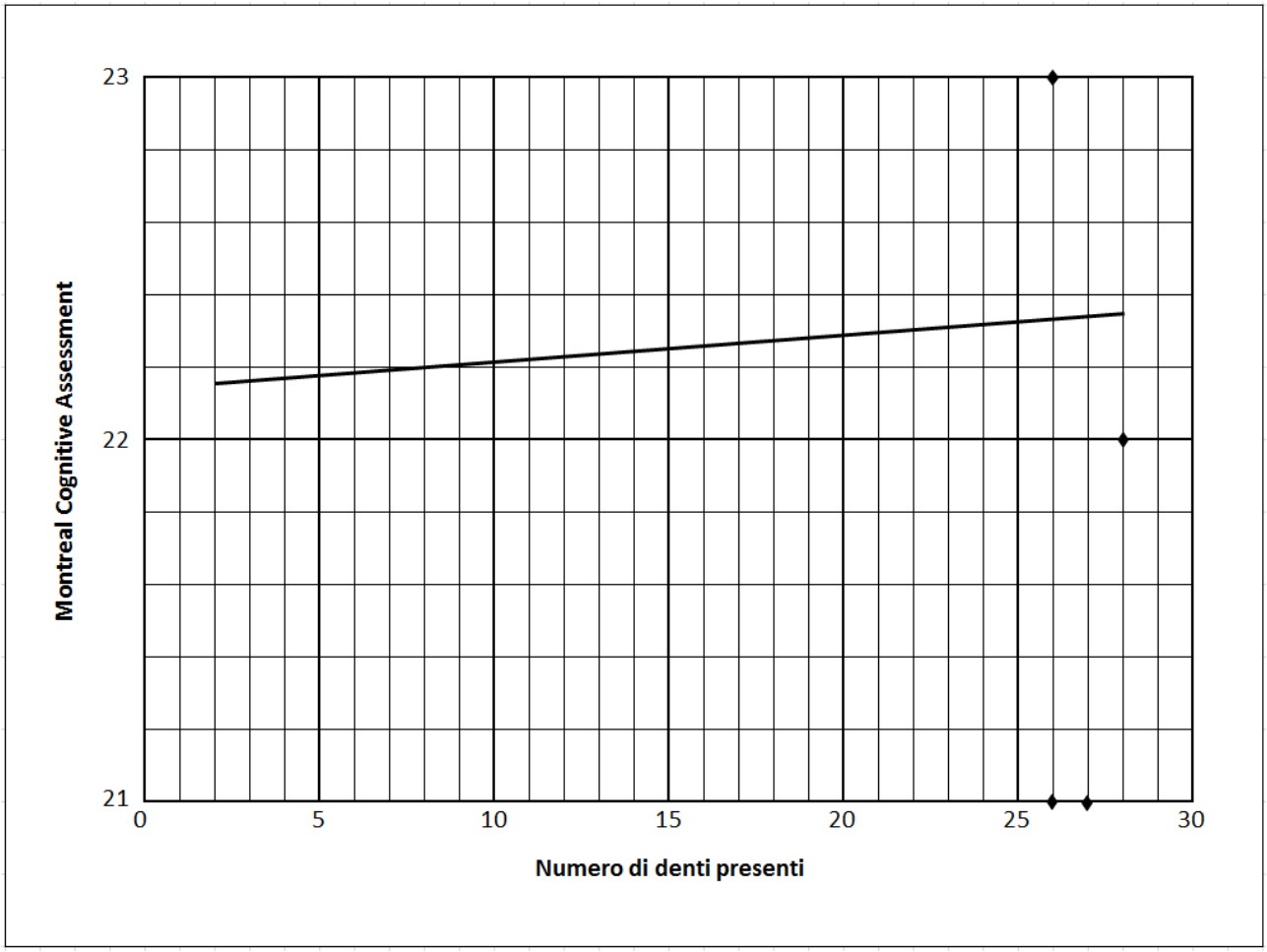


Grafico 1

Il *grafico 1* evidenzia l'associazione tra il numero di denti presenti e il punteggio del Montreal Cognitive Assessment (MoCA) nel campione di pazienti con Deficit Cognitivo Moderato (MCI). Ma nel nostro studio l'associazione tra il numero di denti presenti e il deficit cognitivo lieve, che emerge in alcuni studi sul morbo di Alzheimer, non risulta soddisfatta.

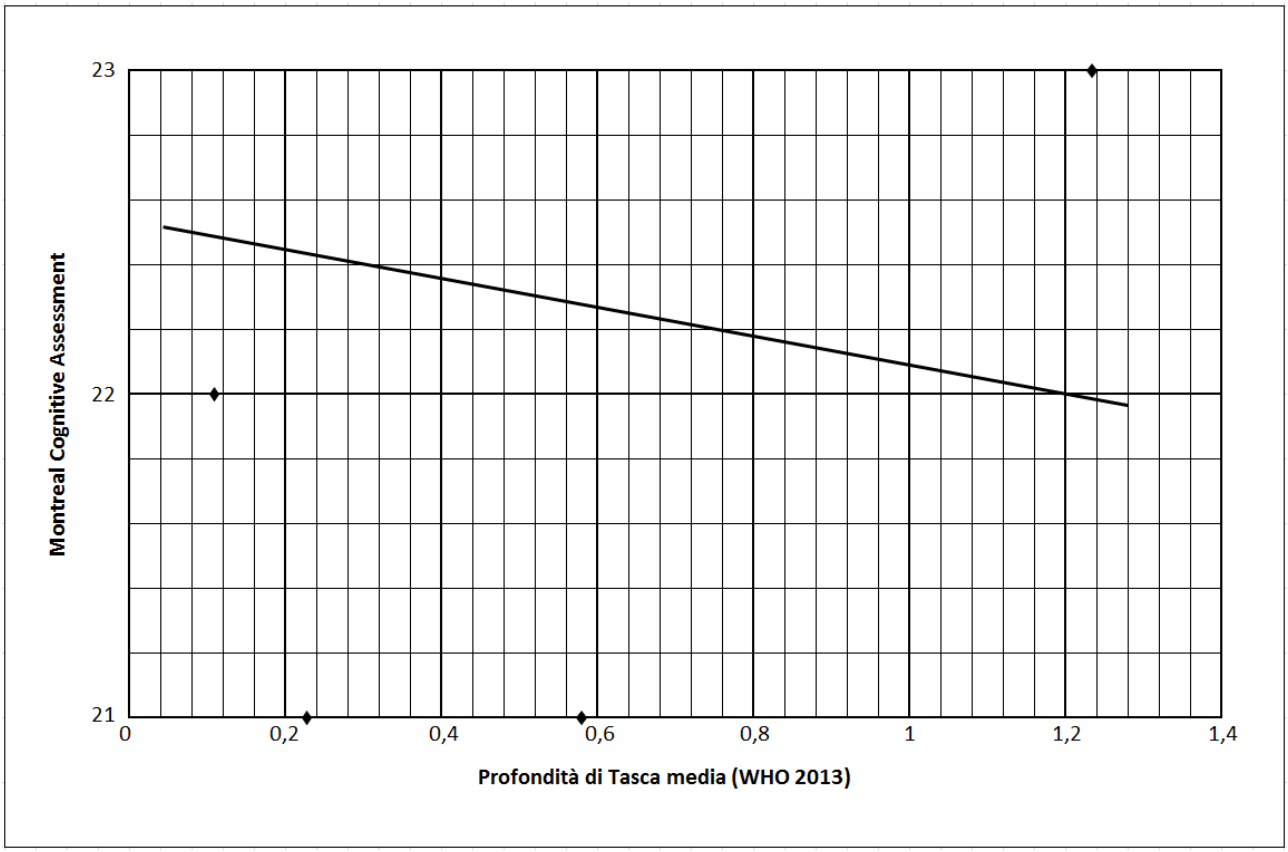


Grafico 2

Il *grafico 2* rappresenta l'associazione tra profondità di tasca (PD) medio valutata con la sonda WHO (range 0-2) e punteggio MoCA, per la quale è evidente un'associazione mostrata dalla retta di regressione. Più nello specifico vi è un peggioramento di 0,4 per il punteggio del MoCA test per ogni singolo punto di profondità di tasca rilevato con la metodica OMS 2013. È quindi possibile affermare che per ogni punto di PD, è perciò peggioramento delle condizioni parodontali, diminuisce proporzionalmente di 0,4 il livello cognitivo misurato con la scala del MoCA.

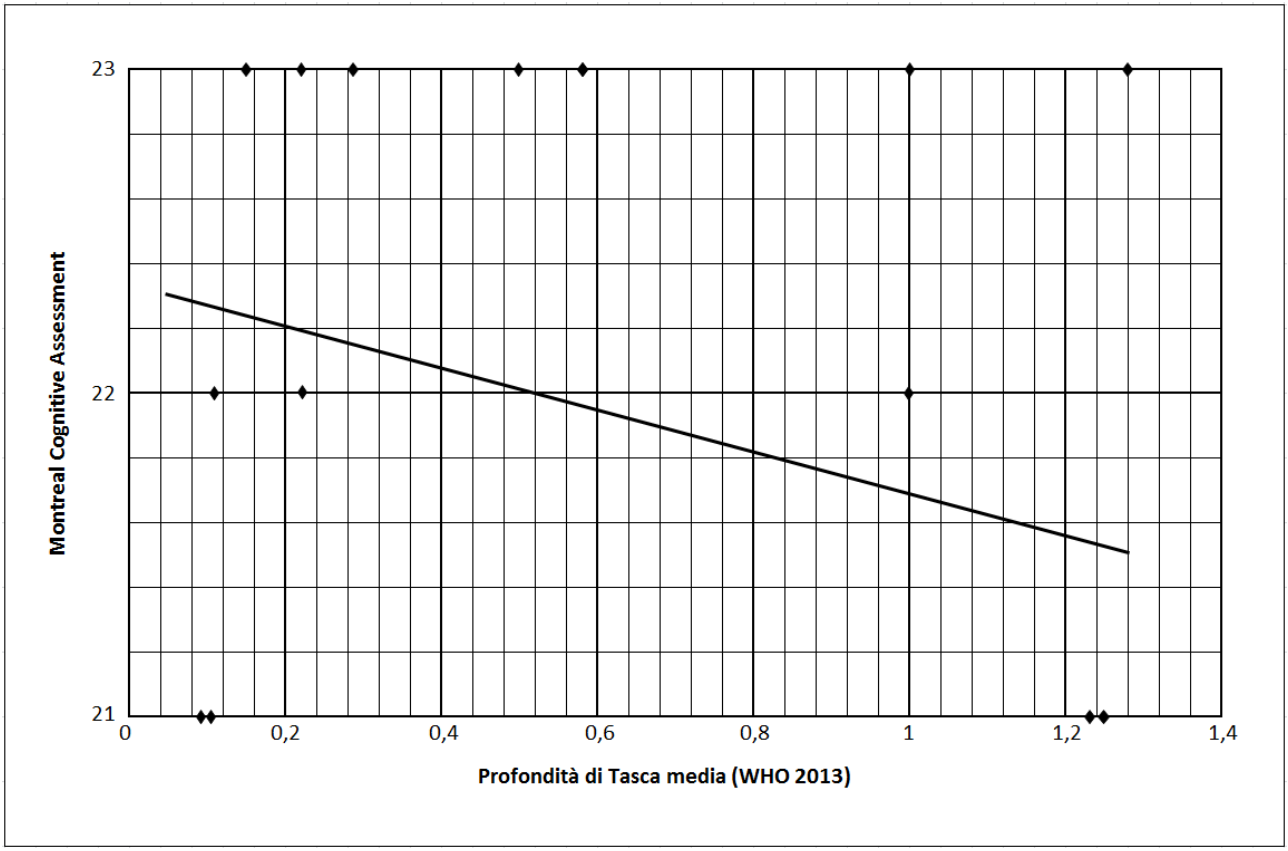


Grafico 3

Il *grafico 3* mostra l'associazione tra la profondità di tasca (PD) media valutata con la sonda WHO (range 0-2) e la componente visuospaziale del Montreal Cognitive Assesment (MoCA) in pazienti con MCI. All'aumentare della profondità di tasca, si ha un peggioramento della componente visuospaziale.

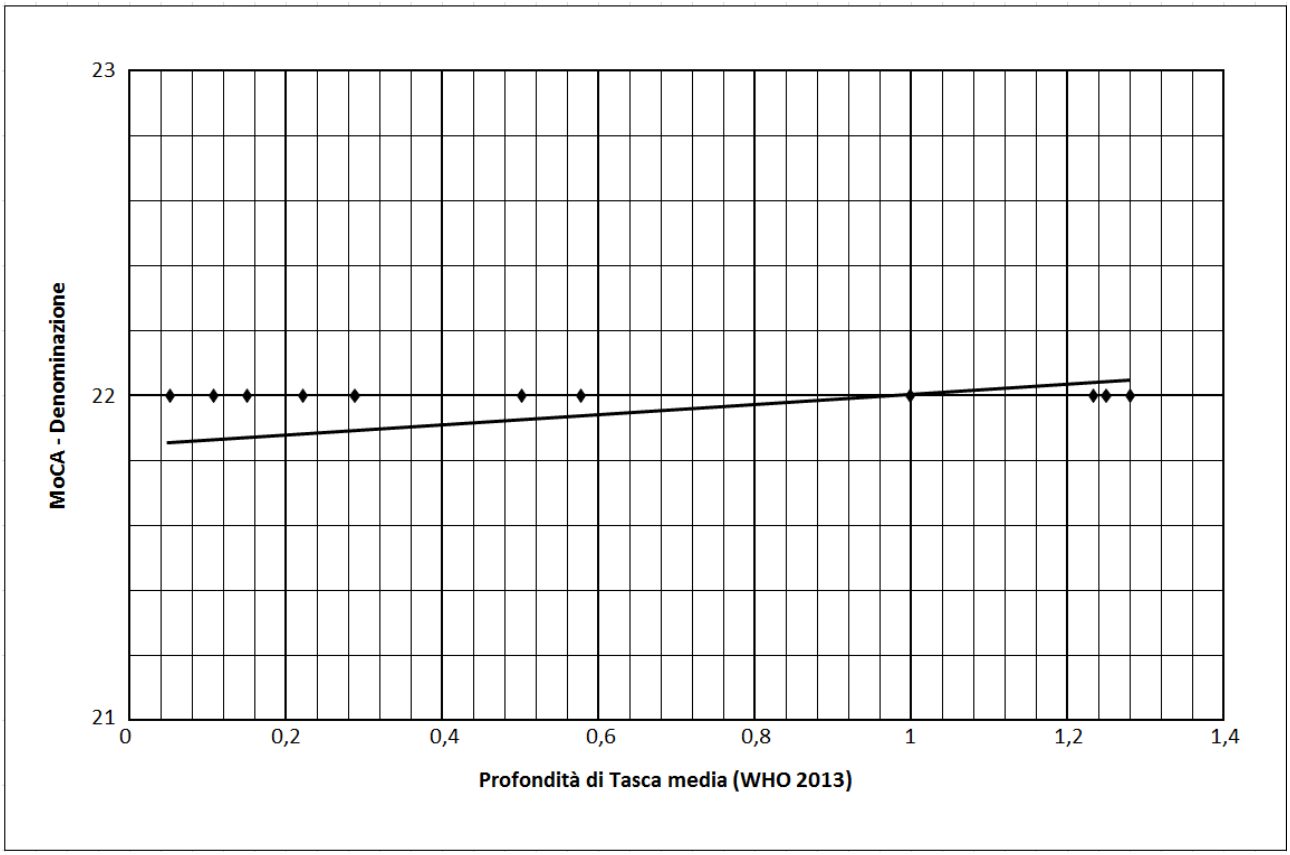


Grafico 4

Il *grafico 4* associa la profondità di tasca (PD) media con la componente "Denominazione" del MoCA, mostrando addirittura una relazione direttamente proporzionale tra PD e "Denominazione", ovvero un aumento della componente cognitiva in questione all'aumentare della profondità di tasca, evidenziando quindi una mancanza totale di associazione.

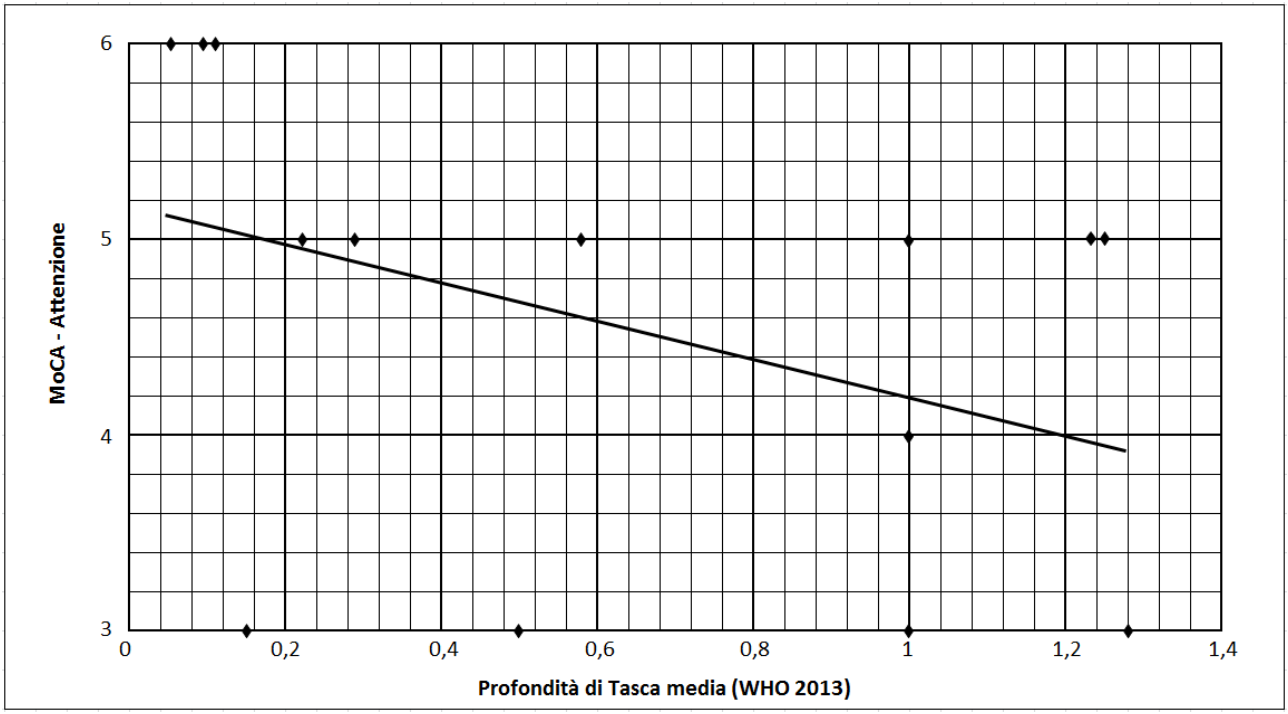


Grafico 5

Il *grafico 5* rappresenta l'associazione tra la profondità di tasca (PD) media valutata con la sonda WHO e la componente "Attenzione" del Montreal Cognitive Assessment (MoCA). In tal caso la componente "Attenzione" risulta significativamente associata alla profondità di tasca, in quanto per ogni punto di PD-WHO 2013 rilevato si ha un peggioramento di un punto di MoCA nella dimensione qui analizzata.

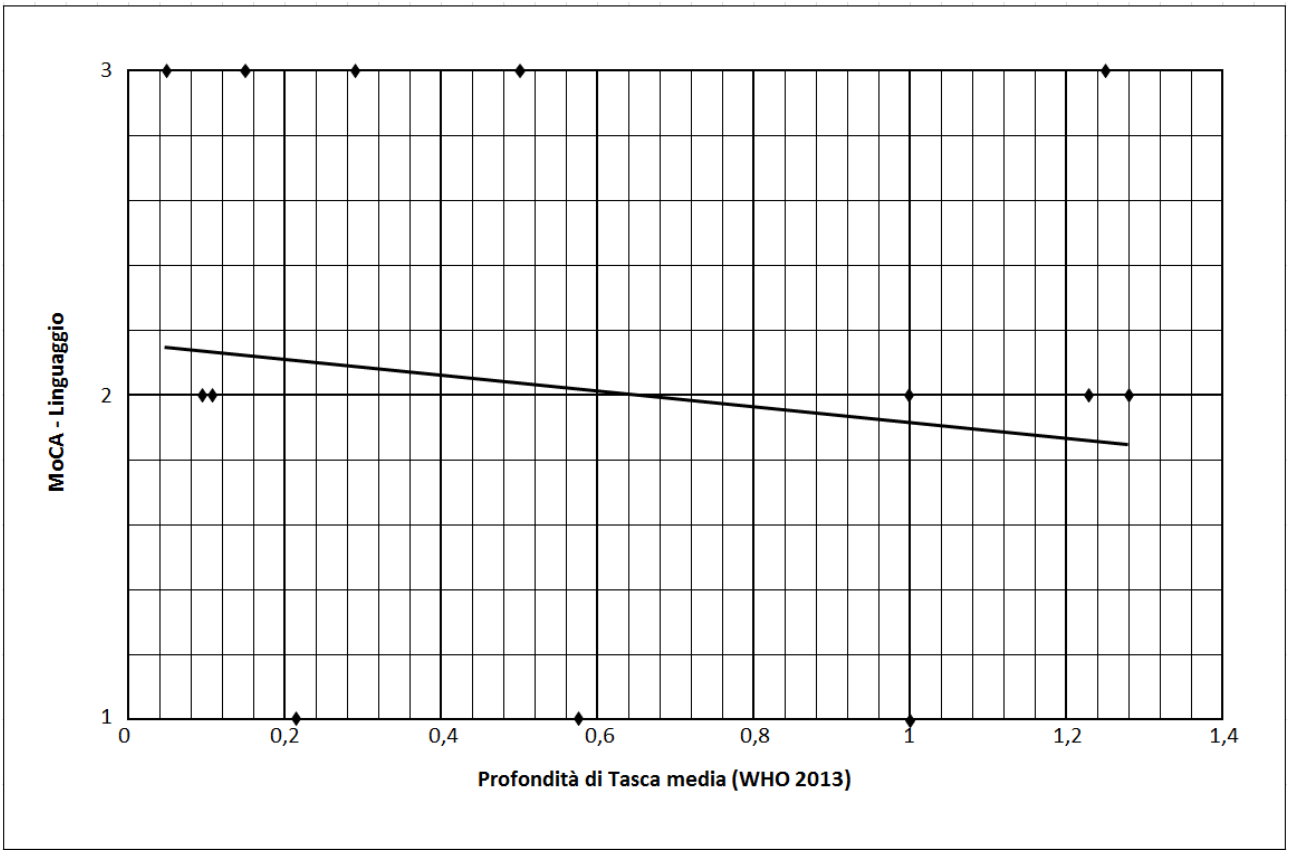


Grafico 6

Anche nel *grafico 6*, seppur in minor misura, l'associazione tra profondità di tasca (PD) e componente "Linguaggio" del Montreal Cognitive Assessment (MoCA) risulta soddisfatta. Difatti l'inclinazione della retta di regressione mostra la leggera diminuzione della dimensione "Linguaggio" all'aumentare del PD.

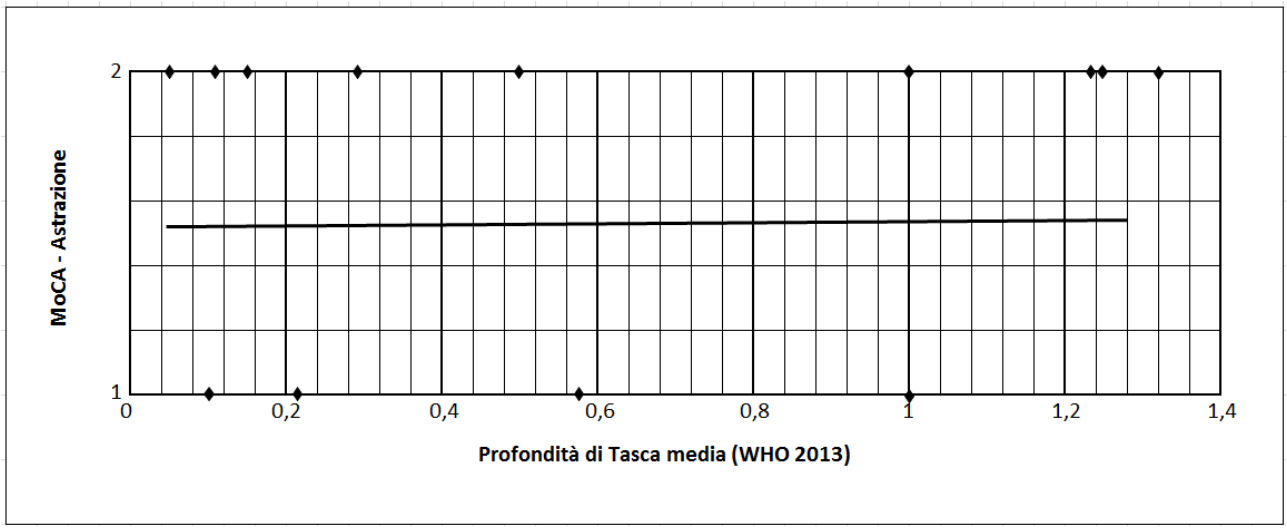


Grafico 7

Il *grafico 7* rappresenta la regressione semplice riguardante la profondità di tasca (PD) media, valutata con la sonda WHO (range 0-4) e la componente “Astrazione” del Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in pazienti con MCI. In tal caso le due variabili X e Y, sembrano quasi non influenzarsi tra loro, come evidente dalla retta quasi del tutto orizzontale nel grafico.

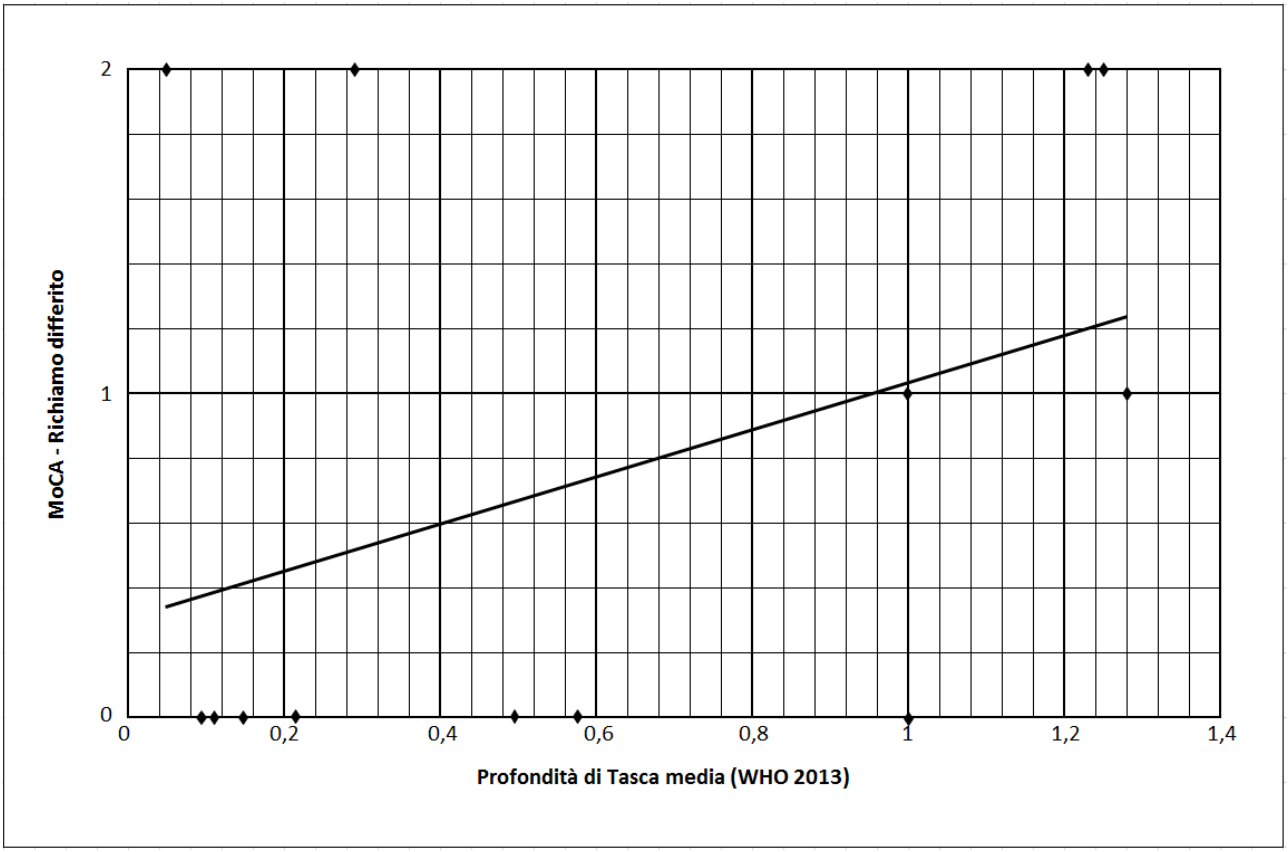


Grafico 8

Nel *grafico 8* sono riportate le variabili, il MoCA test come variabile dipendente indicatore del deficit cognitivo, la profondità media di tasca come indicatori dello stato parodontale, fattori di confondimento considerati nell'analisi sono stati la presenza di patologie cardio-circolatorie analizzate anamnesticamente (presenza di ischemia cardiaca

e ipertensione, assunzione di aspirina e statine) e di uno stato depressivo importante anch'esso analizzato anamnesticamente (assunzione di farmaci antidepressivi).

Inoltre, come già osservato nel *grafico 4*, c'è una totale assenza di associazione tra le variabili considerate.

Infatti la componente "Memoria a breve termine" addirittura tende ad aumentare.

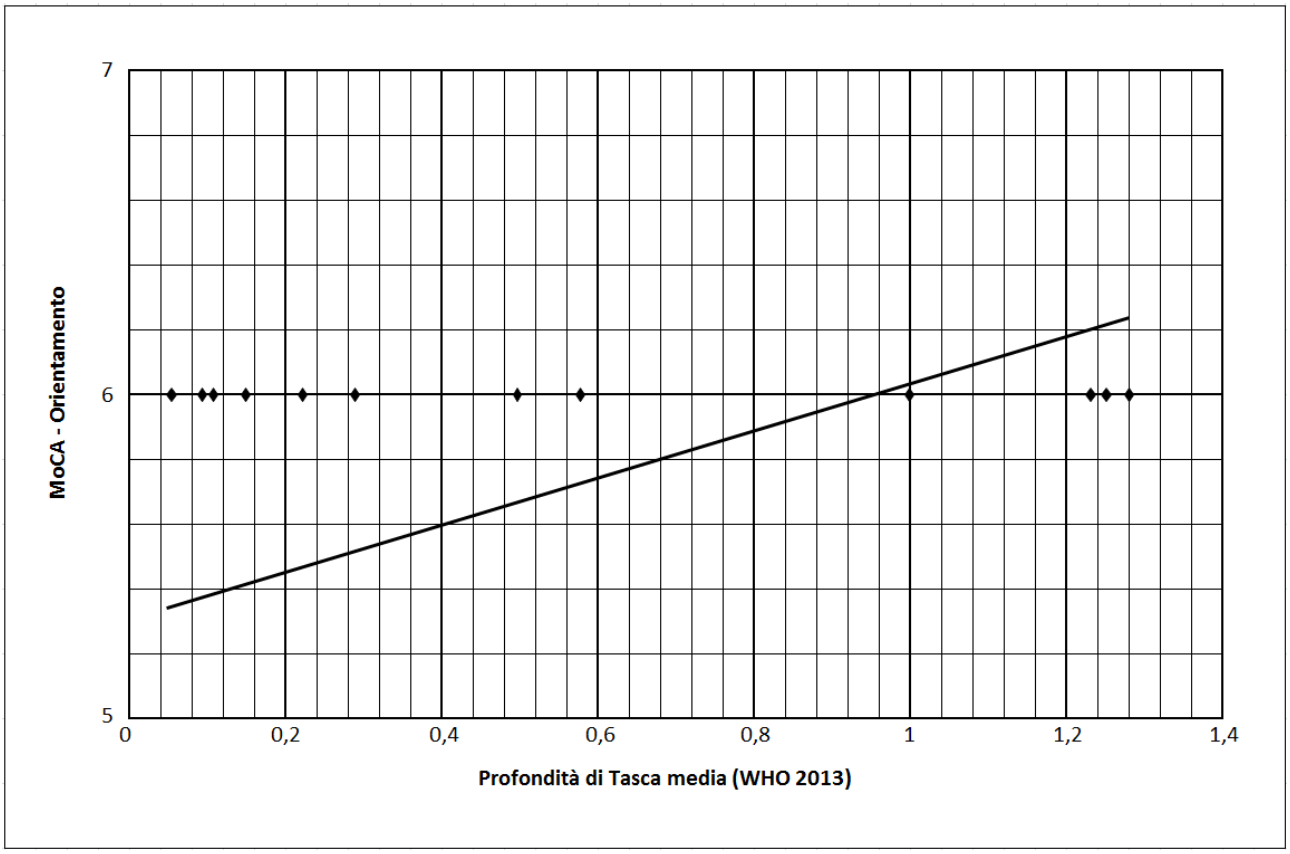


Grafico 9

L'ultima dimensione del MoCA, "Orientamento" analizzata in associazione alla profondità di tasca media è mostrata nel *grafico 9*, in cui dalla retta risultante è evidenziabile nuovamente una debole influenza tra le due variabili.

7. Discussione-Conclusioni

Il presente studio è di natura trasversale (cross-sectional) per cui fare speculazioni su associazioni causali sarebbe piuttosto azzardato. Comunque sia, abbiamo volutamente scelto pazienti con deficit cognitivo lieve per evitare il rischio che il cattivo stato di salute parodontale sia dovuto a fenomeni di demenza che portano ad una cattiva igiene orale. Ricordiamo inoltre, che i dati ricavati sono avvalorati dalle caratteristiche del campione selezionato, che doveva mostrare un livello di igiene orale, misurato tramite l'Indice di Sanguinamento Gengivale (GBI) mediamente buono.

Avendo presente che l'obiettivo dello studio condotto, è quello di voler identificare un'eventuale associazione tra Mild Cognitive Impairment e Parodontite, si è giunti alla conclusione finale che sussiste una correlazione tra le due condizioni patologiche, seppur non molto forte, ma tuttavia, come evidenziato dalla retta di regressione del *grafico 2*, la perdita di un punto di PD determina una diminuzione di 0,4 dello stato cognitivo. Detto ciò la malattia parodontale è correlabile ad un deficit cognitivo lieve, spesso condizione antecedente di demenze più gravi, tra cui il morbo di Alzheimer. Tale conclusione pone un importante accento sul ruolo che l'odontoiatra o l'igienista dentale rivestono nell'ambito della prevenzione poiché, come mostrato dal *grafico 5*, la dimensione cognitiva che maggiormente diminuisce in relazione alla profondità di tasca è l'attenzione.

Volendo fare speculazioni sui risultati evidenziati, si può pensare ad una associazione causale dovuta, come ipotizzato nell'Introduzione al superamento della barriera emato-encefalica da parte delle spirochete, ritrovate nei neuroni di pazienti deceduti affetti da morbo di Alzheimer, oppure ad uno stato di flogosi generale promosso dalla parodontite che aumenta la porosità della barriera emato-encefalica consentendo a sostanze potenzialmente neurotossiche come gli ioni dei metalli pesanti, di depositarsi nello stroma dei neuroni del SNC. Non si può tuttavia escludere anche una associazione spuria dovuta al fatto che ci siano altre patologie e condizioni, come le disbiosi intestinali e la presenza di alcuni parassiti, che provocano uno stato di infiammazione cronica, che a sua volta è associato sia alla parodontite che al morbo di Alzheimer. Infine è possibile che la presenza di MCI possa essere un motivo di stress per i pazienti che possono avere coscienza del loro stato cognitivo deficitario e quindi trovarsi in uno stato depressivo o ansioso che potrebbero far loro perdere di vista condizioni meno importanti come la salute orale con una conseguente riduzione dell'attenzione verso la parodontite.

Tanto premesso è naturale che l'odontoiatria o l'igienista dentale possano osservare, analizzare e comprendere un deficit dell'attenzione, tramite, ad esempio, semplici domande raccolte durante la compilazione della cartella clinica e durante l'aggiornamento della stessa nelle sedute successive; non solo, anche tramite il feedback relativo all'educazione e istruzione di specifiche manovre di igiene domiciliare, i professionista sanitari possono comprendere se il paziente mostra un deficit di attenzione o memoria. Quindi, la compliance che il paziente manifesta mentre i professionisti sanitari spiegano

l'importanza del trattamento a cui si sta sottoponendo, e quindi anche la puntualità nel rispettare gli appuntamenti predisposti permette all'operatore di capire meglio il livello cognitivo del paziente. Infine, la corretta elaborazione dell'anamnesi familiare e patologica, remota e prossima, consente all'odontoiatra o igienista dentale di sapere se è presente una predisposizione familiare nei confronti del morbo di Alzheimer, e in caso di deficit cognitivi lamentati saltuariamente dal paziente o evidenti all'operatore, è bene consigliare al paziente stesso di sottoporsi, presso un centro specializzato, ad un semplice test, tra cui il MoCA, per valutare il livello cognitivo.

Sicuramente una malattia parodontale che non mostra nel tempo margini di miglioramento, nonostante sia in corso una terapia per la stessa, e un deficit dell'attenzione frequente e notevole, consente al professionista sanitario di porre una diagnosi precoce di MCI. Tutto ciò si trasforma in un semplice esame che consiste in uno screening per il morbo di Alzheimer, eseguibile nella routine clinica, basato essenzialmente su un non-miglioramento delle condizioni parodontali, analizzate tramite un'attenta osservazione dei sondaggi nel tempo, e un deficit cognitivo (attenzione, memoria, linguaggio, astrazione, denominazione) che l'odontoiatra e l'igienista dentale possono rilevare durante le fasi di motivazione, istruzione ed educazione del paziente per il raggiungimento di una ottimale salute orale.

Quindi l'odontoiatra e l'igienista dentale comprendono se il paziente risulta essere non collaborante o meno a causa di un deficit cognitivo lieve. La possibilità di intercettare precocemente la condizione clinica di MCI permette di indirizzare subito il paziente verso

cure e trattamenti specifici al fine di eludere la possibilità di un'evoluzione successiva verso il morbo di Alzheimer.

In ultima istanza lo studio osservazionale apre la strada una collaborazione interdisciplinare rilevante tra la branca odontoiatrica e la branca neurologica, ponendo le figure professionali della salute orale ossia dentista e igienista dentale nuovamente in prima linea nell'ambito della prevenzione, in quanto svolgono un ruolo particolarmente attivo sia clinicamente, eseguendo attenti sondaggi, scrupolose terapie e oggettive rivalutazioni, sia nei confronti del rapporto con il paziente, il quale avrà la possibilità di relazionarsi, riferire i propri bisogni e le proprie difficoltà ad un operatore qualificato e istruito a comprendere ogni necessità e a intercettare prontamente un qualsiasi disturbo, anche correlato al livello cognitivo, poiché un trattamento parodontale potrebbe risultare benefico nei pazienti affetti da MCI (ipotesi da confermare con ulteriori studi sperimentali), e al contempo potrebbe rappresentare una spia di un deficit cognitivo, che se pur lieve, potrebbe determinare nel tempo una condizione più grave, come il morbo di Alzheimer. Quindi data la scarsità di studi relativi ai meccanismi eziopatogenetici tra la parodontite e l'Alzheimer e date la carenze comportamentali dei pazienti affetti dal morbo, attualmente non è possibile comprende se è la malattia di Alzheimer ad essere responsabile della parodontite o viceversa, ma sicuramente grazie a questo studio osservazionale, sappiamo che il Mild Cognitive Impairment è associato con la malattia parodontale e perciò intercettare tali due condizioni può significare diagnosticare

precocemente una condizione patologica come l'Alzheimer, per la quale non esiste ancora un trattamento farmacologico efficace e risolutivo.

8. Bibliografia

• A. Pilloni. Parodontologia clinica e implantologia orale Decima Edizione. Antonio Delfino Editore.

• Berardelli, G. Crucco (2015). La Neurologia della Sapienza. Roma, Esculapio.

• Burgos JS, Ramirez C, Sastre I, Valdivieso F. Apolipoprotein E genotype influences vertical transmission of herpes simplex virus type 1 in a gender specific manner. Aging Cell. 2007 Dec;6(6):841-2. Epub 2007 Aug 24. PubMed PMID: 17725689.

• Burgos JS, Ramirez C, Sastre I, Valdivieso F. Effect of apolipoprotein E on the cerebral load of latent herpes simplex virus type 1 DNA. J Virol. 2006 Jun;80(11):5383-7. PubMed PMID: 16699018; PubMed Central PMCID: PMC1472141

• Canevelli, M., Grande, G., Lacorte, E., Quarchioni, E., Cesari, M., Mariani, C., Bruno G., & Vanacore, N., (2016). Spontaneous reversion of Mild Cognitive Impairment to normal cognition: a systematic review of litterature and meta-analysis.Journal of the American Medical Director Association, 17, 943-948

• Delwel S, Binnekade TT, Perez RSGM, Hertogh CMPM, Scherder EJA, Lobbezoo F. Oral hygiene and oral health in older people with dementia: a comprehensive review with focus on oral soft tissues. Clin Oral Investig. 2018

• Delwel S, Scherder EJA, de Baat C, Binnekade TT, van der Wouden JC, Hertogh CMPM, Maier AB, Perez RSGM, Lobbezoo F. Orofacial pain and its potential oral

causes in older people with mild cognitive impairment or dementia. J Oral Rehabil. 2019 Jan;46(1):23-32.

• Dominy SS, Lynch C, Ermini F, Benedyk M, Marczyk A, Konradi A, Nguyen M, Haditsch U, Raha D, Griffin C, Holsinger LJ, Arastu-Kapur S, Kaba S, Lee A, Ryder MI, Potempa B, Mydel P, Hellvard A, Adamowicz K, Hasturk H, Walker GD, Reynolds EC, Faull RLM, Curtis MA, Dragunow M, Potempa J. Porphyromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. Sci Adv. 2019 Jan 23;5(1):eaau3333. doi: 10.1126/sciadv.aau3333

• Frank A. Scannapieco, A. Cantos (2016). Oral inflammation and infection, and chronic medical diseases: implications for the elderly. Periodontology 2000. Vol. 72, pp. 153-175.

• Frencken JE, Peters MC, Manton DJ, Leal SC, Gordan VV, Eden E. Minimal Intervention Dentistry (MID) for managing dental caries - A review: report of a FDI task group. Int Dent J 2012 Octo-ber;62(5):223-43

• G Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, S Kornman K, L Mealey B, Papapanou PN, Sanz M, S Tonetti M. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. J Clin Periodontol 2018;45 Suppl 20:S1-S8. doi:10.1111/jcpe.12935

• Guzman-Sanchez F, Valdivieso F, Burgos JS. Aging-related neurostructural, neuropathological, and behavioral changes associated with herpes simplex virus type 1

brain infection in mice. J Alzheimers Dis. 2012;30(4):779-90. doi: 10.3233/JAD-2012-120070. PubMed PMID: 22466000

• Igor O. Korolev (2014). Alzheimer’s Disease: A Clinical and Basic Science Review. Medical Student Research Journal. Vol. 04, pp. 024-032.

• Ilievski V, Zuchowska PK, Green SJ, Toth PT, Ragozzino ME, Le K, Aljewari HW, O'Brien-Simpson NM, Reynolds EC, Watanabe K. Chronic oral application of a periodontal pathogen results in brain inflammation, neurodegeneration and amyloid beta production in wild type mice. PLoS One. 2018 Oct 3;13(10):e0204941. doi: 10.1371/journal.pone.0204941.

• Itzhaki RF, Cosby SL, Wozniak MA. Herpes simplex virus type 1 and Alzheimer's disease: the autophagy connection. J Neurovirol. 2008 Jan;14(1):1-4. doi: 10.1080/13550280701802543. PubMed PMID: 18300070

• J. Lindhe, N. P. Lang (2016). Parodontologia clinica ed Implantologia orale. Edi-Ermes.

• Jamieson GA, Maitland NJ, Craske J, Wilcock GK, Itzhaki RF. Biochem Soc Trans. 1991 Apr;19(2):122S.

• Jamieson GA, Maitland NJ, Wilcock GK, Craske J, Itzhaki RF. Latent herpes simplex virus type 1 in normal and Alzheimer's disease brains. J Med Virol. 1991 Apr;33(4):224-7. PubMed PMID: 1649907

• Judith Miklossy. Alzheimer's disease a neurospirochetosis. Analysis of the evidence following Koch's and Hill's criteria. Mikloossy Journal of Neuroinflammation 2011, 8:90.

• Kikutani T, Yoneyama T, Nishiwaki K, Tamura F, Yoshida M, Sasaki H. Effect of oral care on cognitive function in patients with dementia. Geriatr Gerontol Int. 2010 Oct;10(4):327-8. doi: 10.1111/j.1447-0594.2010.00637.x. PubMed PMID: 20887627

• M. G. Newman, H. H. Takei, F. A. Carranza (2011). Carranza Parodontologia clinica. Vol. 1. Edizione a cura di

• M. Ide, M. Harris, A. Stevens, R. Sussams, V. Hopkins, D. Culliford, J. Fuller, P. Ibbett, R. Raybould, R. Thomas, U. Puenter, J. Telling, V. H. Perry, C. Holmes (2016). Periodontitis and Cognitive Decline in Alzheimer's Disease.

• Malek-Ahmadi,M. (2016).Reversion from mild cognitive impairment to normal cognition: a meta-analysis. Alzheimer Disease & Associated Disorders, 30(4), 324-330.

• Mitchell A.J., & Shiri-Feshki,M. (2009). Rate of progression of Mild Cognitive Impairment to dementia: meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. Acta Psychiatrica Scandinavica, 119(4), 252-265. PLOS ON, DOI: 10.1371/journal.pone.0151081 pp. 53-61.

• N. Okamoto, M. Morikawa, K. Tomioka, M. Yanagi, N. Amano, N. Kurumatani (2015). Association between Tooth Loss and the Development of Mild Memory Impairment in the Elderly: The Fujiwara-kyo Study. Journal of Alzheimer's Disease. Vol. 44, pp. 777-786.

• Nangle MR, Riches J, Grainger SA, Manchery N, Sachdev PS, Henry JD. Oral Health and Cognitive Function in Older Adults: A Systematic Review. Gerontology. 2019 Mar 22:1-14. doi: 10.1159/000496730. [Epub ahead of print] PubMed PMID:30904915.

• Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Classification of diseases and conditions affecting the periodontium. In Carranza's Clinical Periodontology, 12th ed. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2012; pp. 45–67.

• Paul I. Eke, Roy C. Page, Liang Wei, Gina Thornton-Evans, Robert J. Genco (2012). Update of the Case Definitions for Population-Based Surveillance of Periodontitis. J. Periodontol. Vol. 83, n. 12, pp. 1449-1453.

• Recurrent herpes simplex virus-1 infection induces hallmarks of neurodegeneration and cognitive deficits in miceDe Chiara, G., Piacentini, R., Fabiani, M., Mastrodonato, A.,Marcocci, M. E., Limongi, D., Napoletani, G., Protto, V., Coluccio, P., Celestino. I., Li Puma, D. D., Grassi, C., Palamara A. T. -PLoS Pathogens2019

• Riviere GR, Riviere KH, Smith KS. Molecular and immunological evidence of oral Treponema in the human brain and their association with Alzheimer's disease. Oral Microbiol Immunol 2002: 17: 113-118. © Blackwell Munksgaard.

• Roy C. Page, Paul I. Eke (2007). Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis. J. Periodontol. Vol. 78, n. 7, pp. 1387-1398.

• Sim K. Singhrao, Alice Harding, Sophie Poole, Lakshmyya Kesavalu, and StJohn Crean. Porphyromonas gingivalis Periodontal Infection and Its Putative Links with

Alzheimer’s Disease. Hindawi Publishing Corporation. Mediators of Inflammation. Volume 2015, Article ID 137357, 10 pages.

• Steven A. Harris and Elizabeth A. Harris. Herpes simplex virus Type 1 and Other Pathogens are Key Causative Factors in Sporadic Alzheimer’s Disease. Joumal of Alzheimer’s Disease 48 (2015) 319-353, DOI 10.3233/JAD-142853.

• Wozniak MA, Frost AL, Preston CM, Itzhaki RF. Antivirals reduce the formation of key Alzheimer's disease molecules in cell cultures acutely infected with herpes simplex virus type 1. PLoS One. 2011;6(10):e25152. doi:10.1371/journal.pone.0025152. Epub 2011 Oct 7. PubMed PMID: 22003387; PubMed Central PMCID: PMC3189195

• Wozniak MA, Mee AP, Itzhaki RF. Herpes simplex virus type 1 DNA is located within Alzheimer's disease amyloid plaques. J Pathol. 2009 Jan;217(1):131-8. doi: 10.1002/path.2449. PubMed PMID: 18973185

• X. Chenl, J. J. Clark, H. Chen (2015). Cognitive impairment, oral self-care function and dental caries severity in community-dwelling older adults. Gerodontology. Vol. 32,

• Zandona AF, Zero DT. Diagnostic tools for early caries detection. J Am Dent Assoc 2006;137:1675-84

•Mitchell,A.J.,&Shiri-Feshki,M. (2009). Rate of progression of Mild Cognitive Impairment todementia: meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. Acta Psychiatrica Scandinavica, 119(4), 252-265. PLOS ON, DOI: 10.1371/journal.pone.0151081 pp. 53-61.