

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/03/2028.



UNESP – Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Maurício Gandini Giani Martelli

Avaliação longitudinal da expressão de TGF- β 1 na regulação do Diabetes Mellitus tipo 2 após terapia periodontal

Araraquara

2024



UNESP – Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Maurício Gandini Giani Martelli

Avaliação longitudinal da expressão de TGF- β 1 na regulação do Diabetes Mellitus tipo 2 após terapia periodontal

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na Área de Periodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel-Caminaga

Coorientadora: Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico

Araraquara

2024

M376a	<p>Martelli, Maurício Gandini Giani</p> <p>Avaliação longitudinal da expressão de TGF-B1 na regulação do Diabetes Mellitus tipo 2 após terapia periodontal / Maurício Gandini Giani Martelli. -- Araraquara, 2024</p> <p>75 f. : il., tabs., fotos</p> <p>Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara</p> <p>Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga</p> <p>Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Silvana Regina Perez Orrico</p> <p>1. Diabetes Mellitus. 2. Periodontite. 3. Terapêutica. 4. Expressão Gênica. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Maurício Gandini Giani Martelli

Avaliação longitudinal da expressão de TGF- β 1 na regulação do Diabetes Mellitus tipo 2 após terapia periodontal

Comissão Julgadora

Dissertação apresentada à banca para obtenção do título de Mestre em Odontologia com área de concentração em Periodontia

Presidente e Orientadora: Prof^a. Dr^a. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga

2º Examinador: Prof^a. Dr^a Morgana Rodrigues Guimarães Stabili

3º Examinador: Prof^a Dr^a Andrea Márcia Marcaccini

Araraquara, 28 de março de 2024

DADOS CURRICULARES

Maurício Gandini Giani Martelli

NASCIMENTO: 11 de janeiro de 1995. Araraquara, São Paulo, Brasil.

FILIAÇÃO: José Alberto Martelli Filho e Carla Gandini Giani Martelli.

2010-2012 – Ensino Médio pelo Colégio COC Matão. Matão, São Paulo, Brasil;

2015-2019 – Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr-UNESP). Araraquara, São Paulo, Brasil.

2021-2023 – Especialização em Implantodontia pela Faculdade São Leopoldo Mandic. Campinas, São Paulo, Brasil.

2022-atual – Mestrando em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr-UNESP). Araraquara, São Paulo, Brasil.

AGRADECIMENTOS

À **minha família**, que sempre foi meu alicerce e orientou toda a minha trajetória até aqui. Agradeço todo o carinho, toda a atenção, toda a condição que vocês me proporcionaram e, principalmente, todo o exemplo que me foi passado. Sempre me espelhei em vocês, e foi assim que consegui alcançar meus objetivos: tentando ser a pessoa dedicada que eu sempre os vi sendo. Agradeço cada incentivo, por acreditarem na minha capacidade e por sempre estarem caminhando ao meu lado.

À minha orientadora, **Prof^a. Dr^a. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga**, agradeço pela oportunidade de ser orientado e pelo aprendizado que recebi. Acredito ter sorte de poder compartilhar minha trajetória com essa exímia profissional. Deixo aqui meu reconhecimento pela enorme contribuição para a realização dessa conquista.

À **Laura**, por estar comigo durante todos os momentos dessa jornada, e pelo apoio nos dias mais difíceis.

Aos meus colegas da pós-graduação por toda a experiência compartilhada e pela contribuição direta e indireta para a realização deste projeto.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, ao corpo docente, aos funcionários e aos pacientes da instituição**, que proporcionaram um ambiente próspero para aquisição de mais conhecimentos e aprendizados. Que esta universidade continue formando profissionais da saúde com responsabilidade e comprometimento, para que eles possam transformar o mundo.

À CAPES: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2020/12788-5) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Martelli MGG. Avaliação longitudinal da expressão de TGF- β 1 na regulação do Diabetes Mellitus tipo 2 após terapia periodontal [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

RESUMO

Apesar das crescentes evidências da presença concomitante de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) e Periodontite (P), a forma como atuam e interagem os diferentes mecanismos e as moléculas efetoras de cada patologia, carecem de mais estudos. Dentre essas moléculas está o Fator Transformador do Crescimento Beta 1 (TGF- β 1), que participa da via de sinalização da glicose e de mecanismos que evoluem para comorbidades do DM2. Entretanto, não se conhece como DM2 e P influenciariam os níveis de TGF- β 1, nem como seriam modificados pelo tratamento periodontal. O objetivo geral deste estudo clínico não randomizado longitudinal é realizar a avaliação da expressão gênica e proteica de TGF- β 1 na regulação do DM2 na presença ou não de P, antes e após a terapia periodontal. Foram investigados 156 indivíduos, distribuídos nos grupos: DM2_descompensado+P; DM2_compensado+P; DM2_sem_P; Periodontite e Controle. Cada participante teve seu perfil glicêmico, lipídico e periodontal examinado antes (tempo zero), e depois (90 e 180 dias) de finalizado o tratamento periodontal. Os pacientes dos grupos Periodontite e DM2+P receberam tratamento periodontal não cirúrgico/cirúrgico, e os indivíduos dos grupos Controle e DM2_sem_P receberam profilaxia e reforço da instrução de higiene oral. De acordo com a indicação cirúrgica, foi coletado um fragmento de tecido gengival e realizada a avaliação da imunolocalização do TGF- β 1 (níveis traducionais) por imunohistoquímica. Foi avaliada a expressão gênica (níveis transcricionais) da molécula a partir de leucócitos, e proteica a partir do fluido sulcular gengival (FSG) dos pacientes. Os resultados revelaram que os parâmetros clínicos periodontais melhoraram nos grupos contendo indivíduos com Periodontite após 90 e 180 dias de finalizado o tratamento periodontal. Quanto à expressão sistêmica do gene *TGFB1*, após 90 dias, todos os grupos apresentaram maior expressão sistêmica do gene *TGFB1*, exceto o grupo DM2_descompensado/compensado_sem_P. Esses grupos também apresentaram menor expressão da proteína TGF- β 1 no FSG, tanto no início quanto no acompanhamento. Notou-se maior expressão proteica de TGF- β 1 no FSG dos indivíduos dos grupos com Periodontite independentemente de manifestarem DM2, comparado aos grupos sem Periodontite em todos os períodos avaliados. Houve maior número de células inflamatórias em biópsias gengivais de pacientes afetados por Periodontite independentemente da associação com DM2. A imunolocalização de TGF- β 1 nas biópsias gengivais foi evidente no citoplasma das células inflamatórias e endoteliais, com predominância nos grupos com Periodontite, mas sem diferença significativa entre os grupos. Conclui-se que o tratamento periodontal mostrou melhora dos parâmetros periodontais já no período de 90 dias de acompanhamento, e que parece ter influenciado a maior expressão de sistêmica do *TGFB1*, bem como dos seus níveis proteicos no FSG. Os resultados do acompanhamento após o tratamento periodontal, que são concordantes entre os níveis de expressão gênica (transcricionais) e proteica (traducionais) de TGF- β 1, parecem indicar uma potencial influência do tratamento periodontal em benefício da saúde. Essa maior expressão gênica e proteica do TGF- β 1 está de acordo com os aspectos benéficos que este possui em favorecer a produção de componentes da matriz extracelular, aumentando a re-epitelização e diminuindo a expressão de TNF, que favorece a sensibilidade à insulina.

Palavras-Chave: Diabetes Mellitus. Periodontite. Terapêutica. Expressão gênica.

Martelli MGG. Longitudinal evaluation of TGF- β 1 expression in the regulation of type 2 diabetes mellitus after periodontal therapy [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

ABSTRACT

Despite the growing evidence of the concomitant presence of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) and Periodontitis (P), the way in which the different mechanisms and effector molecules of each pathology act and interact requires further studies. Among the molecules that need to have their role better clarified in the joint presence of T2DM and P is Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- β 1), which participates in the glucose signaling pathway and in mechanisms that evolve into T2DM comorbidities. However, it is not known how T2DM and P would influence TGF- β 1 levels, nor how they would be modified by periodontal treatment. The general objective of this longitudinal non-randomized clinical study is to evaluate the gene and protein expression of TGF- β 1 in the regulation of T2DM in the presence or absence of P, before and after periodontal therapy. We investigated 156 individuals, divided into groups: T2DM_poorlyC+P; T2DM_wellC+P; T2DM_without_P; Periodontitis and Control. Each participant had their glycemic, lipid and periodontal profile examined before (time zero) and after (90 and 180 days) completion of periodontal treatment. Patients in the Periodontitis and T2DM+P groups received non-surgical/surgical periodontal treatment, and individuals in the Control and T2DM_without_P groups received prophylaxis and reinforced oral hygiene instruction. According to the surgical indication, a fragment of gingival tissue was collected to investigate the immunolocalization of TGF- β 1 (translational levels) by immunohistochemistry. The gene expression (transcriptional levels) of the molecule from leukocytes, and protein expression from the patients' gingival crevicular fluid (GCF) was evaluated. The results revealed that periodontal clinical parameters improved in groups containing individuals with Periodontitis after 90 and 180 days of periodontal treatment. Regarding systemic expression of the *TGFB1* gene, after 90 days, all groups showed higher systemic expression, except the T2DM_poorly/well_without_P group. These groups also showed lower expression of TGF- β 1 protein in GCF, both at baseline and follow-up. Higher protein expression of TGF- β 1 was noted in the FSG of individuals in the groups with Periodontitis, regardless of whether they had T2DM, compared to the groups without Periodontitis in all periods evaluated. There was a greater number of inflammatory cells in gingival biopsies from patients affected by Periodontitis, regardless of the association with T2DM. The immunolocalization of TGF- β 1 in gingival biopsies was evident in the cytoplasm of inflammatory and endothelial cells, with predominance in the groups with Periodontitis, but without significant difference between the groups. It is concluded that periodontal treatment showed better results of the periodontal parameters already in the 90-day follow-up period, and that it seems to have influenced the higher systemic expression of *TGFB1*, as well as its protein levels in GCF. The results of follow-up, which are concordant between the gene (transcriptional) and protein (translational) expression levels of TGF- β 1, seem to indicate a potential influence of periodontal treatment on health benefits. This higher gene and protein expression of TGF- β 1 is in line with the beneficial aspects that molecule in favoring the production of extracellular matrix components, increasing re-epithelialization and decreasing the expression TNF, which favors insulin sensitivity.

Keywords: Diabetes Mellitus. Periodontitis. Therapeutics. Gene expression.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF-β)	11
2 PROPOSIÇÃO	16
3 PUBLICAÇÃO	17
3.1 Publicação 1	17
4 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICE A.....	59
ANEXO A.....	75

1 INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica com elevada prevalência global (na faixa etária de 20 a 79 anos) estimada em 2021 em 10,5% (536.6 milhões de pessoas), com possibilidade de subir para 12.2% (783.2 milhões de pessoas) em 2045^{1,2}. O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) representa cerca de 95% de todos os casos de diabetes mellitus. Em 2015, a estimativa global do gasto anual per capita para o controle do diabetes variou entre US\$ 1.622 e US\$ 2.886. No Brasil, as estimativas das despesas com tratamento ambulatorial de pacientes com diabetes no Sistema Único de Saúde (SUS) foram em torno de US\$ 2.108 por indivíduo, dos quais US\$ 1.335 (63,3%) correspondiam aos custos diretos⁴.

O DM é definido pela presença de hiperglicemia persistente, que resulta de uma deficiência na produção de insulina, na sua ação, ou em ambos os mecanismos. Essa condição pode levar a complicações a longo prazo³. Possui etiologia complexa e multifatorial, envolvendo componentes genético e ambiental^{5,6}. A redução da eficácia das ações da insulina nos tecidos-alvo é conhecida como resistência à insulina. Seja por deficiência, resistência à insulina ou uma combinação de ambos, isso resulta em vários danos ao controle do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas⁷. Os defeitos na secreção de insulina presentes no DM2 são relacionados com inflamação e estresse metabólico que sofrem influência de diferentes fatores, incluindo fatores genéticos⁸.

Manter um controle metabólico eficaz do diabetes ajuda a prevenir o surgimento ou retardar a progressão de suas complicações agudas e crônicas. Entre essas destacam-se as alterações microvasculares (retinopatia, neuropatia diabética e nefropatia); macrovasculares (infarto agudo do miocárdio, doença vascular periférica, aterosclerose, acidente vascular cerebral e disfunção endotelial) e miscelâneas, que, quando somadas, representam elevadas porcentagens de mortalidade e morbidade na população⁹⁻¹².

A Hemoglobina glicada (HbA1c) é formada a partir de reações não enzimáticas entre a hemoglobina e a glicose, e sua dosagem tem sido utilizada como parte importante para o diagnóstico do DM, por conta de refletir os níveis glicêmicos dos últimos 3 a 4 meses, com a vantagem de apresentar menor variabilidade diária e não depender do estado de jejum para sua determinação². No acompanhamento do DM, a avaliação do nível de HbA1c indica o controle metabólico glicêmico do paciente, de

modo que quando está acima de 7%, o indivíduo é considerado descompensado para seus níveis glicêmicos, aumentando o risco de complicações micro e macrovasculares². Além da hiperglicemia, a dislipidemia também é comumente identificada em indivíduos com DM descompensado. Esse distúrbio metabólico indica níveis elevados de lipídios no sangue, caracterizado por alto índice de triglicerídeos, lipoproteína de baixa densidade (LDL) e ácidos graxos, glicosúria e baixo índice de lipoproteína de alta densidade (HDL)⁹.

As particularidades metabólicas do DM continuam sendo amplamente estudadas, incluindo a observação que a hiperglicemia tem importante papel para a ativação da proteína C quinase (PKC) e formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs= Advanced Glycation End-products)¹³. Podendo estar presentes em diversas comorbidades associadas ao DM, os AGEs apresentam inúmeros efeitos biológicos na interação com receptores na membrana plasmática, formação de *cross-linking* em macromoléculas e o aumento na expressão gênica de citocinas e quimiocinas. Estas moléculas também podem agravar a severidade da Periodontite e favorecer menor resistência do hospedeiro às infecções¹⁴.

A Periodontite é uma doença inflamatória crônica multifatorial caracterizada por uma resposta imuno-inflamatória exacerbada em decorrência do aumento da concentração de bactérias patogênicas na placa bacteriana¹⁵. A doença periodontal avançada resulta em destruição do osso alveolar e do ligamento periodontal e é, atualmente, a maior causa de perda dentária¹⁶. A Periodontite afeta 11,2% da população mundial¹⁷, tendo maior prevalência em idosos e indivíduos de baixa renda¹⁸.

O diagnóstico da Periodontite é realizado por meio de exames clínico e radiográfico, que avaliam parâmetros periodontais como índice de placa bacteriana, sangramento à sondagem, sangramento marginal, profundidade de sondagem, mobilidade dentária e perda óssea alveolar¹⁹. O tratamento pode combinar uma variedade de métodos, associando instrumentação subgengival, instrução de higiene oral e terapia cirúrgica²⁰.

A resposta imune exacerbada que é evidenciada na Periodontite não provém apenas de fatores genéticos; fatores ambientais também contribuem para a modulação desta resposta²¹. Dentre os fatores de risco mais comuns da Periodontite, podemos citar o tabagismo, distúrbios de saúde mental, má higiene oral, uso de drogas, status socioeconômico, disfunção nutricional e condições sistêmicas²².

Alterações sistêmicas que promovem a liberação de citocinas pró-inflamatórias têm influência direta na inflamação dos tecidos periodontais e na progressão da Periodontite, e uma dessas alterações é o DM²³.

Estudos têm apontado uma associação entre DM e Periodontite, revelando que o risco de desenvolver Periodontite é aproximadamente 3 a 4 vezes maior em pessoas com diabetes, em comparação com indivíduos sem a doença²⁴. A destruição tecidual pode ser acelerada em indivíduos com diabetes, o que justificaria o fato de a Periodontite ter prevalência e gravidade maior em indivíduos com DM, especialmente em casos de diabetes descompensado⁹. Em 2017 no *World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions*, o DM foi reconhecido como um importante fator que modula o estado de saúde periodontal destes indivíduos²⁵. Os achados da literatura Médico-Odontológica têm evidenciado a relação bidirecional do DM e a Periodontite sobre a influência nos níveis pós-transcricionais, pós-traducionais, disfunção do sistema imune e a reparação tecidual²⁶⁻²⁹. No entanto, mais estudos são necessários para se conhecer quais moléculas tem um papel chave na interação entre o metabolismo glicêmico, lipídico e o sistema imune do indivíduo.

Mediante a relação bidirecional entre Periodontite e DM2, muitos estudos realizaram o tratamento periodontal não-cirúrgico em pacientes com essas patologias, revelando redução da HbA1c^{30,31}. Uma redução em 1% da HbA1c está relacionada com a diminuição de diversas complicações relacionadas ao DM, como infarto do miocárdio e complicações microvasculares³². O impacto do tratamento periodontal pode reduzir em aproximadamente 0,4% dos níveis séricos de HbA1c, o que equivale a adicionar um segundo medicamento para controle glicêmico³³. Em um estudo clínico os autores revelaram uma melhoria no controle metabólico após tratamento periodontal não-cirúrgico, independente da mudança de estilo de vida ou tratamento médico³⁴.

Como revisto por Wang et al.³⁵, 2022, sabe-se que as células β das ilhotas pancreáticas são o único tipo de célula a sintetizar e secretar insulina para reduzir os níveis de glicose no sangue em adultos. Disfunção ou perda dessas células está relacionada com a patogênese de quase todos os tipos de diabetes³⁶, o que pode ocorrer devido a defeitos intrínsecos derivados de mutações genéticas, e defeitos extrínsecos devido a estresse metabólico (por excessiva demanda sistêmica de insulina), ou outros fatores como anticorpos autoimunes, glicolipotoxicidade e

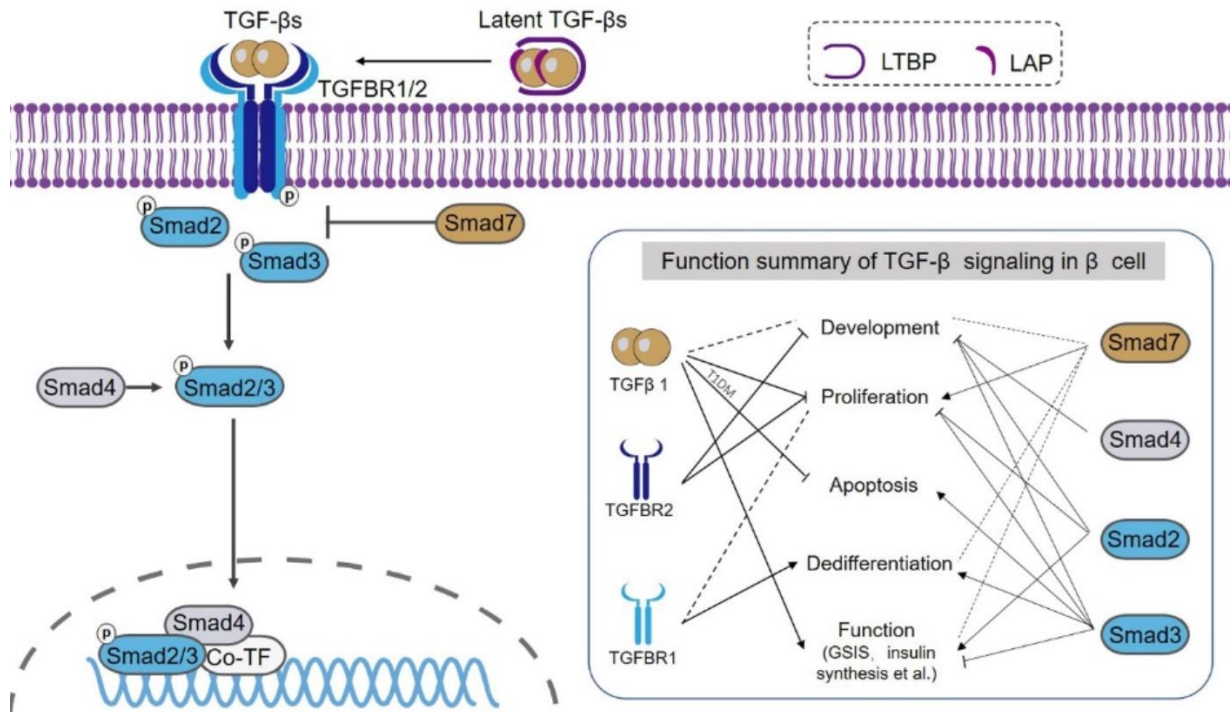
inflamação). Por esses motivos as células β pancreáticas podem apresentar desenvolvimento anormal, apoptose, proliferação insuficiente, desdiferenciação e disfunção, resultando como consequência o diabetes³⁷⁻³⁹. Esses processos biológicos, sejam em condições fisiológicas ou patológicas, são fortemente modulados por várias vias de sinalização, incluindo a sinalização do Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF- β)⁴⁰.

1.1 Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF- β)

A proteína TGF- β pertence à superfamília TGF, cuja cascata de sinalização celular guarda semelhanças em toda a superfamília TGF, que inclui por exemplo, as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP)⁴¹. Existem 3 ligantes de TGF- β : TGF- β 1 (mais abundante), β 2 e β 3. A sinalização de TGF- β desempenha papéis pleiotrópicos em vários processos biológicos incluindo crescimento e diferenciação celular, desenvolvimento, apoptose, câncer, fibrose, e imunidade⁴²⁻⁴⁵. O TGF- β é um importante modulador de funções imunológicas⁴⁶, classificado como uma citocina Th3⁴⁷. O TGF- β 1 também é secretado por osteoblastos e inibe a atividade dos osteoclastos⁴⁸. O aumento do nível de TGF- β 1 é benéfico para o metabolismo ósseo, pois retarda a perda óssea e os danos que o diabetes pode causar.

Há evidências que a sinalização de TGF desempenha diversos papéis em seu desenvolvimento, proliferação, apoptose, desdiferenciação e função das células β pancreáticas. Na Figura 1 está ilustrado que depois que o TGF- β é sintetizado, este se acopla ao *Latency-associated peptide* (LAP) e *Latent TGF-B-binding proteins* (LTBPs) para formar o TGF- β latente sem função. Este pode ser liberado e ativado por enzimas específicas ou fatores do microambiente como plasmina, trombospondina, integrina e espécies reativas do oxigênio (ROS)^{35,49}. Após ser liberado, o TGF- β se liga ao Receptor 2 de TGF- β (TGFBR2), que recruta e ativa o Receptor 1 de TGF- β (TGFBR1). O TGFBR1 fosforila Smad2/3 intracelular que então se liga à Smad4 e transloca para o núcleo para regular a transcrição de genes-alvo. Smad7 regula negativamente a sinalização de TGF- β competindo pelo TGFBR1 com Smad2/3 e induzindo a degradação de TGFBR1 (Figura 1). Além da sinalização canônica Smad, a conexão do ligante TGF- β ao receptor também ativa várias cascatas de sinalização não-Smad como MAPK, PI3K/Akt, RhoA/ROCK e vias IKK/NF- κ B para sinergizar a via canônica ou funcionar independentemente⁵⁰.

Figura 1 - Sinalização clássica de TGF- β e seus papéis na regulação desenvolvimento, proliferação, apoptose, desdiferenciação e função das células β pancreáticas



A linha sólida indica relações confirmadas, e a linha pontilhada indica relações potenciais. A linha com a seta representa regulação positiva, enquanto a linha com extremidade embotada significa regulação negativa. LAP, peptídeo associado à latência. LABP, proteína de ligação ao TGF- β latente.

Fonte: Wang et al.³⁵.

A sinalização de TGF- β mantém uma atividade considerável no desenvolvimento e maturação de células das ilhotas em condições fisiológicas. Em situações de síndrome metabólica e diabetes, a sinalização de TGF- β é ativada sistemicamente à medida que os níveis séricos de TGF- β 1 são elevados em pacientes com obesidade (também demonstrado em modelos animais), juntamente com níveis aumentados de p-Smad2/3 fosforilada em vários tecidos^{35,51}. Aumento da translocação nuclear de Smad3 ou p-Smad3 também é observado em ilhotas de camundongos com diabetes^{35,52}. Foi demonstrado que curcumina aumentou a expressão do mRNA de TGF- β 1 e promoveu a fosforilação de Smad2/3, indicando que os efeitos da Curcumina podem ser mediados pela via TGF β 1/Smad2/3⁵³.

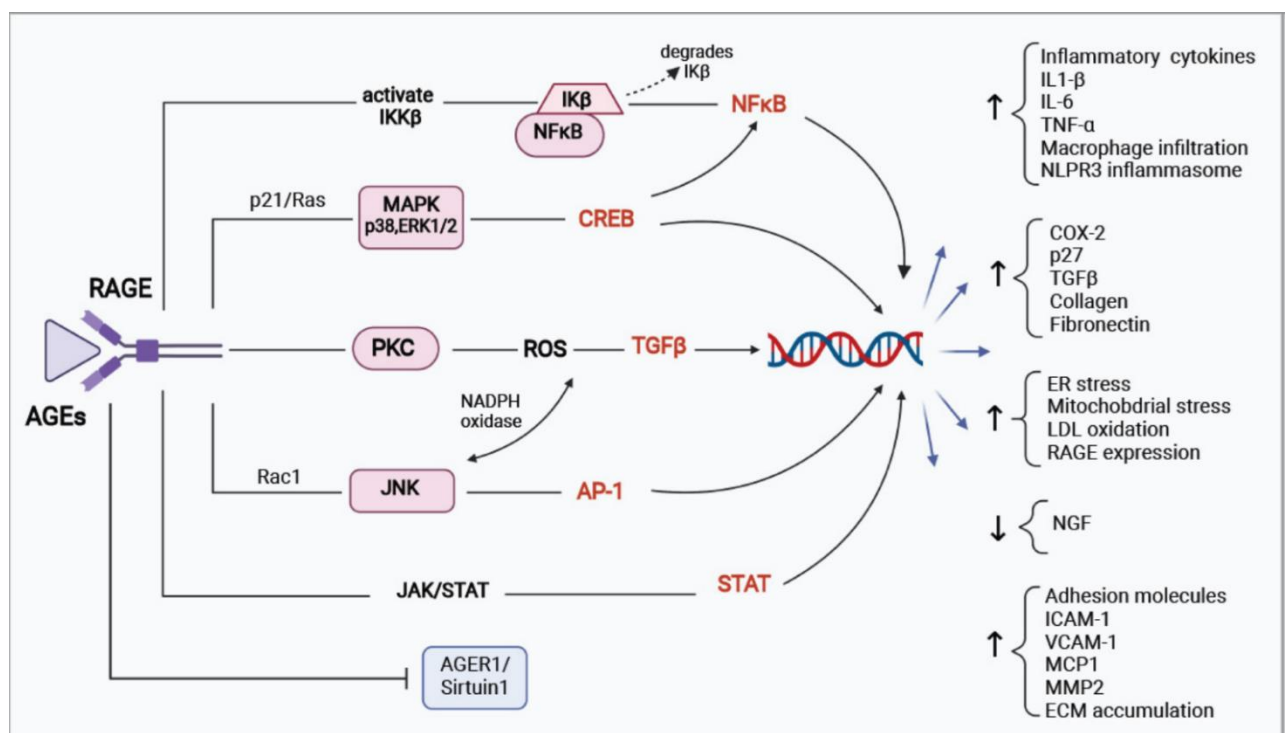
TGF- β desempenha um papel fundamental na mediação de alterações patológicas induzidas por hiperglicemia em pacientes com diabetes⁵⁴. Perturbação dos níveis de TGF- β são verificadas em várias comorbidades relacionadas ao diabetes, como retinopatia diabética^{55,56} e doença renal diabética^{54,57}. O TGF- β estimula a síntese das principais moléculas da matriz extracelular, incluindo colágeno tipo I, colágeno tipo IV, fibronectina e laminina. A degradação da matriz extracelular também é diminuída pelo TGF- β , pois este inibe proteases e ativa inibidores de protease (por exemplo, inibidor-1 do ativador do plasminogênio (PAI-1))⁵⁴. Sabe-se que o excesso de (PAI-1) pode aumentar a incidência de aterosclerose e diabetes. Foi observado que o conteúdo de PAI-1 no tecido adiposo humano estava altamente correlacionado com receptores de Fator de Necrose Tumoral (TNF) e TGF- β . Um dos maiores estimuladores da síntese de PAI-1 é TGF- β , o que reforça a associação de TGF- β com a resistência à insulina⁵⁸. Muitos dos membros da família TGF- β são produzidos localmente no tecido adiposo e um aumento da sua sinalização pode exacerbar a disfunção de tecido adiposo na obesidade⁵⁹. Um estudo sobre a eficiência de Liraglutida (análogo de longa ação do agonista do GLP-1 [receptor do peptídeo 1 semelhante ao glucagon]) para reduzir a glicemia em pacientes com DM, com efeitos protetores cardiovasculares, demonstrou inibição da via de sinalização de TGF- β 1/Smad3 e redução de ROS, mas esse efeito pôde ser revertido por TNF- α ⁶⁰. Como revisto por Wang e Graves⁶¹, altos níveis de TNF, dada a expressão prolongada de quimiocinas, caracterizando um estado inflamatório crônico, é comum em pacientes com diabetes. Altos níveis de TNF na presença de níveis reduzidos de TGF- β estão ligados à má cicatrização, caracterizada como uma das mais importantes e conhecidas comorbidades do DM2. Foi observado que tratamentos experimentais com TGF- β aumentam a re-epitelização in vivo, estimulando queratinócitos e diminuindo a expressão de TNF.

Uma das principais comorbidades que afetam pacientes com longo tempo de diagnóstico de DM2, é a osteoporose; pois a hiperglicemia de longo prazo afeta a formação e a reabsorção óssea. Além disso, níveis elevados de triglicerídeos (TG) e colesterol total (CT) reduzem a densidade óssea em pacientes com diabetes. Em ratos com DM2 e osteoporose, observou-se que o tratamento com curcumina melhorou as propriedades biomecânicas e a microarquitetura óssea pela ativação da via TGF β /Smad2/3⁵³.

Como mencionado, os AGEs, que desempenham papel central na fisiopatologia das complicações diabéticas, e que se ligam ao seu principal receptor celular, RAGE, ativam uma miríade de sinais como MAPK/ERK, TGF- β , JNK e NF- κ B, levando a um aumento do estresse oxidativo e inflamação (Figura 2). O LDL oxidado atua como um ligante para RAGE, aumentando a expressão de TGF- β , citocinas inflamatórias e PKC. Isso leva ao aumento da calcificação vascular e endurecimento da camada média dos vasos sanguíneos, que contribui para a fisiopatologia das doenças cardiovasculares⁶².

Não há dúvidas do envolvimento de TGF- β no DM2, mas considerando a via de sinalização da glicose, a participação do TNF- α é muito melhor compreendida que o TGF- β . Portanto, o presente estudo pretende contribuir de modo significativo para esta área do conhecimento.

Figura 2 - Eixo AGEs/RAGE e complicações do diabetes



A interação de AGEs/RAGE atua como gatilho de várias cascatas de sinalização como IKK/NF- κ B, ERK/MAPK, PKC, TGF- β , JNK e JAK/STAT e ativa fatores de transcrição como NF- κ B, CREB, AP-1 e STAT3, que resulta em estresse oxidativo e amplifica as respostas inflamatórias. O eixo AGEs/RAGE estimula a infiltração de macrófagos, aumenta a expressão gênica de citocinas inflamatórias, moléculas de adesão e proteínas da matriz extracelular. Isto resultará em super-expressão de TGF- β , fibronectina e colágeno.

Fonte: Khalid et al.⁶².

Células do ligamento periodontal que são responsáveis pela manutenção, remodelação e regeneração do periodonto, parecem ser reguladas por TGF- β 1⁶³. Esponjas de colágeno contendo TGF- β 1 induziram a formação de osso em alvéolos pós-exodontia em cães, indicando que TGF- β 1 pode favorecer a regeneração do periodonto⁶⁴. No contexto da periodontite, TGF- β tem sido considerado uma citocina anti-inflamatória, e que parece estimular a produção de IL-11 por fibroblastos do ligamento periodontal⁶⁵. TGF- β foi identificada em níveis aumentados no periodonto inflamado, compensando citocinas pró-inflamatórias, como IL-1- β ⁶⁶. Um estudo duplo-cego com pacientes com DM2 verificou que depois de 90 dias do tratamento periodontal os níveis de TNF- α e IL-1- β foram reduzidos no fluido gengival, mas não TGF- β ⁶⁷. Um recente estudo em pacientes com periodontite apical revelou que os níveis de mRNA de *TGFB*, bem como os níveis proteicos de TGF- β no soro e no tecido apical de granulação foi maior do que nos controles. Análise de correlação de Spearman mostrou que a expressão de mRNA de *TGFB* foi positivamente correlacionada com a área de reabsorção óssea periapical⁶⁸.

Cabe acrescentar que desde 2010 nosso grupo de pesquisa tem trabalhado para compreender melhor os aspectos etiopatológicos da Periodontite em associação ao DM2 e Dislipidemia. Numa abordagem inter-disciplinar, tem-se examinado pacientes com essas características clínicas e alimentado um banco de dados com informações do histórico-médico e odontológico de mais de mil pacientes. Dentre as contribuições científicas do nosso grupo de pesquisa para a área, merece destaque o Transcriptoma que foi realizado nos linfócitos e monócitos circulantes desses pacientes, que revelou genes diferencialmente expressos (DEGs) que podem ser úteis como biomarcadores ou alvos moleculares para diagnóstico de cada combinação dessas patologias⁶⁹. Análises de Bioinformática que verificam redes de interações proteína-proteína, e análises de enriquecimento funcional (STRING, <https://string-db.org>) apontaram que o TGF- β 1 interage com algumas moléculas-chave para o processo inflamatório da periodontite e do metabolismo glicêmico, que estão sendo investigadas em estudos paralelos desenvolvidos em nosso Laboratório. Portanto, as informações obtidas por meio deste estudo serão úteis não somente para compreender o papel do TGF- β 1 no contexto do DM2 e Periodontite, mas também seu comportamento em consonância com outras moléculas importantes na patogênese dessas doenças.

4 CONCLUSÃO

Considerando os resultados apresentados da população estudada é possível concluir que:

- A presença de DM2 em conjunto com a periodontite parece potencializar a observação dos piores índices periodontais, independentemente do nível de compensação metabólica;
- Houve significativa melhora dos parâmetros clínicos periodontais dos pacientes dos grupos com Periodontite após 180 dias de finalizado o tratamento periodontal.
- Houve uma tendência de maior expressão sistêmica do gene *TGFB1* em todos os grupos com pacientes afetados pela Periodontite, independentemente da presença de DM2 no período inicial, sendo que 90 dias após o tratamento periodontal, notou-se aumento dos níveis sistêmicos do gene *TGFB1* similarmente em todos os grupos, comparado ao período inicial (zero), indicando possível influência do tratamento periodontal realizado em benefício da maior expressão circulante de *TGFB1*.
- Após 90 dias do tratamento periodontal, todos os grupos apresentaram maior expressão sistêmica do gene *TGFB1*, exceto o grupo DM2_descompensado/compensado_sem_P. Na análise longitudinal, todos os grupos com DM2, independentemente da presença de periodontite, mostraram significativa maior expressão sistêmica do gene *TGFB1*.
- Notou-se significativa maior expressão proteica de *TGF-β1* no fluido sulcular gengival de indivíduos com Periodontite, independentemente da presença de DM2 no período inicial, e 90 dias após o tratamento periodontal, quando comparado a grupos contendo pacientes sem periodontite. Após 180 dias do tratamento periodontal, esses níveis se mantiveram significativamente maiores nos grupos com Periodontite em comparação ao grupo Controle.
- Após 90 e 180 dias de finalizado o tratamento periodontal, observou-se que este foi associado à diminuição dos níveis proteicos de *TGF-β1* no fluido sulcular gengival de indivíduos dos grupos T2DM_wellC+P e Controle.
- Nas biópsias gengivais observou-se maior infiltrado inflamatório nos grupos com periodontite, e a imunolocalização de *TGF-β1* foi bem circunscrita à membrana plasmática e citoplasma, principalmente de células inflamatórias e

endoteliais, mas sem diferença significativa entre os grupos estudados.

- A maior expressão sistêmica no PBMC de RNAm de *TGFB1*, coincide com a maior expressão proteica de TGF- β 1 no fluido sulcular gengival de indivíduos com Periodontite. Considerando que existe a necessidade biológica de expressar níveis transcricionais e traducionais adequados de TGF- β nos tecidos afetados pela inflamação decorrente da periodontite (independentemente da presença de DM2), para contrabalançar a perda óssea alveolar, e favorecer a produção de componentes da matriz extracelular, aumentar a re-epitelização e diminuir a expressão de TNF⁶¹, aumentando assim a sensibilidade à insulina.

REFERÊNCIAS*

1. IDF Diabetes Atlas. 7th. ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2015 [acesso 23 fev. 2024]. Disponível em: https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2012/07/IDF_diabetes_atlas_seventh_edition_en.pdf.
2. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. São paulo: Clannad Editora Científica; 2019 [acesso 23 fev. 2024]. Disponível em: <https://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/02/Diretrizes-Sociedade-Brasileira-de-Diabetes-2019-2020.pdf>.
3. IDF Diabetes Atlas. 8th. ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2017 [acesso 23 fev. 2024]. Disponível em: https://diabetesatlas.org/upload/resources/previous/files/8/IDF_DA_8e-EN-final.pdf.
4. Bahia LR, Araujo DV, Schaan BD, Dib SA, Negrato CA, Leão MP et al. The costs of type 2 diabetes mellitus outpatient care in the Brazilian public health system. *Value Health*. 2011; 14(5 Suppl 1): S137-40.
5. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*. 2019 Jan;42(Suppl 1):S13-S28.
6. Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, Darsow T, Eckel RH, Groop L et al. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes*. 2017; 66(2): 241-55.
7. DeFronzo RA, Ferrannini EPZ, Alberti KGMM. *International textbook of Diabetes Mellitus*. New Jersey: Wiley-Blackwell; 2015.
8. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care*. 2021 Jan;44(Suppl 1):S15-S33. doi: 10.2337/dc21-S002. Erratum in: *Diabetes Care*. 2021 Sep;44(9):2182.
9. Mauri-Obradors E, Estrugo-Devesa A, Jané-Salas E, Viñas M, López-López J. Oral manifestations of Diabetes Mellitus: a systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017;22(5):e586-e94.
10. Khadka R, Tian W, Hao X, Koirala R. Risk factor, early diagnosis and overall survival on outcome of association between pancreatic cancer and diabetes mellitus: changes and advances, a review. *Int J Surg*. 2018; 52: 342-6.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

11. Spallone V. Update on the impact, diagnosis and management of cardiovascular autonomic Neuropathy in Diabetes: what is defined, what is new, and what is unmet. *Diabetes Metab J.* 2019; 43(1): 3-30.
12. Bain SC, Klufas MA, Ho A, Matthews DR. Worsening of diabetic retinopathy with rapid improvement in systemic glucose control: a review. *Diabetes Obes Metab.* 2019; 21(3): 454-66.
13. Huebschmann AG, Regensteiner JG, Vlassara H, Reusch JE. Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes Care.* 2006; 29(6): 1420-32.
14. Moldogazieva NT, Mokhosoev IM, Mel'nikova TI, Porozov YB, Terentiev AA. Oxidative stress and advanced lipoxidation and glycation end products (ALEs and AGEs) in aging and age-related diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019: 3085756.
15. Liccardo D, Cannavo A, Spagnuolo G, Ferrara N, Cittadini A, Rengo C, et al. Periodontal disease: a risk factor for Diabetes and cardiovascular disease. *International J Mol Sci.* 2019; 20(6): 1414.
16. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim).* 2017; 11(2): 72-80.
17. Kumar S. Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. *Dent Clin North Am.* 2019;63(1):69-81.
18. Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol 2000.* 2017; 75(1): 7-23.
19. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current concepts in the management of periodontitis. *Int Dent J.* 2021; 71(6): 462-76.
20. Graziani F, Karapetsa D, Alonso B, Herrera D. Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: how many options for one disease? *Periodontol 2000.* 2017; 75(1): 152-88.
21. Larsson L, Kavanagh NM, Nguyen TVN, Castilho RM, Berglundh T, Giannobile WV. Influence of epigenetics on periodontitis and peri-implantitis pathogenesis. *Periodontol 2000.* 2022; 90(1): 125-37.
22. Darby I. Risk factors for periodontitis & peri-implantitis. *Periodontol 2000.* 2022; 90(1): 9-12.
23. Zheng M, Wang C, Ali A, Shih YA, Xie Q, Guo C. Prevalence of periodontitis in people clinically diagnosed with diabetes mellitus: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Acta diabetologica.* 2021; 58(10): 1307-27.
24. Wu YY, Xiao E, Graves DT. Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. *Int J Oral Sci.* 2015; 7(2): 63-72.

25. Jepsen S, Caton JG, Albandar JM, Bissada NF, Bouchard P, Cortellini P, et al. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018; 89 (Suppl 1): S237-s48.
26. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol*. 2006; 77(8): 1289-303.
27. Kocher T, König J, Borgnakke WS, Pink C, Meisel P. Periodontal complications of hyperglycemia/diabetes mellitus: epidemiologic complexity and clinical challenge. *Periodontol 2000*. 2018; 78(1): 59-97.
28. Soory M. Inflammatory mechanisms and redox status in periodontal and cardiometabolic diseases: effects of adjunctive nutritional antioxidants and statins. *Infect Disord Drug Targets*. 2012; 12(4): 301-15.
29. Al-Khabbaz AK, Al-Shammari KF. Diabetes mellitus and periodontal health: dentists' knowledge. *Med Princ Pract*. 2011; 20(6): 538-44.
30. Kaur PK, Narula SC, Rajput R, R KS, Tewari S. Periodontal and glycemic effects of nonsurgical periodontal therapy in patients with type 2 diabetes stratified by baseline HbA1c. *J Oral Sci*. 2015; 57(3): 201-11.
31. Engebretson S, Kocher T. Evidence that periodontal treatment improves diabetes outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2013; 84(4 Suppl): S153-69.
32. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000; 321(7258): 405-12.
33. Chapple IL, Genco R. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol*. 2013; 84(4 Suppl): S106-12.
34. Mauri-Obradors E, Merlos A, Estrugo-Devesa A, Jané-Salas E, López-López J, Viñas M. Benefits of non-surgical periodontal treatment in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis: A randomized controlled trial. *J Clin Periodontol*. 2018; 45(3): 345-53.
35. Wang HL, Wang L, Zhao CY, Lan HY. Role of TGF-beta signaling in beta cell proliferation and function in Diabetes. *Biomolecules*. 2022; 12(3): 373.
36. Fu Z, Gilbert ER, Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic beta-cell dysfunction in Diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 2013; 9(1): 25-53.
37. Meurer SK, Weiskirchen R. Endoglin: an 'accessory' receptor regulating blood cell development and inflammation. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(23): 9247.

38. Yan J, Peng D, Jiang F, Zhang R, Chen M, Wang T, et al. Impaired pancreatic beta cell compensatory function is the main cause of type 2 diabetes in individuals with high genetic risk: a 9 year prospective cohort study in the Chinese population. *Diabetologia*. 2016; 59(7): 1458-62.
39. Poitout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocr Rev*. 2008; 29(3): 351-66.
40. Lee JH, Lee JH, Rane SG. TGF- β signaling in pancreatic islet β cell development and function. *Endocrinology*. 2021; 162(3): bqaa233.
41. Weiss A, Attisano L. The TGFbeta superfamily signaling pathway. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2013; 2(1): 47-63.
42. Meng XM, Tang PM, Li J, Lan HY. TGF- β /Smad signaling in renal fibrosis. *Front Physiol*. 2015; 6: 82.
43. Wang L, Wang HL, Liu TT, Lan HY. TGF-beta as a master regulator of Diabetic Nephropathy. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(15): 7881.
44. Zhang Y, Alexander PB, Wang XF. TGF- β family signaling in the control of cell proliferation and survival. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017; 9(4): a022145.
45. Jia S, Meng A. TGF β family signaling and development. *Development*. 2021; 148(5): dev188490.
46. Garba ML, Frelinger JA. Intracellular cytokine staining for TGF-beta. *J Immunol Methods*. 2001;258(1-2):193-8.
47. Cerwenka A, Swain SL. TGF-beta1: immunosuppressant and viability factor for T lymphocytes. *Microbes Infect*. 1999;1(15):1291-6.
48. Tang Y, Wu X, Lei W, Pang L, Wan C, Shi Z, et al. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation. *Nat med*. 2009;15(7):757-65.
49. Munger JS, Huang X, Kawakatsu H, Griffiths MJ, Dalton SL, Wu J, et al. The integrin alpha v beta 6 binds and activates latent TGF beta 1: a mechanism for regulating pulmonary inflammation and fibrosis. *Cell*. 1999; 96(3): 319-28.
50. Zhang YE. Non-smad signaling pathways of the TGF- β family. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017; 9(2): a022129.
51. Yadav H, Quijano C, Kamaraju AK, Gavrilova O, Malek R, Chen W, et al. Protection from obesity and diabetes by blockade of TGF- β /Smad3 signaling. *Cell metab*. 2011; 14(1): 67-79.
52. Lee JH, Mellado-Gil JM, Bahn YJ, Pathy SM, Zhang YE, Rane SG. Protection from β -cell apoptosis by inhibition of TGF- β /Smad3 signaling. *Cell Death Dis*. 2020; 11(3): 184.

53. Liang Y, Zhu B, Li S, Zhai Y, Yang Y, Bai Z, et al. Curcumin protects bone biomechanical properties and microarchitecture in type 2 diabetic rats with osteoporosis via the TGF β /Smad2/3 pathway. *Exp Ther Med*. 2020; 20(3): 2200-8.
54. Ziyadeh FN. Mediators of diabetic renal disease: the case for TGF-beta as the major mediator. *J Am Soc Nephrol*. 2004; 15(Suppl 1): S55-7.
55. Ochiai Y, Ochiai H. Higher concentration of transforming growth factor-beta in aqueous humor of glaucomatous eyes and diabetic eyes. *Jpn J Ophthalmol*. 2002; 46(3): 249-53.
56. Han T, Li W, Zhang H, Nie D. Involvement of long non-coding RNA ZNF503 antisense RNA 1 in diabetic retinopathy and its possible underlying mechanism. *Bioengineered*. 2022; 13(6): 14057-65.
57. de Oliveira AA, de Oliveira TF, Bobadilla LL, Garcia CC, Berra CM, de Souza-Pinto NC, et al. Sustained kidney biochemical derangement in treated experimental diabetes: a clue to metabolic memory. *Sci rep*. 2017; 7: 40544.
58. Juhan-Vague I, Morange PE, Alessi MC. The insulin resistance syndrome: implications for thrombosis and cardiovascular disease. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2002; 32(5-6): 269-73.
59. Lee MJ. Transforming growth factor beta superfamily regulation of adipose tissue biology in obesity. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018; 1864(4 Pt A): 1160-71.
60. Ding HX, Dong NX, Zhou CX, Wang FJ, Xing N, Ma HF, et al. Liraglutide attenuates restenosis after vascular injury in rabbits with diabetes via the TGF- β /Smad3 signaling pathway. *Altern Ther Health Med*. 2022; 28(6): 22-28.
61. Wang Y, Graves DT. Keratinocyte function in normal and diabetic wounds and modulation by FOXO1. *J Diabetes Res*. 2020; 2020: 3714704.
62. Khalid M, Petroianu G, Adem A. Advanced glycation end products and Diabetes Mellitus: mechanisms and perspectives. *Biomolecules*. 2022; 12(4): 542.
63. Fujii S, Maeda H, Tomokiyo A, Monnouchi S, Hori K, Wada N, et al. Effects of TGF- β 1 on the proliferation and differentiation of human periodontal ligament cells and a human periodontal ligament stem/progenitor cell line. *Cell Tissue Res*. 2010; 342(2): 233-42.
64. Shigeno K, Nakamura T, Inoue M, Ueda H, Kobayashi E, Nakahara T, et al. Regenerative repair of the mandible using a collagen sponge containing TGF-beta1. *Int J Artif Organs*. 2002; 25(11): 1095-102.
65. Yashiro R, Nagasawa T, Kiji M, Hormdee D, Kobayashi H, Koshy G, et al. Transforming growth factor-beta stimulates interleukin-11 production by human periodontal ligament and gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol*. 2006; 33(3): 165-71.

66. Steinsvoll S, Halstensen TS, Schenck K. Extensive expression of TGF-beta1 in chronically-inflamed periodontal tissue. *J Clin Periodontol.* 1999; 26(6): 366-73.
67. Ramos UD, Ayub LG, Reino DM, Grisi MF, Taba M, Jr., Souza SL, et al. Antimicrobial photodynamic therapy as an alternative to systemic antibiotics: results from a double-blind, randomized, placebo-controlled, clinical study on type 2 diabetics. *J Clin Periodontol.* 2016; 43(2): 147-55.
68. Li X, Han X, Yu W, Chen X, Wu Y, Lu L. Correlation between Transforming Growth Factor- β and periapical lesions in patients with Chronic Apical Periodontitis. *J Healthc Eng.* 2022; 2022: 2173434.
69. Corbi SCT, de Vasconcellos JF, Bastos AS, Bussaneli DG, da Silva BR, Santos RA, et al. Circulating lymphocytes and monocytes transcriptomic analysis of patients with type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia and periodontitis. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 8145.