

Progetto “Analisi del Microbiota e del Microbioma Orale e interconnessioni con diverse patologie sistemiche”

Le comunità del cavo orale ed intestinale sono i due più grandi ecosistemi microbici del corpo umano (1). Il microbiota è rappresentato dalla popolazione di microrganismi (batteri, funghi, protozoi e virus) di numerosi generi e specie che colonizzano la cavità orale ed il tratto gastroenterico come commensali o come patogeni opportunisti (1).

La composizione del microbiota orale è stata analizzata in diversi studi (1-4).

E' stato dimostrato che microrganismi del cavo orale possono penetrare nel circolo sanguigno attraverso la distruzione del tessuto dentale (smalto/dentina) e necrosi pulpare con fuoriuscita dall'apice di patogeni e disseminazione nel tessuto osseo intorno alla radice (tessuto periapicale), formando cisti, granulomi e riassorbimenti ossei (5-8). Questi microrganismi possono penetrare nel sistema vascolare, con il rischio di disseminazione sistemica in differenti distretti anatomici (9), come nel sistema cardiovascolare (10), fegato, milza e sistema nervoso centrale da parte di patogeni provenienti dal canale endodontico. Pertanto, popolazioni microbiologiche del cavo orale sembrano essere maggiormente correlate a patologie sistemiche, quali le patologie cardiovascolari (valvulopatie, aterosclerosi, endocarditi) (10), renali (patologia renale cronica) (11) e neurologiche (Alzheimer e patologie neurodegenerative) (12,13). Diversi microrganismi riscontrati in queste patologie appartengono al red complex quali, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* e *Treponema denticola*, tutti batteri anaerobi, gram-negativi e fortemente associati alla malattia parodontale (14) ed alla patologia endodontica periapicale (5-7,9).

Il cancro gastrico è uno dei tumori maligni più comuni a rapido sviluppo (15). Le comunità microbiche sono considerate un fattore importante nell'incidenza e nello sviluppo del cancro gastrico, come ad esempio l'*Helicobacter pylori* (15-17)

Un ampio gruppo di microrganismi del cavo orale sembra essere associato ed implicato nella carcinogenesi del tumore del cancro gastrico ed esofageo, come ad esempio *Tannerella forsythia*, *Peptostreptococcus stomatis* e *Streptococcus anginosus*. (18). Una scarsa igiene orale (presenza di placca batterica e tartaro sottogengivale, gengivite e parodontite) favorisce lo sviluppo di batteri che riducono i nitrati producendo nitrosammine, nota causa che favorisce lo sviluppo di cancro gastrico (19). Tuttavia, pochi studi sono attualmente presenti relativi alla correlazione tra microrganismi orali e rischio oncogenico/carcinogenetico.

Le nuove tecniche diagnostiche di sequenziamento genico (Next Generation Sequencing) (20,21) e di radiologia 3D Cone Beam Computed Tomography (CBCT) (22) rendono possibili nuove indagini accurate a livello del microbiota, microbioma orale e dello stato di salute dei tessuti periapicali.

Il progetto intende analizzare la composizione del microbiota (popolazione di microrganismi che colonizza un ambiente in un determinato tempo) e microbioma (la totalità del patrimonio genetico espresso dal microbiota) orale in pazienti con differenti patologie gastriche tumorali o precancerose.

Pazienti afferenti all' Unità Operativa, ambulatorio di Endoscopia Digestiva con diagnosi positiva ad *Helicobacter pylori* saranno indirizzati presso l'Unità Operativa Reparto di Endodonzia della Clinica Odontoiatrica per la valutazione del loro stato di salute orale e per prelievo microbiologico.

I pazienti saranno reclutati nel corso di 2 anni. L'adesione allo studio sarà su base volontaria previa acquisizione di consenso scritto. Una coorte di pazienti in salute e con diagnosi negativa ad *Helicobacter pylori*, afferenti all' Unità Operativa, ambulatorio di Endoscopia Digestiva costituirà il gruppo controllo.

Sarà reclutato un campione minimo di 68 pazienti, considerando un livello di confidenza del 90% ed un margine di errore del 10%.

I pazienti saranno reclutati tramite i seguenti criteri di inclusione:

- età compresa tra 40-85 anni
- breath test positivo
- presenza di infiltrato polimorfonucleato nell'epitelio gastrico
- stato di salute ASA 1-2 (23)

I criteri di esclusione saranno:

- età inferiore a 40 anni
- stato di salute ASA 3-4 (23)

Come gruppo di controllo saranno reclutati pazienti con le seguenti caratteristiche:

- età compresa tra 40-85 anni
- breath test negativo
- assenza di patologie/problematiche gastrointestinali
- stato di salute ASA 1-2 (23)

Saranno analizzati i seguenti parametri:

- Status dentale: Indice DMFTI (Decayed, Missed, Filled Tooth and Implants)
- Status parodontale: indice di placca (Plaque Score, PS), profondità della tasca parodontale (Pocket Probing Depth, PPD) e sanguinamento al sondaggio (Bleeding on Probing, BoP).

Il prelievo microbiologico sarà eseguito in maniera non invasiva utilizzando un cono di carta sterile. Due zone specifiche saranno scelte per ogni paziente: in corrispondenza della tasca parodontale più profonda e sulla porzione media della lingua.

L'analisi del microbioma prelevato dal cavo orale, eseguita tramite Next Generation Sequencing (20,21), che consentirà di identificare il microbiota orale e la presenza di microrganismi tipici del tratto gastrico e/o con potenziali patogenicità e oncogenicità/carcinogenicità.

Lo stato di salute del paziente sarà inoltre studiato in correlazione a malattia parodontale, numero di elementi dentali rimasti, problematiche gastriche, status dentale, status parodontale, stato ASA oltre a età, genere, abitudine al fumo.

Possibili risultati attesi sono:

- presenza a livello della tasca parodontale e/o del tessuto linguale di biota potenzialmente patogeno ed oncogenico
- una correlazione livelli di biota patogeno nel cavo orale e stadio/progressione della patologia gastrica

Bibliografia

1. Park SY, Hwang BO, Lim M, Ok SH, Lee SK, Chun KS, Park KK, Hu Y, Chung WY, Song NY. Oral-Gut Microbiome Axis in Gastrointestinal Disease and Cancer. *Cancers* 2021;13:2124. doi: 10.3390/cancers13092124.
2. Yuan X, Liu Y, Kong J, Gu B, Qi Y, Wang X, Sun M, Chen P, Sun W, Wang H, Zhou F, Gao S. Different frequencies of *Porphyromonas gingivalis* infection in cancers of the upper digestive tract. *Cancer Lett* 2017;404:1-7. doi: 10.1016/j.canlet.2017.07.003.
3. Weng MT, Chiu YT, Wei PY, Chiang CW, Fang HL, Wei SC. Microbiota and gastrointestinal cancer. *J Formos Med Assoc* 2019;118:32-41.
4. Rautemaa R, Lauhio A, Cullinan MP, Seymour GJ. Oral infections and systemic disease--an emerging problem in medicine. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:1041-1047. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01802.x
5. Cavrini F, Pirani C, Foschi F, Montebugnoli L, Sambri V, Prati C. Detection of *Treponema denticola* in root canal systems in primary and secondary endodontic infections. A correlation with clinical symptoms. *New Microbiol* 2008;31:67-73.
6. Buonavoglia A, Latronico F, Pirani C, Greco MF, Corrente M, Prati C. Symptomatic and asymptomatic apical periodontitis associated with red complex bacteria: Clinical and microbiological evaluation. *Odontology* 2013;101:84-88.
9. Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13:171-183.
7. Pirani C, Bertacci A, Cavrini F, Foschi F, Acquaviva GL, Prati C, Sambri V. Recovery of *Enterococcus faecalis* in root canal lumen of patients with primary and secondary endodontic lesions. *New Microbiol* 2008;31:235-240
8. Gurenlian JR. Inflammation: the relationship between oral health and systemic disease. *Dent Assist* 2009 Mar-;78:8-10, 12-4, 38-40; quiz 41-3. PMID: 19413061.
9. Foschi F, Izard J, Sasaki H, Sambri V, Prati C, Müller R, Stashenko P. *Treponema denticola* in disseminating endodontic infections. *J Dent Res* 2006;85:761-765.
10. Chhibber-Goel J, Singhal V, Bhowmik D, Vivek R, Parakh N, Bhargava B, Sharma A. Linkages between oral commensal bacteria and atherosclerotic plaques in coronary artery disease patients. *NPJ Biofilms Microbiomes* 2016;2:7.
11. Hu J, Iragavarapu S, Nadkarni GN, Huang R, Erazo M, Bao X, Verghese D, Coca S, Ahmed MK, Peter I. Location-Specific Oral Microbiome Possesses Features Associated With CKD. *Kidney Int Rep* 2017;3:193-204. doi: 10.1016/j.ekir.2017.08.018.
12. 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;13: e0204941.
13. 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;23;5:eaau3333. doi: 10.1126/sciadv.aau3333.
14. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-44. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x.
15. Wroblewski LE, Peek RM Jr, Wilson KT. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:713-739. doi: 10.1128/CMR.00011-10.

16. Talebi Bezmin Abadi A, Taghvaei T, Mohabbati Mobarez A, Vaira G, Vaira D. High correlation of babA 2-positive strains of *Helicobacter pylori* with the presence of gastric cancer. *Intern Emerg Med* 2013;8:497-501. doi: 10.1007/s11739-011-0631-6.
17. Zullo A, Hassan C, Cristofari F, Andriani A, De Francesco V, Ierardi E, Tomao S, Stolte M, Morini S, Vaira D. Effects of *Helicobacter pylori* eradication on early stage gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:105-10. doi: 10.1016/j.cgh.2009.07.017.
18. Bakhti SZ, Latifi-Navid S. Oral microbiota and *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis: what do we know and where next? *BMC Microbio*. 2021; 21: 71.
19. Lo CH, Kwon S, Wang L, Polychronidis G, Knudsen MD, Zhong R, Cao Y, Wu K, Ogino S, Giovannucci EL, Chan AT, Song M. Periodontal disease, tooth loss, and risk of oesophageal and gastric adenocarcinoma: a prospective study. *Gu*. 2021; 70: 620-621 doi: 10.1136/gutjnl-2020-321949.
20. Malla MA, Dubey A, Kumar A, Yadav S, Hashem A, Abd Allah EF. Exploring the Human Microbiome: The Potential Future Role of Next-Generation Sequencing in Disease Diagnosis and Treatment. *Front Immunol* 2019;9:2868. doi: 10.3389/fimmu.2018.02868.
21. Zaura E. Next-generation sequencing approaches to understanding the oral microbiome. *Adv Dent Res* 2012;24:81-5. doi: 10.1177/0022034512449466
22. Gazzaneo I, Amoroso-Silva P, Pacheco-Yanes J, Alves FRF, Marceliano-Alves M, Olivares P, Siqueira JF, Rocas IN. Disinfecting and Shaping Type I C-shaped Root Canals: A Correlative Micro-computed Tomographic and Molecular Microbiology Study. *J Endod* 2021;47:621-630.
23. Clough S, Shehabi Z, Morgan C. Medical risk assessment in dentistry: use of the American Society of Anesthesiologists Physical Status Classification. *Br Dent J* 2016 12; 220:103-8.