

The role of periopathogens in pathogenesis of atherosclerotic disease

Rola periopatógenów w etiopatogenezie choroby miażdżycowej

Maciej Zaremba¹, Jerzy Leszczyński², Renata Górka¹

¹Department of Periodontology and Oral Medicine, Warsaw Medical University, Warsaw, Poland (Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia IS WUM w Warszawie)

²Department of General and Thoracic Surgery, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland (Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Chorób Klatki Piersiowej WUM w Warszawie)

Abstract

Introduction. The relationship between chronic inflammation processes, including periodontitis and pathogenesis of atherosclerosis, has been studied for over twenty years. Therefore, the aim of this study was an assessment of the occurrence of selected anaerobic bacteria: in atherosclerotic plaque in patients treated surgically due to occlusion of coronary vessels, and in atherosclerotic plaque in patients treated surgically due to haemodynamically significant internal carotid artery stenosis, with a high risk of cerebral stroke. The analysis also included periodontitis progression indices and their impact on the occurrence of periopathogens in the walls of diseased arteries.

Material and methods. The study included 40 patients: 20 individuals after aortocoronary bypass implant and 20 individuals hospitalized due to haemodynamically significant internal carotid artery stenosis, who underwent endarterectomy. Atherosclerotic plaque was assessed bacteriologically with PCR tests. The impact of periodontitis progression parameters on the occurrence of periopathogens in diseased arteries was also evaluated.

Results. In 65% of patients in the cardiac group and in 20% of patients in the stroke group, periopathogens were observed in atherosclerotic arteries. Patients with periopathogens indicated significantly increased bleeding index and percentage of periodontal pockets ≥ 4 mm compared to patients without periopathogens in atherosclerotic plaque.

Conclusions. Active inflammatory process in deep periodontal pockets is responsible for the transfer of periopathogens from diseased periodontal tissues to remote arterial vessels.

Key words: periodontal disease, cardio-vascular disease, atherosclerosis

Streszczenie

Wstęp. Związek przewlekłych procesów zapalnych, w tym zapalenia przyzębia, z etiopatogenezą miażdżycy jest przedmiotem badań od ponad 20 lat. Dlatego celem pracy była ocena częstości występowania wybranych bakterii beztlenowych w blaszce miażdżycowej u pacjentów leczonych operacyjnie z powodu niedrożności naczyń wieńcowych oraz blaszce miażdżycowej u pacjentów leczonych operacyjnie z powodu istotnego hemodynamicznie zwężenia tętnicy szyjnej wewnętrznej, z wysokim ryzykiem udaru mózgu. Analizie poddano również wskaźniki stopnia zaawansowania choroby przyzębia i ich wpływ na obecność periopatógenów w ścianie zmienionych naczyń tętniczych.

Materiał i metody. Badaniem objęto 40 pacjentów: 20 poddanych zabiegowi wszczepienia pomostów aortalno-wieńcowych oraz 20 hospitalizowanych z powodu istotnego hemodynamicznie zwężenia tętnicy

Address for correspondence:

dr n. med. Maciej Zaremba,
Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia IS WUM
ul. Miodowa 18, 00-246 Warszawa
tel.: + 48 22 502 20 36
e-mail: sluzowki@wum.edu.pl

szyjnej wewnętrznej, u których przeprowadzono zabieg endarterektomii. Blaszkę miażdżycową poddano ocenie bakteriologicznej za pomocą testów PCR. Oceniono wpływ parametrów stopnia zaawansowania choroby przyzębia na obecność periopatogenów w zmienionych naczyniach tętniczych.

Wyniki. U 65% pacjentów w grupie kardiologicznej i u 20% w grupie udarowej wykryto periopatogeny w zmienionych miażdżycowo tętnicach. Pacjenci z wykrytymi bakteriami przyzębnymi mieli istotnie wyższy wskaźnik krwawienia i odsetek kieszonek przyzębnych ≥ 4 mm niż pacjenci bez periopatogenów w blaszkach miażdżycowych.

Wnioski. Za przedostawanie się periopatogenów ze zmienionych chorobowo tkanek przyzębia do odległych naczyń tętniczych odpowiedzialny jest aktywnie toczący się proces zapalny w głębokich kieszonek przyzębnych.

Słowa kluczowe: choroba przyzębia, choroby sercowo-naczyniowe, miażdżyca

Acta Angiol 2012; 18, 3: 99–109

Introduction

Lesions within the heart and arterial vessels caused by atherosclerosis remain the main cause of death in almost all regions of the world. In recent years, a significant extension of the population's life expectancy has been observed. It is directly related to progress in the treatment of the main risk factors of atherosclerosis: hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, and nicotine [1].

Autopsy examinations confirm the occurrence of atherosclerotic lesions in children and youths. Most of these lesions develop with age. Intravenous ultrasonography (IVUS) performed in heart donors confirmed the occurrence of typical atherosclerotic lesions in 17% of donors over 20 years of age [2]. It confirms the widely spreading opinion that the campaign to combat against atherosclerosis risk factors in youngsters may be more significant than pharmacological treatment of atherosclerotic lesions at a later age.

Most of the population has more or less intensive atherosclerotic lesions. During most phases of development those lesions are covered by undamaged endothelium. Regular endothelium guarantees the lack of fatal clinical symptoms related mainly to embolism and thrombosis at sites with ulcerated atherosclerotic plaque (devoid of endothelium). Atherosclerosis is more and more frequently treated as a slowly progressing inflammatory disease of the arteries. Factors conducive to degeneration of atherosclerotic plaque are low-density lipoproteins (LDL), monocytes, and macrophages, which accumulate oxidized LDL particles in subendothelial space, creating foam cells. They are accompanied by other inflammatory cells: T lymphocytes, which constitute 10–20% of leukocytes in atherosclerotic plaque and mast cells, and are able to cause ruptures on plaque's surface. Multipotential smooth muscle cells, migrating from en-

Wstęp

Zmiany w obrębie serca i naczyń tętniczych spowodowane miażdżycą pozostają główną przyczyną zgonów w niemal wszystkich regionach świata. W ostatnich latach obserwuje się znaczne wydłużenie czasu przeżycia populacji. Ma to bezpośredni związek z postępem w leczeniu głównych czynników ryzyka miażdżycy: nadciśnienia, cukrzycy, hipercholesterolemii oraz nikotynizmu [1].

Badania autopsyjne potwierdzają obecność zmian miażdżycowych u dzieci i młodzieży. Większość tych zmian rozwija się z wiekiem. Ultrasonografia wewnątrznaczyniowa (IVUS) wykonywana u dawców serca potwierdziła obecność typowych zmian miażdżycowych u 17% dawców < 20. roku życia [2]. Potwierdza to coraz powszechniejszą opinię, że kampania walki z czynnikami ryzyka rozwoju miażdżycy u młodych osób może być istotniejsza niż farmakologiczne leczenie zmian miażdżycowych w wieku późniejszym.

W większości populacji występują mniej lub bardziej nasilone zmiany miażdżycowe. Zmiany te przez większość faz rozwoju pokrywa nieuszkodzony śródbłonek. Prawidłowy śródbłonek gwarantuje brak fatalnych w skutkach objawów klinicznych, związanych głównie z zatorowością oraz zakrzepicą w miejscu owrzodzeń (pozbawionych śródbłonek) blaszek miażdżycowych. Miażdżyca jest coraz częściej traktowana jako powoli postępująca choroba zapalna w obrębie tętnic. Czynniki, które sprzyjają degeneracji blaszek miażdżycowych, są lipoproteiny o małej gęstości (LDL), monocyty oraz makrofagi, które w przestrzeni podśródbłonkowej magazynują utlenowane cząsteczki LDL, tworząc komórki piankowate. Towarzyszą im inne komórki zapalne: limfocyty T, które stanowią 10–20% leukocytów w blaszce miażdżycowej oraz komórki tuczne zdolne do wywołania pęknięć na powierzchni blaszki. Obser-

endothelium, which produce the matrix and collagen in subendothelial space are also observed [3]. Arterial stenoses remain asymptomatic, as long as atherosclerotic plaque is stable. The issue of whether bacteria and viruses can accelerate the destabilization process is still under investigation. Serological tests in patients operated due to atherosclerotic lesions and a parallel search for genomes in atherosclerotic plaque have confirmed more frequent occurrence of cytomegalovirus in this group of patients. The bacteria which is most frequently associated with cardiovascular pathology is a pathogen of the respiratory tract — *Chlamydia pneumoniae*. A higher concentration of *C. pneumoniae* antibodies was observed in patients after recent cardiac infarction. The pathogen's presence in atherosclerotic plaque of carotid and femoral arteries was observed by means of immunocytochemical methods [4]. However, there are no standardized tests for the presence of *C. pneumoniae*. Randomized studies with application of antibiotics did not confirm that guided antichlamydial antibiotic therapy significantly improved prognosis in patients with coronary heart disease [5].

Also, researchers of atherosclerotic processes have investigated the role of pathogens associated with periodontal disease. Epidemiological studies were used to find proof for such a correlation.

In a study by Wu (2000), 9962 individuals aged 25–74 years were examined. The risk of stroke, and especially of ischaemic stroke, was assessed. Compared to individuals with healthy periodontium, the risk was as follows: 1.24 for patients with gingivitis, 2.11 for patients with periodontitis, and 1.41 for edentulous patients [6].

A correlation of periodontal disease with cerebral-vascular events was also demonstrated in a study by Beck (1996), who observed that alveolar bone loss increases the relative risk of stroke by 2.8 times, and in a study by Grau (1977) where stroke patients had deteriorated periodontal status compared to healthy individuals, and the increased risk of cerebral-vascular events was associated with periodontitis, periapical lesions, but not with caries [7, 8].

Aim

The aim of the study was to assess the occurrence of selected anaerobic bacteria: in atherosclerotic plaque in patients treated surgically due to coronary vessel occlusion, and in atherosclerotic plaque in patients treated surgically due to haemodynamically significant internal carotid artery stenosis, with a high risk of cerebral stroke. Periodontal disease indices and their impact on the occurrence of periopathogens in the walls of diseased arterial vessels were also analysed.

wu je także komórki macierzyste, migrujące z błony środkowej, komórki mięśni gładkich, które produkują macierz i kolagen w przestrzeni podródbłonkowej [3]. Zwężenia miażdżycowe pozostają bezobjawowe, dopóki nie dochodzi do destabilizacji blaszki miażdżycowej. Kwestia, czy bakterie i wirusy mogą przyspieszać proces destabilizacji, pozostaje przedmiotem badań. Badania serologiczne u chorych operowanych z powodu zmian miażdżycowych oraz równoległe prowadzone poszukiwania genomów w blaszkach miażdżycowych potwierdziły częstsze występowanie cytomegalowirusa w tej grupie chorych. Spośród bakterii, patogenem najczęściej kojarzonym z patologią sercowo-naczyniową dróg oddechowych, pozostaje *Chlamydia pneumoniae*. Zaobserwowano większe stężenie przeciwciał przeciw *C. pneumoniae* u chorych z ostrym zawałem serca. Metodami immunocytochemicznymi stwierdzono obecność tej bakterii w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych i udowych [4]. Nie ma jednak wystandaryzowanych testów na obecność *C. pneumoniae*. Wyniki randomizowanych badań ze stosowaniem antybiotyków nie potwierdziły, aby celowana antychlamydialna antybiotykoterapia znacząco poprawiała rokowanie u pacjentów z chorobą wieńcową [5].

Również rola patogenów związanych z chorobą przyzębia znalazła się w kręgu zainteresowania badaczy procesów miażdżycowych. W badaniach epidemiologicznych poszukiwano dowodów na istnienie takiego związku.

W badaniach Wu (2000) analizie poddano 9962 osoby w wieku 25–74 lat. Oceniano ryzyko wystąpienia udaru, a w szczególności udaru niedokrwiennego. W porównaniu z osobami ze zdrowym przyzęciem ryzyko to wynosiło 1,24 dla osób z zapaleniem dziąseł, 2,11 dla osób z zapaleniem przyzębia i 1,41 dla pacjentów bezzębnych [6].

Związek choroby przyzębia z incydentami mózgowo-naczyniowymi został również wykazany w badaniach Becka (1996), który stwierdził, że utrata kości wyrostka zębodołowego zwiększa relatywne ryzyko udaru 2,8-krotnie, oraz badaniach Grau (1977), w których u pacjentów z udarem stwierdzono gorszy stan przyzębia niż u osób zdrowych, a wzrost ryzyka incydentów mózgowo-naczyniowych miał związek z zapaleniem przyzębia, obecnością zmian okołowierzchołkowych, ale nie próchnicą [7, 8].

Cel pracy

Celem pracy była ocena częstości występowania wybranych bakterii beztlenowych w blaszce miażdżycowej u pacjentów leczonych operacyjnie z powodu niedroż-

Material and methods

The study included 40 patients: 20 individuals (6 females and 14 males), mean age 60 years, hospitalized in the Department of Cardiosurgery, Medical University of Warsaw due to coronary vessel occlusion, who were subjected to aortocoronary bypass implant, and 20 patients (7 females and 13 males), mean age 67 years, hospitalized in the Department of General and Thoracic Surgery, Medical University of Warsaw due to haemodynamically significant internal carotid artery stenosis, who underwent endarterectomy (surgical recanalization of internal carotid artery).

All patients were interviewed for history and examined physically, including a thorough periodontal examination. Number of teeth, simplified plaque index, simplified bleeding index (BOP), pocket depth (in mm) (PD), percentage of pockets ≥ 4 mm (%PD ≥ 4 mm), and clinical attachment loss (in mm) (CAL) were determined.

The presence of periopathogens in atherosclerotic plaque collected intraoperatively during bypass implantation and during endarterectomy was assessed by means of PCR test. The test, which is based on a biotechnological procedure, analyses the occurrence of eight bacterial pathogens in a collected DNA sample: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.), *Porphyromonas gingivalis* (Pg.), *Tanarella forsythia* (T.f.), *Treponema denticola* (T.d.), *Prevotella intermedia* (Pi.), *Fusobacterium nucleatum* (F.n.), *Campylobacter rectus* (C.r.), and *Eikenella corrodens* (E.c.). The threshold value was 10^3 bacteria in a sample.

In order to assess periodontal parameters which could have impact on the transfer of bacteria from periodontal pockets to coronary vessels and carotid arteries, both studied groups of 20 patients were divided into subgroups: with bacteria, where periopathogens were observed in atherosclerotic plaque, and without bacteria, where no such bacteria were observed.

Results

In 20 patients hospitalized in the Department of Cardiosurgery due to coronary vessel occlusion and subjected to bypass implant, DNA analyses confirmed the occurrence of periopathogens in 13 individuals. This constituted 65% of examined atheromas (Fig. 1).

In the group of 20 patients hospitalized in the Department of General and Thoracic Surgery due to internal carotid artery stenosis, who underwent endarterectomy, DNA of periopathogens was observed in 4 individuals. This constituted 20% of examined atheromas (Fig. 2).

In both study groups, the most frequently identified pathogens were red complex bacteria, according to Socransky: Pg, Td, Tf. The mean level of periodontitis progression indices was assessed within each group.

ności naczyń wieńcowych oraz blaszce miażdżycowej u pacjentów leczonych operacyjnie z powodu istotnego hemodynamicznie zwężenia tętnicy szyjnej wewnętrznej, z wysokim ryzykiem udaru mózgu. Analizie poddano również wskaźniki stopnia zaawansowania choroby przyzębia i ich wpływ na obecność periopatogenów w ścianie zmienionych naczyń tętniczych.

Materiał i metody

Badaniem objęto 40 pacjentów: 20 osób (6 kobiet i 14 mężczyzn), średnia wieku 60 lat, hospitalizowanych na Klinicznym Oddziale Kardiochirurgii WUM z powodu niedrożności naczyń wieńcowych i poddanych zabiegowi wszczepienia pomostów aortalno-wieńcowych, oraz 20 osób (7 kobiet i 13 mężczyzn), średnia wieku 67 lat, hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Chirurgii Ogólnej i Chorób Klatki Piersiowej WUM z powodu istotnego hemodynamicznie zwężenia tętnicy szyjnej wewnętrznej, u których przeprowadzono zabieg endarterektomii (operacyjne udrożnienie tętnicy szyjnej wewnętrznej).

U wszystkich pacjentów przeprowadzono badania podmiotowe i przedmiotowe, z uwzględnieniem szczegółowego badania periodontologicznego. Określono liczbę zębów, uproszczony procentowy wskaźnik płytki, uproszczony procentowy wskaźnik krwawienia (BOP), głębokość kieszonek (w mm) (PD), odsetek kieszonek ≥ 4 mm (odsetek PD ≥ 4 mm) oraz utratę przyczepu łącznotkankowego (w mm) (CAL).

Ocenę obecności periopatogenów w pobranej śródoperacyjnie, podczas zabiegu wszczepienia bypassów, oraz zabiegu operacyjnego endarterektomii, blaszce miażdżycowej przeprowadzono za pomocą testu PCR. Test ten, bazując na procedurze biotechnologicznej, analizuje występowanie w pobranej próbce DNA 8 patogenów bakteryjnych: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.), *Porphyromonas gingivalis* (Pg.), *Tanarella forsythia* (T.f.), *Treponema denticola* (T.d.), *Prevotella intermedia* (Pi.), *Fusobacterium nucleatum* (F.n.), *Campylobacter rectus* (C.r.), *Eikenella corrodens* (E.c.). Próg oznaczalności wynosił 10^3 bakterii w próbce.

W celu oceny parametrów przyzębnych, które mogłyby wpływać na przedostawanie się bakterii z kieszonek przyzębnych do naczyń wieńcowych serca oraz tętnic szyjnych, obie badane 20-osobowe grupy podzielono na 2 podgrupy: z bakteriami (w której wykryto patogeny przyzębne w blaszce miażdżycowej) i bez bakterii (w której tych bakterii nie stwierdzono).

Wyniki

U grupie pacjentów hospitalizowanych na Klinicznym Oddziale Kardiochirurgii WUM z powodu

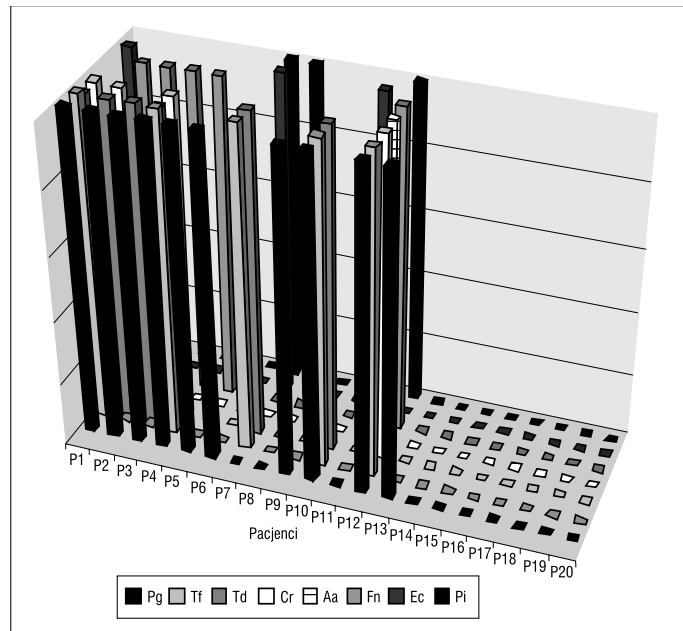


Figure 1. Occurrence of periopathogens in atherosclerotic plaque of coronary arteries
Rycina 1. Występowanie periopatogenów w blaszce miażdżycowej tętnic wieńcowych

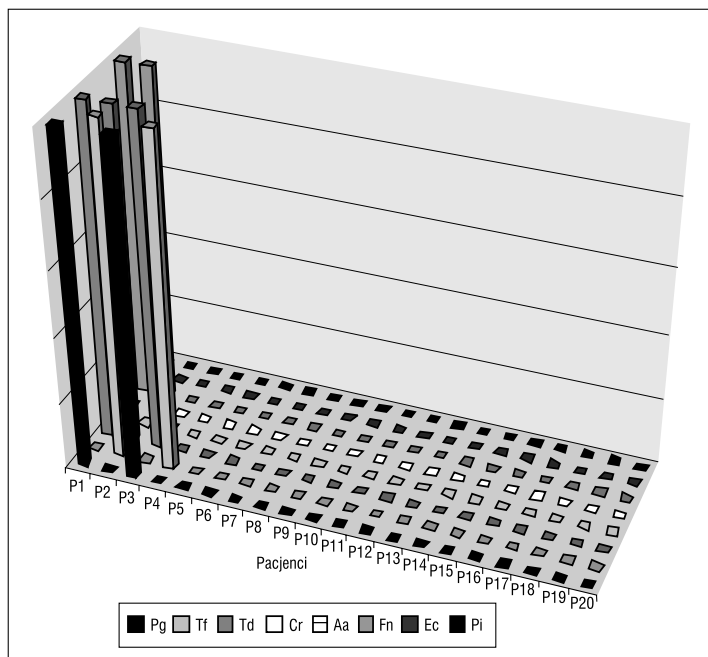


Figure 2. Occurrence of periopathogens in atherosclerotic plaque of carotid arteries
Rycina 2. Występowanie periopatogenów w blaszce miażdżycowej tętnic szyjnych

Figure 3 indicates a significant difference in mean bleeding index, which was 55.5% in patients with periopathogens in atherosclerotic plaque of coronary arteries, compared to 31% in the group without bacteria. Also, in patients with internal carotid artery stenosis,

niedrożności naczyń wieńcowych i poddanych zabiegowi wszczepienia bypassów wyniki analizy DNA periopatogenów potwierdziły ich obecność u 13 osób. Stanowiło to 65% przebadanych blaszek miażdżycowych (ryc. 1).

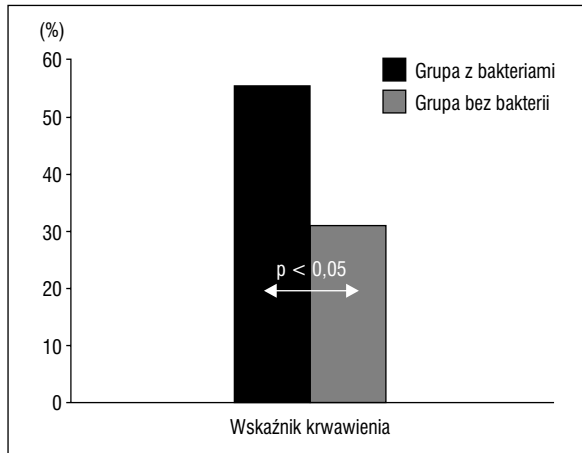


Figure 3. Comparison of mean percentage bleeding index in individuals with coronary atherosclerosis

Rycina 3. Porównanie średniego procentowego wskaźnika krwawienia u osób z miażdżycą tętnic wieńcowych

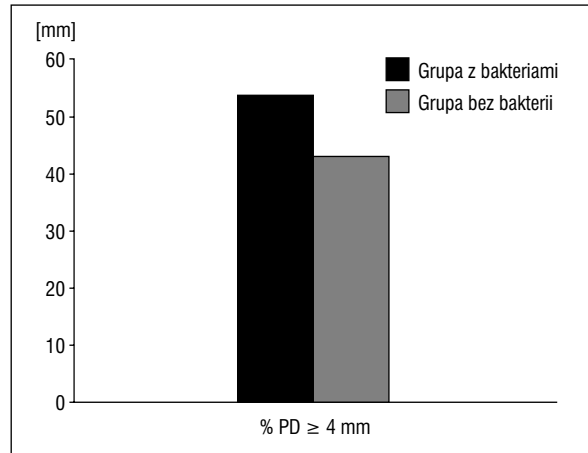


Figure 5. Comparison of mean percentage of pockets ≥ 4 mm in individuals with coronary atherosclerosis

Rycina 5. Porównanie średniego odsetka kieszonek o głębokości ≥ 4 mm u osób z miażdżycą tętnic wieńcowych

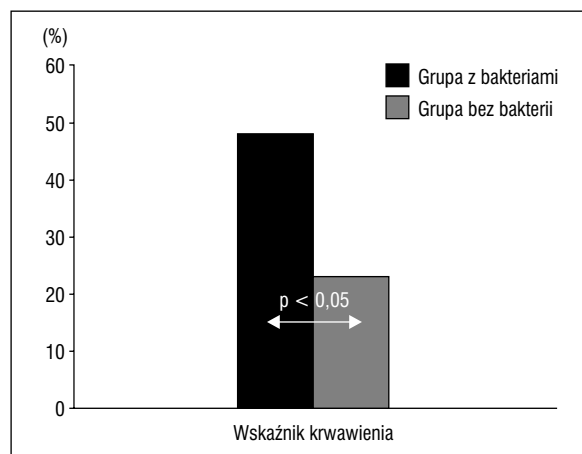


Figure 4. Comparison of mean percentage bleeding index in individuals with carotid artery atherosclerosis

Rycina 4. Porównanie średniego procentowego wskaźnika krwawienia u osób z miażdżycą tętnic szyjnych

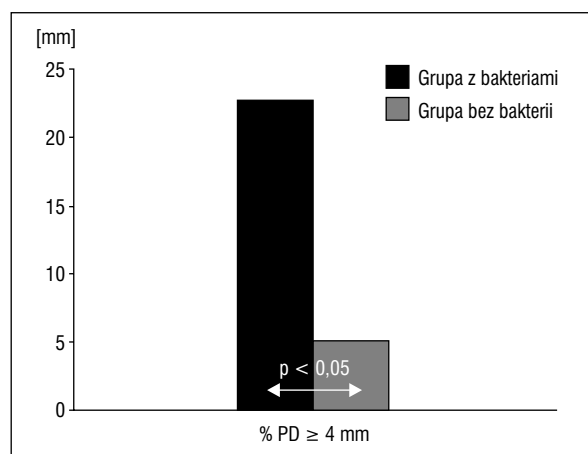


Figure 6. Comparison of mean percentage of pockets ≥ 4 mm in individuals with carotid artery atherosclerosis

Rycina 6. Porównanie średniego odsetka kieszonek o głębokości ≥ 4 mm u osób z miażdżycą tętnic szyjnych

mean bleeding index was statistically significantly higher in individuals with bacteria in atherosclerotic plaque - 50%, compared to the subgroup without pathogens — 24% (Fig. 4).

The percentage of deep pockets in cardiological patients was higher in patients with bacteria — 54.2%. In the group without bacteria it was 43.4%. However, differences between individual patients in this group were substantial, and the difference between the subgroups was not statistically significant (Fig. 5).

On the other hand, in patients with a high stroke risk, the percentage of pockets ≥ 4 mm was significantly higher in

W grupie pacjentów hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Chirurgii Ogólnej i Chorób Klatki Piersiowej WUM z powodu zwężenia tętnic szyjnych wewnętrznych, u których przeprowadzono zabieg endarterektomii, DNA periopatogenów stwierdzono u 4 osób. Stanowiło to 20% blaszek miażdżycowych poddanych badaniu (ryc. 2).

W obydwu badanych grupach najczęściej identyfikowanymi patogenami były bakterie kompleksu czerwonego wg Socransky'ego: *Pg*, *Td*, *Tf*.

Obydwe 20-osobowe grupy pacjentów podzielono na podgrupy: z bakteriami i bez bakterii. Oceniono śred-

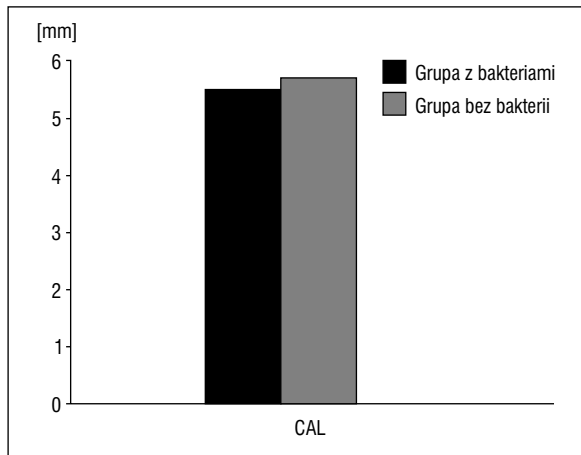


Figure 7. Comparison of mean clinical attachment loss in individuals with coronary atherosclerosis

Rycina 7. Porównanie średniej utraty przyczepu łącznotkankowego u osób z miażdżycą tętnic wieńcowych

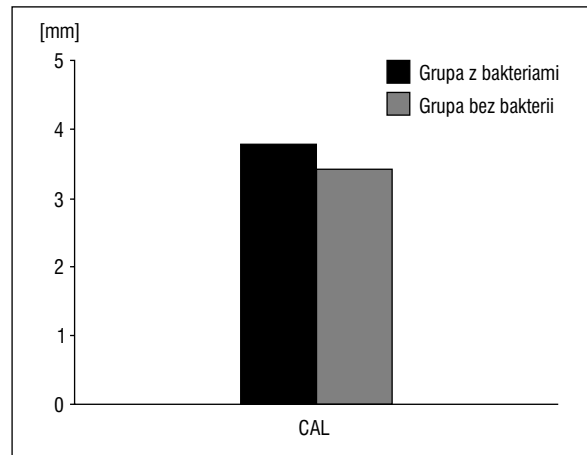


Figure 8. Comparison of mean clinical attachment loss in individuals with carotid artery atherosclerosis

Rycina 8. Porównanie średniej utraty przyczepu łącznotkankowego u osób z miażdżycą tętnic szyjnych

the subgroup with observed bacteria — 22.8%, compared to individuals without bacteria, where the mean percentage of deep pockets was as low as 5.1% (Fig. 6).

No statistically significant differences between subgroups were observed with reference to mean CAL: with or without bacteria, both in cardiological patients and those subjected to endarterectomy. Clinical attachment loss was high and at a similar level in both subgroups (5.5 mm in the group with bacteria and 5.7 mm in the group without bacteria) in individuals with coronary vessel occlusion (Fig. 7).

However, in patients with carotid artery stenosis, mean CAL was at a lower level and was also similar in both subgroups (3.88 mm in the group with bacteria and 3.51 mm in the group without bacteria) (Fig. 8).

Discussion

The role of infectious factors in aetiology of cardiovascular diseases has been a subject of analysis since the late 1980s. The search for causative pathogens constitutes an important element of studying aetiopathogenesis of atherosclerotic disease and its complications, including myocardial infarction and ischaemic stroke. There are numerous publications indicating a correlation between periopathogens and cardiovascular disease and its complications. Since the 1990s researches have been trying to indicate such coincidences in the context of lesions causing carotid artery stenosis and stroke. In order to specify mechanisms of correlation between periodontal disease and cardiovascular disease and ischaemic stroke, periopathogens were sought in arteries with atherosclerotic lesions.

ni poziom wskaźników stopnia zaawansowania choroby przyzębia w obrębie każdej z grup.

Na rycinie 3 przedstawiono znamiennej różnicę w średnim wskaźniku krwawienia, który u osób ze stwierdzonymi periopatogenami w blaszkach miażdżycowych tętnic wieńcowych wynosił 55,5%, w porównaniu z 31% w grupie bez wykrytych bakterii. Również u osób ze zwężeniem tętnicy szyjnej wewnętrznej średni wskaźnik krwawienia był znamiennej statystycznie wyższy u pacjentów z bakteriami w blaszce miażdżycowej — 50%, w porównaniu z podgrupą, u której periopatogenów nie stwierdzono — 24% (ryc. 4).

Odsetek głębokich kieszonek u pacjentów kardiologicznych był wyższy w grupie z bakteriami — 54,2%. W grupie bez bakterii wynosił on 43,4%. Różnice między poszczególnymi pacjentami w tej grupie były jednak bardzo duże, i różnica między podgrupami nie była znamiennej statystycznie (ryc. 5).

Natomiast u pacjentów z dużym ryzykiem udaru odsetek kieszonek ≥ 4 mm był już znamiennej wyższy w podgrupie z wykrytymi bakteriami — 22,8%, w porównaniu z osobami, u których nie stwierdzono bakterii, gdzie średni odsetek kieszonek głębokich był na poziomie tylko 5,1% (ryc. 6).

Nie stwierdzono znamiennej statystycznie różnicy odnośnie do średniej CAL między podgrupami z bakteriami i bez bakterii, zarówno w grupie kardiologicznej, jak i u pacjentów poddanych zabiegowi endarterektomii. Utrata przyczepu łącznotkankowego była duża i na podobnym poziomie w obydwu podgrupach (5,5 mm w grupie z bakteriami i 5,7 mm w grupie bez bakterii) u osób z niedrożnością tętnic wieńcowych (ryc. 7).

In an early study by Chiu in 1999 the occurrence of numerous microorganisms in atherosclerotic plaque of carotid arteries was reported: *Chlamydia pneumoniae*, CMV, HSV-1, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus sanguis* [9].

In a more precise study, Haraszthy analysed 50 carotid arteries. The analysis demonstrated the occurrence of microorganisms in 80% of cases. CMV was observed in 38%, *Chlamydia pneumoniae* in 18%, and periopathogens in 44% of cases: *T.f.* was observed in 30%, *P.g.* in 26%, *A.u.* in 18%, *P.i.* in 14% of cases [10].

A study by Stelzel demonstrated the occurrence of *P.g.* in 4 of 24 patients in aortal atherosclerotic plaque. However *A.a.* was not observed in the studied material [11].

In a study by Padilla, which included 12 patients, PCR was applied to search for *A.a.* in diseased arterial vessels. Atherosclerotic plaque of 6 carotid arteries, 2 popliteal arteries, 2 tibial arteries and 2 femoral arteries was examined. In the patients, mean PD from 3.9 mm to 5.9 mm and BOP 27–35% were observed. Out of the 12 patients, 2 (16.7%) demonstrated occurrence of *A.a.* in one carotid and one tibial artery [12].

Also our own studies identified periopathogens in diseased vessels. A total of 13 out of 20 patients (65%) demonstrated the occurrence of periopathogens in atherosclerotic plaque of coronary vessels, and 4 of 20 patients (20%) in atherosclerotic plaque of stenosed internal carotid arteries. In both study groups the most frequently identified pathogens were red complex bacteria, according to Socransky: *P.g.*, *T.d.*, *T.f.* Higher occurrence of periopathogens in the walls of vessels in cardiologic patients, compared to patients with carotid vessel occlusion, was probably caused by a more advanced periodontal disease, expressed by more numerous deep periodontal pockets in the former group.

Similar conclusions were reached by Ishihara et al. A study was performed on a group of 51 patients with diagnosed coronary heart disease, who underwent surgery on occluded coronary vessels. In all patients, bacterial DNA of samples collected from periodontal pockets and atherosclerotic plaque was analysed by PCR method. The examination demonstrated the occurrence of the following bacteria in atherosclerotic plaque: *P.g.*, *A.a.*, *T.f.*, *T.d.*, and *C.r.* in: 21,6%, 23,3%, 5,9%, 23,5% and 15,7% of patients, respectively.

Analogically, the results of our own study on the occurrence of the above-mentioned selected bacteria in atherosclerotic plaque of coronary vessels are as follows: 50%, 5%, 25%, 30%, and 20%. A higher occurrence of observed red complex bacteria in our own studies compared to Japanese authors should be noted. In the same

Natomiast u pacjentów z niedrożnością tętnic szyjnych średni poziom CAL był niższy i także podobny w obydwu podgrupach (3,88 mm w grupie z bakteriami i 3,51 mm w grupie bez bakterii) (ryc. 8).

Dyskusja

Rola czynnika infekcyjnego w etiologii chorób sercowo-naczyniowych jest przedmiotem analizy od końca lat 80. XX wieku. Poszukiwania patogenów sprawczych są istotnym elementem poznawania etiopatogenezy choroby miażdżycowej i jej powikłań, w tym zawału serca i niedokrwienego udaru. Powstało wiele prac, które przedstawiają związek patogenów związanych z chorobą przyzębia z chorobą wieńcową i jej powikłaniami. Również od lat 90. XX wieku takie koincydencje starano się wykazać w kontekście zmian zwężających tętnice szyjne i udaru. Aby uściślić mechanizmy związku choroby przyzębia z chorobą wieńcową i udarem niedokrwienym, poszukiwano patogenów związanych z zapaleniem przyzębia w zmienionych miażdżycowo naczyniach tętniczych.

W jednym z pierwszych badań Chiu w 1999 roku donosił o wykryciu w blaszce miażdżycowej tętnic szyjnych licznych mikroorganizmów: *Chlamydia pneumoniae*, CMV, HSV-1, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus sanguis* [9].

W precyzyjniejszych badaniach Haraszthy'ego analizie poddano 50 tętnic szyjnych. Analiza wykazała obecność mikroorganizmów w 80% przypadków. W 38% wykryto CMV, w 18% *Chlamydia pneumoniae*, a w 44% patogeny bakteryjne związane z zapaleniem przyzębia: *T.f.* stwierdzono u 30%, *P.g.* u 26%, *A.a.* u 18%, *P.i.* u 14% [10].

Wyniki badania Stelzela wykazały obecność *P.g.* w aortalnej blaszce miażdżycowej u 4 z 26 pacjentów. Natomiast nie stwierdzono w badanym materiale *A.a.* [11].

W badaniach Padilli, obejmujących 12 pacjentów, za pomocą PCR poszukiwano *A.a.* w zmienionych naczyniach tętniczych. Zbadano blaszki miażdżycowe z 6 tętnic szyjnych, 2 tętnic podkolanowych, 2 tętnic piszczelowych i 2 tętnic udowych. U pacjentów stwierdzono średnie PD 3,9–5,9 mm i BOP 27–35%. Na 12 osób u 2 (16,7%) wykryto *A.a.* w jednej tętnicy szyjnej i w jednej tętnicy piszczelowej [12].

Również w badaniach własnych zidentyfikowano patogeny przyzębne w zmienionych naczyniach. U 13 z 20 pacjentów (65%) stwierdzono występowanie patogenów związanych z chorobą przyzębia w blaszce miażdżycowej naczyń wieńcowych oraz u 4 z 20 pacjentów (20%) w blaszce miażdżycowej zwężonych tętnic szyjnych wewnętrznych. W obydwu grupach badanych

study the researchers observed a higher occurrence of the 5 previously mentioned pathogens in individuals with 4 or more periodontal pockets ≥ 4 mm, compared to individuals with fewer than 4 [13].

The above studies seem to confirm the role of periopathogens in the mechanism of inflammatory destruction in the walls of diseased arteries. An essential question seems to be, which factors are important and significant for the migration of bacteria from pathologically altered inflamed periodontium to remote arterial vessels? In order to assess these factors, both groups of 20 individuals were divided into subgroups: with bacteria, where periopathogens were observed in atherosclerotic plaque, and without bacteria, where no such bacteria were observed. Periodontitis progression parameters were analysed for both groups. A similar analysis was published by Grau in 2004. A total of 303 patients were examined within 7 days after a stroke. The control groups consisted of generally healthy individuals and 168 patients hospitalized in a neurology ward, without cardiovascular problems. A periodontological examination was performed, where mean attachment loss (CAL) was a measure for advancement of the pathological process. Individuals with advanced periodontitis (mean CAL > 6 mm) indicated a 4.3 times higher risk of stroke compared to individuals without attachment loss, or with minor loss (mean CAL < 3 mm). Severe periodontitis proved to be a risk factor for cerebral vessel ischaemia in the group of males and patients under the age of 60 years. In individuals over 60 years of age, CAL level was not a significant factor [14]. In a study by Lee (2006), performed on 5123 individuals over 60 years of age, a multifactorial logistic regression analysis did not demonstrate statistically significant differences between severity of periodontal disease measured by CAL, and a stroke. Only a trend that might indicate such a correlation was demonstrated [15].

A lack of significant differences between mean CAL and the occurrence of periopathogens in atherosclerotic plaque of coronary vessels and carotid arteries was also demonstrated in our own study. It seems that CAL is not a good parameter for the assessment of impact of periodontitis on atherosclerotic disease. The presence of active deep pockets, which is expressed by levels of %PD ≥ 4 mm and BOP, is a better prognostic factor for risk of vascular problems.

The results of the study indicate that in the group where pathogens occurred in cardiac vessels, a higher percentage of PD ≥ 4 mm was observed — 54.2% with significantly higher BOP — 55.5%, compared to the group of patients without bacteria in atherosclerotic plaque of coronary vessels, where %PD ≥ 4 mm was

najczęściej identyfikowanymi patogenami były bakterie kompleksu czerwonego wg Socransky'ego: *Pg*, *Td*, *Tf*. Częstsze występowanie periopatogenów w ścianie naczyń u pacjentów kardiologicznych, w porównaniu z pacjentami z niedrożnością naczyń szyjnych, było prawdopodobnie spowodowane bardziej zaawansowaną chorobą przyzębia, wyrażającą się większą liczbą głębokich kieszonek przyzębnych, w tej pierwszej grupie osób.

Do podobnych wniosków doszli Ishihara i wsp. Badania przeprowadzono w grupie 51 pacjentów z rozpoznaną chorobą wieńcową, poddawanych zabiegowi chirurgicznemu na niedrożnych naczyniach wieńcowych. U każdego z nich wykonano badanie PCR bakteryjnego DNA, próbek pobranych z zarówno kieszonek przyzębnych, jak i blaszki miażdżycowej. Badania wykazały obecność w blaszce miażdżycowej bakterii: *Pg*, *A.a.*, *T.f.*, *T.d.* i *C.r.* — odpowiednio u: 21,6%, 23,3%, 5,9%, 23,5% i 15,7% pacjentów.

Analogicznie wyniki badań własnych, dotyczące występowania wymienionych wybranych bakterii w blaszce miażdżycowej naczyń wieńcowych, przedstawiają się następująco: 50%, 5%, 25%, 30% i 20%. Należy zwrócić uwagę na większą częstotliwość stwierdzanych bakterii z „grupy czerwonej” w badaniach własnych, w porównaniu z badaniami autorów japońskich. W tej samej pracy badacze ci stwierdzili częstsze występowanie wymienionych wcześniej 5 patogenów u osób mających 4 lub więcej kieszonek przyzębnych ≥ 4 mm, w porównaniu z osobami mającymi ich mniej niż 4 [13].

Przytoczone badania wydają się potwierdzać udział periopatogenów w mechanizmie uszkodzeń zapalnych w ścianach zmienionych naczyń tętnicznych. Istotne wydaje się pytanie, jakie czynniki są ważne i znaczące dla migracji bakterii ze struktur zmienionego zapalnie przyzębia do odległych naczyń tętnicznych. W celu oceny tych czynników obydwie badane 20-osobowe grupy podzielono na 2 podgrupy: z bakteriami (w której wykryto patogeny przyzębne w blaszce miażdżycowej) i bez bakterii (w której tych bakterii nie stwierdzono). W obrębie obydwu grup przeanalizowano parametry stopnia zaawansowania choroby przyzębia. Podobna analiza została opublikowana przez Graua w 2004 roku. Przebadano 303 pacjentów w okresie do 7 dni po udarze. Grupy kontrolne stanowiło 300 osób ogólnie zdrowych oraz 168 pacjentów hospitalizowanych na oddziale neurologii bez problemów sercowo-naczyniowych. Wykonano badanie periodontologiczne, w którym średnia utrata przyczepu łącznotkankowego (CAL) była miarą zaawansowania procesu patologicznego. Osoby z zaawansowanym zapaleniem przyzębia (średnia CAL > 6 mm) charakteryzowały się 4,3-krotnie więk-

43.3% with BOP 31%. Also, an analysis of patients with internal carotid artery stenosis indicated a significant role of deep active periodontal pockets in the process of periopathogen penetration to arterial vessels. In patients with pathogens in atherosclerotic plaque of carotid arteries, a significantly higher %PD \geq 4 mm was observed — 22.8% with significantly higher BOP — 50%, compared to the group of patients without bacteria in atherosclerotic plaque, where %PD \geq 4 mm was 5.1% with BOP 24%.

However, the CAL level in cardiological patients and in patients with high stroke risk was not significantly varied within the subgroups. In individuals with bacteria in coronary vessels, mean CAL was 5.5 mm, and in individuals without bacteria — 5.7 mm. In patients with periopathogens in carotid vessels, mean CAL was at the level of 3.88 mm, compared to 3.51 mm in the subgroup without bacteria.

The correlation between periodontal disease and stroke was also demonstrated on the basis of serological examinations. Pussinen (2004) observed 6950 individuals aged 45–64 years, who came to hospital with vascular problems. In a 13-year observation, 173 patients suffered a stroke, of which in 64 cases it was a subsequent one. All individuals were subjected to a test for the presence in serum of IgG and IgA antibodies to *A.a.* and *P.g.* In seropositive patients, a 1.6 times higher risk of stroke was observed. The risk of subsequent stroke in individuals with antibodies was increased by 2.6. In a longitudinal observation, the same author demonstrated that considering non-smoking males, the risk might increase even by 3.31 times [16, 17].

The results seem to indicate the massive role that periodontitis can play in the aetiopathogenesis of ischaemic stroke. Prophylaxis, treatment, and progression assessment of periodontal disease may be extremely important in stroke risk prognostics.

However, periodontal examination is a process that is time-consuming and difficult to effect in all conditions. Engebretson, challenging those difficulties, tried to assess the usefulness of pantomographic pictures for prognostics of lesions in carotid arteries. Pantomograms were taken and ultrasonographic examinations of carotid arteries were performed on 203 individuals aged 54–94 years. Patients with severe bone loss (> 50%) demonstrated significantly greater thickness of atherosclerotic plaque — 1.2 mm compared to individuals with a lesser alveolar bone loss — 0.73 mm. In a multifactorial statistical analysis, a bone loss > 50% increased the risk of early atherosclerotic lesions in carotid arteries by 4 times [18].

szym ryzykiem udaru niż osoby bez utraty przyczepu bądź z małą utratą (średnia CAL < 3 mm). Ciężkie zapalenie przyzębia okazało się czynnikiem ryzyka niedokrwienia naczyń mózgowych w grupie mężczyzn i pacjentów przed 60. rokiem życia. U osób po 60. roku życia poziom CAL nie był czynnikiem znamionym [14]. W badaniach Lee (2006) przeprowadzonych w grupie 5123 osób > 60. roku życia wieloczynnikowa analiza logistycznej regresji również nie wykazała statystycznie znamionnych różnic między stopniem zaawansowania choroby przyzębia, mierzonej CAL, a udarem. Wykazany został jedynie trend, który na taki związek mógłby wskazywać [15].

Brak znamionnych różnic między średnią CAL a występowaniem patogenów przyzębnych w blaszce miażdżycowej naczyń wieńcowych, jak również tętnic szyjnych, wykazano także w badaniach własnych. Wydaje się, że CAL nie jest dobrym parametrem oceniającym wpływ zapalenia przyzębia na chorobę miażdżycową. Obecność aktywnych głębokich kieszonek, wyrażająca się poziomami: odsetkiem PD \geq 4 mm i BOP, jest czynnikiem lepiej prognozującym ryzyko problemów naczyniowych.

Wyniki badania wykazały, że w grupie, w której patogeny były obecne w naczyniach serca, stwierdzono obecność większego odsetka PD \geq 4 mm — 54,2% ze znamionnie wyższym BOP — 55,5%, w porównaniu z grupą pacjentów bez obecności bakterii w blaszce miażdżycowej naczyń wieńcowych, w której odsetek PD \geq 4 mm wynosił 43,3%, przy BOP 31%. Również analiza grupy pacjentów ze zwężeniem tętnicy szyjnej wewnętrznej wykazała istotną rolę głębokich aktywnych kieszonek przyzębnych w procesie przenikania patogenów przyzębnych do naczyń tętniczych. U pacjentów z obecnością patogenów w blaszce miażdżycowej tętnic szyjnych stwierdzono znamionnie wyższy odsetek PD \geq 4 mm — 22,8% ze znamionnie wyższym BOP — 50%, w porównaniu z grupą pacjentów bez obecności bakterii w blaszce miażdżycowej, w której odsetek PD \geq 4 mm wynosił 5,1%, przy BOP wynoszącym 24%.

Natomiast poziom CAL zarówno u pacjentów kardiologicznych, jak i osób z wysokim ryzykiem udaru nie różnił się znamionnie w obrębie podgrup. U osób z bakteriami w naczyniach wieńcowych średnia CAL wynosiła 5,5 mm, a u osób bez bakterii — 5,7 mm. Odpowiednio, u osób z periopatogenami w tętnicach szyjnych średnia CAL była na poziomie 3,88 mm, w porównaniu z 3,51 mm w podgrupie bez bakterii.

Związek między chorobą przyzębia a udarem wykazano również na podstawie badań serologicznych. Pussinen (2004) poddał obserwacji 6950 osób w wieku 45–64 lat, które zgłosiły się z problemami naczynio-

Due to a visible correlation between periodontal pathology and atherosclerotic lesions in arterial vessels, further studies are necessary that would allow the assessment of how periodontal treatment might inhibit the progression of such lesions and reduce the risk of occurrence of acute coronary syndromes and ischaemic cerebral stroke.

Initial studies on the impact of periodontal treatment on the decrease in the occurrence of cardiovascular diseases suggest that the procedure may be an element of primary and secondary prophylaxis of these diseases [19].

References

1. Bonow RO, Smaha LA, Smith SC Jr, Mensah GA, Lenfant C (2002) The international burden of cardiovascular disease: responding to the emerging global epidemic. *Circulation*; 106: 1602–1605.
2. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP 3rd, Tracy RE, Wattigney WA (1998) Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med*; 338: 1650–1656.
3. Ross R (1999) Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med*; 340: 115–126.
4. Libby P, Egan D, Skarlatos S (1997) Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation*; 96: 4095–4103.
5. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH et al (2005) Antibiotic treatment of Chlamydia pneumoniae after acute coronary syndrome. *N Engl J Med*; 352: 1646–1654.
6. Wu T, Trevisan M, Genco RJ, Dorn JP, Falkner KL, Sempos CT (2000) Periodontal disease and risk of cerebrovascular disease. *Arch Intern Med*; 160: 2749–2755.
7. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S (1996) Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*; 67: 1123–1137.
8. Grau AJ, Bugge F, Ziegler C et al. (1997) Association between acute cerebrovascular ischemia and chronic and recurrent infection. *Stroke*; 28: 1724–1729.
9. Chiu B (1999) Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. *Am Heart J*; 11: 534–536.
10. Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ (2000) Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol*; 71: 1554–1560.
11. Stelzel M, Conrads G, Pankuweit S et al (2002) Detection of Porphyromonas gingivalis DNA in aortic tissue by PCR. *J Periodontol*; 8: 868–870.
12. Padilla C, Lobos O, Hubert E et al (2006) Periodontal pathogens in atheromatous plaques isolated from patients with chronic periodontitis. *J Periodont Res*; 41: 350–353.
13. Ishihara K, Nabuchi A, Ito R, Miyachi K, Kuramitsu HK, Okuda K (2004) Correlation between detection rates of periodontopathic bacterial DNA in carotid coronary stenotic artery plaque and in dental plaque samples. *J Clin Microbiol*; 3: 1313–1315.
14. Grau AJ, Becher H, Ziegler CM et al. (2004) Periodontal disease as a risk factor for ischemic stroke. *Stroke*; 35: 496–501.
15. Lee HJ, Garcia RI, Janket SJ et al. (2006) The association between cumulative periodontal disease and stroke history in older adults. *J Periodontol*; 10: 1744–1754.

wymi do szpitala. W obserwacji 13-letniej u 173 osób wystąpił udar, z tego u 64 pacjentów był to udar kolejny. U wszystkich osób przeprowadzono badanie na obecność w surowicy przeciwciał IgG i IgA przeciwko *A.a.* i *P.g.* U osób seropozytywnych stwierdzono 1,6-krotnie większe ryzyko udaru. Ryzyko powtórnego udaru u osób z przeciwciałami wzrastało natomiast o 2,6. W dłuższej obserwacji ten sam autor wykazał, że — biorąc pod uwagę niepalących mężczyzn — ryzyko może wzrastać nawet o 3,31 [16, 17].

Te wyniki wydają się wykazywać ogromną rolę, jaką zapalenie przyzębia może odgrywać w etiopatogenezie udaru niedokrwinnego. Zapobieganie, leczenie i ocena zaawansowania choroby przyzębia mogą być niezwykle istotne w prognozowaniu ryzyka udaru.

Badanie przyzębia jest jednak procesem czasochłonnym i trudnym do realizacji w każdych warunkach. Engebretson, wychodząc naprzeciw tym trudnościom, podjął próbę oceny przydatności zdjęcia pantomograficznego do prognozowania zmian w tętnicach szyjnych. U 203 osób w wieku 54–94 lat wykonano pantomogramy i badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych. Osoby z ciężką utratą kości (> 50%) miały znamienne większą grubość blaszki miażdżycowej — 1,2 mm, w porównaniu z osobami z mniejszą utratą kości wyrostka zębodołowego — 0,73 mm. W wieloczynnikowej analizie statystycznej utrata kości > 50% 4-krotnie zwiększała ryzyko obecności wczesnych zmian miażdżycowych w tętnicach szyjnych [18].

Wobec widocznego związku patologii przyzębia ze zmianami miażdżycowymi naczyń tętniczych niezbędne są dalsze badania, które pozwoliłyby na ocenę, w jaki sposób leczenie choroby przyzębia może spowolnić postęp rozwoju tych zmian i zredukować ryzyko wystąpienia ostrych zespołów wieńcowych oraz udaru niedokrwinnego mózgu.

Wstępne badania nad wpływem leczenia periodontologicznego na możliwość zmniejszenia zapadalności na choroby sercowo-naczyniowe sugerują, że postępowanie to może być elementem profilaktyki pierwszej i drugorzędowej tych chorób [19].

16. Pussinen PJ, Alfthan G, Rissanen H, Reunanen A, Asikainen S, Knekt P (2004) Antibodies to periodontal pathogens and stroke risk. *Stroke*; 35: 2020–2023.
17. Pussinen PJ et al (2007) Systemic exposure to *P.g.* predicts incident stroke. *Atheroscl*; 1: 222–228.
18. Engebretson SP, Lamster IB, Elkind MS et al. (2005) Radiographic measures of chronic periodontitis and carotid artery plaque. *Stroke*; 36: 561–566.
19. Konopka T (2009) Związek pomiędzy chorobami przyzębia a udarem mózgu — analiza krytyczna dotychczasowych badań. *Czas Stomatol*; 7: 567–577.