



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR**

Uso de N-Acetilcisteína en periodontitis: revisión sistemática

Cristopher Nicolás Farías Núñez

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REVISIÓN SISTEMÁTICA CUALITATIVA
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA**

TUTORA PRINCIPAL

Dra. Andrea Cristina Paula-Lima

**Adscrito a Proyecto BMBF 180051
Santiago - Chile
2022**



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR**

Uso de N-Acetilcisteína en periodontitis: revisión sistemática

Cristopher Nicolás Farías Núñez

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REVISIÓN SISTEMÁTICA CUALITATIVA
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA**

TUTORA PRINCIPAL

Dra. Andrea Cristina Paula-Lima

**Adscrito a Proyecto BMBF 180051
Santiago - Chile
2022**

A mi querida abuela Susana

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia. Desde pequeño siempre me motivaron a tener una vocación, a seguir mis sueños hasta alcanzarlos. A mi madre, mi padre y mis hermanos, gracias por escuchar todas mis penas, por levantarme el ánimo, por celebrar juntos cada triunfo y fracaso dentro de este camino. A Guisel, mi compañera, mi gran amor y mi mejor amiga, gracias por la comprensión en todo momento, por los consejos, los abrazos, por animarme a seguir. Sin ustedes no habría podido lograrlo.

A mis amigos, el regalo más grande que me dejó el paso por la universidad. A Carlos, Hazel, Carolina, Iveth, Wen y Diego, gracias por cada momento vivido en la facultad, por todas las anécdotas, risas y penas que pasamos juntos. Estoy seguro de que seremos grandes profesionales.

Agradezco a cada docente que me formó durante todos estos años. Por cada uno de sus consejos, por sacar lo mejor de mí. A mis tutores y equipo de internado del CESFAM Quinta Bella y del CEMO Villa Sur, muchas gracias por permitir desarrollarme como profesional y por su confianza en mí.

Finalmente, quiero dar las gracias a mi tutora, la Dra. Andrea y al equipo de BNI por todo su apoyo. Gracias, profesora, por siempre estar dispuesta a resolver mis dudas, por la paciencia, por abrir mi mente al mundo de la investigación. Ha sido un placer poder realizar este trabajo con usted, es una excelente líder y un ejemplo a seguir.

ÍNDICE

1. RESUMEN	
2. INTRODUCCIÓN	1
3. MARCO TEÓRICO	2
3.1 Periodontitis	2
3.2 Especies reactivas de oxígeno (EROs) y estrés oxidativo	5
3.3 Especies reactivas de oxígeno (EROs) en el periodonto	6
3.4 Estrés oxidativo, periodontitis y antioxidantes	7
3.5 N-acetil cisteína (NAC)	9
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	12
5. OBJETIVO GENERAL	12
6. METODOLOGÍA	13
6.1 Protocolos y fuentes de información	13
6.2 Criterios de elegibilidad: inclusión y exclusión	13
6.3 Estrategia de Búsqueda	14
6.4 Selección de los estudios	15
6.5 Extracción de la información	16
6.6 Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios seleccionados	16
7. RESULTADOS	18
7.1 Descripción de los estudios seleccionados	18
7.2 Uso de NAC en patógenos periodontales y sus productos en modelos <i>in vitro</i>	20
7.3 Uso de NAC en periodontitis en estudios experimentales en animales	28
7.4 Uso de NAC en periodontitis en ensayos clínicos	33
7.5 Análisis de riesgo de sesgo	34
8. DISCUSIÓN	42
8.1 NAC produjo una reducción de EROs, de marcador de daño oxidativo y restauró el daño mitocondrial en modelos	42

<i>in vitro e in vivo</i>	
8.2 NAC disminuyó los niveles de ARNm y proteicos de mediadores proinflamatorios e inflammasoma en estudios <i>in vitro e in vivo</i> y promovió la resolución de la inflamación en estudio <i>in vitro</i> .	44
8.3 NAC disminuyó la muerte celular en estudios <i>in vitro e in vivo</i>	47
8.4 NAC provocó una reducción de la actividad osteoclástica, aumentó la actividad osteoblástica y redujo la pérdida ósea alveolar en estudios <i>in vivo</i> y su relación con ensayo clínico.	48
8.5 Efecto antibacteriano e inhibidor de la invasión bacteriana de NAC	52
8.6 Uso de NAC en combinación y versus otros compuestos	52
8.7 NAC en la relación periodontitis-diabetes	54
8.8 Propuesta de modelo de NAC en periodontitis	56
8.9 Heterogeneidad de los estudios	57
8.10 Discusión del análisis de riesgo de sesgo	58
8.11 Limitaciones	59
9. CONCLUSIONES	60
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
11. ANEXOS Y APÉNDICES	84

1. RESUMEN

Introducción: La periodontitis es una enfermedad crónica inflamatoria caracterizada por una disbiosis del microbioma oral subgingival, que afecta los tejidos de soporte periodontal. En ella, el estrés oxidativo juega un papel importante y diversos estudios han evaluado el uso de antioxidantes en el tratamiento de la periodontitis. La N-acetil cisteína (NAC) es un tiol antioxidante precursor de glutatión, principal antioxidante endógeno del organismo. El objetivo de este estudio es determinar la utilidad de NAC en el tratamiento de la enfermedad periodontal mediante una revisión de la literatura.

Metodología: Esta revisión se llevó a cabo en base al protocolo PRISMA del 2020. Se realizó una búsqueda en las bases de datos PubMed, Scopus, Web of Science y BVS. Se seleccionaron publicaciones en donde se haya usado NAC en el tratamiento de la enfermedad periodontal en estudios en humanos, en periodontitis experimental en animales, sobre cultivos celulares infectados con bacterias periodontales o sus productos o aplicado directamente sobre bacterias periodontales. Se incluyeron artículos hasta el año 2022, en idioma español, inglés o portugués. Los estudios fueron seleccionados por un primer revisor y confirmados por un segundo. Se evaluó el riesgo de sesgo de los artículos mediante las herramientas RoB2 y SYRCLE.

Resultados: Se encontraron 1024 publicaciones y, siguiendo los criterios de elegibilidad, se seleccionaron 25, los cuales presentaron un riesgo de sesgo moderado. En estudios clínicos, el tratamiento con NAC se asoció a una disminución de la profundidad de sondaje, mientras que los estudios preclínicos han demostrado que, en presencia de NAC, se observó una reducción en la producción de EROs, marcadores de estrés oxidativo, daño mitocondrial, producción y liberación de citoquinas pro-inflamatorias, niveles de apoptosis celular, actividad osteoclástica y pérdida ósea alveolar.

Conclusión: Los estudios han demostrado efectos positivos con el uso de NAC en periodontitis; sin embargo, la evidencia es aún limitada. Si bien los resultados son beneficiosos, se necesitan más estudios, principalmente clínicos,

para determinar la eficacia del antioxidante NAC en el tratamiento de la periodontitis.

2. INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una enfermedad crónica inflamatoria multifactorial, mediada por una disbiosis de la microbiota oral comensal (Papapanou y cols., 2018). Dicha patología cursa con una respuesta inmune innata y adaptativa exacerbada, afectando negativamente los tejidos de soporte periodontal en desmedro del nivel de inserción, llevando a pérdida dental (Loos & Van Dyke, 2020; Könönen y cols., 2015). Corresponde a una enfermedad altamente prevalente en la población mundial y chilena, afectando a más del 90% de las personas adultas de nuestro país, con un gran impacto en la calidad de vida de los pacientes (Carvajal, 2016; FDI, 2015; MINSAL, 2010).

Existe evidencia que ha relacionado a la periodontitis con estrés oxidativo, un evento caracterizado por un aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) que sobrepasa las capacidades del sistema de defensa antioxidante de las células (Meñaca-Guerrero y cols., 2020; Liu y cols., 2017; Muñoz y cols., 2020). En este sentido, se ha investigado el uso de terapia antioxidante como coadyuvante durante el tratamiento periodontal a modo de contrarrestar los efectos proinflamatorios del estrés oxidativo presente en la periodontitis (Anton y cols., 2021; Shadisvaaran y cols., 2021; Bazyar y cols., 2019; Castro y cols., 2019; Pradeep y cols., 2016). El presente estudio se enfocará en evaluar el uso del tiol antioxidante N-acetil cisteína (NAC), precursor del glutatión, en la enfermedad periodontal mediante una revisión sistemática cualitativa.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Periodontitis

La periodontitis es una patología crónica inflamatoria mediada por una disbiosis de los microorganismos presentes en el surco gingival que afecta los tejidos de soporte periodontal (Papapanou y cols., 2018). Su etiología es multifactorial, en donde factores genéticos, ambientales, hábitos, entre otros, determinan la susceptibilidad y tasa de progresión de la enfermedad. En ella, la destrucción de los tejidos de soporte periodontal, compuesto por hueso alveolar, ligamento periodontal y cemento radicular, es una manifestación primaria de la patología, pudiendo llevar a la pérdida dentaria (Könönen y cols., 2015). Por otro lado, se ha demostrado una asociación entre la periodontitis con varias enfermedades sistémicas, como diabetes, enfermedades cardiovasculares, deterioro de la función cognitiva, entre otras (Sanz y cols., 2020; Dioguardi y cols., 2020; Nascimento y cols., 2019; Nascimento y cols., 2018). Dichas relaciones se podrían explicar por la contribución de la enfermedad periodontal a la inflamación sistémica de bajo grado, la cual corresponde a un estado sistémico de producción subclínica crónica de factores inflamatorios (Machado y cols., 2021; Cecoro y cols., 2020; Del Pinto y cols., 2020; Nascimento y cols., 2019).

La periodontitis cursa con una disbiosis del microbioma oral subgingival, que afecta negativamente al sistema inmunitario del huésped de tal manera que crea y mantiene un estado de inflamación en los tejidos periodontales, impidiendo la subversión inmunitaria y la recuperación del tejido (Sedghi y cols. 2021b). En este sentido, es necesario destacar el rol de algunas bacterias en la patogénesis de la enfermedad periodontal. En primer lugar, tanto *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) como *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) con bacterias periodontales altamente asociadas a periodontitis y pertenecen al complejo rojo de Socransky; sin embargo, se destaca el rol de *P. gingivalis* como una “patógeno periodontal calve” debido a su capacidad de alterar la microbiota oral comensal y provocar gran

inflamación pese a su colonización de bajo nivel (Abusleme y cols., 2021; Abusleme y cols., 2013; Hajishengallis y cols., 2012; Socransky y cols., 1998). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) está asociada a periodontitis principalmente de pacientes jóvenes y existe evidencia de que contribuye al inicio y progresión de dicha enfermedad, además de un posible rol en la acumulación de bacterias senescentes durante la enfermedad periodontal (Aquino-Martinez y cols. 2020; Fine y cols., 2019; Haubek y cols. 2008). Otra bacteria involucrada es *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), la cual es capaz de provocar cambios en la dinámica ambiental de los ecosistemas microbianos subgingivales, sin embargo, requiere de un alto nivel de colonización (Abusleme y cols., 2021; Zhang y cols. 2017; Torrungruang y cols. 2015). A su vez, tanto *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) como *Selenomonas noxia* (*S. noxia*) se han relacionado con gingivitis y periodontitis, y existe evidencia que relaciona a *S. noxia* a sacos periodontales de pacientes con síndrome de Papillon-Lefèvre (Abusleme y cols., 2021; Albandar y cols., 2012). *Campylobacter rectus* (*C. rectus*) ha sido relacionada con mayor riesgo de periodontitis tanto en embarazadas por aumento de estradiol (Yokoyama y cols. 2008) como en adolescentes (López y cols., 2011). Por último, *Streptococcus gordonii* (*S. gordonii*) corresponde a una bacteria parte del complejo naranja de Socransky la cual, pese a estar mayormente relacionada con gingivitis e infecciones endodónticas, ha sido relacionada con periodontitis debido a su rol como promotor biopelículas de *P. gingivalis* (Abusleme y cols., 2021; Sedghi y cols., 2021a; Chávez De Paz; Socransky y cols., 1998). Cabe destacar que los complejos de Socransky corresponden a una clasificación de bacterias periodontales según el estado de desarrollo de la biopelícula subgingival y la gravedad de la enfermedad periodontal, en donde se ordenan según colores de menor a mayor virulencia: verde, amarillo, azul, violeta, naranja y rojo (Badanian y cols., 2019; Socransky y cols., 1998)

En respuesta a la disbiosis ocurrida durante la enfermedad periodontal, en el hospedero se genera, inicialmente, una respuesta inflamatoria aguda que permite reclutar diversas células a los sitios de infección a través de la producción de citoquinas y quimioquinas. Esto ocurre gracias a los fagocitos, macrófagos y neutrófilos, los cuales poseen receptores de superficie que reconocen y se unen a

las moléculas de superficie de las bacterias. Estos son conocidos como receptores de reconocimiento de patrones, e incluyen los receptores tipo toll (TLRs, *Toll Like Receptors*) (Zadeh y cols., 1999; Hajishengallis, 2020). Posterior a este reconocimiento, se secretan quimiocinas que atraen fagocitos, se activa el sistema complemento, los mastocitos liberan histamina que causa vasodilatación, aumentando el flujo sanguíneo a nivel local. Si esta inflamación persiste, los antígenos bacterianos son presentados por linfocitos, macrófagos y células dendríticas, los cuales pueden desencadenar respuestas destructivas sobre el tejido periodontal, mediante la liberación de diferentes mediadores como el ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B (RANKL), Interleuquina 6 (IL-6), Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), entre otros (Cekici y cols., 2014; Gu y Han, 2020). Un evento importante durante la enfermedad periodontal es la polarización de los macrófagos hacia el fenotipo M1, el cual es pro-inflamatorio y se ha relacionado con activación de osteoclastos y reabsorción ósea, disminuyendo la proporción de macrófagos M2, los cuales tienen actividad antiinflamatoria y de reparación tisular (Sun y cols., 2021).

Por último, es de gran importancia destacar que la investigación de las enfermedades periodontales se ha llevado a cabo mediante múltiples diseños de estudio, generando evidencia de diversa calidad y relevancia clínica. Actualmente, los estudios con mayor nivel en la pirámide de la evidencia son las revisiones sistemáticas y metaanálisis, seguidos de ensayos clínicos randomizados, estudios clínicos observacionales, posteriormente estudios *in vivo* y finalmente *in vitro* (Murad y cols., 2016; Kiriakou y cols., 2014; Pandis, 2011). Los estudios en humanos, ya sea ensayos clínicos u observacionales, tienen la ventaja de mostrar asociaciones correlativas en sus conclusiones, además de presentar una mayor relevancia al momento de hacer recomendaciones en una revisión sistemática (Murad y cols., 2016; Hajishengallis y cols. 2015). Los estudios en animales ofrecen la ventaja de mostrar relaciones causa-efecto, además de la posibilidad de usar diferentes modelos de la misma enfermedad para probar aspectos puntuales de su patogenia (Hajishengallis y cols. 2015; Graves y cols. 2012). Se han usado múltiples animales como ratas, conejos, perros, primates, y las formas de inducción de periodontitis

más utilizadas son: el modelo de la ligadura, inoculación oral a través de sonda (conocido en inglés como *oral gavage*) y la inyección palatina (Oz & Puleo, 2011). El método de la ligadura consiste en la instalación de una liga o sutura de seda o algodón alrededor de los molares, lo cual favorece el acúmulo de biofilm (o biopelícula) y pérdida ósea (Vargas-Sanchez y cols. 2017). Corresponde a una de las formas experimentales más usadas y estudiadas, sobre todo en ratas, y ha demostrado ser útil al momento de evaluar terapias regenerativas, preventivas o ver el efecto de enfermedades sistémicas relacionadas con periodontitis como la diabetes (Lin y cols., 2021; De Molon y cols., 2018; Abe & Hajishengallis, 2013). Por otro lado, el método de *oral gavage* es una técnica en donde se realiza una inoculación vía oral de cepas bacterianas periodontales humanas, lo cual produce una disbiosis intestinal y sepsis (De Molon 2016). La inyección de patógenos es otro método, en donde se inyectan cepas bacterianas o sus productos directamente en tejido gingival, por lo general en la zona palatina, lo que provoca una inflamación local (Nakamura y cols. 2008; Garlet y cols. 2005). Tanto el método de *oral gavage* como la inyección palatina tienen la ventaja de limitar el número de patógenos a uno o unos pocos, y ver sus efectos tanto a nivel oral como sistémico (Días-Zúñiga y cols. 2020; Virto y cols. 20018; De Molon y cols 2016; Nakajima y cols 2006). Finalmente, se ha estudiado la periodontitis en modelos *in vitro* los cuales destacan por facilitar un mayor control de las condiciones experimentales, lo que permite poder encontrar mecanismos moleculares plausibles. Sin embargo, estos modelos presentan la desventaja de que no pueden replicar la complejidad de las interacciones cruzadas que se producen entre la respuesta inmunitaria, el microbioma y el tejido del huésped (Hajishengallis y cols. 2015; Graves y cols, 2012).

3.2 Especies reactivas de oxígeno (EROs) y estrés oxidativo

Durante las últimas décadas, ha existido un gran interés sobre el rol del estrés oxidativo en la enfermedad periodontal (Sczapanik y cols. 2020). El estrés

oxidativo se produce cuando ocurre un aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) que sobrepasa las capacidades del sistema de defensa antioxidante de las células (Muñoz y cols., 2020; Sies, 1997). Las EROs corresponden a un grupo de moléculas o iones compuestos de oxígeno con alta capacidad oxidante, siendo clasificados como especies radicales, si tienen un electrón desapareado en la última capa de valencia, y no radicales, como es el caso del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Carvajal, 2019; Lushchak, 2014). A concentraciones fisiológicas, participan en funciones esenciales del organismo, como por ejemplo en el desarrollo del cono axonal de neuronas durante el periodo embrionario (Wilson y cols, 2019), plasticidad sináptica (Riquelme y cols., 2011; Bruna y cols., 2018), vasodilatación y angiogénesis en el sistema cardiovascular (Schröder, 2019), remodelación y adaptación de la actividad contráctil del músculo esquelético a largo plazo (Jackson, 2015), entre muchas otras. En cuanto a su rol en el sistema inmune, destaca principalmente su participación en la reparación tisular, en el reclutamiento y proliferación de fibroblastos y neutrófilos, en el plegamiento y maduración adecuada de inmunoglobulinas y en la activación de macrófagos frente a patógenos (Herb & Schramm, 2021; Sies & Jones, 2020).

3.3 Especies reactivas de oxígeno (EROs) en el periodonto

En el tejido periodontal, se ha descrito que el rol de las EROs es dependiente de la cantidad presente (Liu y cols., 2017; Nibali & Donos, 2013). A concentraciones basales, participan como segundo mensajero en la regulación de la transducción de señales y homeostasis. Se ha descrito que, en presencia de EROs, los fibroblastos del ligamento periodontal humano son capaces de diferenciarse en osteoblastos, y un estudio demostró que la glucosa oxidasa, la cual sintetiza H_2O_2 en bajas concentraciones, podría estimular la proliferación y diferenciación osteoblástica de los fibroblastos a través de la regulación positiva del factor de transcripción 2 relacionado con runt (Runx2) y osterix (Choe y cols., 2012). Por otro lado, se ha establecido que el H_2O_2 puede aumentar los niveles de metaloproteinasas de la

matriz extracelular (MMP), lo que podría llevar a mejorar la migración de fibroblastos de ligamento periodontal (Cavalla y cols., 2015). Cabe destacar que las MMP corresponden a proteínas presentes en el tejido periodontal y que se han relacionado con múltiples funciones, como su capacidad de degradar el colágeno, regular la bioactividad y niveles de citoquinas, lo cual le otorga un rol como modulador de la respuesta inflamatoria (Rodríguez y cols., 2010). Otro estudio reveló que el H₂O₂ es un determinante de la sinergia polimicrobiana oral, en donde la producción aumentada de esta molécula por parte de *streptococos* orales es contrarrestada por bacterias como *A. actinomycetemcomitans*, actuando como un interruptor de control para mejorar o suprimir el desarrollo de biopelícula oral (Lamont, 2016).

3.4 Estrés oxidativo, periodontitis y antioxidantes

Durante la periodontitis, hay un aumento drástico de EROs, provocado principalmente por células del sistema inmune innato como neutrófilos y macrófagos durante el proceso de fagocitosis (Wang y cols., 2017; Mittal y cols., 2014). Esto no es compensado por el sistema antioxidante endógeno, provocando estrés oxidativo, lo cual tiene efectos citotóxicos que incrementan la destrucción periodontal (Nibali & Donos 2013). El estrés oxidativo provoca un daño tisular directo mediado por inducción de la peroxidación lipídica y la destrucción de la membrana celular, la desnaturalización de proteínas y desactivación de enzimas, el daño al DNA y alteración de los cromosomas, causando daño mitocondrial y aumento exacerbado de la producción de EROs (Liu y cols., 2017; Wang y cols., 2017). Por otra parte, se han descrito diferentes vías metabólicas que pueden ser activadas por las EROs durante el estrés oxidativo, las cuales se relacionan a mecanismos de daño indirecto (Meñaca-Guerrero y cols., 2020; Liu y cols., 2017). En primer lugar, las EROs son capaces de activar la vía de señalización del factor de transcripción nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$), lo que resulta en un aumento de la expresión de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, lo cual conduce a la destrucción periodontal al desencadenar

respuestas inflamatorias y diferenciación osteoclástica (Özcan y cols., 2017). En segundo lugar, las EROs activan la quinasa N-terminal c-Jun (JNK), lo que provoca disociación de E-cadherina en el epitelio de unión periodontal (Lee, Kim y Kim, 2016), iniciando la cascada de apoptosis a través de la vía dependiente de caspasa-3 en fibroblastos del ligamento periodontal humano (Kang y cols., 2011). En tercer lugar, las EROs participan en la activación del inflamasoma, un complejo multiproteico macromolecular que tiene papel central en la inmunidad innata. Uno de sus componentes más conocidos es el NLRP3, y su activación conduce a una mayor secreción de interleuquina 1 β y 18 (Zhou y cols., 2010; Bostanci y cols., 2009). Por último, existe una regulación redox de la autofagia, desempeñando un papel importante en el inicio y desarrollo de la periodontitis (Liu y cols., 2017) y se ha demostrado la participación de genes relacionados con autofagia Atg12 y LC3, los cuales se correlacionan positivamente con la producción de EROs mitocondriales en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con periodontitis (Bullon y cols., 2012).

Para contrarrestar este aumento de EROs, existen diversos sistemas antioxidantes. Estos pueden ser clasificados según su función como los preventivos, que incluyen a las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa, y a la albúmina, entre otros. Por otra parte, están los antioxidantes scavenger (o *eliminadores* en español) como el ácido ascórbico, carotenoides, flavonoides, ácido úrico, vitamina E, glutatión reducido y los polifenoles (Chapple & Matthews, 2007). Un metanaanálisis reciente postula al licopeno (un caroteno) y al té verde, (caracterizado por una combinación de flavonoides y carotenos) como posibles coadyuvantes útiles en el tratamiento de la periodontitis, logrando reducir parámetros clínicos como profundidad de sondaje (PS), índice de sangrado al sondaje (IS) e incrementar el nivel de inserción clínico (NIC) (Castro y cols., 2019).

Existe evidencia que demuestra que pacientes con periodontitis poseen concentraciones bajas de antioxidantes totales (TAOC) en saliva en comparación con controles sanos, presentando una fuerte correlación negativa entre TAOC salival y pérdida de inserción clínica (Baser y cols., 2015). Además, se ha

documentado niveles más altos de metabolitos reactivos del oxígeno y estado oxidante total (TOS) en el suero, la saliva y fluido gingival crevicular de pacientes con periodontitis en comparación con controles sanos y controles post tratamiento periodontal (Akalin y cols., 2007; D'aiuto y cols., 2010; Wei y cols., 2010). Una revisión de la literatura reciente concluye que la reducción de TAOC y el aumento de EROs pueden ser factores de riesgo de periodontitis, siendo difícil determinar si el cambio en el estado redox es la causa o resultado de la periodontitis (Liu y cols., 2017). Por último, existen investigaciones en donde pacientes con periodontitis exhibieron menores concentraciones de glutatión, el principal antioxidante endógeno, específicamente su forma reducida, además de menor TAOC, tanto en suero y fluido gingival versus controles sanos, en donde una posible alternativa terapéutica sería la suplementación de dicho compuesto, lo que podría limitar el daño por estrés oxidativo y mejorar la cicatrización periodontal (Bains & Bains, 2015). Considerando lo anteriormente descrito, surge la idea de utilizar N-acetil cisteína (NAC), un tiol antioxidante precursor del glutatión, como coadyuvante en el tratamiento de la periodontitis (Castro y cols., 2019; Atkuri y cols., 2007).

3.5 N-acetil cisteína (NAC)

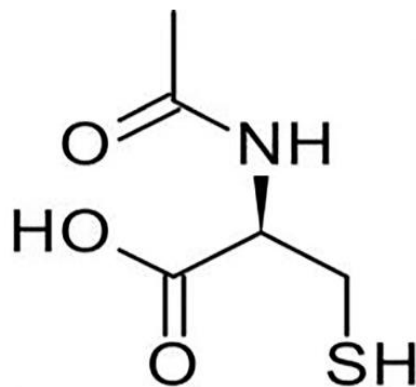


Figura N°1: Estructura química de NAC. Obtenida del artículo de Rind y cols., 2021

Un antioxidante de gran interés durante estas últimas décadas es la N-acetil

cisteína (NAC), un derivado del aminoácido L-cisteína y, como se describió anteriormente, precursor del glutatión. La NAC posee una potente capacidad de contrarrestar los efectos deletéreos de las EROs (Atkuri y cols., 2007). Dicho antioxidante es capaz de incorporarse a las células, donde disminuye los efectos del estrés oxidativo (Ross, 1988). Con un grupo acetilo unido a su átomo de nitrógeno, como la mayoría de los tioles, puede oxidarse al interactuar con una gran variedad de radicales y también servir como agente nucleofílico (**Figura N°1**). Desde el punto de vista farmacéutico, está disponible para su administración por vía oral, vía inhalatoria y vía intravenosa. La NAC es absorbida completamente por vía oral, sin embargo, presenta una baja biodisponibilidad, oscilando entre 5%-10% dependiendo si son comprimidos de absorción lenta o rápida respectivamente (Rind y cols., 2021). La NAC presenta un volumen de distribución que oscila entre los 0,33 - 0,47 l/kg, y se puede encontrar principalmente en el hígado, riñones, pulmones y secreciones bronquiales alcanzando concentración plasmática máxima a las 2 horas post administración (Rind y cols., 2021; Holdiness 1991). En cuanto a su biotransformación, NAC pasa por procesos de N-desacetilación en la mucosa intestinal y metabolismo de primer paso en el hígado, resultado en la generación de su metabolito activo: L-cisteína, un aminoácido esencial en la síntesis de glutatión. Por último, el 30% del fármaco es eliminado vía excreción renal y la vida media terminal de NAC entre 5,6 hr - 6,25 hr (Rind y cols., 2021; Samuni y cols., 2013; Holdiness 1991).

Su principal uso actual es en el tratamiento de la sobredosis por paracetamol (Hendrickson 2019; Chiew y cols., 2018), junto con el tratamiento de enfermedades respiratorias, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística, neumonías, bronquitis entre otras (Calverley y cols., 2021; Santus y cols. 2014). Sin embargo, estudios recientes postulan a NAC como un posible coadyuvante en el tratamiento de enfermedades en donde la inflamación juega un rol central, como lo es en la enfermedades neurodegenerativas (Bavarsad y cols., 2014; More y cols., 2018), osteoporosis (Chen, L. y cols., 2019a), en la prevención de dislipidemia y prediabetes en modelos de rata (Villagarcía y cols., 2018) e incluso en la prevención de accidentes cerebrovasculares en pacientes diabéticos, quienes

presentan una mayor susceptibilidad a agregación plaquetaria y formación de trombos (Wang y cols. 2018).

En el presente estudio, se abordó el posible uso de NAC en el tratamiento de la periodontitis mediante una revisión de la literatura, ya que, pese a existir evidencia que podría demostrar un rol positivo en la prevención y tratamiento de enfermedades periodontales, hasta la fecha no existen revisiones sistemáticas enfocadas en NAC, ni un análisis de la calidad de la evidencia existente.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El antioxidante N-Acetilcisteína es una herramienta terapéutica potencialmente útil en el tratamiento de la enfermedad periodontal?

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del antioxidante N-Acetilcisteína en el tratamiento de la enfermedad periodontal mediante una revisión de la literatura.

6. METODOLOGÍA

6.1 Protocolos y fuentes de información

El presente estudio corresponde a una revisión sistemática cualitativa, en donde se siguió el diagrama de flujo de la Declaración de Ítems Preferidos para Reportes para Revisiones Sistemáticas y Metaanálisis (PRISMA) del año 2020 (Page y cols., 2021).

El estudio se basó en la pregunta en el siguiente formato PICO:

- Población: Seres humanos y modelos animales con periodontitis y/o cultivos celulares de inflamación periodontal.
- Intervención: Tratamiento de cultivos celulares, animales o seres humanos con NAC.
- Comparación: Seres humanos, modelos animales y/o cultivos celulares con enfermedad periodontal tratados o no con NAC.
- *Outcome Measures* o resultados: Reducción del estrés oxidativo, disminución de parámetros de inflamación y patología periodontal.

Las bases de datos en donde se realizó la búsqueda fueron: PubMed (Biblioteca Nacional de Medicina), Scopus® (Elsevier), Web of Science (Thomson Reuters) y Biblioteca Virtual de Salud (de la Red BVS).

6.2 Criterios de elegibilidad: inclusión y exclusión

Los estudios fueron seleccionados según los siguientes criterios de elegibilidad:

Criterios de inclusión:

- Ensayos en humanos: Ensayos clínicos aleatorizados y no aleatorizados y ensayos clínicos observacionales en donde se administró NAC en pacientes con periodontitis.
- Ensayos experimentales en animales: Ensayos en donde se indujo la periodontitis en forma experimental (Ligadura, *oral gavage* o inyección

palatina/gingival) en donde se administró NAC.

- Ensayos *in vitro*: Modelos de cultivos celulares o tejidos periodontales humanos, animales o de línea celular tratados con patógenos periodontales o sus productos en donde se utilizó NAC para contrarrestar sus efectos. Por último, también se incluyeron estudios que evaluaron el efecto directo de NAC sobre patógenos periodontales.
- Se incluyeron publicaciones hasta el día 19 de mayo del 2022 sin límite inicial de año, considerando que el tema presenta un interés reciente y en búsquedas preliminares no se ha logrado superar los 30 años de data.
- Artículos en idioma español por ser lengua nativa de los revisores, inglés por ser conocido como el idioma universal de la ciencia y portugués por el importante volumen de investigación odontológica en este idioma.
- Los artículos incluidos pueden ser presentados como: artículos clásicos, estudios veterinarios, ensayos clínicos fase I, II, III o IV, ensayos clínicos aleatorizados o no, ensayos multicéntricos, estudios de cohorte, estudios caso-control, reporte de casos, serie de casos clínicos, estudios experimentales en animales, ensayos *in vivo*, ensayos *in vitro*.

Criterios de exclusión:

- Estudios no relacionados con el efecto de NAC en el tratamiento de periodontitis, en donde hayan usado otros antioxidantes o productos farmacéuticos.
- Artículos en idiomas distintos de inglés, español y portugués.
- Revisiones sistemáticas previas con y sin metaanálisis, literatura gris y cartas al editor.

6.3 Estrategia de Búsqueda

Las bases de datos incluidas fueron MEDLINE-PubMed, Web of Science™, BVS y Scopus®. La búsqueda se realizó el día 19 de mayo del 2022, mediante términos MeSH de la base de datos de MEDLINE y palabras claves de texto libre consideradas como imprescindibles por parte del equipo de revisión, lo cual fue

implementado en la búsqueda vía PubMed y que fue adaptada para las otras bases de datos (**Anexo N°1**). La estrategia de búsqueda utilizada fue:

1. ("periodontal diseases"[MeSH Terms] OR "oral bacteria"[Title/Abstract] OR "periodontal"[Title/Abstract] OR "periodontitis"[MeSH Terms] OR "chronic periodontitis"[MeSH Terms] OR "aggressive periodontitis"[MeSH Terms] OR "periodontal ligament"[MeSH Terms] OR "osteoblasts"[MeSH Terms] OR "oral keratinocyte"[Title/Abstract] OR "osteoclasts"[MeSH Terms])
2. ("acetylcysteine"[MeSH Terms] OR "N-acetylcysteine"[Title/Abstract] OR "NAC"[Title/Abstract] OR "n acetyl cysteine"[Title/Abstract])
3. ("periodontal attachment loss"[MeSH Terms] OR "oxidative stress"[MeSH Terms] OR "clinical attachment level"[Title/Abstract] OR "probing depth"[Title/Abstract] OR "bleeding on probing"[Title/Abstract] OR "bone resorption"[MeSH Terms] OR "periodontal inflammation"[Title/Abstract] OR "redox balance"[Title/Abstract] OR "cytokines"[MeSH Terms] OR "interleukins"[MeSH Terms] OR "tumor necrosis factors"[MeSH Terms] OR "reactive oxygen species"[MeSH Terms] OR "host response"[Title/Abstract] OR "cytotoxicity, immunologic"[MeSH Terms] OR "biofilms"[MeSH Terms])
4. #1 AND #2 AND #3

Para complementar la búsqueda en bases de datos electrónica, se realizó una búsqueda manual revisando la bibliografía de los estudios seleccionados. Esto se realizó con el propósito de encontrar estudios que hayan quedado fuera de la estrategia de búsqueda antes mencionada.

6.4 Selección de los estudios

Luego de realizar la búsqueda en todas las bases de datos, se exportaron los datos para ser cargados en el software EndNote™ en donde se agruparon todos los estudios y se eliminaron los duplicados. Posteriormente, estos resultados fueron subidos a la plataforma Rayyan® – *Intelligent Systematic Review* en donde se

realizó la lectura de títulos y resúmenes y se eliminaron los que no se relacionaron con el objetivo de la revisión. Por último, se descargaron los artículos para realizar la lectura y análisis a texto completo para corroborar la selección de los artículos según los criterios de inclusión y exclusión. Finalmente, a los artículos seleccionados se les realizó una revisión de cada referencia plasmada en la bibliografía, como se detalla al final de la sección “Estrategia de Búsqueda”.

En cuanto al rol de los integrantes del equipo de investigación, los artículos fueron analizados por un revisor (CNFN), quien extrajo la información desde las diversas bases de datos, las ordenó, eliminó duplicados, realizó la lectura de los resúmenes y de los textos en extenso. Un segundo revisor (ACPL) se encargó de decidir sobre los estudios en los cuales el primer revisor tuvo dudas sobre su inclusión en la revisión durante todo el proceso. Ambos autores trabajaron en conjunto para determinar criterios de inclusión y exclusión, bases de datos a elegir y redacción de la presente revisión. El presente estudio, se basó en el manual Cochrane versión 5.1 (Higgins & Green, 2011).

6.5 Extracción de la información

Los artículos seleccionados en esta revisión fueron ordenados y su información fue extraída y plasmada en diferentes tablas mediante el programa Excel®. Se agruparon los estudios en diferentes tablas según el diseño de estudio (ensayo clínico, estudio *in vitro* y estudio *in vivo*). Las categorías de cada una de estas tablas fueron: primer autor y año de publicación, diseño del estudio, población, intervención, control y resultados.

6.6 Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios seleccionados

Para evaluar el riesgo de sesgo se utilizaron diferentes herramientas según el diseño de los artículos (Zeng y cols. 2015). Considerando que los estudios clínicos seleccionados en esta revisión corresponden a ensayos clínicos aleatorizados, se utilizó la segunda versión de la herramienta de riesgo Cochrane

llamada *Risk of Bias 2* (RoB 2). Esta herramienta consta de 5 dominios, los cuales se centran en diferentes aspectos, y sus nombres están en directa relación con la causa de sesgo que abordan: sesgo que surge del proceso de aleatorización, sesgo debido a desviaciones de las intervenciones previstas, sesgo debido a la falta de datos de resultado, sesgo en la medición del resultado y sesgo en la selección del resultado informado. Cada uno de estos dominios presenta una serie de preguntas de señalización, las cuales tienen como objetivo obtener información sobre las características del ensayo que son relevantes para estimar el riesgo de sesgo a evaluar. Basados en las respuestas a cada una de estas interrogantes, se catalogó el riesgo de sesgo de cada artículo como “alto”, “bajo” o “algunas preocupaciones” según un algoritmo específico para cada dominio. Por último, dependiendo del riesgo de sesgo de cada estudio por separado, se obtuvo el riesgo de sesgo en general en donde hay “bajo riesgo de sesgo” si todos los estudios son catalogados con bajo riesgo, “alto riesgo de sesgo” si al menos uno de los estudios presentó alto riesgo y “algunas preocupaciones” si al menos uno de los estudios es catalogado de esa forma. (Sterne y cols. 2019).

En cuanto a los ensayos experimentales en animales, la herramienta usada fue *Systematic Review Center for Laboratory animal Experimentation* (SYRCLE). SYRCLE fue desarrollada a partir de la adaptación de la primera versión de la herramienta de riesgo de sesgo Cochrane (RoB), contiene 10 ítems con diferentes preguntas de señalización y que abordan 6 tipos de sesgos (selección, desempeño, detección, deserción, reporte y otros sesgos). Dependiendo de las respuestas obtenidas, se evaluó el riesgo de sesgo de cada estudio como alto, poco claro o bajo. (Hooijmans y cols., 2014). Por último, no se realizó un análisis de riesgo de los estudios *in vitro*, los cuáles fueron incluidos por la relevancia de su contenido para la discusión de posibles mecanismos asociados a los efectos de NAC en periodontitis reportados en los estudios *in vivo*.

Palabras claves: PERIODONTITIS, INFLAMACIÓN PERIODONTAL, ORAL, NAC, N-ACETILCISTEÍNA, ANTIOXIDANTES.

7. RESULTADOS

7.1 Descripción de los estudios seleccionados

Se identificaron un total de 1024 artículos en las bases de datos seleccionadas: MEDLINE-PubMed, Web of Science™, BVS y Scopus. Posterior a la eliminación de duplicados, los 560 estudios remanentes fueron cargados en la plataforma a Rayyan® para lectura de título y resumen. Tras este análisis, se seleccionaron 40 artículos potencialmente elegibles, cuyo texto completo fue leído, quedando finalmente 25 estudios para su análisis cualitativo (**Figura N°2**). En la búsqueda manual (revisión de la bibliografía de los estudios seleccionados) no se encontraron artículos adicionales, puesto a que ya estaban dentro de la búsqueda en las bases de datos o no cumplieron con los criterios de elegibilidad.

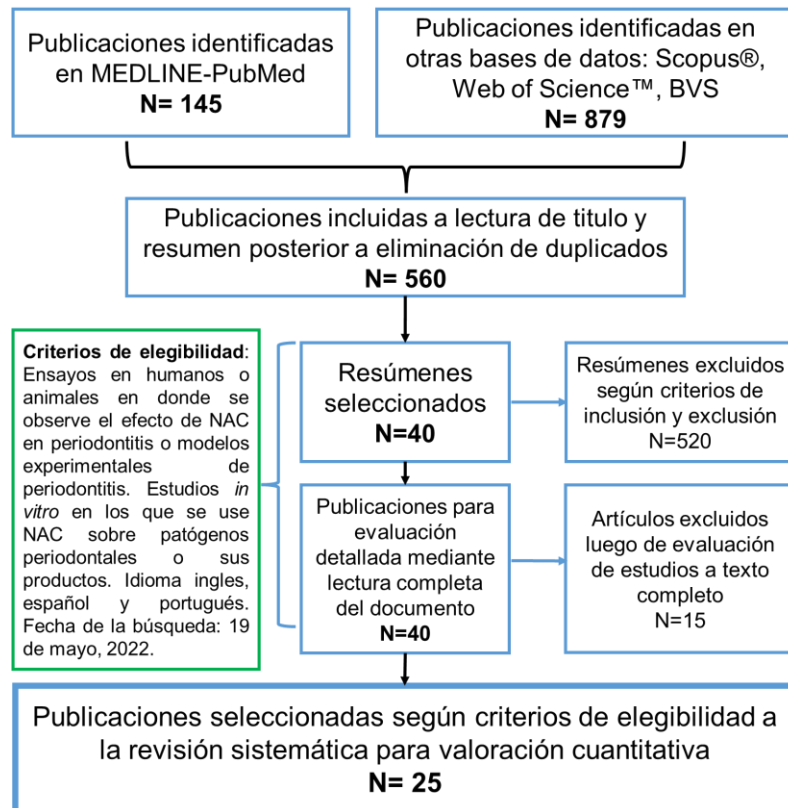


Figura N°2: Diagrama de flujo PRISMA: Procedimientos para la selección de publicaciones para el análisis cualitativo.

La gran mayoría de los estudios fueron excluidos por no cumplir con criterios de elegibilidad. Una parte importante de los ensayos abarcan temas relacionados con el uso de NAC en enfermedades relacionadas con piel, riñón, colon, pulmón, páncreas, hígado, corazón, útero, cerebro. Por otra parte, algunos estudios consideraron el uso del antioxidante en otros temas odontológicos como implantes, ortodoncia, materiales restauradores como resinas compuestas modificadas con NAC, sin relacionarse con periodontitis. Por último, se encontraron algunas revisiones sistemáticas de la literatura sobre el uso de antioxidantes en enfermedad periodontal, las cuales fueron excluidas.

En cuanto a los 25 estudios seleccionados, 18 corresponden a ensayos en modelos *in vitro* (Cai y cols. 2022; Jiang y cols. 2022; Fujiwara y cols. 2021; Park y cols., 2021; Lee y cols. 2020; Ko y cols. 2019; Ou y cols. 2019; Hirschfeld y cols. 2017; Bullón y cols. 2015; Moon y col. 2015; Okinaga y cols. 2015; Wang y cols. 2015; Wang y cols. 2014; Shin y cols. 2013; Walczewska y cols. 2013; Kurita-Ochiai & Ochiai 2010; Kim y cols. 2007; Kido y cols. 2003), 6 son estudios experimentales en animales (Qiu, y cols. 2021; Shi y cols. 2021; Zhan y cols. 2021; Alam y cols. 2014; Toker y cols. 2012; Toker y cols. 2009) y 1 es un ensayo clínico aleatorizado (Alkadasi y cols. 2017). Cabe destacar, que el estudio de Alam y cols. será considerado como experimental en animal y a la vez *in vitro*, por lo tanto, será incluido en ambas tablas y analizado en apartados separados. Considerando este antecedente, la información fue dividida en tres tablas diferentes, en donde la **Tabla N°1** presenta 19 estudios *in vitro*, **Tabla N°2** tiene 6 estudios experimentales en animales y la **Tabla N°3** contiene un ensayo clínico.

7.2 Uso de NAC en patógenos periodontales y sus productos en modelos *in vitro*

En cuanto a los estudios seleccionados, diecinueve corresponden a estudios *in vitro* sobre el efecto de NAC sobre patógenos periodontales y/o sus productos ya sea directamente o sobre cultivos celulares, los cuales son presentados en la **Tabla N°1**, ordenados según fecha de publicación. Cabe destacar que uno de ellos presenta partes *in vivo* e *in vitro* (Alam y cols. 2014), por lo tanto, en esta sección se limitará a ver la parte *in vitro*.

Tabla N°1. Ensayos in vitro: Tabla de extracción de datos P.I.C.O. de estudios <i>in vitro</i> encontrados					
Primer autor y año	Diseño del estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Cai, 2022	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Cultivos celulares de macrófagos murinos J774A.1 tratados con LPS de <i>P. gingivalis</i> .	NAC 1 mM. Baicalina 100 μ M (flavonoide).	- Control sin tratar - Células + LPS - Células + LPS + NAC - Células + LPS + Baicalina	El tratamiento con NAC promovió en forma significativa un aumento en la eferocitosis de células polimorfonucleadas apoptóticas por macrófagos murinos tratados con LPS. Por otro lado, el tratamiento de macrófagos con NAC disminuyó los niveles de EROs, disminuyó los niveles de RhoA, abolió el aumento de la relación M1/M2 de los macrófagos e inhibió significativamente los niveles de TNF- α inducidos por LPS de <i>P. gingivalis</i> . Obs. Se comparó el efecto de NAC vs baicalina, los cuáles mostraron resultados similares, sin embargo, sólo esta última logró aumentar los niveles disminuidos de IL-10 inducidos por el LPS de <i>P. gingivalis</i>
Jiang, 2022	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Fibroblastos de ligamento periodontal humano tratados con LPS de <i>P. gingivalis</i> .	NAC 5 mM.	- Control sin tratar - Células + LPS - Células + LPS + NAC	El pretratamiento con NAC evitó la apoptosis, aumentó los niveles de ARNm y proteicos de periostina y Bcl-2 (proteína anti-apoptótica) y disminuyó los de Bax y caspasa 3 (proteínas pró-apoptóticas) inducidos por el LPS de <i>P. gingivalis</i> .
Fujiwara, 2021	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Cultivos celulares de epitelio oral humano Ca9-22 tratadas con butirato y propionato.	NAC 20 mM. Ácido ascórbico 10 mM	- Control sin tratar - Células + butirato /propionato - Células + butirato /propionato + NAC - Células + butirato /propionato + ácido ascórbico.	NAC redujo la muerte celular inducida por butirato y propionato. Además, NAC inhibió la liberación de HMGB1 e histona H1 inducidas por ambos compuestos. Obs: Se comparó el efecto de NAC v/s ácido ascórbico y no se encontraron diferencias significativas.

Park, 2021	Ensayo experimental <i>in vitro</i>	Fibroblastos de ligamento periodontal infectados con <i>S. gordonii</i> .	NAC 10mM.	- Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC	El tratamiento con NAC no alteró la viabilidad celular de los fibroblastos de ligamento periodontal humano infectados con <i>S. gordonii</i> .
Lee, 2020	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Macrófagos derivados de células THP-1 diferenciadas infectadas con <i>A. actinomycetemcomitans</i> .	3-MA 2mM. NAC 20 mM + 3-MA 10 mM.	- Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC/ 3-MA	El tratamiento con NAC + 3-MA presentó menor expresión de NLRP3 e IL-1 β , proteínas pro-inflamatorias versus 3-MA solo en macrófagos infectados con <i>A. actinomycetemcomitans</i> .
Ko, 2019	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Cultivo de queratinocitos orales HOK-16B infectados con <i>T. forsythia</i> .	NAC 5mM.	- Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC	El pretratamiento con NAC redujo significativamente la expresión de ARNm de IL-24 e IL-6 y la secreción de IL-24 glicosilada inducida por <i>T. forsythia</i> , mediante la inhibición de la vía MAPK.
Ou, 2019	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Osteoblastos MC3T3-E1 tratados con altas concentraciones de glucosa tratados con LPS de <i>P. gingivalis</i> .	NAC 2 mM.	- Control sin tratar - Células + LPS - Células + LPS + NAC	El pretratamiento con NAC de osteoblastos disminuyó la muerte celular y los niveles proteicos de RIP1, RIP3 y p-MLKL (involucradas en muerte celular) e incrementó los niveles de ATF4 (factor de transcripción relacionado a la respuesta al estrés) inducidos por el LPS de <i>P. gingivales</i> en condiciones de alta concentración de glucosa en el medio.

Hirschfeld, 2017	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Neutrófilos aislados de sangre periférica infectados con diferentes bacterias periodontales.	NAC 10 mM.	<ul style="list-style-type: none"> - Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC <p>Obs: Cada bacteria se evaluó en cultivos diferentes.</p>	El pretratamiento con NAC mostró una disminución en la generación de EROs inducidas por las bacterias <i>S. gordonii</i> , <i>C. rectus</i> , <i>F. nucleatum subsp. polymorphum</i> y <i>S. noxia</i> .
Bullón, 2015	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Fibroblastos gingivales humanos tratados con LPS de <i>P. gingivalis</i>	NAC 10 mM. Coenzima Q10 (CoQ10) 30 µM.	<ul style="list-style-type: none"> - Control sin tratar - Células + LPS - Células + LPS + NAC - Células + LPS + CoQ10 	<p>El tratamiento con NAC disminuyó el porcentaje de muerte celular y la generación de EROs mitocondriales inducidos por el LPS bacteriano. Además, el tratamiento con NAC mejoró significativamente la funcionalidad y biogénesis mitocondrial.</p> <p>Obs: se comparó el efecto de NAC v/s CoQ10, en donde esta última provocó una mayor reducción de EROs, mayor aumento de ATP y mejor masa mitocondrial, mientras que ambos mostraron efectos similares sobre la OCR.</p>
Moon, 2015	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Bacterias <i>P. intermedia</i> cultivadas en forma planctónica y como biofilm.	NAC en diferentes concentraciones (0.375-3 mg/ml, lo que corresponde a 2.3-18.4mM)	<ul style="list-style-type: none"> - Bacteria - Bacteria + NAC - Bacteria + NAC + ATB <p>Obs: Cada ATB se evaluó por separado.</p>	<p>NAC mostró un efecto inhibitorio del crecimiento (CMI 3 mg/ml) contra <i>P. intermedia</i> planctónica. La formación de biopelículas se vio significativamente afectada por NAC a 1.5 y 3 mg/ml. En cuanto a la morfología, NAC en CMI presentó menor cantidad de células bacterianas, una forma más irregular y corta que las biopelículas expuestas a pH 5 sin tratamiento con NAC. El antioxidante no afectó la producción de sustancias poliméricas extracelulares.</p> <p>Obs: Al estudiar el efecto combinado de NAC con diferentes antibióticos, no presentó efecto aditivo, manteniendo el efecto con metronidazol y disminuyendo la eficacia de tetraciclina, ciprofloxacino y ampicilina.</p>

Okinaga, 2015	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Células murinas similares a macrófagos RAW 264 infectadas con <i>A. actinomycetemcomitans</i> .	NAC 10 mM.	- Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC	El pretratamiento con NAC disminuyó la producción de EROs y reguló a la baja la expresión de IL-1 β madura y la secreción de IL-1 β inducido por <i>A. actinomycetemcomitans</i>
Wang, 2015	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Células epiteliales gingivales inmortalizadas e infectadas con <i>P. gingivalis</i> .	NAC 20 mM.	- Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC	El tratamiento con NAC redujo la actividad de FOXO1 y disminuyó la transcripción nociva de Cat, Sod2, Prdx3, Bcl-6 e IL-1 β inducidas por <i>P. gingivalis</i> .
Alam, 2014	Ensayo experimental <i>in vitro</i>	Queratinocitos gingivales humanos HOK-16B infectados con <i>F. nucleatum</i> ,	NAC 10 mM. HSA 6.6- mg/mL + pHlgG 1- mg/mL.	- Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC	NAC inhibió el aumento en los niveles de EROs, la invasión bacteriana y redujo la cantidad de Rac1 activado en los queratinocitos infectados con <i>F. nucleatum</i> .
Wang, 2014	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Células epiteliales gingivales inmortalizadas e infectadas con <i>P. gingivalis</i> .	NAC 10 y 20 mM.	- Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC	El pretratamiento con NAC evitó el aumento en la producción de EROs, fosforilación de JAK2, JNK y c-jun y suprimió la producción de IL-6 e IL-1 inducidos por <i>P. gingivalis</i> .

Shin, 2013	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Cultivo de queratinocitos orales humanos HOK-16B infectados con <i>F. nucleatum</i> y <i>T. denticola</i>	NAC 10 mM.	<ul style="list-style-type: none"> - Control sin tratar - Células + bacteria (juntas y por separado) - Células + <i>F. nucleatum</i> + NAC 	<p>La infección con <i>F. nucleatum</i> aumentó los niveles de EROs intracelular, pero la infección con <i>T. denticola</i> o la coinfección los redujo.</p> <p>El tratamiento con NAC redujo la generación de EROs y los niveles de ARNm de HBD-2, HBD-3 e IL-8 inducidos por la infección con <i>F. nucleatum</i>.</p>
		Células indicadoras CHO/CD14/TLR 2 infectados con <i>F. nucleatum</i>	NAC 7.5 y 10 mM.	<ul style="list-style-type: none"> - Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC 	El tratamiento con NAC inhibió la activación de TLR2 por <i>F. nucleatum</i> .
Walczewska, 2013	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Neutrófilos de exudado peritoneal infectados con <i>P. gingivalis</i> .	NAC 30 μ M. TauCl 300 μ M + NAC 30 μ M.	<ul style="list-style-type: none"> - Control sin tratar - Células + bacteria - Células + bacteria + NAC/TauCl 	NAC afectó la estabilidad de TauBr pero no la de TauCl. No hubo un efecto antioxidante aditivo al usar NAC más TauCl versus TauCl en la generación de EROs de neutrófilos de exudado peritoneal tratadas con LPS de <i>P. gingivalis</i> .
Kurita-Ochiai, 2010	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Cultivo de células T Jurkat tratadas con ácido butírico.	NAC 10 mM.	<ul style="list-style-type: none"> - Control sin tratar - Células + ácido butírico - Células + ácido butírico + NAC 	NAC redujo el daño mitocondrial, la liberación de citocromo c, AIF y Smac, la supresión de Bcl-2 y Bcl-xL; la activación de Bax y Bad; el aumento de la actividad de las caspasas 4 y 10 y el aumento de expresión de GRP78 y CHOP/GADD153 inducidos por ácido butírico.

Kim, 2007	Ensayo experimental <i>in vitro</i>	Fibroblastos gingivales humanos tratados con LPS de <i>P. gingivalis</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i> .	NAC 20 mM.	<ul style="list-style-type: none"> - Control sin tratar - Células + LPS - Células + LPS + NAC <p>Obs: Los LPS se evaluaron en diferentes cultivos</p>	El pretratamiento con NAC suprimió significativamente la expresión de ARNm de las citoquinas TNF- α , IL-6, IL-8 inducida por ambos LPS por separado.
Kido, 2003	Ensayo experimental <i>in vitro</i> .	Neutrófilos aislados de sangre periférica tratados con LPS de <i>P. gingivalis</i> .	NAC 10 mM.	<ul style="list-style-type: none"> - Control sin tratar - Células + LPS - Células + LPS + NAC 	El pretratamiento con NAC bloqueó la activación de NF- κ B y suprimió la liberación de calprotectina inducida por el LPS de <i>P. gingivalis</i> .
NAC: N-Acetilcisteína; LPS: lipopolisacárido; EROs: especies reactivas de oxígeno; CoQ10: coenzima Q10; CMI: concentración mínima inhibitoria; ATB: antibiótico					

En cuanto a las publicaciones *in vitro* seleccionadas, se encontró información sobre el uso de NAC en diferentes modelos experimentales bajo el efecto de diferentes bacterias periodontales: *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *S. gordonii*, *C. rectus*, y *S. noxia*. siendo *P. gingivalis* la que más se presentaba en los artículos seleccionados. Los cultivos celulares utilizados, se encuentran queratinocitos orales, células epiteliales orales, fibroblastos de ligamento periodontal, osteoblastos, macrófagos, neutrófilos y células T.

También se incluyeron estudios en donde se utilizó NAC para contrarrestar el efecto de tres ácidos grasos de cadena corta que corresponden a productos finales del metabolismo de la biopelícula dental: butirato, propionato y ácido butírico (Kim y cols. 2021). Un estudio clínico observacional reciente ha demostrado que aumentos en las concentraciones de butirato se correlacionan con el avance de la etapa de periodontitis, otorgándole un posible rol como biomarcador de la detección de la periodontitis y seguimiento de la terapia periodontal (Kim y cols. 2021). Además, tanto butirato como propionato han sido identificados en sacos periodontales y son capaces de inducir apoptosis en fibroblastos gingivales y destrucción periodontal (Magrin y cols., 2020). Por último, es importante destacar que tanto el ácido butírico como el butirato presentan una paradoja, ya que en bajas concentraciones contribuyen a la salud periodontal y del tracto digestivo, pero en altas concentraciones están asociados a progresión de periodontitis, activación de infecciones virales latentes y detención del ciclo celular tanto de células normales como en cáncer de colon (Cueno & Ochiai, 2016).

Las concentraciones de NAC utilizadas en los ensayos variaron entre los 20 y 0,03 mM. La mayoría de los estudios administró NAC como un pre-tratamiento de 10 minutos a 4 horas antes de aplicar la bacteria periodontal o alguno de sus productos. Seis estudios usaron NAC al mismo tiempo que infectaron los cultivos celulares.

7.3 Uso de NAC en periodontitis en estudios experimentales en animales

En cuanto a los estudios encontrados, seis fueron realizados en modelos experimentales de periodontitis en animales, de los cuales cinco utilizaron el método de ligadura y uno el de inoculación oral de patógenos periodontales específicos. Dichos estudios se encuentran en la **Tabla N°2**, ordenados según fecha de publicación. Cabe recordar que el estudio de Alam y cols. del 2014, fue considerado como *in vivo* e *in vitro*, y en esta sección se hablará solo la parte *in vivo*. Por otro lado, ciertos estudios solo serán considerados *in vivo* pese a tener etapas *in vitro* o clínicas, ya que estas otras etapas no cumplieron con los criterios de inclusión, pues o no prueban el uso de NAC, o no usaron patógenos periodontales ni sus productos en las etapas *in vitro* o ensayo clínico (Qiu, y cols. 2021; Shi y cols. 2021; Zhan y cols. 2021)

Tabla N°2. Ensayos experimentales en animales: Tabla de extracción de datos P.I.C.O. de estudios en animales encontrados

Primer autor y año	Diseño del estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Qiu, 2021	Ensayo experimental <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	Ratas Sprague Dawley sometidas a ligadura.	Inyecciones intra-palatinas de 2 mg/ml NAC. Inyecciones intra-palatinas de 2 mg/ml de nanopartículas de NAC sensibles a EROs.	Ratas sanas (n=8), sometidas a ligadura (n=8), tratadas o no con NAC (n=8 y 8) o con nanopartículas de NAC (n=8).	El tratamiento con nanopartículas de NAC sensibles a EROs redujo la pérdida ósea alveolar, con una menor actividad osteoclástica, menor infiltrado inflamatorio y con fibras colágenas más densas y organizadas en comparación con el grupo tratado con NAC en solución.
Shi, 2021	Ensayo experimental <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	Ratas C57BL/6 con periodontitis inducida por ligadura.	NAC 150 mg/kg vía intragástrica. 25 mg/kg Mdivi-1 (inhibidor de la fisión mitocondrial) vía intragástrica.	Ratas sanas (n=8) y sometidas a ligadura (n=8) sometidas o no a tratamiento con NAC (n=8 y 8) y Mdivi-1 (n=8).	Las ratas con periodontitis tratadas con NAC presentaron menor pérdida ósea alveolar con una disminución en la diferenciación de osteoclastos, apoptosis celular, expresión de ARNm de TNF- α , IL-1 β e IL-6 a nivel gingival, junto a menor producción de ARNm de NLRP3, 8-OHdG y p-Drp1 en ligamento periodontal, versus las ratas control sanas y con periodontitis en forma significativa. Obs: Al comparar NAC con Mdivi-1, esta última presentó mejor efecto protector en la pérdida ósea alveolar y mayor disminución en la expresión de 8-OHdG.

Zhang, 2021	Ensayo experimental <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	Ratas Sprague-Dawley con diabetes inducida por estreptozotocina sometidas a ligadura.	NAC 200 mg/kg/día disuelto en agua potable.	Ratas sometidas a ligadura. (n=6). Controles sanos de sectores no ligados (n=6) Ratas diabéticas sometidas a ligadura (n=6). tratadas o no con NAC (n=6 y 6).	NAC atenuó la pérdida ósea alveolar, mejoró el volumen óseo/volumen total, redujo la cantidad de osteoclastos, disminuyó la infiltración de macrófagos CD68+, con una menor polarización fenotipo M1 disminuyendo la cantidad de macrófagos INOS+ y aumentando la de CD206+ de ratas diabéticas con periodontitis en forma significativa.
Alam, 2014	Ensayo experimental <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	Ratas Balb/c con periodontitis experimental mediante inoculación oral con <i>P. gingivalis</i> y <i>T. denticola</i> ,	NAC 10 mM disueltos en agua potable. 6,6 mg/ml HSA + 1 mg/ml pHlgG disuelto en agua potable.	Ratas sanas (n=10) y con inoculación oral con ambas bacterias periodontales (n=10) tratadas con NAC (n=10) o con HSA + pHlgG (n=10).	NAC evitó por completo la pérdida de hueso alveolar inducida por los patógenos periodontales versus el grupo tratado con las bacterias en forma significativa. Al comparar los efectos entre NAC y albúmina + IgG, NAC mostró mejores resultados.

Toker, 2012	Ensayo experimental <i>in vivo</i>	Ratas wistar con diabetes inducida por estreptozotocina sometidas a ligadura tratadas.	NAC 70 y 100 mg/kg/día de vía intragástrica.	Ratas sanas (n=10), ratas sometidas a ligadura (n=10), ratas con diabetes (n=10), ratas diabéticas sometidas a ligadura (n=10) tratadas con dos concentraciones diferentes de NAC (n=10 y 10)	La pérdida de hueso alveolar en ambos grupos tratados con NAC fue significativamente menor que en los grupos diabetes+ligadura y ligadura. La actividad osteoblástica en el grupo tratado con 100 mg/kg/día fue significativamente mayor que en los otros grupos.
Toker, 2009	Ensayo experimental <i>in vivo</i>	Ratas wistar sometidas a ligadura.	NAC 7, 35 y 70 mg/kg/día vía intragástrica.	Ratas sanas (n=10) y sometidas a ligadura (n=10). ligaduras tratadas con diferentes dosis de NAC (n=8, 9 y 6)	La pérdida ósea alveolar del grupo con ligadura fue significativamente mayor que los grupos tratados con ligadura y NAC y los controles no tratados, mostrando un efecto dosis dependiente. No se observaron diferencias significativas en el análisis histopatológico.
NAC: N-Acetilcisteína; EROs: especies reactivas de oxígeno					

Tal como se describió en el marco teórico, existen múltiples modelos de periodontitis experimental en animales. Los artículos seleccionados en la presente revisión utilizaron ratas con periodontitis experimental mediante los modelos de ligadura y oral gavage. En el modelo de ligadura en ratas, se producen lesiones óseo resorptivas asociadas a una disbiosis de la microbiota oral murina e inflamación aguda, lo cual se logra a partir de tres a seis días posterior a la instalación de la ligadura (Vargas-Sanchez y cols., 2017). En las 5 publicaciones que usaron este método, el tiempo mínimo para lograr la inducción de la enfermedad se cumplió. Por otro lado, la inoculación oral provoca una disbiosis intestinal y sepsis, sin embargo, el tiempo que demora en generar reabsorciones periodontales es altamente variable, dependiendo principalmente de las bacterias utilizadas y la frecuencia de las inoculaciones (De Molon y cols. 2016; Storrer y cols. 2010; Verma y cols. 2010; Kesavalu y cols. 2007). En el caso del estudio de Alam y cols. 2014 se realizó inoculación oral de *P. gingivalis* junto con *T. denticola* día por medio durante 2 semanas.

Destacan varios puntos en cuanto a NAC. Las dosis utilizadas del antioxidante variaron entre 7 y 200 mg/kg/día, durante tiempos de tratamiento entre 11 y 30 días. La forma en que se administró el fármaco fue, ya sea disuelto en el agua potable de la alimentación de las ratas, como vía intragástrica. Sobresale el caso particular del estudio de Qiu y cols., en donde usaron 2 mg/ml de nanopartículas poliméricas de NAC sensibles a EROs, el cual fue aplicado mediante inyecciones en mucosa palatina adyacente a los dientes ligados. En cuanto al inicio de la terapia antioxidante, fue altamente variable, encontrado publicaciones en donde NAC se dio una semana antes de la instalación de la ligadura (Shi y cols. 2021), en conjunto con la inducción de la periodontitis (Zhang y cols. 2021; Alam y cols. 2014; Toker y cols. 2012) y dos casos en donde se inició con NAC posterior a la instalación de la ligadura (Qiu y cols. 2021; Toker y cols. 2009).

Finalmente, en las publicaciones de Zhang y cols., 2021 y de Toker y cols. 2012 usaron modelos de periodontitis inducida por ligadura en ratas diabéticas. En ambos casos indujeron diabetes mediante inyección única de 60 mg/kg de estreptozotocina previo a la instalación de las ligaduras.

7.4 Uso de NAC en periodontitis en ensayos clínicos

Tabla N°3. Ensayos clínicos: Tabla de extracción de datos P.I.C.O. de estudios clínicos encontrados					
Autores y año	Diseño del estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Alkadasi, 2017	Ensayo clínico aleatorizado	Pacientes sistémicamente sanos con periodontitis sometidos a cirugía periodontal.	Administración de NAC 600 mg vía oral, 1 comprimido diario por 3 meses.	Pacientes Sanos (n=10) y pacientes con periodontitis sometidos a tratamiento periodontal quirúrgico en presencia o no del tratamiento con NAC (n=10 y 10).	El grupo NAC + tratamiento quirúrgico tuvo una reducción significativamente mayor en la profundidad de sondaje, 2 meses después del tratamiento en comparación con el tratamiento quirúrgico sin NAC.

De toda la literatura incluida en la revisión, solo se encontró un estudio realizado en humanos y corresponde a un ensayo clínico aleatorizado controlado de grupos paralelos, realizado por Alkadasi y cols. el 2017. En dicho artículo, se utilizó NAC como coadyuvante posterior al tratamiento periodontal quirúrgico de 10 pacientes con periodontitis, a los cuales se les indicó tomar 1 cápsula de 600 mg, una vez al día por 3 meses posterior a la cirugía y se comparó con 10 pacientes que fueron sometidos a tratamiento quirúrgico sin tratamiento coadyuvante y con 10 pacientes periodontalmente sanos. En cuanto a los resultados, se encontró que el tratamiento con NAC redujo significativamente la profundidad de sondaje a los 2 meses de tratamiento quirúrgico, sin embargo, a los 6 meses no se encontró diferencia significativa. Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas al evaluar la pérdida de inserción clínica, índice gingival e índice de placa, ni tampoco en los niveles del ligando soluble de RANK (sRANKL) de muestras de fluido gingival crevicular analizados mediante ELISA entre los grupos tratados con NAC y los otros grupos. (Alkadasi y cols. 2017)

7.5 Análisis de riesgo de sesgo

En cuanto a los estudios experimentales en animales, el análisis de riesgo de sesgo fue llevado a cabo mediante la herramienta SYRCLE (Hooijmans y cols., 2014). En el ítem 1 (aleatorización), cinco estudios se clasificaron como “poco claros” porque mencionan que se realiza una asignación aleatoria pero no describen el mecanismo utilizado (Shi y cols. 2021; Zhan y cols. 2021; Alam y cols. 2014; Toker y cols. 2012; Toker y cols. 2009), mientras que uno obtuvo un “No” ya que no informaron nada al respecto (Qiu, y cols. 2021). En el segundo ítem (agrupación de los animales), la mayoría de los estudios obtuvo un “Si” a excepción de uno, en el que no todos los grupos tienen la misma cantidad de animales, el cual fue clasificado como “No” (Toker y cols. 2009). Al evaluar el ítem 3 (asignación a grupos), todos los estudios fueron “poco claros” en vista de que ninguno informó sobre algún método de ocultamiento de la asignación a los grupos. En el cuarto ítem (mecanismo de aleatorización), todos los estudios obtuvieron un “Si” ya que, a pesar de no mencionar el mecanismo de aleatorización en el alojamiento de los animales, es poco probable que esto afecte los resultados y se espera que reaccionen de igual forma debido a que usaron el mismo modelo animal en los grupos control e intervención. En los ítems 5, 6 y 7 (cegado del grupo de investigación), todos los estudios fueron clasificados como “poco claros” dado que ninguno dio información sobre el cegamiento del investigador durante las intervenciones, selección del animal ni evaluación de resultados. En el octavo ítem (abordaje de datos incompletos), 4 estudios obtuvieron “Si” y 2 “Poco claros”. En cuanto a estos últimos, uno no informó en forma explícita si ocurrieron pérdidas pese a advertir que descartaron los animales que perdieron la ligadura (Zhan y cols. 2021), mientras que el otro reportó desalojo de ligadura de una de las ratas tratadas con NAC, la cual fue restablecida inmediatamente y considerada en los resultados, lo que se asocia a falla técnica con poca claridad sobre su influencia en los resultados (Toker y cols. 2009). En cuanto al ítem 9 (informe selectivo de datos), todos los estudios fueron evaluados con un “Si” en razón de que informaron todos los resultados obtenidos. Finalmente, en el último ítem (otros riesgos de sesgo) casi todos los

estudios estuvieron libres de otros sesgos, a excepción de uno que fue marcado como “poco claro” en virtud de que uno de sus controles, control sano, utilizó molares de sectores no sometidos a ligadura de las ratas con ligadura sin tratamiento con NAC, pudiendo llevar a errores en la unidad de análisis por migración de patógenos periodontales al sitio no ligado (Zhan y cols. 2021). En términos generales, los estudios se marcaron mayoritariamente como “poco claros”.

(Tabla N°5)










Tabla N°5: SYRCLE: Evaluación de riesgo de sesgo de estudios experimentales en animales.						
ÍTEM	Estudios					
	Qiu, 2021	Shi, 2021	Zhang, 2021	Alam, 2014	Toker, 2012	Toker, 2009
1. ¿Se generó y aplicó adecuadamente la secuencia de asignación? *¿Los investigadores describieron un componente aleatorio en el proceso de generación de secuencias? Ejemplos: - Hacer referencia a una tabla de números aleatorios - Uso de un generador de números aleatorios por computadora	No	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	No	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
2. ¿Fueron los grupos similares al inicio del estudio o fueron ajustados por factores de confusión en el análisis? *¿La distribución de las características basales relevantes fue equilibrada para los grupos de intervención y control? *Si es relevante, ¿los investigadores ajustaron adecuadamente la distribución desigual de algunas características basales relevantes en el análisis? *¿Fue adecuado el momento de la inducción de la enfermedad?	Si	Si	Si	Si	Si	No
	Si	Si	Si	Si	Si	No
	Si	Si	Si	Si	Si	No
	Si	Si	Si	Si	Si	Si

<p>3. ¿Se ocultó adecuadamente la asignación a los diferentes grupos?</p> <p>*¿Podría el investigador que asigna los animales al grupo de intervención o de control no prever la asignación debido a uno de los siguientes métodos o métodos equivalentes?</p> <ul style="list-style-type: none"> - Codificación de terceros de la asignación de grupos experimentales y de control. - Aleatorización central por un tercero - Sobres cerrados, opacos y numerados secuencialmente. 	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>
<p>4. ¿Los animales fueron alojados al azar durante el experimento?</p> <p>*¿Los autores colocaron aleatoriamente las jaulas o los animales dentro de la sala/instalación de animales?</p> <p>*¿Es poco probable que el resultado o la medición del resultado hayan sido influenciados por no alojar aleatoriamente a los animales?</p>	<p>Si</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>
<p>5. ¿Estaban los cuidadores y/o investigadores cegados del conocimiento de qué intervención recibió cada animal durante el experimento?</p> <p>*¿Se aseguró el cegamiento de los cuidadores y los investigadores, y era poco probable que se hubiera roto el cegamiento?</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>
<p>6. ¿Se seleccionaron animales al azar para la evaluación de los resultados?</p> <p>*¿Los investigadores eligieron al azar a un animal durante la evaluación de resultados, o utilizaron un componente aleatorio en la generación de la secuencia para la evaluación de resultados?</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>

<p>7. ¿El evaluador de resultados fue cegado?</p> <p>*¿Se garantizó el cegamiento del evaluador de resultados, y era poco probable que el cegamiento pudiera haberse roto?</p> <p>*¿No se cegó al evaluador de resultados, pero los autores de la revisión consideran que es poco probable que el resultado se vea influido por la falta de cegamiento?</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p>
<p>8. ¿Se abordaron adecuadamente los datos de resultados incompletos?</p> <p>*¿Se incluyeron todos los animales en el análisis?</p> <p>*¿Es poco probable que las razones de la falta de datos de resultado estén relacionadas con el resultado verdadero? (por ejemplo, fallo técnico)</p> <p>*¿Los datos de resultados faltantes están equilibrados en números entre los grupos de intervención, con razones similares para la falta de datos entre los grupos?</p> <p>*¿Se imputan los datos de resultados faltantes usando métodos apropiados?</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p> <p>Si</p> <p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Poco claro</p> <p>Si</p> <p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p> <p>Poco claro</p>
<p>9. ¿Los informes del estudio están libres de informes selectivos de resultados?</p> <p>*¿Estaba disponible el protocolo del estudio y se informaron todos los resultados primarios y secundarios preespecificados del estudio en el manuscrito actual?</p> <p>*¿No estaba disponible el protocolo del estudio, pero estaba claro que el informe publicado incluía todos los resultados esperados (es decir, comparación de métodos y sección de resultados)?</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>	<p>Si</p> <p>Si</p> <p>Si</p>

10. ¿Estaba el estudio aparentemente libre de otros problemas que pudieran resultar en un alto riesgo de sesgo?	Si	Si	Poco claro	Si	Si	Si
*¿El estudio estuvo libre de contaminación (combinación de medicamentos)?	Si	Si	Si	Si	Si	Si
*¿Estuvo el estudio libre de la influencia inapropiada de los financiadores?	Si	Si	Si	Si	Si	Si
*¿El estudio estuvo libre de errores en la unidad de análisis?	Si	Si	Poco claro	Si	Si	Si
*¿Estuvieron ausentes los riesgos de sesgo específicos del diseño?	Si	Si	Si	Si	Si	Si
*¿Se agregaron nuevos animales a los grupos de control y experimentales para reemplazar los abandonos de la población original?	No	No	No	No	No	No

Se evaluó el riesgo de sesgo del estudio clínico mediante la herramienta RoB2 (Higgins y cols. 2022; Sterne y cols. 2019). De todos los dominios evaluados, el de “riesgo de sesgo debido a desviaciones de las intervenciones previstas” fue el único catalogado con “algunas preocupaciones”. La razón radica en que el estudio no fue placebo controlado, lo que pudo afectar el cegamiento de los pacientes, dando paso a descubrir a qué grupo pertenecen en función a si recibieron o no un fármaco, lo cual pudo condicionar sus hábitos como el nivel de higiene oral, dieta, entre otros. Al parecer, esto no alteró los resultados, puesto a que los niveles de higiene oral se mantuvieron similares entre los grupos al final de la intervención. El resto de los dominios fue catalogado como “Bajo riesgo” por lo que el estudio fue catalogado con “algunas preocupaciones”. Cabe destacar que el análisis del segundo dominio se ejecutó según intención a tratar, en vista a que no presentó pérdida de pacientes, logrando un 100% de seguimiento, por lo tanto, no hubo necesidad de realizar compensaciones estadísticas para subsanar pérdidas (Alkadasi y cols. 2017). (**Tabla N°4**)

Tabla Nº4: Risk of Bias 2: Evaluación de riesgo de sesgo de ensayos clínicos randomizados seleccionados						
	Proceso de randomización	Desviaciones de las intervenciones previstas	Pérdida de datos en el outcome	Medida del outcome	Selección de resultados reportados	Evaluación general
Alkadasi, 2017						
Simbología						
					“Bajo Riesgo”	
					“Algunas preocupaciones”	
					“Alto riesgo”	

8. DISCUSIÓN

Este estudio corresponde a una revisión sistemática de la literatura que tiene por objetivo determinar el papel del antioxidante NAC en el tratamiento de la enfermedad periodontal. En ella se consideraron estudios en humanos, animales y evidencia *in vitro* en donde se apreció el uso de dicho antioxidante en enfermedad periodontal en pacientes humanos, periodontitis experimental en animales y sobre patógenos periodontales y/o sus productos metabólicos ya sea directamente o sobre células periodontales o similares. Considerar todos estos niveles de evidencia se fundamenta en buscar la mayor cantidad de literatura disponible y poder discutir dichos resultados con mayor profundidad, entendiendo las limitaciones de cada estudio.

8.1 NAC produjo una reducción de EROs, de marcador de daño oxidativo y restauró el daño mitocondrial en modelos *in vitro* e *in vivo*.

En primer lugar, varios estudios encontraron que el tratamiento con NAC redujo los niveles de EROs en modelos *in vitro*. Algunos de estos estudios, encontraron que NAC logró reducir la producción de EROs inducidos por *P. gingivalis* o su LPS en modelos de macrófagos murinos (Cai y cols., 2022), fibroblastos gingivales humanos (Bullón y cols., 2015) y células epiteliales gingivales (Wang y cols., 2014). En dos artículos diferentes se observó que NAC redujo las EROs en queratinocitos orales inducidas por *F. nucleatum* (Alam y cols., 2014; Shin y cols. 2013). También, el tratamiento con NAC logró reducir las EROs inducidas por *A. actinomycetemcomitans* en macrófagos murinos (Okinaga y cols., 2015). Finalmente, un artículo utilizó neutrófilos de sangre periférica en donde el tratamiento con NAC logró reducir las EROs inducidas por la infección, por separado, con *S. gordonii*, *C. rectus*, *F. nucleatum subsp. polymorphum* y *S. noxia* (Hirschfeld y cols., 2017). Sin embargo, una reducción de las EROs a nivel periodontal no es suficiente, ya que el real problema en la periodontitis es el estrés oxidativo. En ese sentido, el tratamiento con NAC en ratas con periodontitis

mediante ligadura redujo la expresión génica de 8-hidroxiguanosina (8-OHdG), un marcador de daño por estrés oxidativo (Shi y cols., 2021). Este último hallazgo es de suma importancia ya que 8-OHdG ha sido estudiado como un importante biomarcador de enfermedad periodontal, el cual podría ser útil en el diagnóstico y en la evaluación de la efectividad del tratamiento periodontal (Chen, M y cols. 2019b; Paredes-Sánchez y cols. 2018). Otros biomarcadores del estrés oxidativo estudiados en pacientes con periodontitis, son la capacidad antioxidante total, malondialdehído y óxido nítrico (Liu y cols., 2014). Considerando estos antecedentes, sería de gran interés evaluar el efecto del tratamiento de NAC como coadyuvante en el tratamiento de la periodontitis y su efecto sobre biomarcadores de estrés oxidativo en ensayos clínicos.

El estrés oxidativo puede inducir daño mitocondrial. Las mitocondrias son organelos encargados de la producción energética celular y unas de las principales fuentes de EROs, al producirlas como subproducto durante la respiración celular (Govindaraj y cols. 2011). Cuando el aumento de EROs no es contrarrestado por la maquinaria antioxidante endógena, provocando estrés oxidativo, estas moléculas son capaces de provocar daño mitocondrial llevando incluso a apoptosis o necrosis celular (Canakçi y cols., 2006). Un estudio encontró que NAC restauró parcialmente la inhibición del potencial de membrana mitocondrial provocada por ácido butírico en células T (Kurita-Ochiai & Ochiai, 2010). En otra publicación, el antioxidante disminuyó el porcentaje de muerte celular y la generación mitocondrial de las EROs, lo que mejoró la funcionalidad de las mitocondrias de fibroblastos gingivales humanos tratados con el LPS de *P. gingivalis*, restaurando la tasa de consumo de oxígeno (OCR) y la capacidad respiratoria sobrante (CRS). Durante en ensayo OCR, se evalúa el consumo de oxígeno en el tiempo a medida que la muestra es expuesta a diferentes moduladores de la cadena transportadora de electrones, mientras que la CRS, es un indicador obtenido a partir de la OCR, que informa qué tan cerca está operando una célula de su límite bioenergético. Además, el mismo estudio demostró que NAC mejoró la biogénesis mitocondrial, niveles de ATP y masa mitocondrial (Bullón y cols., 2015). En estudios en animales con periodontitis inducida por ligadura, NAC disminuyó los niveles de ARNm de p-Drp1 (Shi y cols.,

2021). Drp-1 es un regulador de la fisión mitocondrial y al fosforilarse es capaz de inducir un aumento de la fisión mitocondrial, evento que se ha relacionado con aumentos en la generación de EROs (Yang y cols., 2020) y estudios recientes han destacado su rol en enfermedades neurodegenerativas (Oliver & Reddy, 2019), sin embargo, su rol en enfermedad periodontal ha sido poco estudiado. Estos resultados sugieren que el antioxidante es capaz de contrarrestar los efectos del estrés oxidativo en el daño mitocondrial, lo cual corresponde a uno de los mecanismos directos del daño oxidativo (Meñaca-Guerrero y cols., 2020; Liu y cols., 2017).

8.2 NAC disminuyó los niveles de ARNm y proteicos de mediadores proinflamatorios e inflamasoma en estudios *in vitro* e *in vivo* y promovió la resolución de la inflamación en estudio *in vitro*.

Una serie de estudios *in vitro* demostró que el tratamiento con el antioxidante logró reducir la expresión génica y proteica de las citoquinas TNF- α , IL-1, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-24 inducidas por diferentes bacterias periodontales y sus productos (Cai y cols., 2022; Ko y cols., 2019; Okinaga y cols., 2015; Wang y cols. 2015; Wang y cols., 2014; Shin y cols., 2013; Kim y cols., 2007; Kido y cols. 2003). En esta misma línea, un estudio *in vivo* encontró que el pretratamiento con NAC logró reducir los niveles de ARNm de TNF α , IL-1 β , IL-6 y NLRP3 a nivel gingival en ratas sometidas a ligadura (Shi y cols. 2021).

Un paso muy importante en la enfermedad periodontal se relaciona con el reconocimiento de los patrones asociados a daño molecular (PAMPs) a través de los receptores tipo toll (TLR). El aumento de la producción de LPS bacterianos periodontales es detectada por TLR2 y 4 en queratinocitos orales, fibroblastos y monocitos a través del factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) y la proteína quinasa activada por mitógeno p38 vías de señalización que conducen a un aumento de citoquinas proinflamatorias (Luong y cols., 2021). Por otro lado, se ha visto que un aumento de EROs contribuye a la activación de NF- $\kappa\beta$, iniciando una cascada de señalización que regula respuestas pro-inflamatorias (Meñaca-Guerrero y cols., 2020). Esto

podría explicar que la disminución de las EROs con el tratamiento con NAC haya inhibido la activación de NF- κ B inducida por el LPS de *P. gingivalis* en neutrófilos, junto con la inhibición de calprotectina, una proteína antibacteriana encontrada en sacos periodontales (Kido y cols. 2003). Al revisar en la literatura, un estudio encontró que NAC logró disminuir la secreción de IL-1 β y TNF α a través de la inhibición de NF- κ B en fibroblastos de ligamento periodontal estimulados con LPS de *E. coli* (Zheng y cols., 2019), el cual no fue elegido para revisión, pero sería interesante evaluar este efecto mediante la estimulación con periodontopatógenos.

Sin embargo, es necesario destacar que la activación de los TLR también provoca un aumento en la producción de defensinas, péptidos antimicrobianos que contribuyen a la respuesta inmune, y en enfermedad periodontal se ha visto un aumento de beta defensina humana 1 y 2 (HBD 2 y HBD3) (Michea y cols., 2016). Uno de los estudios seleccionados, encontró que la reducción de EROs mediante NAC inhibió la activación de TLR2 por *F. nucleatum* en células indicadoras CHO/CD14/TLR2 y a nivel en queratinocitos orales infectados con la misma bacteria, redujo los niveles de ARNm de HBD-2, HBD-3 e IL-8 (Shin y cols. 2013). La razón de estos resultados se relaciona con que las EROs se producen en respuesta a la estimulación de TLR, y la señalización a través de los TLR también depende de EROs (Matsuzawa y cols. 2005). Por lo tanto, es importante considerar que las EROs presentan roles fisiológicos y es necesario buscar formas de utilizar NAC sin alterar las respuestas defensivas.

También se ha encontrado que la reducción de EROs mediante NAC podría alterar la producción de citoquinas inflamatorias vía MAPK/JNK/c-Jun. Se observó que la disminución de EROs mediante NAC inhibió la activación de MAPK activada inducida por *T. forsythia* en queratinocitos orales, lo cual redujo la producción de IL-6 lo que, a su vez, redujo la expresión de IL-24 (Ko y cols., 2019). Otro estudio también encontró relación con MAPK, en el cual usaron células epiteliales gingivales infectadas con *P. gingivalis*, en donde la reducción de EROs mediante NAC atenuó la fosforilación de JACK2, y al evaluar aguas arriba, el tratamiento con el antioxidante logró reducir la fosforilación de la quinasa N-terminal c-Jun (JNK), una quinasa miembro de la familia MAPK, así como también logró reducir la fosforilación

de c-Jun, un sustrato nuclear de JNK. Por último, demostraron que c-Jun está relacionada con la producción de IL-1 e IL-6, por lo tanto, demostraron que la reducción de EROs mediante NAC logró reducir los niveles de IL-1 e IL-6 al interferir en la vía JNK-c-Jun (Wang y cols., 2014).

También se ha visto implicada la activación del inflamasoma en la periodontitis. En un estudio se encontró que el tratamiento con NAC logró reducir la expresión génica de NLRP3, una proteína esencial del inflamasoma, en ratas sometidas a ligadura (Shi y cols., 2021). En la enfermedad periodontal, la activación del inflamasoma mediante EROs se ha relacionado con un aumento de IL-1 β e IL-18 (Liu y cols., 2017; Bostanci y cols., 2009), lo cual podría explicar que la disminución de EROs mediante NAC reduzca los niveles de IL-1 β encontrado en estudios seleccionados en la revisión (Okinaga y cols., 2015; Wang y cols. 2015; Shi y cols., 2021).

Por último, NAC podría estar implicado en la resolución de la inflamación periodontal. La eferocitosis (o remoción de células apoptóticas) de células polimorfonucleadas por macrófagos es un proceso que se ha relacionado con resolución de la inflamación, debido a que conduce a la reprogramación de los macrófagos del fenotipo M1 al M2, regula a la baja la producción de citoquinas proinflamatorias y aumenta la liberación de mediadores pro-resolución para prevenir la exacerbación de la inflamación (Van Dyke & Sima, 2020; Nagata, 2018; Ortega-Gómez y cols., 2013). Uno de los artículos seleccionados demostró que NAC logró promover la eferocitosis de PMN apoptóticos por macrófagos murinos, lo cual fue confirmado al estudiar que NAC provocó una disminución de RhoA, un regulador de la eferocitosis, disminuyó el incremento de la proporción de macrófagos M1/M2, aumentando la cantidad de M2, y redujo significativamente los niveles de TNF- α inducidos por el LPS de *P. gingivalis* (Cai y cols., 2022). Este estudio abre la posibilidad de que NAC podría promover la resolución de la inflamación durante la enfermedad periodontal, sin embargo, es necesario evaluar dicho efecto en modelos de periodontitis experimental en animales y en ensayos clínicos.

8.3 NAC disminuyó la muerte celular en estudios *in vitro* e *in vivo*.

Varios estudios destacan el efecto protector de NAC en la disminución de la muerte celular y de mediadores apoptóticos inducidos por bacterias periodontales y sus productos. El tratamiento con NAC logró reducir la apoptosis de células periodontales en ratas con periodontitis inducida por ligadura (Shi y cols., 2021). A nivel de estudios *in vitro*, el antioxidante NAC redujo la muerte celular e inhibió la liberación de dos patrones asociados a DAMPs: HMGB1 e histona H1, inducida por butirato y propionato en cultivos celulares de epitelio oral humano (Fujiwara y cols., 2021). Por otro lado, en células T tratadas con ácido butírico, NAC disminuyó el daño mitocondrial, incrementó los niveles de proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y Bcl-xl, redujo la expresión de proteínas apoptóticas Bax, Bad, citocromo c, AIF y Smac, redujo la actividad de caspasa 4 y 10 y anuló la acumulación de GRP-78 y CHOP/GADD153, mediadores de que participan en la apoptosis inducida por el estrés del retículo endoplásmico (Kurita-Ochiai & Ochiai, 2010). Literatura reciente ha demostrado que los ácidos grasos de cadena corta, en específico butirato y propionato, participan en la inducción de apoptosis de fibroblastos gingivales y destrucción periodontal (Magrin y cols., 2020). En este sentido, el tratamiento con NAC disminuyó la apoptosis celular en fibroblastos de ligamento periodontal humano inducidos por el LPS de *P. gingivalis*, aumentó los niveles de expresión génica y proteica de Bcl-2 y disminuyó los de Bax y caspasa 3, lo cual pudo aumentar los niveles de periostina, una proteína de adhesión celular involucrada en homeostasis de los tejidos periodontales. (Jiang y cols., 2022).

Se ha descrito que las EROs pueden causar daño tisular indirecto al activar JNK, lo cual puede llevar a apoptosis celular. Se ha demostrado que la activación de JNK inducida por EROs ocurre a través de la quinasa reguladora de la señal de apoptosis 1 (ASK-1), la cual fosforila a JNK la que, a su vez, activa señalizaciones apoptóticas (Meñaca-Guerrero y cols. 2021; Chambers y cols., 2011). JNK puede estimular la liberación de citocromo c desde la membrana mitocondrial interna a través de Bid-Bax, promoviendo la formación del apoptosoma. Además, JNK puede

promover la liberación de Smac/Diablo (Smac) al inactivar el complejo inhibidor TRAF2/IAP1 para iniciar la activación de caspasas (Meñaca-Guerrero y cols. 2021). Considerando que la reducción de EROs provocadas por NAC logró reducir la fosforilación de JNK (Wang y cols., 2014) y que NAC logró reducir la producción de mediadores apoptóticos Bax, caspasas 4 y 10, citocromo C (Jiang y cols., 2022; Kurita-Ochiai & Ochiai, 2010), se concluye que NAC podría proteger del daño tisular indirecto del aumento de EROs en la apoptosis celular, lo cual explicaría la menor apoptosis encontrada en el estudio *in vivo* de Shi y cols. del año 2021.

Finalmente, y no menos importante, también se encontraron datos controversiales. La vía JNK tiene un papel antiapoptótico en respuesta a invasión bacteriana (Liu y cols. 2017). Uno de los artículos seleccionados informó que la activación de JNK inducida por EROs generadas por *P. gingivales* en células epiteliales gingivales, podría inducir la expresión de los genes de respuesta antioxidante catalasa (Cat), superóxido dismutasa 2 (Sod2) y peroxiredoxin 3, así como la reducción de Bcl-6 gen anti-apoptosis, a través de la activación de forkhead box-O1 (FoxO1), un protector frente a estrés oxidativo, efectos que se pierden con el pretratamiento con NAC (Wang y cols., 2015). Por otro lado, el pretratamiento con NAC no afectó la citotoxicidad inducida por *S. gordonii* en fibroblastos de ligamento periodontal (Park y cols. 2021). En este sentido, se necesitan más estudios para evaluar el rol de NAC en la apoptosis celular, variando del estímulo apoptótico.

8.4 NAC provocó una reducción de la actividad osteoclástica, aumentó la actividad osteoblástica y redujo la pérdida ósea alveolar en estudios *in vivo* y su relación con ensayo clínico.

Todos los ensayos *in vivo* reportaron que NAC logró reducir la pérdida ósea alveolar (Qiu, y cols. 2021; Shi y cols. 2021; Zhan y cols. 2021; Alam y cols. 2014; Toker y cols. 2012; Toker y cols. 2009). Al evaluar la actividad osteoclástica, uno de estos estudios no encontró efectos con el uso de NAC 7-70 mg/kg/día (Toker y cols., 2009). Sin embargo, otros estudios usaron dosis más altas de NAC: 70-150 mg/kg/día, lo cual sí tuvo efectos reduciendo la actividad osteoclástica y

aumentando la actividad osteoblástica (Shi y cols. 2021; Zhang y cols. 2021; Toker y cols., 2012).

Dichos resultados se pueden explicar por el efecto de EROs sobre la osteoclastogénesis. Se ha demostrado que las EROs actúan como moléculas de señalización intracelular durante el proceso de osteoclastogénesis. La pérdida ósea alveolar y la reabsorción ósea es un proceso mediado por osteoclastos, y para que la osteoclastogénesis ocurra, el ligando del receptor activador de NF- κ B (RANKL) se debe unir a su receptor (RANK) en los macrófagos de la médula ósea, lo que los lleva a diferenciarse en osteoclastos mediante la vía NF- κ B (Kanzaki y cols., 2017). Se ha visto que, cuando las EROs intracelulares se eliminaron durante la osteoclastogénesis, se anuló la activación de NF- κ B inducida por RANKL (Nikhil y cols., 2015). También existe evidencia que NAC podría actuar a nivel de osteoblasto, en donde NAC inhibió la producción de IL-6, citoquina con efectos inductores de la actividad osteoclástica, a través de la vía NF- κ B en osteoblastos tratados con LPS de *E. coli* (Guo y cols., 2018). Finalmente, es necesario destacar un artículo en donde NAC atenuó la osteólisis inflamatoria inducida por LPS, debido a que la reducción de EROs disminuyó la osteoclastogénesis y estimuló la osteogénesis, sin embargo, no se especifica el origen del LPS (Yan y cols., 2020). Sumando toda esta información, el efecto de NAC sobre la reabsorción ósea pudo ser provocado por su efecto inhibitorio de las EROs, lo cual inhibió NF- κ B, lo cual inhibió la osteoclastogénesis e indujo osteogénesis. Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar este efecto en bacterias involucradas en la periodontitis.

En cuanto a los resultados del único estudio clínico encontrado al respecto de la temática de esta revisión, el tratamiento con NAC 600 mg/día logró reducir la profundidad de sondaje (PS) en pacientes sometidos a tratamiento periodontal quirúrgico (Alkadasi y cols. 2017). En la actual clasificación de enfermedades periodontales y periimplantares de la Asociación Americana de Periodoncia y la Federación Europea de Periodoncia, la PS es uno de los parámetros usados para determinar el estadio de la periodontitis, específicamente como uno de los factores relacionado con la complejidad de tratamiento (Tonetti y cols. 2018). En este sentido, la PS es considerada como un factor local en el pronóstico de las

enfermedades periodontales, ya que se ha descrito que una PS superior a 5 mm está asociada a una mayor dificultad para mantener saludable, con un incremento en niveles de biofilm residual y microbiológicamente se asocian a bacterias periodontales más virulentas (Kwok, V., & Caton, J. 2007). Considerando estos antecedentes, el uso de NAC podría tener un potencial rol en la disminución de la inflamación periodontal, lo cual pudo contribuir a un descenso en la PS. Sin embargo, pese a sus resultados favorables, en el mismo estudio NAC no logró tener efecto en la pérdida de inserción clínica, índice gingival e índice de placa, ni tampoco en los niveles de sRANKL de muestras de fluido gingival crevicular (Alkadasi y cols. 2017). Esto contrasta con los resultados de los ensayos *in vitro*, en donde sí hubo efectos positivos con NAC en la pérdida ósea alveolar y la osteoclastogénesis.

Una de las posibles razones de las diferencias entre los resultados de los estudios *in vivo* y el ensayo clínico podría ser la dosis utilizada de NAC en este último, la cual se fundamentó en el uso de dicho antioxidante en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC): 600 mg/día por 3 meses, considerada como la dosis estándar (Millea 2009; Sadowska y cols., 2007). Al revisar la literatura actualizada disponible, se ha reportado que NAC ha sido probado en dosis mayores. Dos ensayos clínicos randomizados doble ciego y placebo controlados, utilizaron dosis de 1200 mg/día por 1 año para el tratamiento del EPOC, y en ambos los efectos adversos fueron similares entre grupos placebo y tratamiento, encontrando perfiles de seguridad similares al uso estándar de NAC (Zheng y cols. 2014; Tse y cols. 2013). En una revisión sistemática sobre el uso de NAC en enfermedades respiratorias crónicas, encontraron estudios en donde usaron dosis de hasta 3000 mg/día por 4 semanas vía oral, con un perfil de seguridad similar a la dosis estándar y con efectos adversos leves como mal sabor de boca, acidez estomacal, náuseas y flatulencia, sin embargo destacan la falta de estudios clínicos para evaluar efectos a largo plazo junto con la necesidad de estudios con mayor número de pacientes (Calverley y cols. 2021). Otro uso de NAC en altas dosis es en el caso de intoxicación por paracetamol, en donde se han recomendado diferentes esquemas, uno de los cuales es vía oral y consiste en una dosis inicial de 140 mg/kg y luego dosis de 70 mg/kg cada 4 horas, durante 17 dosis

adicionales, o hasta lograr un total de 1.330 mg/kg a lo largo de 72 h de tratamiento o hasta que la dosis de paracetamol en plasma sea indetectable (Koppen y cols. 2014; Waring 2012). Con base en dichos antecedentes, sería interesante investigar el uso de NAC en pacientes con enfermedad periodontal con dosis mayores a la estándar.

Uno de los estudios seleccionados realizados en animales propone una alternativa interesante a considerar en futuros ensayos clínicos: incorporar nanotecnología. En él, se comparó el efecto entre 2 mg/ml NAC versus 2 mg/ml nanopartículas de NAC sensibles a EROs mediante inyección palatina cercana a los sitios sometidos a ligadura en ratas, encontrando que dichas nanopartículas presentaron mejor desempeño en la disminución de la pérdida ósea alveolar, mayor disminución en la actividad osteoclástica y mejor reparación. Sin embargo, en dicho estudio compararon la generación de EROs intracelular y apoptosis celular con ambas presentaciones en fibroblastos de ligamento periodontal humano tratadas con un LPS (no explicitan de qué bacteria proviene), y observaron que las nanopartículas presentaron peor desempeño en la disminución de EROs, pero menores niveles de apoptosis versus el NAC en forma libre (Qiu y cols., 2021). Esta aparente contradicción se produce ya que el objetivo de la terapia antioxidante es la reducción del estrés oxidativo y no solo una disminución en la generación de EROs. Existe evidencia de que el uso de nanopartículas con características antioxidantes tiene ventajas como prolongar el tiempo de permanencia del antioxidante en el lugar, utilizar dosis menores de antioxidante e interferir en menor medida en el rol fisiológicos de las EROs, ya que tienen una tendencia a reaccionar en forma extracelular, liberando el fármaco en dosis controladas según variaciones de EROs (Vong y cols., 2015; Pua y cols., 2013). A esto se suma la posibilidad de inyectar directamente el antioxidante en sitios con mayor inflamación. En un estudio se utilizó un gel inyectable que permite la liberación de radicales de nitróxido en ratas con periodontitis mediante inoculación con *P. gingivalis*, y encontraron que el producto contrarrestó la pérdida ósea alveolar, disminuyó la diferenciación de osteoclastos, redujo la inducción de citoquinas proinflamatorias y restauró el flujo sanguíneo (Saita y cols., 2016). En conclusión, sería interesante observar el uso de

las nanopartículas de NAC sensibles a EROs descritas en el estudio de Qiu como coadyuvante en el tratamiento periodontal en ensayos clínicos humanos.

8.5 Efecto antibacteriano e inhibidor de la invasión bacteriana de NAC

Uno de los estudios encontró que NAC logró inhibir el crecimiento bacteriano e interferir en la formación de biofilms de *P. intermedia* (Moon y col. 2015). Existe evidencia *in vitro* que se ha probado el uso de NAC como agente antibacteriano (Goswami & Jawali, 2010), y que frente a bacterias relacionadas con enfermedad de caries y patología endodóntica ha presentado efectos antibacterianos y antibiofilm (Bhasin y cols., 2019; Moon y cols., 2016). Por otro lado, también se observó que NAC interferiría en la invasión bacteriana de *F. nucleatum* en queratinocitos gingivales humanos, lo cual fue confirmado al encontrar que el antioxidante redujo la expresión de Rac1 activado, una GTPasa reguladora de la dinámica del citoesqueleto (Alam y cols. 2014). Considerando esta información, sería interesante evaluar estos efectos sobre bacterias relacionadas con periodontitis, además de evaluar la relevancia del efecto antibacteriano y anti invasor de NAC a nivel de estudios clínicos.

8.6 Uso de NAC en combinación y versus otros compuestos

Varios estudios compararon NAC versus otros compuestos. A nivel *in vitro*, NAC obtuvo un desempeño similar al antioxidante ácido ascórbico en la disminución de liberación de los DAMPs: HMGB1 e histona H1, en células de epitelio oral humano tratadas con butirato y propionato (Fujiwara y cols., 2021). Sin embargo, NAC mostró ser menos efectiva versus el antioxidante flavonoide baicalina, la cual logró incrementar los niveles de IL-10, una citoquina antiinflamatoria, en macrófagos murinos tratados con LPS de *P. gingivalis* (Cai y cols., 2022) y menos efectiva que CoQ10 en la reducción de EROs e indicadores de biogénesis mitocondrial en fibroblastos gingivales tratados con LPS de *P. gingivalis* (Bullón y cols. 2015). También, se comparó NAC con el uso conjunto de dos componentes del suero

humano que presentan actividad anti-invasora de patógenos periodontales: albúmina de suero humano (HSA) e inmunoglobulina G humana agrupada (pHlgG). NAC mostró mejores resultados versus HSA + pHlgG tanto en la pérdida ósea alveolar de ratas con periodontitis mediante inoculación oral con *P. gingivalis* y *T. denticola*, y una mayor reducción de Rac1 en queratinocitos gingivales infectados con *F. nucleatum* (Alam, y cols., 2014). En otra publicación, se comparó NAC con Mdivi-1, un inhibidor de un importante regulador de la fisión mitocondrial: la proteína 1 relacionada con la dinamina (Drp-1). En dicho artículo, Mdivi-1 presentó mejor efecto protector en la pérdida ósea alveolar y mayor disminución en la expresión de 8-OhdG (Shi y cols., 2021). En resumen, el uso de NAC podría ofrecer ciertas ventajas en el tratamiento periodontal que otros compuestos no presentan.

Diversos estudios se han enfocado el uso en conjunto de NAC con otros antioxidantes y fármacos. En estudios *in vitro* el uso combinado de NAC + 3-MA, un inhibidor de la autofagia, logró disminuir la expresión de NLRP3 e IL-1 β versus 3-MA en macrófagos infectados con *A. actinomycetemcomitans* (Lee y cols., 2020). Al combinarlo con algunos antibióticos, no se encontraron beneficios adicionales, sobre *P. intermedia* en forma planctónica ni en biopelícula, interfiriendo en la eficacia de casi todos los fármacos estudiados (Moon y cols., 2015). En otro artículo, el uso combinado de NAC con dos haloaminas con propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias: cloramina de taurina (TauCl) y la bromamina de taurina (TauBr), tampoco tuvo éxito ya que NAC afectó la estabilidad de TauBr y el uso de NAC junto a TauCl sobre neutrófilos infectados con *P. gingivalis* no mostró un efecto aditivo en la generación de EROs (Walczewska y cols. 2013).

Considerando toda la información anterior, tal vez sea útil buscar otros compuestos con el fin de potenciar los resultados obtenidos con NAC. Al buscar en la literatura, se encontró un estudio que combinó NAC con clorhexidina y se encontró que tenían un efecto sinérgico en la inhibición del crecimiento de *Enterococcus faecalis*, una bacteria implicada en la periodontitis apical (Palaniswamy y cols., 2016). Sería interesante evaluar el efecto del uso en conjunto de NAC y clorhexidina como coadyuvantes en el tratamiento de pacientes con periodontitis.

8.7 NAC en la relación periodontitis-diabetes

Existe una relación bastante estudiada entre la enfermedad periodontal y la diabetes. Esta relación es bidireccional, en donde el control de una enfermedad puede ayudar a mantener el control de la otra (Salhi & Reners, 2022, Bascones-Martínez y cols., 2015). El tratamiento periodontal no quirúrgico en pacientes diabéticos contribuye a la reducción de los valores de hemoglobina glicosilada, un importante indicador de control de la diabetes, y proteína C reactiva, un indicador de inflamación sistémica (Baeza y cols., 2020). Ambas enfermedades presentan una actividad inmunológica pro-inflamatoria a través de la activación de IL-17, IL-1, TNF- α y NF- $\kappa\beta$ y vías de señalización molecular comunes relacionadas con los productos finales de la glicosilación avanzada (AGEs) y estrés oxidativo (Luong y cols., 2021). Incluso, se ha encontrado que la evaluación de los niveles de biomarcadores de estrés oxidativo 8-OHdG y 4-HNE, AGEs y receptores AGEs (RAGEs), podrían servir como marcadores de detección de periodontitis de pacientes con diabetes (Altingöz y cols., 2021).

Se han usado otros antioxidantes en enfermedad periodontal asociada a diabetes. Varios estudios clínicos han probado la suplementación con melatonina y gel de aloe vera, los cuales han mostrado reducir la PS e incrementar el nivel de inserción clínica de pacientes diabéticos con periodontitis (Anton y cols. 2021; Bazyar y cols. 2019; Pradeep y cols., 2016). A nivel de estudios en animales con periodontitis y diabetes experimental, se ha observado que la curcumina, polifenoles y vitamina E han mostrado efectos positivos en la pérdida ósea alveolar y reducciones de marcadores de estrés oxidativo (Mohammad y cols., 2022; Shadisvaaran y cols., 2021; Basu y cols., 2018; Hatipoglu y cols., 2016).

Entre los artículos seleccionados en la revisión, existe evidencia *in vitro* e *in vivo* sobre posibles beneficios del uso de NAC en este sentido. A nivel *in vitro* se usaron osteoblastos en medio con alta concentración de glucosa tratados con LPS de *P. gingivalis*, y encontraron que el tratamiento con NAC disminuyó la muerte celular, así como los niveles proteicos de RIP1, RIP3 y p-MLKL, proteínas

relacionadas con vías de señalización de necroptosis, e incrementó los niveles de ATF4, un factor pro supervivencia que regula funciones progresión del ciclo celular, necroptosis, diferenciación de osteoblastos, metabolismo de glucosa entre otras, inducidos por el LPS de la bacteria (Ou y cols. 2019). A nivel de estudios *in vivo*, dos artículos usaron ratas con diabetes inducida por estreptozotocina y con periodontitis inducida por ligadura, en donde NAC logró disminuir la pérdida ósea alveolar y la actividad osteoclástica y aumentar la actividad osteoblástica (Zhang y cols. 2021; Toker y cols. 2012). Uno de estos estudios encontró, además, que el tratamiento con NAC mitigó la infiltración de macrófagos CD68+ y redujo la polarización hacia el fenotipo M1 de macrófagos en las lesiones periodontales de los grupos diabéticos y no diabéticos (Zhang y cols. 2021). Considerando esta evidencia, sería interesante evaluar los efectos de NAC en pacientes con enfermedad periodontal y diabetes.

Existe evidencia de que el tratamiento con NAC podría proteger al periodonto de los efectos de la diabetes en modelos animales. Un estudio encontró que el tratamiento con NAC disminuye la producción de sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS), un indicador de estrés oxidativo, inducidas por las AGEs en ratas con diabetes mediante estreptozotocina (Schmidt y cols., 1998). Por otro lado, se ha visto que el tratamiento con NAC en ratas KK-Ay con síndrome metabólico restauró la expresión de óxido nítrico sintasa a nivel de queratinocito oral, suprimió la pérdida ósea alveolar y disminuyó las concentraciones plasmáticas de H₂O₂. Lo curioso de este estudio es que las ratas no fueron sometidas a ningún tipo de método de inducción de periodontitis y que los defectos periodontales estaban ubicados en regiones no proximales y tenían formas esféricas, lo cual podría estar asociado a alteraciones en el metabolismo óseo inducidas por la diabetes (Ohnishi y cols., 2009). Dichos estudios no fueron seleccionados dentro de la revisión ya que no indujeron periodontitis, pero dan luces de que el tratamiento con NAC puede proteger de los efectos periodontales inducidos por la diabetes.

8.8 Propuesta de modelo de NAC en periodontitis

Reuniendo toda la información encontrada, se propone un modelo de cómo podría actuar NAC sobre la enfermedad periodontal (**Figura N°3**). En primer lugar, NAC logró reducir las EROs y los marcadores de estrés oxidativo, reduciendo el daño mitocondrial. Por otro lado, reduciría la producción de mediadores pro-apoptosis, incrementaría mediadores anti-apoptóticos e interferiría en vías metabólicas relacionadas con MAPK, reduciendo el nivel de apoptosis de células periodontales. Además, reduciría la liberación de citoquinas proinflamatorias al inhibir vías metabólicas relacionadas con MAPK, inflammasoma y NF- κ B. Por último, interferiría en la actividad osteoclástica al inhibir la vía NF- κ B y aumentaría la actividad osteoblástica, lo que llevaría a reducción de la pérdida ósea alveolar. Finalmente, NAC por sí mismo tendría un efecto bactericida. Es importante considerar que gran parte de estas conclusiones fueron tomadas a partir de estudios *in vitro*, por lo que se necesita más investigación en animales e investigación clínica para confirmar estos efectos.

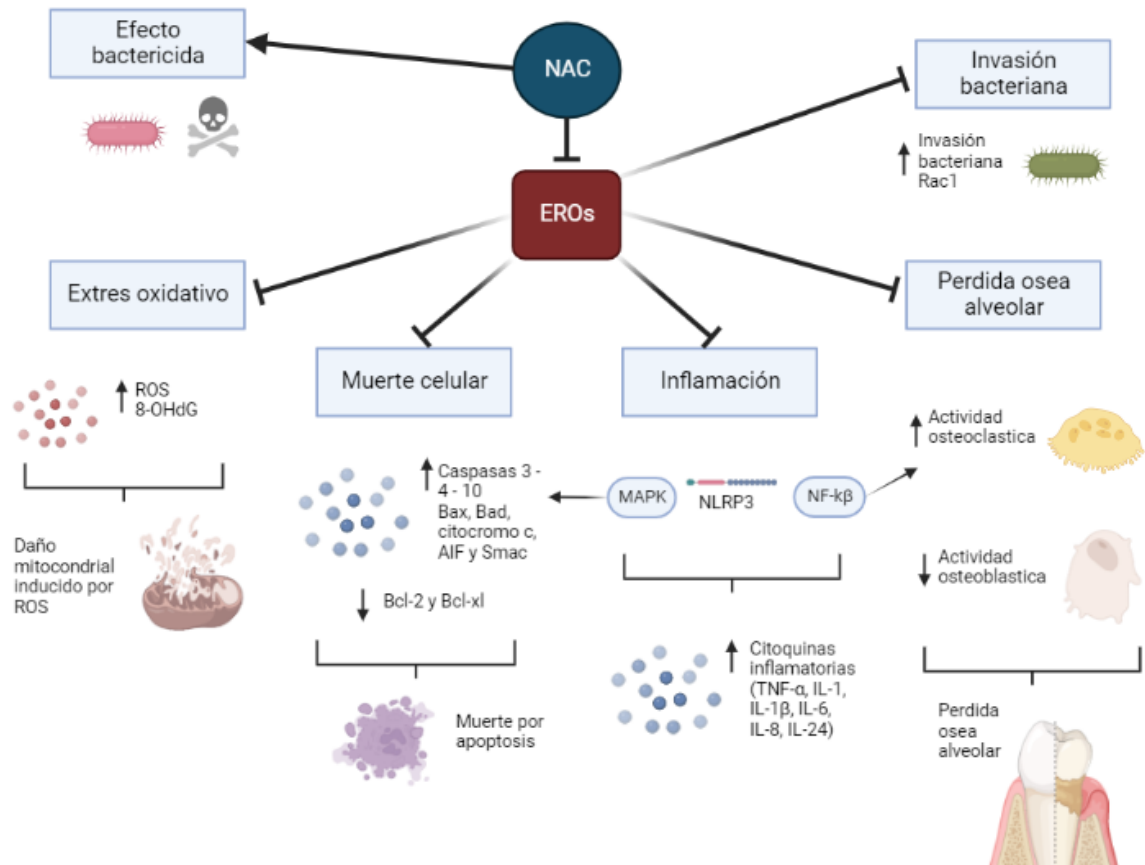


Figura N°3: Modelo propuesto del efecto de NAC sobre la periodontitis.

8.9 Heterogeneidad de los estudios

En el presente estudio, existe una gran heterogeneidad de los resultados encontrados, por lo tanto, no se puede realizar un metaanálisis, porque sólo contamos con un artículo describiendo evidencia en humanos.

A nivel de estudios animales, no se puede realizar un metaanálisis por diferencias metodológicas. En primer lugar, no todos usaron el mismo método de inducción de la periodontitis, ya que uno realizó inoculación oral y el resto el método de la ligadura. Por otro lado, no usaron la misma dosis ni presentación farmacológica de NAC, ya que uno usó NAC dentro de nanopartículas sensibles a EROs mientras los otros usaron NAC en solución vía intragástrica. En tercer lugar, existen diferencias entre los estudios en los tipos de ensayos realizados, el tipo de

animal (sexo, edad y modelo) y otras variables estudiadas como lo es el caso de ratas diabéticas con periodontitis.

Finalmente, a nivel de estudios *in vitro*, no es conveniente realizar un metaanálisis ya que son estudios con una alta heterogeneidad dentro de sus metodologías, además de no tener una relevancia clínica tan importante como los estudios en humanos. En los estudios *in vitro* solo se puede estudiar una parte muy limitada de la enfermedad periodontal, no pueden replicar la complejidad de las interacciones cruzadas que se producen entre la respuesta inmunitaria, el microbioma y el tejido del huésped (Hajishengallis y cols. 2015), y el caso de estos estudios solo se limitaron a ver el efecto de NAC sobre patógenos ya sea en forma directa o sobre cultivos celulares periodontales o similares.

8.10 Discusión del análisis de riesgo de sesgo

Mediante la herramienta RoB2, se determinó que el riesgo de sesgo del único ensayo clínico randomizado encontrado fue con “algunas preocupaciones”, con riesgo de sesgo debido a desviaciones de las intervenciones previstas. Si esta información se traduce a la clasificación detallada en el manual Cochrane 5.1, se trataría de un riesgo de sesgo de realización.

Con la herramienta SYRCLE que se clasificó a todos los estudios *in vivo* con un moderado riesgo de sesgo. A modo general, se detecta un riesgo de sesgo por información, ya que todos los estudios no informaron adecuadamente los métodos de secuencia y ocultamiento de la asignación. En particular, destaca el artículo de Zhan y cols. 2021 presentar posible error en la unidad de análisis al considerar como control sano molares no ligados, llevando a riesgo de sesgo por contaminación. Por último, destaca el estudio de Toker y cols. 2009 con riesgo de sesgo de selección al no tener la misma cantidad de ratas por grupo, sin embargo, la diferencia fue menor al 10%.

8.11 Limitaciones

Dentro de las limitaciones, se encuentra la poca cantidad de evidencia disponible. Solo contamos con un ensayo clínico, algunos estudios experimentales en ratas y gran cantidad de evidencia *in vitro*. El estudio clínico encontrado presentó una baja cantidad de participantes (10 personas por grupo) lo cual no sería representativo. Además, no realizó una evaluación de estrés oxidativo mediante biomarcadores, lo que pone en duda si la dosis utilizada fue suficiente para contrarrestar el estrés oxidativo. A su vez, pese al gran aporte de los estudios en animales e *in vitro* en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas periodontales, no es evidencia que permita realizar recomendaciones clínicas en humanos. Pese a existir una gran cantidad de evidencia en el uso de antioxidantes en terapia periodontal, el uso de NAC como coadyuvante en tratamiento periodontal es un tema reciente, con una importante cantidad de evidencia concentrada en los últimos años, lo cual habla que es un tema que aún sigue en desarrollo.

9. CONCLUSIONES

- La evidencia en estudios en humanos es insuficiente para recomendar el uso de NAC como adyuvante en la enfermedad periodontal.
- Los estudios en animales han demostrado que NAC sería potencialmente útil en el tratamiento de la periodontitis, disminuyendo la pérdida ósea alveolar, citotoxicidad, liberación de citoquinas proinflamatorias y biomarcadores de estrés oxidativo. También han demostrado un posible uso en la periodontitis en modelos animales con diabetes, lo que abre la posibilidad de que NAC sea útil en pacientes diabéticos con enfermedad periodontal.
- Los estudios *in vitro* han demostrado que NAC interfiere en el daño causado por estrés oxidativo al reducir las EROs, el daño mitocondrial, la producción y liberación de citoquinas pro-inflamatorias y la muerte celular.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe, T., & Hajishengallis, G. (2013). Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *Journal of immunological methods*, 394(1-2), 49–54. doi:10.1016/j.jim.2013.05.002
- Abusleme, L., Dupuy, A., Dutzan, N., Silva, N., Burleson, J. y cols. (2013). The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *The ISME journal*, 7(5), 1016–1025. doi:10.1038/ismej.2012.174
- Abusleme, L., Hoare, A., Hong, B. & Diaz, P. (2021). Microbial signatures of health, gingivitis, and periodontitis. *Periodontology* 2000, 86(1), 57–78. doi:10.1111/prd.12362
- Akalin, F., Baltacioglu, E., Alver, A. & Karabulut, E. (2007). Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 34, 558–565. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01091.x
- Alam, J., Baek, K., Choi, Y., Kim, Y., & Choi, Y. (2014). N-acetylcysteine and the human serum components that inhibit bacterial invasion of gingival epithelial cells prevent experimental periodontitis in mice. *Journal of periodontal & implant science*, 44(6), 266–273. doi:10.5051/jpis.2014.44.6.266
- Albandar, J., Khattab, R., Monem, F., Barbuto, S. & Paster, B. (2012). The subgingival microbiota of Papillon-Lefèvre syndrome. *Journal of periodontology*, 83(7), 902–908. doi:10.1902/jop.2011.110450
- Alkadasi, B., Abdulrab, S., Gaafer, S., Kalakonda, B., Hosny, M. y cols. (2017). Effect of adjunctive use of systemic antioxidant therapy (N-acetylcysteine) on soluble receptor activator nuclear factor κB ligand levels in gingival crevicular fluid following surgical periodontal treatment for chronic periodontitis. *Journal of oral science*, 59(4), 519–526. doi:10.2334/josnusd.16-0701
- Almerich-Silla, J., Montiel-Company, J., Pastor, S., Serrano, F., Puig-Silla, M. y cols.

(2015). Oxidative stress parameters in saliva and its association with periodontal disease and types of bacteria. *Dis. Markers* 2015:653537. doi: 10.1155/2015/653537

Altıngöz, S., Kurgan, Ş., Önder, C., Serdar, M., Ünlütürk, U. y cols. (2021). Salivary and serum oxidative stress biomarkers and advanced glycation end products in periodontitis patients with or without diabetes: A cross-sectional study. *Journal of periodontology*, 92(9), 1274–1285. doi:10.1002/JPER.20-0406

Anton, D., Martu, M., Maris, M., Maftai, G., Sufaru, I. y cols. (2021). Study on the Effects of Melatonin on Glycemic Control and Periodontal Parameters in Patients with Type II Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 57(2), 140. doi:10.3390/medicina57020140

Aquino-Martinez, R., Khosla, S., Farr, J. & Monroe, D. (2020). Periodontal Disease and Senescent Cells: New Players for an Old Oral Health Problem?. *International journal of molecular sciences*, 21(20), 7441. doi:10.3390/ijms21207441

Atkuri K., Mantovani J., Herzenberg L. & Herzenberg L. (2007) N-Acetylcysteine-a safe antidote for cysteine/glu-tathione deficiency. *Current Opinion in Pharmacology* 7(4),355–359. doi:10.1016/j.coph.2007.04.005

Baeza, M., Morales, A., Cisterna, C., Cavalla, F., Jara, G. y cols. (2020). Effect of periodontal treatment in patients with periodontitis and diabetes: systematic review and meta-analysis. *Journal of applied oral science : revista FOB*, 28, e20190248. doi:10.1590/1678-7757-2019-0248

Badanian, A., Bueno, L. & Papone, V. (2019). Análisis bacteriano comparativo de cuadros de Periodontitis Crónica y Agresiva en una población muestra de Uruguay. *Odontostomatología*, 21(33), 5-13. Epub 01 de junio de 2019. doi.org/10.22592/ode2019n33a2

Bains, V. & Bains, R. (2015). The antioxidant master glutathione and periodontal health. *Dental research journal*, 12(5), 389–405. doi.org/10.4103/1735-3327.166169

Bascones-Martínez, A., Muñoz-Corcuera, M., & Bascones-Ilundain, J. (2015). Diabetes y periodontitis: una relación bidireccional [Diabetes and periodontitis: A bidirectional relationship]. *Medicina clínica*, 145(1), 31–35.

doi:10.1016/j.medcli.2014.07.019

Baser, U., Gamsiz-Isik, H., Cifcibasi, E., Ademoglu, E. & Yalcin, F. (2015). Plasma and salivary total antioxidant capacity in healthy controls compared with aggressive and chronic periodontitis patients. *Saudi medical journal*, 36(7), 856–861. doi:10.15537/smj.2015.7.11954

Basu, A., Masek, E., & Ebersole, J. L. (2018). Dietary Polyphenols and Periodontitis- A Mini-Review of Literature. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(7), 1786. doi:10.3390/molecules23071786

Bavarsad, R., Harrigan, M. & Alexandrov, A. (2014). N-acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: mechanisms of action and therapeutic opportunities. *Brain and behavior*, 4(2), 108–122. doi:10.1002/brb3.208

Bazyar, H., Gholinezhad, H., Moradi, L., Salehi, P., Abadi, F. y cols. (2019). The effects of melatonin supplementation in adjunct with non-surgical periodontal therapy on periodontal status, serum melatonin and inflammatory markers in type 2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Inflammopharmacology*, 27(1), 67–76. doi:10.1007/s10787-018-0539-0

Bhasin, P., Sharma, M., Bindal, D., Tomar, D., Sarin, A. y cols. (2019). An In Vitro Evaluation of Antimicrobial Effects of Three Different Root Canal Irrigating Solutions against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus mutans*. *The journal of contemporary dental practice*, 20(2), 221–225. doi:10.5005/jp-journals-10024-2501

Bostanci, N., Emingil, G., Saygan, B., Turkoglu, O., Atilla, G. y cols. (2009). Expression and regulation of the NALP3 inflammasome complex in periodontal diseases. *Clinical and experimental immunology*, 157(3), 415–422. doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03972.x

Bruna, B., Lobos, P., Herrera-Molina, R., Hidalgo, C., Paula-Lima, A. y cols. (2018). The signaling pathways underlying BDNF-induced Nrf2 hippocampal nuclear translocation involve ROS, RyR-Mediated Ca²⁺ signals, ERK and PI3K. *Biochemical and biophysical research communications*, 505(1), 201–207. doi:10.1016/j.bbrc.2018.09.080

- Bullon, P., Cordero, M., Quiles, J., Ramirez-Tortosa, M., Gonzalez-Alonso, A. y cols. (2012). Autophagy in periodontitis patients and gingival fibroblasts: unraveling the link between chronic diseases and inflammation. *BMC medicine*, 10, 122. doi:10.1186/1741-7015-10-122
- Bullón, P., Román-Malo, L., Marín-Aguilar, F., Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F. y cols.. (2015). Lipophilic antioxidants prevent lipopolysaccharide-induced mitochondrial dysfunction through mitochondrial biogenesis improvement. *Pharmacological research*, 91, 1–8. doi:10.1016/j.phrs.2014.10.007
- Cai, X., Shi, Y., Dai, Y., Wang, F., Chen, X. y cols. (2022). Baicalin clears inflammation by enhancing macrophage efferocytosis via inhibition of RhoA/ROCK signaling pathway and regulating macrophage polarization. *International immunopharmacology*, 105, 108532. doi:10.1016/j.intimp.2022.108532
- Calverley, P., Rogliani, P., & Papi, A. (2021). Safety of N-Acetylcysteine at High Doses in Chronic Respiratory Diseases: A Review. *Drug safety*, 44(3), 273–290. doi:10.1007/s40264-020-01026-y
- Canakçi, C., Tatar, A., Canakçi, V., Cicek, Y., Oztas, S. y cols. (2006). New evidence of premature oxidative DNA damage: mitochondrial DNA deletion in gingival tissue of patients with periodontitis. *Journal of periodontology*, 77(11), 1894–1900. doi:10.1902/jop.2006.060108
- Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091
- Carvajal, P. (2016). Enfermedades periodontales como un problema de salud pública: el desafío del nivel primario de atención en salud. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, 9(2), 177-183. doi:10.1016/j.piro.2016.07.001
- Castro, M., Duarte, N., Nascimento, P., Magno, M., Fagundes, N. y cols. (2019). Antioxidants as Adjuvants in Periodontitis Treatment: A Systematic Review and

Meta-Analysis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 9187978. doi:10.1155/2019/9187978

Cavalla, F., Osorio, C., Paredes, R., Valenzuela, M., Garcia-Sesnich, J. y cols. (2015). Matrix metalloproteinases regulate extracellular levels of SDF-1/CXCL12, IL-6 and VEGF in hydrogen peroxide-stimulated human periodontal ligament fibroblasts. *Cytokine*, 73(1), 114–121. doi:10.1016/j.cyto.2015.02.001

Cecoro, G., Annunziata, M., Iuorio, M., Nastri, L., & Guida, L. (2020). Periodontitis, Low-Grade Inflammation and Systemic Health: A Scoping Review. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 56(6), 272. doi:10.3390/medicina56060272

Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & Van Dyke, T. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 64(1), 57–80. doi:10.1111/prd.12002

Chambers, J. & LoGrasso, P. (2011). Mitochondrial c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling initiates physiological changes resulting in amplification of reactive oxygen species generation. *The Journal of biological chemistry*, 286(18), 16052–16062. doi:10.1074/jbc.M111.223602

Chapple I. & Matthews B. (2007). The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology 2000*, 43, 160–232. doi:10.1111/j.1600-0757.2006.00178.x

Chávez De Paz, L., Svensäter, G., Dahlén, G., & Bergenholtz, G. (2005). Streptococci from root canals in teeth with apical periodontitis receiving endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 100(2), 232-241. doi:10.1016/j.tripleo.2004.10.008

Chen, L., Wang, G., Wang, Q., Liu, Q., Sun, Q., y cols. (2019a). N-acetylcysteine prevents orchietomy-induced osteoporosis by inhibiting oxidative stress and osteocyte senescence. *American journal of translational research*, 11(7), 4337–4347.

Chen, M., Cai, W., Zhao, S., Shi, L., Chen, Y. y cols. (2019b). Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic

periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical periodontology*, 46(6), 608–622. doi:10.1111/jcpe.13112

Chiew, A., Gluud, C., Brok, J., & Buckley, N. (2018). Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2(2), CD003328. doi:10.1002/14651858.CD003328.pub3

Choe, Y., Yu, J., Son, Y., Park, S., Kim, J y cols. (2012). Continuously generated H₂O₂ stimulates the proliferation and osteoblastic differentiation of human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of cellular biochemistry*, 113(4), 1426–1436. doi:10.1002/jcb.24017

Cueno, M., & Ochiai, K. (2016). Re-discovering periodontal butyric acid: New insights on an old metabolite. *Microbial pathogenesis*, 94, 48–53. doi:10.1016/j.micpath.2015.10.006

D'aiuto, F., Nibali, L., Parkar, M., Patel, K., Suvan, J. y cols. (2010). Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *Journal of dental research*, 89(11), 1241–1246.. doi:10.1177/0022034510375830

De Molon, R., Mascarenhas, V., de Avila, E., Finoti, L., Toffoli, G. y cols. (2016). Long-term evaluation of oral gavage with periodontopathogens or ligature induction of experimental periodontal disease in mice. *Clinical oral investigations*, 20(6), 1203–1216. doi:10.1007/s00784-015-1607-0

De Molon, R., Park, C., Jin, Q., Sugai, J., & Cirelli, J. (2018). Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. *Microscopy research and technique*, 81(12), 1412–1421. doi:10.1002/jemt.23101

Del Pinto, R., Pietropaoli, D., Munoz-Aguilera, E., D'Aiuto, F., Czesnikiewicz-Guzik, M. y cols. (2020). Periodontitis and Hypertension: Is the Association Causal?. *High blood pressure & cardiovascular prevention : the official journal of the Italian Society of Hypertension*, 27(4), 281–289. doi:10.1007/s40292-020-00392-z

Díaz-Zúñiga, J., More, J., Melgar-Rodríguez, S., Jiménez-Unión, M., Villalobos-Orchard, F. y cols. (2020). Alzheimer's Disease-Like Pathology Triggered by *Porphyromonas gingivalis* in Wild Type Rats Is Serotype Dependent. *Frontiers in*

immunology, 11, 588036. doi:10.3389/fimmu.2020.588036

Dioguardi, M., Crincoli, V., Laino, L., Alovise, M., Sovereto, D. y cols. (2020). The Role of Periodontitis and Periodontal Bacteria in the Onset and Progression of Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *Journal of clinical medicine*, 9(2), 495. doi:10.3390/jcm9020495

Federación Dental Internacional (2015). El Desafío de las Enfermedades Bucodentales – Una llamada a la acción global. Atlas de Salud Bucodental. 2ª ed. Ginebra. Disponible en https://www.fdiworlddental.org/sites/default/files/2021-03/book_spreads_oh2_spanish.pdf

Fine, D., Patil, A. & Velusamy, S. (2019). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) Under the Radar: Myths and Misunderstandings of Aa and Its Role in Aggressive Periodontitis. *Frontiers in immunology*, 10, 728. doi:10.3389/fimmu.2019.00728

Fujiwara, Y., Murofushi, T., Koshi, R., Mikami, Y., & Tsuda, H. (2021). Reactive oxygen species-dependent release of damage-associated molecular patterns from human gingival epithelial Ca9-22 cells during butyrate or propionate exposure. *Journal of oral science*, 63(2), 195–197. doi:10.2334/josnusd.20-0411

Garlet, G. Avila-Campos, M., Milanezi, C., Ferreira, B., & Silva, J. S. (2005). *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-induced periodontal disease in mice: patterns of cytokine, chemokine, and chemokine receptor expression and leukocyte migration. *Microbes and infection*, 7(4), 738–747. doi:10.1016/j.micinf.2005.01.012

Goswami, M., & Jawali, N. (2010). N-acetylcysteine-mediated modulation of bacterial antibiotic susceptibility. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(8), 3529–3530. doi:10.1128/AAC.00710-10

Govindaraj, P., Khan, N., Gopalakrishna, P., Chandra, R., Vanniarajan, A. y cols. (2011). Mitochondrial dysfunction and genetic heterogeneity in chronic periodontitis. *Mitochondrion*, 11(3), 504–512. doi:10.1016/j.mito.2011.01.009

Graves, D., Kang, J., Andriankaja, O., Wada, K., & Rossa, C. (2012). Animal models to study host-bacteria interactions involved in periodontitis. *Frontiers of oral biology*,

15, 117–132. doi:10.1159/000329675

Gu, Y., & Han, X. (2020). Toll-Like Receptor Signaling and Immune Regulatory Lymphocytes in Periodontal Disease. *International journal of molecular sciences*, 21(9), 3329. doi:10.3390/ijms21093329

Guo, L., Zhang, H., Li, W., Zhan, D., & Wang, M. (2018). N-acetyl cysteine inhibits lipopolysaccharide-mediated induction of interleukin-6 synthesis in MC3T3-E1 cells through the NF- κ B signaling pathway. *Archives of oral biology*, 93, 149–154. doi:10.1016/j.archoralbio.2018.06.007

Hajishengallis G. (2020). New developments in neutrophil biology and periodontitis. *Periodontology 2000*, 82(1), 78–92. doi:10.1111/prd.12313

Hajishengallis, G., Darveau, R. & Curtis, M. (2012). The keystone-pathogen hypothesis. *Nature reviews. Microbiology*, 10(10), 717–725. doi:10.1038/nrmicro2873

Hajishengallis, G., Lamont, R., & Graves, D. (2015). The enduring importance of animal models in understanding periodontal disease. *Virulence*, 6(3), 229–235. doi:10.4161/21505594.2014.990806

Hatipoglu, M., Alptekin, N., & Avunduk, M. (2016). Effects of alpha-tocopherol on gingival expression of inducible nitric oxide synthase in the rats with experimental periodontitis and diabetes. *Nigerian journal of clinical practice*, 19(4), 480–485. doi:10.4103/1119-3077.183301

Haubek, D., Ennibi, O., Poulsen, K., Vaeth, M., Poulsen, S. y cols. (2008). Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. *Lancet (London, England)*, 371(9608), 237–242. doi:10.1016/S0140-6736(08)60135-X

Hendrickson R. (2019). What is the most appropriate dose of N-acetylcysteine after massive acetaminophen overdose?. *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)*, 57(8), 686–691. doi:10.1080/15563650.2019.1579914

Herb, M., & Schramm, M. (2021). Functions of ROS in Macrophages and

Antimicrobial Immunity. Antioxidants (Basel, Switzerland), 10(2), 313. doi.org/10.3390/antiox10020313

Higgins, J. & Green, S. (2011). Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponible en: https://es.cochrane.org/sites/es.cochrane.org/files/uploads/manual_cochrane_510_web.pdf

Higgins, J., Thomas, J., Chandler, J., Cumpston, M., Li, T. y cols. (2022) Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.3. Cochrane, 2022. Disponible en www.training.cochrane.org/handbook.

Hirschfeld, J., White, P., Milward, M., Cooper, P., & Chapple, I. (2017). Modulation of Neutrophil Extracellular Trap and Reactive Oxygen Species Release by Periodontal Bacteria. *Infection and immunity*, 85(12), e00297-17. doi:10.1128/IAI.00297-17

Holdiness M. (1991). Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. *Clinical pharmacokinetics*, 20(2), 123–134. doi:10.2165/00003088-199120020-00004

Hooijmans, C., Rovers, M., de Vries, R., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M. y cols. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BioMed Central medical research methodology*, 14, 43. doi:10.1186/1471-2288-14-43

Jackson M. (2015). Redox regulation of muscle adaptations to contractile activity and aging. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 119(3), 163–171. doi:10.1152/jappphysiol.00760.2014

Jiang, Y., Yang, P., Li, C., Lu, Y., Kou, Y. y cols. (2022). Periostin regulates LPS-induced apoptosis via Nrf2/HO-1 pathway in periodontal ligament fibroblasts. *Oral diseases*, 00, 1– 17. doi:10.1111/odi.14189

Kang, S., Park, H., Ban, J., Chung, J., Chun, G. y cols. (2011). Effects of nicotine on apoptosis in human gingival fibroblasts. *Archives of oral biology*, 56(10), 1091–1097. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.03.016

Kanzaki, H., Wada, S., Narimiya, T., Yamaguchi, Y., Katsumata, Y. y cols. (2017). Pathways that Regulate ROS Scavenging Enzymes, and Their Role in Defense

Against Tissue Destruction in Periodontitis. *Frontiers in physiology*, 8, 351. doi:10.3389/fphys.2017.00351

Kesavalu, L., Sathishkumar, S., Bakthavatchalu, V., Matthews, C., Dawson, D. y cols. (2007). Rat model of polymicrobial infection, immunity, and alveolar bone resorption in periodontal disease. *Infection and immunity*, 75(4), 1704–1712. doi:10.1128/IAI.00733-06

Kido, J., Kido, R., Kataoka, M., Fagerhol, M., Nagata, T. y cols. (2003). Calprotectin release from human neutrophils is induced by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide via the CD-14-Toll-like receptor-nuclear factor kappaB pathway. *Journal of periodontal research*, 38(6), 557–563. doi:10.1034/j.1600-0765.2003.00691.x

Kim, D., Jun, J., Lee, H., Woo, K., Ryoo, H. y cols. (2007). N-acetylcysteine prevents LPS-induced pro-inflammatory cytokines and MMP2 production in gingival fibroblasts. *Archives of pharmacal research*, 30(10), 1283–1292. doi:10.1007/BF02980269

Kim, S., Kim, H., Song, Y., Lee, H., Kim, S. y cols. (2021). Metabolic phenotyping of saliva to identify possible biomarkers of periodontitis using proton nuclear magnetic resonance. *Journal of clinical periodontology*, 48(9), 1240–1249. doi:10.1111/jcpe.13516

Kiriakou, J., Pandis, N., Madianos, P., & Polychronopoulou, A. (2014). Developing evidence-based dentistry skills: how to interpret randomized clinical trials and systematic reviews. *Progress in orthodontics*, 15(1), 58. doi:10.1186/s40510-014-0058-5

Ko, Y., An, S., Han, N., Lee, H., & Choi, B. (2019). Regulation of IL-24 in human oral keratinocytes stimulated with *Tannerella forsythia*. *Molecular oral microbiology*, 34(5), 209–218. doi:10.1111/omi.12265

Könönen, E., Gursoy, M., & Gursoy, U. K. (2019). Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. *Journal of clinical medicine*, 8(8), 1135. doi:10.3390/jcm8081135

- Koppen, A., Van Riel, A., De Vries, I., & Meulenbelt, J. (2014). Recommendations for the paracetamol treatment nomogram and side effects of N-acetylcysteine. *The Netherlands journal of medicine*, 72(5), 251–257. Disponible en: <https://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=1451>
- Kurita-Ochiai, T., & Ochiai, K. (2010). Butyric acid induces apoptosis via oxidative stress in Jurkat T-cells. *Journal of dental research*, 89(7), 689–694. doi:10.1177/0022034510365456
- Kwok, V. & Caton, J. (2007). Commentary: prognosis revisited: a system for assigning periodontal prognosis. *Journal of periodontology*, 78(11), 2063–2071. doi:10.1902/jop.2007.070210
- Lamont, R. (2016). Hydrogen peroxide is a central determinant of oral polymicrobial synergy. *Environ. Microbiol.* 18(11), 3609–3611. doi:10.1111/1462-2920.13537
- Lee, G., Kim, H., & Kim, H. (2016). RhoA-JNK Regulates the E-Cadherin Junctions of Human Gingival Epithelial Cells. *Journal of dental research*, 95(3), 284–291. doi:10.1177/0022034515619375
- Lee, H., Park, M., Song, Y., Na, H., & Chung, J. (2020). Role of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-induced autophagy in inflammatory response. *Journal of periodontology*, 91(12), 1682–1693. doi:10.1002/JPER.19-0639
- Lin, P., Niimi, H., Ohsugi, Y., Tsuchiya, Y., Shimohira y cols. (2021). Application of Ligature-Induced Periodontitis in Mice to Explore the Molecular Mechanism of Periodontal Disease. *International journal of molecular sciences*, 22(16), 8900. doi:10.3390/ijms22168900
- Liu, C., Mo, L., Niu, Y., Li, X., Zhou, X. y cols. (2017). The Role of Reactive Oxygen Species and Autophagy in Periodontitis and Their Potential Linkage. *Frontiers in physiology*, 8, 439. doi:10.3389/fphys.2017.00439
- Liu, Z., Liu, Y., Song, Y., Zhang, X., Wang, S. y cols. (2014). Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Disease markers*, 2014, 931083. doi:10.1155/2014/931083

- Loos, B. & Van Dyke, T. (2020). The role of inflammation and genetics in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 83(1), 26–39. doi:10.1111/prd.12297
- López, R., Dahlén, G. & Baelum, V. (2011). Subgingival microbial consortia and the clinical features of periodontitis in adolescents. *European journal of oral sciences*, 119(6), 455–462. doi:10.1111/j.1600-0722.2011.00875.x
- Luong, A., Tawfik, A., Islamoglu, H., Gobriel, H., Ali, N. y cols. (2021). Periodontitis and diabetes mellitus co-morbidity: A molecular dialogue. *Journal of oral biosciences*, 63(4), 360–369. doi:10.1016/j.job.2021.10.006
- Lushchak, V. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164–175. doi:10.1016/j.cbi.2014.10.016
- Machado, V., Botelho, J., Escalda, C., Hussain, S., Luthra, S. y cols. (2021). Serum C-Reactive Protein and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in immunology*, 12, 706432. doi:10.3389/fimmu.2021.706432
- Magrin, G., Strauss, F., Benfatti, C., Maia, L., & Gruber, R. (2020). Effects of Short-Chain Fatty Acids on Human Oral Epithelial Cells and the Potential Impact on Periodontal Disease: A Systematic Review of In Vitro Studies. *International journal of molecular sciences*, 21(14), 4895. doi:10.3390/ijms21144895
- Matsuzawa, A., Saegusa, K., Noguchi, T., Sadamitsu, C., Nishitoh, H. y cols. (2005). ROS-dependent activation of the TRAF6-ASK1-p38 pathway is selectively required for TLR4-mediated innate immunity. *Nature immunology*, 6(6), 587–592. doi:10.1038/ni1200
- Meñaca-Guerrero, L., Suarez-Causado, A., & Díaz-Caballero, A.. (2020). Especies reactivas de oxígeno, estrés oxidativo y su relación con la destrucción tisular en periodontitis. *CES Odontología*, 33(2), 112-127. doi:10.21615/cesodon.33.2.10
- Michea, M., Briceño, C., Alcota, M., & González, F. (2016). Péptidos antimicrobianos y mediadores lipídicos: rol en las enfermedades periodontales. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, 9(3), 231-237. doi:10.1016/j.piro.2016.03.003

Millea P. J. (2009). N-acetylcysteine: multiple clinical applications. *American family physician*, 80(3), 265–269. Disponible en: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2009/0801/p265.html>

Ministerio de Salud, MINSAL, (2010). Análisis de Situación de Salud Bucal en Chile. Subsecretaría de Salud Pública. Chile. Disponible en: <https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/An%C3%A1lisis%20de%20Situaci%C3%B3n%20Salud%20Bucal%20final%20pdf.pdf>

Mittal M., Siddiqui M., Tran K., Reddy S. & Malik A. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & redox signaling*, 20(7), 1126–1167. doi:10.1089/ars.2012.5149

Mohammad, C., Ali, K., Sha, A., & Gul, S. (2022). Antioxidant Effects of Curcumin Gel in Experimental Induced Diabetes and Periodontitis in Rats. *BioMed research international*, 2022, 7278064. doi:10.1155/2022/7278064

Moon, J., Choi, Y., Lee, H., Heo, J., Chang, S. y cols. (2016). Antibacterial effects of N-acetylcysteine against endodontic pathogens. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 54(4), 322–329. doi:10.1007/s12275-016-5534-9

Moon, J., Jang, E., Shim, K., & Lee, J. (2015). In vitro effects of N-acetyl cysteine alone and in combination with antibiotics on *Prevotella intermedia*. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 53(5), 321–329. doi:10.1007/s12275-015-4500-2

More, J., Galusso, N., Veloso, P., Montecinos, L., Finkelstein, J., y cols. (2018). N-Acetylcysteine Prevents the Spatial Memory Deficits and the Redox-Dependent RyR2 Decrease Displayed by an Alzheimer's Disease Rat Model. *Frontiers in aging neuroscience*, 10, 399. doi:10.3389/fnagi.2018.00399

Muñoz, P., Ardiles, Á., Pérez-Espinosa, B., Núñez-Espinosa, C., Paula-Lima, A. y cols. (2020). Redox modifications in synaptic components as biomarkers of cognitive status, in brain aging and disease. *Mechanisms of ageing and development*, 189, 111250. doi:10.1016/j.mad.2020.111250

Murad, M., Asi, N., Alsawas, M., & Alahdab, F. (2016). New evidence pyramid.

Evidence-based medicine, 21(4), 125–127. doi:10.1136/ebmed-2016-110401

Nagata S. (2018). Apoptosis and Clearance of Apoptotic Cells. Annual review of immunology, 36, 489–517. doi:10.1146/annurev-immunol-042617-053010

Nascimento, G., Leite, F., Vestergaard, P., Scheutz, F., & López, R. (2018). Does diabetes increase the risk of periodontitis? A systematic review and meta-regression analysis of longitudinal prospective studies. Acta diabetologica, 55(7), 653–667. doi:10.1007/s00592-018-1120-4

Nascimento, P., Castro, M., Magno, M., Almeida, A., Fagundes, N. y cols. (2019). Association Between Periodontitis and Cognitive Impairment in Adults: A Systematic Review. Frontiers in neurology, 10, 323. doi:10.3389/fneur.2019.00323

Nakajima, K., Hamada, N., Takahashi, Y., Sasaguri, K., Tsukinoki, K. y cols. (2006). Restraint stress enhances alveolar bone loss in an experimental rat model. Journal of periodontal research, 41(6), 527–534. doi:10.1111/j.1600-0765.2006.00901.x

Nakamura, H., Fukusaki, Y., Yoshimura, A., Shiraishi, C., Kishimoto, M. y cols. (2008). Lack of Toll-like receptor 4 decreases lipopolysaccharide-induced bone resorption in C3H/HeJ mice in vivo. Oral microbiology and immunology, 23(3), 190–195. doi:10.1111/j.1399-302X.2007.00410.x

Nibali, L., & Donos, N. (2013). Periodontitis and redox status: a review. Current pharmaceutical design, 19(15), 2687–2697. doi:10.2174/1381612811319150003

Nikhil, K., Sharan, S. & Roy, P. (2015). A pterostilbene derivative suppresses osteoclastogenesis by regulating RANKL-mediated NFκB and MAPK signaling in RAW264.7 cells. Pharmacological reports : PR, 67(6), 1264–1272. doi:10.1016/j.pharep.2015.05.009

Ohnishi, T., Bandow, K., Kakimoto, K., Machigashira, M., Matsuyama, T. y cols. (2009). Oxidative stress causes alveolar bone loss in metabolic syndrome model mice with type 2 diabetes. Journal of periodontal research, 44(1), 43–51. doi:10.1111/j.1600-0765.2007.01060.x

Okinaga, T., Ariyoshi, W., & Nishihara, T. (2015). Aggregatibacter

actinomycetemcomitans Invasion Induces Interleukin-1 β Production Through Reactive Oxygen Species and Cathepsin B. *Journal of interferon & cytokine research : The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 35(6), 431–440. doi:10.1089/jir.2014.0127

Oliver, D. & Reddy, P. (2019). Dynamics of Dynamin-Related Protein 1 in Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Diseases. *Cells*, 8(9), 961. doi:10.3390/cells8090961

Ortega-Gómez, A., Perretti, M., & Soehnlein, O. (2013). Resolution of inflammation: an integrated view. *EMBO molecular medicine*, 5(5), 661–674. doi:10.1002/emmm.201202382

Ou, L., Sun, T., Cheng, Y., Huang, L., Zhan, X. y cols. (2019). MicroRNA-214 contributes to regulation of necroptosis via targeting ATF4 in diabetes-associated periodontitis. *Journal of cellular biochemistry*, 120(9), 14791–14803. doi:10.1002/jcb.28740

Oz, H. & Puleo, D. (2011). Animal models for periodontal disease. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2011, 754857. doi:10.1155/2011/754857

Özcan, E., Saygun, N., Ilıkçı, R., Karşlıoğlu, Y., Muşabak, U. y cols. (2017). Increased visfatin expression is associated with nuclear factor-kappa B and phosphatidylinositol 3-kinase in periodontal inflammation. *Clinical oral investigations*, 21(4), 1113–1121. doi:10.1007/s00784-016-1871-7

Page, M., McKenzie, J., Bossuyt, P., Boutron, I., Hoffmann, T. y cols. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *British Medical Journal (Clinical research ed.)*, 372, n71. doi:10.1136/bmj.n71

Palaniswamy, U., Lakkam, S., Arya, S. & Aravelli, S. (2016). Effectiveness of N-acetyl cysteine, 2% chlorhexidine, and their combination as intracanal medicaments on *Enterococcus faecalis* biofilm. *Journal of conservative dentistry : JCD*, 19(1), 17–20. doi:10.4103/0972-0707.173186

Pandis N. (2011). The evidence pyramid and introduction to randomized controlled trials. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official*

publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics, 140(3), 446–447. doi:10.1016/j.ajodo.2011.04.016

Papapanou, P., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M. y cols. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89 Suppl 1, S173–S182. doi:10.1002/JPER.17-0721

Paredes-Sánchez, E., Montiel-Company, J., Iranzo-Cortés, J., Almerich-Torres, T., Bellot-Arcís, C. y cols. (2018). Meta-Analysis of the Use of 8-OHdG in Saliva as a Marker of Periodontal Disease. *Disease markers*, 2018, 7916578. doi:10.1155/2018/7916578

Park, O., Kim, A., So, Y., Im, J., Ji, H. y cols. (2021). Induction of Apoptotic Cell Death by Oral Streptococci in Human Periodontal Ligament Cells. *Frontiers in microbiology*, 12, 738047. doi:10.3389/fmicb.2021.738047

Pradeep, A., Garg, V., Raju, A. & Singh, P. (2016). Adjunctive Local Delivery of Aloe Vera Gel in Patients With Type 2 Diabetes and Chronic Periodontitis: A Randomized, Controlled Clinical Trial. *Journal of periodontology*, 87(3), 268–274. doi:10.1902/jop.2015.150161

Pua, M., Yoshitomi, T., Chonpathompikunlert, P., Hirayama, A. & Nagasaki, Y. (2013) Redox-active injectable gel using thermo-responsive nanoscale polyion complex flower micelle for noninvasive treatment of local inflammation. *Journal of Controlled Release*, 172 (3), 914-920. doi:10.1016/j.jconrel.2013.10.009

Qiu, X., Yu, Y., Liu, H., Li, X., Sun, W. y cols. (2021). Remodeling the periodontitis microenvironment for osteogenesis by using a reactive oxygen species-cleavable nanoplatform. *Acta biomaterialia*, 135, 593–605. doi:10.1016/j.actbio.2021.08.009

Rind, L., Ahmad, M., Khan, M., Badruddeen, Akhtar, J. y cols. (2021). An insight on safety, efficacy, and molecular docking study reports of N-acetylcysteine and its compound formulations. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 33(3), 223–233. doi:10.1515/jbcpp-2020-0099

Riquelme, D., Alvarez, A., Leal, N., Adasme, T., Espinoza, I. y cols. (2011). High-frequency field stimulation of primary neurons enhances ryanodine receptor-mediated Ca²⁺ release and generates hydrogen peroxide, which jointly stimulate NF-κB activity. *Antioxidants & redox signaling*, 14(7), 1245–1259. doi:10.1089/ars.2010.3238

Rodríguez, D., Morrison, C., & Overall, C. (2010). Matrix metalloproteinases: what do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. *Biochimica et biophysica acta*, 1803(1), 39–54. doi:10.1016/j.bbamcr.2009.09.015

Ross D (1988) Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents. Mechanisms of free-radical induced toxicity and glutathione-dependent protection. *Pharmacology & therapeutics*, 37(2), 231–249. doi:10.1016/0163-7258(88)90027-7

Sadowska, A., Manuel-Y-Keenoy, B. & De Backer, W. (2007). Antioxidant and anti-inflammatory efficacy of NAC in the treatment of COPD: discordant in vitro and in vivo dose-effects: a review. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 20(1), 9–22. doi:10.1016/j.pupt.2005.12.007.

Saita, M., Kaneko, J., Sato, T., Takahashi, S., Wada-Takahashi y cols. (2016). Novel antioxidative nanotherapeutics in a rat periodontitis model: Reactive oxygen species scavenging by redox injectable gel suppresses alveolar bone resorption. *Biomaterials*, 76, 292–301. doi:10.1016/j.biomaterials.2015.10.077

Salhi, L. & Reners, M. (2022). Update on the Bidirectional Link Between Diabetes and Periodontitis. *Advances in experimental medicine and biology*, 1373, 231–240. doi:10.1007/978-3-030-96881-6_12

Samuni, Y., Goldstein, S., Dean, O. & Berk, M. (2013). The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochimica et biophysica acta*, 1830(8), 4117–4129. doi:10.1016/j.bbagen.2013.04.016

Santus, P., Corsico, A., Solidoro, P., Braido, F., Di Marco, F. y cols. (2014). Oxidative stress and respiratory system: pharmacological and clinical reappraisal of N-acetylcysteine. *COPD*, 11(6), 705–717. doi:10.3109/15412555.2014.898040

- Sanz, M., Marco Del Castillo, A., Jepsen, S., Gonzalez-Juanatey, J., D'Aiuto, F. y cols. (2020). Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report. *Journal of clinical periodontology*, 47(3), 268–288. doi:10.1111/jcpe.13189
- Schmidt, A., Weidman, E., Lalla, E., Yan, S., Hori, O. y cols. (1996). Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *Journal of periodontal research*, 31(7), 508–515. doi:10.1111/j.1600-0765.1996.tb01417.x
- Schröder K. (2019). Redox Control of Angiogenesis. *Antioxidants & redox signaling*, 30(7), 960–971. doi:10.1089/ars.2017.7429
- Sczepanik, F., Grossi, M., Casati, M., Goldberg, M., Glogauer, M. y cols. (2020). Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: We should treat it that way. *Periodontology 2000*, 84(1), 45–68. doi:10.1111/prd.12342
- Sedghi, L., Bacino, M. & Kapila, Y. (2021a). Periodontal Disease: The Good, The Bad, and The Unknown. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 766944. doi:10.3389/fcimb.2021.766944
- Sedghi, L., DiMassa, V., Harrington, A., Lynch, S. & Kapila, Y. (2021b). The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontology 2000*, 87(1), 107–131. doi:10.1111/prd.12393
- Shadisvaaran, S., Chin, K., Shahida, M., Ima-Nirwana, S., & Leong, X. (2021). Effect of vitamin E on periodontitis: Evidence and proposed mechanisms of action. *Journal of oral biosciences*, 63(2), 97–103. doi:10.1016/j.job.2021.04.001
- Shi, L., Ji, Y., Zhao, S., Li, H., Jiang, Y. y cols. (2021). Crosstalk between reactive oxygen species and Dynamin-related protein 1 in periodontitis. *Free radical biology & medicine*, 172, 19–32. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.031
- Shin, J., Baek, K., Choi, Y. & Choi, Y. (2013). A periodontal pathogen *Treponema denticola* hijacks the *Fusobacterium nucleatum*-driven host response. *Immunology and cell biology*, 91(8), 503–510. doi:10.1038/icb.2013.35
- Sies H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental*

physiology, 82(2), 291–295. doi:10.1113/expphysiol.1997.sp004024

Sies, H., & Jones, D. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 21(7), 363–383. doi:10.1038/s41580-020-0230-3

Socransky, S., Haffajee, A., Cugini, M., Smith, C. & Kent, R. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, 25(2), 134–144. doi:10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x

Sterne, J., Savović, J., Page, M., Elbers, R., Blencowe, N. y cols. (2019). RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *British Medical Journal (Clinical research ed.)* 366, l4898. doi:10.1136/bmj.l4898.

Storrer, C., Aun, J., Pustiglioni, F. & Romito, G. (2010). Periodontal disease induced by *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* in Wistar rats. *Arquivos em Odontologia*, 46(4). Disponible en: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-09392010000400001

Sun, X., Gao, J., Meng, X., Lu, X., Zhang, L. y cols. (2021). Polarized Macrophages in Periodontitis: Characteristics, Function, and Molecular Signaling. *Frontiers in immunology*, 12, 763334. doi:10.3389/fimmu.2021.763334

Thomas, B., Madani, S., Prasad, B. & Kumari, S. (2014). Comparative evaluation of serum antioxidant levels in periodontally diseased patients: an interventional study. *Contemporary clinical dentistry*, 5(3), 340–344 doi:10.4103/0976-237X.137938

Toker, H., Ozdemir, H., Balci, H. & Ozer, H. (2012). N-acetylcysteine decreases alveolar bone loss on experimental periodontitis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of periodontal research*, 47(6), 793–799. doi:10.1111/j.1600-0765.2012.01497.x

Toker, H., Ozdemir, H., Eren, K., Ozer, H. & Sahin, G. (2009). N-acetylcysteine, a thiol antioxidant, decreases alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *Journal of periodontology*, 80(4), 672–678. doi:10.1902/jop.2009.080509

Tonetti, M., Greenwell, H., & Kornman, K. (2018). Staging and grading of

- periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of clinical periodontology*, 45 Suppl 20, S149–S161. doi:10.1111/jcpe.12945
- Torrunguang, K., Jitpakdeebordin, S., Charatkulangkun, O. & Gleebbua, Y. (2015). *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Treponema denticola* / *Prevotella intermedia* Co-Infection Are Associated with Severe Periodontitis in a Thai Population. *PloS one*, 10(8), e0136646. doi:10.1371/journal.pone.0136646
- Tse, H., Raiteri, L., Wong, K., Yee, K., Ng, L. y cols. (2013). High-dose N-acetylcysteine in stable COPD: the 1-year, double-blind, randomized, placebo-controlled HIACE study. *Chest*, 144(1), 106–118. doi:10.1378/chest.12-2357
- Van Dyke, T. & Sima, C. (2020). Understanding resolution of inflammation in periodontal diseases: Is chronic inflammatory periodontitis a failure to resolve?. *Periodontology 2000*, 82(1), 205–213. doi:10.1111/prd.12317
- Vargas-Sanchez, P., Moro, M., Santos, F., Anbinder, A., Kreich, E. y cols. (2017). Agreement, correlation, and kinetics of the alveolar bone-loss measurement methodologies in a ligature-induced periodontitis animal model. *Journal of applied oral science : revista FOB*, 25(5), 490–497. doi:10.1590/1678-7757-2016-0517
- Verma, R., Rajapakse, S., Meka, A., Hamrick, C., Pola, S. y cols. (2010). *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* Mixed Microbial Infection in a Rat Model of Periodontal Disease. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2010, 605125. doi:10.1155/2010/605125
- Villagarcía, H., Castro, M., Arbelaez, L., Schinella, G., Massa, M. y cols. (2018). N-Acetyl-L-Cysteine treatment efficiently prevented pre-diabetes and inflamed-dysmetabolic liver development in hypothalamic obese rats. *Life sciences*, 199, 88–95. doi:10.1016/j.lfs.2018.03.008
- Virto, L., Haugen, H., Fernández-Mateos, P., Cano, P., González, J. y cols. (2018). Melatonin expression in periodontitis and obesity: An experimental in-vivo investigation. *Journal of periodontal research*, 53(5), 825–831. doi:10.1111/jre.12571

- Vong, L., Yoshitomi, T., Matsui, H. & Nagasaki, Y. (2015). Development of an oral nanotherapeutics using redox nanoparticles for treatment of colitis-associated colon cancer. *Biomaterials*, 55, 54–63. doi:10.1016/j.biomaterials.2015.03.037
- Walczewska, M., Białecka, A., Gacoń, A., Pasich, E., Kasprowicz, A. y cols. (2013). Effect of selected biofilm inhibitors, N-acetylcysteine and DNase, on some biological properties of taurine haloamines (TauCl and TauBr). *Central European Journal of Immunology*, 38 (4): 434-442. doi: 10.5114/ceji.2013.39758
- Wang, B., Yee Aw, T. & Stokes, K. (2018). N-acetylcysteine attenuates systemic platelet activation and cerebral vessel thrombosis in diabetes. *Redox biology*, 14, 218–228. doi:10.1016/j.redox.2017.09.005
- Wang, H., Zhou, H., Duan, X., Jotwani, R., Vuddaraju, H. y cols. (2014). Porphyromonas gingivalis-induced reactive oxygen species activate JAK2 and regulate production of inflammatory cytokines through c-Jun. *Infection and immunity*, 82(10), 4118–4126. doi:10.1128/IAI.02000-14
- Wang, Q., Sztukowska, M., Ojo, A., Scott, D., Wang, H. y cols. (2015). FOXO responses to Porphyromonas gingivalis in epithelial cells. *Cellular microbiology*, 17(11), 1605–1617. doi:10.1111/cmi.12459
- Wang, Y., Andrukhov, O. & Rausch-Fan, X. (2017). Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. *Frontiers in physiology*, 8, 910. doi:10.3389/fphys.2017.00910
- Waring W. (2012). Criteria for acetylcysteine treatment and clinical outcomes after paracetamol poisoning. *Expert review of clinical pharmacology*, 5(3), 311–318. doi:10.1586/ecp.12.15
- Wei, D., Zhang, X., Wang, Y., Yang, C. & Chen, G. (2010). Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Australian dental journal*, 55(1), 70–78. doi:10.1111/j.1834-7819.2009.01123.x
- Wilson, C., Muñoz-Palma, E. & González-Billault, C. (2018). From birth to death: A

role for reactive oxygen species in neuronal development. *Seminars in cell & developmental biology*, 80, 43–49. doi:10.1016/j.semcdb.2017.09.012

Yan, G., Guo, Y., Guo, J., Wang, Q., Wang, C. y cols. (2020). N-Acetylcysteine Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Osteolysis by Restoring Bone Remodeling Balance via Reduction of Reactive Oxygen Species Formation During Osteoclastogenesis. *Inflammation*, 43(4), 1279–1292. doi:10.1007/s10753-020-01207-y

Yang, L., Li, X., Jiang, A., Li, X., Chang, W. y cols. (2020). Metformin alleviates lead-induced mitochondrial fragmentation via AMPK/Nrf2 activation in SH-SY5Y cells. *Redox biology*, 36, 101626. doi:10.1016/j.redox.2020.101626

Yokoyama, M., Hinode, D., Yoshioka, M., Fukui, M., Tanabe, S. y cols. (2008). Relationship between *Campylobacter rectus* and periodontal status during pregnancy. *Oral microbiology and immunology*, 23(1), 55–59. doi:10.1111/j.1399-302X.2007.00391.x

Zadeh, H., Nichols, F. & Miyasaki, K. (1999). The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontology 2000*, 20, 239–288. doi:10.1111/j.1600-0757.1999.tb00163.x

Zeng, X., Zhang, Y., Kwong, J., Zhang, C., Li, S. y cols. (2015). The methodological quality assessment tools for preclinical and clinical studies, systematic review and meta-analysis, and clinical practice guideline: a systematic review. *Journal of evidence-based medicine*, 8(1), 2–10. doi:10.1111/jebm.12141

Zhang, B., Yang, Y., Yi, J., Zhao, Z. & Ye, R. (2021). Hyperglycemia modulates M1/M2 macrophage polarization via reactive oxygen species overproduction in ligature-induced periodontitis. *Journal of periodontal research*, 56(5), 991–1005. doi:10.1111/jre.12912

Zhang, Y., Zhen, M., Zhan, Y., Song, Y., Zhang, Q. & Wang, J. (2017). Population-Genomic Insights into Variation in *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* Isolates and Its Association with Periodontal Disease. *Frontiers in cellular and*

infection microbiology, 7, 409. doi:10.3389/fcimb.2017.00409

Zheng, J., Wen, F., Bai, C., Wan, H., Kang, J. y cols. (2014). Twice daily N-acetylcysteine 600 mg for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (PANTHEON): a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *The Lancet. Respiratory medicine*, 2(3), 187–194. doi:10.1016/S2213-2600(13)70286-8

Zheng, R., Tan, Y., Gu, M., Kang, T., Zhang, H. y cols. (2019). N-acetyl cysteine inhibits lipopolysaccharide-mediated synthesis of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in human periodontal ligament fibroblast cells through nuclear factor-kappa B signaling. *Medicine*, 98(40), e17126. doi:10.1097/MD.00000000000017126

Zhou, R., Tardivel, A., Thorens, B., Choi, I. & Tschopp, J. (2010). Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nature immunology*, 11(2), 136–140. doi:10.1038/ni.1831

10. ANEXOS Y APÉNDICES:

Anexo N°1: Estrategias de búsqueda	
Base de datos	Motor de Búsqueda
Medline-PubMed	<p>("periodontal diseases"[MeSH Terms] OR "oral bacteria"[Title/Abstract] OR "periodontal"[Title/Abstract] OR "periodontitis"[MeSH Terms] OR "chronic periodontitis"[MeSH Terms] OR "aggressive periodontitis"[MeSH Terms] OR "periodontal ligament"[MeSH Terms] OR "osteoblasts"[MeSH Terms] OR "oral keratinocyte"[Title/Abstract] OR "osteoclasts"[MeSH Terms]) AND ("acetylcysteine"[MeSH Terms] OR "N-acetylcysteine"[Title/Abstract] OR "NAC"[Title/Abstract] OR "n acetyl cysteine"[Title/Abstract]) AND ("periodontal attachment loss"[MeSH Terms] OR "oxidative stress"[MeSH Terms] OR "clinical attachment level"[Title/Abstract] OR "probing depth"[Title/Abstract] OR "bleeding on probing"[Title/Abstract] OR "bone resorption"[MeSH Terms] OR "periodontal inflammation"[Title/Abstract] OR "redox balance"[Title/Abstract] OR "cytokines"[MeSH Terms] OR "interleukins"[MeSH Terms] OR "tumor necrosis factors"[MeSH Terms] OR "reactive oxygen species"[MeSH Terms] OR "host response"[Title/Abstract] OR "cytotoxicity, immunologic"[MeSH Terms] OR "biofilms"[MeSH Terms])</p>
Web of Science™	<p>TS=((periodontal OR periodontitis OR chronic periodontitis OR aggressive periodontitis OR periodontal diseases OR periodontal ligament OR osteoblasts OR oral keratinocyte OR osteoclasts OR oral bacteria) AND (acetylcysteine OR N-acetylcysteine OR NAC OR n acetyl cysteine) AND (periodontal attachment loss OR oxidative stress OR clinical attachment level OR probing depth OR bleeding on probing OR bone resorption OR periodontal inflammation OR redox balance OR cytokines OR interleukins OR tumor necrosis</p>

	factors OR reactive oxygen species OR host response OR cytotoxicity OR biofilms))
Scopus®	TITLE-ABS-KEY (("periodontal" OR "periodontitis" OR "chronic periodontitis" OR "aggressive periodontitis" OR "periodontal diseases" OR "periodontal ligament" OR "osteoblasts" OR "oral keratinocyte" OR "osteoclasts" OR "oral bacteria") AND ("acetylcysteine" OR "N-acetylcysteine" OR "NAC" OR "n acetyl cysteine") AND ("periodontal attachment loss" OR "oxidative stress" OR "clinical attachment level" OR "probing depth" OR "bleeding on probing" OR "bone resorption" OR "periodontal inflammation" OR "redox balance" OR "cytokines" OR "interleukins" OR "tumor necrosis factors" OR "reactive oxygen species" OR "host response" OR "cytotoxicity" OR "biofilms"))
Biblioteca Virtual de Salud (BVS)	("Periodontitis" OR "Periodontal Ligament" OR "Osteoblasts" OR "Osteoclasts" OR "Keratinocytes" OR "gingival") AND ("Acetylcysteine")