

ТЕРАПЕВТИЧНА СТОМАТОЛОГІЯ

УДК 616.036-003.826:616.311.2-002

DOI <https://doi.org/10.35220/2523-420X/2022.1.2>**Д.В. Ємельянов,**

кандидат медичних наук, доцент, лікар-стоматолог,
ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої
НАМН України», проспект Любові Малої 2А, м. Харків,
Україна, індекс 61039, dimadoctorzub@gmail.com

Т.О. Петрушанко,

доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри
терапевтичної стоматології, Полтавський державний
медичний університет, вул. Шевченка 23, м. Полтава,
Україна, індекс 36011, Petrusankotatana@gmail.com

ЗМІНИ ДОВЖИНИ ТЕЛОМЕР ЯСЕН В ОСІБ ІЗ НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ

Мета дослідження. Визначення довжини теломер епітеліоцитів ясен у хворих з хронічним пародонтизом на тлі неалкогольної жирової хвороби печінки та їх співставлення з подружжям. **Методи дослідження.** Було проведено анкетування, стоматологічний огляд та ПЛР-дослідження зішкрябу з поверхні прикріплених ясен пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки та їх подружжя, що мають однакові харчові звички. **Наукова новизна.** Науковий інтерес представляє вивчення зміни довжини теломер, як фактору фізіологічного старіння клітин, що може бути маркером несприятливих наслідків соматичного захворювання, зокрема неалкогольної жирової хвороби печінки. **Висновки.** Захворювання пародонта у хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки та їх подружжя мали запально-дистрофічний характер різних клініко-морфологічних форм і були представлені переважно хронічним генералізованим пародонтизом. Довжина теломер була значно коротшою у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки порівняно з соматично здоровими респондентами. Виявлений негативний зв'язок між довжиною теломер та хронічним генералізованим пародонтизом, а також рівнем гігієни та з наявністю неалкогольної жирової хворобою печінки. Хронічне запалення та окислювальний стрес у тканинах пародонта при зазначеній патології сприяють передчасному старінню клітин і скорочують довжину теломер епітеліальних клітин ясен.

Ключові слова: довжина теломер, хронічний генералізований пародонтизм, хронічне запалення, неалкогольна жирова хвороба печінки

D.V. Emelyanov,

PhD, assistant professor, Government Institution
“L.T. Malaya Therapy National Institute of the National
Academy of Medical Sciences of Ukraine”, 2a Lyubov
Malaya Ave., Kharkiv, Ukraine, postal code 61000,
dimadoctorzub@gmail.com

T.O. Petrushanko,

Professor, MD, Head of the Department of Therapeutic
Dentistry, Poltava State Medical University, 23
Shevchenko St., Poltava, Ukraine, postal code 36011,
Petrusankotatana@gmail.com

CHANGES IN TELOMERE LENGTH OF GUMS IN INDIVIDUALS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Purpose of the study. Determination of telomere length of gingival epitheliocytes in patients with chronic periodontitis against the background of non-alcoholic fatty liver disease and their comparison with spouses. **Research methods.** Questionnaires, dental examination and PCR scrapings were performed on the surface of the attached gums of patients with non-alcoholic fatty liver disease and their spouses who have the same eating habits. **Scientific novelty.** It is of scientific interest to study the change the length of the telomere, as a factor in the physiological aging of cells, can also be a marker of the adverse effects of somatic diseases, in particular non-alcoholic fatty liver disease. **Conclusions.** Periodontal diseases in patients with non-alcoholic fatty liver disease and their spouses had an inflammatory character of various clinical and morphological forms and were represented mainly by chronic generalized periodontitis. Telomere length was significantly shorter in patients with non-alcoholic fatty liver disease compared with somatically healthy respondents. There was a negative relationship between telomere length and chronic generalized periodontitis, as well as the level of hygiene, and the presence of non-alcoholic fatty liver disease. Chronic inflammation and oxidative stress in periodontal tissues in non-alcoholic fatty liver disease contribute to premature cell aging and reduce the telomere length of gum epithelial cells.

Key words: telomere length, chronic generalized periodontitis, chronic inflammation, non-alcoholic fatty liver disease

Постановка проблеми. Пародонт є комплексом тканин, що забезпечує повноцінне функціонування зубощелепного апарату. Кожна з цих тканин, будь-то епітелій ясен, альвеолярна кістка або періодонт, впродовж життя характеризуються певною динамікою проліферації у вигляді

старіння, очищення та відновлення. Кожна еукаріотична клітина проходить певний проліферативний цикл, що виглядає як поділ, тобто мітоз, та набуття допоміжних функціональних можливостей, що виражається зміною фенотипу. Така еволюційна та абсолютно фізіологічна динаміка життєвого циклу еукаріотів закінчується набуттям фенотипу старіння та наступною ліквідацією такої клітини з боку імунної системи [1,2].

При мітозі клітин відбувається скорочення довжини теломер -спеціалізованих структур, що розташовані на кінцях хромосом еукаріотичних клітин. Поступове зменшення довжини теломер з кожною фазою мітозу призводить до припинення проліферації клітини та підготовки до її ліквідації [3,4]. Очищення від клітин з фенотипом старіння відбувається або за рахунок апоптоза, або за рахунок стимулюючих сигналів до імунної системи. Відомо, що клітини з фенотипом старіння набувають наступних змін:

- припинення проліферації (тобто фази мітоза неможливі);
- збільшення морфології цитоплазми;
- гіперсекреція прозапальних цитокінів та протеолітичних ферментів, а саме матриксних металопротеїназ (ММП).

Саме гіперсекреція цитокінів рекрутує імунокомпетентні клітини

(нейтрофіли) в зону стимулюючих сигналів для знищення старих клітин. Хронічний пародонтит (ХП) є зоною утворення системно активних прозапальних цитокінів, активних форм кисню (АФК) та протеолітичних ферментів. Це формує мікросередовище, сприятливе для збільшення пулу клітин з фенотипом старіння, тому що всі перераховані вище фактори мають генотоксичний ефект і негативний вплив на довжину теломер [5,6].

Як відомо, епітелій ясен виконує роль механічного бар'єру на шляху проникнення пародонтопатогенів в пародонт і тому виснаження процесу оновлення епітеліоцитів сприятиме полегшенню потрапляння специфічних мікроорганізмів в субепітеліальний шар та ініціювання запалення [7].

Але пошкодження теломер може відбуватись не тільки за рахунок фізіологічної реплікації еукаріотичних клітин, а й бути наслідком різних стресових факторів, що можуть діяти на пародонт впродовж життєвого циклу. Це, наприклад, шкідливі звички у вигляді паління, зловживання алкоголем або солодощами, але особливу групу негативних факторів складають соматичні захворювання, що мають у своєму патогенезі хронічний запальний процес [8,9].

Особливу увагу на сьогодні зосереджують на хворобах обміну речовин і, насамперед, неалкогольній жировій хворобі печінки (НАЖХП). Ця соматична хвороба спочатку характеризується накопиченням жиру в гепатоцитах, що під впливом оксидативного стресу та цитокінів переходить в хронічний запальний процес – неалкогольний стеатогепатит [10]. Також, науковий інтерес викликає не тільки стан тканин пародонта хворих на НАЖХП, а й їх подружжя, які хоча і не мають зазначеної хвороби, але мають ряд загальних факторів ризику, а саме харчові звички, відношення до принципів індивідуальної гігієни порожнини рота та інші. Можливість такого порівняння в межах наукового дослідження дозволяє стратифікувати фактори ризику захворювань пародонта на тлі соматичного захворювання та за її відсутності.

Тому **метою** нашого дослідження є визначення довжини теломер епітеліоцитів ясен у хворих з хронічним пародонтитом на тлі неалкогольної жирової хвороби печінки та їх співставлення з подружжям.

Матеріали і методи дослідження.

Клінічна частина. Дана частина дослідження складалася з двох етапів. На першому етапі було обстежено 258 хворих з верифікованим діагнозом НАЖХП (137 чоловіків та 121 жінка), середній вік яких складав $49,79 \pm 0,66$ років. Діагноз встановлювали за рекомендаціями міжнародних та вітчизняних критеріїв (антропометричні показники з урахуванням анамнезу, клінічні та біохімічні аналізи крові з визначенням холестерину різної щільності, тригліцеридів, загального білка, альбуміну, печінкових проб, вуглеводного обміну, УЗД печінки, еластографія, стеатографія та стеатометрія печінки) [11]. Групу порівняння склали подружжя хворих на НАЖХП, які не мали ознак зазначеної хвороби, але мали спільні харчові звички та не дотримувалися певних правил здорового життя.

Група контролю була представлена 25 соматично здоровими пацієнтами, що намагалися дотримуватися здорового способу життя, які були репрезентативними за статтю та віком (13 чоловіків та 12 жінок). Усім особам проводили анкетування за основними харчовими звичками та знанням за гігієнічним доглядом за порожниною рота. Статистичні відмінності за індексом маси тіла (ІМТ) наведені у таблиці 1.

ПЛР дослідження у режимі реального часу. Усім пацієнтам проводили по 2 зіскрібки з поверхні прикріплених ясен одноразовими

Таблиця 1

ІМТ осіб дослідних груп

Показник	Основна група	Група порівняння	Контрольна група
ІМТ	32,2 [31,4;37,4] ($p=0,000$) ($p_1=0,039$)	23,9 [22,5;25,5] ($p=0,015$)	22,4 [20,45;24,1]

Примітки: p – значущість відмінностей від контрольної групи, p_1 – значущість відмінностей з групою порівняння

Таблиця 2

Результати анкетування осіб досліджуваних груп (%)

Показник	Основна група	Група порівняння	Контрольна група
Зловживання вуглеводами	89,9 $\chi^2=73,74$ ($p=0,000$) $\chi^2=12,57$ ($p_1=0,000$)	70,5 $\chi^2=13,83$ ($p=0,000$)	24,0
Зловживання солодкими газованими напоями	80,2 $\chi^2=29,04$ ($p=0,000$) $\chi^2=13,79$ ($p_1=0,000$)	54,5	32,0
Регулярне дворазове чищення зубів	59,3 $\chi^2=16,17$ ($p=0,000$)	52,3 $\chi^2=17,15$ ($p=0,000$)	100
Паління	52,5 $\chi^2=9,64$ ($p=0,002$)	47,7 $\chi^2=5,21$ ($p=0,022$)	20,0

Примітки: p – значущість відмінностей від контрольної групи, p_1 – значущість відмінностей з групою порівняння

аплікаторами для ПЛР досліджень. Заздалегідь, пацієнти були попереджені про заборону їжі та паління за 30 хвилин до проведення процедури. ДНК виділяли з епітелія ясен за допомогою наборів реактивів ДНК-сорб АМ та ДНК-сорб-В відповідно з застосуванням відносної кількісної оцінки. Концентрацію ДНК у зразках вимірювали флюорометричним методом на флюорометрі Qubit 3.0 (Life Technologies, США) з застосуванням набору реактивів Qubit dsDNA HS Assay Kits (Life Technologies, США). Зразки ДНК розводили до концентрації 2-4 нг/мкл та утримували до ампліфікації при -20°C . Визначення відносної довжини теломера проводили методом ПЛР з детекцією флюоресценції у реальному часі відповідно протоколу, зазначеному Sawthon R.M., 2002 [12]. Для ампліфікації теломерних послідовностей використовували праймери Invitrogen (Thermo Fisher Scientific).

Статистична частина. Статистичні розрахунки проводили за допомогою програми SPSS непараметричним методом. Розраховували медіани (Me), інтерквартильний розмах (перший та третій квартиль -Q1, Q3). Для визначення статистичних відмінностей між двома незалежними групами використовували критерій Манна-Уїтні. При порівнянні трьох та більше груп застосовували критерій Крускала-Уолліса. Перевірку статистичної гіпотези про рівність відношення шансів одиниці ($\omega=1$) проводили

за допомогою критерію χ^2 . Лінійний зв'язок між показниками оцінювали за коефіцієнтами Пірсона та Спірмена.

Результати дослідження. Першим кроком дослідження було проведення аналізу дії деяких екзогенних факторів на пародонт в усіх досліджуваних групах взагалі. До таких факторів ми віднесли певні харчові звички, а саме зловживання вуглеводами, часте вживання солодких напоїв та льодяників, а також паління. Так само, за доцільне ми вважали аналіз регулярності дотримання індивідуальної гігієни порожнини рота, як фактору підтримання здоров'я пародонта.

В процесі анкетування виявили, що більшість з усіх опитуваних воліють до установ швидкого харчування (fast food), а особи з НАЖХП особливо полюбляють вживати солодкі газовані напої у процесі їжі. Співвідношення хворих з характерним зловживанням солодощами в добовому раціоні було характерно для 231 особи по їжі (89,9%) та для 207 таких по напоям (80,2% відповідно) (табл. 2).

Так само, переважна більшість осіб групи порівняння мали схожий раціон з хворими основної групи та зловживали в 70,5% вуглеводистою їжею, а 54,5% осіб часто вживали солодкі газовані напої, льодяники тощо.

В той же час лише 6 пацієнтів з контрольної групи вказали на періодичне вживання мучної та солодкої їжі, а 32% іноді вживають солодкі газо-

вані напої, хоча і намагаються дотримуватися здорового способу життя.

Регулярна дворазова гігієна порожнини рота була характерна лише особам з групи контролю, тоді як в основній групі та групі порівняння повноцінне виконання цього важливого для пародонта профілактичного заходу виконувалося трохи більш ніж половиною опитаних. Гігієнічний індекс за Green-Vermillion, ОНІ-S у пацієнтів основної групи та групи порівняння оцінювався як високий, що свідчило про незадовільну гігієну порожнини рота (рис 1).

Захворювання пародонта різних клініко-морфологічних форм були виявлені в усіх досліджуваних групах. Проте між собою групи достовірно відрізнялися як кількісним складом осіб з патологією ясен, так і ступенем її тяжкості. В основній групі та групі порівняння переважна більшість хворих мали хронічний генералізований пародонтит (ХГП), в той час, у групі контролю превалював хронічний катаральний гінгівіт (ХКГ), в основі якого також констатують хронічне запалення. Незважаючи на те, що всі пацієнти з групи контролю продемонстрували регулярність в дотриманні індивідуальної гігієни порожнини рота, у 20% була присутня шкідлива звичка у вигляді паління, що є потужним фактором безпосереднього негативного впливу на стан пародонта та може пояснювати наявність ХКГ.

При аналізі ступеню тяжкості ХГП ми спостерігали що найбільш вираженою клінічною формою був ХГП I ступеню (легка форма). Середня форма тяжкості ХГП (II ступінь) була характерна переважно для хворих з НАЖХП, а в групі порівняння зустрічалася лише у декількох осіб. Слід зазначити, що у 2 осіб з групи порівняння була діагностована незапальна деструкція ясен. Дані розподілу патології пародонта за клініко-морфологічними формами представлено на рисунку 2.

При порівнянні довжини теломер епітеліоцитів ясен вдалося зафіксувати вірогідні відмінності між середніми значеннями у досліджуваних групах. Як і очікувалося, найменша довжина теломерів була зафіксована саме у пацієнтів з основної групи. Результати спостереження відображені в табл 3.

Для того, щоб з'ясувати зв'язок довжини теломер епітеліоцитів ясен не тільки з запальною патологією тканин пародонта, але і з соматичним захворюванням був проведений пошук лінійного зв'язку з наявними показниками. З упевненістю можна стверджувати, що є негативний взаємозв'язок між довжиною теломер епітеліоцитів і хронічним генералізованим пародонтитом ($r=-0,355$, $p=0,002$), наявністю НАЖБП ($r=-0,506$, $p=0,045$), а також с рівнем гігієни порожнини рота ($r=-0,30$, $p=0,035$).

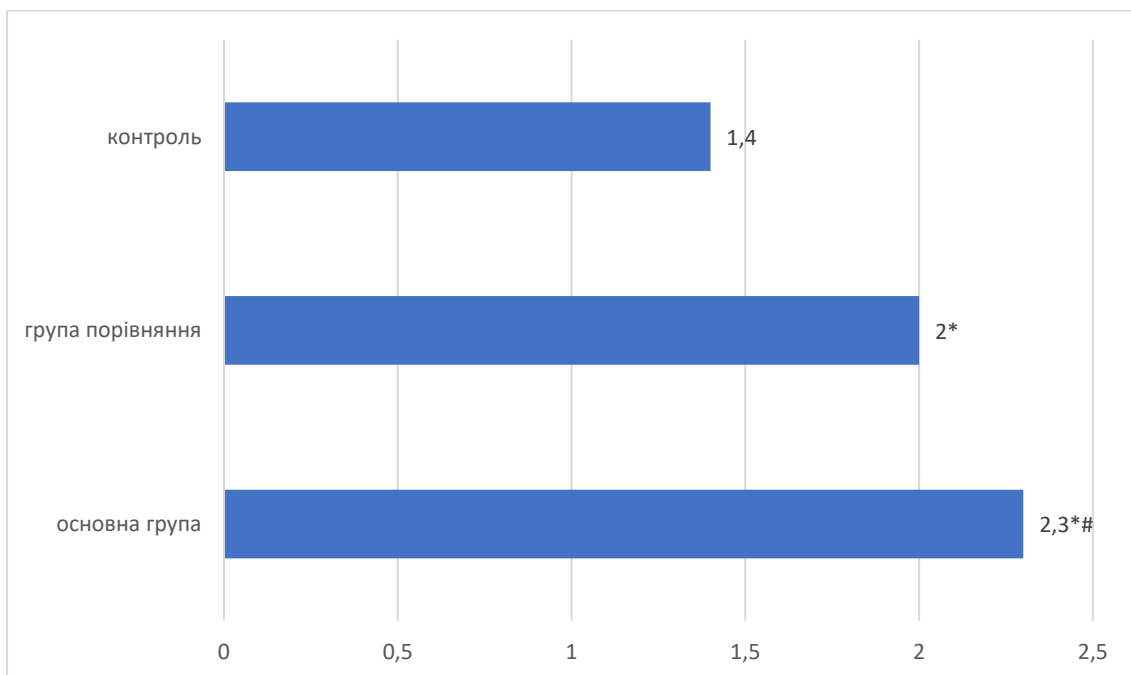


Рис 1. Рівень індексу ОНІ-S у дослідних груп

Примітка: * - рівень статистичної значущості відмінностей від групи контролю, # - рівень статистичної значущості відмінностей від групи порівняння

Обговорення результатів дослідження. Як відомо, захворювання, підставу патогенезу яких складає хронічне запалення, посідають перше місце за статистикою розповсюдження. Крім цього, одночасна наявність у одного хворого двох та більше таких захворювань сприяє утворенню порочного кола, тобто патогенетичного взаємозв'язку, з певними негативними наслідками [13,14].

ХГП та НАЖХП характеризуються розвитком хронічного запального процесу та коморбідністю. Взагалі, порожнина рота є специфічною анатомічною зоною організму людини, що постійно відчуває та адаптується до дії різних дратівних чинників (характер їжі, шкідливі звички, дотримання регулярності гігієни порожнини рота тощо), але механізми такої адаптації мають певні обмеження. Тож поява у людини супутньої соматичної патології, наприклад НАЖХП, порушує баланс в тканинах пародонту, знижує його адаптаційні можливості до дії екзогенних факторів ризику і сприяє прогресуванню хронічного запалення та розвитку ХГП, що ми зафіксували в основній групі. Різницю в ступеню хронічного запалення в пародонті хворих ми пояснюємо саме

зниженням його адаптаційних можливостей до дії екзогенних факторів при наявності НАЖХП. Безумовно ХГП є зоною хроніосептичного вогнища для всього організму в цілому і також сприяє погіршенню перебігу НАЖХП, а тому його своєчасне лікування утворює сприятливий фон для зниження ризику соматичного захворювання зокрема [15]. При позитивній динаміці лікувального процесу ХГП переходить до стадії стабілізації з наступною ремісією. В цей час в пародонті відбувається ліквідація запального процесу, очищення від клітин з фенотипом старіння та відновлення цілісності пласту епітеліоцитів ясен, що є надійним фізіологічним бар'єром на шляху проникнення пародонтопатогенів або інших патогенних факторів у внутрішнє середовище організму. Слід також зазначити хворих з НАЖХП у переважній більшості палили, що, можливо, спричиняло більш виражений генотоксичний ефект на епітеліоцити ясен за рахунок не тільки соматичного захворювання, але і безпосередньої негативної дії на пародонт наявної шкідливої звички.

Ми визначили, що довжина теломер епітеліоцитів ясен була вірогідно коротшою у пацієнтів

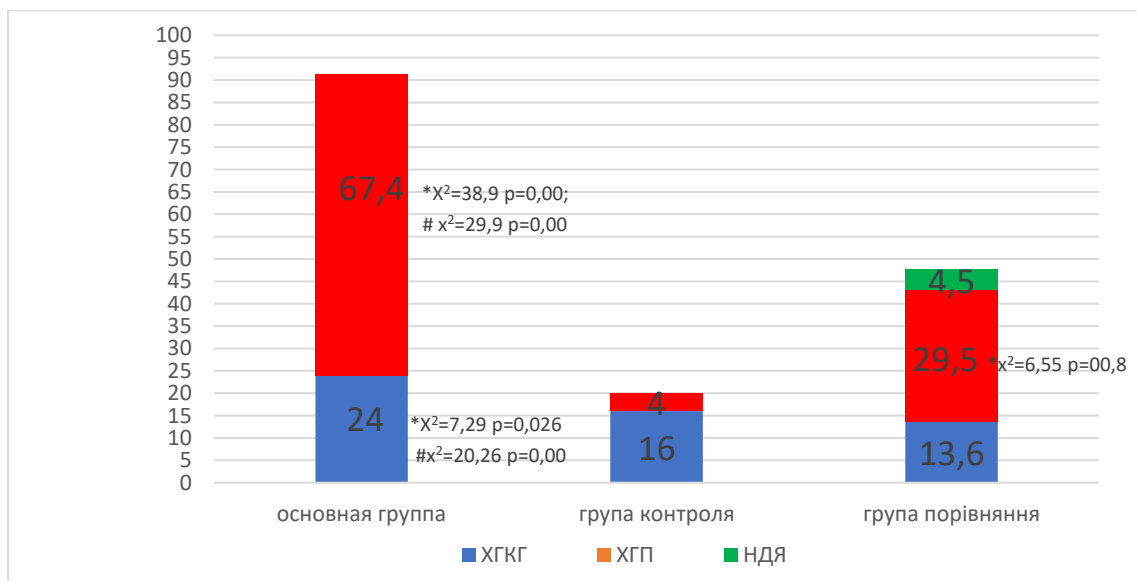


Рис 2. Структура захворювань пародонту у досліджуваних групах.

Примітки: ХКГ – хронічний катаральний гінгівіт; ХГГ – хронічний гіпертрофічний гінгівіт; ХГП – хронічний генералізований пародонтит; НДЯ – незапальна деструкція ясен; * – рівень статистичної значущості відмінностей від групи контролю, # – рівень статистичної значущості відмінностей від групи порівняння

Таблиця 3

Довжина теломер епітеліоцитів ясен в осіб дослідних груп

Показник	Основна група	Група порівняння	Контрольна група
довжина теломер (середні значення)	0,87 [0,70;1,10] ($p=0,000$); ($p_1=0,039$)	1,10 [0,93;1,40]	1,13 [0,96;1,34]

Примітки: p – значущість відмінностей від контрольної групи, p_1 – значущість відмінностей з групою порівняння

з ХГП основної групи, ніж тих, хто мав такі ж самі фактори ризику уражень пародонта, але не хворів на НАЖХП. Це пояснюється тим, що хронічне запалення та оксидативний стрес при НАЖХП доповнюють та підсилюють подібні процеси при ХГП і є стимулюючими факторами передчасного старіння епітеліоцитів ясен і поступового виснаження процесу оновлення цих клітин [16-18]. В свою чергу кластери епітеліоцитів з фенотипом старіння є потужними факторами рекрутування нейтрофілів і макрофагів та індукції хронічного запалення в пародонті, тобто прогресування ХГП.

Науковим підтвердженням впливу хронічного запалення на прискорення клітинного старіння стало отримання негативного кореляційного зв'язку між довжиною теломера епітеліоцитів з одного боку, а ХГП та НАЖХП з іншого. Зрозуміло, що чим раніше буде ініційовано лікування ХГП, тим більше проліферативних можливостей буде збережено у епітеліальних клітинах пародонтального комплексу та, як наслідок, профілактика передчасного клітинного старіння.

Висновки.

1. Пародонт є анатомічною зоною яка отримує як безпосередній екзогенний вплив з боку різних факторів (звички, регулярність домашньої гігієни порожнини рота, тощо), так і ендогенний – за рахунок наявності соматичної патології у вигляді НАЖХП. Обидва шляхи сприяють розвитку хронічного запалення в пародонті і також взаємно погіршують власний перебіг.

2. На фоні НАЖХП структура захворювань тканин пародонта представлена переважно ХГП I та II ступеню тяжкості на відміну від здорових осіб, у яких діагностовано ХКГ.

3. Екзогенні фактори стимулюють хронічне запалення, що сприяє передчасному клітинному старінню з достовірною різницею у довжині теломер епітеліоцитів ясен між досліджуваними групами.

4. При прогресуванні хронічного запалення в пародонті, що характерно при ХГП, спостерігається негативний кореляційний зв'язок з довжиною теломер епітеліоцитів ясен. Виснаження ресурсу оновлення пласту епітеліальних клітин ясен сприяє неповноцінності механічного бар'єру та полегшенню проникнення пародонтопатогенів у внутрішнє середовище пародонта зокрема і організму в цілому.

Перспектива подальшого дослідження. Ми вважаємо за можливе визначення довжини теломерів епітеліоцитів ясен, як маркеру прогнозування тривалості періоду ремісії при лікуванні ХГП на тлі НАЖБП.

Література:

- Zheng W, Wang S, Wang J, Jin F. Periodontitis promotes the proliferation and suppresses the differentiation potential of human periodontal ligament stem cells. *Int J Mol Med.* 2015;36(4):915-922. doi:10.3892/ijmm.2015.2314
- Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet.* 2021 Jan 21;11:630186. doi: 10.3389/fgene.2020.630186.
- Yegorov YE, Poznyak AV, Nikiforov NG, Starodubova AV, Orekhov AN. Role of Telomeres Shortening in Atherogenesis: An Overview. *Cells.* 2021;10(2):395. doi: 10.3390/cells10020395.
- Bühning J, Hecker M, Fitzner B, Zettl UK. Systematic Review of Studies on Telomere Length in Patients with Multiple Sclerosis. *Aging Dis.* 2021;12(5):1272-1286. doi: 10.14336/AD.2021.0106.
- Masi S, Salpea KD, Li K, Parkar M, Nibali L, Donos N, Patel K, Taddei S, Deanfield JE, D'Aiuto F, Humphries SE. Oxidative stress, chronic inflammation, and telomere length in patients with periodontitis. *Free Radic Biol Med.* 2011;50(6):730-5. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.031.
- Lamster IB, Pagan M. Periodontal disease and the metabolic syndrome. *Int Dent J.* 2017 Apr;67(2):67-77. doi: 10.1111/idj.12264.
- Plemmenos G, Evangelidou E, Polizogopoulos N, Chalazias A, Deligianni M, Piperi C. Central Regulatory Role of Cytokines in Periodontitis and Targeting Options. *Curr Med Chem.* 2021;28(15):3032-3058. doi: 10.2174/0929867327666200824112732.
- Hajishengallis G, Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat Rev Immunol* 21, 426–440 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00488-6>
- Hatasa M, Yoshida S, Takahashi H, Tanaka K, Kubotsu Y, Ohsugi Y, Katagiri T, Iwata T, Katagiri S. Relationship between NAFLD and Periodontal Disease from the View of Clinical and Basic Research, and Immunological Response. *Int J Mol Sci.* 2021;22(7):3728. doi: 10.3390/ijms22073728.
- Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF), Società Italiana di Diabetologia (SID) and Società Italiana dell'Obesità (SIO). Non-alcoholic fatty liver disease in adults 2021: A clinical practice guideline of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF), the Italian Society of Diabetology (SID) and the Italian Society of Obesity (SIO). *Eat Weight Disord.* 2021. doi: 10.1007/s40519-021-01287-1.
- Sanyal AJ, Harrison SA, Ratzliff V, Abdelmalek MF, Diehl AM, Caldwell S, Shiffman ML, Aguilar Schall R, Jia C, McColgan B, Djedjos CS, McHutchison JG, Subramanian GM, Myers RP, Younossi Z, Muir AJ, Afdhal NH, Bosch J, Goodman Z. The Natural History of Advanced Fibrosis Due to Nonalcoholic Steatohepatitis:

Data From the Simtuzumab Trials. *Hepatology*. 2019;70(6):1913-1927. doi: 10.1002/hep.30664.

12. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res*. 2002 May 15;30(10):e47. doi: 10.1093/nar/30.10.e47.

13. Cheng, R., Choudhury, D., Liu, C. et al. Gingival fibroblasts resist apoptosis in response to oxidative stress in a model of periodontal diseases. *Cell Death Discovery* 1, 15046 (2015). <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2015.46>

14. Duseja A, Chahal GS, Jain A, Mehta M, Ranjan A, Grover V. Association between nonalcoholic fatty liver disease and inflammatory periodontal disease: A case-control study. *J Indian Soc Periodontol*. 2021;25(1):47-54. doi: 10.4103/jisp.jisp_45_20.

15. Kuraji R, Sekino S, Kapila Y, Numabe Y. Periodontal disease-related nonalcoholic fatty liver disease and

nonalcoholic steatohepatitis: An emerging concept of oral-liver axis. *Periodontol* 2000. 2021;87(1):204-240. doi: 10.1111/prd.12387.

16. Cheng F, Carroll L, Joglekar MV, Januszewski AS, Wong KK, Hardikar AA, Jenkins AJ, Ma RCW. Diabetes, metabolic disease, and telomere length. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021;9(2):117-126. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30365-X.

17. Laish I, Mannasse-Green B, Hadary R, Biron-Shental T, Konikoff FM, Amiel A, Kitay-Cohen Y. Telomere Dysfunction in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cryptogenic Cirrhosis. *Cytogenet Genome Res*. 2016;150(2):93-99. doi: 10.1159/000454654.

18. Thomson WM, Zeng J, Broadbent JM, et al. Telomere length and periodontal attachment loss: a prospective cohort study. *J Clin Periodontol*. 2016;43(2):121-127. doi:10.1111/jcpe.12499