



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

---

Corso di Laurea in IGIENE DENTALE  
*Presidente: Prof. A. Putignano*

**MICROBIOTA ORALE E PARTO  
PRETERMINE: QUALE CORRELAZIONE?**

Relatore: Chiar.mo  
**Prof. Andrea Santarelli**

Tesi di Laurea di:  
**Valentina Pagliarani**

A.A. 2018/2019

*A mia madre.*



# Indice

INTRODUZIONE.....	1
1 IL MICROBIOTA ORALE .....	4
1.1 Microbiomi orali e patologie orali .....	5
1.1.1 Carie .....	6
1.1.2 Parodontite .....	7
1.1.3 Cancro orale .....	7
1.1.4 Perimplantiti.....	8
1.2 Microbioma orale e malattie sistemiche .....	9
1.2.1 Malattie del sistema gastrointestinale .....	10
1.2.2 Malattie del sistema endocrino .....	11
1.2.3 Malattie del sistema cardiovascolare .....	14
1.2.4 Malattie del sistema nervoso.....	15
1.2.5 Malattie del sistema respiratorio.....	15
2 FISILOGIA DELLA GRAVIDANZA .....	17
2.1 Modificazioni del sistema cardiocircolatorio.....	17
2.2 Modificazioni ematologiche .....	18
2.3 Modificazioni del sistema respiratorio.....	19
2.4 Modificazioni dell'apparato gastroenterico .....	20
2.5 Modificazioni dell'apparato genito-urinario.....	22
2.6 Modificazioni dell'apparato endocrino.....	22
3 Parto pretermine.....	24
3.1 Eziologia .....	26
3.2 Diagnosi .....	28
3.3 Fattori di rischio .....	31
3.4 Terapia e management .....	32
4 Correlazione tra microbiota orale e partopretermine.....	40
4.1 Traslocazione di patogeni parodontali all'unità fetoplacentare .....	43

4.2	Azione di LPS parodontali sull'unità fetoplacentare .....	47
4.3	Azione di un serbatoio parodontale di mediatori dell'infiammazione sull'unità feto placentare. 50	
4.4	Gli effetti della terapia parodontale sugli esiti della gravidanza.....	51
5	CONCLUSIONI.....	53
6	BIBLIOGRAFIA .....	54

## INTRODUZIONE

Attualmente in Italia si registrano ogni anno oltre 800.000 gravidanze, le quali hanno condotto ad un totale di più di 500.000 parti (ISTAT, 2013). Nonostante il progressivo miglioramento della salute perinatale, bisogna evidenziare come ancora un bambino su otto nasca prematuro o con peso inferiore alla norma (Ministero della Salute, 2014). I neonati pretermine sono per definizione immaturi e inevitabilmente più piccoli di coloro giunti al termine fisiologico della gravidanza: questi due fattori contribuiscono ad aumentare il rischio di mortalità e morbosità neonatale. (Yiorgos A et al. 2006) L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) definisce la nascita pretermine come qualsiasi nascita prima di 37<sup>a</sup> settimane di gestazione completate, o meno di 259 giorni dal primo giorno dell'ultimo periodo mestruale della donna. Questo è ulteriormente suddiviso sulla base dell'età gestazionale (GA).

Il parto pretermine deve essere considerato come una sindrome clinica nella quale, diversi meccanismi implicati nel parto sono attivati prematuramente; un'alterata regolazione dei sistemi immunitari, con un'esagerata risposta ai processi infiammatori ne rappresentano i meccanismi centrali (Voltolini et al, 2013).

La gravidanza coinvolge una serie di complesse interazioni ormonali che causano profondi cambiamenti fisiologici, alcuni più evidenti di altri. (Weiss, 2000). L'aumento della secrezione ormonale e la crescita del feto stesso inducono alcuni cambiamenti sistemici fisiologici nella donna in gravidanza. Le principali modifiche sistemiche si manifestano a livello dell'apparato cardiocircolatorio, ematologico, respiratorio, renale, gastroenterico, endocrino e genitourinario. I cambiamenti fisici locali coinvolgono diverse parti del corpo, inclusa la cavità orale. (Suresh L and Radfar L. 2004). La cavità orale ospita il secondo microbiota più abbondante dopo il tratto gastrointestinale (Verma D et al .2018) includendo da 500 a 700 specie diverse organizzate in diversi habitat microbici distinti, come le superfici dentali, il solco gengivale, la gengiva aderente, la superficie linguale, la mucosa geniena, le labbra, il palato duro e il palato molle.

Joshua Lederberg fu tra i primi ad indicare questa aggregazione di microrganismi con il termine di “microbiota orale” definendolo una “comunità ecologica di microrganismi commensali, simbiotici e patogeni che condividono letteralmente il nostro spazio corporeo”.( Dewhirst FE et al. 2010). In uno stato di salute, il microbiota orale mantiene una relazione simbiotica con l'ospite. Tuttavia, uno squilibrio o un mal adattamento all'interno della comunità microbica orale (disbiosi) si traduce comunemente nello sviluppo di una malattia orale, come: carie, parodontite o cancro. Le prove attuali suggeriscono un'associazione tra un microbioma orale disbiotico, manifestato, per esempio, come malattia parodontale e una varietà di malattie sistemiche. Ad esempio, malattie cardiovascolari, complicanze del diabete, malattia di Alzheimer, polmonite ed esiti avversi della gravidanza, come il parto pretermine.

Il comune denominatore di questa miscela di associazioni di malattie sembra essere la risposta infiammatoria dell'ospite e specifici agenti patogeni microbici. (Charles M Cobb et al. 2017)

Le proprietà di virulenza assegnate a specifici batteri patogeni orali, ad esempio: *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Filifactor alocis*, *Campylobacter rectus* e altri, li rendono potenziali collaboratori negli esiti avversi della gravidanza. In assenza di adeguata igiene orale, i batteri parodontali si accumulano nel solco gengivale e formano una struttura organizzata chiamata “biofilm batterico”. Nei biofilm maturi i batteri possiedono una grossa quantità di fattori di virulenza quali i lipopolisaccaridi (LPS) che causano una distruzione diretta dei tessuti parodontali o stimolano l'ospite ad attivare una risposta infiammatoria locale che, sebbene sia per eliminare l'infezione, può portare ad una successiva perdita delle strutture parodontali. Inoltre i batteri e i loro fattori di virulenza possono entrare nel circolo sanguigno, disseminare in tutto il corpo e scatenare l'induzione di risposte infiammatorie (American Academy of Periodontology, 2006).

Negli ultimi anni sono stati identificati tre possibili meccanismi secondo i quali microbiota orale e il parto pre-termine sono correlati a: Traslocazione di patogeni parodontali all'unità feto

placentare, azione di LPS parodontali sull'unità feto placentare, Azione di un serbatoio parodontale di mediatori dell'infiammazione (IL-1, IL-6, TNF alfa, PGE2) sull'unità fetoplacentare (Mc Gaw, 2002; Romero, 2002).

In questa recensione si cerca di valutare un eventuale collegamento tra batteri parodontopatogeni e il parto pretermine e permettere un possibile intervento da parte dei professionisti del settore dentale che potrebbe aiutare a ridurre la percentuale di neonati prematuri.



# 1 IL MICROBIOTA ORALE

La popolazione microbica svolge un ruolo fondamentale nella vita degli esseri umani, influenzandone ogni aspetto, sia fisiologico che patologico (Lu Gao et al. 2018). Numerosi studi hanno dimostrato come la cavità orale ospiti il secondo microbiota più abbondante dopo il tratto gastrointestinale (Verma D et al.2018) L'insieme dei microrganismi presenti nella cavità orale sono stati indicati come microflora orale o più recentemente come microbiota orale. Un termine affine a quest'ultimo è quello di microbioma orale, definito come l'insieme del patrimonio genetico e delle interazioni ambientali della totalità dei microrganismi nel cavo orale. Il termine microbiota è stato coniato da Joshua Lederberg “per indicare la comunità ecologica di microrganismi commensali, simbiotici e patogeni che condividono letteralmente il nostro spazio corporeo”. Questa comunità comprende principalmente eubatteri, virus, funghi, protozoi e archaeobacteria (o Archaea). La cavità orale comprende diversi habitat microbici distinti, come le superfici dentali, il solco gengivale, la gengiva aderente, la superficie linguale, la mucosa geniana, le labbra, il palato duro e il palato molle. Inoltre sono presenti numerose strutture a diretto contatto con la cavità orale, quali le tonsille, la faringe, l'esofago, la tromba di Eustachio, l'orecchio medio, l'albero respiratorio e i seni paranasali. È stato stimato che meno della metà delle specie batteriche presenti nella cavità orale può essere coltivata con metodi microbiologici standard e che probabilmente nel cavo orale possono vivere da 500 a 700 specie orali differenti. Il microbiota orale comprende oltre 600 taxa prevalenti a livello di specie, con sottoinsiemi distinti che predominano in habitat diversi. Il Database di microbiomi umani (HOMD) ([www.homd.org](http://www.homd.org)) raccoglie 619 taxa in 13 phyla, come segue: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeota*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes* (Dewhirst FE et al. 2010). L'adesione dei batteri a una superficie è fondamentale

per la loro sopravvivenza nella cavità orale umana. Nella saliva sono presenti molti tipi di molecole ed essudati sierosi che formano la pellicola acquisita, un rivestimento sulla superficie del dente e fungono da molecole recettoriali per i batteri aderenti. I batteri colonizzatori primari utilizzano le adesine per aderire a specifiche molecole di recettori della pellicola, quindi possono aderire ad altri colonizzatori primari tramite adesine o possono presentare molecole di recettori che devono essere utilizzate da specie colonizzatrici secondarie (F J Cassels et al. 1995). Nel contesto della cavità orale i depositi batterici clinicamente evidenti sono stati denominati *placca dentale* o *placca batterica* (Løe H et al. 1965). La colonizzazione primaria è dominata dai cocci anaerobi facoltativi Gram-positivi. La placca formatasi dopo 24 ore è costituita prevalentemente da streptococchi (Jan Lindhe. 2008): un esempio è lo *Streptococcus salivarius*, un noto commensale nel microbiota orale umano (Butler RR et al. 2017). Possiamo distinguere cinque specie distinte tra gli streptococchi orali: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus milleri* e *Streptococcus salivarius* (Hardie JM et al. 1976). Nella fase seguente i bastoncelli Gram-positivi, che inizialmente sono pochissimi, aumentano gradualmente per poi diventare più numerosi degli streptococchi. I batteri filamentosi Gram-positivi, specialmente gli *Actinomyces*, rappresentano la specie dominante in questo stadio di sviluppo della placca. I recettori di superficie, presente sui cocci e sui bastoncelli Gram-positivi depositati permettono l'aderenza dei microrganismi Gram-negativi, come per esempio *Veilonella* e fusobatteri. Come risultato di questo sviluppo si ha una complessa gamma di specie batteriche in relazione fra loro (Jan Lindhe. 2008).

## **1.1 Microbiomi orali e patologie orali**

La cavità orale è una delle principali porte del corpo umano. Il cibo entra in bocca e viene masticato e mescolato con la saliva nel suo cammino verso lo stomaco e il tratto intestinale mentre l'aria passa attraverso il naso e la bocca sulla strada per la trachea e i polmoni. I

microrganismi che colonizzano la cavità orale hanno una probabilità significativa di diffondersi su superfici epiteliali contigue ai siti vicini, è stato dimostrato che questi possono causare una serie di malattie infettive orali, tra cui carie e parodontite (Dewhirst FE et al. 2010).

### 1.1.1 Carie

La carie è considerata la malattia infettiva cronica più comune in assoluto, avendo i batteri come patogeno principale e può portare alla distruzione cronica e progressiva del tessuto duro dentale. La carie ha un'alta incidenza, potendosi manifestare a qualsiasi età, dai bambini agli anziani (Lu Gao et al. 2018). Il microbiota orale svolge un ruolo critico nel contesto dello sviluppo della carie e rappresenta senza dubbio l'agente eziologico principale. Il microbiota che colonizza naturalmente i denti in salute è una comunità di biofilm che può controbilanciare la produzione di acido dalle assunzioni dietetiche di carboidrati per mantenere una superficie dentale intatta, ad esempio, dalla produzione di ammoniaca da arginina o urea. La disbiosi del biofilm, con il cambiamento della composizione batterica, si verifica quando l'assunzione eccessiva e frequente di carboidrati provoca una produzione di acido che supera la capacità tampone del microbiota sano. Ciò aumenta il rischio di demineralizzazione della superficie del dente e può portare alla carie dentale. I fattori di rischio associati alla carie comprendono lo stato di mineralizzazione dei denti, la quantità e la composizione della saliva nella cavità orale. La comprensione della disbiosi del biofilm ha incluso l'attenzione su determinate specie associate alla carie acidogeniche e aciduriche, considerati patogeni della carie e modulazione del biofilm nel suo insieme, comprese le specie nella comunità principale e le specie che possono bilanciare l'acido prodotto dopo una dieta normale assunzioni di carboidrati. I principali agenti patogeni della carie comprendono lo *Streptococcus mutans*, lo *Streptococcus sobrinus* e varie specie di *Lactobacillus* (Tanner et al. 2018).

### **1.1.2 Parodontite**

Le malattie parodontali comprendono una vasta gamma di condizioni infiammatorie che colpiscono le strutture portanti dei denti (gengiva, tessuto osseo e legamenti parodontali), che potrebbero portare alla perdita dei denti e contribuire all'infiammazione sistemica. La parodontite cronica colpisce prevalentemente gli adulti, ma la parodontite aggressiva può occasionalmente verificarsi nei bambini. L'inizio e la propagazione della malattia parodontale avviene attraverso una disbiosi del microbiota orale commensale (placca dentale), che quindi interagisce con le difese immunitarie dell'ospite, portando a infiammazione e malattia. Questa situazione patofisiologica persiste attraverso fasi di attività e quiescenza, fino a quando il dente interessato non viene estratto o il biofilm microbico viene rimosso terapeuticamente e l'infiammazione si attenua. La gravità della malattia parodontale dipende da fattori di rischio ambientale e dell'ospite, sia modificabili, come il fumo, che non modificabili, come la suscettibilità genetica (e in questo caso diventa più corretto l'utilizzo del termine "marcatore di rischio"). La prevenzione si ottiene con l'igiene orale domiciliare a cadenza quotidiana e la rimozione professionale del biofilm microbico su base trimestrale o semestrale (Kinane DF et al .2017). Le malattie parodontali sembrano essere causate da un gruppo relativamente definito di patogeni parodontali che agiscono da soli o in combinazione con altri. Tali specie includono *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter retus*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus intermedius* e *Trepomena spp.* (Haffajee, A.D & Socransky S.S ,1994.).

### **1.1.3 Cancro orale**

Numerosi fattori hanno effetto, acclarato o sospettato, sull'insorgenza e sullo sviluppo del cancro orale, come la suscettibilità genetica, la popolazione batterica e la presenza di fattori di rischio.

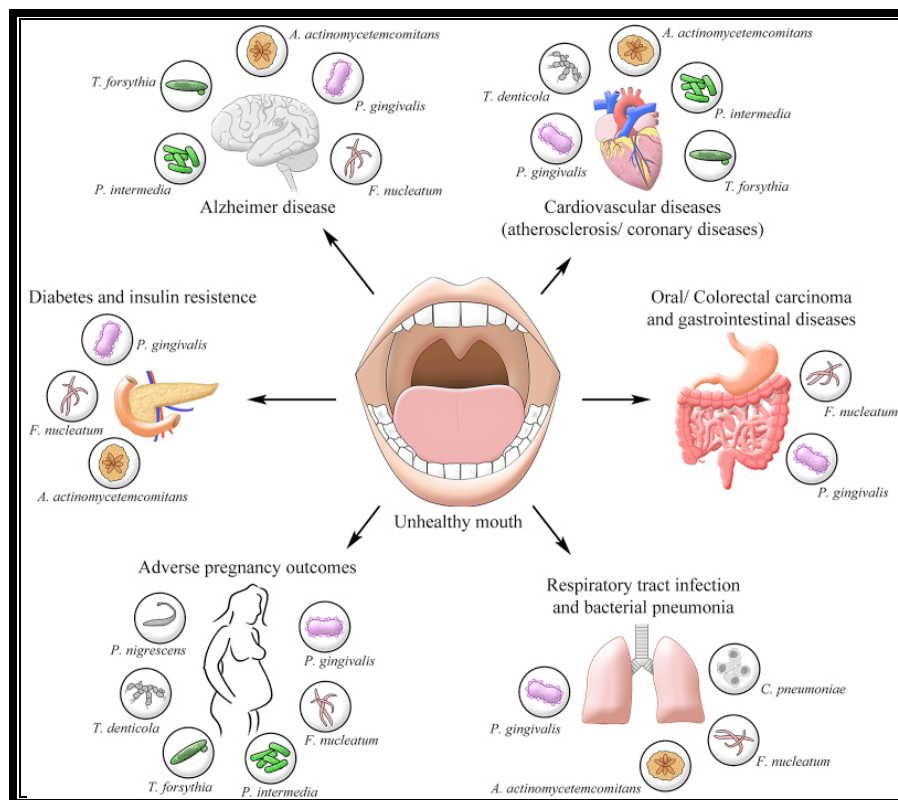
Prove emergenti suggeriscono un legame tra il microbiota orale e l'insorgenza del carcinoma orale. Il carcinoma a cellule squamose è il tumore maligno più frequente della cavità orale e più in generale della regione testa-collo, che rappresenta oltre il 90% di tutti i tumori (Lu Gao et al. 2018). Nagy ha raccolto campioni di biofilm ottenuti dalla superficie centrale delle lesioni in 21 pazienti e mucosa sana contigua e coltivati *in vitro* allo scopo di dimostrare la presenza di un alterato microbiota orale nelle aree carcinomatose. I risultati di questo studio hanno portato alla conclusione che i biofilm presenti a livello della superficie mucosa del carcinoma orale umano ospitano un numero significativamente maggiore di aerobi e anaerobi rispetto alla superficie mucosa sana dello stesso paziente (K N Nagy et al. 1998). Lee et al. hanno studiato le differenze di microbiota tra soggetti normali, pazienti con lesioni da precursore epiteliale e pazienti affetti da cancro utilizzando il sequenziamento di nuova generazione. Hanno rivelato che l'abbondanza di *Bacillus*, *Enterococcus*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus* e *Slackia* ha mostrato una differenza significativa tra lesione precursore epiteliale e pazienti con cancro orale (Wei-Hsiang Lee et al. 2017).

#### **1.1.4 Perimplantiti**

Gli impianti dentali sono un efficace metodo di riabilitazione protesica comunemente usati per sostituire gli elementi dentari mancanti. La terapia implantare è stata introdotta in odontoiatria 50 anni fa ed è diventata una delle procedure di routine per la sostituzione degli elementi mancanti. Una delle possibili complicazioni della riabilitazione implanto-protesica è l'insorgenza di una patologia infiammatoria nei tessuti perimplantari nota come perimplantite. La perimplantite è una malattia infettiva caratterizzata da infiammazione dei tessuti che circondano l'impianto, sanguinamento al sondaggio con o senza suppurazione e perdita ossea (Lu Gao et al. 2018). La composizione della microflora batterica associata alle infezioni perimplantari è considerevolmente differente se confrontata con quella degli impianti in un contesto di salute

della mucosa. La microflora che si associa alla perimplantite è simile a quella correlata alla malattia parodontale. Sono stati identificati alcuni patogeni parodontali opportunistici, per esempio *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros* (Jan Lindhe.2008).

## 1.2 Microbioma orale e malattie sistemiche



**Figura 1. Schematic representation of different systemic disease and their association with oral pathogens., (Fiona Q. Bui et al. 2019).**

La teoria dell'infezione focale, ovvero l'idea che le condizioni orali possano influenzare in modo significativo l'insorgenza e il decorso delle malattie in altre regioni del corpo, divenne popolare per la prima volta tra la fine del XIX e l'inizio del XX secolo, ma iniziò a perdere il favore negli anni '30 a causa della mancanza di supporto scientifico. È interessante notare che una crescente evidenza negli ultimi decenni suggerisce che, a causa della batteriemia dentale, la cavità orale

può effettivamente servire da serbatoio per la diffusione sistemica dei batteri patogeni e delle loro tossine, portando a infezioni e infiammazioni in siti distanti del corpo. Con l'applicazione di moderne tecnologie per il rilevamento e l'identificazione microbica indipendenti dalle classiche tecniche colturali, è stato scoperto che un gruppo eterogeneo di specie batteriche orali è direttamente coinvolto nelle infezioni in siti extraorali. I progressi nella ricerca sul microbiota umano hanno anche facilitato uno spostamento dell'attenzione dalle malattie orali ai batteri orali nelle infezioni sistemiche (Lu Gao et al. 2018).

### **1.2.1 *Malattie del sistema gastrointestinale***

Sempre più malattie del sistema gastrointestinale si sono dimostrate associate ai microbioti orali. Le malattie infiammatorie intestinali (IBD) sono tra le prime ad essere state collegate al microbiota orale. La IBD comprende principalmente la colite ulcerosa (UC) e la malattia di Crohn (CD) (Khor B et al. 2011). L'UC è caratterizzata da un'inflammatione continua, diffusa e superficiale della mucosa del colon (Ford AC et al 2013). Il CD è una malattia infiammatoria cronica che può colpire diverse regioni del tratto digestivo, dalla bocca all'ano, sebbene colpisca più comunemente il colon e l'ileo terminale (Baumgart M et al. 2007). Attualmente si pensa che la patogenesi dell'IBD implichi una risposta infiammatoria inappropriata e persistente ai microbioti intestinali commensali in soggetti geneticamente sensibili. L'IBD è stato spiegato come il risultato di complesse interazioni tra fattori genetici, immunologici, microbiologici e ambientali (Gentschew L et al. 2012). La perdita di tolleranza agli antigeni stimola la differenziazione delle cellule T-helper (Th) e la produzione di citochine proinfiammatorie (come il TNF- $\alpha$  e le interleuchine IL-1 $\beta$ , IL- 6, IL-12 e IL-23) e le chemochine (Baumgart M et al. 2007). Le cellule infiammatorie attratte da interleuchine e chemochine rilasciano quindi sostanze infiammatorie non specifiche (metaboliti cellulari come acido arachidonico acidi grassi omega-6 polinsaturi, proteasi, fattore di attivazione piastrinica e radicali liberi) che causano danni

intestinali (Radford-Smith G, Pandeya N. 2006). È stato suggerito che la colonizzazione intestinale da parte di batteri della cavità orale sia ampiamente coinvolta nelle malattie infiammatorie (Pickard JM et al. 2017). I pazienti che soffrono di IBD mostrano spesso vari sintomi orali come stomatite aftosa, ulcera orale, secchezza delle fauci e piostomatite vegetale sono frequentemente osservati nei pazienti con IBD (Jose FA, Heyman MB. 2008), suggerendo una potenziale associazione del microbiota orale con tali manifestazioni. I generi dominanti *Streptococcus*, *Prevotella*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Veillonella* e *Gemella* sono stati individuati come quelli maggiormente responsabili nel contribuire alla disbiosi osservata nel microbiota salivare dei pazienti con IBD (Said HS et al. 2014). Esiste una forte correlazione tra i livelli di lisozima e IL-1 $\beta$  e l'abbondanza relativa di *Streptococco*, *Prevotella*, *Haemofilus* e *Veillonella*. Un altro studio ha riferito che la disbiosi osservata nei modelli murini di colite è associata al cambiamento di composizione dei batteri presenti nella cavità orale e nella saliva (Said HS et al. 2014; Lucas López R. 2017). Uno studio più recente di Atarashi et al. ha mostrato che i ceppi di *Klebsiella spp.* dal microbiota salivare colonizzare nell'intestino e può indurre potentemente un'inflammatione intestinale cronica (Atarashi K, et al. 2017).

### **1.2.2 Malattie del sistema endocrino**

L'elaborazione e la prognosi delle malattie del sistema endocrino sono strettamente correlate al singolo ambiente interno. I microbiomi orali influenzano e possono essere influenzati dal singolo ambiente interno, il che ci illumina per trovare correlazioni tra malattie del sistema endocrino e microbiomi orali. È stato dimostrato che il diabete, gli esiti avversi della gravidanza (APO) e l'obesità sono associati ai microbiomi orali (Lu Gao et al. 2018).



## *Diabete*

Il diabete mellito è caratterizzato da iperglicemia, infiammazione e alto stress ossidativo, che possono portare a complicanze sistemiche. Esiste una relazione bidirezionale tra malattia parodontale e diabete. La parodontite e il diabete sono malattie con molti aspetti in comune: hanno un'eziologia complessa e sono a decorso croniche; inoltre, è stata dimostrata una relazione bidirezionale tra di loro. In particolare, il diabete, e ancor maggiormente lo scarso controllo glicemico, è associato ad una maggiore prevalenza e gravità della malattia parodontale e la parodontite grave è associata a un controllo glicemico compromesso. Il trattamento parodontale iniziale, la cosiddetta terapia parodontale non chirurgica convenzionale, è stato associato a miglioramenti del controllo glicemico nei pazienti diabetici, con riduzioni dell'HbA1c di circa lo 0,4% dopo la terapia parodontale. Per questi motivi, la gestione della parodontite nelle persone con diabete è particolarmente importante (Casanova L et al. 2014). Casarin et al. hanno osservato differenze significative nel microbiota sottogengivale tra diabete di tipo II e soggetti non diabetici constatando una percentuale più alta di *Aggregatibacter*, *Neisseria*, *Gemella*, *Eikenella*, *Selenomonas*, *Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*, *Veillonella* e *Streptococcus* nei primi (Casarin RC et al. 2013).

## *Esiti avversi in gravidanza*

Prove significative supportano un'associazione tra batteri patogeni parodontali, parto pretermine e preeclampsia. Le proprietà di virulenza assegnate a specifici batteri patogeni orali, ad esempio *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Filifactor alocis*, *Campylobacter rectus* e altri, li rendono potenziali collaboratori negli esiti avversi della gravidanza. Diversi percorsi sono stati suggeriti per questa associazione: 1) diffusione ematogena (batteriemia) di agenti patogeni parodontali; 2) diffusione ematogena di più mediatori dell'infiammazione che sono generati dall'ospite e/o dalla risposta immunitaria fetale ai batteri patogeni; e 3) la possibilità di

trasmissione del patogeno microbico orale, con conseguente colonizzazione, nel microbiota vaginale derivante da pratiche sessuali. Poiché la malattia parodontale è per la maggior parte dei casi prevenibile, le comunità mediche e dentistiche coinvolte nella gestione della salute pubblica possono affrontare le strategie di intervento per controllare la malattia infiammatoria orale, ridurre il carico infiammatorio sistemico e infine ridurre il potenziale di esiti avversi in gravidanza (Lu Gao et al. 2018).

#### *Altre malattie del sistema endocrino*

Molti studi dimostrano che il microbiota umano svolge un ruolo critico nelle patologie croniche dell'obesità, delle malattie infiammatorie intestinali e del diabete. Più recentemente, è stata evidenziata l'interazione tra cancro e microbiota. La maggior parte degli studi si è concentrata sul microbiota intestinale perché rappresenta la comunità batterica più estesa e il corpus di prove che lo correlano con le sindromi intestinali è in aumento. Tuttavia, in senso stretto, il tratto gastrointestinale inizia nella cavità orale e si dovrebbe prestare particolare attenzione alla flora specifica di questa cavità. Sono evidenti i passaggi tra la cavità orale e nasale e tra l'orofaringe e il rinofaringe. È possibile che i batteri entrino nel flusso sanguigno, ad esempio da parodontite, lesioni cariose non trattate o guarigione delle ferite. I membri della comunità del microbiota umano svolgono un ruolo attivo nella carcinogenesi attraverso danni al DNA (come nel caso dell'*Escherichia coli*) e infezione cronica (come nel caso dell'*Helicobacter pylori*). (Lu Gao et al. 2018).

È stato anche trovato che l'obesità è associata al microbiota orale. Poiché la natura infiammatoria dell'obesità è ampiamente riconosciuta, Goodson et al. Hanno testato il cambiamento della composizione dei batteri salivari nelle donne in sovrappeso. Le specie batteriche potrebbero servire da indicatori biologici per lo sviluppo di condizioni di sovrappeso. I batteri orali possono partecipare alla patologia che porta all'obesità (Le Bars P et al. 2017).

La sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) è una comune condizione endocrina femminile di eziologia poco chiara caratterizzata da iperandrogenismo, amenorrea e morfologia dell'ovaio policistico, spesso complicata da infertilità, obesità, resistenza all'insulina e infiammazione di basso grado. Il microbiota intestinale è noto per contribuire a molte di queste condizioni. Recentemente è stata mostrata un'associazione tra i profili delle comunità di microbiomi di feci e saliva. Pazienti PCOS hanno mostrato una diminuzione batteri dal phylum *Actinobacteria* e un limite significativo cambiamento nella composizione della comunità batterica (Lindheim L et al. 2016).

### **1.2.3 Malattie del sistema cardiovascolare**

Le correlazioni tra malattie del sistema cardiovascolare non sono abbastanza forti per ora, ma i ricercatori hanno dimostrato alcune potenziali connessioni tra aterosclerosi e microbioti orali. L'aterosclerosi è caratterizzata dall'accumulo di colesterolo e dal reclutamento di macrofagi nella parete arteriosa. Può quindi essere considerata sia una malattia metabolica che una malattia (Lu Gao et al. 2018). La malattia aterosclerotica, inclusi infarto miocardico e ictus, è la principale causa di morte in tutto il mondo. L'implicazione dei batteri orali nell'inizio e nella progressione dell'aterosclerosi è ora ampiamente accettata. La rilevazione del DNA batterico orale nelle placche ateromatose umane è stata segnalata per la prima volta nel 2000 (Haraszthy VI et al. 2000). Più recentemente, Ford et al. hanno rilevato DNA batterico orale nelle biopsie dell'arteria coronarica da pazienti con diagnosi di malattia coronarica e in campioni di endarterectomia da pazienti sottoposti a trattamento chirurgico di aterosclerosi (Ford PJ et al. 2006). Collettivamente, sono state rilevate le seguenti specie: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Tannerella forsythia*, con alcuni dei campioni contenenti più di un tipo di batteri (Han YW, Wang X.J Dent Res. 2013).

#### ***1.2.4 Malattie del sistema nervoso***

La malattia di Alzheimer (AD) è una condizione neurodegenerativa che colpisce milioni di persone in tutto il mondo. È associata alla deposizione cerebrale di placca cerebrale amiloide- $\beta$  ( $A\beta$ ) nel cervello, alla disconnessione sinaptica e alla successiva morte neuronale progressiva. Sebbene siano stati compiuti notevoli progressi per chiarire la patogenesi dell'AD, le cause specifiche della malattia rimangono altamente sconosciute. Ricerche recenti hanno suggerito una potenziale associazione tra alcune malattie infettive e la demenza, direttamente a causa dell'invasione cerebrale batterica e della produzione di tossine, o indirettamente modulando la risposta immunitaria. Pertanto, negli ultimi anni ci si sta concentrando sulla possibile associazione tra le infezioni batteriche e la comparsa della AD, inclusa l'esistenza di peptidi antimicrobici con proprietà di formazione dei pori che agiscono in modo simile ai pori formati da  $A\beta$  in una varietà di membrane cellulari. Particolare attenzione è rivolta ai batteri e ai biofilm orali e ai potenziali meccanismi che associano l'infezione batterica e la produzione di tossine nell'AD. L' $A\beta$  ha dimostrato di possedere attività antimicrobica contro diversi batteri e quindi potrebbe essere sovraregolato come risposta a batteri e tossine batteriche nel cervello. Sebbene siano necessarie ulteriori ricerche, si pensa che il controllo delle malattie mediate dal biofilm possa costituire un importante meccanismo di prevenzione potenziale per lo sviluppo dell'AD (Aguayo S et al. 2018).

#### ***1.2.5 Malattie del sistema respiratorio***

##### *Polmonite*

La polmonite è una causa significativa di morbilità e mortalità nei pazienti di tutte le età, specialmente nei soggetti anziani e immunocompromessi. Le infezioni polmonari possono essere

causate da batteri, funghi, virus e parassiti. I microrganismi possono infettare il tratto respiratorio inferiore per inalazione di aerosol infettivi, diffusione dell'infezione da siti contigui e diffusione da siti extrapolmonari. La cavità orale, in particolare la saliva e la placca dentale nei pazienti con malattia parodontale, sembrano essere una fonte logica per l'accumulo e la diffusione di agenti patogeni nelle vie aeree inferiori. Diversi agenti patogeni orali sono già stati implicati nelle infezioni polmonari, tra cui *A. actinomycetemcomitans*, *Actinomyces israelii*, *Capnocytophaga* spp, *Chlamydia pneumoniae*, *E. corrodens*, *F. nucleatum*, *Fusobacterium necrophorum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *Streptococcus constellatus*. (Fiona Q. Bui et al. 2019)

I patogeni respiratori isolati dalla placca dentale e dal liquido di lavaggio broncoalveolare dagli stessi pazienti nel reparto di terapia intensiva hanno mostrato di essere geneticamente uguali, il che rafforza la visione che la placca dentale potrebbe servire da serbatoio significativo per i patogeni respiratori (Heo SM et al. 2011). In effetti, gli individui con parodontite hanno una probabilità tre volte maggiore di sviluppare polmonite nosocomiale, rispetto ai pazienti senza parodontite (Gomes-Filho IS et al. 2014). Al contrario, la *C. pneumoniae* è ben studiata come patogeno respiratorio ed è stata associata ad asma, bronchite e broncopneumopatia cronica ostruttiva (Roulis E et al. 2013). Questo patogeno è stato trovato anche nella cavità orale, e potrebbe probabilmente traslocarsi dalla cavità orale alle vie aeree inferiori, da dove potrebbe diffondersi sistematicamente ad altri siti come milza, cuore e aorta attraverso i monociti attraverso circolazione sanguigna. L'insieme, questi studi dimostrano che le cavità orali malsane possono predisporre alle infezioni respiratorie e suggeriscono che i patogeni orali o non orali presenti nella cavità orale potrebbero contribuire alle malattie respiratorie. (Fiona Q. Bui et al. 2019).

## **2 FISILOGIA DELLA GRAVIDANZA**

La gravidanza coinvolge una serie di complesse interazioni ormonali che causano profondi cambiamenti fisiologici, alcuni più evidenti di altri. Le mutazioni che avvengono sono il risultato di un aumento di richieste energetiche da parte sia della madre che del feto, necessarie per la crescita di quest'ultimo e per la preparazione al parto. Affinché la gravidanza proceda correttamente, è necessaria un aumento della secrezione degli ormoni sessuali femminili: gli estrogeni ed il progesterone. Nello specifico gli estrogeni subiscono un aumento dei propri livelli ematici di circa dieci volte, mentre il progesterone di circa trenta (Weiss, 2000). L'aumento della secrezione ormonale e la crescita del feto stesso inducono alcuni cambiamenti sistemici fisiologici nella donna in gravidanza. Le principali modifiche sistemiche si manifestano a livello dell'apparato cardiocircolatorio, ematologico, respiratorio, renale, gastroenterico, endocrino e genitourinario. I cambiamenti fisici locali coinvolgono diverse parti del corpo, inclusa la cavità orale. Questi mutamenti possono essere di interesse odontoiatrico nella misura in cui le pazienti in stato di gravidanza necessitano di particolari attenzioni. Pertanto, conoscere gli esatti cambiamenti fisiologici del corpo, gli effetti delle radiazioni ionizzanti e le terapie farmacologiche usate in ambito odontoiatrico è essenziale per la cura delle donne in gravidanza o durante il periodo dell'allattamento (Suresh, 2004).

### **2.1 Modificazioni del sistema cardiocircolatorio**

Il sistema cardiocircolatorio subisce importanti cambiamenti durante la gravidanza. I principali mutamenti consistono in un aumento del volume sanguigno totale e della gittata cardiaca, una diminuzione della pressione sanguigna, ed un potenziale evento della sindrome ipotensiva. Il volume sanguigno totale aumenta dal 40% al 50% entro la 32<sup>a</sup> settimana di gestazione, e

parallelamente all'aumento del volume plasmatico si assiste anche ad un innalzamento del 30% del numero di globuli rossi del sangue (Dukekot and Peeters, 1994). Tra la 25<sup>a</sup> e la 33<sup>a</sup> settimana di gestazione si assiste ad un incremento della gittata cardiaca dal 30% al 50%, secondario ad un aumento del volume di eiezione. Questi cambiamenti producono un murmure cardiaco funzionale ed una tachicardia in circa il 90% delle gestanti, i quali scompaiono in breve tempo dopo il parto. Inoltre l'aumento della gittata cardiaca produce un innalzamento della frequenza cardiaca da 10 a 20 battiti/minuto, in risposta all'aumentata richiesta metabolica della madre e del feto. La pressione sanguigna diminuisce brevemente e raggiunge il suo minimo tra la 16<sup>a</sup> e la 24<sup>a</sup> settimana circa. Dopo la 16<sup>a</sup> settimana, la pressione sanguigna risale ad un livello base (Clapp and Capeless, 1997). Nel contempo, si assiste ad un calo della resistenza sistemica vascolare dovuta al rilasciamento della muscolatura liscia delle vene, regolata dal progesterone. La sindrome ipotensiva da clinostatismo è una condizione che colpisce fino all'8% delle donne gravide, manifestandosi principalmente nel secondo trimestre. Quando la donna gravida si trova in posizione supina, si ha un ritorno venoso al cuore non equilibrato generato dalla compressione della vena cava inferiore da parte del feto; questo effetto produce un meccanismo compensatorio mediato dai barocettori volto a mantenere la gittata cardiaca costante. Questa risposta porta all'ipotensione, alla nausea, a capogiri e svenimenti. Per prevenire la sindrome ipotensiva da clinostatismo, durante le visite odontoiatriche la paziente dovrebbe essere posizionata con l'anca destra sollevata o ruotata sul lato sinistro, affinché l'utero sia sollevato dalla vena cava inferiore (Bhagwat and Engel, 1995).

## **2.2 Modificazioni ematologiche**

In gravidanza si hanno significativi cambiamenti ematologici riguardanti un aumento dei globuli rossi, dei leucociti, della velocità di eritrosedimentazione e di tutti i fattori della coagulazione, eccezion fatta per i fattori XI e XIII; si assiste inoltre a un decremento di emoglobina nel sangue.

Poiché l'aumento totale del plasma è di gran lunga superiore all'aumento del volume dei globuli rossi, si ha una emodiluizione e quindi un'anemia fisiologica. L'aumento di catecolamine endogene e di cortisolo porta a leucocitosi. I fattori della coagulazione VII e X aumentano ed i fattori anti-aggreganti XI e XIII diminuiscono. Pertanto, la gravidanza è considerata come uno stato di ipercoagulabilità, con associato un incremento del rischio di tromboembolismo. Le donne gravide che hanno la sindrome da antifosfolipidi presentano un rischio significativo di tromboembolismo e vengono sottoposte a terapia con eparina sottocutanea per la prevenzione di eventi embolici. Queste pazienti necessitano di ospedalizzazione per le eventuali cure odontoiatriche, ed è utile misurare i livelli plasmatici di eparina per meglio stabilire i livelli di coagulazione delle stesse. Il tempo parziale di tromboplastina attivato (aPPT), che viene solitamente usato per monitorare i livelli di eparina nei soggetti non in gravidanza, è di scarsa utilità per stabilire i livelli di coagulazione nelle pazienti gravide (Heilmann et al. 2003). L'eventuale comparsa di anticorpi antifosfolipidi comporta un'alterazione dell'emostasi ed eventualmente ad una serie di manifestazioni cliniche racchiuse nella definizione di sindrome da antifosfolipidi (APS). La APS è una condizione associata alla gravidanza e caratterizzata dalla presenza di autoanticorpi in associazione con ricorrenti aborti spontanei ed altre complicanze gravi come la preeclampsia, la piastrinopenia, il ritardo di crescita fetale o l'insufficienza placentare. I marker sierologici più importanti sono il lupus anticoagulante, gli anticorpi anti-cardiolipina e gli anticorpi anti-beta-2-glicoproteina. Il trattamento con aspirina, eparina, o immunoglobuline per via endovenosa diminuiscono la percentuale di perdita fetale (Branch, 1992).

### **2.3 Modificazioni del sistema respiratorio**

I cambiamenti che coinvolgono il sistema respiratorio sono conseguenti alla crescita del feto e alle esigenze di apporto di ossigeno sia da parte della madre che del feto. Tali cambiamenti



possono portare ad un aumento del volume corrente e della frequenza respiratoria, fino alla comparsa di dispnea e di iperventilazione. In particolare, la dispnea colpisce dal 60% al 70% delle puerpere, mentre gli atti respiratori decrementano del 20%. Il meccanismo che porta alla dispnea non è ancora del tutto chiaro. L'intake di ossigeno da parte della madre aumenta del 20% mentre la riserva di ossigeno diminuisce, esponendo sia il feto che la madre ad un potenziale rischio di ipossia. L'effetto dell'aumento di estrogeni circolanti causa un allargamento dei capillari nasali e la sopravvenienza di riniti nel 30% delle donne in gravidanza. Ciò potrebbe portare a sanguinamento nasale o predisporre ad infezioni del tratto respiratorio superiore (O'Day, 1997).

#### **2.4 Modificazioni dell'apparato gastroenterico**

Le alterazioni gastrointestinali sono dovute ad un allargamento del feto e ad una serie di cambiamenti ormonali. Le principali modifiche sono nausea, vomito e pirosi. Si possono poi riscontrare disfunzioni epatiche e carenze di ferro. Nausea e vomito si manifestano in circa il 66% delle donne in gravidanza e tipicamente appaiono a partire dalla quinta settimana dopo l'ultima mestruazione con un picco tra la 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> settimana di gestazione. L'iperemesi della paziente gravida si ha di solito in meno dell'1% dei soggetti. Se queste pazienti dovessero necessitare di interventi odontoiatrici, sarebbe opportuno evitare appuntamenti mattutini. Inoltre è necessario informare preventivamente le pazienti di evitare bevande acide o cibi grassi che potrebbero ritardare lo svuotamento gastrico o causare disturbi gastrici. Sebbene la patogenesi di nausea e vomito non sia ancora del tutto chiara, essa sembra essere correlata agli effetti ormonali di estrogeni e progesterone. Per prevenire la disidratazione dovuta agli episodi di emesi ricorrente, le donne in gravidanza dovrebbero bere piccoli sorsi di bevande ricche di sali minerali quali ad esempio le bevande degli sportivi. Durante le procedure odontoiatriche le pazienti dovrebbero essere messe in posizione semisupina. In caso di vomito, qualsiasi terapia deve

essere sospesa, e la paziente dovrebbe essere messa in posizione eretta. Al termine degli episodi di emesi, è bene far fare degli sciacqui con acqua fredda. La piroisi si manifesta solitamente in circa il 40% delle pazienti gravide. A causa dell'allargamento fetale e del rallentamento dello svuotamento gastrico si ha un aumento della pressione intragastrica con un conseguente reflusso. Durante la gravidanza si assiste ad un aumento delle richieste di energia affinché il feto e la placenta possano crescere. Questo comporta una diminuzione del ferro e dell'acido folico nella madre con conseguente sofferenza fetale. Il ferro è necessario per l'eritropoiesi fetale e l'acido folico per la sintesi degli amminoacidi e degli acidi nucleici; pertanto sono necessari degli integratori. Talvolta si assiste ad una alterazione di alcuni parametri della funzionalità epatica (AST, ALT, bilirubina); solitamente questi tre valori sono aumentati durante la gravidanza, mentre i livelli di albumina diminuiscono a causa di un secondario aumento del volume plasmatico. I livelli di fosfatasi alcalina si innalzano dalla 15<sup>a</sup> settimana di gravidanza fino al parto: questo aumento è dovuto ad un passaggio della fosfatasi alcalina placentare al sangue materno. Le disfunzioni epatiche potrebbero portare a colestasi ostruttiva, alla preeclampsia (caratterizzata dalla triade di: proteinuria, ipertensione ed edema placentare), alla sindrome HELLP (elevati livelli di enzimi epatici, emolisi e piastrinopenia) e alla stitosi epatica acuta della gravidanza. La preeclampsia coinvolge circa il 5% delle pazienti in gravidanza (Saftlas et al., 1990). L'ipertensione in gravidanza può essere classificata in due gruppi: quella riguardante le donne che hanno un'ipertensione prima di diventare gravide e quella che colpisce la paziente per la prima volta nella seconda metà della gravidanza. La pressione sanguigna di solito scende durante il primo e secondo trimestre. Pertanto, nelle donne con una pressione elevata prima della 20<sup>a</sup> settimana si presume che abbiano già una storia di ipertensione precedente alla gravidanza. In entrambi i casi le pazienti gravide dovrebbero essere inviate dal proprio medico curante per evitare il possibile svilupparsi di preeclampsia (Koch, 2002).

## **2.5 Modificazioni dell'apparato genito-urinario**

I principali cambiamenti che interessano l'apparato genito-urinario sono l'aumento di filtrazione glomerulare (GFR), la comparsa di pollachiuria, la stasi urinaria e l'aumento del rischio di infezioni del tratto urinario. L'aumento del flusso plasmatici renale è dovuto all'aumento generalizzato del volume sanguigno. Questo aumento della funzione renale provoca una caduta dell'azotemia a valori solitamente minori di 10 mg/dl (<3,6 mmol urea/l), mentre i valori della creatinina scendono contestualmente a 0,7 mg/dl (62 mmol/l). Gli ureteri sono molto dilatati a causa delle influenze ormonali, soprattutto del progesterone, e per l'ostacolo esercitato dalla pressione esercitata dall'utero aumentato di volume sugli ureteri. La funzionalità renale è molto influenzata dalla postura in corso di gravidanza. Normalmente è maggiore nella posizione supina e diminuisce in quella eretta; queste modificazioni sono accentuate durante la gravidanza. Si verifica inoltre un'attivazione del sistema renina-angiotensina per riduzione della pressione di perfusione del rene, secondaria alla compressione dei grossi vasi da parte dell'utero, per ostacolo al deflusso urinario lungo gli ureteri e alla riduzione della sodiemia. Si ha poi un'inibizione del sistema renina-angiotensina per aumento del volume plasmatico e per l'aumento dei liquidi interstiziali. In gravidanza vi è un'aumentata escrezione urinaria di varie sostanze quali gli aminoacidi, il glucosio, le vitamine idrosolubili e i farmaci. L'aumento della glicosuria che talvolta si verifica è dovuto all'aumento del volume di filtrazione glomerulare ed in minore misura al ridotto riassorbimento tubulare: un incremento eccessivo della glicosuria non deve essere interpretato come indice di diabete gestazionale, ma come possibile danno tubulare (Davidson, 2001).

## **2.6 Modificazioni dell'apparato endocrino**

Durante la gravidanza gli ormoni femminili (estrogeni, progesterone e gonadotropine) sono secrete principalmente dalla placenta. Questi ormoni sono responsabili della maggior parte dei

cambiamenti fisiologici durante la gravidanza. Gli estrogeni ed il progesterone sono ormoni che possiedono un'attività insulino-antagonista: questo porta ad un certo grado di insulino-resistenza con un conseguente aumento di livelli ematici di insulina. Il 45% delle pazienti in gravidanza non è in grado di produrre insulina sufficiente per contrastare l'azione antagonista degli ormoni e come risultato si sviluppa il diabete gestazionale. Le pazienti affette da obesità e con una storia familiare positiva per il diabete mellito di II tipo hanno una maggiore possibilità di sviluppare il diabete gestazionale. Durante la gravidanza si può avere un aumento del volume della tiroide per aumento della escrezione urinaria di sodio, ipervascolarizzazione della ghiandola o stimolazione della tireotropina corionica placentare. La funzione tiroidea in gravidanza non si modifica: un aumento dei livelli plasmatici di T3 e T4 ed un parallelo aumento della TBG (thyroid binding globulin) per azione degli elevati livelli di estrogeni non comportano alcuna variazione a carico della quota attiva, libera di T3 e T4 (Glinoe et al., 1990). Si realizza inoltre una ipertrofia ed una iperplasia delle cellule lattotrope che secernono la prolattina, per effetto dei livelli aumentati degli estrogeni. I livelli più elevati di prolattina in gravidanza si ritrovano nel liquido amniotico e nella decidua: la prolattina avrebbe un ruolo nel metabolismo delle prostaglandine e nel mantenimento dell'osmolarità del liquido amniotico. Nella seconda metà della gravidanza si verifica un aumento dei livelli plasmatici di paratormone ed un aumento dei livelli plasmatici di calcitonina (Suresh and Radfar, 2004).

### 3 Parto pretermine

La nascita spontanea pretermine (SPTB) rimane la principale causa di morbosità e mortalità perinatale in molte regioni del mondo. La patogenesi di SPTB è complessa e multifattoriale. Sono stati individuati molti fattori di rischio associati alla SPTB, alcuni comprovati mentre altri solo postulati. Tuttavia, la maggior parte dei casi di SPTB si verifica in donne apparentemente senza fattori di rischio identificabili (Son et Miller, 2017).

Attualmente si stima che circa 15 milioni di neonati nascano pretermine ogni anno, con le conseguenti complicanze associate a questa condizione. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) definisce la nascita pretermine come qualsiasi nascita prima di 37<sup>a</sup> settimane di gestazione completate, o meno di 259 giorni dal primo giorno dell'ultimo periodo mestruale della donna. Questo è ulteriormente suddiviso sulla base dell'età gestazionale (GA):

- Estremamente pretermine (<28 settimane);
- Molto pretermine (28–32 settimane);
- Pretermine moderato o tardivo (32–37 settimane di gestazione completate).

Questa è la definizione più ampiamente usata e accettata di parto pretermine. La capacità di determinare con precisione le settimane di gestazione completate varia ampiamente tra le gravidanze, con i metodi di valutazione più precisi non uniformemente disponibili in contesti diversi.

La vaccinazione in gravidanza è stata ampiamente implementata per proteggere le donne e i loro bambini da tetano e pertosse negli ultimi anni, con un numero crescente di vaccini in fase di sviluppo e sperimentazione per l'uso in gravidanza contro una varietà di infezioni batteriche e virali. La nomenclatura di GA è in genere discussa in termini di numero di settimane completate (ad esempio, 33 settimane e 2 giorni o 33 2/7 settimane). La definizione di GA è stata

considerata utile in termini di esito neonatale. In passato la GA è stata classificata in tre gruppi in base al tempo trascorso tra il parto e l'inizio dell'ultimo periodo mestruale (Howson et al., 2012).

- *Pre-termine*: meno di 259 giorni (37 settimane);
- *Termine*: 259–293 giorni (37–41 settimane);
- *Post-termine*: 294 giorni (42 settimane) o più.

Un termine di nascita ottimale è stato definito tra le 37 e le 42 settimane e usato per descrivere i tempi ottimali per un buon risultato per la madre e il bambino. La classificazione internazionale delle malattie definisce il termine gravidanza come un parto da 37 settimane completate a meno di 42 settimane completate (259–293 giorni) di gestazione. Tuttavia, gli esiti neonatali variano significativamente all'interno di questa vasta fascia di età gestazionale. Per questo motivo, un gruppo di lavoro internazionale di esperti nel 2012 ha raccomandato una sottocategorizzazione dei periodi compresi nella definizione di nascita a termine per descrivere più accuratamente le consegne e i loro risultati. Queste sottocategorie sono:

- *Primo periodo* (37 0/7 - 38 6/7 settimane di gestazione);
- *Termine completo* (39 0/7 - 40 6/7 settimane di gestazione);
- *Termine tardivo* (41 0/7 - 41 6/7 settimane di gestazione);
- *Post termine* (dalle 42 0/7 settimane di gestazione in poi).

L'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) e la Society for Maternal – Fetal Medicine (SMFM) hanno approvato questa raccomandazione e ne incoraggiano l'uso per classificare la GA (Quinn et al. 2016).

### **3.1 Eziologia**

La sindrome del parto pretermine è considerata il risultato di un processo cronico di origine multifattoriale, con manifestazioni eterogenee che interagiscono diversamente fra loro. Tali fattori possono determinare la comparsa di diversi fenomeni a livello uterino, quali: un aumento della contrattilità miometriale, un'attivazione membrano-deciduale e delle modificazioni cervicali che si manifestano, rispettivamente, mediante travaglio pre-termine, rottura prematura pretermine delle membrane e insufficienza cervicale. Allo stato attuale delle conoscenze, l'ipotesi patogenetica del parto pre-termine considerata più valida è quella che viene definita come sindrome della risposta infiammatoria intrauterina (FIRS). Tale sindrome consta nell'attivazione della via del parto, per mezzo della sintesi di prostaglandine da parte del miometrio e delle membrane amniocoriali; le prostaglandine sono a loro volta responsabili delle contrazioni uterine e delle modificazioni cervicali. A monte di questo meccanismo ci possono essere diversi eventi scatenanti. Uno di questi è rappresentato dallo stress materno, con l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, mediante la secrezione a catena di CRH, ACTH e cortisolo; il cortisolo, infine, è responsabile della sintesi delle prostaglandine. Un altro percorso di innesco è rappresentato dai processi infettivi che possono interessare gli annessi e il feto; questi quadri clinici attivano la produzione di citochine infiammatorie e, conseguentemente, la sintesi di prostaglandine che innescano le contrazioni uterine, la PPRM e la maturazione cervicale, con conseguente parto pretermine (Iliodromiti et al. 2012). Il parto pretermine deve essere considerato come una sindrome clinica nella quale, diversi meccanismi implicati nel parto sono attivati prematuramente; un'alterata regolazione dei sistemi immunitari, con un'esagerata risposta ai processi infiammatori ne rappresentano i meccanismi centrali (Voltolini et al. 2013). Il 25-40% dei casi di PPT ha una causa infettiva, con un tasso tanto maggiore quanto più precoce è l'epoca gestazionale al momento della manifestazione clinica (travaglio pretermine, PPRM). Si ritiene in genere che i microorganismi risalgano dal tratto genitale inferiore, attraversino la

barriera cervicale e invadano la decidua, il corion-amnios e il liquido amniotico, con possibile interessamento del prodotto del concepimento. Nelle donne con travaglio di parto pretermine a membrane integre i più comuni microorganismi coinvolti sono l'*Ureaplasma urealiticum*, il *Mycoplasma hominis*, la *Gardnerella vaginalis* e alcune specie di *Bacteroides*, tutti microorganismi caratterizzati da una bassa virulenza, mentre quelli associati con la corionamnionite e l'infezione fetale dopo la PPRM, in particolare lo *Streptococcus agalactiae* e l'*Escherichia coli*, sono riscontrati solo occasionalmente (Goldenberg et al., 2000). Questi microorganismi colonizzano il compartimento intrauterino in prevalenza attraverso la via ascendente dalla vagina, ma anche per via ematogena transplacentare (polmonite, pielonefrite, batteriuria asintomatica, appendicite) retrograda dal peritoneo attraverso le tube ed anche per via iatrogena come conseguenza di una procedura di diagnosi prenatale invasiva. L'infezione intrauterina è spesso cronica e di solito asintomatica, fino al momento in cui inizia il travaglio e/o si manifesta la rottura delle membrane. Recenti studi hanno posto in risalto una possibile relazione tra alterazioni periodontali della cavità orale, con un'associata infiammazione sistemica e/o parto pretermine, sottolineando, inoltre, come una corretta igiene e cura dentale possa avere un importante ruolo preventivo nel parto prematuro (Horton and Boggess, 2012). È stato ipotizzato che l'inizio del travaglio pretermine può essere considerato un meccanismo di difesa da parte dell'organismo materno (con l'intento di eliminare i tessuti sede di infezione/infiammazione) o da parte del feto (sopravvivenza in un ambiente ostile). Anche l'endometriosi, infiammazione cronica causata da una disfunzione ormonale/immunologica, presenta meccanismi patogenetici (ormoni, citochine e fattori di crescita) simili a quelli che attivano i processi infiammatori della placenta e del miometrio nel parto pretermine (Petraglia et al. 2012). Da ultimo, è stata valutata la stretta associazione tra presenza di anticorpi antitiroide (anticorpi antiperoossidasi e antitireoglobulina) e rischio di parto pretermine. Le anomalie della continenza cervicale sia congenite (alterato rapporto tra componente muscolare e connettivale)



sia traumatiche (conizzazione, ripetute dilatazioni) possono essere considerate come fattori coinvolti nell'eziopatogenesi del PPT. In definitiva, il PPT precoce spontaneo (<32 settimane) è più frequentemente associato a un'eziologia infettiva e/o a debolezza del tessuto cervicale, condizioni che determinano l'attivazione dei processi infiammatori, mentre i meccanismi patogenetici più di frequente implicati nel determinismo del PPT tardivo spontaneo (32-37 settimane) sono quelli legati all'aumento prematuro delle concentrazioni di CRF, come avviene nell'iperdistensione uterina e nello stress materno/fetale.

### **3.2 Diagnosi**

La diagnosi di travaglio pretermine si basa sul rilievo documentato di contrazioni uterine dolorose e regolari, persistenti (4 in 20 minuti o 8 in 60 minuti, della durata di almeno 30 secondi), associate a modificazioni della cervice uterina (dilatazione cervicale >2 cm, collo raccorciato >80%) e/o PPRM. Il parto pretermine spesso è preceduto durante la gravidanza da episodi di minaccia di parto pretermine ma, mentre la diagnosi di parto pretermine non presenta difficoltà, i problemi si hanno con la minaccia di parto pretermine che ha, comunque, la valenza principale ai fini della prevenzione della mortalità prenatale, in quanto se il travaglio è già in atto le possibilità di intervento sono più limitate. Durante gli ultimi vent'anni la scoperta della fibronectina fetale nelle secrezioni vaginali e l'accorciamento della cervice valutata ecograficamente sono diventati i principali fattori predittivi secondari del parto pretermine. L'utilizzo di questi marcatori non è raccomandato generalmente per lo screening delle gravidanze a basso rischio; è usato principalmente per definire nuovi interventi nelle popolazioni ad alto rischio (basse condizioni socio-economiche, condizioni di stress materno, procreazione medicalmente assistita, iperdistensione uterina, malformazioni urinarie o miomi uterini, ridotto o eccessivo incremento ponderale), onde evitare procedure non necessarie nel management di tali pazienti (Leitich H. 2005). I livelli di fibronectina fetale nelle secrezioni vaginali possono essere

elevati come conseguenza di un processo patologico infettivo, coinvolgente la giunzione coriondeciduale, che spesso precede un travaglio pretermine. La fibronectina è una glicoproteina della matrice extracellulare prodotta dal corion con ruolo di collante fra le membrane amniocoriali e la decidua. Viene riscontrata normalmente nelle secrezioni cervico-vaginali a epoche gestazionali <20 settimane, quando non si è ancora verificata la completa fusione tra membrane e decidua, così come presso il termine di gestazione, quando iniziano i fenomeni di disgiunzione di tale interfaccia. La sua identificazione tra la 22<sup>a</sup> e la 35<sup>a</sup> settimana di gestazione è considerata un marker di danno della giunzione coriondeciduale, evento fortemente associato allo scatenamento del PPT spontaneo. Un recente studio ha dimostrato come il test alla fibronectina fetale ha una scarsa efficacia nel predire il parto pretermine, mentre mostra un potenziale maggiore nell'identificare pazienti con sospetto parto pretermine ma non a rischio e che, pertanto, non necessitano di ospedalizzazione (Berkowitz and Papiernik, 1993). Si è evidenziato come le modifiche della cervice uterina iniziano dall'orifizio uterino interno, procedendo poi verso l'esterno; tale osservazione ha permesso di sviluppare e approfondire la diagnostica ecografica transvaginale del collo dell'utero, applicata alla minaccia di parto pretermine. La lunghezza residua (funzionale) del canale cervicale, misurata dopo le 15 settimane di gravidanza, rappresenta il parametro predittivo di PPT più accurato e riproducibile; il funneling (imbutizzazione del canale cervicale conseguente a dilatazione dell'orifizio uterino interno), la cui misurazione è difficilmente riproducibile, non si è dimostrato più affidabile della lunghezza del canale cervicale, come predittore indipendente di PPT (linee guida AGOI). Il valore di cut-off ottimale della lunghezza cervicale varia tra i 25 e i 35 mm, nelle donne asintomatiche tra la 20<sup>a</sup> e la 24<sup>a</sup> settimana di gestazione; a questi cutoff i valori di sensibilità variano tra il 33-54% e quelli di specificità tra il 73-91 o/o. Viceversa, una lunghezza cervicale <25 mm e/o <22 mm nel secondo trimestre è associata a un aumento del rischio di PPT <35 settimane rispettivamente di 6 e 10 volte. A causa dell'elevato tasso di falsi positivi, la

valutazione del canale cervicale con ecografia transvaginale non viene raccomandata come test di screening per PPT nel secondo trimestre nella popolazione ostetrica generale; è invece giustificata come test di screening in gravide asintomatiche con un rischio documentato per PPT e/o in gestanti con segni e sintomi di PPT. Difatti, in queste pazienti, una cervicometria normale  $>30$  mm consente di escludere un rischio imminente di PPT di ridurre il numero di ricoveri e di ottimizzare l'assistenza e le risorse economiche indirizzando le pazienti verso controlli seriati ambulatoriali. Un recente studio ha evidenziato come la combinazione del test della fibronectina fetale e della valutazione ecografica della lunghezza cervicale possa dare valide e utili informazioni nel rischio a breve termine e potrebbe essere utilizzato come guida nel management e nell'identificazione di pazienti a basso rischio di parto prematuro (Saurel-Cubizolles et al., 2004). In donne con minaccia di PPT è stato proposto questo approccio combinato (misurazione del canale cervicale e successivo test alla fibronectina fetale), in caso di lunghezza cervicale  $<30$  mm, al fine di aumentare la predittività di PPT dell'ecografia transvaginale. L'azione combinata dei due test permette di incrementare la predittività del PPT rispettivamente dal 7% al 26% entro le 48 ore e dal 11% al 45% entro 7 giorni. La batteriuria asintomatica ha una prevalenza del 2-10% in gravidanza ma è dimostrato che lo screening per batteriuria asintomatica e il suo trattamento, in caso di urinocoltura con conta  $>100.000$  batteri/ml, riduce l'incidenza di pielonefrite ma non di PPT; sembra comunque ragionevole effettuare una prima urinocoltura già alla prima visita. Analogamente, vista la stretta correlazione tra vaginosi batterica e PPT spontaneo, l'esecuzione routinaria del tampone cervico-vaginale per la ricerca di vaginosi batterica è raccomandata in tutte le donne in gravidanza prima della 16<sup>a</sup> settimana. La valutazione del possibile travaglio pretermine inizia con la ricerca delle cause sottostanti; successivamente si deve prendere la decisione di prolungare o meno la gravidanza e si rende quindi necessario, da parte dell'ostetrico, un accurato accertamento del benessere fetale e l'assicurazione che la crescita del feto e la sua maturità continueranno in un ambiente sicuro.

Identificare sempre le pazienti a rischio di reale parto pretermine non è comunque facile; circa il 30% dei casi di minaccia di parto pretermine si risolve spontaneamente e il 50% delle pazienti ospedalizzate per minaccia di parto pretermine partoriranno feto a termine.

### **3.3 Fattori di rischio**

Sebbene siano stati identificati numerosi fattori di rischio, quali l'etnia, l'età, il Body Mass Index (BMI), il fumo di sigaretta, l'abuso di droghe e la storia ostetrica, molti parti prematuri si verificano anche in assenza di fattori di rischio noti, per cui non è ancora stata raggiunta la piena comprensione dei meccanismi fisiopatologici alla base del parto pretermine spontaneo.

Nel 1993 Berkowitz e Papiernik sintetizzarono tutti i più recenti e significativi studi epidemiologici internazionali, suddividendo i fattori di rischio evidenziati in diverse categorie in funzione della significatività della correlazione con il parto pretermine, individuando fattori di rischio accertati, probabili, debolmente correlati, contrastanti, non sufficientemente valutati (Berkowitz and Papiernik, 1993). Al fine di valutare il reale effetto sulla durata della gravidanza anche di nuovi possibili fattori di rischio quali l'attività lavorativa e lo stress psicologico, è stato finanziato dall'Unione Europea uno studio denominato EUROPOP (European Program of Occupational Risk and Pregnancy Outcome), che ha confermato i risultati di Berkowitz e Papiernik (Saurel-Cubizolles et al. 2004). Oggi quindi classicamente si suole suddividere i fattori di rischio correlati al parto pretermine in:

- Fattori di rischio materni: razza nera, età materna <18 anni e >40 anni, basso livello socioeconomico, primiparità, basso peso materno pregravidico, attività lavorativa pesante o stressante, stress psicologico, fumo, uso di droghe e alcool, scarsa assistenza prenatale, anemia, malattie materne acute o croniche (cardiopatie, ipertensione arteriosa, ipertiroidismo, nefropatie, diabete mellito);

- Fattori di rischio ostetrici: precedente aborto spontaneo o terapeutico, precedente parto pretermine, precedenti sanguinamenti, anomalie uterine (conizzazioni, fibromi, malformazioni mülleriane, incompetenza cervicale);
- Fattori di rischio relativi alla gravidanza in corso: gravidanze gemellari, oligoidramnios, polidramnios, malformazioni fetali, rottura prematura delle membrane (PROM), gestosi, ritardo di crescita intrauterino (IUGR), perdite ematiche, incompetenza cervicale, infezioni del tratto genitale, chirurgia addominale, traumi (Goldenberg et al. 2008).

### **3.4 Terapia e management**

La terapia e il management del parto pretermine non trovano ancora una modalità univoca; il motivo di tanta e tale eterogeneità comportamentale è primariamente imputabile alle diverse cause che pertanto richiedono approcci terapeutici differenti e rendono difficile ogni tipo di confronto. Gli interventi utili a ridurre mortalità e/o morbilità correlati con il PPT possono essere distinti in:

- Primari: rivolti a tutte le donne, prima o durante la gravidanza, e dedicati a prevenire e ridurre il rischio di PPT;
- Secondari: diretti a donne con fattori di rischio noti e finalizzati a eliminare o ridurre il rischio di PPT;
- Terziari: finalizzati al trattamento delle donne in cui il processo del PPT è iniziato, al fine di prevenire o dilazionare il parto, migliorando l'outcome neonatale.

Il riposo assoluto e l'allontanamento delle fonti di stress rappresentano un aspetto importante. Tuttavia, da una parte il rischio di fenomeni tromboembolici (immobilizzazione prolungata) e, dall'altra, una revisione di trial randomizzati disponibili sull'utilità di tale procedura come misura

preventiva del PPT in donne ad alto rischio non hanno mostrato l'esistenza di evidenza di reale efficacia. Il prolungamento della gravidanza, anche se di pochi giorni, ha come obiettivo primario quello di consentire la somministrazione dei glucocorticoidi per l'induzione della maturità polmonare fetale e per ridurre i rischi di distress respiratorio (RDS), morte neonatale ed emorragia intraventricolare (Goldenberg et al., 2008). Si è anche visto che i nati pretermine, rispetto ai nati a termine, presentano un'aumentata incidenza di sindrome da stress respiratorio (16,5% vs 0,3%), ritardo di crescita (24,8% vs 4%), iperbilirubinemia e/o necessità di fototerapia (37,9% vs 11,0%) e sepsi (4,9% vs 0,3%) (Haroon A et al. 2014). Il trattamento farmacologico che si impiega tradizionalmente è mirato all'arresto delle contrazioni uterine (tocolisi); i diversi principi attivi utilizzati si sono dimostrati in grado di procrastinare il parto da 48 ore a 7 giorni, ma non di diminuire in assoluto l'incidenza del PPT e della mortalità perinatale correlata. Come già argomentato, l'obiettivo principale di queste sostanze è quello di posticipare il parto per il tempo necessario a instaurare una terapia per la profilassi della RDS e di consentire il trasferimento in utero in centri di secondo livello ove sia possibile ottimizzare e pianificare la nascita. Quindi se ne consiglia l'uso da 24+0 settimane a 33+6 settimane, per un tempo di 48 ore, in associazione alla terapia con corticosteroidi. Per quanto riguarda il ruolo della terapia tocolitica di mantenimento (>48 ore), essa può essere giustificata in casi selezionati di PPT estremamente precoci e in cui siano stati esclusi compromissione fetale e infezione. Il progesterone e il 17-alfa idrossiprogesterone caproato hanno dimostrato una significativa efficacia nel ridurre il parto pretermine in pazienti a rischio trattate mediante somministrazione settimanale intramuscolare di idrossiprogesterone caproato o somministrazione giornaliera di progesterone micronizzato per via vaginale (Di Renzo GC et al. 2005) In donne senza segni e/o sintomi di PPT ma con cervice raccorciata a controllo ecografico transvaginale nel secondo trimestre, l'uso profilattico del progesterone è associato a una riduzione significativa del tasso di PPT <34 settimane e di mortalità e morbilità perinatale. Gli inibitori della sintesi delle

prostaglandine (indometacina, naproxene, ketoprofene) sono stati valutati per la loro efficacia tocolitica, in quanto bloccano l'attività della cicloossigenasi che è l'enzima responsabile della conversione dell'acido arachidonico in prostaglandine. Un recente studio ha comparato tali farmaci al magnesio solfato, ai farmaci che bloccano i canali del calcio, ai beta-mimetici e ai farmaci che bloccano i recettori per l'ossitocina evidenziando come, nel breve termine di 48 ore, gli inibitori della sintesi delle prostaglandine e i farmaci che bloccano i canali del calcio mostrano la più alta probabilità di ritardare il parto, migliorando l'outcome materno-fetale (Haas DM et al. 2012). Tuttavia, l'uso di questa categoria di farmaci è controindicato nelle donne con insufficienza renale e/o epatica o con difetti della coagulazione. Inoltre, bisogna considerare i potenziali effetti collaterali sul feto (chiusura del dotto arterioso, ipertensione polmonare, emorragia intraventricolare, riduzione del flusso renale con oligoidramnios). Queste osservazioni quindi suggeriscono che la terapia tocolitica con indometacina sia da riservare ai casi selezionati, in cui il travaglio di parto pretermine insorga prima delle 32 settimane, e per una durata non superiore alle 48 ore. Tuttavia, la terapia di mantenimento oltre le 48 ore non è associata a un miglioramento degli esiti neonatali, così come la somministrazione orale degli stessi non si è dimostrata efficace nella terapia di mantenimento dopo l'evento acuto. Gli effetti negativi sulla madre (aritmie, tachicardia, dolore toracico, palpitazioni, cefalea ed edema polmonare) possono essere minimizzati da un'attenta selezione delle pazienti, nonché dalla stretta aderenza ai protocolli di trattamento disponibili, valutando, da parte del medico, ogni singolo caso e monitorando i possibili effetti collaterali (Smith V et al. 2009). Il solfato di magnesio è in grado di ridurre la contrattilità uterina, in quanto compete con il calcio, riducendo i processi di attivazione dei miociti, responsabili delle contrazioni uterine e prevenendo così il rischio di parto pretermine. Questo preparato è molto usato come tocolitico in molte parti del mondo ma è raramente utilizzato con questa indicazione in Europa. Si è comunque visto che il solfato di magnesio presenta un potenziale effetto neuroprotettivo e sarebbe indicato un suo utilizzo per

prevenire i parti pretermine in epoche antecedenti la 32<sup>a</sup> settimana. Gli antagonisti dell'ossitocina (atosiban) risultano avere la stessa efficacia tocolitica dei beta-mimetici, ma con una significativa riduzione degli effetti collaterali materni. Controindicazioni al suo uso sono rappresentate da eclampsia/preeclampsia grave, infezione intrauterina, emorragia anteparto, placenta previa, distacco di placenta e IUGR (Mackeen AD et al. 2001). Per quanto riguarda la terapia antibiotica, si è evidenziato come essa sia efficace, se eseguita prima delle 16-20 settimane, nel ridurre il tasso di PPT in gravide asintomatiche con infezione genito-urinaria. In caso di urinocoltura positiva sono da preferire cefalosporine di seconda generazione a dosi piene; in caso di vaginite batterica, invece, è raccomandato l'uso della clindamicina. È invece raccomandato il protocollo di terapia per la profilassi dello *Streptococcus agalactiae* in tutti i casi in cui il travaglio è iniziato e il parto è improcrastinabile (ampicillina 2 gev seguita da 1 g ogni 4 ore; nei soggetti allergici eritromicina 500 mg ev ogni 6 ore), tranne in caso di tampone vaginale e rettale negativi nelle 5 settimane precedenti. Nelle PROM <32 settimane, la terapia antibiotica dovrebbe essere somministrata nelle donne non in travaglio, in ordine al prolungamento della gravidanza (2-7 giorni) e alla riduzione della morbidità materno/neonatale. Il regime terapeutico di scelta prevede una prima dose, per via endovenosa, seguita da una successiva somministrazione per via orale, prediligendo, come molecole di prima scelta, la penicillina e/o l'eritromicina; l'associazione amoxicillina/acido clavulanico invece non dovrebbe essere utilizzata, visto il maggiore rischio di enterocolite necrotizzante del neonato (Yudin MH et al. 2009). La terapia corticosteroidica in donne gravide a rischio di PPT comprese tra 24+0 e 33+6 settimane è efficace nell'induzione della maturità polmonare fetale e nella riduzione della RDS neonatale, con un'efficacia massima nei nati tra le 48 ore e i 7 giorni dalla prima dose. L'efficacia è comprovata fino alla 34<sup>a</sup> settimana di amenorrea, mediante la somministrazione di un singolo ciclo di terapia in quanto, dopo le 34 settimane, lo sviluppo polmonare si può definire completo e non è dimostrato un miglioramento dell'outcome neonatale. In neonati oltre la 34<sup>a</sup> settimana, che



potrebbero comunque avere effetti negativi legati alla prematurità, il rischio della terapia cortisonica potrebbe eccedere rispetto ai reali benefici (Kamath-Rayne BD et al. 2012) Non ci sono evidenze sull'efficacia di somministrazioni ripetute, che andrebbero quindi evitate sia per gli effetti collaterali sulla madre, sia perché possono danneggiare lo sviluppo dei meccanismi di adattamento del feto allo stress (Crowther CA et al. 2012).

A livello materno la somministrazione di corticosteroidi potrebbe determinare un'iperglicemia transitoria da 12 ore a 5-7 giorni dopo il trattamento; si potrebbe pertanto avere qualche difficoltà nel management in caso di diabete materno. Il cerchiaggio cervicale è un presidio chirurgico che richiede precise indicazioni e condizioni permettenti, basate soprattutto sulla valutazione ecografica della cervice uterina. Un cerchiaggio preventivo potrebbe essere indicato solo in pazienti a elevato rischio (3 aborti tardivi e/o PPT nel secondo trimestre), mentre un cerchiaggio terapeutico potrebbe essere raccomandato in donne in gravidanza con feto singolo, cervice corta nel secondo trimestre, con storia di aborti spontanei o PPT, ma in assenza di un'eziopatogenesi di tipo infiammatorio. In caso di raccorciamento della cervice uterina nel secondo trimestre di gestazione, studi differenti hanno valutato l'efficacia della somministrazione di progesterone per via vaginale (Romero R et al. 2012) il cerchiaggio cervicale in pazienti con anamnesi positiva per un parto pretermine e infine l'efficacia del pessario vaginale (Goya M et al. 2012). La combinazione del progesterone per via vaginale, associato al cerchiaggio cervicale, si è dimostrato un metodo valido nel ridurre il rischio di parto pretermine, in gravidanza gemellare con lunghezza cervicale <25 mm. La decisione di rimuovere un cerchiaggio precedentemente effettuato in caso di PROM comparsa successivamente è argomento anch'esso controverso: da una parte vi è la speranza di un prolungamento della gravidanza, ma dall'altra bisogna anche considerare i potenziali rischi di infezione materno-fetale. In realtà, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative in termine di prolungamento della gravidanza, infezione e outcome neonatale; tuttavia, non essendoci un diretto vantaggio, sembrerebbe più opportuno

pensare a una sua rimozione. Il timing del parto rappresenta un argomento molto delicato e dibattuto, specie in caso di PROM. Prima delle 34 settimane bisogna avere un atteggiamento conservativo, con trasferimento in “utero”, antibioticoprofilassi e terapia cortisonica; dopo le 37 settimane il parto rappresenta la scelta di elezione; tra la 34<sup>a</sup> e la 37<sup>a</sup> settimana, recenti studi hanno dimostrato che l'induzione del parto non migliora l'outcome della gravidanza, perciò l'atteggiamento di attesa potrebbe rappresentare la prima opzione tra le 34-37 settimane quando non vi è il sospetto di un'infezione in fase attiva, specialmente in caso di cervice sfavorevole (Bianchon L et al. 2013). Comunque, non vi è un consenso generale e unitario sul management da avere in donne con PPROM tra la 34<sup>a</sup> e la 37<sup>a</sup> settimana. Negli ultimi anni il parto nei pretermine è generalmente eseguito mediante taglio cesareo (TC). C'è da considerare che il feto pretermine è molto più debole del feto a termine, con capacità di compenso molto più limitate nel tollerare lo stress del passaggio nel canale del parto; in tale ottica, il taglio cesareo sembrerebbe la scelta più indicata. Il feto pretermine è tanto più fragile quanto più precoce è l'epoca gestazionale e, quindi, è più soggetto a insulti di natura infettiva, ipossica e meccanica. Ciò lo espone maggiormente al rischio emorragico, specie a livello cerebrale. Sebbene non sia stata osservata alcuna differenza statisticamente significativa in termini di outcome tra i feti nati da TC rispetto a quelli nati da parto spontaneo è comunque riportata, in particolare nelle classi di peso più basse, una percentuale minore di emorragia intraventricolare e di leucomalacia periventricolare dopo TC. Definire delle linee di condotta risulta, però, praticamente impossibile, in quanto ogni caso clinico va considerato tenendo conto delle numerose variabili derivanti dai rilievi clinici e strumentali che orienteranno il ginecologo verso la scelta che riterrà più adeguata alla situazione. L'atteggiamento più opportuno sembra essere quello di effettuare un completo ed esaustivo counseling multidisciplinare con la coppia (riguardo ai tempi e alle modalità del parto, alle modalità di assistenza neonatale e alla prognosi neonatale), scegliendo insieme la condotta più consona alla situazione specifica e redigendo uno specifico consenso informato. Uno studio

svedese su 46.726 nati pretermine indica, nei nati tra 34-36 settimane, una riduzione del rischio di mortalità neonatale e infantile in caso di parto spontaneo rispetto al taglio cesareo (Morken NH et al. 2007). Per quanto riguarda i neonati di peso molto basso e/o estremamente basso, beneficiano di un taglio cesareo i podalici di peso compreso tra 500-1.499 g; per i nati di vertice un vantaggio di sopravvivenza è attribuito al parto vaginale nei casi di nati con peso tra 1.250-1.499 g, mentre il taglio cesareo è protettivo nei confronti delle categorie di peso più basse (Muhuri PK et al. 2006). Qualora il PPT avvenga tramite TC, il mancato o ridotto sviluppo del segmento uterino inferiore potrebbe rendere difficile, se non impossibile, una corretta e meno traumatica estrazione del feto, tanto più frequente quanto più precoce è l'epoca gestazionale e/o in condizioni di emergenza. Ciò comporta spesso la necessità di effettuare incisioni differenti da quella abituale (longitudinale bassa istmica, trasversa sul corpo, a T invertita) che potrebbero essere associate a una maggiore incidenza di complicanze materne (emorragie, emotrasfusioni, infezioni puerperali, isterectomie) se confrontate con il TC classico. In conclusione, per quanto riguarda la presentazione cefalica, non esiste alcuna robusta evidenza scientifica che supporti l'indicazione di effettuare il taglio cesareo elettivamente nei feti pretermine; per quanto riguarda la presentazione podalica, i dati in letteratura descrivono una maggiore mortalità e/o morbilità perinatale (distacco di placenta, prolasso di cordone, traumi muscolari e viscerali, intrappolamento della testa, asfissia) in caso di parto vaginale, rispetto ai pari peso in presentazione cefalica o rispetto al TC, soprattutto in caso di età gestazionale <32 settimane. In caso di presentazione podalica gli indirizzi attuali possono essere così riassunti:

- Età compresa tra 22 e 25 settimane: la peggiore prognosi fetale e l'elevata morbilità materna da TC indirizzano verso un parto vaginale in presenza di condizioni favorevoli, preferibilmente a membrane intatte, per ridurre il traumatismo fetale;
- Età gestazionale di 26-32 settimane: sebbene la morbilità materna da taglio cesareo rimanga elevata, la migliore prognosi fetale indirizza verso il TC, a meno che le

condizioni ostetriche e fetali non siano estremamente favorevoli all'espletamento del parto spontaneo;

- Età gestazionale >32 settimane: la prognosi fetale buona e la ridotta morbilità materna da taglio cesareo indirizzano verso il TC.

Una recente review, comprendente 6 studi che hanno coinvolto 122 donne, ha valutato la modalità di parto (cesareo vs vaginale), in casi di parto pretermine e presentazione cefalica e/o di podice; non si è evidenziata alcuna significativa differenza tra l'esecuzione di un immediato taglio cesareo, rispetto al parto vaginale, in termini di danno neonatale e/o asfissia alla nascita, così come non è emersa una differenza significativa nei riguardi di decessi neonatali, punteggio di Apgar alla nascita (5-7 minuti) e/o episodi convulsivi; non sono presenti, però, dati riguardanti il rischio di trasferimento neonatale in terapia intensiva neonatale (TIN) (Alfirevic Z et al. 2012). Il Progetto Obiettivo Materno Infantile ha stabilito che “il trasporto della gravida e del neonato deve essere considerato una componente essenziale di un piano di regionalizzazione delle cure perinatali”. La condotta corretta prevede il “trasferimento in utero”, presso l'Unità di Ostetricia di una struttura dotata di TIN; se il trasferimento non è possibile, per cause di forza maggiore, si dovrà fare in modo che il neonato, alla nascita, riceva la migliore assistenza e che si disponga il suo immediato trasferimento presso una TIN. Il servizio di trasporto di emergenza neonatale deve essere collegato con le reti regionali dell'emergenza/urgenza sanitaria territoriale e l'attività di trasporto deve essere espletata da personale con provata esperienza (TIN).

#### **4 Correlazione tra microbiota orale e parto pretermine**

Attualmente in Italia si registrano ogni anno oltre 800.000 gravidanze, le quali hanno condotto ad un totale di più di 500.000 parti (ISTAT, 2013). Nonostante il progressivo miglioramento della salute perinatale, bisogna evidenziare come ancora un bambino su otto nasca prematuro o con peso inferiore alla norma (Ministero della Salute, 2014). I neonati pretermine sono per definizione immaturi e inevitabilmente più piccoli di coloro giunti al termine fisiologico della gravidanza: questi due fattori contribuiscono ad aumentare il rischio di mortalità e morbosità neonatale. (Yiorgos A et al., 2006)

I cambiamenti fisiologici che hanno luogo nella cavità orale durante la gravidanza sono stati ben documentati in letteratura. Le cellule epiteliali a livello gengivale posseggono dei recettori sia per gli estrogeni che per il progesterone ed elevati livelli di questi ormoni portano ad un aumento significativo della vascolarizzazione, della permeabilità tissutale, della formazione di essudato e della ridotta resistenza del tessuto gengivale stesso. Questi effetti ormonali sembrano anche causare un aumento della mobilità dentaria durante la gravidanza e delle gengiviti, definite appunto gengiviti gravidiche. Durante la gravidanza si assiste ad un aumento della risposta infiammatoria alla placca batterica e l'alterata produzione del collagene porta ad una diminuita capacità da parte dell'organismo di riparare il tessuto gengivale. L'aumento della fragilità del tessuto gengivale fornisce una porta d'ingresso per i batteri che all'inizio invadono localmente il tessuto epiteliale, per poi eventualmente diffondersi per via ematica. Questi microrganismi, tipicamente batteri Gram negativi, possono servire come risorsa di endotossine e lipopolisaccaridi (Barak, 2003). Come conseguenza di questo i livelli dei mediatori dell'infiammazione come le prostaglandine (PGE2) e le citochine (IL-1) aumentano localmente nel fluido gengivale crevicolare e potenzialmente anche a livello sistemico nella donna gravida. Sebbene non sia ancora stato stabilito un processo di causalità diretta, la relazione tra parto

pretermine e malattia parodontale sembra coinvolgere questa aumentata risposta infiammatoria ai batteri. In pazienti parodontalmente sane non sussistono tasche parodontali e la flora batterica presente risulta essere innocua. I problemi insorgono quando c'è una crescita batterica maggiore del normale o quando vi è un cambio nella tipologia delle specie batteriche che occupano questi spazi. Durante la gravidanza si ha una temporanea soppressione delle funzioni immunologiche umorali e cellulo-mediate; in particolare si ha soppressione dei T-helper (Th) 1 e dei T-citotossici (Tc) e una conseguente down regolazione di alcune citochine. Si ha inoltre una up regolazione delle cellule Th-2 ed un aumento dei livelli di IgA, IgG ed IL-1 $\beta$ . Sembra che questi mediatori possano giocare il principale ruolo nella risposta delle pazienti gravide alle comuni infezioni orali. (Offenbacher, 1998).

Prove significative supportano l'esistenza di un'associazione tra batteri patogeni parodontali e parto pretermine. Le proprietà di virulenza assegnate a specifici batteri patogeni orali, ad esempio: *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Filifactor alocis*, *Campylobacter rectus* e altri, li rendono potenziali collaboratori negli esiti avversi della gravidanza. In assenza di adeguata igiene orale, i batteri parodontali si accumulano nel solco gengivale e formano una struttura organizzata chiamata "biofilm batterico". Nei biofilm maturi i batteri possiedono una grossa quantità di fattori di virulenza quali i lipopolisaccaridi (LPS) che causano una distruzione diretta dei tessuti parodontali o stimolano l'ospite ad attivare una risposta infiammatoria locale che, sebbene sia per eliminare l'infezione, può portare ad una successiva perdita delle strutture parodontali. Inoltre i batteri e i loro fattori di virulenza possono entrare nel circolo sanguigno, disseminare in tutto il corpo e scatenare l'induzione di risposte infiammatorie (American Academy of Periodontology, 2006).

La possibilità che queste infezioni materne siano rappresentate da infezioni parodontali, in grado di influenzare negativamente l'esito della nascita, è stata ventilata per la prima volta alla fine degli anni '80 (McGregor et al., 1988). Batteriemie transitorie si verificano spesso in soggetti

con infiammazione delle gengive (Ness e Perkins, 1980) e possono ragionevolmente raggiungere i tessuti placentari, costituendo una spinta infiammatoria all'induzione del travaglio (Offenbacher et al., 1998). Un'interessante osservazione è stata sollevata da Hill, che ha riportato come le colture di liquido amniotico in donne affette da vaginosi contenessero raramente batteri comuni al tratto vaginale; al contrario erano molto più frequentemente riscontrati fusobatteri, che sono costituenti usuali della microflora parodontale (Hill, 1998). Pertanto è stato ipotizzato che i batteri orali siano in grado di raggiungere, attraverso diffusione ematogena, il liquido amniotico, influenzando i tessuti materni fetali e determinando una stimolazione corio amniotica. Agli inizi degli anni '90, Collins e colleghi ipotizzarono che le infezioni orali, come le parodontiti potevano essere una risorsa di batteri e di mediatori dell'infiammazione che potevano disseminare nel corpo umano fino all'unità feto-placentare tramite la circolazione sanguigna e indurre complicanze della gravidanza (Collins, 1994). Sono stati condotti studi su animale in cui a criceti in gravidanza veniva iniettato *Porphyromonas gingivalis*. Da questi lavori si trovò che l'infezione portava allo sviluppo feti più piccoli (all'incirca il 20% di peso in meno rispetto alla norma) e ad un aumento di mediatori dell'infiammazione (TNF alfa e PGE2) nel sito d'infezione e nel liquido amniotico. Un altro studio di León R et al del 2007 ha rilevato la presenza di *Porphyromonas gingivalis* nel liquido amniotico di donne in gravidanza con diagnosi di minaccia di parto prematuro. Sono stati eseguiti un esame parodontale e un prelievo di liquido amniotico e campioni di placca subgengivale su donne identificate come a rischio di parto prematuro. I campioni raccolti dal liquido amniotico e dalle quattro tasche parodontali più profonde in ciascun paziente sono stati raccolti in fluido di trasporto pre-ridotto e coltivati. Sono state incluse ventisei donne con parto prematuro minacciato: otto con rottura prematura delle membrane e 18 con parto pretermine con membrane intatte. Otto donne presentavano gengivite, 12 con parodontite cronica e sei senza malattia parodontale. L'invasione microbica della cavità amniotica rilevata dalla PCR di *P. gingivalis* è stata del 30,8% (otto su 26 pazienti). In questi otto

pazienti, *P. gingivalis* era presente sia nei campioni subgingivali che nel rispettivo campione di liquido amniotico. In conclusione la presenza di invasione microbica della cavità amniotica da parte di *P. gingivalis* potrebbe indicare un ruolo per i batteri patogeni parodontali nelle donne in gravidanza con una diagnosi di minaccia di parto prematuro.

Negli ultimi anni sono stati identificati tre possibili meccanismi secondo i quali l'infezione parodontale e il parto pre-termine sono correlati a:

- Traslocazione di patogeni parodontali all'unità fetoplacentare;
- Azione di LPS parodontali sull'unità fetoplacentare;
- Azione di un serbatoio parodontale di mediatori dell'infiammazione (IL-1, IL-6, TNF alfa, PGE2) sull'unità fetoplacentare (Mc Gaw, 2002; Romero, 2002).

#### **4.1 Traslocazione di patogeni parodontali all'unità fetoplacentare**

Nel 2001, Mitchell-Lewis ed altri studiosi hanno preso in esame la composizione della placca sottogingivale in soggetti che sono andati incontro a parto prematuro o a parto a termine. Sono stati prelevati 4 campioni di placca sottogingivale, uno su ogni primo molare, a 145 dei 164 soggetti inclusi nello studio ed analizzati focalizzando l'attenzione su 12 specie batteriche (*Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros*, *Eubacterium nodatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus intermedius*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*). Sebbene non sia stata riscontrata alcuna differenza negli indici parodontali tra i soggetti con parto prematuro e i soggetti con parto a termine, i due gruppi differivano nella composizione della placca sottogingivale; i soggetti con parto pretermine, mostravano livelli più alti delle specie *Bacteroides forsythus* e *Campylobacter rectus*



e livelli maggiori, anche se statisticamente non significativi, di *Prevotella nigrescens*, *Eikenella corrodens* ed *Eubacterium nodatum*. Da alcuni studi risulta che molti casi di anamnesi positiva per coriameniosite non sono associati ad infezioni attive del tratto urogenitale e le colture hanno esito negativo; nell'analisi istologica delle membrane corioamniotiche infiammate, non si identificano organismi batterici nel 18-49% dei casi (Hillier, 1998). La maggioranza delle specie batteriche associate ad infezione parodontale sono però anaerobie e troverebbero condizioni sfavorevoli, nell'entrare in circolo ed infettare l'unità fetoplacentare (Mc Gaw, 2002).

Madianos et al. (2001) hanno ipotizzato che l'infezione parodontale porti alla diffusione dei microrganismi parodontali. Questi ultimi una volta raggiunta l'unità feto-placentare inducono una risposta materna e/o fetale con conseguente parto prematuro. Gli autori hanno studiato la relazione tra malattia parodontale materna ed esito avverso del parto, prendendo in esame 15 specie dei complessi Rosso ed Arancione, le IgG materne contro tali microrganismi e le IgM fetali (come indice di esposizione fetale a tali microrganismi). Sono stati prelevati 386 campioni di placca materna e 367 campioni di siero materno entro 48 ore dal parto e 339 campioni di siero fetale al momento del parto. Gli autori non hanno evidenziato differenze significative nella prevalenza di patogeni dei complessi Rosso ed Arancione nella placca sottogengivale delle gestanti con parto a termine rispetto alle gestanti con parto pretermine. In generale gli organismi del complesso Rosso erano meno frequenti rispetto agli organismi del complesso Arancione e presenti solo in associazione a quest'ultimi. La sieropositività materna (IgG) era maggiore per gli organismi del complesso Arancione rispetto agli organismi del complesso Rosso. Vi era inoltre la tendenza per le madri con figli nati a termine ad avere una maggior prevalenza di anticorpi sierici per i batteri dei complessi Rosso ed Arancione rispetto alle madri con figli nati pretermine. La sieropositività fetale (IgM) ai patogeni parodontali materni era più alta tra i nati pretermine rispetto ai nati a termine; la prevalenza di sieropositività per uno o più organismi dei complessi Rosso ed Arancione era 2,9 volte maggiore nei nati pretermine rispetto ai nati a

termine. In particolare, il ritrovamento di IgM fetali contro *C. rectus* e *P. intermedia* (complesso Arancione) era maggiore nei nati pretermine con differenze statisticamente significative. La prevalenza di sieropositività tendeva ad essere maggiore (ma statisticamente non significativa) anche per i microrganismi del complesso Rosso, in particolare per *B. forsythus* e *T. denticola*. I patogeni parodontali materni sembrano quindi in grado di presentare una antigenic challenge al feto; questo avverrebbe più frequentemente nelle gravidanze il cui esito è un parto pretermine. Gli autori hanno notato che il modello di sieropositività fetale ai patogeni dei complessi Rosso ed Arancione era opposto a quello visto nel siero materno. Il 63% dei feti sieropositivi possedeva anticorpi per i patogeni del complesso Rosso in assenza di IgM per i patogeni del complesso Arancione; non vi erano invece IgM contro i patogeni del complesso Arancione in assenza di IgM contro i patogeni del complesso Rosso. Questi due dati, secondo gli autori, suggeriscono che i microrganismi materni appartenenti al complesso Rosso procurano la prima esposizione transplacentare al feto; in seguito l'esposizione può essere estesa ai patogeni del complesso Arancione con risultante sieropositività ad entrambi i complessi. L'esposizione fetale ai microrganismi del complesso Rosso, seguita dagli organismi del complesso Arancione, sembra essere associata al parto prematuro. La risposta fetale (IgM) agli organismi del complesso Arancione era presente nel 20% dei feti con madre sieronegativa e solo nell'8% dei feti con madre sieropositiva ad almeno 1 microrganismo del complesso Arancione. La risposta anticorpale materna sembra quindi proteggere il feto dall'esposizione a tali microrganismi. La presenza di microrganismi materni associata alla mancanza di IgG materne porterebbe quindi all'esposizione del feto ai suddetti microrganismi ed a parto prematuro. L'assenza di IgG materne contro i patogeni del complesso Rosso era associata ad un maggior rischio di parto prematuro (OR = 2,2). Anche la sieropositività fetale ad uno o più patogeni del complesso Arancione era associata ad un aumentato rischio di prematurità (OR = 4,3). Gli autori hanno

quindi osservato che il 66,7% delle gestanti che possedevano questi due fattori di rischio mostravano parto prematuro (OR = 10,3).

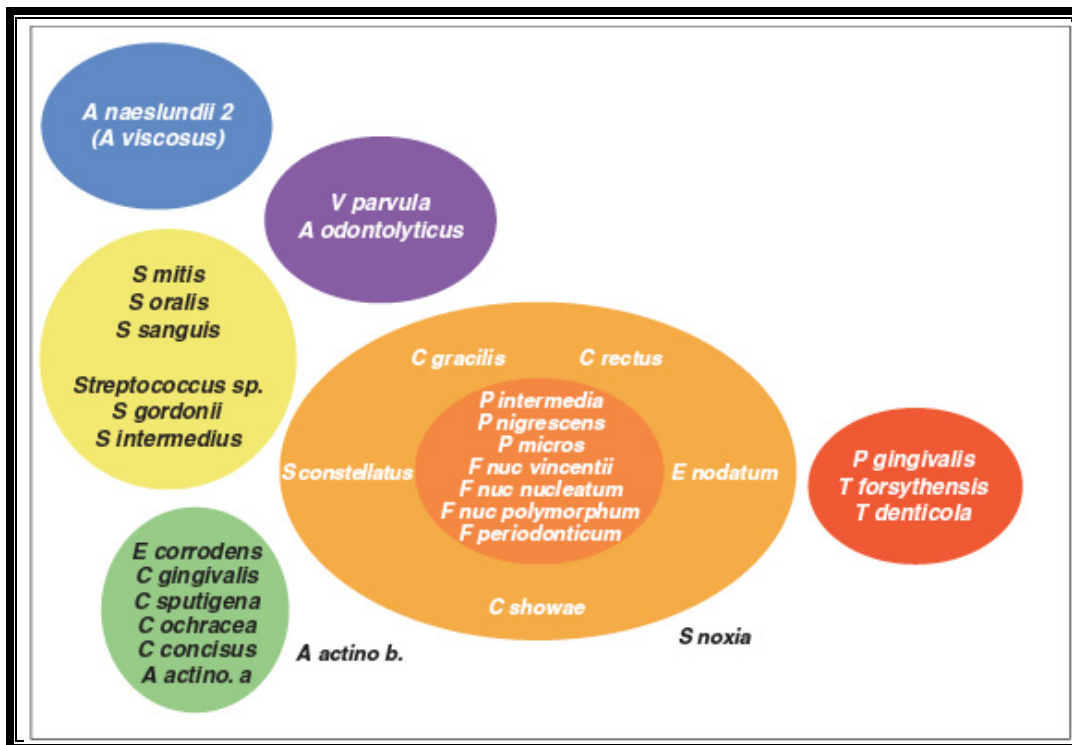


Figura 2. Diagramma di associazione tra specie sottogengivali. (Socransky SS et al. 1998)

È stata poi studiata una popolazione di 181 donne divise in un gruppo controllo, composto da 128 donne con parto a termine, e in un gruppo caso, costituito da 53 donne con parto prematuro (Buduneli et al., 2005). Nei soggetti in studio sono stati prelevati due campioni di placca sottogengivale da un elemento molare ed un incisivo, per la ricerca di 12 specie batteriche, rilevando gli indici parodontali e costruendo una raccolta anamnestica. Sono emerse alcune differenze tra i due gruppi dai campioni di placca sottogengivale:

- I valori medi e la mediana del gruppo controllo delle seguenti specie batteriche era maggiore: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus intermedius*.
- Le seguenti specie erano associate ad una riduzione del rischio di parto prematuro: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Prevotella nigrescens*.

- Le specie che aumentavano il rischio di parto prematuro erano: *Campylobacter rectus* e *Peptostreptococcus micros*. Per le altre specie batteriche in studio non è invece stata riscontrata alcuna differenza (*Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas noxia*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*).

## 4.2 Azione di LPS parodontali sull'unità fetoplacentare

In uno studio del 1992 di Gibbs si è ipotizzato che un'infezione distante dal complesso placentare e dal tratto urogenitale potesse rappresentare un fattore di rischio in quanto legata alla traslocazione di prodotti batterici quali mediatori dell'infiammazione (in particolare IL-1, IL-6, TNF alfa e PGE2) o endotossine (in particolare LPS). Durante il normale processo riproduttivo, i tessuti gestazionali sintetizzano una varietà di mediatori, tra cui citochine e prostaglandine. Il parto, sia pretermine sia a termine, è associato ad un'aumentata produzione di citochine infiammatorie da parte dei tessuti riproduttivi. Nelle corioamniositi, identificate nel 20-33% delle donne con parto prematuro, è stato osservato un aumento di concentrazione di citochine (interleuchine IL-6, IL-8, IL-10 e fattore di necrosi tumorale TNF-alfa) che testimonia un'attivazione patologica della cascata di citochine. In particolare, è stato dimostrato che i prodotti batterici come i LPS, riscontrabili nel fluido amniotico di donne con corioamniosite, aumentano la produzione di interleuchine da parte dell'amnio, del corion e delle cellule della decidua (Griesinger et al. 2001). Un'aumentata produzione di questi mediatori, dovuta alla presenza di infezioni, può indurre il parto portando a nascita pretermine e basso peso alla nascita. Alcuni studiosi hanno postulato che alcune molecole biologicamente attive quali PGE2 ed TNF alfa, possono raggiungere concentrazioni molto elevate a causa dei processi infettivi e mantenute tali per una costante fonte di batteri e componenti batteriche (quali LPS e molecole modulatorie della risposta immune) provenienti dall'infezione parodontale (Mc Gaw, 2002). A supporto di

questa teoria, vi è la prova che molti casi di corioamniosite sono associate a colture negative (Hillier, 1998); questo indica che non è necessaria un'infezione batterica locale per raggiungere quei livelli ematici dei mediatori dell'infiammazione tali da indurre il parto, ma che sia sufficiente un'azione indiretta dei prodotti batterici (es. endotossine) trasportati a distanza. Altri studi mostrano (Romero, 1988) che le endotossine, in particolare le LPS, possono stimolare la produzione di prostaglandine da parte del corioamnio e della placenta; inoltre, in molti casi di parto prematuro, sono state misurate alte concentrazioni di LPS nel liquido amniotico. Pertanto è possibile ipotizzare che i batteri responsabili dell'infezione parodontale, rappresentino una riserva continua di LPS che potrebbero influenzare l'esito del parto. Secondo Dörtbudak et al. (2004) le infezioni parodontali sarebbero un fattore di rischio per il parto prematuro e agirebbero secondo due meccanismi:

1. La produzione di citochine a livello delle tasche gengivali causata dall'infezione parodontale porterebbe ad elevati livelli di queste citochine nel siero che potrebbero quindi essere presenti nel liquido amniotico;
2. I LPS dei patogeni parodontali potrebbero indurre il rilascio di TNF alfa ed IL-1 da parte della placenta.

In questo studio è stato valutato pertanto se esiste un'associazione tra la presenza di citochine nel fluido amniotico e l'infezione parodontale negli stadi iniziali della gravidanza, se l'infezione parodontale è associata ad un maggior rischio di parto prematuro in una popolazione a rischio, analizzando l'eventuale associazione tra la conta batterica nelle tasche parodontali e la presenza di citochine nel fluido amniotico. Sono state studiate 36 donne tra la 15° e la 20° settimana di età gestazionale; a tutti i soggetti sono stati prelevati uno striscio batterico vaginale per valutare la presenza di un'eventuale infezione batterica ascendente e un campione di liquido amniotico per la ricerca di citochine e batteri parodontali. A livello orale è stato prelevato un campione di placca sottogengivale nei due siti con profondità di sondaggio maggiore e sono state fatte le

rilevazioni parodontali quali profondità di tasca e sanguinamento al sondaggio. I soggetti venivano considerati affetti da parodontite sulla base di dati clinici e microbiologici. Per la diagnosi era necessaria la presenza di almeno un sito per quadrante con profondità di sondaggio maggiore o uguale a 5 mm e livelli di patogeni dei complessi Rosso ed Arancione maggiori di 60 CFU nei campioni di placca prelevati nei due siti con profondità al sondaggio maggiore. Gli autori hanno evidenziato alcune differenze tra il gruppo dei soggetti con parto a termine ed il gruppo dei soggetti con parto pretermine. Nel gruppo controllo, la prevalenza di parodontite era del 20%, significativamente inferiore al gruppo caso dove la prevalenza raggiungeva i 5/6 della popolazione (83%). Anche la profondità di sondaggio era significativamente minore nel gruppo caso. Il rischio di parto prematuro in un soggetto con parodontite rispetto ad un soggetto del gruppo controllo era 20 volte maggiore. I campioni di placca sottogengivale mostravano che la proporzione dei patogeni parodontali era significativamente maggiore nel gruppo caso (OR=32,5). Gli autori analizzando il fluido amniotico hanno evidenziano livelli di IL-8 maggiori nel gruppo controllo e livelli delle citochine IL-6 e PGE2 significativamente maggiori nel gruppo caso. I livelli di IL-6 e PGE2 erano inoltre maggiori nei soggetti con diagnosi di parodontite rispetto ai soggetti con parodonto sano (1,8 e 1,5 volte rispettivamente). Inoltre, c'era un'associazione tra i livelli di IL-6 e PGE2 nel liquido amniotico ed i valori di CFU dei campioni di placca sottogengivale; considerando il valore soglia di 60 CFU, i livelli di queste citochine erano significativamente maggiori nel gruppo con CFU>60 rispetto al gruppo CFU<60. Nessuna differenza era stata invece riscontrata nei livelli di TNF-alfa, IL-1, IL-4, IL-10 ed INF-gamma tra gruppo caso e controllo.

### 4.3 Azione di un serbatoio parodontale di mediatori dell'infiammazione sull'unità feto placentare.

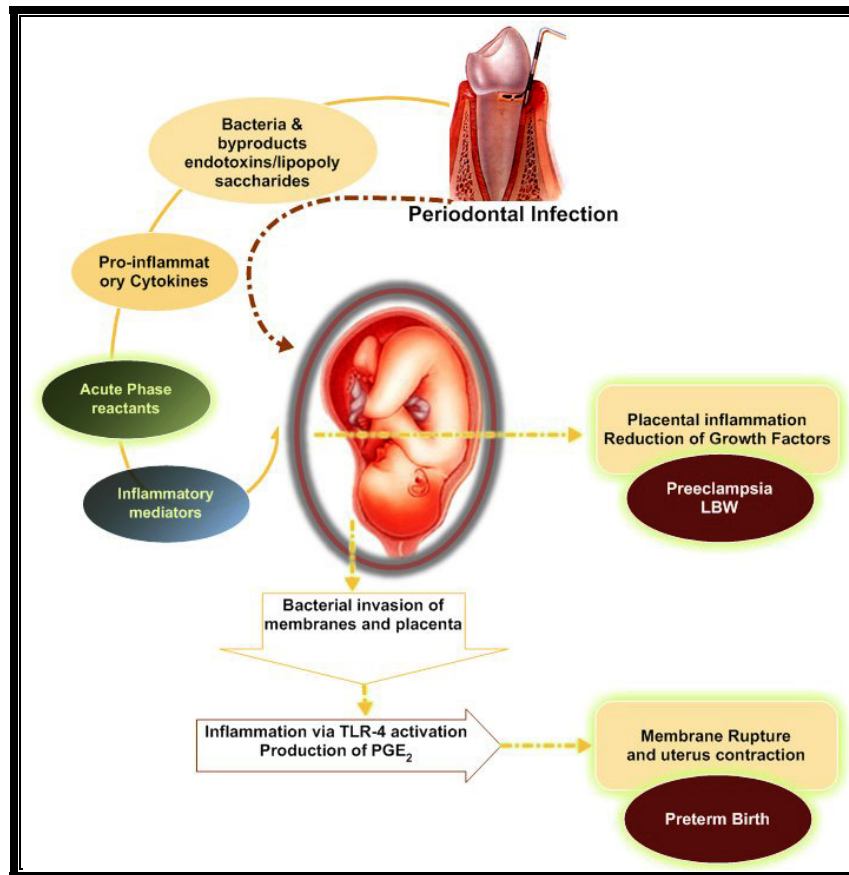


Figura 3. Possibile meccanismo biologico che lega la malattia parodontale alle complicazioni durante la gravidanza (Fonte: Sukumaran Anil et al. 2015).

Le citochine proinfiammatorie IL-1, IL-6 e TNF-alfa stimolano la sintesi, da parte della placenta e del corionio, di PGE<sub>2</sub> (Romero, 1988; Romeo, 1989). Altri studi dimostrano inoltre che le donne con parto prematuro hanno nel liquido amniotico livelli di citochine più alti rispetto ai soggetti con parto a termine (Romero, 1993). Questi mediatori possono attraversare le membrane fetali ed è quindi possibile che alte concentrazioni di citochine prodotte nei siti di infezione parodontale, possano influenzare l'unità fetoplacentare e contribuire al parto prematuro (Page 1991; Page, 1998; Loos, 2000). Offenbacher et al. (1998) hanno evidenziato una relazione tra i livelli di PGE<sub>2</sub> nel fluido crevicolare e l'esito del parto. Gli autori hanno misurato i livelli di PGE<sub>2</sub>, di IL-1 e di quattro patogeni parodontali (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas*

*gingivalis*, *Treponema denticola* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*) nel fluido crevicolare di 48 donne con parto prematuro. I livelli dei patogeni studiati erano significativamente maggiori in questo gruppo. Le donne con parto prematuro mostravano livelli significativamente più alti di PGE2 rispetto alle donne con parto a termine. È stata inoltre osservata un'associazione inversa tra peso alla nascita, età gestazionale e livelli di PGE2 nel fluido crevicolare, che suggerivano una relazione di tipo dose-effetto tra i livelli di PGE2 e parto prematuro. Questo suggerisce che un aumento di PGE2 nel fluido crevicolare possa essere considerato un marker di attività dell'infezione parodontale e di ridotto peso alla nascita. Damare et al. (1997) hanno indicato che i livelli intramniotici di molti mediatori dell'infiammazione, come la PGE2, aumentano durante la gravidanza e raggiungono il massimo livello al momento del parto, giocando un ruolo importante nel parto fisiologico. Secondo gli autori i livelli di PGE2 nel fluido crevicolare gengivale sono correlati ai livelli amniotici di PGE2 e possono essere utilizzati per stimare il rischio di parto pretermine. Nonostante gli sforzi effettuati per ridurre gli effetti dei fattori di rischio noti attraverso interventi preventivi durante le cure prenatali, la frequenza di parto prematuro nelle ultime due decadi non è cambiata. Circa il 25% dei casi di parto pretermine avvengono in assenza di fattori di rischio noti; questi dati hanno indotto la comunità. Dati epidemiologici, studi sperimentali su animali e documentazioni riguardo la risposta del feto e della madre ai batteri parodontali sembrano supportare la correlazione tra infezione parodontale e parto. È pertanto importante valutare un eventuale collegamento tra batteri parodontali patogeni e il parto pretermine così come un possibile intervento che potrebbe aiutare a ridurre la percentuale di parto pretermine e di nascite di neonati sottopeso.

#### **4.4 Gli effetti della terapia parodontale sugli esiti della gravidanza**

Studi clinici controllati randomizzati hanno testato gli effetti della terapia parodontale sugli esiti avversi della gravidanza dimostrando che il ridimensionamento e la pianificazione delle radici



possono ridurre il rischio di nascite pretermine in madri infette da parodontite. (Joesoef et al., 1995; Mercer et al., 1997; López, 2007). L'intervento parodontale ha determinato un'incidenza significativamente ridotta per il parto pretermine portando a miglioramenti dello stato clinico (livello di attacco, profondità di sondaggio, placca, sanguinamento) e significative riduzioni dei livelli di *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia*. È stato dimostrato un significativo effetto positivo del trattamento parodontale non chirurgico dello stato parodontale e il suo impatto benefico sugli esiti della gravidanza nelle donne con diagnosi di gengivite e parodontite. (Tarannum et al., 2007). Inoltre, è opportuno ricercare il momento opportuno per fornire il trattamento parodontale e applicare i risultati alle donne in gravidanza in modo da garantire un parto sicuro e di successo. (López, 2007).

## 5 CONCLUSIONI

Prove significative supportano un'associazione tra la diffusione di batteri patogeni associati a patologie del cavo orale e eventi sistemici. Le caratteristiche di virulenza associate a specifici batteri patogeni del cavo orale, come ad esempio *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *F. alocis*, *C. rectus* e altri, rendono questi microrganismi dei potenziali cofattori nell'insorgenza degli esiti avversi durante la gravidanza. La plausibilità biologica dell'associazione tra il microbiota orale e l'impatto sistemico dei mediatori infiammatori sull'insorgenza del parto pretermine probabilmente coinvolge diversi percorsi come: la diffusione ematogena (batteriemia) di agenti patogeni parodontali e la diffusione ematogena di molteplici mediatori dell'infiammazione che sono generati dall'ospite e/o dalla risposta immunitaria fetale ai batteri patogeni. Le comunità di salute pubblica medica e dentale dovrebbero affrontare le strategie di intervento volte a controllare la malattia infiammatoria orale, che ridurrà il carico infiammatorio sistemico e sopprimerà il potenziale per esiti avversi della gravidanza.

## 6 BIBLIOGRAFIA

1. A.C.R. Tanner 1,2, C.A. Kresser 1,2, S. Rothmiller 3i. Johansson, and N.I. 2. AAP Academy report. Epidemiology of periodontal diseases. *J Periodontol* 2005;76:1406-1419.
2. Aguayo S, Schuh CMAP, Vicente B, Aguayo LG.J Alzheimers Dis. Association between Alzheimer's Disease and Oral and Gut Microbiota: Are Pore Forming Proteins the Missing Link? 2018;65(1):29-46.
3. Alfirevic Z et al. Cilesilrean section versus vaginal delivery for preterm birth in singletons. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 13;6:CD000078.
4. Atarashi K, Suda W, Luo C, Kawaguchi T, Motoo I, Narushima S, Kiguchi Y, Yasuma K, Watanabe E, Tanoue T. Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science*. 2017;358(6361):359–365.
5. Baumgart M, Dogan B, Rishniw M, Weitzman G, Bosworth B, Yantiss R, Orsi RH, Wiedmann M, McDonough P, Kim SG, et al. Culture independent analysis of ileal mucosa reveals a selective increase in invasive *Escherichia coli* of novel phylogeny relative to depletion of Clostridiales in Crohn's disease involving the ileum. *ISME J*. 2007;1:403–418.
6. Berkowitz GS, Papiernik E. Epidemiology of preterm birth. *Epidemiol Rev* 1993;15:414-43.
7. Bhagwat AR, Engel PJ. Heart disease and pregnancy. *Cardiol Clin* 1995;13:163-78.
8. Bianchon L et al. Rupture of membranes: pathophysiology, diagnosis, consequences and management. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2013;42:105-16.

9. Branch DW. Physiologic adaptations of pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1992;28:120-2.
10. Bunduneli N, Baylas H, Bunduneli E, Türkoglu O, Köse T, Dahlen G. Periodontal infections and pre-term low birth weight: a case-control study. *J Clin Periodontol* 2005; 32:174-181.
11. Butler RR, Soomer-James JT, Frenette M, Pombert JF (2017) Complete genome sequences of two human oral microbiome commensals: *Streptococcus salivarius* ATCC 25975 and *S. salivarius* ATCC 27945. *Genome Announc* 5(24):e00536-17
12. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease: a two-way relationship. *Br Dent J.* 2014 Oct;217(8):433-7.
13. Casarin RC, Barbagallo A, Meulman T, Santos VR, Sallum EA, Nociti FH, Duarte PM, Casati MZ, Gonçalves RB. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013;48(1):30–36.
14. Cassels FJ, Hughes CV, Nauss JL. Adhesin Receptors of Human Oral Bacteria and Modeling of Putative Adhesin-Binding Domains. *J Ind Microbiol Sep* 1995; 15 (3), 176-85.
15. Chalmers. *The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis.* First Published January 22, 2018.
16. Charles M Cobb , Patricia J Kelly , Karen B Williams , Shilpa Babbar , Mubashir Angolkar , Richard J Derman. The oral microbiome and adverse pregnancy outcomes. *Int J Womens Health.* 2017; 9: 551–559.
17. Clapp JF 3rd, Capeless E. Cardiovascular function before, during, and after the first and subsequent pregnancies. *Am J Cardiol* 1997;80:1469-73.

18. Collins JG, Smith MA, Arnold RR, Offenbacher S. Effects of *Escherichia coli* and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide on pregnancy outcome in the golden hamsters. *Infect Immun* 1994; 62(10):4652-5.
19. Crowther CA et al.; PRECISE Study Group. Repeat prenatal corticosteroid prior to preterm birth: a systematic review and individual participant data meta-analysis for the PRESTIGE study group (prenatal repeat corticosteroid international IPD study group: assessing the effects using the best level of evidence)- study protocol. *Syst Rev* 2012; Feb 12;1:12.
20. Damare SM, Wells S, Offenbacher S. Eicosanoids in periodontal diseases: Potential for systemic involvement. *Adv Exp Med Biol* 1997;433:23-35.
21. Davidson JM. Renal disorders in pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001;13:109-14.
22. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, et al. The Human Oral Microbiome. *2010; 192 : 5002–5017.*
23. Di Renzo GC et al. The changing role of progesterone in preterm. *BJOG* 2005; 112: 57
24. Dörtbudak O, Eberhardt R, Ulm M, Persson GR. Periodontitis, a marker of risk in pregnancy for preterm birth. *Journal of Clinical Periodontology* 2005; 32:45-52.
25. Duvekot JJ, Peeters LLH. Renal hemodynamics and volume homeostasis in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 1994;49:830-9.
26. Fiona Q. Bui, Cassio Luiz Coutinho Almeida-da-Silva, Brandon Huynh, Alston Trinh, Jessica Liu, Jacob Woodward, Homer Asadi, and David M. Ojcius: Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed J.* 2019 Feb; 42(1): 27–35.
27. Ford AC, Moayyedi P, Hanauer SB. Ulcerative colitis. *BMJ.* 2013;346:f432.
28. Ford PJ, Gemmell E, Chan A, Carter CL, Walker PJ, Bird PS, et al. (2006). Inflammation, heat shock proteins and periodontal pathogens in atherosclerosis: an immunohistologic study. *Oral Microbiol Immunol* 21:206-211.

29. Ford PJ, Gemmell E, Hamlet SM, Hasan A, Walker PJ, West MJ, et al. (2005). Cross-reactivity of GroEL antibodies with human heat shock protein 60 and quantification of pathogens in atherosclerosis. *Oral Microbiol Immunol* 20:296-302.
30. Gazolla CM, Ribeiro A, Moysés MR, Oliveira LA, Pereira LJ, Sallum AW. Evaluation of the incidence of preterm low birth weight in patients undergoing periodontal therapy. *J Periodontol*. 2007;78(5):842–8.
31. Gentschew L, Ferguson LR. Role of nutrition and microbiota in susceptibility to inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56:524–535.
32. Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, Eschenbach DA, Sweet RL. A review of premature birth and subclinical infections. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166(5):1515-28.
33. Glinoe D, de Nayer P, Bourdoux P, Lemone M, Robyn C, van Steirteghem A, et al. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:276-87.
34. Goldenberg RL et al. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000; 18:1500-6.
35. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* 2008;371:75-84.
36. Gomes-Filho IS, de Oliveira TF, da Cruz SS, Passos-Soares Jde S., Trindade SC, Oliveira MT Influenza della parodontite nello sviluppo della polmonite nosocomiale: uno studio caso-controllo. *J Periodontol*. 2014; 85 : e82 – e90.
37. Goodson JM, Groppo D, Halem S, Carpino E. Is obesity an oral bacterial disease? *J Dent Res*. 2009;88(6):519–523.
38. Goya M et al. Cervical pessary in pregnant women cervix (PECEP): an open-label randomised control- led trial. *Lancet* 20 12;379: 1800-6.

39. Griesinger G, Saleh L, Bauer S, Husslein P, Knöffler M. Production of pro- and anti-inflammatory cytokines of human placental trophoblasts in response to pathogenic bacteria. *J Soc Gynecol Investig* 2001; 8:334-40.
40. Haas DM et al. Tocolytic therapy for preterm delivery: systematic review and network meta-analysis. *BMJ* 2012;9:345.
41. Haffajee, A.D & Socransky S.S ,1994. Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. *Periodontology* 2000 5, 78-111.
42. Han YW, Wang X. Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation..*J Dent Res.* 2013 Jun;92(6):485-91.
43. Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ. (2000). Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol* 71:1554-1560.
44. Hardie JM, Bowden GH. 1976. Physiological classification of oral viridans streptococci. *J Dent Res* 55:A166–A176.
45. Haroon A et al. Short term neonatal/ out come in late preterm IJS. term infants. *J Coli Physicians Surg Pak* 20 14;24:34-8.
46. Heilmann L, von Tempelhoff GF, Pollow K. Antiphospholipid syndrome in obstetrics. *Clin Appl Thromb Hemost* 2003;9:143-50.
47. Heo SM, Sung RS, Scannapieco FA, Haase EM Rapporti genetici tra ceppi di *Candida albicans* isolati da placca dentale, trachea e liquido di lavaggio broncoalveolare da pazienti di terapia intensiva ventilati meccanicamente. *J Oral Microbiol.* 2011; 3 : 6362.
48. Hill, G.B. (1998). Preterm birth: associations with genital and possibly oral microflora. *Annals of Periodontology* 3, 222-232.
49. Hillier SL, Martius J, Krohn M, Kiviat N, Holmes KK, Eschenbach DA. A case-control study of chorioamnionitis infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med* 1998; 319(15):972-8.

50. Horton AL, Boggess KA. Periodontal disease and preterm birth. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2012;39:17-23.
51. Howson CP, Kinney MV, Lawn J. March of Dimes, PMNCH, Save the Children, WHO; 2012. *Born Too Soon: the global action report on preterm birth*.
52. Iliodromiti Z et al. Endocrine, paracrine and autocrine placenta! mediators in labor. *Hormones* 2012;11 :397-409.
53. ISTAT. *Bilancio demografico nazionale 2013*.
54. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang. *Parodontologia clinica e odontoiatria implantare*. 2008.
55. Joesoef MR, Hillier SL, Wiknjosastro G, Sumampouw H, Linnan M, Norojono W, et al. Intravaginal clindamycin treatment for bacterial vaginosis: Effects on preterm delivery and low birth weight. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;173(5):1527–31.
56. Jose FA, Heyman MB. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;46:124–133.
57. Kamath-Rayne BD, DeFranco EA, Marcone MP. Antenatal steroids for treatment of fetal lung immaturity after 34 weeks of gestation: an evaluation of neonatal outcomes. *Obstet Gynecol* 2012;5 :909-16.
58. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474:307–317.
59. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. *Nat Rev Dis Primers*. Periodontal diseases. 2017 Jun 22;3:17038.
60. Koch KL. Gastrointestinal factors in nausea and vomiting of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2002;185:s198-203.



61. Le Bars P, Matamoros S, Montassier E, Le Vacon F, Potel G, Soueidan A, Jordana F, de La Cochetière MF. Can .The oral cavity microbiota: between health, oral disease, and cancers of the aerodigestive tract. *Microbiol.* 2017 Jun;63(6):475-492.
62. Leitich H. Secondary predictors of preterm labour. *BJOG* 2005; 113:48-50.
63. Leon R, Silva N, Ovalle A, et al. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in the amniotic fluid in pregnant women with a diagnosis of threatened premature labor. *J Periodontol.* 2007;78(7):1764–1770.
64. Lindheim L, Bashir M, Münzker J, Trummer C, Zachhuber V, Pieber TR, Gorkiewicz G, Obermayer-Pietsch B. The salivary microbiome in polycystic ovary syndrome (PCOS) and its association with disease-related parameters: a pilot study. *Front Microbiol.* 2016;7:1270.
65. Løe H, Theilade, E & Jensen, S.B. (1965). Experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontology* 36, 177-187.
66. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 2000; 71(10):1528- 34.
67. López NJ, Da Silva I, Ipinza J, Gutiérrez J. Periodontal therapy reduces the rate of preterm low birth weight in women with pregnancy-associated gingivitis. *J Periodontol.* 2005;76(11 Suppl):2144–53.
68. López R. Periodontal treatment in pregnant women improves periodontal disease but does not alter rates of preterm birth. *Evid Based Dent.* 2007;8(2):38.
69. Lu Gao, Tiansong Xu, Gang Huang, Song Jiang, Yan Gu, and Feng Chen. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell.* 2018 May; 9(5): 488–500.

70. Lucas López R, Grande Burgos MJ, Gálvez A, Pérez Pulido R. The human gastrointestinal tract and oral microbiota in inflammatory bowel disease: a state of the science review. *Apmis*. 2017;125(1):3–10.
71. Mackeen AD et al. Tocolytics for preterm premature rupture of membranes. *Cokrane Database* 2011 II Oct 5;(10):CD007062.
72. Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Clin Periodontol*. 2013;40(s14):181–194.
73. Madianos PN, Lieff S, Murtha AP, Bogges KA, Auten RL Jr., Beck JD, Offenbacher S. Maternal periodontitis and prematurity. Part II: maternal infection and fetal exposure. *Ann Periodontol* 2001; 6(1):175-182.
74. McGregor, J.A, French, J.I, Lawellin, D. & Todd, J.K. Preterm birth and infection: pathogenic possibilities. *American Journal of Reproductive Immunology*.(1988) 16, 123.132
75. Mercer BM, Miodovnik M, Thurnau GR, Goldenberg RL, Das AF, Ramsey RD, et al. Antibiotic therapy for reduction of infant morbidity after preterm premature rupture of the membranes. A randomized controlled trial. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *JAMA*. 1997;278(12):989–95.
76. Ministero della salute. Raccomandazioni per la promozione della salute orale in età perinatale. 2014.
77. Mitchell-Lewis D, Engebretson SP, Chen J, Lamster IB, Papapanou PN. Periodontal infections and pre-term birth: early findings from a cohort of young minority women in New York. *Eur J Oral Sci* 2001; 109:34-39.
78. Morken NH et al. Outcomes of preterm childbirth according to type of delivery onset: the nationwide population. *Pediatr Perinat Epidemiol* 2007;21 :458-64.

79. Muhuri PK et al. Method of delivery and neonatal mortality among very low birth weight infants in the United States. *Matern Child Health J* 2006 Jan;10(1):47-53.
80. Nagy KN, Sonkodi I, Szöke I, Nagy E, Newman HN. The microflora associated with human oral carcinomas. *Oral Oncol* Jul 1998 34 (4), 304-8.
81. Ness, P.M & Perkins, H.A. Transient bacteremia after dental procedures and other minor manipulations. *Transfusion* (1980) 20:82-85.
82. O'Day MP. Cardio-respiratory physiological adaptation of pregnancy. *Semin Perinatol* 1997;21:268-75.
83. Offenbacher, S., Jared, H.L, O'Reilly, P.G., Wells, S.R, Salvi, G.E, Lawrence, H.P, Socransky, S.S & Beck, J.D (1998) Potential pathogenic mechanisms of periodontitis associated pregnancy complications. *Annals Periodontology*, 233-250
84. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Ann Periodontol* 1998; 3(1):108-20. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1991; 26(3Pt2):230-42
85. Parihar AS, Katoch V, Rajguru SN, et al. Periodontal disease: a possible risk factor for adverse pregnancy outcome. *J Int Oral Health*. 2015;7(7):137–142.
86. Petraglia F et al. Inflammation: a link between endometriosis and preterm birth. *Fertil Steril* 2012;98:36-40.
87. Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, Núñez G. Gut microbiota: role in pathogen colonization, immune responses and inflammatory disease. *Immunol Rev*. 2017;279:70–89.
88. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: A public health perspective. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep*. 1996;45(RR-7):1–24.

89. Quinn JA, Munoz FM, Gonik B, Frau L, Cutland C, Mallett-Moore T, Kissou A, Wittke F, Das M, Nunes T, Pye S, Watson W, Ramos AA, Cordero JF, Huang WT, Kochhar S, BATTERY J; Brighton Collaboration Preterm Birth Working Group. Preterm birth: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunisation safety data. *Vaccine* 2016;34:6047-56.
90. Radford-Smith G, Pandeya N. Associations between NOD2/CARD15 genotype and phenotype in Crohn's disease—are we there yet? *World J Gastroenterol.* 2006;12:7097–7103.
91. Romero R et al. Vaginal progesterone in women with an asymptomatic sonographic short cervix in the midtrimester decreases preterm delivery and neonatal morbidity: a systematic review and metaanalysis of individual patient data; *Am J Obstet Gynecol* 2012 Feb;206(2): 124.e1-19.
92. Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Kalache K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Semin Neonatol* 2002; 7:259-274.
93. Roulis E., Polkinghorne A., Timms P. *Chlamydia pneumoniae* : intuizioni moderne su un antico patogeno. *Trends Microbiol.* 2013; 21 : 120–128.
94. Sadatmansouri S, Sedighpoor N, Aghaloo M. Effects of periodontal treatment phase I on birth term and birth weight. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2006;24(1):23–6.
95. Saftlas AF, Olson DR, Franks AL, Atrash H, Pokras R. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:460-5.
96. Said HS, Suda W, Nakagome S, Chinen H, Oshima K, Kim S, Kimura R, Iraha A, Ishida H, Fujita J, et al. Dysbiosis of salivary microbiota in inflammatory bowel disease and its association with oral immunological biomarkers. *DNA Res.* 2014;21:15–25.

97. Saurel-Cubizolles MJ, Zeitlin J, Lelong N, Papiernik E, Di Renzo GC, Bréart G; Europop Group. Employment, working conditions, and preterm birth: results from the Europop case-control survey. *J Epidemiol Community Health* 2004;58:395-401.
98. Smith V et al. A systematic review and quality assessment systematic reviews of randomised trials of interventions for preventing and treating preterm birth. *J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 142:3-11.
99. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, et al. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-144.
100. Son M, Miller ES. Predicting preterm birth: Cervical length and fetal fibronectin. *Semin Perinatol* 2017;41:445-51.
101. Sukumaran Anil, Raed M. Alrowis, Elna P. Chalisserry, Vemina P. Chalissery, Hani S. AlMoharib and Asala F. Al-Sulaimani; Oral Health and Adverse Pregnancy Outcomes, March 11th 2015 137.
102. Suresh L, Radfar L. Pregnancy and lactation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97:672-82.
103. Tarannum F, Faizuddin M. Effect of periodontal therapy on pregnancy outcome in women affected by periodontitis. *J Periodontol.* 2007;78(11):2095–103.
104. Verma D et al. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol.* May 2018;525-54.
105. Voltolini C, Torricelli M, Comi N, Vellucci FL, Severi FM, Petraglia F. Understanding spontaneous preterm birth: from underlying mechanism to predictive and preventive interventions. *Reprod Sci* 2013 Nov;20(11): 1274-92.
106. Wei-Hsiang Lee, Hui-Mei Chen, Shun-Fa Yang, et al. Bacterial Alterations in Salivary Microbiota and Their Association in Oral Cancer. *Sci Rep* 2017 Nov 28, 7 (1), 16540.

107. Weiss G. Endocrinology of parturition. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4421-5.
108. Yiorgos A, Bobetsis, Barros SP, Offenbacher S. Exploring the relationship between periodontal disease and pregnancy complications. *JAMA* 2006; 137 (10 supplement):7S-13S.
109. Yudin MH et al. Antibiotic therapy in preterm premature rupture of the membranes. *J Obstet Gynaecol Can* 2009; 31:863-7.