



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in IGIENE DENTALE

Presidente: Prof. A. Putignano

**Malattia parodontale e
diabete mellito: una relazione
bidirezionale**

Relatore: Chiar.ma
Prof.ssa Maria Rita Rippo

Tesi di Laurea di:
Benedetta Giustozzi

Anno Accademico 2018/2019

INDICE

INTRODUZIONE	1
CAPITOLO 1	
CONCETTI DI MALATTIA PARODONTALE E INFLUENZA SISTEMICA	3
<i>1.1 Le malattie parodontali</i>	
<i>1.1.1 Gengivite</i>	
<i>1.1.2 Parodontite</i>	
<i>1.2 Valutazione clinica</i>	
<i>1.3 Placca batterica come principale agente eziologico</i>	
<i>1.4 Risposta immunitaria dell'ospite</i>	
<i>1.5 Influenza sistemica della malattia parodontale</i>	
CAPITOLO 2	
IL DIABETE MELLITO	9
<i>2.1 Definizione</i>	
<i>2.1.1 Diabete di tipo 1</i>	
<i>2.1.2 Diabete di tipo 2</i>	
<i>2.1.3 Diabete gestazionale</i>	
<i>2.1.4 Altri tipi specifici di diabete</i>	
<i>2.2 Criteri Diagnostici</i>	
<i>2.3 Condizioni pre-diabetiche</i>	
CAPITOLO 3	
DIABETE MELLITO E PATOLOGIE ORALI	16
<i>3.1 Complicanze orali indotte dal diabete</i>	
<i>3.1.2 Diabete e infezioni fungine orali</i>	

3.2 Alterazioni parodontali indotte dal diabete	
3.2.1 Diabete e infiammazioni del parodonto	
3.2.2 Prodotti finali di glicosilazione avanzata AGEs	
3.2.3 Alterazioni a livello dell'osso alveolare	
3.2.4 Alterazioni microvascolari	
3.3 Effetti sul microbiota orale	
CAPITOLO 4	
MALATTIA PARODONTALE ED ESACERBAZIONE DELLO STATO	
DIABETICO.....	26
CAPITOLO 5	
IGIENE ORALE PROFESSIONALE NEL PAZIENTE DIABETICO	30
5.1 La terapia parodontale non chirurgica e di supporto	
5.2 Linee di comportamento specifiche per il paziente diabetico	
5.2.1 Importanza dell'istruzione e della motivazione	
5.2.2 Gestione del paziente	
5.3 Effetti della terapia parodontale non chirurgica su pazienti con diabete mellito	
CONCLUSIONI	38
BIBLIOGRAFIA	40

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni si è posta particolare attenzione sull'associazione tra malattia parodontale e diabete mellito. Ne è emersa una correlazione di tipo bidirezionale. È stato stimato che rischio di un paziente diabetico di ammalarsi di parodontite è fino a 2-3 volte maggiore rispetto ad un paziente non diabetico. Le complicanze relative al cavo orale, dovute alle alterazioni metaboliche nei pazienti diabetici, soprattutto in presenza di uno scarso controllo glicemico, sono molteplici e non devono essere sottovalutate. Esiste un'ampia varietà di meccanismi patogenici attraverso i quali il diabete esplica i suoi effetti distruttivi a livello parodontale che verranno approfonditi in questo elaborato di tesi. Uno dei più evidenti è l'alterazione della risposta immuno-infiammatoria dell'ospite, che provoca una maggior severità e prevalenza della parodontite. Al tempo stesso, la malattia parodontale sembra essere in grado di esacerbare lo stato diabetico: si ritiene infatti che l'ingresso dei patogeni parodontali e dei loro prodotti all'interno della circolazione sistemica, attraverso la tasca parodontale, provochi un'intensa risposta infiammatoria che a sua volta favorirebbe insulino-resistenza. Il diabete è attualmente una patologia cronica di grande rilevanza tanto che l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), osservandone l'aumento dei casi, ha definito il diabete mellito una vera e propria epidemia mondiale. Il numero di adulti affetti da diabete nel mondo potrà arrivare a 300 milioni nel 2025 [King et. al, 1998]. Anche le malattie parodontali sono tra le più diffuse a livello globale e hanno gravi oneri sanitari oltre che economici. Considerando la rilevanza nella diffusione di tali patologie e la loro correlazione, ho ritenuto importante approfondire quest'ultimo aspetto, ponendo l'attenzione anche sull'importanza di trattamenti terapeutici preventivi e coadiuvanti. Tra questi ho considerato il trattamento parodontale non chirurgico

che, andando a diminuire la portata batterica a livello orale, può prevenirne una diffusione sistemica.

CAPITOLO 1

Concetti di malattia parodontale e influenza sistemica

1.1 Le malattie parodontali

Le malattie parodontali comprendono molteplici condizioni cliniche infiammatorie che coinvolgono il parodonto e le sue strutture, provocando infiammazione, distruzione tissutale e discomfort del paziente.

1.1.1 Gengivite

La gengivite fa riferimento ad una infiammazione reversibile a carico dei tessuti parodontali superficiali. Il fattore eziologico maggiormente coinvolto nella sua insorgenza è la placca batterica che permane sulla superficie dentale, promuovendo o aggravando la lesione [Trombelli et. al, 2018]. Le gengiviti associate a placca batterica sono quindi le più comuni, i segni e i sintomi indotti da questa condizione patologica sono limitati al distretto gengivale e non coinvolgono i tessuti profondi del dente. Il livello di attacco parodontale rimane quindi stabile e la rimozione del fattore eziologico primario porta, tramite terapia parodontale non chirurgica e corretta igiene domiciliare, alla completa guarigione [Borrell, L. N. & Papapanou, 2005]. C'è comunque da sottolineare che, gengiviti trascurate possono cronicizzare e causare complicanze ben più gravi. Diversi studi dimostrano che la presenza di alti livelli di infiammazione gengivale sono associati allo sviluppo e alla progressione della perdita di attacco irreversibile [Morales et. al, 2015]. Nonostante la maggior parte delle patologie a carico della gengiva siano attribuibili alla placca batterica, esistono molteplici condizioni infiammatorie gengivali associate a complicanze sistemiche. Ad esempio uno dei primi segni della leucemia è proprio l'infiammazione gengivale con sanguinamento spontaneo.

1.1.2 Parodontite

La parodontite è un'infezione irreversibile che colpisce le strutture di supporto dei denti ed è caratterizzata dalla progressiva distruzione del cemento radicolare, del legamento parodontale e dell'osso alveolare [Kingman & Albandar 2002]. La parodontite viene considerata la sesta complicanza del diabete [Casanova et. al, 2014]. Tale distruzione è la conseguenza di un processo infiammatorio cronico attivato da tossine batteriche che decorre spesso in maniera subdola, alternando fasi acute e momenti di remissione, avendo come esito, nei casi più gravi, la perdita dei denti. Lo squilibrio tra patogeni gram-negativi e saprofiti gram-positivi costituisce la base biologica di sviluppo della malattia. I microorganismi maggiormente coinvolti nell'insorgenza dei processi patologici sono batteri anaerobi gram-negativi, quali *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Treponema denticola*, e batteri anaerobi facoltativi come l'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. La parodontite ha comunque un'etiologia multifattoriale che non dipende solamente da disbiosi orale, bensì coinvolge altri fattori come la suscettibilità dell'ospite, la genetica, la condizione sistemica e i fattori ambientali. Per poter aiutare i clinici nell'individuazione della gravità della patologia in corso, è stata introdotta nel 2019, la nuova classificazione, la quale indica 3 grandi gruppi riferiti alle gengiviti e alle parodontiti, che sono soggetti ad un'ulteriore classificazione multidimensionale in stadi e gradi [Papapanou et. al 2019]. Per definire lo stadio della malattia si considerano diverse variabili: la perdita di attacco clinico, la perdita ossea radiografica, la profondità di sondaggio, la compromissione delle forcazioni e il numero di denti persi in seguito a parodontite; definire lo stadio della malattia parodontale significa indicarne la severità e la complessità del trattamento che richiede. I gradi forniscono ulteriori informazioni in relazione alla progressione della malattia, definita prendendo in considerazione lo stato di salute sistemica e lo stile di vita

che il paziente assume. Ci possono essere diversi gradi di distruzione parodontale che dipenderanno dalla crescita batterica nel focolaio, dal grado di virulenza e dal pH che acidificandosi contribuisce a rendere l'ambiente favorevole per l'azione distruttiva degli enzimi lisosomiali.

1.2 Valutazione clinica

La valutazione clinica per l'intercettazione della malattia parodontale consiste nell'ispezione intra ed extra orale, per notare eventuali segni di infiammazione, e nell'esecuzione di specifici esami diagnostici. Innanzitutto, per poter discriminare tra condizione di salute o di infiammazione, si ricorre all'indice di sanguinamento gengivale o "BOP" (Bleeding on probing). Il BOP indica il rapporto tra i siti sanguinanti (positivi) e i siti sani (indice dicotomico) a seguito della stimolazione con sonda parodontale standardizzata, usata imprimendo una forza di 25gr fino al fondo del solco (una pressione maggiore potrebbe generare falsi positivi). La valutazione deve essere effettuata su tutti gli elementi dentari, in 6 siti per dente. I siti che risultano positivi al sanguinamento, sono istopatologicamente caratterizzati da denso tessuto connettivo infiltrato. Un parodonto che presenta un indice di sanguinamento $< 10\%$, senza perdita di attacco e di osso può essere considerato sano. È importante sottolineare che un parodonto sano può appartenere anche ad un individuo che ha avuto esperienza di malattia parodontale, solamente grazie ad un corretto mantenimento.

1.3 Placca batterica come principale agente eziologico

La placca batterica è un complesso costituito da batteri e proteine che si deposita sui denti grazie alla presenza di un film microbico chiamato pellicola acquisita. Il film microbico gioca un ruolo fondamentale nelle due patologie odontoiatriche, le gengiviti e le parodontiti.

Pertanto, comprendere al meglio la struttura e la biologia di tale film è fondamentale ai fini della comprensione dei processi eziopatogenetici della malattia parodontale.

La pellicola acquisita è un sottile film acellulare superficiale, che si forma in seguito alla deposizione di proteine salivari sull'idrossiapatite; inizialmente gelatinosa, a causa della coprecipitazione delle proteine con il calcio insolubile e i sali di fosfato, può andare incontro a calcificazione, formando la placca. Quest'ultima è costituita essenzialmente da complessi insolubili di calcio, fosfati e proteine insieme a muco-sostanze salivari modificate. La matrice della placca matura è un reticolo compatto di gruppi di proteine e polisaccaridi che garantiscono la creazione di uno spazio limitato per la penetrazione di altre molecole ed il controllo del pH. Il metabolismo dei batteri contenuti nella placca è responsabile della carie, della formazione di tartaro e della malattia parodontale. La placca batterica determina un danno diretto al parodonto attraverso la produzione di tossine e metaboliti tossici, ma anche uno indiretto, poiché scatena reazioni infiammatorie e liberazione di enzimi lisosomiali che, non solo ostacolano la guarigione, ma favoriscono l'ulteriore danno tissutale.

1.4 Risposta immunitaria dell'ospite

La risposta infiammatoria svolge un ruolo centrale nella patogenesi della malattia, che può esser ulteriormente influenzata da fattori ambientali, sistemici, locali o riguardanti la suscettibilità individuale genetica. A tal proposito bisogna considerare la variabilità fenotipica di ogni individuo; ad esempio un paziente con elevato grado di distruzione parodontale in presenza di trascurabili depositi di placca, presenta un fenotipo iper-infiammatorio poiché le cellule infiammatorie come monociti, macrofagi e leucociti polimorfo nucleati secernono più alti livelli di mediatori pro-infiammatori (es. IL-1 β , IL-6, TNF- α), in risposta a lipopolisaccaridi batterici (LPS), rispetto a individui con un fenotipo normalmente responsivo. Il danno tissutale infatti, non è causato solo dai microorganismi patogeni e dai loro prodotti,

ma anche e soprattutto dalle cellule deputate alla difesa dell'organismo che, iper-attivate, causano danno ai tessuti.

L'attività microbica è quindi collegata alla resistenza dell'ospite. Le principali cellule infiammatorie coinvolte in questa risposta nel parodonto sono i neutrofilo, leucociti polimorfonucleati (PMN), la cui vita è limitata (alcune ore o pochi giorni). I PMN sono sempre presenti in bassa densità nell'area gengivale del tessuto sano. La presenza di infiltrato infiammatorio sotto l'epitelio giunzionale è fondamentale e rappresenta la continua sorveglianza da parte del sistema immunitario. Quando la placca invade i tessuti gengivali, i PMN vengono attirati e la loro densità numerica aumenta del 20% circa in modo da formare una vera e propria barriera protettiva nel solco gengivale. La capacità antibatterica del neutrofilo consiste nella sua abilità fagocitaria nei confronti delle cellule batteriche. Con la loro morte, i neutrofilo rilasciano il materiale in essi contenuto nel tessuto circostante, promuovendo ancor di più la risposta infiammatoria. I mediatori pro-infiammatori prodotti nel corso della parodontite, così come i microorganismi patogeni, possono anche diffondere a livello sistemico e contribuire alla genesi di malattie extra-orali.

1.5 Influenza sistemica della malattia parodontale

Prove recenti suggeriscono che l'infezione parodontale possa aumentare significativamente il rischio di sviluppare alcune malattie sistemiche o alterarne il naturale decorso, esacerbandolo [Fiona Q. et. al, 2019]. Nel 2000, l'ex chirurgo David Satcher pubblicò il report "*Oral Health in America: A Report of the Surgeon General*", che sottolineava l'importanza della salute orale come portale d'accesso alla salute e al benessere generali. Non solo, nel 2003, l'ex chirurgo Richard H. Carmona a sua volta pubblicò il report "*National call to action to promote oral health*", che si basava sul rapporto di Satcher e sottolineava le numerose disparità legate alla salute orale.

Gli agenti patogeni parodontali possono promuovere lo sviluppo di malattie sistemiche direttamente, tramite la penetrazione nel torrente circolatorio. Ad esempio il trauma tissutale, le procedure di igiene orale domiciliare, i trattamenti chirurgici o persino la masticazione del cibo possono indurre la rottura dei vasi sanguigni in prossimità del margine gengivale e far sì che i batteri penetrino nel flusso sanguigno, dove sarebbero trasportati a livello sistemico. Tra le condizioni patologiche in cui è stata documentata l'infezione parodontale come uno dei fattori eziologici vi sono l'Alzheimer, le malattie cardiovascolari, le infezioni respiratorie, l'artrite reumatoide, esiti avversi della gravidanza, il cancro, la compromissione della funzione cognitiva, la sindrome metabolica e quindi il diabete mellito. L'associazione tra parodontiti e diabete mellito, è il tema centrale di questo mio elaborato di tesi. Per poter comprendere la connessione bidirezionale tra diabete e parodontite, bisogna innanzitutto chiarire cos'è il diabete mellito.

CAPITOLO 2

Il diabete mellito

2.1 Definizione

Il diabete mellito (DM) comprende un gruppo eterogeneo di disturbi metabolici caratterizzati da elevati livelli di glucosio nel sangue. Diversi processi patogenici sono coinvolti nello sviluppo del diabete. Questi vanno dalla distruzione autoimmune delle cellule β pancreatiche, con conseguente carenza di insulina ad anomalie che si traducono in un' inadeguata secrezione e/o una diminuzione della risposta dei tessuti all'insulina e quindi resistenza all'azione dell'ormone. Tali anomalie interessano il metabolismo dei carboidrati, dei grassi e delle proteine. La compromissione della secrezione di insulina e i difetti dell'azione insulinica possono coesistere nello stesso paziente e spesso non è chiaro quale anomalia rappresenti la causa primaria dell'iperglicemia. I sintomi classici del diabete sono rappresentati da: poliuria, polidipsia e perdita di peso. Il diabete inoltre è responsabile dell'insorgenza di complicanze a lungo termine che vengono distinte in macrovascolari e microvascolari. Le complicanze macrovascolari comprendono: la malattia coronarica, la cardiomiopatia, la vasculopatia cerebrale e l'arteriopatia degli arti inferiori. Le complicanze microvascolari riguardano invece: la retinopatia con potenziale perdita della vista, la nefropatia che porta a insufficienza renale, la neuropatia periferica con il rischio di ulcere del piede fino all'amputazione e la neuropatia che causa sintomi gastrointestinali, cardiovascolari e disfunzioni sessuali. Esistono differenti forme cliniche della malattia diabetica, per cui l'identificazione del tipo di diabete assume una notevole importanza per ciascun paziente al fine di stabilire il trattamento più adeguato. Il grado di iperglicemia può variare nel tempo, a seconda dell'entità del processo patologico sottostante. Lo stesso processo patologico può causare una riduzione del glucosio a digiuno (IFG) e/o una riduzione della tolleranza al glucosio (IGT) senza soddisfare i criteri

diagnostici del diabete. In alcuni soggetti diabetici, un adeguato controllo glicemico può essere ottenuto con la riduzione del peso, con l'esercizio fisico e/o con ipoglicemizzanti per via orale. Gli individui con un'estesa distruzione delle cellule β , senza secrezione residua di insulina, richiedono la somministrazione esogena dell'ormone per sopravvivere. La gravità dell'anomalia metabolica può progredire, regredire o rimanere invariata. Pertanto sarà il grado di iperglicemia a riflettere l'avanzamento del processo metabolico sottostante e di conseguenza il suo trattamento.

2.1.1 Diabete di tipo 1

L'ultima classificazione proposta dall'ADA (*American Diabetes Association*) prevede la presenza di diverse forme di diabete. Il diabete di tipo 1, un tempo chiamato diabete insulino-dipendente o giovanile, riguarda il 10% dei casi conclamati di diabete e si sviluppa prevalentemente a partire dall'infanzia e dall'adolescenza. In questo caso la produzione di insulina da parte del pancreas viene soppressa o fortemente ridotta a causa della distruzione delle cellule β da parte del sistema immunitario. I marcatori della distruzione immunitaria delle cellule β includono gli autoanticorpi delle cellule dell'isolotto, gli autoanticorpi all'insulina, gli autoanticorpi alla GAD (GAD65) e gli autoanticorpi alle tirosina fosfatasi IA-2 e IA-2 β . Il tasso di distruzione delle cellule β è variabile: rapido in alcuni individui (soprattutto neonati e bambini) e lento in altri (soprattutto adulti). Alcuni pazienti, in particolare bambini e adolescenti, possono presentare la chetoacidosi come prima manifestazione della malattia, che consiste in una complicanza metabolica acuta, caratterizzata da iperglicemia, iperchetonemia e acidosi metabolica. Altri hanno una modesta iperglicemia a digiuno che può rapidamente evolvere in una grave iperglicemia e/o chetoacidosi in presenza di infezione o stress. Altri ancora, in particolare gli adulti, possono mantenere una funzione β -cellulare residua sufficiente a prevenire la chetoacidosi per molti anni; questi individui, col tempo, diventano dipendenti dall'insulina per la sopravvivenza. In

condizioni di chetoacidosi, la secrezione di insulina è scarsa o nulla e si manifesta con livelli bassi o non rilevabili di peptide c, il quale indica la secrezione di insulina endogena da parte delle cellule β del pancreas. I fattori eziologici della distruzione autoimmune delle cellule β sono sia genetici (associazione con alcuni alplotipi HLA) che ambientali, tuttavia ancora poco definiti. Sebbene i pazienti siano raramente obesi quando presentano questo tipo di diabete, la presenza di obesità non è incompatibile con la diagnosi. La scarsità o l'assenza di insulina, impedisce all'organismo di utilizzare il glucosio per produrre l'energia necessaria al suo funzionamento. Il glucosio, introdotto con l'alimentazione, non viene utilizzato e viene eliminato dal corpo attraverso le urine. Si verifica, quindi, un aumento del volume urinario, con conseguente aumento della sensazione di sete e un calo di peso improvviso dovuto al fatto che non vengono trattenute le sostanze nutritive. Questi pazienti sono anche soggetti ad altri disturbi autoimmuni come ad esempio: il morbo di Addison, la vitiligine, la colata celiaca, l'epatite autoimmune, la *miastenia gravis* e l'anemia perniciosa. Le cause di questa malattia sono ancora sconosciute ma, attualmente, il diabete di tipo 1 è classificato come una malattia autoimmune.

2.1.2 Diabete di tipo 2

Il diabete di tipo 2, precedentemente indicato come diabete non insulino-dipendente, o diabete ad insorgenza adulta, rappresenta il 90-95% dei casi; comprende individui che hanno una resistenza all'insulina e di solito hanno una carenza di insulina relativa. Almeno inizialmente e spesso per tutta la vita, questi individui non hanno bisogno di cure insuliniche per sopravvivere. La maggior parte dei pazienti è obesa e l'obesità stessa causa un certo grado di resistenza all'insulina. I pazienti che non sono obesi secondo i tradizionali criteri (con indice di massa corporea maggiore di 30), possono avere una percentuale maggiore di grasso corporeo distribuito prevalentemente nella regione addominale. La chetoacidosi raramente si verifica spontaneamente in questo tipo di diabete; quando viene diagnosticata, di solito si

presenta in associazione con altre patologie in corso. Questa forma di diabete spesso non viene diagnosticata per molti anni perché l'iperglicemia si sviluppa gradualmente e nelle fasi iniziali spesso non è abbastanza grave da far notare al paziente nessuno dei classici sintomi del diabete. Alcuni dei tipici sintomi del diabete di tipo 2 sono: sensazione di stanchezza, frequente bisogno di urinare anche nelle ore notturne, sete inusuale, perdita di peso, visione offuscata e lenta guarigione delle ferite. Tali pazienti sono a maggior rischio di sviluppare complicanze macro e microvascolari. I pazienti affetti da diabete di tipo 2 possono presentare normali livelli di insulina, i quali però non fronteggiano livelli più alti di glucosio nel sangue. Si viene a verificare resistenza insulinica, la quale può migliorare con la riduzione del peso e/o il trattamento farmacologico dell'iperglicemia, ma raramente viene riportata alla normalità. Il rischio di sviluppare questa forma di diabete aumenta con l'età, l'obesità e la mancanza di attività fisica. Si verifica più frequentemente nelle donne che hanno avuto storia di diabete gestazionale e in individui con ipertensione o dislipidemia e la sua frequenza varia a seconda dei diversi sottogruppi razziali/etnici. Il diabete di tipo 2 è spesso associato a una forte predisposizione genetica, più di quanto non lo sia la forma autoimmune del diabete di tipo 1. Tuttavia, la genetica di questa forma di diabete è complessa e non completamente definita.

2.1.3 Diabete Gestazionale

Per molti anni, il diabete mellito gestazionale (GDM) è stato definito come un qualsiasi grado di intolleranza al glucosio con insorgenza o primo riconoscimento durante la gravidanza. Anche se la maggior parte dei casi si risolve con il parto, la definizione è stata applicata indipendentemente dal fatto che la condizione sia persistita o meno dopo la gravidanza e non ha escluso la possibilità che l'intolleranza al glucosio non riconosciuta possa essere stata aggravata o iniziata in concomitanza con la gravidanza. Questa definizione ha facilitato una

strategia uniforme per il rilevamento e la classificazione del GDM, ma i suoi limiti sono stati riconosciuti per molti anni.

2.1.4 Altri tipi specifici di diabete

Difetti genetici della cellula β . Diverse forme di diabete sono associate a difetti monogenetici della funzione β cellulare. Esse sono spesso caratterizzate dall'insorgenza di iperglicemia in età precoce (generalmente prima dei 25 anni). Queste forme sono indicate con la sigla MODY, acronimo dall'inglese di "*Maturity Onset Diabetes of the Young*" che definisce una forma rara di diabete (1-2% dei diabetici), non autoimmune, caratterizzata da una iperglicemia familiare con un'eredità autosomica dominante. Questa condizione è causata da una mutazione puntiforme o di una sequenza di un singolo gene importante per lo sviluppo o la funzionalità della β -cellula pancreatica, con conseguente alterazione della secrezione di insulina. Ad oggi sono state classificate 6 forme di diabete MODY, denominate dall'1 al 6; le due principali (75-90% dei casi), diverse tra loro, sono il MODY 2 e il MODY 3. Il diabete MODY 2 è associato a mutazioni a livello del gene che codifica per l'enzima glucochinasi. La glucochinasi è preposta alla fosforilazione del glucosio a glucosio-6-fosfato che a sua volta stimola la secrezione di insulina da parte delle cellule β del pancreas. La difettosa espressione di tale enzima è responsabile di una secrezione insulinica deficitaria (ADA, 2008). Il diabete MODY 3, la forma più frequente tra i MODY (70%), è associato a un difetto della secrezione di insulina, sia in risposta al glucosio che all'arginina, dovuta a mutazioni del gene HNF-1 α (dall'inglese *Hepatocytic Nuclear Factor-1 α* o *Fattore nucleare epatocitario 1 α*). Le persone con diabete MODY-3 possono presentare anche un danno nella secrezione del glucagone in risposta all'arginina. Ciò significa che esiste un'alterazione sia a livello delle cellule pancreatiche beta (dove viene prodotta l'insulina) sia a livello di quelle alfa, responsabili della produzione del glucagone. Altre forme meno comuni derivano da

mutazioni in fattori di trascrizione quali HNF-4 α (MODY 1), HNF-1b (MODY 5), IPF-1 (*Insulin Promoter Factor*, MODY 4) e NeuroD1 (MODY 6).

Malattie del pancreas esocrino. Qualsiasi processo patologico che danneggia diffusamente il parenchima pancreatico può causare diabete. I processi in questione includono: pancreatite, trauma, infezione, pancreatectomia e carcinoma pancreatico. Gli eventuali danni al pancreas devono essere estesi perché si verifichi il diabete. Alcuni adenocarcinomi che coinvolgono anche solo una piccola parte del pancreas sono stati associati all'insorgenza del diabete. Inoltre, se sufficientemente estese, la fibrosi cistica e l'emocromatosi danneggiano le cellule β e compromettono la secrezione di insulina.

2.2 Criteri diagnostici

Attualmente la diagnosi di diabete di tipo 1 e di tipo 2 si basa esclusivamente sulla presenza di iperglicemia o di emoglobina glicosilata $> 6.5\%$. Il dosaggio della glicemia deve essere eseguito su un prelievo di sangue venoso a digiuno. Un altro modo per effettuare la diagnosi di diabete è il test da carico orale di glucosio (OGTT o Oral Glucose Tolerance Test). Esso prevede l'assunzione di 75 g di glucosio e successivamente il controllo della glicemia a due ore dall'assunzione del di glucosio. L'OGTT rimane fondamentale per la diagnosi del diabete gestazionale, mentre attualmente non viene raccomandata dall'ADA (American Diabetes Association) per la diagnosi di diabete di tipo 1 e di tipo 2. La WHO (World Health Organization) continua, invece, a consigliarne l'utilizzo quando la glicemia a digiuno si trovi tra 110 e 126 mg/dl. Pertanto, attualmente, la glicemia viene considerata nella norma se è < 110 mg/dl (a digiuno) o < 140 mg/dl (2 ore dopo carico orale di glucosio). La diagnosi di diabete, invece, si pone in ognuno di questi casi: riscontro di almeno due valori di glicemia a digiuno ≥ 126 mg/dl, riscontro di glicemia casuale ≥ 200 mg/dl in presenza di sintomi tipici del diabete: poliuria, polidipsia, dimagrimento, glicemia 2 ore dopo carico orale di glucosio

(OGTT) \geq 200 mg/dl. Una volta effettuata la diagnosi di diabete, l'analisi dei corpi chetonici e degli autoanticorpi possono essere d'aiuto nel distinguere il tipo di diabete. Secondo l'ADA, infatti, i corpi chetonici (chetoni) dovrebbero essere misurati sia nel sangue, sia nelle urine dei pazienti diabetici, ma sempre come aggiunta alla diagnosi di diabete. Anche la ricerca nel sangue di autoanticorpi, rivolti contro antigeni pancreatici (anti GAD, anti IA2, anti insulina), non viene raccomandata per la diagnosi di diabete, bensì per una più corretta classificazione del tipo di diabete, oltre che per l'identificazione del LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults) oltre che per stabilire la progressione verso l'insulino-dipendenza. Questi dosaggi anticorpali spesso sono stati utilizzati per lo screening dei familiari di soggetti diabetici di tipo 1, poiché gli anticorpi possono essere presenti mesi o anni prima della comparsa dei sintomi della malattia.

2.3 Condizioni pre-diabetiche

Tra la normalità e il diabete, tuttavia, esistono delle condizioni intermedie che sono indicative di una predisposizione al suo sviluppo. Si parla di alterata glicemia a digiuno (IFG o Impaired Fasting Glucose) nel caso di riscontro di almeno due valori di glicemia, a digiuno, compresi fra 110 e 126 mg/dl; in questo caso si consiglia di eseguire OGTT almeno una volta l'anno. L'altra condizione intermedia si riferisce invece alla ridotta tolleranza glucidica (IGT o Impaired Glucose Tolerance) nel caso di almeno due valori di glicemia, 2 ore dopo carico orale di glucosio, compresi fra 140 e 200 mg/dl. Sia l'anomala glicemia a digiuno che l'intolleranza al glucosio meritano l'appellativo di pre-diabete, perché entrambe predispongono, se non corrette da una adeguata terapia, all'insorgenza di diabete e delle complicanze aterosclerotiche cardiovascolari.

CAPITOLO 3

Diabete mellito e patologie orali

Il diabete riveste un ruolo importante nell'insorgenza di numerosi quadri patologici del cavo orale, in primo luogo di carattere parodontale . Inoltre molteplici studi statistici e sperimentali, eseguiti su gruppi di pazienti affetti da diabete, hanno messo in evidenza una correlazione tra la gravità e la progressione delle lesioni orali e la serietà e durata della malattia diabetica. L'associazione tra malattia parodontale e diabete è stata oggetto di studio fin dall'inizio del nostro secolo e attualmente si ritiene che la malattia diabetica agisca da cofattore, favorendo la distruzione parodontale provocata dai batteri: le lesioni parodontali si osservano soprattutto in presenza di placca e tartaro e hanno una maggiore gravità nei soggetti diabetici.

3.1 Complicanze orali indotte dal diabete

Le nuove evidenze scientifiche degli ultimi anni analizzate in questa tesi confermano un'aumentata prevalenza, gravità ed estensione della malattia parodontale nei soggetti diabetici (Figura 3). I risultati degli studi sembrano inoltre evidenziare una maggior compromissione parodontale nei soggetti con uno scarso controllo glicemico. Non a caso infatti nella nuova classificazione delle malattie parodontali , nella sezione “modificatori di grado”, uno dei fattori di rischio fa riferimento proprio alla percentuale di emoglobina glicata nei soggetti diabetici:

1. Grado A (basso rischio di progressione della malattia parodontale): normale glicemia
2. Grado B (rischio moderato di progressione della malattia parodontale): HbA1c < 7%
3. Grado C (rischio di rapida progressione della malattia parodontale): HbA1c > 7%

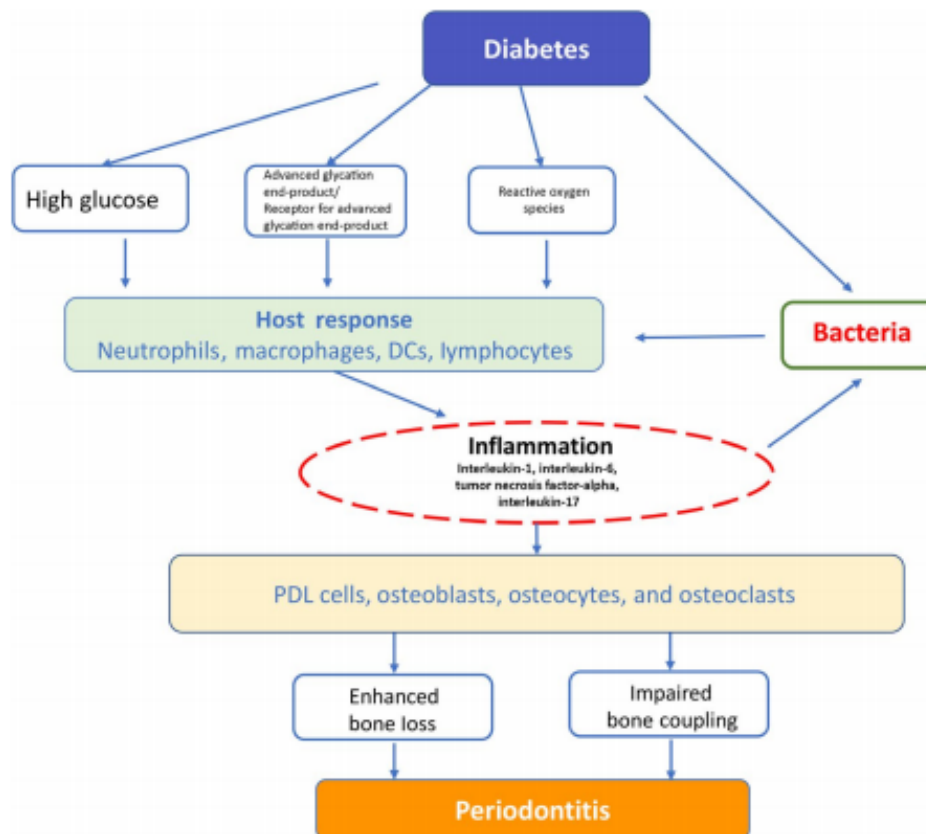


Figura1 Graves DT, Ding Z, Yang Y. The impact of diabetes on periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2020;82:214-224. La condizione diabetica porta ad un aumento della glicemia, della produzione di AGEs e di specie reattive dell'ossigeno che, nei tessuti parodontali, aumenta la risposta infiammatoria. La conseguenza diretta è la produzione di citochine pro-infiammatorie e mediatori a livello locale che portano a distruzione tissutale e riassorbimento osseo.

3.1.1 Diabete e alterazioni salivari

Una delle conseguenze indotte dal diabete a livello orale è l'iposcialia, anche detta iposalivazione, ovvero uno stato di insufficiente secrezione salivare. L'iposcialia potrebbe essere una conseguenza diretta della poliuria diabetica che porta all'aumento della quantità di urina emessa nelle 24h. Tuttavia, è da tener presente che i sintomi xerostomici nei pazienti diabetici possono essere correlati anche all'impiego degli ipoglicemizzanti orali.

E' stato osservato che i pazienti con diabete di tipo 1 e 2 presentano una riduzione del flusso salivare insieme ad una maggior concentrazione di proteine salivari rispetto ai soggetti sani.

Le alterazioni del flusso salivare sembrano essere più pronunciate nei soggetti con diabete 1

rispetto a quelli con diabete 2. La disfunzione delle ghiandole salivari diabete-indotta è stata associata alla neuropatia, responsabile di un'alterazione del sistema neurovegetativo che regola la secrezione salivare. La diminuzione della secrezione salivare stabilisce un quadro di xerostomia che è responsabile di una maggior incidenza di patologie orali quali alitosi, carie dentale, candidosi orale e cheilite angolare.

In particolare, la relazione tra diabete e carie dentale resta un problema dibattuto. Numerosi studi hanno indicato un tipo di correlazione indiretta data dalla diminuzione dell'attività tampone della saliva. Dobbiamo infatti considerare che i microorganismi cariogeni hanno un metabolismo che lavora in condizioni ottimali in presenza di un pH acido e, nel caso dei pazienti diabetici, questo è facilmente riscontrabile. Uno studio molto recente [Coelho et. al 2020] ha indicato un'alterazione del pH salivare di pazienti affetti da diabete di tipo 1. La più alta incidenza di carie nei soggetti con diabete di tipo 2 potrebbe essere correlata agli aumentati livelli di glucosio nei fluidi orali (saliva e fluido crevicolare), dovuti ai pasti più frequenti, non sempre seguiti da un'accurata igiene orale, e all'acidosi ematica. Entrambi stimolerebbero una più intensa attività saccarolitica e di conseguenza una maggior produzione di acidi da parte dei batteri. È stato visto inoltre come il pH tenda all'acidità nei soggetti scompensati mentre si mantenga nella norma nei soggetti con un buon compenso metabolico. Per quanto riguarda invece la composizione salivare, uno studio del 2018 condotto su 105 pazienti affetti da diabete di tipo 2 con scarso controllo glicemico e livelli di emoglobina glicosilata HbA1c > 8% confrontati con un gruppo di controllo, ha notato un sostanziale cambiamento nella composizione elettrolitica della saliva dato dall'aumento di sodio, fosfati, cloruri e calcio e una diminuzione del potassio che predispone all'accumulo di depositi di tartaro e all'insorgenza di lesioni cariose.

A livello microbiologico, un interessante studio del 2019 ha analizzato campioni di placca sopra e sotto-gengivale di pazienti affetti da diabete di tipo 2 confrontati con un gruppo di

controllo [Shi et. al, 2019]. Sono state valutate 17 specie batteriche utilizzando il metodo di ibridazione degli acidi nucleici (DNA-DNA). I pazienti diabetici presentavano una parodontite significativamente più grave, un indice di placca più elevato e soprattutto una maggior prevalenza di carie radicolari. A livello microbico, i soggetti diabetici presentavano livelli più elevati di *Treponema denticola*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus intermedius* nella loro placca sopra-gengivale rispetto ai soggetti non diabetici. Non è stata riscontrata nessuna differenza significativa a livello della placca sotto gengivale. Tuttavia lo studio conclude che la maggior incidenza di carie radicolare è stata associata ad un aumento del numero di *Streptococcus mutans* (agente eziologico primario nell'insorgenza di carie) e lattobacilli.

3.1.2 Diabete e infezioni fungine orali

La candidosi orale e in generale le infezioni opportunistiche da funghi rappresentano un'importante manifestazione orale di diabete mellito incontrollato (Figura 2). A tal proposito è stato recentemente condotto uno studio [Asanga et. al, 2019] sulla saliva di 250 pazienti affetti da diabete di tipo 2 e 81 non diabetici appartenenti al gruppo di controllo. La crescita e la quantità dei lieviti è stata quantificata e specificata utilizzando la tecnica della reazione a catena della polimerasi (multiplex-PCR). Lo studio ha dimostrato che la prevalenza orale delle specie *Candida* tra i due gruppi è simile (81%), sebbene una percentuale significativamente (32,8%) dei soggetti diabetici produca una quantità di lieviti >2000 CFU/mL maggiore rispetto a solo il 12,3% del gruppo di controllo. Sono state osservate associazioni significative tra la prevalenza orale di lieviti tra i diabetici e il sesso femminile, il fumo di sigaretta e l'utilizzo di protesi dentarie incongrue. Tra entrambi i gruppi (diabetici e di controllo), *C.albicans* era la più comune specie di *Candida* isolata seguita da *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*.



Figura 2 Lamster, I. B., Lalla, E., Borgnakke, W. S., & Taylor, G. W. (2008). *The Relationship Between Oral Health and Diabetes Mellitus. The Journal of the American Dental Association*, 139, 19S–24S.

Candidosi orale in un paziente con diabete mellito scarsamente controllato. Il dorso della lingua risulta eritematoso.

Il diabete è inoltre associato ad una maggior probabilità di sviluppare alcune patologie della mucosa orale come lesioni da lichen planus, stomatiti aftose ricorrenti ed infezioni fungine orali. Tali lesioni sono state correlate all'immunosoppressione cronica caratteristica della malattia diabetica.

3.2 Alterazioni parodontali indotte dal diabete

3.2.1 Diabete e infiammazioni del parodonto

Le complicanze diabetiche che si manifestano nel parodonto sono spesso correlate all'aumento dell'infiammazione locale. Nei pazienti affetti da diabete, sia di tipo 1 che di tipo 2, si verifica una condizione di alterazione immunitaria che può inibire il killing batterico nella tasca parodontale ed aumentare significativamente il livello di distruzione parodontale. In particolare, sia nel diabete di tipo 1 che in quello di tipo 2, si assiste ad un aumento dell'espressione delle citochine pro-infiammatorie come IL-1b, IL-17, IL-6, prostaglandina E2 e TNF- α a livello dei tessuti parodontali [Polak D et. al, 2018]. Difatti, nonostante la riduzione dell'attività di chemiotassi dei neutrofili si assiste ad una iperfunzione e quindi maggior responsività dei monociti/macrofagi che determina un aumento significativo della produzione di citochine pro-infiammatorie e di mediatori.

Secondo diversi studi scientifici, l'esposizione cronica ad un alto contenuto di glucosio sembra giocare un importante ruolo nell'aumento della severità e prevalenza della malattia parodontale. I pazienti che mostrano un buon controllo glicemico sono meno esposti alla distruzione parodontale. Secondo la National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) lo scarso controllo glicemico, nel diabete di tipo 2, porta ad una maggior severità della parodontite (Figura 3).



Figura3 Lamster, I. B., Lalla, E., Borgnakke, W. S., & Taylor, G. W. (2008). *The Relationship Between Oral Health and Diabetes Mellitus. The Journal of the American Dental Association*, 139, 195–245. Malattia parodontale in un paziente con diabete mellito scarsamente controllato. Questa vista palatale mostra il tessuto granulomatoso al margine gengivale con suppurazione spontanea.

Per poter verificare tale associazione, sono stati analizzati da un recente studio dei campioni di fluido crevicolare gengivale di 45 pazienti affetti da diabete di tipo 2 e parodontite cronica non trattata. I livelli di IL-1 β nel fluido crevicolare sono stati determinati con la tecnica ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). I risultati hanno mostrato una significativa correlazione tra pazienti che mostravano alti livelli di emoglobina glicosilata (HbA1c > 8%) e la presenza di IL-1 β nel fluido crevicolare gengivale, rispetto a coloro che presentavano un miglior controllo glicemico (HbA1c < 8%).

E' stato inoltre osservato che i monociti del sangue periferico dei pazienti diabetici producono livelli più elevati di TNF- α in risposta agli antigeni di *P. gingivalis* rispetto ai monociti dei soggetti controllo non diabetici.

La condizione di iperglicemia nei tessuti dei soggetti diabetici porta inoltre ad una maggiore produzione di specie reattive dell'ossigeno "ROS". I ROS sono prodotti allo scopo di danneggiare i batteri parodontopatogeni, tuttavia essi sono rilasciati sia nell'ambiente intracellulare sia extracellulare, distruggendo non soltanto i batteri ma anche i tessuti limitrofi. Diversi studi dimostrano che i danni al tessuto parodontale sono causati dall'aumentata produzione di ROS durante l'attività fisiologica dei PMN nel processo della fagocitosi batterica. Inoltre, una diminuzione della capacità antiossidante nei pazienti con diabete mellito di tipo 2 e parodontite cronica può indirettamente aumentare l'impatto e la severità da parte delle specie reattive dell'ossigeno .

3.2.2 Prodotti finali di glicosilazione avanzata AGEs

Lo stato di iperglicemia cronica nel paziente diabetico porta alla glicosilazione irreversibile delle proteine e dei lipidi, determinando la formazione e l'accumulo dei prodotti finali di glicosilazione avanzata (AGEs). Gli AGEs si accumulano nella maggior parte dei tessuti dei soggetti diabetici, compresi reni, retina, gengiva e ossa. I principali effetti degli AGEs sono mediati dal legame col loro recettore RAGE e altri recettori. Questo legame è responsabile di una vasta gamma di alterazioni cellulari. Ad esempio è stato ipotizzato che l'interazione AGE-RAGE a livello dei monociti, induca uno stress ossidativo che può contribuire ad una eccessiva attivazione cronica di tali cellule. Inoltre questa associazione provoca l'attivazione del fattore trascrizionale nucleare KB, che stimola la produzione di citochine pro-infiammatorie (TNF- α , IL-1 β e IL-6), determinandone un'aumentata secrezione, e quindi danno tissutale a livello parodontale [Nonaka, et. al 2018].

3.2.3 Alterazioni a livello dell'osso alveolare

Il diabete di tipo 1 nell'uomo provoca complicazioni riguardanti la formazione ossea inadeguata, con conseguente osteopenia e guarigione tardiva delle fratture [Lina et. al 2020]. In presenza di un ambiente iperglicemico, inoltre i fibroblasti e gli osteoblasti del tessuto gengivale e del legamento parodontale producono ridotte quantità di collagene e di glicosaminoglicani, ciò provoca alterazioni nella capacità di guarigione delle ferite [Ozkan et. al 2019]. Anche gli AGEs hanno effetti deleteri sul tessuto osseo. Come già accennato, infatti l'interazione AGE-RAGE modula le proprietà cellulari attraverso la generazione di citochine pro-infiammatorie che partecipano all'apoptosi cellulare. Per studiare i meccanismi con cui il diabete influenza la formazione ossea, sono stati effettuati esperimenti su cavie a cui è stato indotto il diabete con streptozotocina a basso dosaggio, con successiva ablazione del midollo. La streptozotocina è un farmaco tossico per le cellule beta del pancreas [Huafei Lu et. al 2003]. Gli esiti dell'analisi istologica e molecolare hanno constatato un evidente deficit nella sintesi di osso, dimostrata dalla diminuita espressione di osteocalcina e collagene di tipo I.

L'aumento dell'infiammazione sistemica e dei suoi mediatori, in corso di diabete e parodontite induce quindi ad apoptosi delle cellule deputate alla formazione di matrice come fibroblasti e osteoblasti, limitando in questo modo anche i processi riparativi [H. Toker et. al, 2018]. Tuttavia è stato dimostrato che l'inibizione del recettore per i prodotti finali della glicosilazione RAGE porta ad una diminuzione dell'espressione del TNF- α , riducendo di conseguenza i processi di apoptosi, riassorbimento dell'osso alveolare e ripristinando la proliferazione delle cellule del rivestimento osseo, accelerando la guarigione delle ferite grazie al processo di angiogenesi.

3.2.4 Alterazioni microvascolari

Una delle alterazioni microvascolari da tenere in considerazione è la microangiopatia. Lo stato di iperglicemia cronica che si verifica nella sindrome diabetica causa un ispessimento della membrana basale dei capillari, che induce che causa un ridotto apporto di ossigeno e sostanze nutritive ai tessuti, difficoltà nella migrazione leucocitaria, nella diffusione degli anticorpi e nell'eliminazione di metaboliti. Questa condizione rende i tessuti più suscettibili e impreparati alle aggressioni microbiche [Hiroshi et. al, 2017].

3.3 Effetti sul microbiota orale

In un rapporto dell'American Academy of Periodontology and European Federation of Periodontology, stilato nel 2013 [Chapple et. al, 2013] veniva dichiarata l'assenza di prove consistenti sull'impatto negativo del diabete sul microbiota orale. Questa conclusione si basava sulla review di numerosi studi sull'uomo che riportava risultati contraddittori. Approcci più moderni che utilizzano il sequenziamento del DNA per la valutazione della composizione batterica hanno riportato differenze significative nel microbiota orale tra soggetti diabetici e non diabetici. Per poter evitare variabili confondenti come fattori ambientali e altre influenze specifiche, sono stati effettuati degli studi su cavie. Le cavie con diabete mellito di tipo 2 sono state confrontate con un gruppo di controllo; i risultati a livello microbico mostravano aumentati livelli di Enterococchi, Stafilococchi e Aerococchi. Inoltre l'effetto complessivo del diabete sul microbiota orale sembrava consistere in una riduzione della diversità microbica e una ridotta stabilità rispetto al gruppo di controllo. Quest'ultimo aspetto sembrava essere accompagnato da una maggiore suscettibilità alla colonizzazione in seguito a inoculazione con *P.gingivalis*. Per testare la maggior patogenicità del microbiota orale delle cavie diabetiche rispetto a quelle appartenenti al gruppo di controllo, sono stati prelevati campioni di batteri sia da cavie diabetiche che non. I campioni prelevati da entrambi i gruppi, sono stati trasferiti nel cavo orale di altre cavie in salute. I risultati hanno mostrato

una risposta infiammatoria nettamente maggiore nelle cavie che avevano ricevuto l'inoculazione di batteri da parte del gruppo diabetico. Difatti, essi mostravano una maggiore stimolazione nella produzione di neutrofili e una maggior espressione di citochine infiammatorie oltre a un maggior riassorbimento osseo e formazione di osteoclasti [Xiao et. al, 2017]. A causa della complessità delle specie e sottospecie batteriche, è risultato difficile fornire ulteriori dettagli sui meccanismi patogenetici che portano la sindrome diabetica ad influenzare il microbiota orale.

CAPITOLO 4

Malattia parodontale ed esacerbazione dello stato diabetico

Come spiegato nel precedente capitolo, ci sono diversi meccanismi biologicamente plausibili che spiegano l'impatto negativo della sindrome diabetica sul parodonto. Meno chiaro, ad oggi, risulta l'impatto delle malattie parodontali sul controllo glicemico e sui meccanismi biologici che spiegherebbero tale interazione.

Nei soggetti diabetici con parodontite si è osservato un peggioramento nel controllo della glicemia e un aumentato rischio di sviluppare complicanze [Demmer et. al, 2012].

Come già accennato in precedenza, nel corso della malattia parodontale, le citochine pro-infiammatorie maggiormente prodotte come IL-1, IL-6, TNF- α e la prostaglandina E2 possono facilmente traslocare dalla tasca parodontale alla circolazione sistemica, per poi esercitare i loro effetti negativi su organi distanti. Inoltre è stato stimato che, nelle malattie parodontali gravi, la superficie cumulativa dell'epitelio ulcerato a livello della tasca possa arrivare ad un range tra 8 e 20 cm² [Mealey et. al, 2008]. La conseguente batteremia ed endotossinemia possono essere indotte da procedure odontoiatriche più invasive, sia da normali attività quotidiane (come la masticazione o lo spazzolamento). In questo modo, le infezioni parodontali croniche possono indurre o perpetuare uno stato infiammatorio sistemico cronico elevato, contribuendo all'aumento della resistenza all'insulina e allo scarso controllo glicemico, facilitando l'insorgenza della sindrome diabetica e/o esacerbandola. I pazienti parodontali che presentano una flora microbica principalmente gram-negativa che comprende microorganismi come *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* o *Prevotella intermedia*, presenterebbero alti livelli di proteina C-reattiva e fibrinogeno rispetto a pazienti non parodontali. A tal proposito, lo studio di Chuengsamarn et. al del 2017 ha indicato che

un'inflammation sistemica di grado lieve può essere coinvolta nella patogenesi del diabete mellito di tipo 2. L'inflammation, secondo gli autori, potrebbe rappresentare un meccanismo mediante il quale i fattori di rischio per il diabete mellito, compresa la malattia parodontale, ne promuoverebbero lo sviluppo. Altre prove a sostegno di questa tesi riguardano uno studio condotto nella comunità indiana del fiume Gila dove si è verificato un aumento del rischio di diabete a causa dello scarso controllo glicemico, in soggetti con parodontite monitorati per 2 anni [Taylor et. al, 1996]. Sempre nella stessa comunità, studi più recenti su pazienti con diabete di tipo 2, hanno identificato che l'incidenza di macroalbuminuria era 2,6 volte più elevata in coloro che presentavano parodontite moderata, grave o che avevano una condizione di edentulismo rispetto a quelli con parodontite assente o lieve. Allo stesso modo, i pazienti con diversa gravità di malattia parodontale o edentulismo presentavano un'incidenza della malattia renale allo stadio finale (ESRD) fino a 4,9 volte maggiore rispetto ai soggetti con parodontite lieve o assente. Sulla base di analisi statistiche, quindi, è stato confermato il ruolo della parodontite come fattore di rischio per l'esacerbazione di complicanze diabetiche. Altri elaborati scientifici hanno riportato che la prevalenza e la gravità delle complicanze sistemiche legate al diabete, tra cui la retinopatia, la neuropatia diabetica, la proteinuria e le complicanze cardiovascolari, sono direttamente proporzionali alla gravità della parodontite.

Un recente studio [Oyarzo et. al, 2019] mirava a definire lo stato parodontale dei pazienti diabetici di tipo 2 e la sua correlazione con aumentati parametri metabolici e infiammatori. Sono stati inclusi 30 pazienti con recente diagnosi di diabete mellito di tipo 2 e sono stati raccolti dati antropometrici (indice di massa corporea, IMC), metabolici (glucosio a digiuno, emoglobina glicata, insulina, HOMA-IR, HDL, LDL e trigliceridi) e infiammatori (proteina C reattiva ultrasensibile, usCRP). La valutazione parodontale comprendeva la misurazione del livello di attacco clinico (CAL), la profondità di sondaggio (PD) e il sanguinamento al sondaggio (BOP). Il 15% delle persone coinvolte presentava parodontite grave (con una

media di perdita di attacco clinico di 5-6 mm). Le analisi statistiche sono state valutate con test di valutazione Mann-Whitney e Spearman. L'associazione tra l'infiammazione gengivale e aumentati livelli circolanti di usCRP è risultata positiva. Infatti la media dell'indice di sanguinamento gengivale era significativamente più alta nei pazienti con usCRP ≥ 3 mg/L. Inoltre il BOP è risultato positivamente correlato all'indice di valutazione dell'insulino-resistenza HOMA-IR, indipendentemente dal numero o dalla percentuale di siti con CAL ≥ 4 mm, suggerendo una correlazione clinica con l'infiammazione parodontale locale (Figura 4). Un legame fisiopatologico per questa associazione potrebbe consistere in un'infiammazione sistemica indotta dalla parodontite mediante i meccanismi di traslocazione precedentemente citati. Sono comunque necessari ulteriori approfondimenti scientifici per rilevare e comprendere i meccanismi alla base del peggioramento insulinico a causa della parodontite.

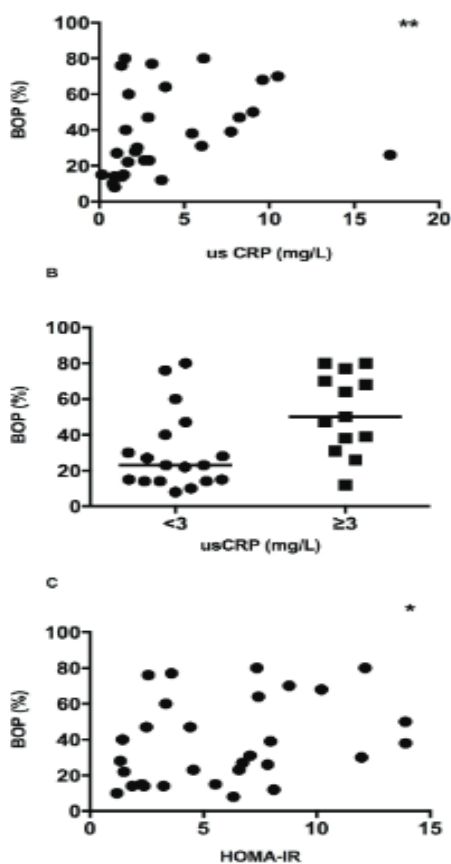


Figura 4 OyarzoN., RiverosM., AndaurC., LiberonaJ., &CortésV. (2019). Infiammazione parodontale correlata ad infiammazione sistemica e insulino-resistenza in pazienti con recente diagnosi di diabete di tipo 2. *ARS MEDICA Revista De CienciasMédicas*, 44(1), 6-12 A. Correlazione tra il BOP e la usCRP; B. Correlazione tra il BOP e la CRP \geq o $<$ 3 mg/L ; C. Correlazione tra il BOP e l' HOMA-IR.

Uno studio prospettico di 5 anni su 2.973 individui non diabetici ha dimostrato l'impatto della parodontite sui cambiamenti dell'emoglobina glicosilata [Demmer et. al, 2010]. I partecipanti con forme di parodontiti più gravi hanno dimostrato un aumento di circa cinque volte di HbA1c durante i 5 anni dello studio, rispetto a quelli senza parodontite. (variazione di HbA1c $0,106 \pm 0,03\%$ vs $0,023 \pm 0,02\%$). Questo è stato il primo studio a individuare la parodontite come fattore direttamente responsabile della progressione dell'HbA1c tra gli individui non diabetici. Gli autori hanno suggerito che il prolungamento dello studio a 10 anni avrebbe permesso di determinare se tali cambiamenti subclinici dell'emoglobina glicosilata possono tradursi in aumento del rischio dell'insorgenza del diabete a causa di parodontite. Se, in seguito a dovuti approfondimenti clinici, tale rapporto dovesse essere, allora questi dati avrebbero sostanziale importanza per la salute pubblica, data la disponibilità di efficaci terapie per questo eventuale fattore di rischio.

CAPITOLO 5

Igiene orale professionale nel paziente diabetico

5.1 La terapia parodontale non chirurgica e di supporto

Il trattamento parodontale non chirurgico viene effettuato mediante l'utilizzo di strumenti manuali e meccanici (sonici e ultrasonici). Consiste in procedure di strumentazione sopra e sotto-gengivale che vengono definite come: scaling (o detartrasi), rootplaning (o levigatura radicolare) e debridment. Il Workshop Mondiale dell'Accademia americana di Parodontologia del 1996 definì la tecnica di scaling e root planing come: *“Un trattamento effettuato allo scopo di rimuovere placca batterica, tartaro, cemento o strati di dentina superficiali, rugosi, rivestiti di tartaro e/o contaminati da tossine e microorganismi, dalle superfici radicolari”*[Papapanou, 1996]. In particolare, la levigatura radicolare può essere eseguita dall'igienista “a cielo coperto” o dall'odontoiatra “a cielo aperto”, mediante apertura di un lembo chirurgico. Il termine debridment descrive l'insieme delle manovre di strumentazione parodontale necessarie a rispondere a tutte le esigenze della terapia parodontale non chirurgica. Al termine della seduta di igiene orale professionale è importante iniziare una terapia parodontale di supporto allo scopo di arrestare o rallentare la progressione della malattia parodontale e prevenire l'insorgenza di recidive. Il paziente deve essere monitorato dall'igienista con richiami regolari a seconda delle esigenze.

5.2 Linee di comportamento specifiche per il paziente diabetico

5.2.1 Importanza dell'istruzione e della motivazione

Generalmente molti pazienti, non riescono a capire l'importanza delle terapie di prevenzione e delle linee di comportamento da adottare per evitare il peggioramento di una patologia in

corso, sia sistemica che locale. In particolare, i pazienti diabetici, risultano poco informati sull'esistenza di una correlazione tra la loro patologia e la malattia parodontale. Tale criticità è stata sottolineata da uno studio condotto nel 2008 da Mühlhauser et.al che, mediante l'impiego di un questionario, ha evidenziato quanto la conoscenza dell'aumentato rischio per la malattia parodontale fosse ridotta. Solo il 33% dei partecipanti ne era a conoscenza; mentre l'84% era informato sull'aumentato rischio di malattia cardiaca, il 98% sul rischio di problemi alla vista, il 99% sui problemi vascolari ed il 94% sulle complicazioni renali. E' pertanto fondamentale informare tali pazienti sul rischio di parodontite associato e viceversa sugli effetti di una scarsa igiene orale sullo stato diabetico stesso. In primo luogo, l'igienista dentale deve istruire il paziente sottolineando l'importanza, non solo del controllo della glicemia attraverso un'attenta aderenza alla terapia, ma di un'alimentazione sana, della cessazione di abitudini viziate come fumo e alcol e di un moderato e costante esercizio fisico. Ciò attraverso l'applicazione delle giuste tecniche di comunicazione per motivare ed istruire i pazienti diabetici anche al controllo ed alla rimozione della placca batterica tramite una corretta igiene domiciliare, al fine di prevenire e controllare le patologie parodontali che possono esacerbare il loro stato.

5.2.2 Gestione del paziente

Dopo aver valutato attentamente l'anamnesi, prima di procedere alla strumentazione parodontale, l'igienista ha il compito di tranquillizzare il paziente. Questo è fondamentale per evitare che l'eccessiva ansia provochi un rilascio endogeno di catecolamine e altri neurotrasmettitori che indurrebbero risposte di "lotta e fuga" con conseguenze da non sottovalutare come ad esempio un aumento della pressione e della gittata cardiaca oppure la stimolazione di glicogenolisi e lipolisi per fornire velocemente substrati ossidabili al cervello, al cuore e alla muscolatura. Tali condizioni, nel paziente diabetico, potrebbero portare ad uno squilibrio. Nei casi più estremi quindi è necessario ricorrere a procedure ansiolitiche prima del

trattamento al fine di evitare pericolosi squilibri glicemici. In seguito alla valutazione della glicemia, se il livello di glucosio nel sangue è basso, allora sarà necessario far assumere al paziente una piccola quantità di carboidrati per via orale prima dell'inizio del trattamento al fine di ridurre il rischio di un evento ipoglicemico; in questo caso sarebbe ideale prendere l'appuntamento col paziente la mattina dopo colazione. Se, al contrario, la glicemia risulta alta il paziente dovrebbe consultare il proprio medico di base o medico diabetologo per una visita che ne possa accertare l' idoneità per poter affrontare le procedure odontoiatriche. Le sedute di igiene orale professionale e, in generale, i trattamenti odontoiatrici dovrebbero essere brevi, il meno possibile traumatici e non dovrebbero interferire con la possibilità di una corretta assunzione di cibo.

5.3 Effetti della terapia parodontale non chirurgica su pazienti con diabete mellito

Diverse ricerche hanno analizzato l'effetto della terapia parodontale non chirurgica in pazienti con diabete mellito. Il trattamento parodontale non solo riduce l'infiammazione clinicamente evidente a livello locale, ma è stato associato anche a diminuzioni di IL-6, TNF- α e CRP circolanti, indicando effetti benefici a livello sistemico. In questa parte del mio elaborato di tesi, mostro una revisione riguardante studi effettuati di recente.

Come già noto, il controllo glicemico nei pazienti con diabete di tipo 2, è di vitale importanza per poter evitare una serie complicazioni sistemiche. A tal proposito una recente review [Cao et. al, 2019] ha analizzato l'efficacia della terapia parodontale non chirurgica, associata a trattamenti coadiuvanti (somministrazione di doxiciclina e amoxicillina, trattamento laser a diodo, trattamento fotodinamico, trattamento locale con gel alla clorexidina), nel miglioramento del controllo glicemico in pazienti con parodontite e diabete di tipo 2 senza altre malattie sistemiche, prendendo in considerazione 14 studi randomizzati controllati che avevano una durata di almeno 3 mesi, in cui sono stati considerati in totale 629 pazienti da 30

anni in su affetti da diabete e parodontite. La maggior parte degli studi prevedeva di impartire istruzioni di igiene orale domiciliare. In generale, i risultati mostrano che il trattamento parodontale non chirurgico nei pazienti diabetici con parodontite migliora la percentuale di emoglobina glicosilata e che diverse terapie coadiuvanti, quali la somministrazione di doxiciclina e la terapia fotodinamica consentono di migliorare il risultato.

Uno studio randomizzato controllato [Nishioka et. al, 2019], ha analizzato gli effetti della terapia parodontale non chirurgica su pazienti affetti da diabete borderline di tipo 2, secondo i criteri diagnostici per il diabete della Japan Diabetes (glicemia a digiuno sierica di 6,1–7,0 mmol / L [110–125 mg / dL] e / o livelli di glucosio postprandiale di 2 ore di 7,8–11,1 mmol / L [140–199 mg / dL] e test di carico orale al glucosio a 75g [OGTT]) e che non assumevano farmaci. I partecipanti, sia uomini che donne di età compresa tra i 30 e i 79 anni, sono stati suddivisi in modo casuale in due gruppi di intervento. Sono stati esclusi partecipanti edentuli. L'igienista dentale ha eseguito la terapia parodontale non chirurgica seguendo un preciso piano di trattamento a seconda delle condizioni orali di ogni paziente. Prima di ogni seduta, i pazienti hanno effettuato un risciacquo di circa 30 secondi con un collutorio a base di clorexidina digluconato allo 0.2%.

Durante il periodo di intervento sono stati estratti i denti non conservabili. Oltre alla terapia odontoiatrica, il dentista e l'igienista dentale, hanno fornito ai partecipanti allo studio istruzioni sul mantenimento domiciliare. Per valutare i risultati dello studio, sono stati considerati gli indici HOMA-IR o indice di resistenza all'insulina, HOMA- β per valutare la funzione beta-cellulare, i livelli di HbA1c e l'indice di Matsuda (che si esegue effettuando un OGTT con 75 g di glucosio per poi prelevare campioni di glicemia e insulina a diversi intervalli di tempo).

I risultati di questo studio hanno mostrato che nei pazienti con parodontite in stato avanzato la terapia parodontale non esplica effetti significativi su tali marcatori. Tuttavia, si è scoperto

che i partecipanti affetti da parodontite lieve, con una percentuale di BOP < 37%, hanno mostrato miglioramenti significativi nel loro BMI, insulina sierica a digiuno, HOMA-IR, HOMA-β e Matsuda Index, rispetto a coloro che presentavano un BOP ≥ 37% (Figura 5).

	BOP (%) prior to intervention						P value
	< 37%			≥ 37%			
Number of subjects	36			35			
BMI (kg/m ²)	-0.60	±	0.88	-0.11	±	0.65	0.01
HbA _{1c} (%)	0.02	±	0.19	-0.01	±	0.23	0.61
Fasting serum glucose (mmol/L)	-0.01	±	0.48	0.03	±	0.38	0.66
1-h serum glucose (mmol/L)	0.61	±	2.54	0.70	±	1.89	0.86
2-h serum glucose (mmol/L)	-0.29	±	1.77	0.58	±	2.20	0.07
Fasting serum insulin (μU/mL)	-0.57	±	1.84	0.70	±	2.31	0.01
1-h serum insulin (μU/mL)	-0.27	±	31.6	5.98	±	25.9	0.37
2-h serum insulin (μU/mL)	4.60	±	37.6	8.70	±	32.7	0.62
HOMA-IR	-0.12	±	0.52	0.20	±	0.65	0.03
HOMA-β	-6.72	±	27.2	5.33	±	18.7	0.03
Matsuda Index	0.32	±	2.14	-1.19	±	3.29	0.03

Figura 5 Nishioka, S., Maruyama, K., Tanigawa, T., Miyoshi, N., Eguchi, E., Nishida, W., Saito, I. (2019). *Effect of non-surgical periodontal therapy on insulin resistance and insulin sensitivity among individuals with borderline diabetes: A randomized controlled trial. Journal of Dentistry.* Cambiamenti in ciascuna misurazione durante il periodo di intervento in base alla percentuale media di BOP (%) prima dell'intervento.

Tuttavia altri due studi di meta-analisi, che esaminavano la relazione tra il trattamento parodontale non chirurgico e un miglioramento nel controllo glicemico tra i pazienti con diabete di tipo 2, hanno mostrato riduzioni di HbA1c e livelli di glucosio plasmatico a digiuno nei pazienti diabetici [Q. Li et. al, 2015], [F. Sgolastra et. al, 2013]. Questi dati contrastanti potrebbero dipendere dalla gravità della malattia parodontale nelle rispettive popolazioni di studio. Infatti, la media della profondità di sondaggio e della percentuale di sanguinamento in queste meta-analisi sono state inferiori rispetto alla media dei partecipanti dell'altro studio. Livelli di BOP elevati indicano la presenza di infiammazione e continua crescita dei batteri parodontali nella tasca. Il sanguinamento che ne deriva è dovuto al fatto che, in corso di malattia parodontale, aumentano le concentrazioni di emoglobina nel liquido crevicolare gengivale, che a sua volta stimola la secrezione di citochine pro-infiammatorie come TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-8. Un altro potenziale motivo è legato ai cambiamenti nello stile di vita. I partecipanti con BOP minore, in questo studio, hanno mostrato una maggiore compliance e una maggiore consapevolezza dei risultati che avrebbero ottenuto seguendo i consigli degli

esperti. Un ultimo motivo è dovuto al fatto che la terapia non è stata standardizzata bensì personalizzata a seconda delle condizioni parodontali e dei relativi livelli di salute.

In base a uno studio analizzato nel precedente capitolo, è risultata positiva l'associazione tra l'infiammazione gengivale e aumentati livelli circolanti di hsCRP. La media dell'indice di sanguinamento gengivale era significativamente più alta nei pazienti con $\text{hsCRP} \geq 3 \text{ mg/L}$ affetti da diabete di tipo 2. Non solo, alti livelli di hsCRP sono stati identificati come indicatori di rischio degni di nota per la progressione del diabete mellito [Pradhan et. al, 2001]. I pazienti con parodontite hanno mostrato una concentrazione di hsCRP più alta rispetto a soggetti sani, ma solo pochi studi hanno controllato i possibili fattori che potrebbero influenzare positivamente i livelli di hsCRP. Posta questa premessa, riportato qui un recente studio [Tarrad et. al, 2019] che aveva come obiettivo quello di valutare il livello di proteina C-reattiva ad alta sensibilità nel siero di pazienti affetti da parodontite e diabete di tipo 2 prima e dopo aver subito il trattamento parodontale non chirurgico. Questo studio ha incluso 60 partecipanti totali: il gruppo 1 costituito da 20 partecipanti affetti da parodontite generalizzata di stadio 2 e grado A, il gruppo 2 comprendeva 20 partecipanti affetti da parodontite generalizzata di stadio 2 e grado B con diabete di tipo 2 e infine il gruppo 3, rappresentato da 20 soggetti in salute appartenenti al gruppo di controllo. Nei 6 mesi antecedenti allo studio, i pazienti non hanno ricevuto alcun trattamento parodontale e non hanno assunto farmaci che ne potessero alterare la condizione. Nei soggetti appartenenti al gruppo 1 e al gruppo 2 sono stati prelevati due campioni di siero, sia prima che dopo la terapia parodontale. Al gruppo di controllo, invece, è stato prelevato solo un campione di siero dopo la terapia. Lo studio è stato condotto utilizzando un test ELISA, in grado di rilevare i livelli sierici di hsCRP. I parametri clinici per la valutazione parodontale sono stati presi in 6 siti per dente e includevano: indice gengivale, indice di placca, profondità di sondaggio e livello di attacco clinico. Durante il primo appuntamento, in seguito alla diagnosi

e alla categorizzazione dei partecipanti appartenenti al gruppo 1 e 2, sono state fornite istruzioni sull'igiene orale domiciliare che comprendevano anche dei risciacqui con collutorio a base di clorexidina allo 0.2% da effettuare due volte al giorno per una settimana. La rivalutazione in seguito a trattamento parodontale non chirurgico, è stata fatta dopo 8 settimane. Oltre alla rivalutazione parodontale, è stato ottenuto il secondo campione di siero. Confrontando i livelli sierici di proteina C-reattiva prima e dopo il trattamento, è risultato che il gruppo 2 (affetto da parodontite e diabete), che presentava un valore più alto rispetto al gruppo 1 e al gruppo di controllo, sia la PCR che l' emoglobinaglicosilata, mostravano una significativa diminuzione in seguito al trattamento parodontale. Anche nel gruppo 1 è stata riscontrata una diminuzione del livello di hs-CPR con significativa differenza statistica (Figura 6).

Clinical parameters	Group I		Group II		Group III
	Before SRP	After SRP	Before SRP	After SRP	
PI	1.51 ± 0.21 ^a	0.37 ± 0.15 ^b	1.81 ± 0.52 ^a	0.83 ± 0.32 ^b	0.4 ± 0.08
GI	1.37 ± 0.17 ^a	0.39 ± 0.21 ^b	1.96 ± 0.48 ^a	0.91 ± 0.41 ^b	0.3±0.12
PD (mm)	3.58 ± 0.39 ^a	2.42 ± 0.39 ^b	4.03 ± 0.56 ^a	3.21 ± 0.37 ^b	1.9 ± 0.41
CAL (mm)	4.02 ± 0.72 ^a	3.13 ± 0.74 ^b	4.45 ± 0.56 ^a	3.53 ± 0.44 ^b	--
HbA1c (%)	-	-	8.03 ^a	6.41 ^b	--
hs-CRP (µg/ml)	6.40 ± 2.97 ^{**}	4.66 ± 2.12 ^b	10.84 ± 4.52 ^{**a}	7.46 ± 2.89 ^b	1.766 ± 0.809 [*]

Figura 6 Tarrad, Nayroz Abdelfattah, et al. " Valore prognostico di concentrazioni sieriche della PROTEINA C-REATTIVA ad alta sensibilità in pazienti con parodontite e diabete mellito di tipo 2 in seguito a trattamento parodontale non chirurgico" *EgyptianDental Journal* 65.2-April (Oral Medicine, X-Ray, OralBiology&OralPathology) (2019). Confronto tra parametri parodontali clinici e valori sierici di hs-CRP (µg / mL).

La riduzione della concentrazione sierica della proteina C-reattiva nel gruppo 1 e 2 è stata accompagnata da una riduzione statisticamente significativa del livello di HbA1c dopo il trattamento. Questo mette in evidenza che una riduzione e un controllo dell'infiammazione parodontale, può aiutare a migliorare anche lo stato metabolico diabetico. In contrasto con questi risultati, lo studio di Escobar et al. ha rivelato che i livelli sierici di CRP non erano

significativamente diversi nei pazienti con parodontite e nei pazienti con parodontite e diabete confrontati col gruppo di controllo, in seguito al trattamento parodontale non chirurgico. Questo dato contrastante può essere dovuto al differente periodo di follow-up post-operatorio di solo 7 giorni rispetto al follow-up di 8 settimane nel presente studio, che ha mantenuto alta la compliance del paziente. Nonostante il bisogno di approfondimento scientifico, la valutazione degli studi più recenti circa gli effetti della terapia parodontale non chirurgica nel paziente con diabete mellito permette di concludere che un trattamento parodontale che comprenda anche un adeguato protocollo di mantenimento pare fornire nei soggetti diabetici (di tipo 1 e di tipo 2) risultati clinici favorevoli.

CONCLUSIONI

Le evidenze scientifiche degli ultimi anni hanno confermato un' aumentata prevalenza, gravità ed estensione della malattia parodontale nei soggetti diabetici. Quando la malattia parodontale si manifesta nel paziente diabetico, il trattamento di tale infiammazione a livello locale dovrebbe essere iniziato quanto prima per evitare che esso, a sua volta, induca effetti sistemici negativi e quindi contribuire alle complicanze tipiche del diabete come la neuropatia, la retinopatia e la nefropatia. Infatti gli studi analizzati in questo elaborato evidenziano il ruolo della malattia parodontale come fattore di rischio della sindrome diabetica e delle sue complicanze. Le citochine pro-infiammatorie circolanti in corso di infiammazione parodontale traslocano facilmente nel torrente circolatorio e inducono ad uno stato infiammatorio cronico che contribuisce all' insorgenza o al peggioramento della resistenza insulinica. A tal proposito, il trattamento della malattia parodontale tramite igiene orale professionale e quindi la diminuzione della carica batterica a livello dei tessuti orali si è dimostrato di fondamentale importanza. Difatti, a seguito del trattamento parodontale non chirurgico e di supporto, sono state riportate riduzioni significative di emoglobina glicosilata e della glicemia a digiuno anche in pazienti che non assumevano farmaci per il diabete. L' igienista dentale svolge quindi un ruolo centrale nella tutela della salute orale del soggetto diabetico. Tale figura professionale è inoltre chiamata a motivare i pazienti alla limitazione dei fattori di rischio per il diabete, tra cui la malattia parodontale, promuovendone la compliance e stabilendo richiami a 3 mesi nei pazienti scompensati e a 6 mesi nei pazienti con un buon controllo glicemico.

Sulla base delle suddette considerazioni, risulta evidente che l' attenzione alla salute orale da parte di medici specialisti diabetologi migliorerà la capacità di rilevare precocemente lo stato diabetico nei pazienti. Già dal 1997 autori come Locker, rilevavano come la tendenza

generale, in campo odontoiatrico, fosse proprio quella di percepire e quindi trattare la cavità orale come una struttura autonoma isolata dal corpo [Locker, 1997]; al contrario moltissime evidenze scientifiche emerse negli ultimi anni sottolineano l'importanza del mantenimento e la promozione della salute orale come azioni importanti che contribuiscono al mantenimento di quella sistemica. Oltre a coinvolgere il parodonto e le sue strutture, il corretto mantenimento della salute orale è di primaria importanza per poter evitare la formazione di focolai infettivi in diversi distretti corporei. In altre parole, la salute orale si riferisce alla salute della nostra bocca e, in definitiva, sostiene e riflette la salute di tutto il corpo.

BIBLIOGRAFIA

1. Ahmed Junaid., et al. "Correlation between Xerostomia, Hyposalivation, and Oral Microbial Load with Glycemic Control in Type 2 Diabetic Patients". *World Journal of Dentistry* 7 2016: 83-86.
2. Alba-Loureiro TC., et al. "Neutrophil Function and Metabolism in Individuals with Diabetes Mellitus". *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 40.8, 2007: 1037-1044.
3. Alikhani M, Alikhani Z, Boyd C, et al. Advanced glycation end products stimulate osteoblast apoptosis via the MAP kinase and cytosolic apoptotic pathways. *Bone*. 2007;40(2):345-353.
4. American Diabetes Association. "2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes." *Diabetes Care* 42.Supplement 1 (2019): S13-S28.
5. Asanga, Sampath et al. "Type 2 diabetes mellitus and oral Candida colonization: Analysis of risk factors in a Sri Lankan cohort." *Acta Odontologica Scandinavica* 77.7 (2019): 508-516.
6. Beck, J. D., Papapanou, P. N., Philips, K. H., & Offenbacher, S. Periodontal medicine: 100 years of progress. *Journal of dental research*, 98(10), 2019, 1053-1062.
7. Benjamin, Regina M. "Oral health: the silent epidemic." *Public health reports* 125.2 (2010): 158 Borgnakke WS, Ylöstalo PV, Taylor GW, Genco RJ. Effect of periodontal disease on diabetes: Systematic review of epidemiologic observational evidence. *J Periodontol.*;84(Suppl 4) (2013)S135–52
8. BorilovaLinhartova Petra., et al. "Interleukin-1 Gene Variability and Plasma Levels in Czech Patients with Chronic Periodontitis and Diabetes Mellitus". *International Journal of Dentistry* (2019): 6802349
9. Borrell, L. N. & Papapanou, P. N. Analytical epidemiology of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 32, (Suppl. 6), 2005,132–158
10. Bulut U., et al. "Interleukin-1 Beta Levels in Gingival Crevicular Fluid in Type 2 Diabetes Mellitus and Adult Periodontitis". *Journal of Oral Science* 43.3 (2001): 171-177.
11. Campus, Guglielmo, et al. "Diabetes and Periodontal Disease: A Case-Control Study". *Journal of Periodontology* 76.3 (2005): 418-425.
12. Cao, Ruoyan, et al. "Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and Bayesian network meta-

analysis." *BMC oral health* 19.1 (2019): 176.

13. Carneiro Vera Lúcia., et al. "The Influence of Glycemic Control on the Oral Health of Children and Adolescents with Diabetes Mellitus Type 1". *Archives of Endocrinology and Metabolism* 59.6 (2015): 535-540
14. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease: A two-way relationship. *Br Dent J.* 2014;217:433–7.
15. Casarin RC, Barbagallo A, Meulman T, et al. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013;48(1):30-36.
16. Chang PC, Tsai SC, Chong LY, Kao MJ. N-Phenacylthiazolium bromide inhibits the advanced glycation end product (AGE)-AGE receptor axis to modulate experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2014;85(7):e268-276
17. Chapple IL, Genco R Working group 2 of the joint EFP/AAP workshop. 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.
18. Chiappe, V., Gomez, M., Pedreira, P., Galeano, A., Grinfeld, A., Viale, J. & Sznajder, N. Longitudinal study of periodontal condition in students of the Dental School the University of Buenos Aires Argentina. *Acta Odontologica Latinoamericana*(1997) 10, 117–132
19. Chuengsamarn, Somlak, et al. "Association of serum high-sensitivity C-reactive protein with metabolic control and diabetic chronic vascular complications in patients with type 2" Diabetes and Metabolic Syndrome" *Clinical Research and Reviews* (2017)
20. Ciantar M., et al. "Capnocytophaga Spp. In Periodontitis Patients Manifesting Diabetes Mellitus". *Journal of Periodontology* 76.2 (2005): 194-203.
21. Coelho, A. S., Amaro, I. F., Caramelo, F., Paula, A., Marto, C. M., Ferreira, M. M., Carrilho, E. V. Dental caries, diabetes mellitus, metabolic control and diabetes duration: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* (2020)
22. Correa FO., et al. "Effect of Periodontal Treatment on Metabolic Control, Systemic Inflammation and Cytokines in Patients with Type 2 Diabetes". *Journal of Clinical Periodontology* 37.1 (2010): 53-58.
23. Darre L., et al. "Efficacy of Periodontal Treatment on Glycaemic Control in Diabetic Patients: A Meta-Analysis of Interventional Studies". *Diabetes and Metabolism* 34.5 (2008):497-506.
24. De Oliveira C, Watt R, Hamer M. Toothbrushing, inflammation, and risk of

cardiovascular disease: Results from Scottish Health Survey. *BMJ*. 2010;340:c2451

25. Demmer, Ryan T., et al. "Periodontal status and A1C change: longitudinal results from the study of health in Pomerania (SHIP)." *Diabetes care* 33.5 (2010):1037-1043.
26. Demmer, Ryan T., et al. "The influence of type 1 and type 2 diabetes on periodontal disease progression: prospective results from the Study of Health in Pomerania (SHIP)." *Diabetes care* 35.10 (2012): 2036-2042.
27. Escobar, Gustavo Fatureto, et al. "Levels of pro and anti-inflammatory cytokines and C-reactive protein in patients with chronic periodontitis submitted to nonsurgical periodontal treatment." *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 19.7 (2018): 1927.
28. F. Sgolastra, M. Severino, D. Pietropaoli, R. Gatto, A. Monaco, Effectiveness of periodontal treatment to improve metabolic control in patients with chronic periodontitis and type diabetes: a meta-analysis of randomized clinical trials, *J Periodontol* 84 (2013) 958–973
29. Fiona Q,Bui, et al. "Association between periodontal pathogens and systemic disease." *biomedical journal* (2019).
30. Gouda Weaam., et al. "Evaluation of Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in type 1 Diabetes Mellitus". *Bulletin of the National Research Centre* 42.1 (2018): 14
31. Graves DT, Ding Z, Yang Y."The impact of diabetes on periodontal diseases" *Periodontol* 2000. 2020;82:214-224
32. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, et al. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol*. 1994;65:260
33. Grossi Sara G., et al. "Treatment of Periodontal Disease in Diabetics Reduces Glycated Hemoglobin". *Journal of Periodontology* 68.8 (1997): 713-719.
34. Gurav AN. Periodontitis and insulin resistance: Casual or causal relationship? *Diabetes Metab J*. 2012;36:404–11
35. Iwamoto Yoshihiro., et al. "The Effect of Antimicrobial Periodontal Treatment on Circulating Tumor Necrosis Factor-Alpha and Glycated Hemoglobin Level in Patients with Type 2 Diabetes". *Journal of Periodontology* 72.6 (2001): 774-778.
36. Locker, David. "Concepts of oral health, disease and the quality of life." *Measuring*

oral health and quality of life 11 (1997): 24.

37. Karatas, Ozkan, et al. "Histological evaluation of peri-implant mucosal and gingival tissues in peri- implantitis, peri-implant mucositis and periodontitis patients: a cross-sectional clinical study." *ActaOdontologicaScandinavica* (2019): 1-9.
38. Kaur Gaganpreet., et al. "Association between Type 1 and Type 2 Diabetes with Periodontal Disease and Tooth Loss". *Journal of Clinical Periodontology* 36.9 (2009): 765-774
39. Kingman, Albert, and Jasim M. Albandar. "Methodological aspects of epidemiological studies of periodontal diseases." *Periodontology* 2000 29.1 (2002): 11-30
40. Lalla E., et al. "Effects of Periodontal Therapy on Serum C-Reactive Protein, Se-Selectin, and Tumor Necrosis Factor-Alpha Secretion by Peripheral Blood-Derived Macrophages in Diabetes. A Pilot Study". *Journal of Periodontal Research* 42.3 (2007): 274-282.
41. LallaEvanthia., et al. "Receptor for Advanced Glycation End Products, Inflammation, and Accelerated Periodontal Disease in Diabetes: Mechanisms and Insights into Therapeutic Modalities". *Annals of Periodontology* 6.1 (2001): 113-118.
42. Lamster, Ira B., et al. "The relationship between oral health and diabetes mellitus." *The Journal of the American Dental Association* 139 (2008): 19S-24S.
43. Lim, Jason C., et al. "TNF α contributes to diabetes impaired angiogenesis in fracture healing." *Bone* 99 (2017): 26-38
44. Lu, Huafei, et al. "Diabetes interferes with the bone formation by affecting the expression of transcription factors that regulate osteoblast differentiation." *Endocrinology* 144.1 (2003): 346-352.
45. MashimoPA, Yamamoto Y, Slots J, Park BH, Genco RJ. The periodontal microflora of juvenile diabetics. Culture, immunofluorescence, and serum antibody studies. *J Periodontol.* 1983;54(7): 420-430
46. Mealey BL, Rose LF. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *CurrOpinEndocrinol Diabetes Obes.* 2008;15(2):135-41.
47. Morales, Alicia, et al. "Prevalence and predictors for clinical attachment loss in adolescents in Latin America: cross-sectional study." *Journal of clinical periodontology* 42.10 (2015): 900-907.

48. Mühlhauser, I. Diabetes experts' reasoning about diabetes prevention studies: a questionnaire survey. *BMC Res Notes* 1, 90 (2008).
49. National Institute of Dental, and Craniofacial Research (US). Oral health in America: a report of the Surgeon General. US Public Health Service, Department of Health and Human Services, 2000.
50. Nazir, Muhammad Ashraf. "Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention." *International journal of health sciences* 11.2 (2017): 72
51. Negrato, Carlos Antonio, and Olinda Tarzia. "Buccal alterations in diabetes mellitus." *Diabetology& metabolic syndrome* 2.1 (2010): 3.
52. Nishioka, Shinji, et al. "Effect of non-surgical periodontal therapy on insulin resistance and insulin sensitivity among individuals with borderline diabetes: A randomized controlled trial." *Journal of dentistry* 85 (2019): 18-24.
53. Nitta, Hiroshi, et al. "The number of microvascular complications is associated with an increased risk for severity of of periodontitis in type 2 diabetes patients: Results of a multicenter hospital-based cross-sectional study." *Journal of diabetes investigation* 8.5 (2017): 677-686.
54. Nonaka, K., et al. "Advanced glycation end-products increase IL-6 and ICAM-1 expression via RAGE, MAPK and NF- κ B pathways in human gingival fibroblasts." *Journal of periodontal research* 53.3 (2018): 334-344.
55. Oyarzo, Natacha, et al. "Periodontal inflammation correlates with systemic inflammation and insulin resistance in patients with recent diagnosis of type 2 diabetes." *ARS MEDICA Revista de Ciencias Médicas* 44.1 (2019): 6-12.
56. Papapanou, P. N. "1996 World Workshop in Clinical Periodontics." *Periodontal diseases: epidemiology.* *Ann Periodontol* 1 (1996): 1-36.
57. Patel, Manthan H., JayanthV. Kumar, and Mark E. Moss. "Diabetes and tooth loss: an analysis of data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2004." *The journal of the american dental association* 144.5 (2013): 478-485.
58. Patel, Parita, and Allison Macerollo. "Diabetes mellitus: diagnosis and screening." *American family physician* 81.7 (2010): 863-870.
59. Persson G Rutger. "Diabetes and Periodontal Disease: An Update for Health Care Providers". *Diabetes Spectrum* 24.4 (2011): 195.
60. Polak D, Shapira L. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J ClinPeriodontol.* 2018;45(2):150-166.

61. Pradhan, Aruna D., et al. "C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus." *Jama* 286.3 (2001): 327-334.
62. Preshaw PM, Bissett SM. Periodontitis: Oral complication of diabetes. *EndocrinolMetabClin North Am.* 2013;42:849–67.
63. Promsudthi A., et al. "The Effect of Periodontal Therapy on Uncontrolled Type 2 Diabetes Mellitus in Older Subjects". *Oral Diseases* 11.5 (2005): 293-298
64. PuttaswamyKavitha A., et al. "Correlation between Salivary Glucose and Blood Glucose and the Implications of Salivary Factors on the Oral Health Status in Type 2 Diabetes Mellitus Patients". *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry* 7.1 (2017):28-33
65. Q.Li, et al. "Effect of non-surgical periodontal treatment on glycemic control of patients with diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials." *Trials* 16.1 (2015): 291.
66. SaremiAramesh., et al. "Periodontal Disease and Mortality in Type 2 Diabetes". *Diabetes Care* 28.1 (2005): 27-32
67. Savage, Amir, et al. "A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease." *Journal of clinical periodontology* 36.6 (2009): 458-467.
68. Shi, Baochen, et al. "The subgingival microbiome associated with periodontitis in type 2 diabetes mellitus." *The ISME journal* (2019): 1-12.
69. Shultis W A, Weil E J, Looker H C et al. Effect of periodontitis on overt nephropathy and end-stage renal disease in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 306–311.
70. Simpson Terry C., et al. "Treatment of Periodontal Disease for Glycaemic Control in People with Diabetes". *Cochrane Database of Systematic Reviews* 5 (2010): CD004714.
71. Singh Varun Parkash., et al. "Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications". *The Korean journal of Physiology and Pharmacology* 18.1 (2014): 1-14.
72. Sorsa T., et al. "Cellular Source and Tetracycline-Inhibition of Gingival Crevicular Fluid Collagenase of Patients with Labile Diabetes Mellitus". *Journal of Clinical Periodontology* 19.2 (1992): 146-149.
73. Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Wu YM, Ren YZ, Qin GM. Inflammatory cytokines, adiponectin, insulin resistance and metabolic control after periodontal

intervention in patients with Type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Intern Med.* 2011;50:1569–74.

74. Tam Jonathan., et al. “Obesity Alters Composition and Diversity of the Oral Microbiota in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus Independently of Glycemic Control”. *PloS one* 13.10 (2018): e0204724.
75. Tanabe Katsuyuki., et al. “Capnocytophaga Canimorsus Peritonitis Diagnosed by Mass Spectrometry in a Diabetic Patient Undergoing Peritoneal Dialysis: A Case Report”. *BMC Nephrology* 20.1 (2019): 219.
76. TandonVaibhav., et al. “Glycemic Control and Periodontal Disease in Type 2 Diabetes Mellitus Patients: A Cross-Sectional Study”. *Journal of Indian Association of Public Health Dentistry* 13.3 (2015): 297-301
77. Tarrad, Nayroz Abdelfattah, et al. "Prognostic value of serum high sensitivity c-reactive protein in patients with periodontitis and diabetes mellitus type 2 after non-surgical periodontal treatment *Egyptian Dental Journal* (2019) 1411-1419
78. Taylor G W, Burt B A, Becker M P et al. Severe periodontitis and risk for poor glycaemic control in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1996; 67: 1085–1093.
79. Taylor, G. W., Burt, B. A., Becker, M. P., Genco, R. J., Shlossman, M., Knowler, W. C., & Pettitt, D.J. Severe Periodontitis and Risk for Poor Glycemic Control in Patients with Non-Insulin- Dependent Diabetes Mellitus. *Journal of Periodontology*, (1996),1085–1093
80. TeeuwWijnand J., et al. “Effect of Periodontal Treatment on Glycemic Control of Diabetic Patients: A Systematic Review and MetaAnalysis”. *Diabetes Care* 33.2 (2010): 421-427.
81. TeshomeAmareandAsmareYitayeh.“TheEffectofPeriodontalTherapyonGlycemicControland Fasting Plasma Glucose Level in Type 2 Diabetic Patients: Systematic Review and Meta-Analysis”. *BMC Oral Health* 17.1 (2016):31.
82. Thorstensson H., et al. “Medical Status and Complications in Relation to Periodontal Disease Experience in Insulin-Dependent Diabetics”. *Journal of Clinical Periodontology* 23.3 (1996): 194-202
83. Toker, H., et al. "Morphometric and histopathological evaluation of the effect of grape seed proanthocyanidin on alveolar bone loss in experimental diabetes and periodontitis." *Journal of periodontal research* 53.3 (2018): 478-486.
84. Trombelli, L., Farina, R., Silva, C. O., & Tatakis, D. N. (2018). Plaque-induced

gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, S44–S67. doi: 10.1111/jcpe.12939

85. US Department of Health and Human Services. "National call to action to promote oralhealth." Rockville, MD: US Department of Health and Human Services, National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health (2003).
86. Xiao, E et al. "Diabetes Enhances IL-17 Expression and Alters the Oral Microbiome to Increase Its Pathogenicity." *Cell host & microbe* vol. 22,1 (2017): 120-128.e4
87. Zhou Mi., et al. "Investigation of the Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on Subgingival Plaque Microbiota by High-Throughput 16s Rdna Pyrosequencing". *PLOS ONE* 8.4 (2013): e61516